

الشعبية الديمقراطية الجزائرية الجمهورية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
العلمي البحث و العالي التعليم وزارة
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique
1945 ماي 08 قالمة جامعة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie Et Sciences De La Terre Et De
L'univers
Département De Biologie



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire

Thème :

Evaluation de l'activité antibactérienne de deux types d'huiles
essentielles de la carotte sauvage (*Daucus carota L.*)

Présenté par :

- ❖ Bouabid Ibtissam
- ❖ Benchercher Besema
- ❖ Bouranene Rania

Devant le jury composé de :

Président (e) :	Hami.M	M.C.B	Université de Guelma
Examineur :	Boumaaza.A	M.C.B	Université de Guelma
Encadreur :	Zidi.S	M.C.B	Université de Guelma

Juillet 2021

Remerciements

Nous remercions notre créateur Allah, Grand et Miséricordieux, le tout puissant pour le courage qu'il nous a donné pour mener ce travail à terme.

Nous exprimons notre gratitude à Madame Hami M, d'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Madame Boumaaza, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Il ne serait pas possible de nous présenter ce mémoire sans témoigner de nos profondes gratitudes et nos sincères remerciements à Madame Zidi sourour pour nous avoir encadré, pour sa gentillesse, ses conseils ses encouragements.

Je tiens également à remercier le Dr HadeF, qui a beaucoup contribué à la réussite de ce travail car il nous a fourni toutes les capacités nécessaires et les conditions appropriées, ainsi que tout le personnel du Laboratoire de Chimie de la Faculté de médecine - Annaba.

Nos remerciements vont aussi à toute l'équipe du laboratoire de microbiologie de Guelma pour leur gentillesse, encouragements, disponibilité et pour toute leur aide apportée, précisément Madame hayate.

Enfin, nos remerciements vont vers toutes les personnes qui, de près ou de loin, nous ont apporté leur soutien, leur conseil et leur contribution dans l'édification de ce mémoire.

Dédicace

*Avec l'aide de Dieu, Tout Puissant, j'ai pu réaliser ce
modeste travail*

Je dédie ce modeste travail

*À ceux qui ont légué un sens à mon existence, ceux
qui m'ont appuyé nuit et jour durant mon parcours ;
à vous mes très chères parents, pour qui je vous dois
le mérite d'être ce que je suis devenu aujourd'hui.*

À mes deux frères walide et zakaria,

À ma grande mère pour son amour et son soutien

À tous les enseignants (es) ...

BESMA

Dédicace

Je remercie tout d'abord « Allah » le tout puissant de m'avoir donné, la patience et la volonté pour réaliser ce modeste travail. Du profond du mon coeur, je dédie ce

travail à tous ceux qui me sont chers,

A mes chers parents : Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon l'éducation et mon bien-être,

A mon cher frère et mon soutien dans la vie Ramzi,

A ma tante Sultana

A mon amie Faiza

A toute ma famille et à tous mes amis,

A mes camarades de promotion,

A tous mes enseignants,

A tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire,

IBTISSAM

Dédicace

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde mes chers parents qui m'ont permis de continuer mes études dans les meilleures conditions et qui m'ont appris à jamais baissé les bras,

A mes sœurs,

A mon amie nahla,

A toute ma famille et à tous mes amis,

À toutes mes enseignantes

Enfin, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

RANIA

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 1

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre N°1 : généralité sur les bactéries et Les antibiotiques

1. Les Bactéries 3

1.1. Historique 3

1.2. Définition 3

1.3. Morphologie des bactéries 3

1.3.1. Forme des bactéries 3

1.3.2. Dimensions 4

1.4. Structure et Composition de la cellule bactérienne 4

1.4.1. Membrane cytoplasmique 4

1.4.2. Paroi 5

1.4.3. Cytoplasme 5

1.4.4. Matériel génétique 5

1.5. Classification des bactéries 6

1.5.1. Bactéries à Gram – 6

1.5.1.1 *Escherichia coli* 6

1.5.1.2 *Pseudomonas* 7

1.5.2 Bactérie à Gram+ 8

1.5.2.1. *Staphylococcus aureus* 8

2. Les antibiotiques 10

2.1. Définition	10
2.2. Classification des antibiotique.....	10
2.3. Mode d'action des antibiotiques.....	10
2.4. Concentration minimale inhibitrice d'un antibiotique (CMI)	11
2.5. Concentration minimale bactéricide (CMB).....	11
2.6. Résistances aux antibiotiques	11
2.7. Antibiogramme et méthode des disques	12
2.7.1. Antibiogramme	12
2.7.2. Méthode des disques.....	12

Chapitre N°2 : l'Aromathérapie et les huiles essentielles

1. Aromathérapie	13
1.1. Historique	13
1.2. Définition	13
1.3. Différence entre aromathérapie et phytothérapie	13
1.4. Aromatogramme.....	14
2. Huiles essentielles.....	14
2.1. Historique	14
2.2. Définition	14
2.3. Classification des huiles essentielles	15
2.4. Répartition et localisation des huiles essentielles.....	15
2.5. Cellules Secretrices des huiles essentielles.....	15
2.6. Caractéristiques physiques	16
2.7. Composition chimique.....	17
2.8. Analyse des huiles essentielles	17
2.9. Les procédés d'extraction des huiles essentielles	17
2.10. Domaines d'utilisation des huiles essentielles	21
2.11. Toxicité des huiles essentielles	23

2.12. Conservation des huiles essentielles	23
--	----

Chapitre N°3 : Généralité sur la plante étudiée

1. La famille des Apiaceae.....	24
1.1. Historique.....	24
1.2. Définition	24
1.3. Distribution	24
2. L'espèce <i>Daucus carota</i> L. (Carotte sauvage)	25
2.1. Définition	25
2.2. Classification	25
2.3. Description morphologique	25
2.4. Propriétés naturelles et utilisations.....	28
2.5. L'huile essentielle de <i>Daucus carota</i> L	28
2.6. La composition chimique de l'huile essentielle de <i>Daucus carota</i>	28

Deuxième Partie : Partie expérimentale

Chapitre N°1 : Matériel et méthodes

1. Matériel	30
1.1. Matériel végétal.....	30
1.2. Matériel microbiologique.....	31
1.3. Milieux de cultures utilisés	31
2. Méthodes	32
2.1. Extraction de l'huile essentielle de la carotte sauvage	32
2.2. Rendement.....	34
2.3. Evaluation de l'activité antibactérienne des deux types d' huiles essentielles de la carotte sauvage.....	34
2.3.1. Préparation des suspensions bactériennes	34
2.3.2. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)	34
2.3.3. Choix des antibiotiques (antibiogramme)	35

2.3.4. Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne (calcul des CMI)	36
2.4. Tests phytochimiques	37
2.4.1. Préparation des extraits des différentes parties de la carotte sauvage.....	38
2.4.2. Principes actifs	38

Chapitre N°2 : Résultat et Discussion

1. Rendement en huile essentielle.....	40
2. Evaluation de l'activité antibactérienne des deux types d' huiles essentielles de la carotte sauvage.....	40
2.1. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme et antibiogramme).....	40
2.1.1. <i>Escherichia coli</i>	40
2.1.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
2.1.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	43
2.2. Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne (calcul des CMI).....	44
3. Tests phytochimiques.....	45
Conclusion et perspectives	52

Référence bibliographique

Annexe

Résumé

Liste Des Abreviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ABT : Antibiotique.

CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

CPG/SM : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse.

E. coli : Escherichia coli.

HE : Huile essentielle.

LPS : lipopolysaccharide.

MH : bouillon Mueller Hinton.

P. aeruginosa : Pseudomonas aeruginosa.

RD : Rendement en huile essentielle.

S. aureus : Staphylococcus aureus.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification de la carotte sauvage (<i>Daucus carota L.</i>)	25
Tableau 2 : Les souches bactériennes utilisées dans l'étude	31
Tableau 3: Propriétés des antibiotiques utilisés	36
Tableau 4: Rendement des HE de la carotte sauvage extraites des fleurs et des graines ...	40
Tableau 5: Les diamètres d'inhibitions des huiles et des antibiotiques testés sur E. coli ..	41
Tableau 6: Les diamètres d'inhibitions des huiles et des antibiotiques testés sur P. aeruginosa.....	42
Tableau 7: Les diamètres d'inhibitions des extraits testés et des antibiotiques chez S.....	43
Tableau 8: Les principes actifs identifiés dans la carotte sauvage.	46

Liste des figures

Figure 1: Les différentes formes et groupements de bactéries	4
Figure 2: Courbe De la CMI par diamètre d'inhibition	12
Figure 3: Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation des HE	18
Figure 4: Distillation par entraînement à la vapeur d'eau	19
Figure 5: Principe schématisé de l'appareillage d'extraction sous micro-ondes	21
Figure 6: Répartition géographique mondiale des Apiaceae	24
Figure 7: les feuilles de la carotte sauvage	26
Figure 8: Les fleurs de la carotte sauvage	27
Figure 9: Les graines de la carotte sauvage	27
Figure 10: Les sommités fleuries fraîches et séchées de la carotte sauvage	30
Figure 11: Les graines de la carotte sauvage	31
Figure 12: Début d'extraction dans un hydrodistillateur	33
Figure 13: Distillat obtenu après hydrodistillation	33
Figure 14: Détermination de la CMI sur milieu solide	37
Figure 15: Antibiogramme de la souche <i>E. coli</i>	41
Figure 16: Effet des huiles essentielles pure et industrielle de la carotte sauvage sur <i>E. coli</i> (Hf : huile des fleurs ; Hg : Huile des graines ; ET : éthanol).....	41
Figure 17: Antibiogramme de la souche <i>P. aeruginosa</i>	42
Figure 18: Effet des huiles essentielles pure et industrielle de la carotte sauvage sur <i>P. aeruginosa</i> (Hf : huile des fleurs ; Hg : Huile des graines ; ET : éthanol ; H ₂ O ; Eau Distillée stérile)	42
Figure 19: Antibiogramme de la souche <i>S. aureus</i>	44
Figure 20: Effet des huiles essentielles pure et industrielle de la carotte sauvage sur <i>S. aureus</i> . (Hf : huile des fleurs ; Hg : Huile des graines ; ET : éthanol ; H ₂ O ; Eau Distillée stérile)	44
Figure 21: Evaluation de la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle industrielle de la carotte sauvage sur <i>S. aureus</i> et <i>E. coli</i>	45
Figure 22: Test phytochimiques sur la poudre des sommités fleuries de la carotte sauvage.	49
Figure 23: Tests phytochimiques sur la poudre des graines de la carotte sauvage.....	51

Introduction

Introduction

Depuis plusieurs années, l'utilisation des plantes médicinales ou des préparations à base de plantes connaît un succès croissant. Ainsi, d'après les estimations, 80% de la population mondiale dépend principalement de la médecine traditionnelle (Noui, 2018).

Les plantes sont des usines biologiques naturelles de remèdes traditionnels et efficaces. Elles produisent des substances biochimiques actives : huiles essentielles (HE), phénols (exp : flavonoïdes), hétérosides, alcaloïdes, saponosides, quinones, vitamines ...et les mettent à la disposition de l'homme qui peut en faire usage pour sa santé et satisfaire ses besoins vitaux. Dans l'antiquité, certaines plantes étaient révérees pour des vertus qu'on leur avait reconnues. Aucun ne cherchait à savoir pourquoi et comment elles agissaient, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. Actuellement la recherche sur les bienfaits des plantes aromatiques et médicinales voit son développement s'accroître, notamment avec les HE dont les domaines d'application sont nombreux aussi bien en médecine, en pharmacie ainsi que dans d'autres domaines tels que l'agroalimentaire, les industries chimiques, etc. Les effets bioactifs des HE et des extraits se sont largement avérés être liés à leurs grande richesse en composés terpéniques et aromatiques dont les structures chimiques sont très diversifiées (Croteau et al., 2000).

L'Algérie, de part sa situation géographique et climatique, possède une flore particulièrement riche et diversifiée depuis longtemps exploitée par la médecine traditionnelle de ses habitants. Cette flore comprend environ 4000 taxons répartis en 131 familles et 917 genres. Le nombre de plantes endémiques nationales est de 464 (387 espèces, 53 sous espèces et 24 variétés). Par ailleurs, on ne peut que se réjouir du fait que l'Algérie est un bon exemple de pays en développement qui a pris conscience de la richesse et de l'importance de sa médecine traditionnelle puisque tout en s'efforçant de moderniser son système de santé sur le modèle occidental, elle rend prioritaire l'étude des plantes médicinales par les laboratoires de recherche universitaires, dans le but de rationaliser leurs utilisations (Noui, 2018).

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème de santé publique d'amplitude croissante, notamment avec l'accroissement des maladies infectieuses de plus en plus difficiles à traiter. Cette résistance augmente à un rythme alarmant, particulièrement suite à l'apparition de multirésistances touchant les bactéries à Gram négatif et positif. Par conséquent, la découverte et le développement d'agents antimicrobiens ou de stratégies de

lutte efficaces contre cette antibiorésistance sont devenus d'une extrême importance (**Landoulsi, 2016**). C'est pour cela qu'on s'est intéressé dans notre étude à tester l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'une plante trouvée en Algérie dans le but de l'utiliser comme alternative contre cette résistance bactérienne.

La famille des Apiaceae appelées anciennement ombellifères comprend des plantes alimentaires comme la carotte sauvage, le céleri, le fenouil... et des plantes condimentaires comme le carvi, la coriandre, le cumin... C'est une famille riche en huile essentielle (**Ouis, 2015**).

La plante choisie pour notre étude appartient au genre *Daucus* (*Daucus carota*). Ce genre comprend plus de 22 espèces dont plusieurs sont connues et utilisées en médecine traditionnelle dans de nombreux pays, Cependant, il n'y a pas beaucoup d'études sur celui-ci d'un point de vue phytochimique et biologique (**Landoulsi, 2016**).

Nous avons comparé dans notre étude l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite de la partie aérienne (fleurs) de la carotte sauvage avec une huile essentielle industrielle extraite des graines de la même plante. Il faut savoir que la carotte sauvage dont on a extrait les deux types d'huiles essentielles est récoltée à l'Est algérien (la première huile est extraite de la plante récoltée à Guelma et la deuxième de la même plante récoltée à Annaba). Les bactéries potentiellement pathogènes choisies dans cette étude sont : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Il faut noter que parallèlement à cette étude comparative, un screening phytochimique des deux types d'huiles a été réalisé afin de vérifier la composition chimique de chacune.

Première partie : Synthèse bibliographique

*Chapitre N°1 : généralité sur les bactéries
et Les antibiotiques*

1. Les Bactéries

1.1. Historique

Depuis environ 60 ans, on assiste à une explosion des découvertes microbiologiques, à commencer par les travaux de Pasteur. La période de 1857 à 1914 est appelée à juste titre l'âge d'or de la microbiologie. Les progrès rapides, accomplis surtout par Pasteur et Robert Koch, permettent d'établir la microbiologie en tant que science. Au nombre des découvertes, on compte les agents pathogènes de nombreuses infections et le rôle de l'immunité dans la prévention et la guérison des maladies. Durant cette période effervescente, les microbiologistes ont étudié l'activité chimique des micro-organismes, amélioré les techniques de microscopie et les méthodes de culture des micro-organismes et ont développé des vaccins et des techniques chirurgicales (**Tortora et al., 2003**).

En 1673, Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723) fut le premier à observer des bactéries en décrivant leurs différentes formes; il les appela "animaux". C'est aussi le premier qui a décrit un globule rouge et un spermatozoïde (**Hachemie et Ruis, 2002**).

Des raisons majeurs de l'étude des bactéries, est la lutte contre les maladies. Ces microorganismes sont la cause de quelques pathologies graves ainsi que de multiples affections bénignes. La prévention et le contrôle de ces maladies dépend en grande partie de l'effort des bactériologistes tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire ou en agriculture (**Precott et al., 2010**).

1.2. Définition

Les bactéries sont des organismes procaryotes, c'est-à-dire qu'ils ne contiennent pas de noyau. Le matériel génétique est présent dans le cytoplasme sous forme d'un chromosome unique circulaire. Dans le cytoplasme, on trouve d'autres éléments comme les ribosomes essentiels à la fabrication de protéines ou encore des organites responsables du fonctionnement métabolique (**Bianchi et al., 2013**).

1.3. Morphologie des bactéries

1.3.1. Forme des bactéries

Les cellules bactériennes existent sous plusieurs formes, les plus courantes sont les bacilles (en forme de bâtonnet), les cocci singuliers (sphériques ou ovales), en spirale et en forme d'étoile. Elles forment des paires, des chaînes, des grappes ou d'autres groupements

(Figure 01). Elles contiennent en moyenne 80% d'eau, le reste est composé de quantités variables de matières organiques et inorganiques, selon l'espèce et les conditions de culture: protéines (30-50%), acides nucléiques (15% dont 3% d'ADN), matières minérales (10-13%), lipides et glucides (Guiraud, 2003; Tortorat *et al.*, 2003).

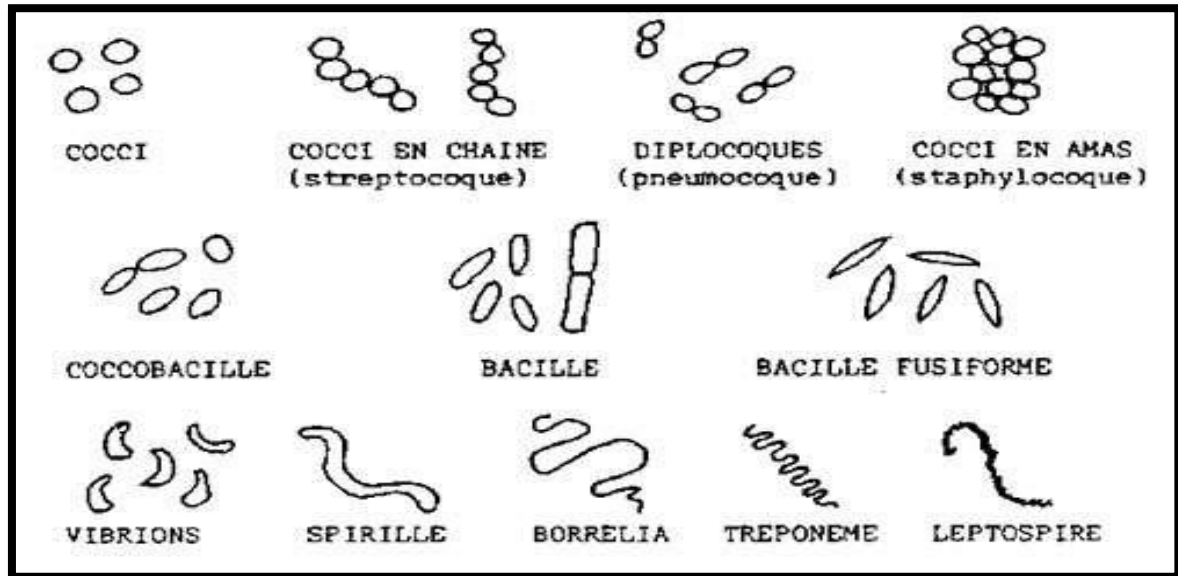


Figure 1: Les différentes formes et groupements de bactéries (Cabeen *et al.*, 2000)

1.3.2. Dimensions

Le microscope est nécessaire à l'étude des bactéries, puisque elles atteignent à peine une centaine de μm de longueur (entre 5 à 10 μm). Une goutte d'eau peut contenir plus d'un milliard de ces organismes. Les Staphylocoques et les Streptocoques qui sont des bactéries sphériques ont un diamètre variant entre 0,75 et 1,25 μm . Au plus fort grossissement du microscope optique (X 1000 à 1500), les Rickettsies et Chlamidies sont à peine visibles ce qui les classe parmi les plus petites bactéries (Baltimore *et al.*, 2000).

1.4. Structure et Composition de la cellule bactérienne

1.4.1. Membrane cytoplasmique

La membrane cytoplasmique est la véritable barrière perméable de la cellule, qui délimite le cytoplasme. Sa structure de base est constituée d'une double couche lipidique à base de phospholipides ("mosaïque fluide"). Les enzymes du métabolisme énergétique et les protéines impliquées dans le transport sont situées sur cette membrane (Guiraud, 2003).

1.4.2. Paroi

La paroi est présente chez toutes les espèces de bactéries sauf les mycoplasmes. Grâce à l'existence de cette structure rigide, de nature polymérique, la bactérie n'éclate pas. Les polymères et leur mode de liaison varient selon les espèces bactériennes. Toutefois, une substance de base, spécifique de ces microorganismes, est partout présente : c'est la muréine, appelée par extension peptidoglycane (**Bianchi et al., 2013**).

Chez les bactéries à Gram +, on trouve plusieurs couches de muréine, formant un réseau compact, ainsi que des acides teichoïques (polyribitolphosphate, etc.) tandis que chez les bactéries à Gram -, la paroi est mince (une seule couche de muréine) et on trouve une membrane externe riche en protéines, lipides et glucides. Comme pour la membrane cytoplasmique, l'élément de base est une double couche de phospholipides, mais elle contient des lipoprotéines qui la lient à la muréine et un lipopolysaccharide externe ou LPS formé de 3 régions. La membrane externe est imperméable à de grosses molécules mais contient des porines qui laissent passer les petites. Elle délimite un espace périplasmique. Elle est dotée de propriétés antigéniques et peut être toxique (**Guiraud, 2003**).

1.4.3. Cytoplasme

Le cytoplasme des bactéries est aqueux, contenant un cocktail de molécules, de ribosomes constitués d'acide ribonucléique (ARN ribosomique) et de protéines nécessaires au fonctionnement de la cellule (**Nicklin et al., 2000; Tortora et al., 2003**).

1.4.4. Matériel génétique

Il n'existe pas de noyau chez les bactéries et l'appareil nucléaire se limite à un chromosome unique ou génophore situé dans le cytoplasme et constitué d'ADN, d'ARN et de protéines. Le chromosome est circulaire, refermé sur lui-même. Il est constitué par une chaîne continue de gènes et ne contient pas de régions répétitives de grande taille. Il peut y avoir du matériel génétique extra-chromosomique : plasmides, virus... etc. Les plasmides sont des structures homogènes formées d'ADN bicaténaire circulaire de taille et de poids moléculaire bien définie. Les plasmides bactériens se répliquent de façon indépendante par rapport au chromosome (**Guiraud, 2003**).

1.5. Classification des bactéries

1.5.1. Bactéries à Gram –

1.5.1.1 *Escherichia coli*

C'est en 1885 que la bactérie *Escherichia coli* est décrite pour la première fois dans des selles de nourrissons, par l'Allemand Theodor Escherich. Toutefois, son nom actuel lui est donné en 1919 par Castellani et Chambers (**Grimont, 1987**).

Les genres constituant cette famille sont des bacilles à Gram négatif, aéroanaérobies facultatifs qui peuvent fermenter les nitrates et qui ne possèdent pas d'oxydase (**Le Minor et al., 1990**).

Le genre *Escherichia* regroupe cinq espèces : *E. blattae*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermanii* et *E. vulneris*. Chaque espèce d'*Escherichia* possède des caractéristiques biochimiques particulières, permettant de les différencier (**Grimont, 1987**).

➤ Différents caractères d'*E.coli*

E. coli se définit par les caractères suivants:

- Bacille(bâtonnet) ou colibacille à Gram négatif (2 à 4 µ de long sur 0.4 à 0.6µ de large)
- non sporulée, encapsulée .
- Immobile ou mobile grâce à des flagelles disposés de manière péritriche.
- pousse sur milieu ordinaire .
- Aérobie-anaérobie facultative réduisant le nitrate en nitrite.
- A une réaction d'oxydase négative.
- Utilise le glucose par voie fermentative (**Le Minor et al., 1990; Joly et Reynaud, 2002**).

➤ Classification phylogénique

Règne: *Procaryotae*

Domaine: *Bacteria*

Phylum: *Proteobacteria*

Classe: *Gammaproteobacteria*

Ordre: *Enterobacteriales*

Famille: *Enterobacteriaceae*

Genre: *Escherichia* (**Somalia, 2012**).

➤ **Différents pathovars d'*E. Coli***

1- *E. coli* à l'origine de pathologies intestinales:

Les Escherichia coli entéropathogènes (EPEC)

Les Escherichia. Coli Enterohémostatiques (EHEC)

Les Escherichia Coli Entérotoxigènes (ETEC)

Les Escherichia Coli Entéroinvasives (EIEC)

Les Escherichia Coli A Adhésion Diffuse (DAEC)

Les Escherichia coli entéro-agrégatives (EaggEC, ou EAEC) (Diallo, 2013).

2- *E. coli* à l'origine de pathologies extra-intestinales : les *E. coli* à l'origine de pathologies extra intestinales ont acquis la capacité à dépasser les défenses immunitaires de leur hôte, et à se propager dans l'organisme par exemple infection urinaire (Johnson et al., 2005).

1.5.1.2 *Pseudomonas*

Les bactéries du genre *Pseudomonas* appartiennent à la famille des *Pseudomonadaceae*. Elles sont ubiquitaires et présentent un intérêt particulier en microbiologie médicale, alimentaire, aquatique et environnementale ainsi qu'en agronomie (Meghdas et al., 2003).

Le genre *Pseudomonas* regroupe 7 espèces : *P. aeruginosa* ou bacille pyocyanique est l'espèce type, *P. chlororaphis*, *P. fluorescens*, *P. pertucinogena*, *P. putida*, *P. stutzeri* et *P. syringae* (Chaker, 2012).

➤ ***Pseudomonas aeruginosa***

Pseudomonas aeruginosa est une des bactéries fréquemment en cause des infections opportunistes et responsable de nombreuses infections nosocomiales. Elle est souvent rencontrée dans la pratique dermatologique (Morand et al., 2017).

➤ **Différents caractères de *Pseudomonas aeruginosa***

- *Pseudomonas aeruginosa* est un bacille à Gram négatif.
- présent notamment dans le sol et dans les milieux aquatiques
- forme droite ou légèrement courbée. Il mesure de 1 à 5 µm de long et de 0,5 à 1 µm.
- aérobie stricte

- *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire.
- cette bactérie est catalase positive et oxydase positive.
- non sporulant (Elmeskini, 2011).

➤ **Classification phylogénique**

Bacteria :Règne

Prokaryota :Embranchement

Proteobacteria :Division

Gammaproteobacteria :Classe

Pseudomonadales : Ordre

Pseudomonadaceae :Famille

Pseudomonas : Genre

aeruginosa :Espèce (CHAKE,2012).

➤ **Pouvoir pathogène**

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie pathogène opportuniste capable d'infecter un large spectre d'hôte : humains, souris, plantes, insectes, nématodes ou amibes. Chez l'homme, cette bactérie affecte particulièrement les personnes immunodéprimées, les grands brûlés et les patients en soins intensifs (Rossignol, 2007).

1.5.2 Bactérie à Gram+

1.5.2.1. *Staphylococcus aureus*

Le staphylocoque a été découvert à la fin du 19ème siècle. Il prend la forme de "grappes de raisins sous microscope optique. *S. aureus* est de la division des firmicutes. C'est une bactérie à Gram-positif ayant l'apparence de petites baies, dont les colonies prennent une couleur dorée, d'où son nom (Staphylo : grappe, kokkus : baie, aureus : doré) (Ogston, 1984; Yves, 2009 ; Somerville, 2016).

➤ **Différents caractères de *Staphylococcus aureus***

Ce sont des cocci à Gram positif d'environ 0,5 à 1 µm de diamètre, apparaissant au microscope sous la forme diplocoques, en courtes chaînettes ou en grappes ressemblant à des raisins. C'est une bactérie immobile, non productrice de spores mais résistante et parfois

encapsulée. Elle produit des colonies dorées jaune pigmentées. Il est maintenant établi que *S. aureus* est une bactérie aéro-anaérobie facultative qui produit une catalase et une coagulase, et qui peut tolérer une activité en eau très réduite (Rebiahi, 2012; Delarras, 2014; Alioua, 2015).

➤ **Classification phylogénique**

Domaine (règne): *Bacteria*.

Division (phylum XIII): *Firmicutes*.

Classe : *Bacilli*.

Ordre : *Bacillales*.

Famille : *Staphylococcaceae*.

Genre : *Staphylococcus*.

Espèce : *Staphylococcus aureus* (Delarras, 2007).

➤ **Pouvoir pathogène**

1- Infections suppuratives

S. aureus provoque des infections superficielles cutanées, sous-cutanées et muqueuses comprenant les furoncles, anthrax, panaris, impétigos, abcès, cellulites et lymphangites (Perez, 2013).

2- Infections associées aux toxines (infections toxémiques)

• **Intoxications alimentaires**

La consommation des aliments contaminés par des toxines de *S aureus*, comme les produits laitiers et les produits d'origine animale, conservés à température ambiante après la cuisson, provoquent une intoxication alimentaire, ce qui induit l'apparition de symptômes soudains dans les 2 à 6 heures suivant l'ingestion de l'aliment. Cette intoxication est caractérisée par des nausées, des vomissements, des crampes abdominales et une diarrhée aqueuse et non sanguinolente (Freeman-Cook, 2006; Parija, 2009; Delarras, 2014).

• **Pneumopathies nécrosantes**

S. aureus représente une cause rare de pneumonie communautaire. La pneumonie nécrosante à *S. aureus* sécrétant de leucocidine de Panton-Valentine est une maladie grave caractérisée par une mortalité très élevée (Mortaza et al., 2010 ; Laverdure et al., 2014).

- **L'entérocolite staphylococcique**

L'entérocolite à staphylocoque est rare, mais peut être grave et parfois fatale (**Libert et al., 2009 ; Thakkar et al., 2010**).

2. Les antibiotiques

2.1. Définition

Un antibiotique est une substance antimicrobienne d'origine biologique, produite par un microorganisme (champignon microscopique et bactérie) ou par synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres microorganismes (**Boulaïbal, 2006**).

2.2. Classification des antibiotique

Il existe plusieurs modalités de classification des antibiotiques d'utilité variable:

- La structure chimique de base exemple : β -lactamines, quinolones, aminoglycosides.
- La cible des bactéries : les antibiotiques peuvent agir sur les ribosomes, paroi ...etc.
- Le mécanisme d'action : inhibition de la synthèse protéique, inhibition de la synthèse des peptidoglycanes ...etc.
- Spectre d'activité : groupe ou espèces bactériennes sensibles (**Hnich, 2017**).

2.3. Mode d'action des antibiotiques

Chaque classe d'antibiotique à un effet spécifique dirigé contre les micro-organismes : on parle d'un effet bactéricide ou bactériostatique (**Delplanque, 2018**).

- **Effet bactéricide**

Certains antibiotiques attaquent les peptidoglycanes de la paroi bactérienne ce qui cause une déstabilisation de la bactérie et entraîne sa mort. Il s'agit de l'action bactéricide, autrement dit qui tue les bactéries (**Battraud, 2017**).

- **Effet bactériostatique**

Les antibiotique agissent sur le système protéique de la bactérie en se fixant sur la sous unité 50s du ribosome bactérien entraînant une inhibition de la synthèse protéique. La bactérie ne meurt pas mais ne peut plus se développer ni se multiplier, on parle de

bactériostatisme; l'antibiotique est donc capable d'inhiber la multiplication des bactéries sans les tuer (**Battraud, 2017**).

2.4. Concentration minimale inhibitrice d'un antibiotique (CMI)

La concentration minimale inhibitrice donne une idée sur la sensibilité d'un germe vis à vis d'un antibiotique. Celle-ci est d'autant plus grande que la CMI est basse. La CMI d'un antibiotique sur une souche étudiée est définie comme la plus faible concentration d'antibiotiques inhibant (en milieu liquide ou gélosé) toute croissance bactérienne visible à l'œil nu, après 18 à 24 heures d'étuve à 36°C (**caquet, 2010**).

2.5. Concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide est la plus petite concentration d'antibiotiques qui laisse un faible pourcentage de bactéries survivantes. La CMB est déterminée secondairement à la CMI; on dénombre les bactéries survivantes en présence de concentrations d'antibiotique supérieures à la CMI. On utilise la méthode de dilution en milieu liquide d'après Woolfrey et Lally (**Woolfrey et al., 1986; courvalin et al., 1996**).

2.6. Résistances aux antibiotiques

➤ Résistance bactérienne naturelle

Si les antibiotiques, molécules naturelles, sont synthétisés par la plupart des micro-organismes pour supplanter d'autres micro-organismes dans un environnement donné; ces substances peuvent ne pas être actives sur tous les micro-organismes. On dira que ces micro-organismes ont une résistance naturelle vis-à-vis de cette molécule. La résistance naturelle à un antibiotique donné est un caractère présent chez toutes les souches de la même espèce (**Courvalin et al., 2001**).

➤ Résistance acquise

Une résistance acquise se produit quand un microorganisme particulier acquiert une aptitude à résister contre un agent antimicrobien auquel il était déjà sensible auparavant. Elle peut provenir d'une mutation chromosomique de gènes impliqués dans les processus physiologiques normaux ou les structures cellulaires de la bactérie, d'une acquisition de gènes de résistance étrangers à partir d'une autre source au moyen de plasmides, de bactériophages ou de transposons (**Davies et al., 1997; Chopra et al., 2013**).

2.7. Antibiogramme et méthode des disques

2.7.1. Antibiogramme

L'antibiogramme est avant tout un outil d'aide à la décision thérapeutique en catégorisant les bactéries en: bactéries sensibles, intermédiaires ou résistantes. Il évalue principalement l'effet bactériostatique. C'est un outil d'aide au diagnostic et aux investigations épidémiologiques (grâce à la comparaison des antibiogrammes, tant à l'échelon individuel que collectif) (Hallal, 2011).

2.7.2. Méthode des disques

- Des disques de papier buvard imprégnés d'une dose connue d'antibiotique, sont placés à la surface d'une boîte de Pétri contenant un milieu solide (Mueller Hinton)ensemencé auparavant par inondation avec la culture bactérienne.
- À partir des disques, l'antibiotique diffuse dans la gélose.
- Après 24 heures d'incubation à 37 ° C, chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne dont le diamètre est plus ou moins grand selon l'antibiotique considéré. Le diamètre, mesuré en mm, est relié de façon linéaire à la CMI (Figure 02). Plus le diamètre de la zone indemne de colonies bactériennes est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus le germe est résistant (caquet, 2010).

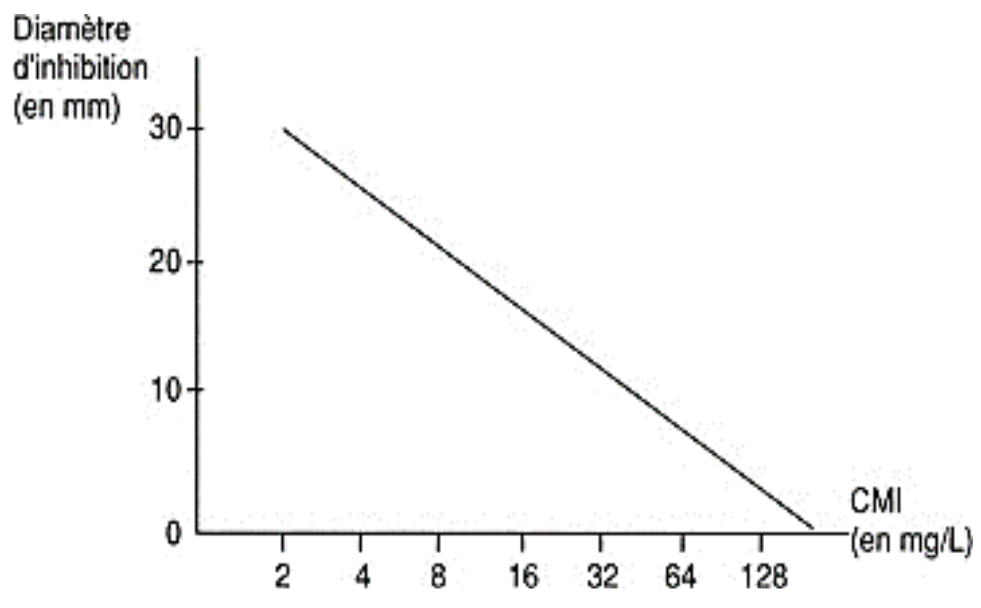


Figure 2: Courbe De la CMI par diamètre d'inhibition (caquet, 2010).

Chapitre N°2 :
l'Aromathérapie et les huiles
essentielles

1. Aromathérapie

1.1. Historique

L'histoire de l'aromathérapie se confond avec celle de la phytothérapie jusqu'au XXème siècle. En effet, le terme « aromathérapie » dérivé du latin « arôme = odeur » et du grec « thérapein = soin ». Il a été créé en 1928 par le chercheur Lyonnais M. Gatte. On raconte qu'il a découvert les propriétés de l'huile essentielle de lavande dans une explosion dans le laboratoire de parfumerie et qui l'a été gravement brûlé. Il mettait la main dans un vase rempli d'huile essentielle de lavande. La brûlure a disparu rapidement, ne laissant aucune cicatrice ni infection (Yfrah et Ghali, 2020).

Depuis le XXème siècle, une grande avancée a eu lieu grâce aux méthodes d'analyses modernes (ex : chromatographie en phase gazeuse, spectrométrie de masse). En effet, grâce à l'étude de la composition moléculaire des HE, il devient possible de supposer l'effet thérapeutique de celles-ci et par conséquent d'orienter les études pharmacologiques (Baudoux, 2017).

1.2. Définition

Dans le domaine médical, l'aromathérapie se définit comme une thérapeutique utilisant les huiles essentielles végétales par voie interne ou externe. Au terme « aromathérapie » est donc le plus souvent associée la notion d'huiles essentielles.

Cependant, certains auteurs souhaitent respecter à la lettre l'étymologie du mot « aromathérapie » (du latin aroma, arôme, et du grec therapia, traitement) pour définir cette thérapie comme le traitement des maladies par les arômes.

D'une manière générale, l'aromathérapie peut se définir comme une thérapeutique naturelle utilisant les extraits de plantes aromatiques pour soigner ou prévenir les maladies ; elle s'intègre dans le cadre de la *phytothérapie* qui, elle, fait appel à toutes les plantes dotées de vertus médicinales (Lardry, Haberkorn, 2007).

1.3. Différence entre aromathérapie et phytothérapie

La phytothérapie est la médecine par les plantes. Elle se décline sous de très nombreuses formes (tisanes, extraits secs ou fluides, macérats, sirops, suspension intégrale de plantes fraîches...).

En aromathérapie, branche de la phytothérapie, on utilise une seule partie de la plante et sous une forme très concentrée. Les techniques d'extraction des huiles essentielles sont plus délicates que celles employées en phytothérapie.

Si en phytothérapie on utilise souvent le totum de la plante, ce n'est pas le cas en aromathérapie. Cette notion est importante, car chaque organe de la plante fournit une huile essentielle différente (**Festy, 2015**).

1.4. Aromatogramme

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des HE testées, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée pendant plus de 50 ans d'utilisation mondiale. Dans l'aromatogramme on remplace les antibiotiques par des HE afin de tester la sensibilité des bactéries (**Boudjemaa et Ben Guegua, 2010**).

2. Huiles essentielles

2.1. Historique

Les huiles essentielles sont connues depuis des millénaires pour leur action bénéfique sur l'homme. Quatre mille ans avant J.C, les égyptiens les utilisaient déjà comme parfum dans les momifications des corps. Il faudra attendre le XVI^{ème} siècle pour voir apparaître la généralisation de leur production et de leur utilisation, grâce aux travaux sur les huiles essentielles de romarin, de bois de genièvre et de lavande (**Chouitah, 2012**).

Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. René-Maurice Gattefosse a créé, en 1928, le terme « aromathérapie » et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés ; ses résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches (**Besombes, 2008**).

2.2. Définition

Les HE appelées encore « essences » ou « essences aromatiques végétales » sont des substances odorantes, volatiles et de consistance huileuse, contenues dans les plantes. Elles

sont fabriquées à partir des sucres issus de la photosynthèse, par des cellules sécrétrices situées, le plus souvent, dans les fleurs et les feuilles. Mais il est aussi possible d'utiliser le fruit, le bois ou encore la racine du végétal considéré. Les huiles essentielles sont à la fois des parfums et des remèdes naturels. Elles doivent être utilisées à très faibles doses, car leurs principes actifs sont hyper concentrés (**Balz, 1986 ; Roulier, 1990**).

Les huiles essentielles ont été considérées comme des agents antimicrobiens les plus efficaces contenus dans les plantes aromatiques. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums (**Sipailiène et al., 2006**).

2.3. Classification des huiles essentielles

Selon le pouvoir spécifique sur les germes microbiens et grâce à l'indice aromatique obtenu par des aromatogrammes, les huiles essentielles sont classées en trois groupes :

- Les huiles majeures.
- Les huiles médiums.
- Les huiles terrains (**Chakou, Bassou, 2007**).

2.4. Répartition et localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes de la plante, tels que : dans les sommités fleuries (*la carotte sauvage, menthe, lavande*), les feuilles (*eucalyptus, laurier*), les rhizomes (*gingembre*), les fruits (*agrumes, badiane, anis*), les racines (*Vétiver*), les graines (*muscades*), bien que cela soit moins habituel dans des écorces (*Cannelier*) (**Bellakhdar, 1997; Gonzalez et al., 2007**).

2.5. Cellules Secretrices des huiles essentielles

Les cellules sécrétrices peuvent se situer dans n'importe quel organe de la plante aromatique. En fonction du végétal, les essences peuvent être sécrétées dans un ou plusieurs d'entre eux. Leur composition chimique dépend de l'organe d'où elles proviennent. Par exemple, la cannelle de Ceylan possède une écorce et des pétioles riches en cinnamaldéhyde tandis que les feuilles le sont plutôt en eugénol (**Franchomme et al., 2001**).

En fonction de l'organe considéré, on distingue plusieurs types de cellules sécrétrices :

- Les cellules épidermiques (pétales) ;
- Les poils sécréteurs périphériques (tiges, feuilles, calices) ;
- Les cellules sécrétrices épaisses (tiges, écorces, racines, graines, feuilles) ;

- Les poches sécrétrices (provenant de cellules sécrétrices modifiées), (**Faucon et Lobstein, 2015 ; ziti, 2019**).

➤ **Synthèse des essences**

La synthèse des essences est issue du métabolisme secondaire des plantes, à partir du fructose provenant de la photosynthèse. Celui-ci sera métabolisé directement en PEP (Phosphoénolpyruvate) ou après plusieurs réactions intermédiaires en IPP (Isopentényl-pyrophosphate) qui serviront de base à la synthèse des molécules aromatiques volatiles via deux voies principales :

- **La voie des terpènes** : elle consiste en la conjugaison de plusieurs unités d'IPP suivie de transformations (cyclisation, hydrogénation, oxygénation...) permettant l'obtention des mono, di- ou sesqui- terpènes constituant un grand nombre des familles chimiques contenues dans les HE (phénols, alcools, oxydes, aldéhydes, cétones...) (**Franchomme et al., 2001 ; Faucon et Lobstein, 2015 ; Baudoux, 2017**).
- **La voie du phénylpropane** : après passage par des intermédiaires tels que l'acide shikimique ou cinnamique, elle aboutit à des substances aromatiques tels que certains acides (acide salicylique), leurs esters (salicylate de méthyle), certains phénols (eugénol)... (**Franchomme et al., 2001 ; Faucon et Lobstein, 2015 ; Baudoux, 2017**).

2.6. Caractéristiques physiques

Les huiles essentielles sont composées de molécules aromatiques de très faible poids moléculaire. Elles sont très inflammables à température ambiante, très odorantes et liquides (quelques-unes sont visqueuses comme l'HE de myrrhe et de houblon). A 10°C : certaines HE subissent une cristallisation sans conséquence sur leur composition chimique (HE de Thym vulgaire à thujanol ou de Rose). Lorsqu'elles sont exposées à l'air, les huiles essentielles s'évaporent. Elles ont peu de couleurs. Elles sont généralement moins denses que l'eau, à l'exception de celles issues des arbres, des clous de girofle et de la cannelle. Elles ont un indice de réfraction élevé déviant la lumière la plus polarisée (optiquement actives) (**Bruneton, 1999 ; Rhayour, 2002 ; Degryse et al., 2008 ; Desmares et al., 2008**).

Les huiles essentielles sont extrêmement difficiles à dissoudre dans l'eau ou parfaitement insolubles. Elles peuvent être emportées par la vapeur d'eau et existent dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable, tendant à s'agréger en grosses gouttelettes. D'autre part, Elles sont solubles dans les solvants organiques courants (**Bruneton, 1999 ; Rhayour, 2002 ; Benini, 2007 ; Benayad, 2008**).

2.7. Composition chimique

La composition des huiles essentielles est très complexe ; ce sont des mélanges fortement variables et analysables. Leurs constituants appartiennent, de façon quasi exclusive à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane . Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (**Benayad, 2008 ; Guinoisseau, 2010**).

2.8. Analyse des huiles essentielles

Pour l'identification qualitative et quantitative des différents constituants d'une huile essentielle, on peut utiliser les méthodes suivantes : CG, CG/SM, HPLC, RMN, IR, etc La chromatographie en phase gazeuse (CG) est la méthode de référence dans l'analyse des HE. Elle s'applique à des échantillons gazeux ou susceptibles d'être vaporisés sans décomposition dans l'injecteur. La phase mobile est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur (**Arpino et al., 1995 ; Audigie et al., 1995 ; Lehotay et Hajslova, 2002**).

2.9. Les procédés d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. Cette diversité est due à la variété des matières premières et à la sensibilité considérable de certains de leurs constituants.

a. L'hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode la plus couramment employée pour l'extraction d'une huile essentielle. Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'huile essentielle sera alors séparée par différence de densité. A la fin, on aura une phase aqueuse (hydrolat) et une phase organique surnageante (huile essentielle) (**Figure 03**). La durée d'hydrodistillation est de trois à six heures en fonction de la matière végétale à traiter. Elle peut avoir une influence sur le rendement en huile essentielle et sur sa composition chimique (**Meyer, 1984 ; Bruneton et al., 1993 ; Unido, 2008**).

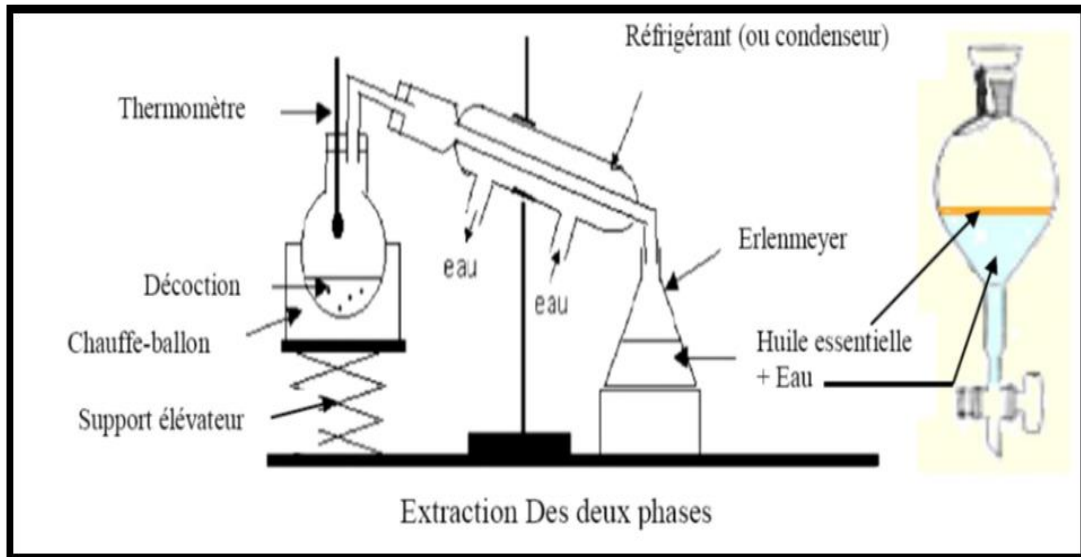


Figure 3: Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation des HE (Lagunez, 2006)

b. Distillation à vapeur saturée (entraînement à la vapeur d'eau)

Le principe de la distillation à vapeur saturée est analogue à l'hydrodistillation. Toutefois, le matériel végétal n'est pas en contact direct avec l'eau ; il est placé sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic. La vapeur va détruire les cellules végétales et libérer les molécules aromatiques. Ces composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau qui traverse le végétal ; ils sont ensuite entraînés dans un serpentin de refroidissement.. Là, les vapeurs refroidies retournent à l'état liquide formant un mélange « eau+ huile essentielle » appelé distillat. Recueillies dans un essencier, l'huile essentielle et l'eau florale se séparent par simple différence de densité (**Figure 04**). L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (**Unido, 2008 ; Neffati, 2010**).

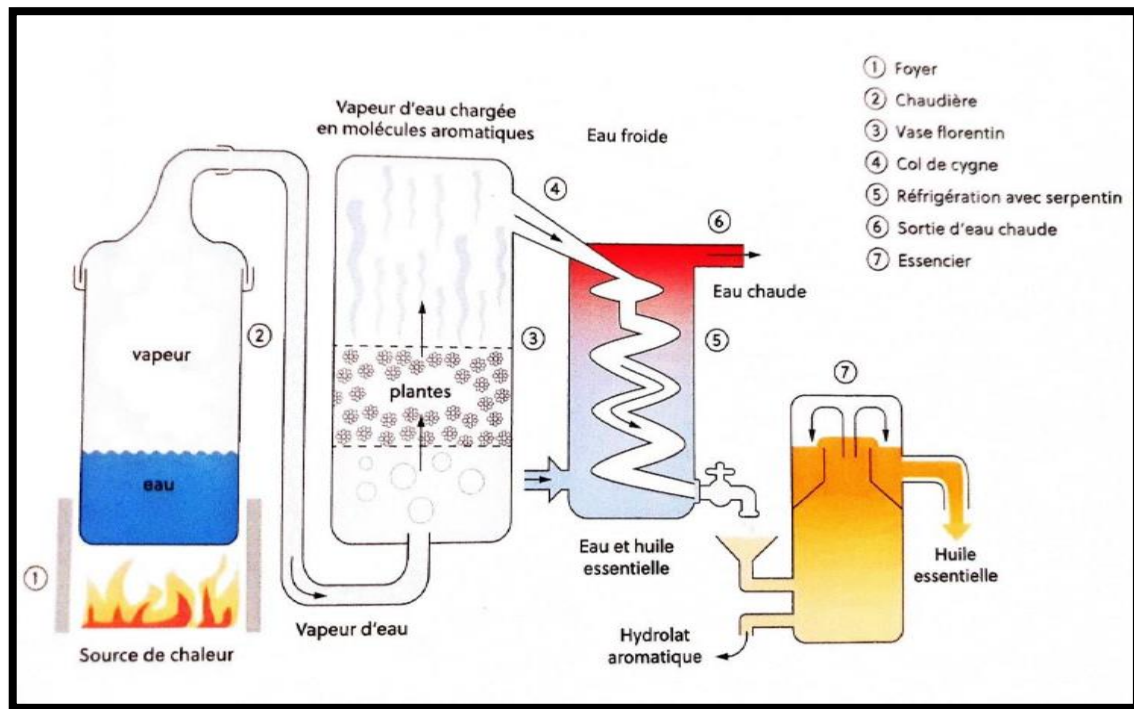


Figure 4: Distillation par entraînement à la vapeur d'eau (Couic-Marinier, 2017)

c. Hydro diffusion

Elle consiste à pulvériser de la vapeur d'eau à travers une masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi, le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie de temps, de vapeur et d'énergie. Cette technique avec celle de l'entraînement à vapeur d'eau sont usuellement employées par les industriels pour la production d'huiles essentielles et d'hydrolats à grande échelle (bassereau et al, 2007 ; Unido, 2008).

d. Expression à froid

La technique est réservée à l'extraction des essences volatiles contenues dans les péricarpes d'agrumes en déchirant ces dernières par un traitement mécanique. Elle consiste à rompre ou dilacérer les parois des sacs oléifères contenus dans le mésocarpe situé juste sous l'écorce du fruit, l'épicarpe, pour en recueillir le contenu qui n'a subi aucune modification.

Les essences de *Citrus* ont longtemps été extraites manuellement. La mécanisation et l'industrialisation de la technique d'expression à froid ne s'étant effectuées qu'au début du XX^e siècle, afin de diminuer les coûts de production et d'améliorer les rendements pour faire face à l'augmentation de la demande. Les systèmes récents, comme la « *Food Machinery Corporation-in-line* » (FMC), permettent d'extraire le jus de fruit et l'essence de manière

quasi-simultanée sans contact des deux. C'est pourquoi l'expression à froid est la méthode de choix pour extraire ces essences, d'autant que la distillation n'est plus une technique très appropriée. En effet, la distillation produit des huiles aromatiques de moindre qualité principalement due à une présence importante d'aldéhydes, composés sensibles à l'oxydation et à la chaleur (**Belsito et al, 2007**).

e. Extraction par solvant organique

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer, dans un extracteur, un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. En fonction de la technique et du solvant utilisé, on obtient des hydrolysats (eau comme solvant), des alcoolats (éthanol dilué), des teintures (éthanol/eau), des résinoïdes (extraits éthanoliques concentrés) et des concrètes (extraits à froid et à chaud au moyen de solvants divers). L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement. Cependant, les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysante de la vapeur d'eau (**Lucchesi, 2005 ; Ochoa et Raul, 2005**).

f. Extraction par micro-ondes

Le procédé (**Figure 05**) consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale broyée en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les microondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires. L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement (**Bruneton, 1999**).

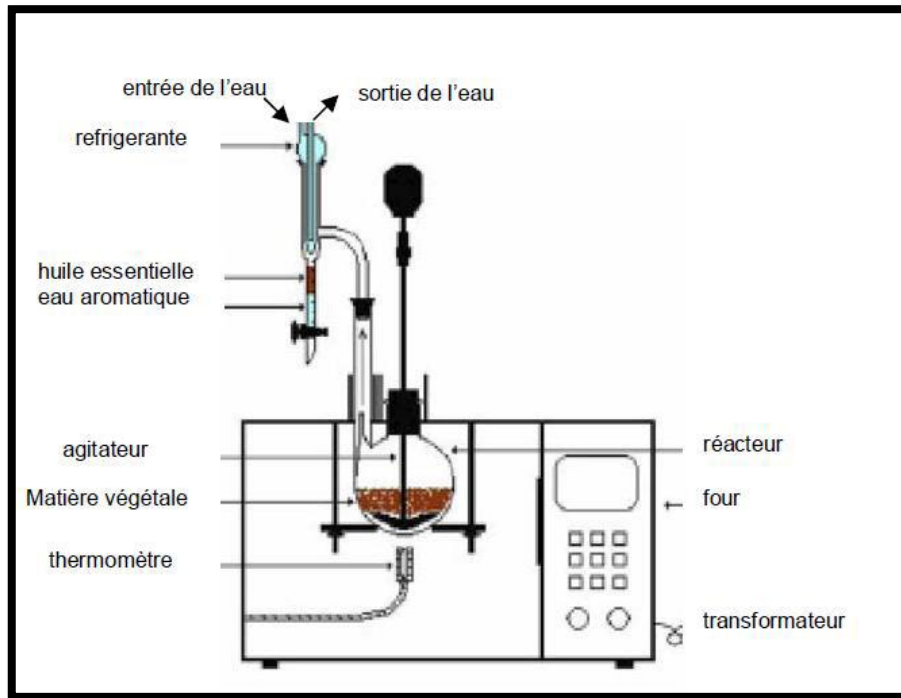


Figure 5: Principe schématisé de l'appareillage d'extraction sous micro-ondes (Lagunez, 2006)

2.10. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

i. En pharmacie

Le contenu des plantes en essence et la nature chimique des constituants leurs confèrent de grandes perspectives d'application. Ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médicale et pharmaceutique. En effet, les huiles essentielles ont un champ d'activité très large, elles inhibent la croissance des bactéries, et des levures. et également des moisissures, de plus elles sont très efficaces sur les microorganismes résistants aux antibiotiques (Koba *et al.*, 2004 ; Duarte *et al.*, 2005).

❖ Activité antibactérienne

Depuis l'antiquité, les extraits aromatiques de plantes ont été utilisés dans différentes formulations, comme les médicaments et la parfumerie. Les qualités microbiologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues. Les huiles essentielles ont été considérées comme agents antimicrobiens les plus efficaces dans ces plantes. Toutefois, la première mise en évidence de leur action contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix. Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (Toure, 2015).

Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif. Toutefois, les bactéries à Gram négatif paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la nature de leur paroi cellulaire (**Toure, 2015**).

Elles possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches de bactéries, mais d'une manière générale leur action se déroulent en trois phases :

- 1- Attaque de la paroi bactérienne, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- 2- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- 3- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (**Caillet et Lacroix, 2007**).

❖ **Activité antifongique**

Les activités antifongiques de nombreuses huiles essentielles incluant les huiles de thym, de citronnelle, de cannelle et de *Melaleuca alternifolia*, ont été décrites. L'efficacité des huiles extraites des achillées, *Achillea fragrantissima*, *A. terrefolia*, et *A. millefolium*, contre la levure pathogène *Candida albicans*, a également été mise en évidence (**Toure, 2015**).

ii. En cosmétologie

C'est l'un des plus grands consommateurs des substances odorantes. En effet, les produits de toilettes (parfums, savons, laits, shampooings, pâtes et poudres, dentifrices), seront appréciés selon leur fragrance. L'homme étant toujours à la recherche de sensations nouvelles, les industries de la parfumerie et la cosmétique utilisent abondamment les substances odorantes volatiles pour l'élaboration des gammes de produits de plus en plus diversifiés (**Obame-Engonga, 2009**).

iii. En industrie agroalimentaire

Les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées dans la conservation des denrées alimentaires et cela grâce à leur activité antimicrobienne à large spectre sans pour autant dénaturer le goût car ces aromates entrent dans la composition des préparations alimentaires (**Kurita, Koike, 1982**).

iv. En agriculture

Les pesticides naturels basés, notamment, sur les huiles essentielles représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons. Les huiles essentielles sont utilisées comme agent

de lutte biologique dans plusieurs cas y compris le cas de niébé infectée par *Callosobruchus maculatus* (Isman, 2000 ; Dayan et al., 2009 ; Ilboudo, 2009).

2.11. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits inoffensifs. Comme tous les produits naturels: "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important car leur utilisation, est de plus en plus populaire. Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde , ou phototoxique (huiles de *citrus* contenant des furocoumarines) et d'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique (les cétones comme l'a-thujone). Il existe aussi quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancers (Piochon, 2008).

2.12. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances sensibles et très fragiles, ce qui rend leur stockage obligatoire pour limiter les risques de dégradation et de modification de leurs propriétés. Elles doivent donc être encapsulées dans un flacon opaque à l'abri de la chaleur et de la lumière (Valnet, 2000).

***Chapitre N°3 : Généralité
sur la plante étudiée***

1. La famille des Apiaceae

1.1. Historique

La famille des Apiaceae anciennement appelée Ombellifères, était déjà connue des anciennes civilisations chinoise et indienne du Mexique, ainsi que des Grecs et des Romains. Elle semble être la première famille de plantes à fleurs reconnue en tant que telle par les botanistes vers la fin du XVIe siècle. Ce fut aussi le premier groupe de plantes faisant l'objet d'une étude systématique publiée par Robert Morison en 1672 (Heywood et al., 1996).

1.2. Définition

Les plantes de la famille des Apiacées sont essentiellement des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou le plus souvent vivaces. Elles sont rarement ligneuses et arbustives, à plan floral fixe, à fleurs hermaphrodites, rarement dioïques ou polygames, disposées en ombelles, souvent munies à la base d'un verticille de bractées involucre ou composées de plusieurs ombelles simples (ombellules) presque toujours pourvues de bractéoles (involucelles) (Bach et al., 1979).

Les Apiacées sont faciles à reconnaître mais sont pourtant difficiles à distinguer entre elles (exemple il est difficile de faire la distinction entre la cigüe (*Conium maculatum* L.) avec la carotte sauvage (*Daucus carota* L.) (Jensch et al., 2008).

1.3. Distribution

La famille des Apiacées (*Apiaceae*) constituant les plantes aromatiques médiévales, est une famille de plantes dicotylédones. Elle comprend près de 3000 espèces réparties en 420 genres qui sont surtout présentes dans les régions tempérées du monde (Figure 06). En Algérie, elle est représentée par 55 genres, 130 espèces et 27 sous – espèces. Les espèces présentent une distribution bipolaire (dans toutes les régions tempérées), mais la majorité se trouve dans l'hémisphère Nord tempéré (Tabanca et al., 2006).

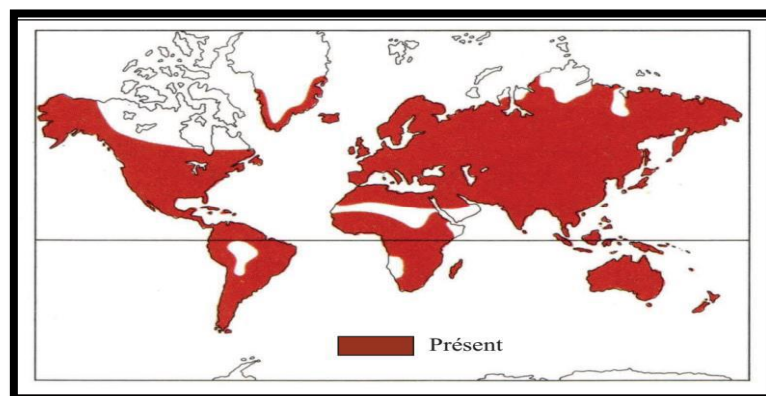


Figure 6: Répartition géographique mondiale des Apiaceae (Djarri, 2011)

2. L'espèce *Daucus carota* L. (Carotte sauvage)

2.1. Définition

Le nom vernaculaire arabe de la carotte sauvage (*Daucus carota* L.) est « sennayria », et le nom berbère « asfarnaïa » pousse spontanément dans les régions méditerranéennes ; d'Europe, d'Asie et d'Afrique. On la retrouve aussi en Amérique du Nord, en Sibérie et au Nord et Est de l'Inde.

En Algérie elle existe au bord des routes, coteaux, prairies sablonneuses et rocailleuses, rivages et montagnes (Mohammedi, 2012).

2.2. Classification

Selon le **tableau 01**, la carotte sauvage est classée comme suit :

Tableau 1 : Classification de la carotte sauvage (*Daucus carota* L.) (Botineau, 2010).

Empire	<i>Eukaryota</i>
Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Viridaeplantae</i>
Embranchement	<i>Tracheophyta</i>
Sous-embranchement	<i>Euphyllophytina</i>
Infra-embranchement	<i>Radiatopses</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-Classe	<i>Cornidae</i>
Superordre	<i>Aralianae</i>
Ordre	<i>Araliales</i>
Famille	<i>Apiaceae</i>
Sous famille	<i>Apioideae</i>
Tribu	<i>Caucalideae</i>
Genre	<i>Daucus</i>
Espèce	<i>Daucus carota</i> L.

2.3. Description morphologique

La Plante: est de taille moyenne (0,6 à 2 m au moment de la floraison). Nous la connaissons pour sa racine pivotante développée en organe de réserve, charnue, cassante,

pigmentée (rarement blanche), agréable au goût et non ramifiée (en sol meuble, sans obstacle) (Reduron, 2007).

Les feuilles: les feuilles sont minces, souvent mates, avec un pourtour triangulaire. Elles sont très divisées-pennées, à divisions écartées très allongées, étroites, linéaires ou lancéolées-linéaires (Figure 07) (Reduron, 2007).



Figure 7: les feuilles de la carotte sauvage (photo personnelle, 2021)

Les fleurs: les inflorescences sont constituées de grandes ombelles composées de fleurs blanches jaunâtres (Figure 08), allogames et protandres, regroupées en ombellules. Chaque fleur est constituée de cinq sépales, cinq pétales, cinq étamines et deux carpelles (Tirilly et Bourgeois, 1999).



Figure 8: Les fleurs de la carotte sauvage (photo personnelle, 2021)

Les graines: les fruits (communément appelés graines de façon abusive) sont des diakènes albuminés de forme elliptique qui contiennent des flavonoïdes (**Figure 09**), des polyphénols et une huile essentielle constituée d'asarone, de carotol, de pinènes, de limonène, de sesquiterpènes, et de β -bisabolène. Les graines contribuent à la réduction du stress oxydatif et ont montré une réduction significative du taux de cholestérol total, de triglycérides et des HDL et VLDL (**Tirilly et Bourgeois, 1999 ; Singh *et al.*, 2010**).



Figure 9: Les graines de la carotte sauvage (photo personnelle, 2021)

2.4. Propriétés naturelles et utilisations

Daucus carota L. est une plante aromatique utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle. Elle était notamment bien connue chez les Grecs et des Romains qui l'utilisaient déjà comme remède (**Mohammedi, 2012**).

Renforce l'action du foie, la sécrétion d'urines. La vitamine A contenue améliore la vision. La racine est un traitement des oxyures chez l'enfant. Les feuilles sont un bon diurétique, sont utilisées contre les cystites, soignent les troubles digestifs (**Chaabane et Latreche, 2020**).

Plusieurs composants impliqués dans la protection contre la maladie cardiovasculaire comme la vitamine C, les flavonoïdes (**Voutilainen et al., 2006**).

De nombreux travaux scientifiques ont montré que les caroténoïdes contenus dans la plante de carotte participent dans la lutte contre le cancer des poumons, du sein et de la prostate, mais aussi des tumeurs de l'estomac, de l'intestin ou de l'œsophage (**De Groot, 1998**).

Elle est également employée comme épice. Ses composés les plus caractéristiques sont des coumarines et des esters sesquiterpéniques. Jabran et coll. rapportent dans une étude que *Daucus carota* L est largement utilisée dans la médecine populaire tunisienne, pour ses propriétés carminatives, apéritive, emménagogue et diurétique. Par ailleurs, cette espèce a la réputation d'être anti-diarrhéique et a été utilisée contre différentes infections cutanées ainsi que contre les coliques néphrétiques (**Mohammedi, 2012**).

2.5. L'huile essentielle de *Daucus carota* L

L'essence est légèrement jaune ou incolore, fluide, à odeur caractéristique de carotte sauvage, Elle est employée couramment comme ingrédient dans beaucoup de recettes alimentaires. C'est également un composant important dans l'industrie cosmétique et pharmaceutique notamment grâce à ses propriétés de conservation (**Lanore, 2009 ; Mohammedi, 2012**).

2.6. La composition chimique de l'huile essentielle de *Daucus carota*

Plusieurs enquêtes sur la composition chimique de l'huile essentielle de *D. carota*, ont été réalisées. En particulier, la composition de l'huile des graines, qui a diverses applications dans la formulation de certaines boissons alcoolisées, et des parfums (**Lanfranchi et al., 2010**).

Diverses compositions de l'huile essentielle de cette plante ont été signalées, caractérisées par un élément principal, α pinène (jusqu'à 55%), sabinène (jusqu'à 60%), géraniol (jusqu'à 50%), des esters (jusqu'à 81%), et carotol (jusqu'à 77%) (**Djarri et al., 2006 ; Casanova et al., 2009**).

L'huile des ombelles en fleur de *D. carota subsp.* est composée principalement de monoterpènes hydrocarbonés (84%), et les principales composantes se sont avérées α -pinène (41%) et sabinène (18%) (**Staniszewska et Kula, 2001**).

La composition de l'huile essentielle obtenue à partir des parties aériennes, comparé à trois stades de développement, (stade végétatif, en pleine floraison, et ombelles mûrs) montre que toutes les huiles ont été dominées par des monoterpènes hydrocarbonés avec α -pinène (16-43%), sabinène (21-45%) et les mycènes (4-13%) comme principaux composants (**Bauer et al., 1990**).

Cependant selon une étude, les huiles essentielles des feuilles, tiges, et ombelles de *D. carota* de Corse recueillies avant la floraison et au stade de pleine floraison contenaient essentiellement des monoterpènes, à savoir α -pinène (28-39%) et le sabinène (7-20%). Inversement, l'échantillon d'huile isolé des ombelles au stade de floraison a été largement dominé par (E)- méthylisoeugenol (41%) suivit par α -pinène (19%) et le sabinène (10%) (**Lawrence, 1994**).

*Deuxième Partie : Partie
expérimentale*

Chapitre N°1 : Matériel et méthodes

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'activité antibactérienne de deux sortes d'huiles essentielles de carotte sauvage : une huile extraite de la partie aérienne (fleurs) de la carotte sauvage cueillie à l'Est du pays (Guelma) et une autre industrielle (Eurl Arom Est- Annaba) extraite des graines de la plante. L'effet antibactérien a été testé sur trois souches bactériennes potentiellement pathogènes et référencées : *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa* qui sont des bactéries à Gram - et une bactérie à Gram + qui est *Staphylococcus aureus*.

Parallèlement à ce travail des tests phytochimiques sur les différentes huiles ont été réalisés afin de confirmer la présence ou l'absence de certains principes actifs.

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Les échantillons (sommités fleuries) de la carotte sauvage (*Daucus carota*) ont été récoltés des bords de la route nationale, à proximité d'oued sibous Guelma- el fedjoudj et ont été délicatement lavés à l'eau du robinet et séchés (**Figure 10**) à l'ombre pour être utilisés par la suite dans l'extraction de l'huile essentielle.

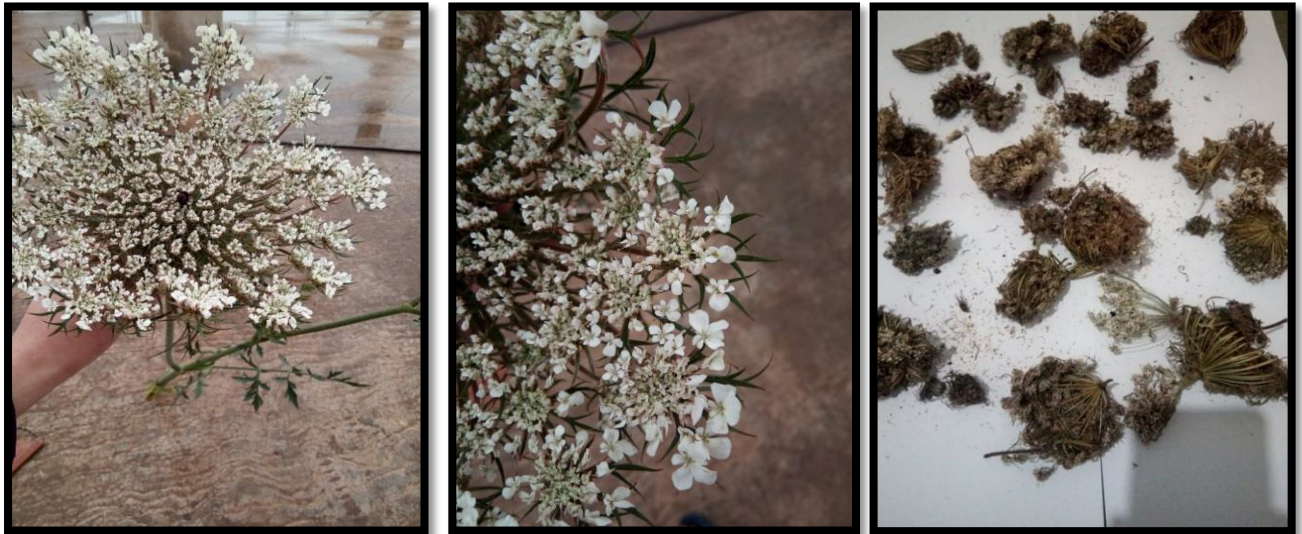


Figure 10: Les sommités fleuries fraîches et séchées de la carotte sauvage (photo personnelle, 2021)



Figure 11: Les graines de la carotte sauvage (photo personnelle)

Les graines des carottes sauvages (**Figure 11**) ont été récoltées dans la région de Berhal de la Wilaya d'Annaba.

1.2. Matériel microbiologique

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'Université du 8 Mai 1945- Guelma. Elles sont répertoriées dans le **tableau 02** çï dessous:

Tableau 2: : Les souches bactériennes utilisées dans l'étude

souche	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
référence	ATCC 25922	ATCC 25923	ATCC 27853

1.3. Milieux de cultures utilisés

Pour assurer la survie des bactéries et tester les huiles essentielles, plusieurs milieux de culture ont été utilisés:

- Le milieu Mac conkey (*E. Coli*), le milieu Chapman (*Staphylococcus aureus*) et le milieu King A (*Pseudomonas aeruginosa*).
- Le milieu Mueller – Hinton (MH): a été utilisé pour tester l'activité antibactérienne d'une substance donnée (antibiotiques et huiles essentielles).

2. Méthodes

2.1. Extraction de l'huile essentielle de la carotte sauvage

Les étapes d'extraction de l'huile essentielle (non industrielle) de la carotte sauvage a été réalisée au laboratoire de chimie pharmaceutique de l'institut des sciences médicales de l'université Badji Mokhtar -Annaba.

Le Matériel végétal (sommités fleuries) a été soumis à une hydro-distillation au moyen d'un dispositif d'extraction de type clévenger ; cette technique se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles.

L'opération consiste à introduire 100g de sommités fleuries sèches de la carotte sauvage dans un grand ballon en verre, on y ajoute les deux tiers d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements lors de l'ébullition. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le condensateur (**Figure 12**) Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. L'huile essentielle étant de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière (**Figure 13**) L'huile est récupérée et conservée dans une petite bouteille en verre sombre bien scellée à température basse (4,5 C°). Les extractions durent environ 2h 30 de temps. (**Nedjai, 2017**)

En ce qui concerne l'huile essentielle des graines de la carotte sauvage (huile essentielle industrielle), elle a été extraite par un dispositif de distillation industriel ayant le meme principe que l'hydrodistillateur de laboratoire mais produisant des quantités supérieures d'huile(**Nedjai, 2017**).

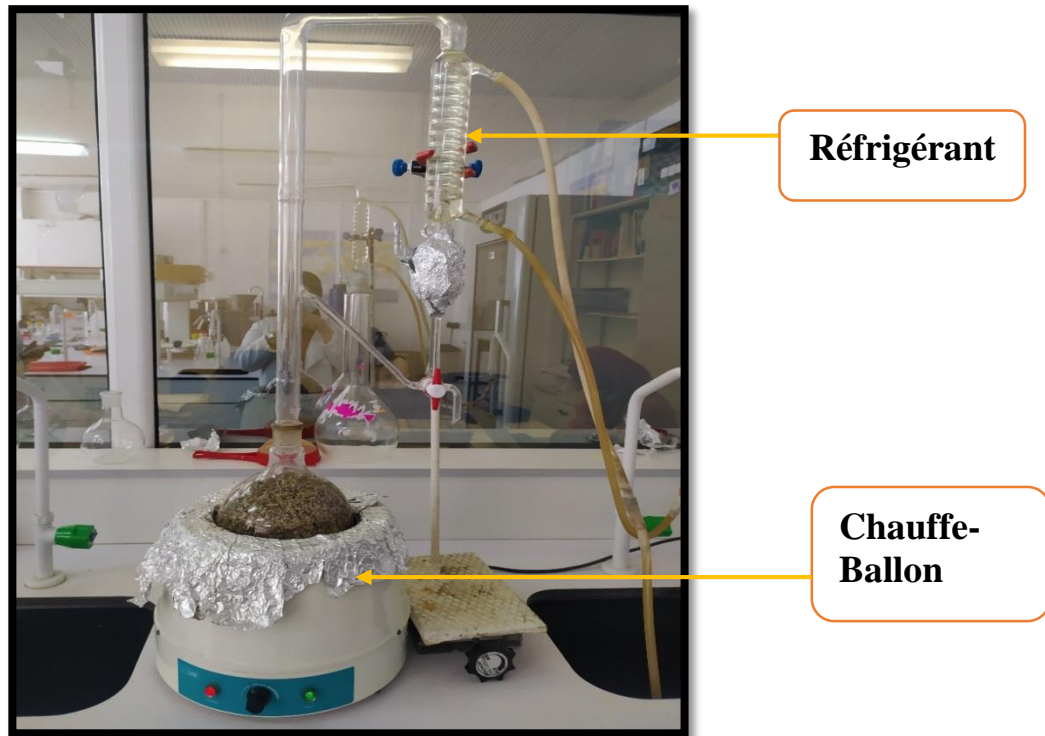


Figure 12: Début d'extraction dans un hydrodistillateur (Photo personnelle, 2021)

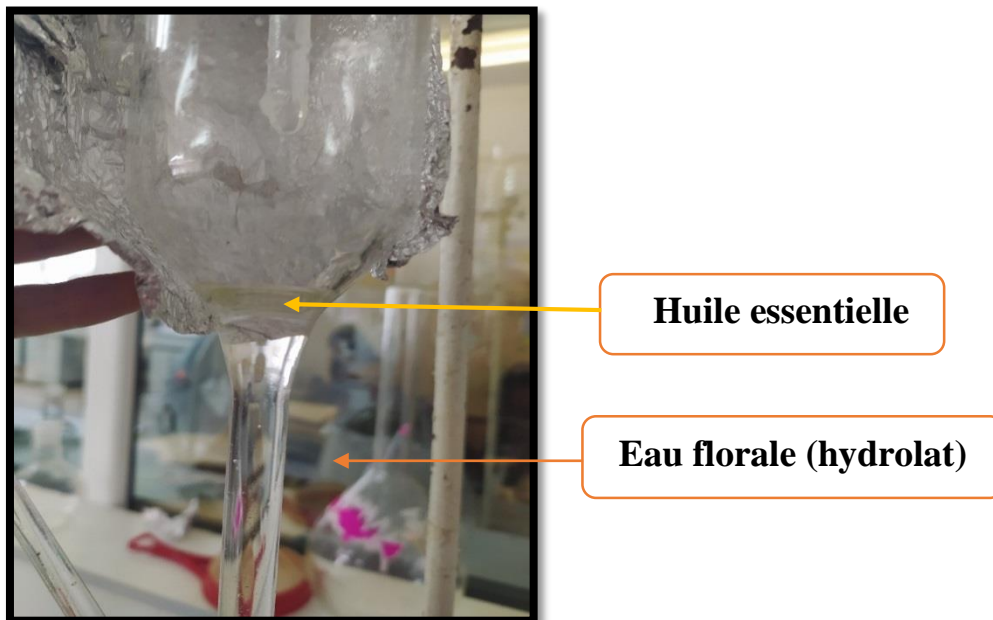


Figure 13: Distillat obtenu après hydrodistillation (Photo personnelle, 2021)

2.2. Rendement

Le calcul du rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de la matière végétale et la masse de l'huile essentielle obtenue, selon la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = \text{M}'/\text{M} \times 100$$

- **RHE** : Rendement en huile essentielle en %.
- **M'**: Masse de l'huile essentielle en gramme.
- **M** : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme (**Belyagoubi, 2006**).

2.3. Evaluation de l'activité antibactérienne des deux types d' huiles essentielles de la carotte sauvage

2.3.1. Préparation des suspensions bactériennes

La méthode de préparation de l'inoculum est celle préconisée par la CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), qui consiste à préparer, à partir d'une culture jeune de 18 à 24h de la bactérie étudiée sur un milieu gélosé, une suspension en solution saline (0.9% NaCl) équivalente au standard Mc Farland 0.5 (10^6 CFU/ml). Cette suspension peut être obtenue par la mesure de la densité optique (DO) allant de 0.08 à 0.1 lue à 625 nm (**Mahfouf, 2017**).

2.3.2. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

L'aromatogramme est une méthode inspirée de l'antibiogramme qui permet de déterminer l'activité inhibitrice de la croissance bactérienne, d'une huile essentielle (à la place d'un antibiotique) par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque de cellulose (papier whatman) imprégné de celle-ci. Cette méthode consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant de la gélose Muller Hinton (MH) (**annexe**), solidifiée et inoculée avec les suspensions microbiennes (des différentes bactéries utilisées) à l'aide d'écouvillons. Sur la surface de la gélose, sont distribués des disques de papier stériles de 6 millimètres de diamètre (Whatman TM) imbibés de 10 ml d'HE (**Goncalves et al., 2019**).

➤ Ensemencement

Cette opération se fait après la préparation de l'inoculum ; avec un écouvillon, on prend des colonies bactériennes, puis on frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose MH, de haut en bas, en stries serrées, un étalement uniforme en nappe et on laisse sécher les boîtes pendant 15 à 20 min (Noual, 2018).

➤ Distribution des disques

- Des disques de papier Wattman N°1 de 6 mm de diamètre ont été préparés, et stérilisés.
- Les disques sont par la suite chargés avec 10 µl de chaque HE (Huile essentielle des fleurs et industrielle des graines de la carotte sauvage) puis déposés à la surface des boîtes ensemencées (un disque par boîte). Un disque imprégné d'eau distillée stérile est déposé sur la gélose MH et utilisé comme témoin négatif.
- Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 18-24h. Trois essais sont réalisés pour chaque test
- Les diamètres sont mesurés en mm et le résultat étant la moyenne des trois essais.

➤ Lecture

Après incubation de 24 h, l'absence de croissance bactérienne exprimant une activité antimicrobienne se traduit par un halo translucide autour du disque, de même couleur que la gélose stérile et dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (exprimé en mm). Il est important de noter que la quantité d'HE déposée sur le disque varie selon les auteurs, excluant toute comparaison des valeurs des diamètres mesurés (Pibiri, 2006).

Il est à noter que la sensibilité des bactéries vis-à-vis des huiles essentielles est classée par le diamètre des halos d'inhibitions en :

- **Non sensibles** : diamètre < 8mm
- **Sensibles** : diamètre entre 8mm et 14 mm
- **Très sensibles** : diamètre entre 15mm et 19 mm
- **Extrêmement sensibles** : diamètre >20 mm (Ouis, 2015).

2.3.3. Choix des antibiotiques (antibiogramme)

Quatre disques d'antibiotiques mentionnés dans le **tableau 03** ci-dessous, ont été déposés sur la gélose MH et testés contre les bactéries utilisées dans l'étude, comme témoins positifs. Nous avons également utilisé un disque d'éthanol pur comme témoin positif.

Tableau 3: Propriétés des antibiotiques utilisés (Casfm, 2009)

Antibiotique	Abréviation	Charge du disque	Diamètre critique		
			résistante	intermédiaire	sensible
Gentamicine	GEN	10	<12	13-14	>15
Amoxicilline	AMX	25	<13	14-17	>18
Ceftazidime	CAZ	30	<17	18-20	>21
Céfoxime	CX	30	<14	15-17	>18

2.3.4. Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne (calcul des CMI)

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration en extrait pour laquelle, aucune croissance visible à l'oeil nu n'est observée. Elle a été déterminée par la méthode de dilution en milieu solide ; qui consiste à disperser l'extrait à des concentrations variables dans le milieu gélosé avant sa solidification, donc une gamme de concentration de l'HE diluée dans le DMSO a été préparée ; chaque dilution d'HE (500µl) a été incorporée à 19,5ml de MH maintenu en surfusion. Aussitôt, le mélange a été réparti dans des boîtes de Pétri. Après solidification du milieu, l'ensemencement a été exécuté par des spots à l'aide d'une pipette Pasteur. L'ensemble a été incubé 24h à 37C°. Un témoin de croissance a été réalisé (**Figure 11**) (Benjlali et al., 1986 ; Skandamis et Nycha, 2001; Billerbeck et al., 2002).

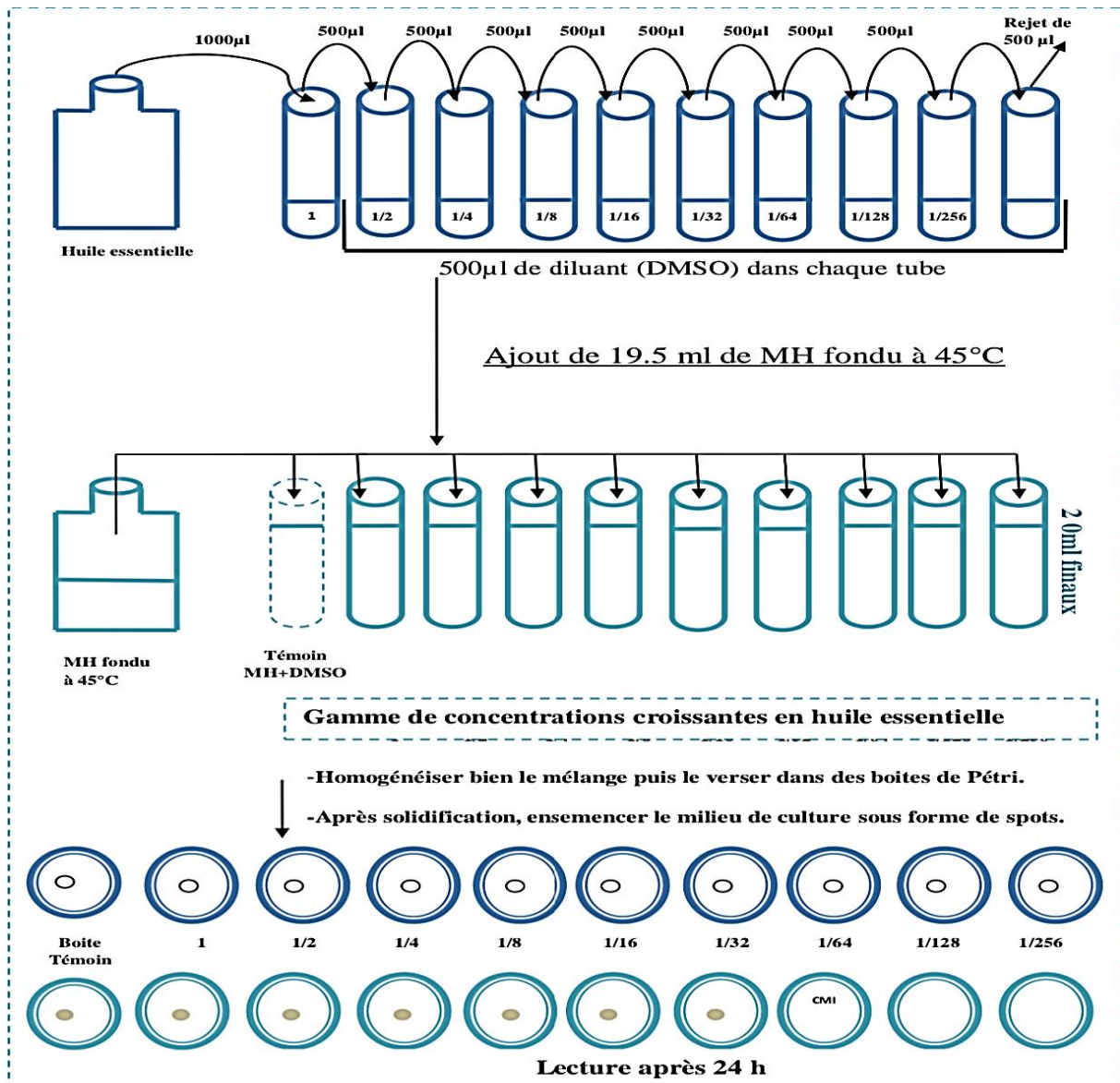


Figure 14: Détermination de la CMI sur milieu solide (Mahfouf, 2017)

2.4. Tests phytochimiques

L'un des objectifs fondamentaux des tests phytochimiques est de détecter différentes familles de métabolites secondaires présentes dans la matière végétale. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration avec des réactifs spécifiques de chaque famille de composés (Hagerman *et al.*, 2000).

Notre étude a porté sur la recherche des principaux groupes chimiques (alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, saponines, coumarines, terpènes, ...) au niveau des différentes parties de la carotte sauvage d'où on a extrait les deux types d'huiles essentielles utilisées (c'est à dire au niveau des sommités fleuries et des graines).

2.4.1. Préparation des extraits des différentes parties de la carotte sauvage

Avant d'effectuer les tests phytochimiques, deux différents extraits hydroalcooliques, ont été obtenus à partir des différentes parties de la carotte sauvage (sommités fleuries et des graines) servant de matière végétale pour extraire les huiles essentielles. L'opération d'extraction s'est déroulée selon les étapes suivantes :

- Verser 100ml de mélange méthanol-eau (70/30) bouillant sur 10g du matériel végétal.
- Agiter et laisser le mélange refroidir.
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier Whatman et récupérer le filtrat (extrait).

2.4.2. Principes actifs

- **Coumarines**

Introduire 5ml d'extrait dans un tube, ajouter 0,5ml de NH₄OH à 10%, mélanger et observer sous UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines (Hailuoa, 2015)

- **Alcaloïdes**

Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec les réactifs de Mayer et Wagner. 1ml de l'extrait est divisé en deux volumes égaux. Un volume est traité par 0,5 ml de réactif de Mayer, l'autre par 0,5ml de réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement, révèle la présence des alcaloïdes (Hailuoa, 2015)

- **Terpénoïdes**

5ml d'extrait est ajouté à 2ml de chloroforme et 3ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence des terpénoïdes (..aouli)

- **Saponosides**

On prend 2 g de la drogue végétale, on lui ajoute 80 ml d'eau distillée et on met le mélange à ébullition. Après filtration, on laisse refroidir la solution. Par la suite on agite le filtrat verticalement. L'apparition d'une mousse qui dure quelques instants indique la présence des saponines (Karumi et al., 2004).

- **Tanins**

A 10 g de la drogue végétale, on ajoute 200 ml d'une solution aqueuse de C₂H₅OH à 1%. On filtre et on teste le filtrat avec quelques gouttes d'une solution aqueuse de FeCl₃. L'apparition d'une couleur verte indique la présence de tanins (**Karumi et al., 2004**).

NB : pour préparer la solution aqueuse de FeCl₃: on ajoute à 1g de poudre de FeCl₃, 2ml d'eau distillée et on agite .

- **Flavonoïdes**

On ajoute à 10 g de la drogue végétale, 150 ml d'HCL diluée à 1%. On laisse macérer 24h. Après filtration, on prend 10 ml de filtrat et on lui ajoute une goutte de NH₄OH pour le rendre basique. L'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieur du tube à essai indique la présence de flavonoïdes (**Okmu, 2005**).

- **Mucilage**

A 1 ml d'une solution à analyser (solution du test des saponosides), on ajoute 5 ml d'alcool absolu (95%). L'apparition de précipités floconneux montre la présence de mucilage (**Adiaratou , 2001**).

Chapitre N°2 : Résultat et Discussion

1. Rendement en huile essentielle

Nous remarquons avec intérêt que le rendement en huile essentielle de la carotte sauvage extraite des graines (huile essentielle industrielle) (**0.4%**) par la méthode industrielle de l'entraînement à la vapeur est supérieur à celui de l'huile extraite des sommités fleuries sèches (**0.09%**) par hydrodistillation (**Tableau 04**). Il faut noter que la qualité et le rendement des HE dépend de plusieurs facteurs à savoir l'espèce (la génétique), l'organe utilisé de la plante, le degré de fraîcheur, la période de séchage de la plante, la zone géographique et la période de récolte, les pratiques culturales et la technique d'extraction (**Giordani et al., 2008**).

Nos résultats concorderaient avec ceux de **Mohammedi et al. (2013)**, qui ont trouvé un rendement en huile essentielle de carotte sauvage variant de 0,11% à 0,49% en utilisant l'hydrodistillateur comme appareil d'extraction de l'huile essentielle, à partir de différents organes de la plante.

Tableau 4: Rendement des HE de la carotte sauvage extraites des fleurs et des graines

Rendement de l'HE de <i>Daucus carota</i> L (fleurs)	Rendement de l' HE de <i>Daucus carota</i> L (graines)
0.09%	0.4%

2. Evaluation de l'activité antibactérienne des deux types d' huiles essentielles de la carotte sauvage

2.1. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme et antibiogramme)

2.1.1. *Escherichia coli*

Les résultats du **tableau 05** et **des figures 15** et **16** montrent qu'*E. coli* a été sensible vis-à-vis de l'huile essentielle extraite des fleurs avec un halo d'inhibition de 8mm de diamètre. Ce résultat ne concorde pas avec celui de **Kalemba et Kunicka (2003)** qui ont trouvé que l'huile essentielle issue de la partie aérienne de la carotte sauvage n'a aucun effet sur la même bactérie. Cependant, *E. coli* a été résistante vis-à-vis de l'huile essentielle industrielle issue des graines (petit halo d'inhibition de 4mm de diamètre). Nous avons remarqué avec intérêt que le halo d'inhibition obtenu avec l'HE de fleurs n'est pas loin de celui de l'éthanol pur (7mm). *E. coli* a également été très résistante vis à vis de plusieurs antibiotiques (**CX** et **CAZ** avec une absence de diamètre d'inhibition et **AMX** avec un diamètre de 11mm). Toutefois, elle a été très sensible vis-à-vis de **GEN** avec un diamètre de 19mm. Nous ne constatons donc que l'activité antibactérienne de l'HE de la carotte sauvage

extraite des sommités fleuries, vis-à-vis d'*E. coli* est supérieure à deux antibiotiques (CX et GAZ).

Tableau 5: Les diamètres d'inhibitions des huiles et des antibiotiques testés sur *E. coli*

Huiles essentielles et antibiotiques	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
HE industrielle des graines de la carotte sauvage	résistante	4
HE des fleurs de la carotte sauvage	Sensible	8
Eau distillée	Résistante	0
Ethanol	Sensible	7
CX : Céfoxitine	Résistante	0
AMX : Amoxicilline	Résistante	11
CAZ : Ceftazidime	Résistante	0
GEN : Gentamicine	Très sensible	19

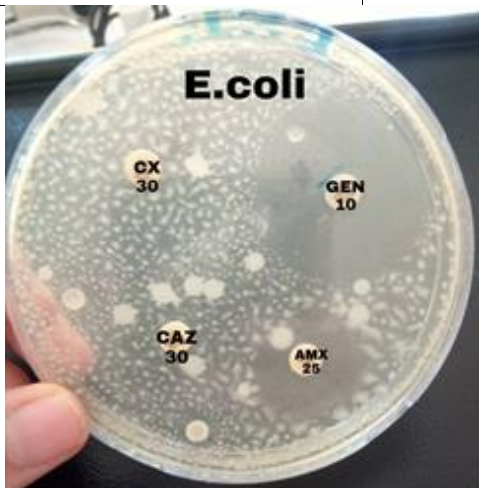


Figure 15: Antibiogramme de la souche *E. coli*

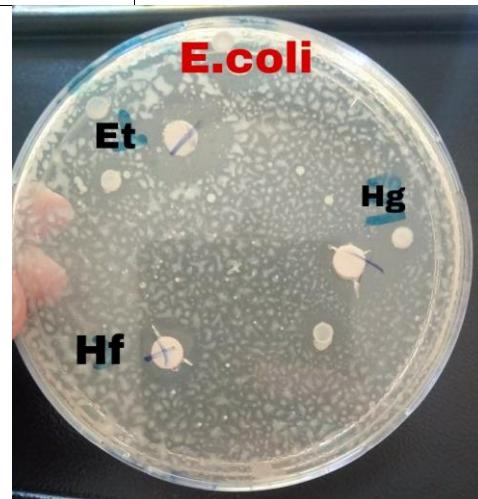


Figure 16: Effet des huiles essentielles pure et industrielle de la carotte sauvage sur *E. coli* (Hf : huile des fleurs ; Hg : Huile des graines ; ET : éthanol)

2.1.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Le tableau 06 et les figures 17 et 18 montrent que la souche *P. aeruginosa* a été résistante vis-à-vis des deux types d'huiles essentielles ainsi que des trois antibiotiques CX, AMX, CAZ avec une absence d'halo d'inhibition pour les deux premiers antibiotiques et un très petit halo de 2mm pour le dernier antibiotique. Ces résultats concordent avec ceux de Boukourt, (2020), qui a étudié l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *C. cyminum*

ou cumin (plante de la même famille que la carotte sauvage), sur la même bactérie. Ils sont accord également avec les études d'Iazzourene (2015) qui a montré qu'au contact des bactéries à Gram négatif, comme *P. aeruginosa*, les huiles essentielles de la carotte sauvage ne manifestent aucune inhibition.

Un seul antibiotique **GEN** avait un effet antibactérien modéré sur *P. aeruginosa* avec un diamètre de la zone d'inhibition égale à 13 mm. Il faut noter que cette souche a été sensible également vis-à-vis de l'alcool absolu avec un diamètre de 6mm.

Tableau 6: Les diamètres d'inhibitions des huiles et des antibiotiques testés sur *P. aeruginosa*

Huiles essentielles et antibiotiques	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
HE industrielle des graines de la carotte sauvage	Résistante	0
HE des fleurs de la carotte sauvage	Résistante	0
Eau distillée	Résistante	0
Ethanol	Sensible	6
CX : Céfoxitine	Résistante	0
AMX : Amoxicilline	Résistante	0
CAZ : Ceftazidime	Résistante	2
GEN : Gentamicine	intermédiaire	13

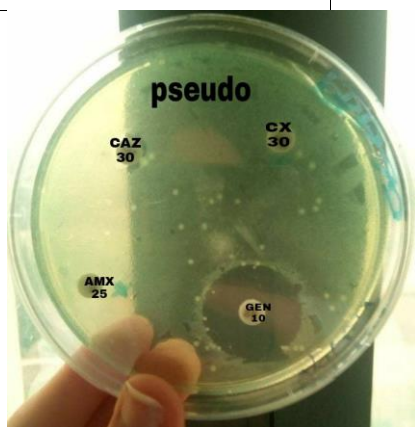


Figure 17: Antibiogramme de la souche *P. aeruginosa*

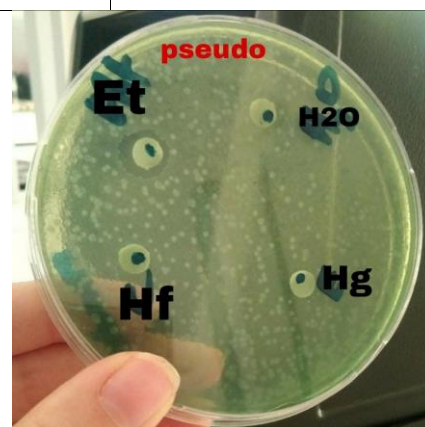


Figure 18: Effet des huiles essentielles pure et industrielle de la carotte sauvage sur *P. aeruginosa* (Hf : huile des fleurs ; Hg : Huile des graines ; ET : éthanol ; H2O ; Eau Distillée stérile)

2.1.3. *Staphylococcus aureus*

Le **tableau 07** et les **figures 19** et **20** ci-dessous montrent que la souche *S. aureus* n'a été sensible qu'à l'HE industrielle avec un halo d'inhibition proche de celui de l'éthanol absolu (6mm). Il est à noter que cette bactérie exprime une résistance vis-à-vis de plusieurs antibiotiques (**CX**, **AMX** et **GAZ**) avec une absence d'halo pour les deux premiers antibiotiques et un halo très faible (2mm) pour le dernier. Seul un antibiotique sur les quatre utilisés (**GEN**) a eu un effet antibactérien intermédiaire sur la souche testée avec un diamètre d'inhibition de 14mm. Nos résultats concordent avec ceux d'**Alves-Silva et al. (2015)**, qui ont trouvé un effet antibactérien de l'huile essentielle de la carotte sauvage supérieur pour les bactéries à Gram positif comme *S.aureus*, par rapport aux bactéries à Gram négatif. Ils pensent que cette dissimilitude soit due à la différence entre les deux parois cellulaires sachant que les bactéries à Gram négatif possèdent une membrane externe rigide contenant des polysaccharides qui sont hydrophiles et donc ils empêcheraient l'huile essentielle d'entrer à l'intérieur de la bactérie pour exercer son action.

Tableau 7: Les diamètres d'inhibitions des extraits testés et des antibiotiques chez *S.*

Huiles essentielles et antibiotiques	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
Huile industrielle des graines de la carotte sauvage	Sensible	8
Huile des fleurs de la carotte sauvage	Résistante	0
Eau distillée	Résistante	0
Ethanol	Sensible	6
CX : Céfoxitine	Résistante	0
AMX : Amoxicilline	Résistante	0
CAZ : Ceftazidime	Résistante	2
GEN : Gentamicin	intermédiaire	14

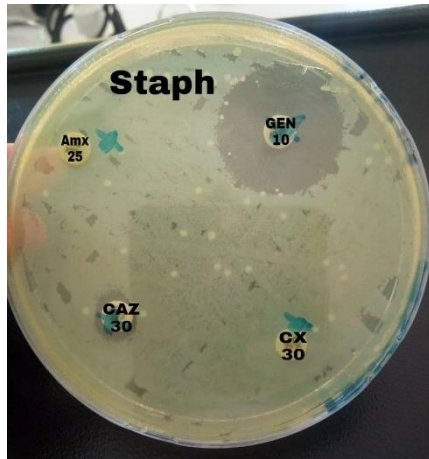


Figure 19: Antibiogramme de la souche *S. aureus*.

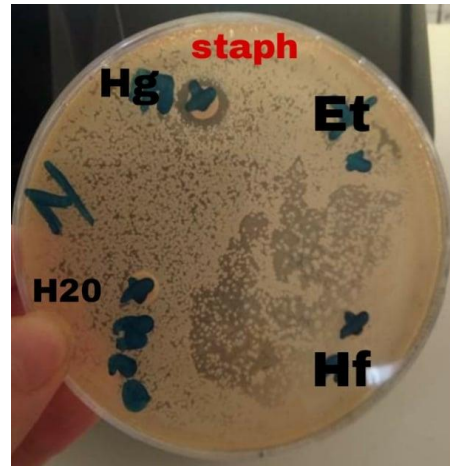


Figure 20: Effet des huiles essentielles pure et industrielle de la carotte sauvage sur *S. aureus*. (Hf : huile des fleurs ; Hg : Huile des graines ; ET : éthanole ; H2O ; Eau Distillée stérile)

3.2. Résultats de l'antibiogramme

2.2. Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne (calcul des CMI)

En raison du manque de temps, et du faible rendement de l'huile essentielle issue des sommités fleuries, la CMI a été évaluée uniquement pour l'huile essentielle industrielle.

La **figure 16** montre que la concentration minimale inhibitrice de l'huile industrielle sur *Staphylococcus aureus* est de 0.3%. Cela veut dire qu'une très faible concentration en huile, exercerait déjà une action bactériostatique sur la bactérie. Ce qui confirme nos résultats précédents sur la grande sensibilité de *S. aureus* vis-à-vis de cette huile (zone d'inhibition de 8mm).

En ce qui concerne *Escherichia coli*, sa CMI est plus élevée que celle de *S. aureus* ; elle est de 50%, ce qui veut dire qu'il faut une concentration plus élevée en huile pour inhiber la croissance bactérienne. En effet, nos résultats précédents ont montré qu'*E. coli* n'était pas très sensible vis-à-vis de cette huile.

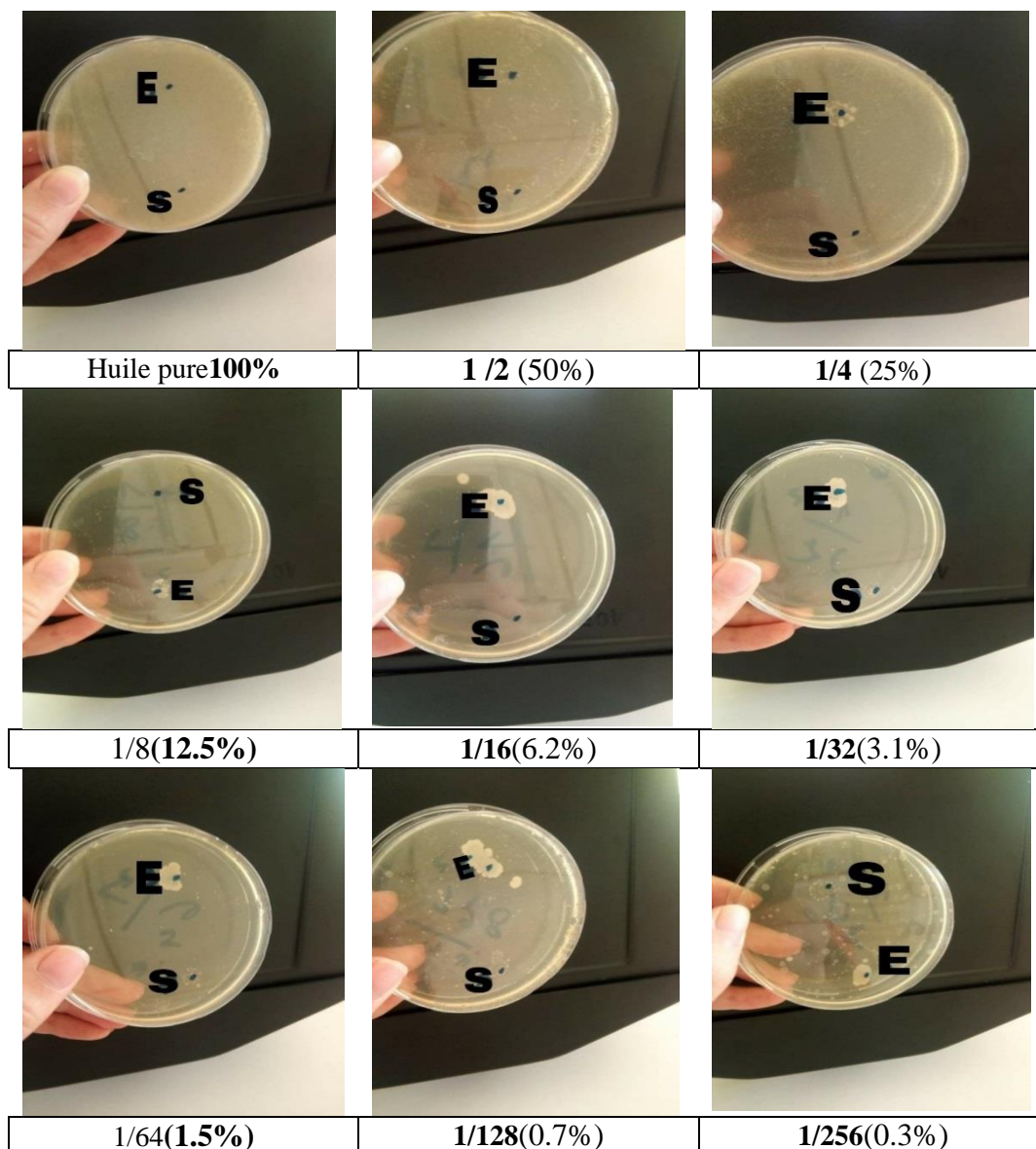


Figure 21: Evaluation de la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle industrielle de la carotte sauvage sur *S. aureus* et *E. coli*

3. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques représentés par le **tableau 08** et les figures **22** et **23**, sur les deux parties de la carotte sauvage servant pour extraire l'huile essentielle (sommités fleuries et graines) montrent la présence dans la poudre de ces deux parties du végétal, de plusieurs principes actifs qui sont : les saponines, alcaloïdes, tanins, terpénoïdes, flavonoïde et mucilage. Toutefois nous remarquons l'absence des coumarines au niveau de la poudre des graines de carotte sauvage.

Ces principes actifs élucidés dans les deux différentes parties de la plante pourraient se trouver également au niveau des deux types d'huiles essentielles d'où elles sont extraites

et principalement les principes actifs hydrophobes comme les terpénoïdes (**Deshcepper , 2017**). Certains auteurs ont mentionné la présence de deux composés de nature terpénique dans l'huile essentielle de la carotte sauvage et qui sont connus comme des agents antibactériens qui sont : le geranyl acétate et l' α pinène (**Alves-Silva et al., 2015 ; Reboucas de Araujo et al., 2017**).

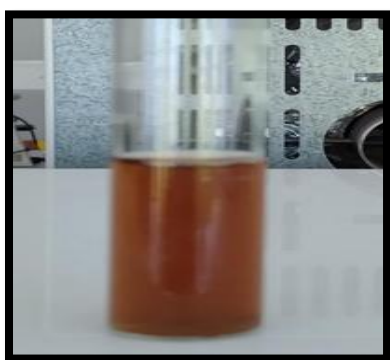
Le mode d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne n'est pas clairement élucidé. Compte tenu de la diversité des molécules présentes dans les huiles essentielles, l'activité antibactérienne semble résulter d'une combinaison de plusieurs modes d'action, impliquant différentes cibles cellulaires. Du fait de la variabilité quantitative et qualitative des composants des huiles essentielles, il se pourrait que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. L'effet antibactérien des HEs dépend du type et des caractéristiques des principes actifs qui les constituent, en particulier des caractéristiques hydrophobes qui leur permettent de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne, ce qui peut induire à un changement de conformation de la membrane bactérienne, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions K^+ (**Ouis, 2015**).

Certains composés phénoliques des HEs interfèrent avec les protéines de la membrane des microorganismes comme l'ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP. Il est rapporté également que les composés des HE peuvent inhiber la synthèse de l'ADN, de l'ARN, de la synthèse des protéines et des polysaccharides et interférer dans la division et donc dans la croissance bactérienne (**Ouis, 2015**).

Tableau 8: Les principes actifs identifiés dans la carotte sauvage.

Les principes actifs	Les saponosides	Les alcaloïdes	Les tanins	Les terpénoïde	Les flavonoïdes	Les Mucilages	Les coumarines
Les fleurs	+	+	+	+	+	+	+
Les graines	+	+	+	+	+	+	-
couleurs	Mousse	Précipité blanc ou Brun	Couleur verte	Deux phase et couleur marron	Couleur Jaune claire dans la partie supérieure	Précipités floconneux	Fluorescence intense

- *Les saponosides (a)*



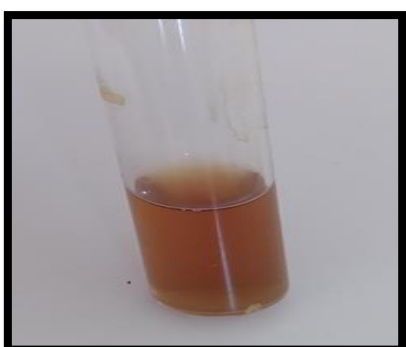
Avant

Mousse



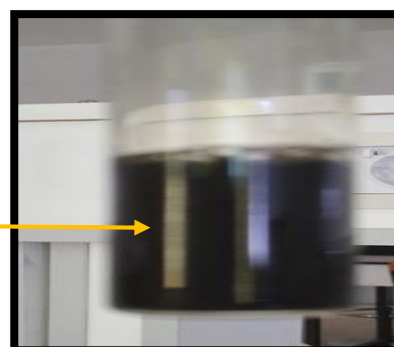
Après

- *Les tanins (b)*



Avant

Couleur
verte



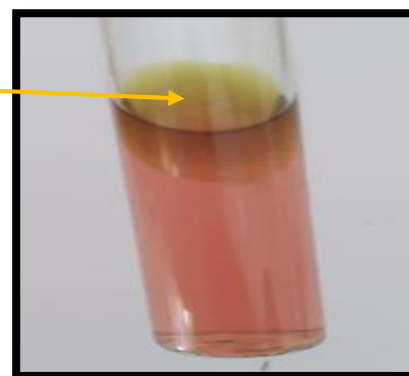
Après

- *Les flavonoïdes(c)*



Avant

Couleur
Jaune claire
dans la partie
supérieure

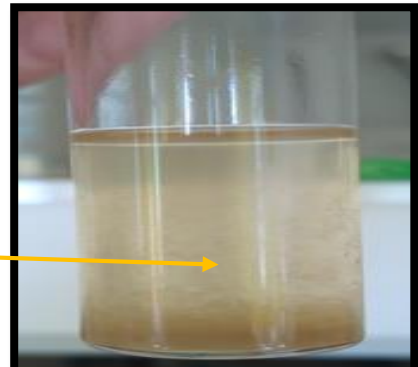


Après

- *Les Mucilages (d)*



Précipités floconneux

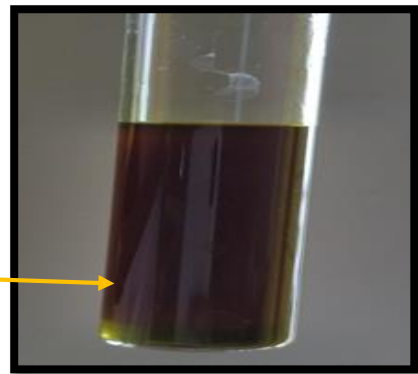


Les Terpénoïde: Avant

Après



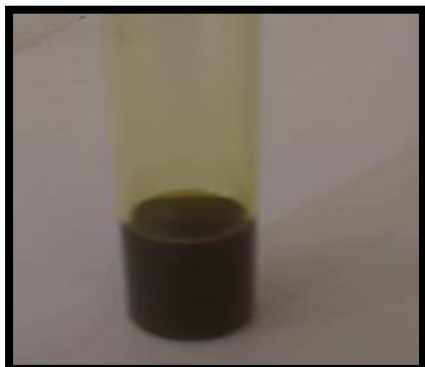
Deux phases et couleur marron



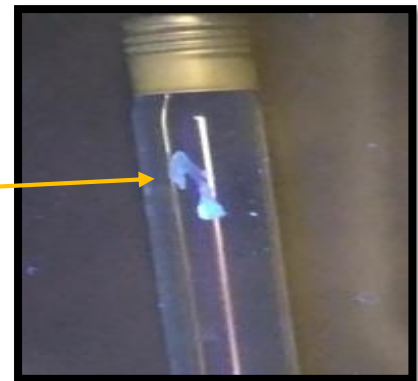
Avant

Après

- *Les coumarines (f)*



Fluorescence intense



Avant

Après

- *Les Alcaloïdes (g)*

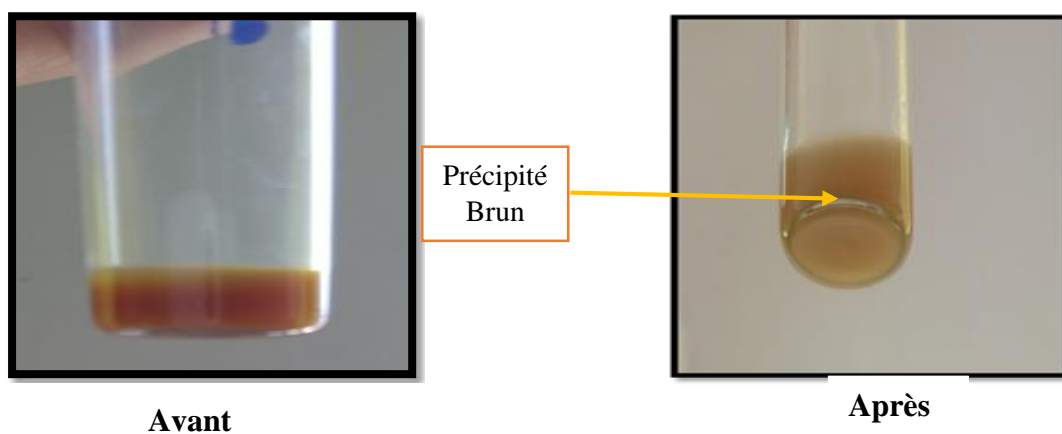
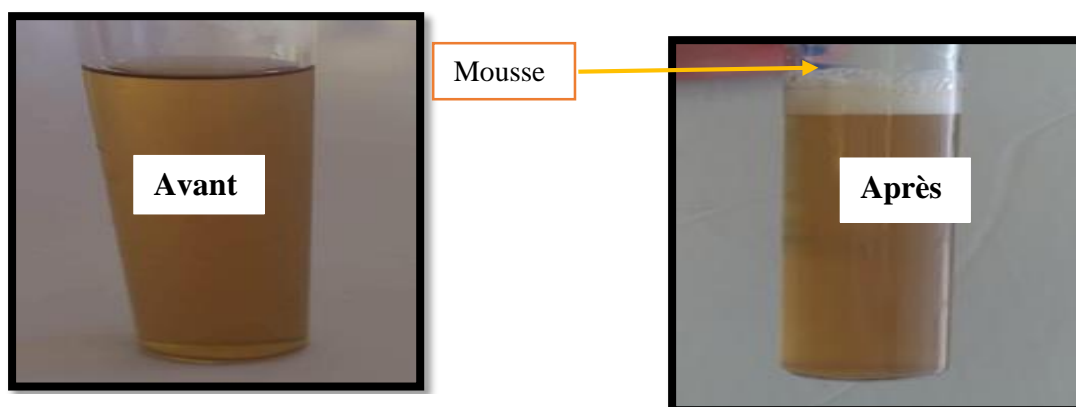
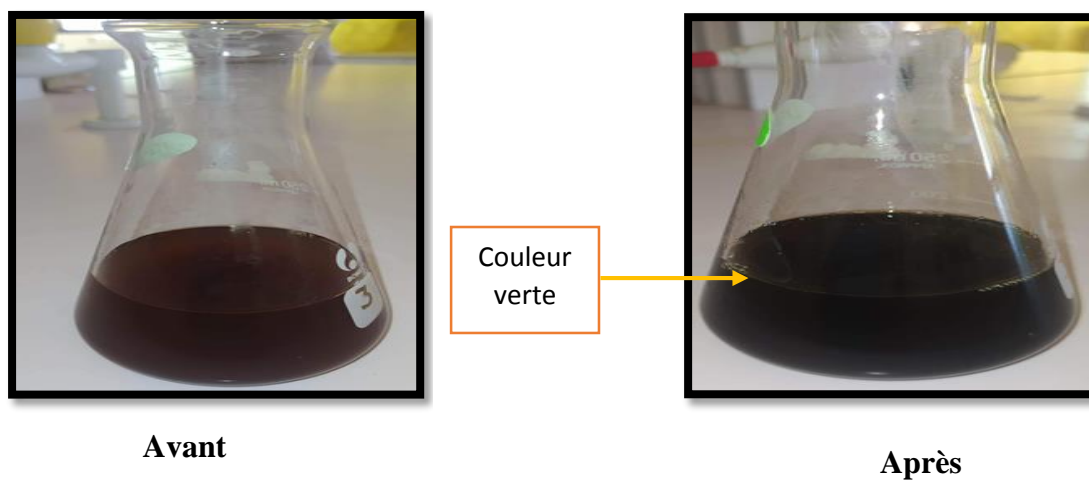


Figure 22: Test phytochimiques sur la poudre des sommités fleuries de la carotte sauvage.



- *Les tanins (b)*

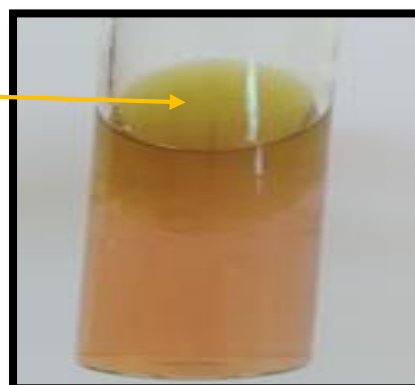


- *Les flavonoïdes (c)*



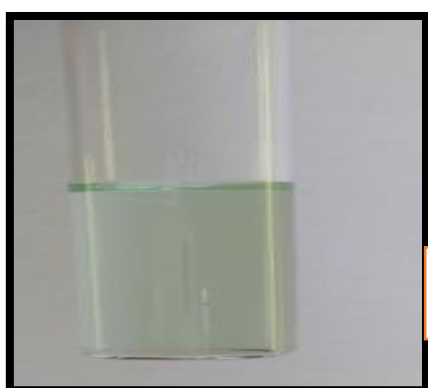
Avant

Couleur
Jaune claire
dans la partie



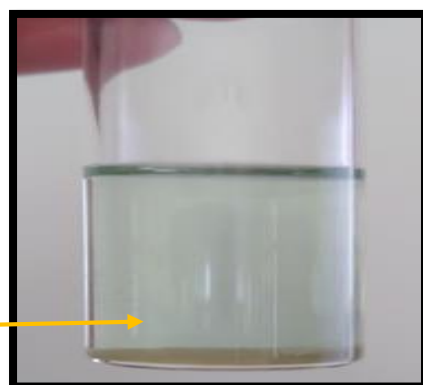
Après

- *Les Mucilages (d)*



Avant

Précipités
floconneux



Après

- *Les Terpénoïdes (e)*



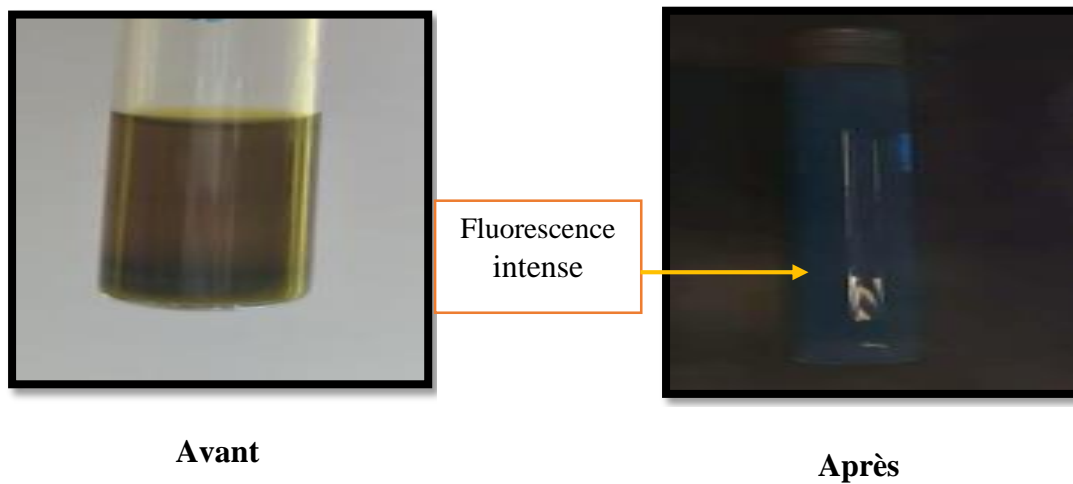
Avant

Deux phases et
couleur marron



Après

- *Les coumarines (f)*



- *Les Alcaloïdes(g)*

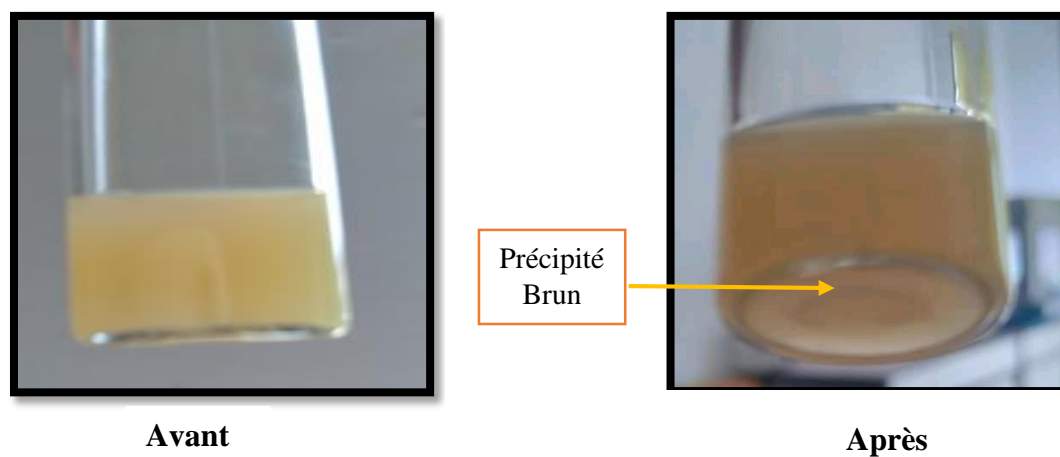


Figure 23: Tests phytochimiques sur la poudre des graines de la carotte sauvage

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales restent toujours une source fiable de principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Avec la prévalence des microorganismes pathogènes résistants aux antibiotiques, nous notons un regain d'intérêt pour les molécules naturelles extraites à partir de plantes. L'Algérie par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse.

Les but de notre étude est la recherche de nouvelles biomolécules comme des alternatives thérapeutiques pour éliminer les bactéries multirésistantes. Notre étude c'est portée sur l'exploitation de l'HE extraite des fleurs de la Carrote sauvage et une autre extraite des graines (huile industrielle) par deux techniques différentes qui sont respectivement: l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur.

Le rendement en HE extraite des sommités fleuries est de 0,09 et il est inférieur à celui de l'Heindustrielle qui est de 0,4.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de ces HEs vis-à-vis des microorganismes pathogènes par la méthode d'aromatogramme a montré qu'*E. Coli* était beaucoup plus sensible à l'action de l'huile essentielle extraite des fleurs que de l'HE industrielle. Par contre, *S.aureus* était uniquement sensible à l'huile industrielle. *P. aeruginosa* n'a été sensible à aucune huile utilisée.

La valeur de la CMI de l'HE industrielle vis à vis de *S. aureus* a été plus faible que celle d'*E. coli*, ce qui veut dire que l'HE exercerait sur *S. aureus* une action bactériostatique plus élevée. Cette action pourrait être due à la présence de principes actifs hydrophobes et antibactériens se trouvant dans l'HE tels que les terpénoïdes qu'on a retrouvé dans les parties d'où on a extrait cette essence.

Afin de compléter ce travail, nous pouvons:

- Tester l'HE de carotte sauvage sur d'autres bactéries.
- Faire une étude qualitative et quantitative de l'HE en utilisant des techniques chromatographiques comme la CPG couplée à la spectrophotométrie de masse.
- Tester l'HE extraite des différents organes de la même plante.
- Utiliser d'autres techniques d'extraction et comparer la composition en HE

Référence bibliographique

Référence bibliographique

1. **Adiaratou T, (2001).** etude de la phytochimie et de l'activité antipalodique de *Alchorena cordifolia* Schmach (Euphobiaceae), Doctorat en pharmacie. Bamako (Mali): p 42.
2. **Aksoy B., Altaykan-Hapa A., Egemen D., Karagöz F., & Atakan N, (2010).** The impact of rosacea on quality of life: effects of demographic and clinical characteristics and various treatment modalities. *British Journal of Dermatology*, 163(4), 719–725.
3. **Alioua MA , (2015).** Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences: Université Badji Mokhtar – Annaba, Algérie, 223p.
4. **Audigie C., Dupont G et Zonszaim F, (1995).** Principe Des Méthodes D'analyse Biochimique. Tome 2, Ed. Dunod, Paris, 144 P.
5. **Bach D., Mascré M et Deysson G, (1979).** Organisation et classification des plantes vasculaires, cours de botanique générale quatrième série, tome II, Paris, pp, 529.
6. **Baltimore., berk., Darnell., Lodish et Matsudaira, (1997).** Biologie Moléculaire de la cellule. 2e édition : De Boeck, 1344p.
7. **Balz R, (1986).** Les huiles essentielles. Éditions Crest, Eygluy-L'escoulin.
8. **Bassereau M., Chainetreau A., Duperrex S., Joulain D., Leijts H., Loesing G., OWEN N., Sherlock A., Schippa C., Thorel PJ et VEY M, (2007).** GC-MS Quantification of Suspected Volatile Allergens In Fragrances. Data Treatment Strategies and Method Performances. *J Agric Food Chem*, 55:25-31.
9. **Battraud P, (2017).** La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité. Thèse de doctorat. Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de Lille : Université de Lille 2, France, p128.
10. **Baudoux D, (2017).** Aromathérapie. 100 huiles essentielles. Dunod, 544p.
11. **Bauer K., Garbe D et Surburg H, (1990).** In *Common Fragrance and Flavor Materials, Preparation, Properties and Uses*, 2nd ed., VCH, Weinheim, 142 p
12. **Belakhdar J, (1997).** La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle. Idis Press (Ed). Paris, 764p.

13. **Belsito E L., Carbone C., Di Gioia M L., Leggio A., Liguori A., Perri F. et Viscomi M C, (2007).** Comparison of the volatile constituents in cold-pressed bergamot oil and a volatile oil isolated by vacuum distillation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**(19), 7847-7851.
14. **Belyagoubi L, (2006).** Effet De Quelques Essences Végétales Sur La Croissance Des Moisissures De Détérioration Des Céréales. Mémoire De Magister. Université Abou Bekr Belkaid,110p.
15. **Benayad N, (2008).** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines, moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V – Agdal. Rabat, 63p.
16. **Benjilali B., Tantaoui-Elarki A., Ismaili-Alaoui M, (1986).** Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélose. *Plant MédPhytothér.* 20: 155-167.
17. **Benini C, (2007).** Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'ingénieur. Université Gembloux, 109p.
18. **Bershe P., Gaillart J L et Simonet M, (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Lavoisier. Paris P 248.
19. **Besombes C, (2008).** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro thermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, 289p.
20. **Bianchi V., Duployez N et El Anbassi N, (2013).** Bactériologie-virologie. De Boeck.(prepa-pharma).
21. **Billerbeck VG., Roques C., Vanière, P., Marquier, P, (2002).** Activité antibactérienne et antifongique des produits à base d'huiles essentielles. *Hygiènes X.* 3:248-251.
22. **Botineau M, (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Tec & Doc, Paris, 1335 pp.
23. **Boudjemaa NE et Ben Guegua H, (2010).** L'effet Antibactérien De (*Nigella Sativa*). Université Kasdi Merbah Ouargla.
24. **Boulahbal F, (2006).** Microbiologie S1 clinique. Office des publications universitaires. Alger.5ème édition, 173pp.

25. **Boukourt A, (2020).** Etude de l'activité antibactérienne et insecticide des huiles essentielles de Cumin Cuminum Cyminum.mémoire. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie: Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, p 33.
26. **Bruneton J, (1993;1999).** Pharmacognosie : Phytochimie& Plantes médicinales. 2^e ; 3^eéd. Editions techniques et documentation & éditions médicales internationales,Lavoisier, Paris, France.
27. **Cabeen MT et Jacobs-Wagner C, (2005).** Bacterial cell shape. Nature Review Microbiol, Aug;3(8):601-10.
28. **Caillet S et Lacroix M, (2007).** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de recherche en Sciences appliquées à l'alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand- Frappier, université de Laval (Québec).
29. **Chaker H, (2012).** « Régulation de l'adaptation de la bactérie Pseudomonas aeruginosa à son hôte : implication des métabolites du tryptophane ». Thèse de doctorat : Grenoble: Université de Grenoble : Science agricole.
30. **Chakou M et Bassou K, (2007).** Efficacité antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles obtenues par extraction de la menthe verte Mentha Spicata L. de la région de Ouargla sur quelques germes pathogènes: E. coli, Pseudomonasaeruginosa, Staphylococcus aureus, Bacillus subtiluis et Candida albican.
31. **Chopra I., O'Neill, A J et Miller K, (2003).** The role of mutators in the emergence of antibioticresistant bacteria. Drug Resistance Updates, 6(3), 137-145.
32. **Chouitah O, (2012).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de (*Glycyrrhiza glabra*). Université d'Oran, 143p.
33. **Croteau R., Kutchan T et Norman G L, (2000).** Natural Products (Secondary Metabolites). American Society of Plant Physiologist. Vol.24p, 1250-1318.
34. **Cristian C, (2008).** Microbiologie hygiène Bases microbiologiques de la diététique. Lavoisier. Paris. P 79
35. **Couderc C., Jolivet S., Thiébaud ACM., Ligier C., Remy L., Alvarez AS., Lawrence C., Salomon J., Herrmann JL et Guillemot D, (2014).** Antibiotic Use and Staphylococcus aureus Resistant to Antibiotics (ASAR) Study Group. Fluoroquinolone use

is a risk factor for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in long-term care facilities: a nested case-casecontrol study. *Clin Infect Dis* 59:206 –215.

36. **Couic-Marinier F et Touboul A, (2017).** Le guide terre vivante des huiles essentielles. Terre vivante.

37. **Courvalin P., Drugeon H., Flandrois J et Goldstein F, (1990).** Bactéricidie: Aspects théoriques et thérapeutiques, Maloine.

38. **Courvalin PF., Denis MC., Ploy M P d., garilhe P, (2001).** Trieu-Culot and Universalis. "Antibiotiques." Retrieved 24 mai, 2013, from <http://www.universalis-edu.com/encyclopedie/antibiotiques/>.

39. **Davies J E, (1997).** Origins acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. In : Antibiotic Resistance. Origins, evolution, selection and spread. Chadwick DJ & Goode J (Eds.), Chichester 15-27.

40. **Dayan F E., Cantrell C L et Duke S O, (2009).** Natural products in crop protection. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(12), 4022–4034.

41. **De Groot H, (1998).** Comment les caroténoïdes protègent du cancer. *Tabula*. 3: 10-11.

42. **Degryse A C., Delpla I et Voinier M A, (2008).** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Atelier santé environnement -IGS- EHESP, 87p.

43. **Desmares C., Laurent A et Delerme C, (2008).** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Afssaps. Anatole, France, 18p.

44. **Deschepper R, (2017).** Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de doctorat. Marseill : Université d'Aix-Marseill, p 172.

45. **Delplanque M, (2018).** Incitations législatives et réglementaires pour favoriser la mise sur le marché de nouveaux antibiotiques. Thèse de doctorat. Faculté de Pharmacie de Lille: Université de Lille, France, p 98.

46. **Delarras C, (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Edition Lavoisier. P, 128, 129-269.

47. **Diallo Alpha Amadou, (2013).** *Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation

avant et après traitement épuratoire. Thèse doctorat. France : Université Toulouse III - Paul Sabatier,18-22p.

48. **Delarras C, (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire. Lavoisier, France

49. **Djarri L., Medjroubi K., Akkal S., Elomri A., Seguin E et Vérité P, (2006).** Composition of the essential oil of aerial parts of an endemic species of the Apiaceae of Algeria, *Daucus reboudii*Coss. *Flavour and Fragrance journal*, 21: 647–649.

50. **Djarri L, (2011).** Contribution à l'étude des huiles essentielles et des métabolites secondaires de trois plantes algériennes de la famille des apiaceae. thèse de doctorat. Chimie Organique. Université mentouride. Constantine.

51. **Djemoui D, (2012).** Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées. Mémoire Master Académique: Université Kasdi Merbah Ouargla.

52. **Diallo A , (2013)**Escherichia coli pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire.Thèse doctorat.France : Université Toulouse III - Paul Sabatier, 18-22p .

53. **Duarte MCT., Fingueira GM., Sartoratto., Rehder VLG et Delarmelina C, (2005).** Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, **97**(2), 305-311.

54. **Elmeskini Kamal, (2011).** Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat. Faculté de médecine et de pharmacie: université mehammed v, rabat, p4.

55. **Faucon M., Lobstein A, (2015).** Traité d'aromathérapie scientifique et médicale. Sang de la Terre.

56. **Fournet A., Hocquemiller R., Roblot F., Une caverne P., Richomme et Bruneton J, (1993).** Les Chimaniques, Nouvelles Quinolines Substituées en 2, Isolées d'Une Plante Bolivienne Antiparasitaire : *Galipea longiflora*. Citez ceci : *J. Nat. Prod.* 56, 9, 1547-1552.

57. **Franchomme P., Jollois R et Pénéol D, (2001).** L'aromathérapie exactement. Roger Jollois.

58. **Freeman C L et Freeman C K, (2016).** Staphylococcus aureus infections. 2eme édition. Philadelphia: Chelsea House Publishers, p 26-41.
59. **Giordani R., Hadeif Y et Kaloustian J, (2008).** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79, 199-203.
60. **Goncalves GMS., Barros PP., Silva GHD et Fedes GR, (2019).** The essential oil of *Curcuma longa* rhizomes as an antimicrobial and its composition by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *J. Rev. Cienc. Med*, vol. 28(1), p: 1-10.
61. **Gonzalez-Trujano M E., Pena E I., Mart´inez A L., Moreno J., Guevara-Fefer P., Deciga-Campos M et Lopez-Munoz F J, (2007).** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* 111, 7p, 476–482.
62. **Gochev V., Wlcek K., Buchbauer G., Stoyanova A., Dobрева A., Schmidt E et Jirovetz L. (2008).** Comparative evaluation of antimicrobial activity and composition of rose oils from various geographic origins, in particular Bulgarian rose oil. *Natural Product Communications*, 3(7), 1934578X0800300706.
63. **Grimont P A D, (1987).** Taxonomie des *Escherichia*. *Médecine et maladies infectieuses*, 17, 6-10.
64. **Guinoiseau E, (2010).** Molécules antibactériennes issues d’huiles essentielles : séparation, identification et mode d’action, Thèse de Doctorat, Université de Corse, 114.
65. **Guiraud J P, (2003).** La microbiologie alimentaire. 1er édition. paris: Dunod, 5p. (Hors Collection) ISBN: 978-2-10-007259-0. universitaire, 173p.
66. **Hachemie O et Ruis, (2002).** microbiologie clinique. édition d’office des publications.
67. **Hallal Z, (2011).** Contribution à l’étude des propriétés antibactérienne et antioxydantes de certains huiles essentielles extraites des citrus, Application a la sardine. Magister de biologie : Université mouloud mammeri de tizi-ouzou, 120p. 65-66p.
68. **Haoulia A, (2015).** Tests phytochimiques, dosage et recherche d’effet hémolytique des polyphénols totaux extraits de la partie aérienne d’*Amoïdes verticillata*. mémoire. Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l’univers Département de Biologie: université Abou bekr belkaid, tlemcen, p23.

69. **Hagerman AE., Muller-Harvey et Makkar HPS, (2000)** Quantification of tanins in tree foliage.FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in food and Agriculture.Vienna, 26p.
70. **Harborne JB, (1998).** Phytochemical methods a guide to modern techniques of plants analysis.Third Edition. ISBN:0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB).
71. **Harzallah-Skhiri F., Mastouri M., Casanova J., Mighri Z, (2009).** Flower and Root Oils of the Tunisian *Daucus carota* L. ssp. *Maritimus* (Apiaceae): Integrated Analyses by GC, GC/MS, and ¹³C-NMR Spectroscopy, and in vitro Antibacterial Activity. *Chemistry & Biodiversity*, **6**: 881-889.
72. **Ochoa H et Raul L (2005).** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine (solvant/actif) d'origine végétale. Thèse de Doctorat en Science des Procédés (option Sciences des Agroressources), Institut National Polytechnique, Toulouse, France.
73. **Heywood V H., Moore D M., Richardson I B K et Stearn W T, (1996).** Les plantes à fleurs 306 Familles de la flore mondiale, P. 218- 219.
74. **Ilboudo Z, (2009).** Activité Biologique de quatre huiles essentielles contre *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera : Bruchidae), insecte ravageur des stocks de niébé au Burkina Faso. Université de Ouagadougou, 150p.
75. **Isman M B, (2000).** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19(8-10), 603–608.
76. **Jensch D et Poschlod P, (2008).** Germination ecology of two closely related taxa in the genus *Oenanthe*: Fine tuning for the habitat. *Aquat Bot.* 89: 345-351.
77. **Johnson Jr et Russo T A, (2005).** Molecular Epidemiology Of Extraintestinal Pathogenic (Uropathogenic) E. Coli. *Int J Med Microbiol*, 295(6-7),383-404.
78. **Joly B et Reynaud A, (2002).** Entérobactéries Systématique Et Méthodes De Diagnostic. Editeur Tec Et Doc, 392p.
- Kadri H, (2017).** Etude phytochimique de quelques plantes de la Numidie Algérienne.thèse de doctorat.Faculté des Sciences Département de Chimie:university Badjimokhtar,annaba,p71.
79. **Karumi Y., Oneyjili PA et Ogugbuaja VO, (2004).** identification of active principles of *M bals amina*(balsam apple) leaf extract.*J Med Sci* 4 : 179- 182p.

80. **Koba K., Sanda K., Raynaud C., Nenonene Y A. Millet J et Chaumont J P, (2004).** Activités antimicrobienne d'huile essentielle de trios *Cymbopogon* sp. Africains vis-à-vis de germe pathogène d'animaux de compagnie. *Ann. Méd. Vét.* 148 : 202-206.
81. **Kurita N et Koike S, (1982).** Synergetic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils components. *Agric. Bioi. Chern*, 46, 159-165.
82. **Lagunez R L, (2006).** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe. Thèse Doctorat, institut national polytechnique de Toulouse, 15-35.
83. **Landoulsi A, (2016).** Etude Chimiotaxonomique Et Activités Biologiques Des Métabolites Secondaires Des Plantes Du Genre *Eryngium*. L'université De Lille 2 Et L'université De Tunis El Manar, 248p.
84. **Lanfranchi D A., Laouer H., El Kolli M., Prado S., Maulay-Bailly C et Baldovini N, (2010).** Bioactive Phenylpropanoids from *Daucus crinitus* Desf. from Algeria. *Journal Agricultural FoodChemistry*, 58: 2174-2179.
85. **Lanore F, (2009).** Les huiles essentielles propriété et utilisation de l'aromathérapie. Editeur 6 rue de vaugirard,75006 paris, 913p.
86. **Lardry J -M et Haberkorn V, (2007).** L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev*, 61, 14-7.
87. **Laverdure F., Neulier C., Sudant J., Legriél S et Bruneel F, (2014).** Pneumopathie nécrosante fatale à *Staphylococcus aureus* sécréteur de leucocidine de Panton-Valentine. In *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 33(11), 596-599.Elsevier Masson.
88. **Lawrence-B M, (1994).** *Essential Oils*, Allured Publishing Corp. Carol Stream, IL, 28p.
89. **Lehotay S et Hajšlová J, (2002).** Application of gas chromatography in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 21(9-10), 686–697.
90. **Le Minor LMY., Popoff and Bockemuhl J, (1990).** Supplement 1989 (n. 33) to the Kauffmann-White scheme. *Res Microbiol* , 141:1173-1177.
91. **Léonil J., Mollé D., Gaucheron F., Arpino P., Guénot P., Maubois, JL, (1995).** Analysis of major bovine milk proteins by on-line high-performance liquid chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. *Laboratoire de Recherches de Technologie*

Laitière ; Laboratoire de Chimie Analytique, Institut National Agronomique, ; Centre Régional de Mesures Physiques de l'Ouest, Université de Rennes t, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex, France, 75, 193-210.

92. **Liébart jean-claude, (2015)** Microbiologie.dunod, p.(Sciences Sup) ISBN (978-2-10-072081-1).

93. **Libert N., Batjom E., Cirodde A., De Rudnicki S., Grasser L., Borne M et Brinquin L, (2009).** Traitements antitoxiniques et pneumopathies nécrosantes à *Staphylococcus aureus* sécréteurs de leucocidine de Panton-Valentine. Médecine et maladies infectieuses, 39(1), 14 .20.

94. **Lucchesi M E, (2005).** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes : conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Chimie), Faculté des Sciences et Technologies, Université de la Réunion, France.

95. **Luc D., Jean Michel B., Vanina L., Alain M., Liliane B et Jean Michel B. (2020).** Antibacterial mode of action of the *Daucus carota* essential oil active compounds against *Campylobacter jejuni* and efflux-mediated drug resistance in Gram-negative bacteria. *Molecules*, 25(22), 5448.

96. **Mahfouf N, (2017).** Étude de l'espèce *Origanum vulgare* L. Thèse En Vue De L'obtention D'un Diplôme De Doctorat (Lmd). Université Chadli Benjedid – El Tarf, 202p.

97. **Meghdas I., Monzer H., Dabboussi F., Baida N et lazard D, (2003).** « Taxonomie du genre *Pseudomonas aeruginosa* : Retrospective et actualité ». *Lebanese Science Journal*,5(1) : 115 -27.

98. **Meyer W B, (1984).** Natural essential oils: extraction processes and application to some major oils. *Perfum. Flavorist*, 9: 93-104.

99. **Mohammedi H, (2012).** Etude Des Extraits Volatils De Quelques Plantes Medicinales Algeriennes : *Daucus Carota* L., *Ruta Montana* L. Et *Rosa Canina* L. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, 80.

100. **Morand A et Morand JJ, (2017).** *Pseudomonas aeruginosa* en dermatologie. In *Annales de dermatologie et vénéréologie*,(vol:144, No.11, 666-675p).

101. **Mortaza S., Zahar J R et Kouatchet A, (2010).** Pneumonie à *Staphylococcus aureus*: quand faut-il l'évoquer et comment la traiter?. *Réanimation*, 19(4), 304-309.

Nedjai I et Nedjai S, (2017). Activité antimicrobienne des huiles essentielles. Université A. Mira – Bejaia, 64p.

102. **Neffati A, (2010).** Etude de la composition chimique et évaluation d'activités biologiques de l'huile essentielle d'une Apiaceae de Tunisie : *Pituranthos chloranthus*, Thèse de doctorat en Sciences de l'université de Caen.

103. **Nedjai I et Nedjai S, (2017).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles. Université A. Mira – Bejaia, 64p.

104. **Nicklin J., Graeme-cook k., Paget T et Killington T, (2000).** Microbiologie. Berti éditions, 77p. (L'essentiel en) ISBN(978-2-911808-15-9).

105. **Noual N E H et Madi D, (2018).** Etude de L'activité antimicrobienne et antioxydante de L'huile essentielle du *Thymus numidicus*. Mémoire. BOUIRA : université Akli Mohand oulhadj, 17p.

106. **Noui A, (2018).** Etude Phytochimique Et Evaluation Des Activités Biologiques De La Plante *Daucus Muricatus* (Apiaceae). Université Des Freres Mentouri Constantine, 104p.

107. **Obame-Engonga L C, (2009).** Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes Et Antioxydantes De Quelques Plantes Aromatiques Et Médicinales Africaines. Université De Ouagadougou, 277p.

108. **Ogston A, (1984).** "On Abscesses". *Classics in Infectious Diseases. Rev. Infect. Dis.*,6 (1), 122-128.

109. **Okmu DE, (2005).** Vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. *Int J Mol Adv Sci* 1: 375-381p.

110. **Ouis N, (2015).** Etude Chimique Et Biologique Des Huiles Essentielles De Coriandre De Fenouil Et De Persil. Université D'oran 1, 239p.

111. **Parija SC, (2009).** Adenovirus. *Textbook of Microbiology and Immunology*, Haryana,(pp. 509-512).

112. **Pattnaik S., Subramanyam VR et Kole C, (1996).** Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. *Microbios*; 86(349):237-246. PMID: 8893526.

113. **Perez P, (2013)**. Typage de staphylococcus aureus par MLVA : étude de faisabilité de la détection par HRM. Thèse de doctorat. Faculté de médecine de Nancy: Université de Lorraine, France, 131p.
114. **Pibiri MC, (2006)**. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doctorat. EPFL Lausanne,p.161.
115. **Piochon M, (2008)**. Étude Des Huiles Essentielles D'espèces Végétales De La Flore Laurentienne: Composition Chimique, Activités Pharmacologiques Et Hémi-Synthèse. L'université Du Québec À Chicoutimi Comme Exigence Partielle, 213p.
116. **Prescott., Harley., Klein., Willey., Sherwood et Woolverton, (2010)**. microbiologie, ebook, paris ,1088p.
117. **Rebiahi S A, (2012)**. Caractérisation de souches de Staphylococcus aureus et étude de leur antibiorésistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat. Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement : Université de Tlemcen, Algérie, **2012**, 131p.
118. **Reduron J P, (2007)**. Ombellifères de France - tome 2 (Bulletin de la Société Botanique du Centre-Ouest, 27). Société Botanique du Centre-Ouest, pp : 564.
119. **Reynolds J E F, (1996)**. Martindale – the Extra Pharmacopoeia 31st edn. London: Royal Pharmaceutical Society of Great Britain.
120. **Rhayour K, (2002)**. Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur Esherichia coli, Bacillus subtilis et sur Mycobacterium phlei et Mycobacterium fortuitum. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 170p.
121. **René caquet, (2010)**. 250 examens de laboratoire ; Elsevier Masson SAS.ISBN : 978-2-294-71033-9.
122. **Rossignol G, (2007)**. Contribution à l'étude de facteurs de virulence d'une souche de Pseudomonas fluorescens: activité hémolytique et variation phénotypique. Thèse de doctorat d'état, Université Rouen,266 p.
123. **Rossi P G., Bao L., Luciani A., Panighi J., Desjobert J M., Costa J et Berti L, (2007)**. (E)-Methylisoeugenol and elemicin: antibacterial components of Daucus carota L. essential oil against Campylobacter jejuni. Journal of agricultural and food chemistry, 55(18), 7332-7336.

124. **Roulier G, (1990).** Les huiles essentielles pour votre santé. Traité pratique d'aromathérapie. Propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Éditions Dangles.
125. **Sipailiene A., Venskutonis P., Baranauskiene R et Sarkinas A, (2006).** Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *Journal of Essential Oil Research*, 18p, 698-703.
126. **Skandamis P N et Nychas G J E, (2001).** Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *J. Applied Microbiol.* 91: 1011-1022.
127. **Somerville G A, (2016).** (Ed.) *Staphylococcus*. Caister Academic Press.
128. **Soković M., Stojković D., Glamočlija J., Ćirić A., Ristić M., et Grubišić, (2009).** Susceptibility of pathogenic bacteria and fungi to essential oils of wild *Daucus carota*. *Pharmaceutical Biology*, 47(1), 38-43.
129. **Soumaila G A, (2012).** Caractérisation phénotypique et génétique des *Escherichia coli* isolés des cas de colibacilloses aviaires au Sénégal. Thèse de doctorat. Université cheikh anta diop de Dakar. 79 P.
130. **Staniszewska M et Kula J, (2001).** Composition of the essential oil from wild carrot. (*L.spp. carota*) growing in Poland. *Journal Essential Oil Research*, 13: 439-441.
131. **Tabanca N., Demirci B., Ozek T., Kirimer N., Baser K H C., Bedir E., Khan I A et Wedge D E, (2006).** Gas chromatographic–mass spectrometric analysis of essential oils from *Pimpinella* species gathered from Central and Northern Turkey. *Journal of Chromatography. A*, 1117: 194–205.
132. **Thakkar S et Agrawal R, (2010).** A case of *Staphylococcus aureus* enterocolitis: a rare entity. *Gastroenterology & hepatology*, 6(2), 115.
133. **Tirilly Y et Bourgeois C M, (1999).** Technologie des légumes. Éditions Tec & Doc, 558 p: 10.
134. **Tortora G., Funke BD et Martin L, (2003).** Introduction à la Microbiologie. 2ème édition. 921p.
135. **Toure D, (2015).** Etudes Chimique Et Biologique Des Huiles Essentielles De Quatre Plantes Aromatiques Medicinales De Côte D'ivoire. Université Felix Houphouët-Boigny, 153p.

136. **Trease G E et Evans WC, (1989).** A text book of pharmacognosy (13 th Edition) Bacilluere Tinal Ltd,London.
137. **Unido I C S, (2008).** Extraction Technologies For Medicinal And Aromatic Plants, United Nations Industrial Development Organization And The International Centre For Science And High Technology.
138. **Valnet J, (2000).** Aromathérapie. Ed. Maloine S. A.alteration of saccharomyces cerevisiae. Phytother. Res, 19(5), 405-8.
139. **Voutilainen S., Nurmi T., Mursu J. et Rissanen T H, (2006).** Carotenoids and cardiovascular health. American Journal of Clinical Nutrition. 83: 1265-1271.
140. **Woolfrey BF., LallyR T et Tait K R, (1986).** Influence of technical factor variations on serum inhibition and bactericidal titers. J Clin Microbiol, 23, 997.
141. **Yfrah A et Ghali K, (2020).** Effet antimicrobien des huiles essentielles de Curcuma longa L sur quelques agents pathogènes humain. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem,108p.
142. **Yves L L et Michel GA, (2009).** Staphylococcus aureus. Lavoisier.
143. **Zhar Hajar, (2011).** L'infection à escherichia coli enterohemorragique.thèse de doctorat.faculte de médecine et de pharmacie : universite mohammed v,Rabat,p5
144. **Ziti F N, (2019).** L'aromathérapie anti-infectieuse est-elle une alternative essentielle à l'officine. Thèse Pour Le Diplome D'état De Docteur En Pharmacie. Université de Lille,187.

Annexe

Annexe**Tableau:** les appareils de laboratoire utilisés

<i>Matériel</i>	<i>Utilisation</i>
Appareil d'hydro distillation de type Clevenger	Extraction des HES
Agitateur plaque chauffante	Préparation du milieu de culture
Réfrigérateur	Conservation des échantillons
Autoclave	Stériliser les matériels et les milieux de culture
Etuve réglée à 37C	incubation les souches bactérienne
Micropipette (500µl)	Préparation de micro volumes

**Figure :** Etuve réglée à 37C.**Figure :** Agitateur plaque chauffante.

Produite :

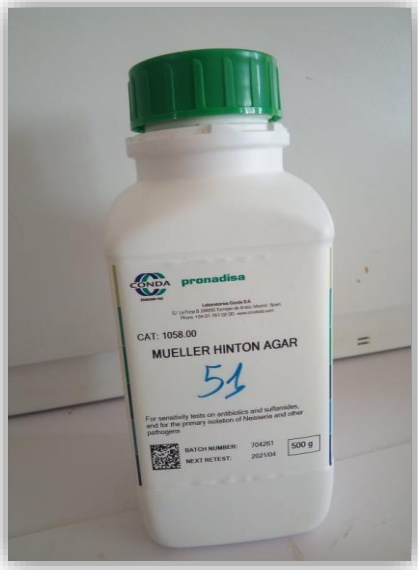


Figure : MHA

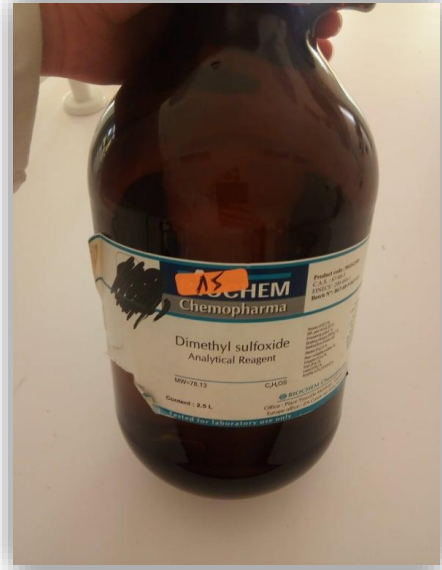


Figure : DMSO

Résumé

Résumé

Les huiles essentielles possèdent des activités antibactériennes importantes et peuvent se substituer avec succès aux antibiotiques qui montrent leurs inefficacités à l'encontre des microorganismes résistants. Ceci nous a conduit à évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la carotte sauvage extraite des fleurs et une autre des graines par des méthodes d'extraction différentes qui sont respectivement l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur. Le rendement en huile était de 0,09% pour la première HE et de 0,4% pour la seconde. La méthode de l'aromatogramme testées pour les trois souches bactériennes (*E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*) a montré qu'aucune HE n'a donné un effet sur *P. aeruginosa*. *E coli* était beaucoup plus sensible à l'action de l'HE des fleurs tandis que *S. aureus* l'était plus pour l'HE industrielle. En effet, cette dernière exerçerait sur cette souche une grande action bactériostque. Cet effet pourrait être dû à certains principes actifs antibactériens trouvés dans la plante et probablement dans l'HE tels que les terpénoïdes.

Mots clés : HE, carotte sauvage, principes actifs, activité antibactérienne, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, aromatoгра

ملخص

للزيوت الأساسية أنشطة مهمة مضادة للبكتيريا ويمكن أن تكون بديلاً ناجحاً للمضادات الحيوية التي تظهر عدم فعاليتها ضد الكائنات الحية الدقيقة المقاومة. قادنا ذلك إلى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيت العطري للجزر البري المستخرج من الأزهار وآخر من البذور بطرق استخلاص مختلفة وهي التقطير المائي والتبخير على التوالي.

كان عائد الزيت 0.09% لأول زيت أساسي و 0.4% للثاني. أظهرت طريقة التصوير العطري التي تم اختبارها للسلاسل البكتيرية الثلاث *E. coli* و *P. aeruginosa* و *S. aureus* عدم وجود تأثير الزيت الأساسي على *P. Aeruginosa*. كانت الإشريكية القولونية أكثر حساسية لتأثير الزيت الأساسي في الأزهار بينما كانت *S. aureus* أكثر حساسية تجاه

الزيت الأساسي الصناعي. في الواقع، فإن هذا الأخير سوف يمارس على هذه السلالة عمل جرثومي عظيم. قد يكون هذا التأثير بسبب بعض المكونات النشطة المضادة للبكتيريا الموجودة في النبات وربما في الزيت الأساسي مثل *térpènoïdes*

الكلمات المفتاحية:

P. aeruginosa ، *S. aureus* ، *E. coli* الزيت الأساسي ، الجزر البري ، المكونات النشطة ، النشاط المضاد للبكتيريا ،

، *aeruginosa*

Abstract

Essential oils have important antibacterial activities and can be a successful substitute for antibiotics which show their ineffectiveness against resistant microorganisms. This led us to evaluate the antibacterial activity of the essential oil of the wild carrot extracted from the flowers and another from the seeds by different extraction methods which are hydrodistillation and steaming, respectively. The oil yield was 0.09% for the first ET and 0.4% for the second. The chromatogram method tested for the three bacterial strains (*E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. aureus*) showed that no essential oil gave an effect on *P. aeruginosa*. *E. coli* was much more sensitive to the action of essential oil in flowers while *S. aureus* was more sensitive to industrial essential oil. Indeed, the latter would exert on this strain a great bacteriostic action. This effect could be due to certain antibacterial active ingredients found in the plant and probably in essential oil such as terpenoids.

Key words: essential oil, wild carrot, active ingredients, antibacterial activity, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*,