

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA
TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT 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 : Biochimie Appliquée

Thème :

Conception d'un gel antibactérien à base des huiles essentielles

(Clou de girofle, Thym et la Sauge)

Présenté par :

Chaouch Amira

Rabahi Feryel

Tlidjani Nadra

Devant le jury composé de :

Président : Mr Benouareth D.E. Professeur Université de Guelma

Examineur : Mme Tabet M. M.C.B Université de Guelma

Encadreur : Mme Abdaoui W. M.C.B Université de Guelma

Juin 2023



Remerciements

Avant toute chose, Nous remercions Allah le tout-puissant de nous avoir accordé la force, le courage, la patience et la santé et de nous avoir guidées pour atteindre ce stade pour achever ce travail

Tout d'abord, nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance et notre gratitude aux membres du jury :

*À monsieur **Benouareth Djamel Eddine** Professeur à l'Université 08 mai 1945 Guelma, pour avoir accepté de présider jury de ce mémoire.*

*À mme. **Tabet Mouna** maître de conférence classe B à l'Université 08 mai 1945 Guelma, pour l'honneur qu'elle nous a fait d'examiner cet humble travail.*

*Nos plus vifs remerciements et appréciation vont tout particulièrement à notre directrice de mémoire Mme **Abdaoui Wissem** maître de conférence classe B à l'université 8 mai 1945 Guelma, pour nous avoir donné cette opportunité de réaliser ce travail nous la remercions de tout cœur pour sa confiance, son aide, ses précieux conseils et remarques, pour l'orientation et la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être menée au bon part.*

*Nos sincères remerciements au personnel des laboratoires d'université 8 mai Guelma, en particulier Mme **Karfef Wafa**, **Siyari Hayette** et **Guenifi Asma**, ainsi qu'au personnel du laboratoire de bactériologie d'EPH ibn zohr.*

Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant les années des études et nos collègues d'études, particulièrement notre promo.

Merci à tous.

Dédicaces

Du fond du cœur, je dédie cet humble travail à tous ceux qui me sont les plus chers.

*À la personne la plus précieuse qui ait jamais existé dans ma vie, à mon cher papa **Smail** :*

Je ne peux pas vous mettre en mots, parce que vous êtes la partie la plus essentielle de mon monde, je vous suis très reconnaissante de m'avoir fourni l'amour, les conseils, confort, force et soutien dont j'avais besoin dans la vie, j'ai pu gérer n'importe quel conflit parce que vous avez été là pour moi depuis le premier jour. Pour chaque goutte de ta sueur tombée pour moi j'espère pouvoir te rendre fier de moi

*À ma plus belle, adorable et douce maman **Nabila** que j'aime le plus :*

La source de ma force la personne qui illumine mon monde je suis reconnaissante pour tous les sacrifices que tu as fait pour me voir réaliser mes rêves, pour toutes les fois où tu traversé des hauts et des bas pour moi, malgré toutes les larmes que vous avez versées en me regardant grandir, je ne peux jamais imaginer atteindre ce stade sans vos encouragements et vos prières, je travaillerai plus dur pour vous rendre encore plus fier.

*A ma jolie petite soeur **Manel** qui a été là pour moi tout le temps, A mes petits frères **Raouf, Mohamed et ahmed** je souhaite que le succès vous suive tous tout au long de votre vie.*

*à mon autre moitié, mon fiancé **Lahcen**, en signe de gratitude et d'affection pour le soutien et la confiance que vous m'accordez pour aller au-delà pour me voir atteindre ce stade, je suis tellement reconnaissante de votre existence dans ma vie.*

*à ma famille « **Rabahi** » « **Oudini** » et « **Diaoui** »*

*à mes amies les plus chers **Sarra, Hanane et Latifa** merci beaucoup pour le bonheur que vous m'avez apporté je prie pour votre bien-être et votre réussite.*

*à mes « 7 » mes « **방탄소년단** » : les mots ne peuvent décrire la quantité d'amour sincère et profond que j'ai dans mon cœur pour vous, vos paroles m'ont aidé pendant les 8 dernières années, nous avons tellement grandi et j'ai beaucoup appris de vous c'est comme ça que je suis devenu qui je suis aujourd'hui, vos paroles réconfortantes m'ont fait tenir si longtemps, vous m'inspirez, vous êtes mes pilules du bonheur nous rions et nous pleurons ensemble, à chaque pas créons nos propres souvenirs.*

Merci de m'avoir permis de nager dans l'océan qui est vous, pour la jeunesse où vous et moi avons passé ensemble, tenons-nous la main et restons jeunes pour toujours



Feryel

Dédicaces

Louange à Dieu tout puissant, qui m'a permis de voir ce jour tant attend. Je dédie ce Travail

*À mon très cher père **Ghani** :*

Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne Meticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi, je t'aime papa.

*À Ma chère mère **Fella** :*

Qui m'a donné la vie qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les Sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma Vie, Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as Cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études. Qu'allah Te protège et donne la santé, le bonheur et longue vie je t'aime ma vie.

*À mes frères **Salah** et **Karim** Ces quelques lignes, ne sauraient traduire le profond amour que je vous porte, Pour votre aide et votre amour. Je vous souhaite beaucoup de bonheur et de succès. À mon neveu **Younes** la joie de la famille que Dieu le protège.*

*À Mon cher mari **Karim** pour son soutien moral, ses encouragements et sa confiance que Dieu vous garde, et à mes autres parents **Bouzid** et **Zohra** que Dieu vous garde et vous accorde longue vie. À la mémoire de mon grand-père et mes grand-mères qui m'a toujours aimé et Comblé par ses bénédictions, que dieu le tout puissant les accueillent en son vaste paradis. Et a Tous mes Familles **Chaouch Feraga, Mahdi.***

*À mes binôme **Feryel** et **Nadra** que je remercie pour le courage qu'elles m'ont donné et pour tous les moments que nous avons passé ensemble . À mon encadreur : Mme **Abdaoui.w.** À mes meilleurs amis : **Nourhane, Amira, Rahma, Yesmine, Roumaisa, Selma, Ines, , Wissam** et toutes les personnes qui ont cru en moi, qui m'encouragent, qui m'aiment .*



Amira

Dédicaces

Louange à Dieu tout puissant, qui m'a permis de voir ce jour tant attend

*Je dédie ce travail à celle qui est arrivée ici grâce à ses sacrifices, à la source d'amour et de don que je ne peux remercier avec des mots, à ma chère mère, **Fatima**, que Dieu ait pitié d'elle et lui accorde un lieu de repos.*

*A mon cher père, **Djemai**, que Dieu le protège, pleins de remerciements et de gratitude pour ses encouragements, son soutien et son sacrifice dans son travail afin que rien ne vienne entraver le déroulement de mes études.*

*A mes frères, **Salah et Marwan**, pour leur soutien et amour pour moi, je leur souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite.*

*A tous mes amis et à tous ceux qui m'ont accompagné dans mon parcours universitaire, à mes proches : **Asma, Khawla, Yasmine, Salma, Amani, Samah, Wissem, Soumaya, karima**.*



Nadra

Résumé :

Les huiles essentielles sont extraites de nombreuses plantes aromatiques et médicinales, et ce sont des composés volatils, naturels et complexes avec de fortes odeurs qui sont formés par les plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires. Les propriétés bioactives des huiles essentielles sont souvent déterminées par les principaux composés qu'elles contiennent, ils sont utilisés comme agents antibactériens. Les trois plantes que nous avons utilisées dans notre étude étaient le thym, le clou de girofle et la sauge, dont les huiles essentielles sont connues pour leur puissante activité antibactérienne.

Cette étude a pour objectif principal de formuler un gel antibactérien à base des huiles essentielles de ces trois plantes et d'évaluer son activité antibactérienne contre les souches bactériennes collectées : (Souches *ATCC*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella*).

Les méthodes de diffusion des disques en milieu gélosé solide ont été utilisées pour le test de sensibilité aux huiles essentielles et gel formulé.

Selon les résultats obtenus, les HE de thym et de clou de girofle testées ont montré des effets plus ou moins significatifs sur toutes les souches testées cependant cinq souches bactériennes testées se sont révélées sensibles à notre gel. L'activité la plus forte a été obtenue contre l'ATCC23 du staphylococcus aureus, par rapport à l'activité des ATB notre gel formulé s'est avéré efficace et a un effet antiseptique.

Mots clés : Huile essentielle, thym, clou de girofle, sauge, gel antibactérien, activité antibactérienne.

Abstract

Essential oils are extracted from many aromatic and medicinal plants they are volatile, natural, complex compounds characterized by a strong odor and are formed by aromatic plants as secondary metabolites. The major compounds present in them generally determine the bioactivity properties of essential oils and they are used as antimicrobial agents.

The three plants we used in our study are thyme, cloves and sage, their oil essential is known for their great antibacterial activities.

The main purpose of this work was to formulate an antibacterial gel based on the essential oils of these three plants and to evaluate its antibacterial activity against the bacterial strains collected: (ATCC strains, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella*)

The methods of diffusion of discs in solid agar medium were used for the antibacterial test of the essential oils and formulated gel.

According to the results obtained, the thyme and clove essential oils tested showed more or less significant effects on all the strains tested, however five bacterial strains tested proved to be sensitive to our gel. The strongest activity was obtained against *staphylococcus aureus* ATCC23, and compared to the activity of antibiotics our formulated gel proved to be effective and has an antiseptic effect.

Keywords: Essential oil, thyme , cloves , sage, antibacterial gel, antibacterial activity.

ملخص

يتم استخلاص الزيوت الأساسية من العديد من النباتات العطرية والطبية وهي مركبات متطايرة وطبيعية ومعقدة تتميز برائحتها القوية وتتشكل من النباتات العطرية كمستقلبات ثانوية. تحدد المركبات الرئيسية الموجودة فيها بشكل عام خصائص النشاط الحيوي للزيوت الأساسية وتستخدم كعوامل مضادة للميكروبات.

النباتات الثلاثة التي استخدمناها في دراستنا هي الزعتر والقرنفل والمريمية ، وتشتهر زيوتها الأساسية بأنشطتها الكبيرة المضادة للبكتيريا.

الغرض الرئيسي من هذا العمل هو صياغة جل مضاد للبكتيريا يعتمد على الزيوت الأساسية لهذه النباتات الثلاثة وتقييم نشاطه المضاد للبكتيريا ضد السلالات البكتيرية التي تم جمعها، تم استخدام طرق انتشار الأقراص في وسط أجار صلب للاختبار المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية والهلام المركب.

وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها ، أظهرت زيوت الزعتر والقرنفل التي تم اختبارها تأثيرات معنوية أكثر أو أقل على جميع السلالات المختبرة ، ومع ذلك أثبتت خمس سلالات بكتيرية تم اختبارها أنها حساسة للهلام الخاص بنا. تم الحصول على أقوى فعالية ضد المكورات العنقودية الذهبية ، وبالمقارنة مع نشاط المضادات الحيوية أثبتت الجل المركب فعاليته وان له تأثير مطهر

الكلمات المفتاحية: زيوت عطرية، الزعتر، القرنفل، المريمية، جل مضاد للبكتيريا ، نشاط مضاد للبكتيريا .

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumés

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....1

Première partie : Revue bibliographique

1 Plantes Médicinales3

1.1 Définition de la phytothérapie.....3

1.2 Types de phytothérapie.....3

1.2.1 La gemmothérapie3

1.2.2 L'homéopathie3

1.2.3 L'aromathérapie4

1.3 Plantes médicinales4

1.4 Principes actifs4

1.4.1 Alcaloïdes5

1.4.2 Flavonoïdes5

1.4.3 Tanins...5

1.4.4 Glucosides5

1.4.5 Vitamines5

1.4.6 Substances amères6

1.4.7 Saponines6

1.4.8 Anthraquinones6

1.4.9 Phénols.....6

1.4.10 Huiles Essentielles6

1.5 Présentation des plantes médicinales étudiées7

1.5.1 Thym.....7

1.5.2 Clous de Girofle9

1.5.3 La sauge : <i>Salvia Officinalis</i>	11
1.5.4 Plante d' <i>Aloe Vera</i>	14
2 Les huiles essentielles.....	18
2.1 Définition 18	
2.2 Répartition	18
2.3 Localisation dans la plante.....	18
2.4 Rôles physiologiques.....	20
2.5 Caractéristiques des huiles essentielles	20
2.5.1 Propriétés organoleptiques	20
2.5.2 Propriétés physiques	21
2.6 Composition biochimique des HE.....	21
2.6.1 Terpènes et terpénoïdes.....	21
2.6.2 Les composés aromatiques.....	23
2.6.3 Composés d'origine diverses	23
2.7 Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	24
2.7.1 Extraction par Hydrodistillation simple.....	24
2.7.2 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	24
2.8 Rendement	25
2.9 Activité antimicrobienne des huiles essentielles	27
2.9.1 Mode d'action des huiles essentielles	27
2.9.2 Huile essentielle de Thym Vulgaire (<i>Thymus vulgaris</i>).....	29
2.9.3 Huile essentielle de clous de girofle (<i>Eugenia Caryophyllus</i>)	29
2.9.4 Huile essentielle de la Sauge (<i>Salvia Officinalis</i>).....	30
3 Hygiène des mains	32
3.1 Définition 32	
3.2 Rôle de barrière de la peau	32
3.3 Rôle des mains dans la transmission des microorganismes	33
3.3.1 Maladies transmises par les mains.....	33
3.4 Techniques d'hygiène des mains.....	35

3.4.1	Lavage simple des mains	35
3.4.2	Lavage hygiénique des mains.....	35
3.4.3	Hygiène des mains par friction hydro alcoolique	36
3.4.4	Comparaison des protocoles d'hygiène des mains :	39

Deuxième Partie : Partie expérimentale

Matériel et methodes

1	Matériel.....	42
1.1	Matériel végétal.....	42
1.2	Matériel non biologique.....	42
1.3	Souches bactériennes utilisées	43
1.4	Milieus de culture	45
2	Méthodes expérimentales	45
2.1	Préparation de gel antibactérien	45
2.1.1	Récupération de gel d' <i>aloe vera</i>	45
2.1.2	Formulation d'un gel antibactérien.....	46
2.1.3	Préparation des dilutions	47
2.2	Evaluation de l'activité antibactérienne.....	48
2.2.1	Repiquage des souches bactériennes	48
2.2.2	Préparation de la suspension bactérienne.....	48
2.2.3	Ensemencement sur le milieu de culture.....	48
2.3	Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne.....	49
2.3.1	L'aromatogramme	49
2.3.2	Préparation des disques.....	50
2.3.3	Application des disques des huiles essentielles (Aromatogramme)	50
2.3.4	Application des disques du gel à tester	50
2.4	Prélèvement des mains avant et après l'utilisation du gel	52
2.5	Identification des bactéries	53
2.5.1	Identification macroscopique	53

2.5.2 Identification microscopique.....	53
2.5.3 Identification biochimique	54

Résultats et discussion

1 Résultats :	57
1.1 Formulation de gel a base des huiles essentielles :.....	57
1.2 L'évaluation de l'activité antibactérienne :.....	57
1.2.1 L'aromatogramme :	57
1.2.2 Effets synergiques des mélanges d'huiles essentielles de clou de girofle (<i>Syzygium aromaum</i>), de thym (<i>Thymus vulgaris</i>) et de sauge (<i>Salvia officinalis</i>).....	59
1.2.3 Effets inhibitrices des combinaisons de constituants du gel formulé	60
1.2.4 Evaluation d'activité antibactérienne du gel à tester	62
1.2.5 Etude comparative de l'activité antibactérienne du gel antibactérien avec celle des antibiotiques 64	
1.2.6 Application du gel formulé sur les mains :	65
2 Discussion :	69

Conclusion et perspectives

Références Bibliographique

Annexe.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification botanique de thymus vulgaris.....	08
Tableau 2 : Répartition géographique de thymus vulgaris en Algérie.....	08
Tableau 3: Classification botanique du Syzygium aromaticum	10
Tableau 4: Classification botanique de Salvia officinalis	13
Tableau 5: Classification botanique d'aloë vera	15
Tableau 6: Exemples de certaines organes des plantes riches en HE	20
Tableau 7: Exemples de rendement en huiles essentielles de quelques plantes	26
Tableau 8: Composition chimique de l'huile essentielle de Salvia officinalis	30
Tableau 9: Constituants des formulations OMS de solution hydro-alcoolique	38
Tableau 10: Quantités recommandées pour chaque constituants des formulations.....	38
Tableau 11: Activité comparée de 5 procédures de lavage et de désinfection des mains	39
Tableau 12: Comparaison des différentes techniques d'hygiène des mains	40
Tableau 13: Liste du matériel utilisé dans l'étude.....	42
Tableau 14: les souches bactériennes d'ATCC collectées.....	43
Tableau 15: Origine des souches bactériennes cliniques collectées	44
Tableau 16: Pourcentage des composants du gel formulé	57
Tableau 17: Diamètres d'inhibition de l'activité antibactérienne des HE.....	57
Tableau 18: Résultat de l'antibiogramme pour les sept souches	59
Tableau 19: Diamètres des zones d'inhibition de différents mélanges d'HE sur les souches de références utilisées	59
Tableau 20: Résultats de la combinaison des composants de gel.....	61
Tableau 21: Effet antibactérien des interactions des composants de gel sur les souches d'ATCC..	61
Tableau 22: Résultats de l'activité antibactérienne du gel formulé et de ses dilutions	63
Tableau 23: Résultats d'antibiogramme sur les souches collectées	64
Tableau 24: Aspect macroscopique des colonies après l'incubation	65
Tableau 25: Aspect microscopique des colonies après la coloration de gram	67
Tableau 26: Résultats de la galerie biochimique API 20E.....	68
Tableau 26: Tableau de lecture des résultats de la galerie API 20E.....	91

Liste des Figures

Figure 1: Aspects morphologiques de thymus vulgaris L	07
Figure 2: Structure du giroflier	11
Figure 3: Salvia officinalis L	12
Figure 4: Fleurs et feuilles de Salvia officinalis L	12
Figure 5: Aspect de plante d'aloé vera	14
Figure 6: Coupe transversale d'une feuille d'aloé vera.....	16
Figure 7: Coupe transversale des organes producteurs des huiles essentielles.....	19
Figure 8: Exemples de structure de monoterpènes	22
Figure 9: Exemples de structure de sesquiterpènes	22
Figure 10: Exemples de structures de composés dérivés du phénylpropane.....	23
Figure 11: Exemples de structures de composés issus de la dégradation d'acides gras	23
Figure 12: Schéma d'un montage d'hydro-distillation.....	24
Figure 13: Dispositif de distillation par entraînement à la vapeur d'eau	25
Figure 14: Coupe transversale de la peau humaine et des structures cutanées.....	33
Figure 15: Technique de lavage des mains à l'eau et au savon.....	35
Figure 16: Technique de friction des mains avec la solution hydro-alcoolique	37
Figure 17: Souches des références d'ATCC	43
Figure 18: Les souches bactériennes des malades utilisées.....	44
Figure 19: Préparation d'un gel antibactérien	47
Figure 20: Les dilutions de gel antibactérien.....	47
Figure 21: Les étapes de préparation d'inoculum	48
Figure 22: Ensemencement par écouvillonnage	49
Figure 23: Principe de méthode d'aromatogramme et méthodes des disques.....	49
Figure 24: La synergie de différents composants de gel	50
Figure 25: Diffusion de disques de solutions à tester	51
Figure 26: Méthode de disques de gel à tester.....	51
Figure 27: Galerie d'identification API 20 ^E	55
Figure 28: Préparation de suspension bactérienne	55
Figure 29: Préparation de galerie API.....	55
Figure 30: Les étapes d'inoculation de galerie.....	56
Figure 31: Variations des résultats d'aromatogramme	58
Figure 32: L'effet antibactérien de différentes synergies d'HE.....	60
Figure 33: Activité antimicrobienne du gel et de ses dilutions sur les souches testées.....	62
Figure 34: Résultats d'évaluation d'activité antibactérienne du gel formulé	63

Figure 35: Aspects macroscopiques des colonies des différents milieux de culture	66
Figure 36: Catalase positif.....	67
Figure 37: Oxydase positif	67
Figure 38: Résultats de test biochimique de galerie API 20E	68

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation.

API : Appareillage et Procédé d'Identification.

ATB : Antibiotique.

ATCC : American Type Culture Collection.

ATP : Adénosine-triphosphate.

BN : Bouillon nutritif

C°: Degré Celsius.

COVID: Coronavirus Disease.

D : Diamètre

D.O : Densité Optique.

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines.

EC : Escherichia Coli.

FHA : Friction hydro alcoolique.

GN : Gélose Nutritive.

GHA : Gel hydro alcoolique.

HA : Hydrolats Aromatiques.

HE : Huiles Essentielles.

HSV : herpès simplex virus.

M : Masse.

MC: Mac Conkey.

MH: Mueller Hinton.

µl : microlitre

MO : Micro-organismes.

Nb : Nombre.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PAM : Plante Aromatique et Médicinale.

PH : Potentielle d'Hydrogène.

PHA : Produit Hydro alcoolique.

R : Résistante.

ROS : Espèce réactive de l'Oxygène.

S : Sensible.

SHA : Solution Hydro alcoolique.

TDA : Tryptophane désaminase.

VP : Vosges-Proskauer

VRS : Virus Respiratoire Syncytial.

INTRODUCTION

D'après l'**OMS**, 80% de la population mondiale a recours aux plantes médicinales pour se soigner, et ceci sous plusieurs formes. Les effets indésirables des médicaments ont ravivé l'intérêt des scientifiques pour les plantes médicinales. C'est ainsi que de nouvelles recherches ont vu le jour, notamment de l'espoir de traiter certaines maladies infectieuses par les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques qui sont des molécules odorantes connues depuis longtemps pour leur activité antiseptique et leur activité thérapeutique dans la médecine populaire (**Afnor., 1986**). Cependant, en tant que source de médicaments, les plantes restent encore sous utilisées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale (**Cowan, 1999**). L'Afrique a d'ailleurs une longue histoire de médecine traditionnelle et de tradipraticiens de santé qui jouent un rôle important dans les soins aux populations.

L'Algérie est un pays riche en plantes médicinales notamment dans le domaine des plantes aromatiques c'est pour ça les Algériens ont toujours adopté des recettes contenant des herbes naturelles comme traitées pour les maladies simples ou incurables, et ce type de traitement est très demandé depuis de nombreuses années et une augmentation d'un pourcentage plus importante cette année. L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes qui constitue un réservoir inépuisé de nouveaux métabolites secondaires.

De nombreuses plantes ou produits qui en sont dérivés sont utilisés dans l'industrie des produits d'hygiène corporelle (peau). Avec la vogue actuelle pour un retour à la nature, l'apport des plantes à la cosmétologie est important : oléagineux (huiles d'amande noisette, avocat, beurre de cacao, etc.), émulsifiants, huiles essentielles, extraits aqueux, hydro- alcooliques, glycélinés, huileux, etc. (**Boughendjioua, 2015**).

Lorsque notre corps est débordé par l'attaque des bactéries et des virus, l'organisme ne peut pas toujours se défendre seul, il a besoin d'aide par des agents antibactériens (**Houchi, 2014**).

Depuis mars, date du premier cas d'infection à coronavirus dans les pays, des recettes de mélanges à base d'herbes se sont notamment compétents parmi les Algériens telle que le thym, girofle. Cela est dû au manque de médicaments efficaces pour éliminer le virus, en plus de leur coût bon marché. En plus de certaines idées que ces herbes sont capables de prévenir et de traiter l'infection par le SRAS COV 19 (**Oudjerit et al., 2021**). De Plus, cette période (Cov 19) a vu une large propagation de l'utilisation de solutions où les gels hydro-alcooliques pour lutter contre l'infection et le risque de transmission.

Dans ce contexte, nous avons été inspirées pour faire une nouvelle conception d'un gel antibactérien à base des ressources naturelles qui sont les plantes médicinales, où nous avons choisi trois plantes parmi les plantes les plus connues qui sont le thym , clous de girofle et la sauge.

Nous avons structuré notre mémoire en deux grandes parties et en cinq chapitres. Une partie théorique qui englobe et rassemble des données théoriques est constituée de trois chapitres rassemblant d'une part les plantes médicinales (phytothérapie, les principes actifs et présentation de les espèces étudiées), les huiles essentielles et leur activité antibactérienne, et d'autre part l'hygiène des mains.

La deuxième partie est expérimentale, consacrée au travail pratique, est composée de deux chapitres :

Le quatrième traitera le matériel et les méthodes utilisées pour la formulation de gel et de clarifiant son activité antibactérienne sur quelques souches bactériennes, le cinquième est réservé aux résultats obtenus et discussions y afférentes.

Revue Bibliographique

Chapitre N°1 :

Les plantes médicinales

1 Plantes Médicinales

1.1 Définition de la phytothérapie

La phytothérapie : est un mot d'origine grecque : « phyto » qui veut dire plante et « therapeuein » qui veut dire soigner. Autrement dit, au sens étymologique, c'est « la thérapeutique par les plantes».

La phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir ou à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe (**Chabrier, 2010**).

1.2 Types de phytothérapie

1.2.1 La gemmothérapie

Le mot « gemmothérapie » vient du latin « gemmae » signifiant « bourgeon », du grec « therapeia » signifiant « guérison ». On parle alors de cure, de bourgeon thérapeutique (**Andrienne, 1998**).

La gemmothérapie est une sorte de phytothérapie rénovée (**Tetau, 1987**). Cette méthode thérapeutique s'inspire des principes du drainage homéopathique. En effet, le but est de réaliser un drainage profond de l'organisme puis de réguler spécifiquement le fonctionnement des organes perturbés (**Tetau, 1996**). Il utilise des tissus végétaux vivants de nature embryonnaire tels que les bourgeons frais, les jeunes pousses, les radicules, l'écorce interne des racines ou des tiges (**Morel, 2012**).

1.2.2 L'homéopathie

Le terme « homéopathie » provient du grec homoios qui signifie « semblable » et de pathos, qui veut dire « maladie ». Elle a été mise au point par le médecin allemand Samuel Hahnemann il y a environ deux cents ans (**Gerunwald et Janicke, 2006**). Le principe de base de l'homéopathie est la règle de similitude « les semblables sont guéris par les semblables » (**Gerunwald et Janicke, 2006**).

C'est-à-dire soigner en donnant au patient une quantité infime de substances diluées (d'origine végétale, animale ou minérale) afin de provoquer des symptômes semblables à ceux de la maladie qu'on désire combattre. L'action de l'homéopathie a souvent été considérée comme une stimulation des défenses Immunitaires qui conduit à des processus de guérison naturelle (**Gerunwald et Janicke, 2006**).

1.2.3 L'aromathérapie

L'aromathérapie est l'art et la science d'utiliser des huiles essentielles qui mettent les arômes et les bienfaits des plantes au service de la santé et de la beauté. Le mot « Aromathérapie » issu du latin « aroma : odeur » et du grec « therapein : soin » fut inventé en 1928 par le chimiste français René-Maurice Gattefossé (Cusson, 2007).

«l'aromathérapie scientifique médicale est définie comme étant l'utilisation d'Huiles Essentielles chémotypées, c'est-à-dire de composition biochimique bien connue, par voie cutanée, orale, vaginale, rectale, nasale, auriculaire et olfactive afin d'assurer un complément de soin ou un soin préventif ou curatif d'un large panel d'affections chez l'homme, l'animal et la plante, tant au niveau de la destruction des foyers infectieux pathogènes que de la gestion des troubles symptomatiques, organiques ou fonctionnels de ladite affection » (Girard, 2010).

1.3 Plantes médicinales

Il existe plusieurs définitions pour parler d'une plante médicinale mais, pour faire simple, ce terme désigne une plante ou une partie d'une plante possédant des propriétés médicamenteuses ou exercent un effet pharmacologiques bénéfique sur la santé humaine ou animale Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (Sanago, 2006)

Ces différentes plantes sont classées selon les deux listes suivantes :

- ✓ **La liste A** : plantes médicinales utilisées traditionnellement » composée de 365 Plantes.
- ✓ **La liste B** : plantes médicinales utilisées traditionnellement en l'état ou sous forme de préparation dont les effets indésirables potentiels sont supérieurs aux bénéfices Thérapeutiques attendus » et elle est composée de 123 plantes.

1.4 Principes actifs

Les plantes médicinales sont bénéfiques à la santé parce qu'elles contiennent des principes actifs responsables de leurs effets thérapeutiques. Ces substances bioactives possèdent des effets biologiques divers. Ils permettent à l'organisme de lutter contre les microbes et les infections, de soigner et prévenir les maladies (diabète, hypertension, accidents vasculaires, cancers, etc.), de protéger les organes vitaux (foie, reins, cœur, pancréas, poumons, cerveau, appareil digestif, etc.), de réguler le métabolisme et les paramètres biochimiques et hématologiques du sang, d'améliorer la santé mentale, en plus de nombreux autres effets sur la santé et le bien-être (El Alami, 2021).

1.4.1 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des molécules d'origine naturelle .On les trouve principalement chez les végétaux, mais aussi chez les animaux et chez certains micro-organismes (**Boutalbi, 2014**). On peut le trouver dans toutes les parties de la plantes (**Truan, 2016**). Les alcaloïdes possèdent une activité pharmacologique significative (**Mamadou ,2011**).

1.4.2 Flavonoïdes

Ils sont à l'origine de la coloration des feuilles, fleurs et fruits (**Kunkele et Lobmeyer, 2007**). Ce sont des substances dotées d'une activité antibactérienne (**Wichtl et Anton, 2009**). Ils ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (**Iserin et al, 2001**).

1.4.3 Tanins

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail. Les tanins sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections (**Iserin, 2001**).

1.4.4 Glucosides

Elles sont présentes dans de nombreuses plantes médicinales, telles que les digitales laineuses et pourprée (*Digitalis lanata* et *D. purpurea* cultivées en Europe) et le muguet (*Convallaria majalis*). Les glucosides cardiaques comme la digitoxine, la digoxine et la convallotoxine ont une action directe et puissante sur le cœur. Ils l'aident à maintenir le rythme cardiaque en cas d'affaiblissement. Ces glucosides sont également diurétiques. Ils contribuent à transférer les liquides des tissus et du système circulatoire vers les conduits urinaires (**Iserin, 2001**).

1.4.5 Vitamines

Bien qu'elles soient souvent négligées, de nombreuses plantes médicinales sont particulièrement riches en vitamines. Le citronnier notamment (*Citrus limon*) contient des doses élevées de vitamine C et la carotte (*Daucus carota*) est riche en bêta-carotène (provitamine A). Le cresson de fontaine (*Nasturtium officinale*), par exemple, contient des doses élevées de vitamines B1, B2, C et E et de bêta-carotène tandis que l'argousier (*Hippophae rhamnoides*) peut être considéré comme un complément vitaminique et minéral en tant que tel (**Iserin et al., 2001**).

1.4.6 Substances amères

Les substances amères forment un groupe très diversifié de composants dont le point commun est l'amertume de leur goût. Cette amertume stimule les sécrétions des glandes salivaires et des organes digestifs. Ces sécrétions augmentent l'appétit et améliorent la digestion. Avec une meilleure digestion, et l'absorption des éléments nutritifs adaptés, le corps est mieux nourri et entretenu. De nombreuses plantes ont des constituants amers, notamment l'absinthe (*Artemisia absinthium*), la chirette (*Swertia chirata*) et le houblon (*Humulus lupulus*) (Iserin et al, 2001).

1.4.7 Saponines

Principaux constituants de nombreuses plantes médicinales, les saponines doivent leur nom au fait que, comme le savon, elles produisent de la mousse quand on les plonge dans l'eau. Les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpénoïdes. La structure chimique des stéroïdes est similaire à celle de nombreuses hormones humaines (œstrogène, cortisone), et de nombreuses plantes qui en contiennent ont un effet sur l'activité hormonale. (Iserin et al., 2001).

1.4.8 Anthraquinones

Présentes dans nombreux plantes, agissent sur la constipation. Elles ont un effet irritant et laxatif sur le gros intestin, provoquent des contractions des parois intestinales et stimulent les évacuations environ dix heures après la prise. Elles rendent les selles plus liquides, facilitant ainsi le transit intestinal (Iserin, 2001).

1.4.9 Phénols

Sont des petites molécules constitués d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe Hydroxyle, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de Facide benzoïque et de l'acide cinnamique (Wichtl et Anton, 2009). Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (Iserin et al., 2001).

1.4.10 Huiles Essentielles

Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. Elles sont largement employées en parfumerie.

Les huiles essentielles contenues telles quelles dans les plantes sont des composés oxygénés, parfois d'origine terpénoïde et possédant un noyau aromatique. Les huiles essentielles ont de multiples propriétés. L'arbre à thé (*Melaleuca alternifolia*), par exemple, est fortement antiseptique. Les huiles essentielles sont à différencier des huiles fixes ou des huiles

obtenues par l'hydrolyse des glucosides, comme la chamazulène de la camomille allemande (Iserin, 2001).

1.5 Présentation des plantes médicinales étudiées

1.5.1 Thym

1.5.1.1 Généralités

Le thym est une petite plante aromatique vivace appartenant à la famille des *lamiacées*. Le genre *thymus* est un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des *labiées*, avec pour centre de diversité la partie occidentale du bassin méditerranéen (Morales, 2002). Comme beaucoup de labiées elles sont connues pour leurs huiles essentielles aromatiques. L'espèce la plus connue est sans conteste *thymus vulgaris* L. Localement connu « zaatar » (Quezel et al., 1963)

1.5.1.2 Description morphologique

Thymus vulgaris L. est un arbuste aromatique à tiges ramifiées, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Il possède de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur vert foncés, et qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de monoterpènes. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose (Figure01). *Thymus vulgaris* est d'ailleurs caractérisé par un polymorphisme floral qui a été au moins aussi étudié que son polymorphisme chimique (Bruneton, 1999 ; Morales, 2002).



Figure 01 : Aspects morphologiques de *thymus vulgaris* L (Iserin, 2001)

1.5.1.3 Classification taxonomique

La classification botanique de *thymus vulgaris* est présentée dans le **Tableau 01** (Geotez et Ghédira, 2012).

Tableau 01 : Classification botanique de *thymus vulgaris*.

Règne	Plante
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement :	Magnoliophyta
Sous-embranchement :	Magnoliophytina
Classe :	Magnoliopsida
Sous-classe :	Asteridae
Ordre :	Lamiales
Famille :	Lamiaceae
Genre :	Thymus
Espèce :	Thymus vulgaris L

1.5.1.4 Répartition géographique de *thymus vulgaris* en Algérie

La répartition géographique de l'espèce *Thymus vulgaris* en Algérie et selon les différentes études réalisées est représentée dans le tableau 02.

Tableau 02 : Répartition géographique de *thymus vulgaris* en Algérie (Abed et al., 2021).

Wilaya	Partie utilisée	Références
Chlef	Feuilles + fleurs	Benboualiali, 2006
Mostaganem	Feuilles + fleurs	Abdelli, 2017 Benmadi et Abida, 2018
Naama	Feuilles + fleurs	Benmadi et Abida, 2018
M'sila	Feuilles	Binatte et Dikes, 2018
Constantine	Feuilles	Zeghad, 2008
Tlemcen	Feuilles	Abdelli, 2017
Bouira	Feuilles+ tiges et fleurs	Belgaid et Rahmani,2018
Alger	Tige et feuilles	Boukhatem et al., 2014
Ain Defla	Partie aérienne	Ghomari et al., 2013
Relizane	Feuilles et tige	Djrourou et Hbouchi, 2018
Tipaza	Feuilles + tige	Zaid et Tifourghi, 2020
Souk ahras	Feuilles	Bouzabata, 2015

Boumerdès	Partie aérienne	Oulebsir-Mohandkaci et al., 2015
Ghardaia	Partie aérienne	Kemassi et al., 2014
Sétif	Toute la plante	Nedjai et Nedjai, 2017

1.5.1.5 Principes actifs du Thym

- **Les acides phénoliques** : acide caféique, acide rosmarinique.
- **Les flavonoïdes** : hespéridine, eriotrécine, narirutine, lutéoline.
- **Les polyphénols** : tanins (Zeghad, 2009).

1.5.2 Clous de Girofle

1.5.2.1 Généralités

Le giroflier ou *syzygium aromaticum* (L.) appartient à la famille des *myrtacées*. C'est un arbuste, ou arbre pouvant atteindre 20 mètres de haut, originaire des îles Moluques en Indonésie, ce ligneux peut vivre jusqu'à 150 ans (Boullard, 2001).

Ses feuilles sont opposées, coriaces et persistantes, leur limbe est lancéolé, saupoudré de rose et d'or. Ces dernières deviennent luisantes lorsqu'elles ont fini de se développer. La floraison est abondante, les fleurs blanches, très parfumées, sont disposées à l'extrémité des rameaux en petites cymes compactes : elles comportent 4 sépales épais rougissant à maturité, 4 pétales blanc-rosé caducs, lors de l'épanouissement, et de nombreuses étamines. Le fruit de cette essence ligneuse, nommé « anthofles » ou « mères de girofle », est une baie oblongue verte, à chair pourpre violacé longue d'environ 2 cm. De façon générale ce fruit ne contient qu'une seule graine (Botineau, 2010)

1.5.2.2 Répartition géographique

Le giroflier est un arbre tropicale appartenant à la grande famille des *myrtacées*, Originaire de Madagascar, la Réunion, les Antilles, le giroflier est également cultivé en Indonésie et en Tanzanie., dans la partie sud des philippines et les îles de Moluques, d'Afrique et d'Amérique du sud, principalement dans des pays tropicaux (Penot et al., 2014) . Les clous de girofle américains sont réputés être de qualité inférieure à cause de leur plus faible teneur en huile essentielle. (Alice, 2011)

1.5.2.3 Classification botanique

La position systématique du giroflier selon Sophie est présentée dans le (tableau03) suivant

Tableau 03 : Classification botanique du *syzygium aromaticum* (Sophie, 2015).

Régne	Plante
Sous-Régne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-Classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	Syzygium

Comme beaucoup d'espèces, le giroflier a porté plusieurs noms scientifiques avant d'être nommé *syzygium aromaticum* (Dupont et al., 2012). Actuellement, les noms *Syzygium aromaticum* et *Eugenia caryophyllus* sont tous les deux employés.

1.5.2.4 Description morphologique

La partie utilisée est le bouton floral qui comporte une partie quadrangulaire longue de 10 à 12 mm pour un diamètre de 2 à 3 mm, appelé hypanthe, qui correspond à l'ovaire infère, et une tête globuleuse, d'un diamètre de 4 à 6 mm, limitée par 4 sépales divergents et 4 pétales imbriqués (Bruneton, 2009). Les boutons floraux, les « clous », sont cueillis manuellement avant leur ouverture. Ils sont ensuite dégriffés (séparation du bouton du pédoncule qui est conservé pour extraire l'huile essentielle), puis ils sont séchés au soleil ce qui leur donne leur couleur brun-cannelle (Figure 02). Ils sont alors utilisés en infusions ou en poudres. Les feuilles et tiges peuvent également servir à l'extraction de l'huile essentielle (Iserin et al., 2001).

Le clou de girofle contient au minimum 150ml/kg d'huile pour être conforme à la pharmacopée européenne (6^{ème} édition), il en dégage une odeur aromatique forte, de saveur brûlante (Bruneton, 2009).



Figure 02 : Structure du giroflier (Köhler, 1887).

1.5.3 La sauge : *Salvia Officinalis*

1.5.3.1 Généralités

Salvia officinalis (**Figure 03**) ou sauge commune est un arbuste rond vivace de la famille de *labiatae / lamiaceae* (Riceevans et al., 1995). Ce sont des arbustes ou des plantes herbacées. Le calice est bilabié, variable, à lèvre supérieure tridentée, l'inférieure bidentée. La corolle est bilabiée. Elle comporte 2 étamines, à filet court surmonté d'un long connectif à 2 branches inégales, l'une portant une loge de l'anthère et l'autre, le plus court, une écaille, ou bien terminé en pointe.

Le genre *Salvia* (Sauge) fait partie des genres les plus importants de la famille des *lamiacées*, comprenant près de 900 espèces réparties dans le monde entier. L'Algérie compte 23 espèces du genre *Salvia* (Ghorbani et Esmailizadeh, 2017).



Figure 03: *Salvia officinalis* L., (Konrad, 2022).

1.5.3.2 Description botanique de la plante

La sauge est une plante à racines ramifiées, à tige quadrangulaire dressée, blanche, tomenteuse, peut atteindre de 20 à 60 cm de haut (Dellile, 2007) vivace, buissante et herbacée, certaines deviennent ligneuse en climat doux (Graham, 2007). Ses tiges sont quadrangulaires et lignifiées à la base. Ses feuilles sont lancéolées, épaisses, assez grandes à la base, mais étroites et plus petites lorsqu'elles sont au sommet. La face supérieure est gris vert et finement granuleuse, la face inférieure est blanche et pubescente (Figure04). Ses fleurs d'environ 2 cm de long, sont bleu-violet et formant un épi. La corolle est tubuleuse, garnie à la base d'un anneau de poils. L'androcée est réduite à 2 étamines (Figure04). Son fruit est un akène



Figure 04 : Fleurs et feuilles de *Salvia officinalis* (Mazza, 2008).

La sauge a une odeur forte, aromatique, balsamique (Mahmoudi, 2003), avec une saveur chaude, aromatique, légèrement amère et brûlante et astringente (Eberhard et al, 2005).

1.5.3.3 Classification

D'après (Quezel et Santa, (1963) ; (Hans, 2007) la sauge est sous le classement suivant (Tableau 04) :

Tableau 04 : Classification botanique de *salvia officinalis*

Règne	Plantae (végétal).
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermaphytes
Sous- embranchement	Angiospermes
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Salvia
Espèce	Salvia officinalis

1.5.3.4 Les différentes dénominations de Sauge

Synonyme : Herbe sacrée, thé d'Europe, thé de Grèce, thé de France, thé de Provence, grande Sauge, Sauge franche. (Eberhard et al, 2005)

Nom vernaculaire arabe : Souaq ennebi, Houdbiques es sedr (delille, 2007), Salema (kaddem, 1990) ; kheyat djouhat.

Nom targui ou berbère : Tazzourt, Agourim, Imeksaouen (beloued, 2005)

Nom allemand : Salbei, Garten-salbei, Edl-salbei.

Nom anglais : Common sage, Garden sage (Cabaret, 1986 ; Beloued, 2001).

1.5.3.5 Répartition géographique de la plante

Dans le monde, ce genre est distribué dans trois régions principales dans le monde 530 espèces à l'Amérique centrale et latine, 250 espèces en Asie centrale et en régions méditerranéennes, 30 en Afrique du Sud et 90 espèces en Asie de l'Est. (**Khiredine, 2013**) C'est une plante très répandue dans le bassin méditerranéen (sols calcaires) (**laurent, 2007**) spontanée dans les lieux arides (**Cretti, 1981**). Elle préfère les terrains chauds et calcaires. Elle pousse spontanément dans tout le bassin méditerranéen, de l'Espagne à la Turquie, en passant par l'Afrique du Nord (**Rombi et Robent, 2007**).

En Algérie, La sauge (*Salvia officinalis*) est une espèce Euro-méditerranéenne, assez commune en Algérie (cultivée) (**BABA AISSA, 2000**). C'est une plante cultivée un peu partout (**Beloued, 2005**), plus précisément dans les terres secs (**dellile, 2007**) de l'ouest du pays (**Nacef et Djerroumi, 2004**).

1.5.4 Plante d'Aloe Vera

1.5.4.1 Généralités

La plante l'*Aloe barbadensis* Miller (**Figure05**), plus connue sous le nom d'*Aloe vera*, c'est une plante médicinale dite « succulente », elle mesure entre 60 cm et 1m de haut. Elle est souvent classée parmi les 420 espèces de la famille des *liliaceae*. Mais de nombreuses autres appellations peuvent être trouvées (**Boudreau et Beland, 2006**).



Figure 05 : Aspect de la plante d'aloé Vera (**Schweizer, 2012**)

Les différentes dénominations d'Aloe Vera

- ✓ Nom: Aloe vera, Aloe barbadensis Miller.
- ✓ Noms communs : aloès, lys du désert.
- ✓ Nom anglais : Aloe vera.

1.5.4.2 Classification

Selon (Cronquist, 1981) l'*Aloe vera* est donc classée comme suit (Tableau 05) :

Tableau 05 : Classification botanique d'*Aloe Vera*.

Régne	Plante	Ordre	liliales
Sous - Régne :	Tracheobionta	Famille :	Aloeaceae
Division :	Magnoliophyta	Genre	Aloe
Classe	Liliopsida	Espèce	Aloe vera
Sous-Classe	Liliidae	Nom Commun	Aloès

1.5.4.3 Distribution géographique

L'Aloe vera est originaire d'Afrique du Nord, de la région méditerranéenne du sud de l'Europe et des îles Canaries. Il est aujourd'hui cultivé dans toutes les Antilles, les régions tropicales ou partout où il règne un climat subtropical ou désertique et les régions plus chaudes du monde, notamment l'Asie, les Bahamas, au Sud de l'Amérique du Nord et en Amérique Latine, l'Asie du sud-est (Lorenzetti et al., 1964 ; Joachim et al, 2008).

1.5.4.4 Description botanique

L'aloès se distingue par des feuilles charnues lancéolées aux bords épineux dentés, ces feuilles poussent en rosette et fournissent une résine amère utilisée en médecine comme laxatif et purgatif. Ses fleurs sont tubulaires et poussent autour d'une tige centrale (Nacef et Djerroumi, 2012), Le fruit est une capsule loculicide (Louis, 2004). Leurs racines sont peu profondes. Leur gel, une matière visqueuse vert pâle, est prélevé au centre de leurs feuilles, tandis que leur latex est extrait des petits canaux présents dans leur tige (Cardenas, 2017). Les aloès ont la capacité de fermer leurs stomates (très petites ouvertures dans l'épiderme de la feuille) pour garder l'eau à l'intérieur de la plante, cela leur permettra de survivre à de longues périodes de temps sec. C'est pour cette raison que son gel a un pouvoir de pénétration dans la peau 4 fois supérieur à celui de l'eau (Margaux, 2015).

1.5.4.5 Parties utilisées

L'aloé Vera a des feuilles charnues et fragiles avec des épines, qui poussent en forme de rose, disposées en spirale. D'une très belle couleur verte lorsqu'elles sont indirectement exposées au soleil (par exemple derrière une fenêtre), elles atteignent 80 cm de long et 10 cm dans leur plus grande largeur, avec des bords pourvus d'épines jaune clair. Les feuilles les plus

jeunes poussent au centre de la plante, les plus âgées se retrouvent donc à l'extérieur (**Perrot et Paris, 1971**).

La coupe transversale d'une feuille permet de distinguer, de l'extérieur vers l'intérieur : la cuticule (écorce), une couche épidermique chlorophyllienne, un derme cellulosique où circule une sève (ou suc) rouge brunâtre tendant vers le jaune (le "sang " d'aloès), et enfin, au centre, une pulpe épaisse : parenchyme dans lequel l'eau est retenue sous forme d'un mucilage visqueux incolore qui est le précieux gel utilisé pour ses vertus salutaires (**Figure06**). A l'heure actuelle, seule la feuille est utilisée, les autres parties comme les racines et les fleurs n'ont aucun intérêt médical (**Michayewicz, 2013**).

Le suc et le gel qui sont contenus dans la feuille d'*Aloe vera* ont un aspect et des compositions chimiques différentes. Le gel d'*Aloe vera* est composé à 98% d'eau et ne contient donc que 2% principes actifs. Ces deux pourcent contiennent encore plus de 200 substances actives précieuses (**Soriano, 2016**).



Figure 06 : Coupe transversale d'une feuille d'Aloe (**Michayewicz, 2013**).

✓ Propriétés de plante d'Aloe Vera :

L'Aloe vera est principalement reconnue pour son activité hydratante, Anti-inflammatoire, antimicrobien et une cicatrisation plus rapide, l'extrait d'aloé vera semble agir sur deux plans :

- accélération du renouvellement de la peau et en particulier des tissus endommagés.
- le système immunitaire (**Rodriguez et al., 2010**).

Il a été démontré que les anthraquinones présentes dans le latex d'*Aloe vera* sont hautement antimicrobiennes (**Pandey et Mishra, 2010**), elles sont efficaces contre les bactéries

Gram moins (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) mais aussi contre les bactéries Gram plus (*Staphylococcus aureus*.) (Soriano, 2016).

Utilisé comme complément alimentaire car la pulpe d'*Aloe* apporte un regain d'éléments vitaux (acides aminés, minéraux et oligo-éléments, vitamines, etc.) (Donadieu, 2006). L'*aloe vera* a une activité Anti âge, Le gel d'*Aloe Vera* stimule les fibroblastes de la peau entraînant une augmentation de synthèse de collagène, des fibres élastiques et d'acide hyaluronique, ce qui permettra une nette amélioration de l'élasticité de la peau et de l'aspect des rides. L'Aloès est aussi reconnu pour ses propriétés astringentes, hypoallergéniques, calmantes, hémostatiques, bactéricides, et fongicides.

Chapitre N°2 :

Les Huiles Essentielles

2 Les huiles essentielles

2.1 Définition

Le terme “huile essentielle” a été inventé au 16ème siècle par le médecin suisse **Parascelsus von Hohenheim** afin de désigner le composé actif d’un remède naturel. Il existe aujourd’hui approximativement 3000 huiles essentielles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l’industrie des arômes et des parfums (**Essawi et al., 2000**)

Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal : elles sont odorantes et très volatiles, c’est-à-dire qu’elles s’évaporent rapidement dans l’air. (**Padrini et Lucheroni, 1996**).

Il est important de distinguer entre les huiles essentielles, les huiles fixes (huile D’olive...) et les graisses contenues dans les végétaux. En effet, les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes et des graisses. Elles se distinguent des huiles fixes par leurs compositions chimiques et leurs caractéristiques physiques. Elles sont fréquemment associées à d’autres substances comme les gommages et les résines d’ailleurs elles tendent elles-mêmes à se résinifier par exposition à l’air. (**Bekhechi et Abdelouahid, 2010**)

2.2 Répartition

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal et surtout chez les végétaux supérieurs, il y aurait 17500 espèces aromatiques (**Bellakhder, 1997**). Les familles botaniques capables d’élaborer les constituants qui composent l’huile essentielle sont réparties dans un nombre limité de familles (**Benazzeddine, 2010**), telles que : *Lamiaceae* (Thym), *Rutacées* (citron) *Myrtaceae* (Girofle) *Poacées*, *Apiacées* (Ombellifères), *Lauraceae*, *Astéracées* (Composées), *Pipéracées* et *Cupressacées*...

2.3 Localisation dans la plante

Chez les plantes, les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes végétaux, qui varient selon la région ou bien la zone productrice du végétal (**Figure07**) (**Rafi et al., 1995 ; Lamendin, 2004**) : fleurs (ylang-ylang, bergamotier, rose), les sommités

fleuries (tagète, lavande), les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre, curcuma), les fruits (badiane), le bois (bois de rose, santal) ou les graines (ambrette, muscade) (**tableau06**) (**Piochon, 2008 ; Lakhdar, 2015**).

Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices qui se situent, dans des poils sécréteurs ou trichomes (*Lamiaceae*), dans des poches sécrétrices (*Myrtaceae* ou *Rutaceae*) ou dans des canaux sécréteurs (*Apiacidae* ou *Asteracea*) (**Piochon, 2008**).

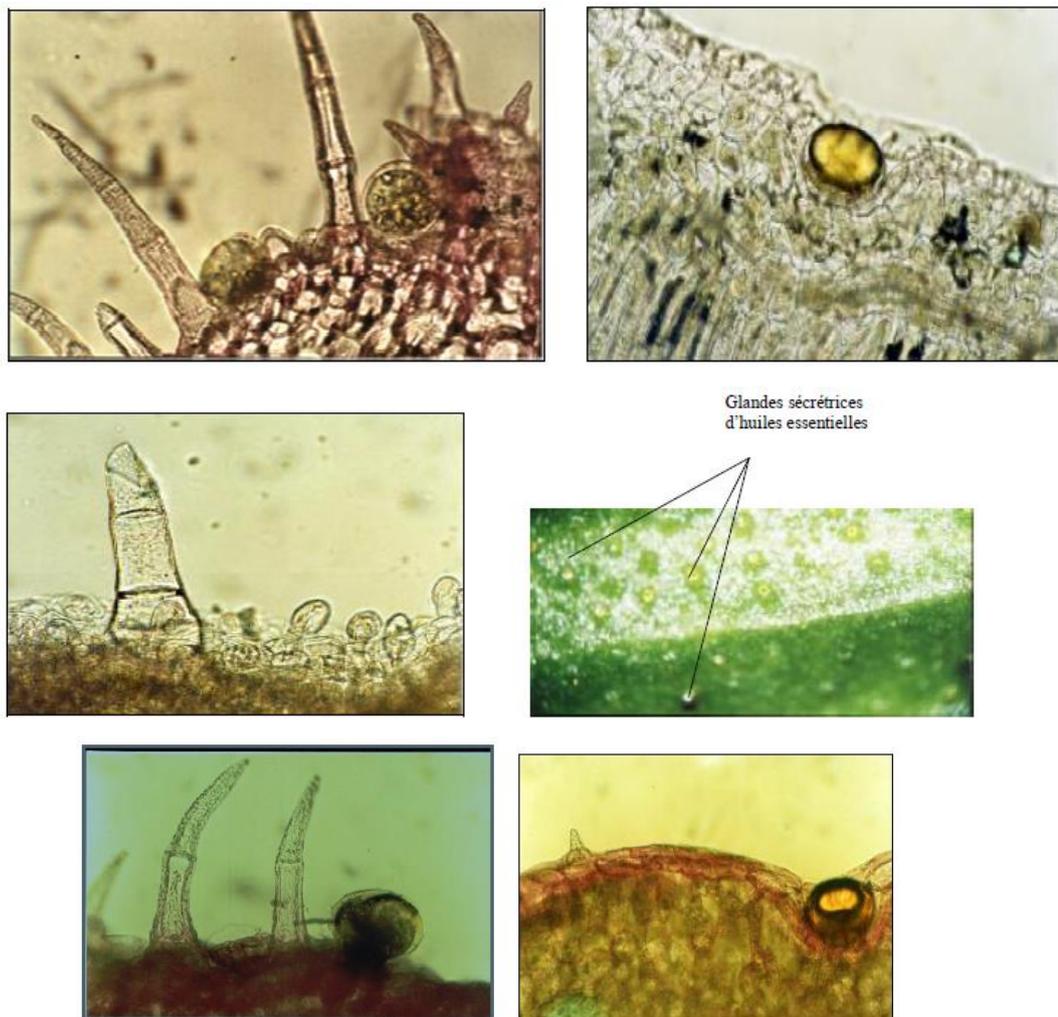


Figure 07 : Coupe transversale des organes producteurs des huiles essentielles
(**Hazzit, 2008**)

Tableau 06 : Exemples de certains organes de plantes riches en huiles essentielles (Gareneau, 2005)

Organes	Exemples
Feuilles d'Angiospermes	Romarin, sauge, menthe
Feuilles de Gymnospermes	Sapin, cèdre
Tiges	Citronnelle, lemongrass
Ecorces	Cannelier
Racines	Angelica, vétiver
Rhizomes	Acorus, gingembre
Bulbes	Oignon, ail
Bois	Santal
Fruits	Bleuet, citron
Fleurs	Jasmin, rose, Jasmine
Graines	Aneth, carvi

2.4 Rôles physiologiques

Le rôle des huiles essentielles n'a pas pu être clairement démontré. En effet, on considère qu'il s'agit de produits de déchets du métabolisme. Toutefois, certains auteurs pensent que la plante utilise son huile essentielle pour repousser les insectes, ou au contraire pour les attirer et favoriser la pollinisation (**Dorosso, 2002 ; Kaloustian et hadji, 2012**).

D'autres, la considère comme une ressource énergétique, facilitant certaines réactions chimiques. D'autre part, elles conservent l'humidité nécessaire à la vie des plantes exposées à des climats désertiques (**Belaïche, 1979**)

2.5 Caractéristiques des huiles essentielles

Selon (**Lemberg, 1982 ; Bruneton, 1999**), les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés Sont les suivants :

2.5.1 Propriétés organoleptiques

Trois aspects peuvent être contrôlés :

La couleur : chaque huile essentielle (HE) présente une couleur qui lui est propre permettant de confirmer son identification ou sa qualité. Elle varie en fonction du vieillissement et de l'oxydation, allant souvent dans le sens d'un brunissement.

L'odeur : elle est caractéristique à chaque HE mais nécessite une bonne habitude olfactive.

La saveur : généralement les HE de mauvaises qualités ou falsifiées ont un Goût désagréable qui s'amplifie avec le vieillissement (**Baudoux et al, 2006**).

2.5.2 Propriétés physiques

Les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques : Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau à laquelle, toutefois, elles communiquent leur odeur. Leur point d'ébullition varie de 160° à 240°C. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0,75 à 0,99 (les huiles essentielles de saffran, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions). Elles ont un indice de réfraction élevé. Elles sont dextrogyres ou lévogyres, rarement inactives sur la lumière polarisée. Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels. Et elles sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas). Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire résinoïdes, très odorantes et volatiles. A température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaunes pâles, il existe, cependant, quelques exceptions, exemple : huile essentielle à azulène de coloration bleue. Ce sont des produits stimulants, employés à l'intérieur, comme à l'extérieur du corps. Quelquefois purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou un solvant adapté (**Bardeau, 1976 ; Legrand, 1978 ; Lemberg, 1982 ; Bruneton, 1999**).

2.6 Composition biochimique des Huiles Essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de différents composés chimiques dissous l'un dans l'autre formant des solutions homogènes (**Dorosso sonate J, 2002**).

2.6.1 Terpènes et terpénoïdes

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires. Leur classification est basée sur le nombre de répétition de l'unité de base : isoprène , hémiterpène (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20) dans le cas des huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils : mono et sesquiterpènes.

A. Les monoterpènes

Ce sont les constituants les plus simples de la série, les monoterpènes sont issus du couplage de deux unités «isopréniques». Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques (α et γ -terpinène, p-cymène) ou bicycliques (pinène, camphène, sabinène). Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle (citrus...). Les variations structurales justifient l'existence de nombreuses molécules : alcools (géraniol, α -terpinéol, bornéol, trans-trans-farnésol), phénols (thymol), aldehydes (citronellal), cétones (carvone, B-vétivone), esters (Acétate de cedryle), éthers (1,8-cinéole) (**Figure 08**) (**Bruneton, 1999**).

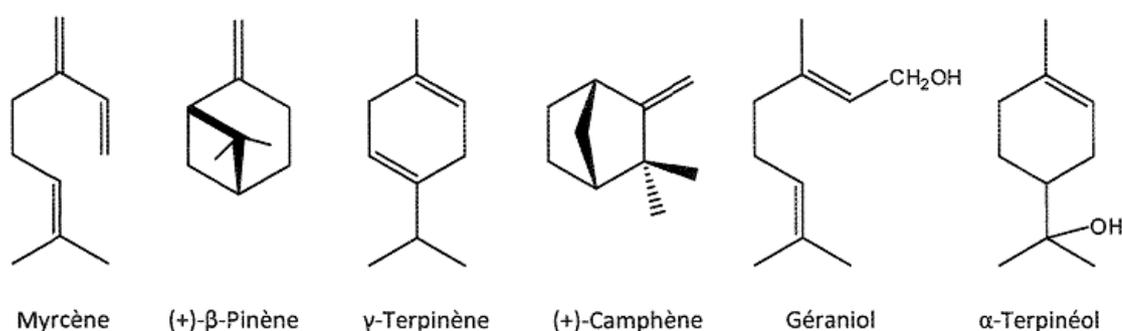


Figure 08 : Exemples de structures de monoterpènes (Piochon, 2008).

B. Les sesquiterpènes

Un grand nombre de sesquiterpènes (**Figure09**) sont des constituants habituels des huiles essentielles des végétaux supérieurs, ils peuvent intervenir dans les propriétés pharmacologiques attribuées à ces fractions volatiles. Biologiquement, bon nombre de structures sesquiterpéniques sont des phytoalexines, d'autres semblent agir comme des régulateurs de croissance, d'autres enfin attirent les insectes ou agissent à l'encontre de ceux-ci comme des facteurs anti-nutritifs (**Bruneton, 1999**).

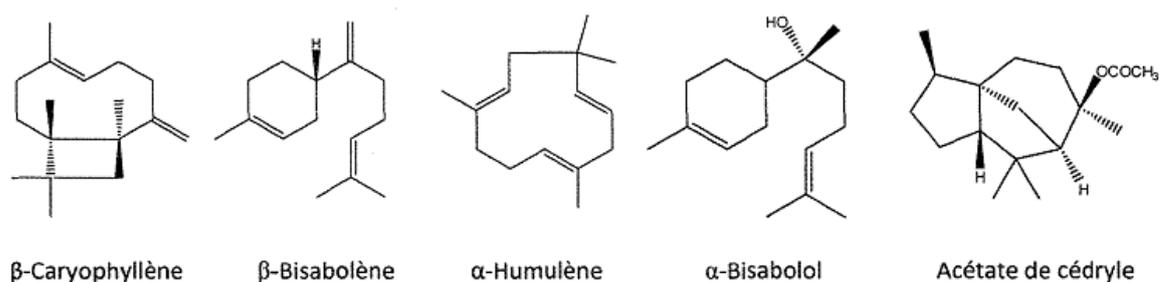


Figure 09 : Exemples de structures de sesquiterpènes (Piochon, 2008).

2.6.2 Les composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivent du phénylpropane (**Figure10**). Ils sont moins fréquents que les terpènes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragole. Ils sont fréquemment rencontrés dans les huiles essentielles d'*apiacées* (cumin, Fenouil, persil, etc...) et sont caractéristiques de celles de la vanille, de l'estragon, du basilic, du clou de girofle (**Chemat et al, 2012**).

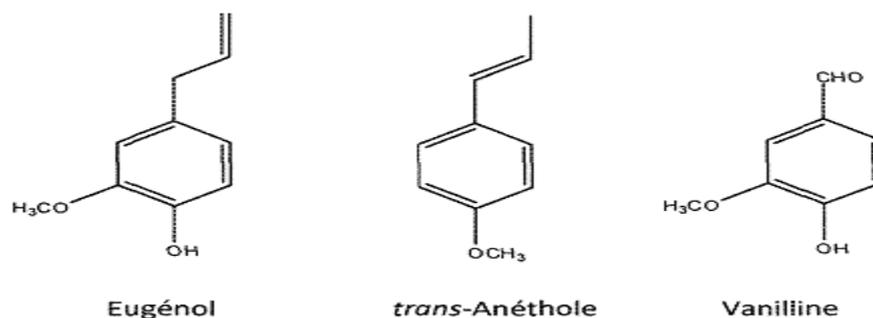


Figure 10 : Exemples de structures de composés dérivés du phénylpropane (**Piochon, 2008**).

2.6.3 Composés d'origine diverses

Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînaibles par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras, de terpènes (**Figure11**), les Huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible Masse moléculaire, entraînaibles lors de l'hydro distillation carbure, acide (C3 à C10), alcools, Aldéhydes (octanal, décanal ...), esters, lactones, produits azotés ou soufrés (**Lagunez, 2013**).

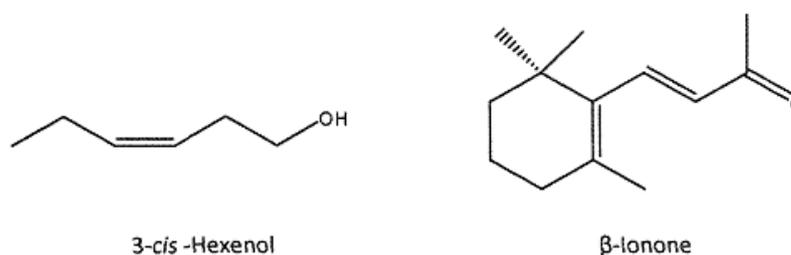


Figure 11 : Exemples de structures de composés issus de la dégradation d'acides gras ou de terpènes (**Piochon, 2008**).

2.7 Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles. le choix de la méthode la plus adaptée se fait en fonction de la nature du matériel végétal à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'utilisation de l'extrait et de l'arôme du départ lors de l'extraction (Mayer, 1999). L'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation constituent les procédés d'extraction ou de séparations les plus anciens et les plus utilisés (Sutour, 2011).

2.7.1 Extraction par Hydrodistillation simple

Il s'agit la technique la plus simple et la plus répandue. Elle consiste à immerger la matière première à traiter dans un alambic rempli d'eau et à porter l'ensemble à ébullition pour briser les cellules végétales et libérer les molécules aromatiques volatiles qui constitueront à terme l'huile essentielle de cette plante. Elle roule généralement à la pression atmosphérique (Farhat, 2010). Les vapeurs hétérogènes se condensent sur une surface froide par un système de réfrigération par courant d'eau (Bruneton, 1993) les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité pour l'obtention de 2 couches HE et HA (Figure12) (Benyadah, 2008).

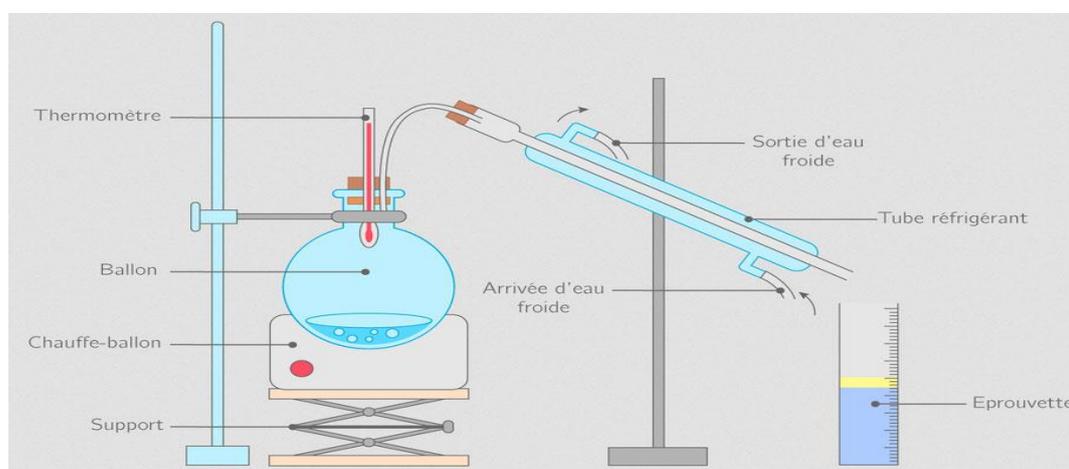


Figure12 : Schéma d'un montage d'hydro-distillation (1)

2.7.2 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Selon la pharmacopée européenne, La distillation par entraînement à la vapeur (Figure13) est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HE. Ce système d'extraction est basé sur le même principe que l'hydrodistillation sauf que la vapeur d'eau est injectée à partir d'une chaudière séparée de l'alambic de distillation. Le matériel végétal,

dans ce cas, est soutenu par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic (**Bekhechi et Abdelwahid, 2010**).

La vapeur endommage la structure des cellules végétales, ainsi que les molécules volatiles. Elles sont ensuite canalisées dans un condenseur et réfrigérées pour se liquéfier à nouveau.

Cette méthode améliore la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques : le matériel végétal ne coule pas directement dans l'eau bouillante (**Fronchome et Pénoel, 1990**).

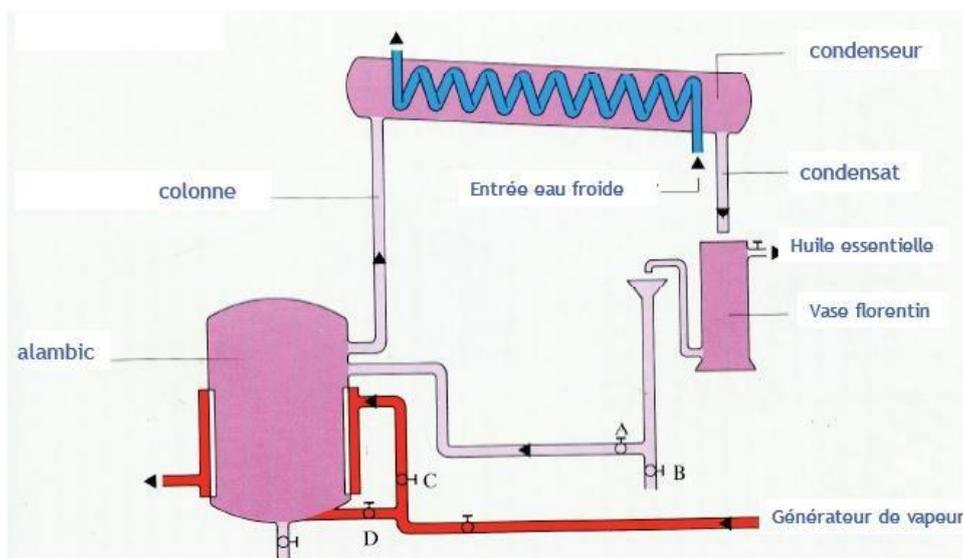


Figure 13 : Dispositif de distillation par entraînement à la vapeur d'eau (**Hajji, 1985**).

2.8 Rendement

Le rendement en huile essentielle par rapport à la matière végétale fraîche ou séchée peut être extrêmement variable selon les plantes utilisées (**Tableau07**), l'origine géographique, le matériel employé pour l'extraction et la méthode d'extraction ainsi (**Afnor, 2011**).

Tableau 07 : Exemples de rendement en huiles essentielles de quelques plantes (**Buronzo, 2008**)

Plante :	Production en huile essentielle pour 100 kg de plante
Eucalyptus	3kg
Lavande	2.9 kg
Sauge	1.8 kg
Roses	500g
Thym	200g
Fleur d'oranger	100g

Selon la norme **AFNOR (1986)**. Le rendement en huiles essentielles (R%) est le rapport Entre la masse des huiles essentielles obtenues après extraction (M') et la masse de la matière Végétale utilisée (M). Il est représenté par la formule suivante :

$$R\% = (M'/M).100$$

R% : le rendement de l'huile essentielle en pourcentage.

M' : la masse de l'huile essentielle obtenue en g.

M : la masse de la matière végétale en g.

Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que :

➤ **En pharmacie**

Les huiles essentielles peuvent être utilisées comme aromatisant des médicaments destinés à la voie orale pour leurs actions physiologiques (Menthes, Verveine, Camomille).

➤ **Dans l'industrie cosmétique**

Parfumerie et cosmétologie. De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines huiles Essentielles constituent des bases de parfums.

➤ Alimentation

Les huiles essentielles (huile de citron, de menthe, de girofle) sont très utilisées dans l'aromatisation des aliments (jus de fruits, pâtisserie) (**Hurabielle, 1980**).

2.9 Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Une antimicrobienne est une famille de substances qui tuent (microbicide) ou ralentissent (microbiostatique) la croissance des microbes tels les bactéries (activité antibactérienne), les mycètes (activité antimycosique), les virus (activité antivirale), ou les parasites (activité antiparasitaire)

2.9.1 Mode d'action des huiles essentielles

Le mode d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé. Compte tenu de la diversité des molécules présentes dans les huiles, le mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire.

2.9.1.1 Activité anti-virale des HE

Ziti-Freville en 2019, décrypte les mécanismes d'actions des HE sur les virus. Suivant la composition des huiles essentielles et les virus sur lesquels elles peuvent agir, les modes d'actions sont multiples : attaque de l'enveloppe du virus et neutralisation, blocage des récepteurs cellulaires du virus, inhibition de la réplication virale intracellulaire, ou encore augmentation de la résistance des cellules saines.

Par exemple, l'efficacité des huiles essentielles d'eucalyptus, de thym et de tea tree contre Le virus de l'herpès (HSV-1) dont elles inhibent 96% de la réplication (**Astani 2009**). Le tea tree est Aussi un inhibiteur du virus de l'herpès labial (**Carson 2001, 2006**) ou du virus de la grippe H1N1 (**Garozzo 2009**).

En diffusion, les huiles essentielles d'eucalyptus globulus et de bergamote ont montré une activité significative contre le virus de la grippe, après 10 minutes d'exposition (**Vimalanathan, 2014**).

2.9.1.2 Les huiles essentielles pour lutter contre les bactéries

Selon (**Benayad, 2008**), les phénols (carvacrol, thymol) possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé, suivi des monoterpénols (géraniol, menthol, terpinéol), aldéhydes (néral, géranial), etc. Exemple : HE d'origan, HE de thym à thymol.

HE ont des mécanismes d'action, décrits en 2017 par Bouyahya et Chouan, Qui diffèrent de ceux des antibiotiques. Elles peuvent agir :

Via une action primaire sur la paroi

Les membranes des cellules bactériennes sont faites de couches lipidiques. Les huiles essentielles (HE), par leur caractère lipophile, ont des affinités avec ces membranes. Elles s'y accumulent entre les phospholipides, désorganisent la membrane, perturbent le transport transmembranaire et entraînent des fuites des ions intracellulaires causant la mort de la bactérie.

Via une action sur les acides gras membranaires

Grace au caractère hydrophobe des HE, une altération de la synthèse des acides gras insaturés est induite, entraînant une altération structurelle de la membrane et conduisant à la rupture membranaire puis à la mort de la cellule. Les composés phénoliques de type thymol, carvacrol et Eugénol sont les plus efficaces.

Via une action intracellulaire

Lorsque les HE ont pénétré la bactérie, elles peuvent inhiber la division des cellules (effet du cinnamaldéhyde sur *Bacillus cereus*), inhiber les toxines bactériennes (effet du carvacrol sur *Bacillus cereus*) ou encore altérer la chaîne respiratoire et conduire à la réduction de l'ATP intracellulaire, l'insuffisance d'énergie cause alors la mort de la cellule (HE d'origan contre *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus*).

Via une action sur le Quorum Sensing

Dans la nature les bactéries ne sont pas isolées les unes des autres comme on peut l'observer en laboratoire mais s'organisent sous la forme d'un biofilm qui les protège. Lorsque les bactéries sont suffisamment nombreuses, elles communiquent grâce au « Quorum sensing » : une sécrétion de substances, tel un signal, qui induit la production du biofilm. Pour agir sur les bactéries il faut donc commencer par rompre ce biofilm ou inhiber sa formation : sans biofilm la bactérie se retrouve alors exposée et plus vulnérable. De nombreuses HE ont le pouvoir d'inhiber la synthèse du précurseur de ces auto-inducteurs : clou de girofle, lavande, romarin, thym avec comme molécules actives l'eugénol, le carvacrol ou le thymol par exemple.

2.9.2 Huile essentielle de thym (*thymus vulgaris*)

2.9.2.1 Propriétés organoleptiques

Le *thymus vulgaris* renferme une huile volatile de couleur pâle, jaune ou rouge, avec une odeur riche, et aromatique et un goût persistant, corsé et épicé (Farrell, 1998).

2.9.2.2 Composition chimique d'huile essentielle

L'huile essentielle de *thymus vulgaris* est composée d'une quantité très variable en phénols dont le thymol et le carvacrol en sont les majeurs constituants. Elle contient également d'autres composants minoritaires (Abdelli, 2017).

2.9.2.3 Rôle d'Huile essentielle de thym (*thymus vulgaris*)

D'après (Cheurfa et al., 2013), l'huile essentielle de *thymus vulgaris* atteste d'une forte activité antibactérienne vis-à-vis de cinq bactéries pathogènes (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*). Elle est aussi utilisée comme antiseptique, sédatif, stomatique, antitussif, antispasmodique, antimicrobien, antioxydant, anti-inflammatoire, antiviral, vasodilatatrices (en application externe), anti-infectieuses, antimicrobiennes, fongicides, parasitocides, fortifiantes, antalgiques, et régulatrices de l'appétit (Johnson, 1998 ; Razzaghi-Abyaneh et Rai, 2013).

2.9.3 Huile essentielle de clous de girofle (*eugenia caryophyllus*)

2.9.3.1 Propriétés organoleptiques

L'huile essentielle se présente sous la forme d'un liquide huileux de couleur jaune fonçant au brun à la lumière.

2.9.3.2 Composition chimique d'huile essentielle de clou de girofle

L'huile essentielle des clous de girofle contient principalement de l'eugénol, de 75 à 85 %, de l'acétate d'eugénol, de 4 à 10 %, du β -caryophyllène, de 7 à 10 % et de faibles quantités d'autres produits (dont un peu de vanilline).

2.9.3.3 Rôles d'Huile Essentielle de clou de girofle :

- une activité antifongique : L'huile essentielle de clou de girofle possède une puissante activité antifongique contre les pathogènes fongiques opportunistes, comme le *Candida albicans*, le *Cryptococcus Neoformans* ou l'*Aspergillus fumigatus* (Goetz et al., 2010), (Adli, 2015).
- Activité anti-inflammatoire et analgésique : Les propriétés anti-inflammatoires et analgésiques de l'eugénol sont dû à l'action sur des récepteurs et sur les antigènes

responsables de l'inflammation, il agit sur les cytokines et les cellules immunitaires en modifiant la réaction inflammatoire ce qui diminue indirectement la douleur. Aussi l'eugénol agit sur les récepteurs cellulaires et nerveux ce qui diminue directement la douleur (**Bouacida, 2021**).

- Activités antibactérienne : les solutions ayant de hautes concentrations en eugénol ont un effet bactéricide du au groupement phénol (**Dobler et al., 2020**). L'eugénol provoque une lyse bactérienne chez plusieurs souches. Son efficacité a été soulignée à la fois contre les bactéries Gram positives et négatives. Elle présente notamment un effet inhibiteur sur les bactéries *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida* et *Staphylococcus aureus* (**Kavanaugh& Ribbeck, 2012**).

2.9.4 Huile essentielle de la Sauge (*salvia officinalis*)

2.9.4.1 Propriétés organoleptique

Aspect : liquide mobile, fluide et limpide

Couleur : incolore à jaune pâle

2.9.4.2 Constituants biochimiques

La sauge contient des huiles essentielles (thuyone, salviole, pinène, bornéol, cinéol, mycène, cimène, caryophyllène, humulène, camphre...), des tanins, des substances amères, des flavonoïdes, des acides phénoliques, des saponines, un oestrogène... (**Babaissa, 2011**), contient également de la résine, gommés, mucus, acides phosphorique et oxalique, nitrates, pentosan, traces d'asperges (**Beloued, 2005**). Le **Tableau08** liste les compositions chimiques des huiles essentielles de la sauge.

Tableau 08 : Composition chimique de l'huile essentielle de *salvia officinalis* (**Khedher et al., 2017**).

Constituant	Quantité (%)
Camphre	25.14
a-pinène	1.7 a 13.1
b-pinène	0.5 a 17.9
1.8-cinéole	14.14
b-thujone	4.46
a-thujone	18.83
Viridiflorol	7.98

b-caryophyllène	3.30
Bornéol	2.81
a-humulène	2.48
b-myrcène	1.93
Limonène	1.43
a-terpinéol	1.33
Acétate de bornyle	1.05

2.9.4.3 Rôle d'huile essentielle de *salvia officinalis*

Activité antioxydant

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. (Favier A. 2003), les flavonoïdes et les polyphénols sont responsables de ce pouvoir (Richard et Peyron , 1992)

Autres activités

La plante *salvia officinalis* est considérée comme ayant la plus grande quantité d'huile essentielle par rapport aux autres espèces de *Salvia*. D'après des résultats pharmacologiques et des essais cliniques (Ghorbani et Esmailzadeh, 2017) huile essentielle de *salvia officinales* possède fort effets anticancéreux, anti-inflammatoires, hypoglycémiant, hypolipidémiques, antinociceptifs, antimicrobiens, et pouvoir d'amélioration de corps.

Chapitre N°3 :

Hygiène des mains

3 Hygiène des mains

3.1 Définition

L'hygiène des mains est le traitement des mains avec un produit (savon liquide ou gel ou solution) ayant un spectre d'activité antimicrobienne ciblé sur les micro-organismes de la flore cutanée afin d'empêcher leur transmission (OMS, 2005). Il apparaît que l'hygiène des mains est probablement le facteur le plus important de prévention de la propagation des infections, concerne tous les membres des équipes médicales et paramédicales mais aussi le patient lui-même, ainsi que les visiteurs. D'après l'étude bactériologique de la peau, l'écosystème cutané est constitué de deux flores (Mokni et abdlhak, 2014) :

La flore résidente : microorganismes commensaux présent de manière permanente au niveau de la couche superficielle de la peau (stratum corneum). Les espèces à Gram positif dominant cette flore, on distingue deux grandes familles : *staphylocoques* (Ex : *Staphylococcus epidermidis*) et bactéries *corynéformes* aérobies (*Corynebacterium*) et anaérobies (*Propionibacterium spp*).

La flore transitoire : se compose des micro-organismes issus : de l'environnement, d'un matériel contaminé, et d'autre pathogènes issus de patients porteurs sains ou infectés (Barth, 1987). La flore transitoire provient des patients hospitalisés et de l'écosystème microbien hospitalier (Abbara, 2020), est constitué notamment les bactéries *Staphylococcus aureus* (20% des porteurs sains), les *Streptocoques*, les *Bacilles*, les *Neisseria*, les *bacilles* à Gram négatif tels que les *Pseudomonas* (Barth, 1987).

3.2 Rôle de barrière de la peau

La peau a une structure en mille-feuille qui comprend trois couches de tissu superposées qui vont de la surface à la profondeur : l'épiderme (épaisseur 50-100 µm), le derme (épaisseur 1-2 mm) et l'hypoderme (épaisseur 1-2 mm) (Figure 14). Il remplit de nombreuses fonctions dont le principal est la fonction barrière. Il protège l'organisme des agressions extérieures. C'est une barrière naturelle, à la fois mécanique et chimique, qui s'oppose à la pénétration de substances exogènes et de micro-organismes (Boyce et Pettit, 2002 ; WHO, 2009).

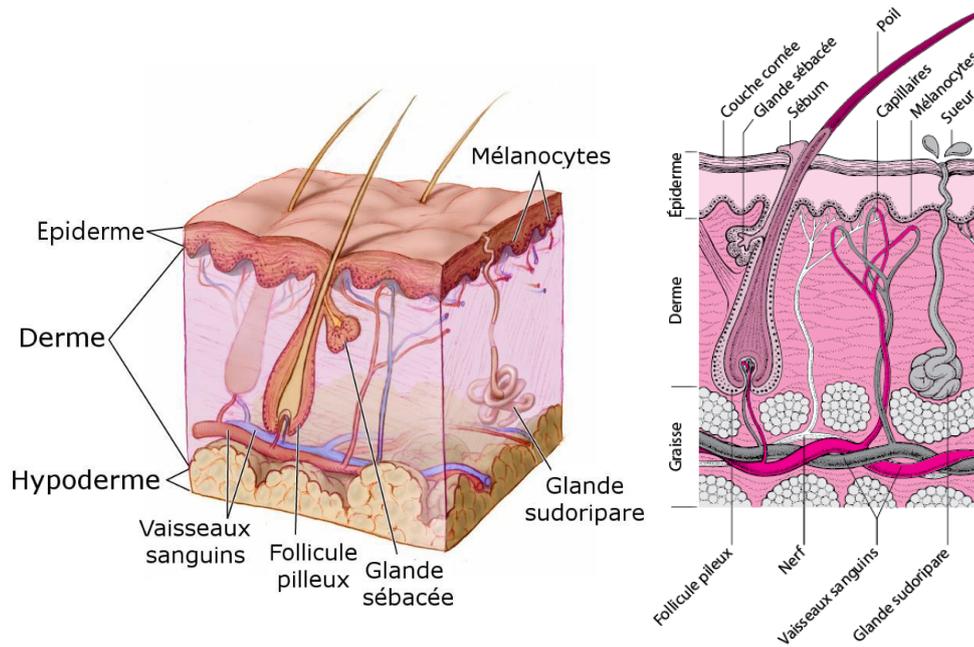


Figure 14 : Coupe transversale de la peau humaine et des structures cutanées (Bliss, 2010).

3.3 Rôle des mains dans la transmission des microorganismes

La transmission des micro-organismes (MO) est à craindre à l'hôpital (et plus généralement en collectivité) car on y trouve de nombreux réservoirs de micro-organismes, des vecteurs de transmission multiples (mains, matériels) et des récepteurs plus fragiles (malade affaibli, jeune enfant...) (Jaquet, 2022)

La flore de la main varie au cours de la journée en fonction des activités. Selon diverses études, 20 à 40 % des infections nosocomiales sont liées à la transmission manuportée de bactéries (Aggoune et al., 2001). Ils se transmettent d'un patient à l'autre soit **par contact direct** : entre patients, entre patients et soignants, soit **par contact indirect** : notamment par l'intermédiaire de dispositifs médicaux ou matériel de soin. (Gould, 1994 ; harbarth et al., 1999)

3.3.1 Maladies transmises par les mains

80% des maladies hivernales sont transmises par les mains. A chaque contact avec une surface ou une personne contaminée, bactéries et virus s'y installent (Vaugrente, 2013).

La gastro-entérite (Rotavirus)

La gastro-entérite est une inflammation causée par un virus, une bactérie ou des parasites et qui touche le système digestif. Elle entraîne des diarrhées, vomissements ou

douleurs abdominales. Chez les adultes le virus qui est le plus souvent à l'origine de cette maladie est le Norovirus. Chez les enfants il s'agit du Rotavirus. Très contagieuse, la gastro-entérite se transmet le plus souvent via les mains : en touchant une personne déjà malade ou un objet sur lequel se sont déposés les microbes de la personne malade.

Le rhume (Rhinovirus)

Le rhume est l'une des pathologies les plus courantes caractérisé par une inflammation des fosses nasales, se transmet par voie aérienne (postillons..) ou par les mains (**Berthélémy, 2013**), ou encore indirectement par des objets souillés.

La grippe (Influenzavirus)

Le virus Influenza est responsable d'une maladie respiratoire : la grippe, l'infection par le virus Influenza se traduit généralement par l'apparition de symptômes après une courte incubation de 1 à 2 jours. Les premiers symptômes qui apparaissent sont généraux avec une forte fièvre (température pouvant atteindre voire dépasser 40°C sans traitement) accompagnée de douleurs musculaires et articulaires, de maux de tête et de malaises (**Cordonnier, 2016**), le virus de la grippe passe d'un individu à l'autre très facilement puisque chaque personne malade peut en contaminer entre 1 et 3 autres. Si une personne contaminée éternue dans sa main, les microbes se retrouvent sur celle-ci, puis vont être transmis à une autre personne par contact direct via une poignée de main ou par contact indirect via un objet souillé.

La bronchiolite (VRS)

Il s'agit d'une infection pulmonaire virale aiguë potentiellement mortelle qui touche les jeunes bébés (**Smyth et Openshaw, 2006**). Le Virus Respiratoire Syncytial (VRS) est le principal responsable des épidémies saisonnières de bronchiolite, Les virus sont présents dans les sécrétions du nez et dans les bronches. Elle se transmet par voie aérienne directe par projection de gouttelettes de salive (muqueuses de l'œil, du nez, de la bouche) ou par la voie indirecte qui correspond à la transmission manuelle. Les vecteurs peuvent être des mains ou des objets contaminés comme des tétines, des biberons et des couverts (**Granry et Dubé, 2001**).

3.4 Techniques d'hygiène des mains

3.4.1 Lavage simple des mains

Il s'agit du lavage « social » des mains, c'est-à-dire le nettoyage des mains avec de l'eau et d'un savon détergent sans propriétés antiseptiques pour éliminer la saleté, la crasse et diverses substances organiques, Il s'agit du mode de lavage des mains le plus fréquemment utilisé (**Figure15**) (**Kampf et Kramer, 2004 ; Tredez, 2006**). Il est habituellement sans action sur la flore résidente.



Figure 15 : Technique de lavage des mains à l'eau et au savon (OMS, 2010).

3.4.2 Lavage hygiénique des mains

Le lavage hygiénique des mains, avec l'utilisation d'un savon antiseptique ou antimicrobien à action désinfectante et de l'eau (**Kampf et Kramer, 2004**), Le principe est d'éliminer, par retrait mécanique et/ou en tuant ou inhibant la croissance, des micro-

organismes de la flore transitoire ou commensale. Son action sur la flore résidente est plus limitée, son efficacité dépend de plusieurs acteurs tels que la dose utilisée, et la quantité minimale de 3 à 5 ml est habituellement nécessaire (**Larson, 1992-1993**).

3.4.2.1 *Produits de nettoyage*

On parle de l'eau, du savon et des produits antiseptiques, car le lavage hygiénique des mains nécessite une solution moussante antiseptique (**Larson, 1995**).

- ❖ **L'eau** : L'eau courante potable du réseau suffit pour le lavage simple et antiseptique.
- ❖ **Le Savon** : Un produit de référence neutre est choisi, sous forme liquide. Un contrôle régulier de la qualité et des conditions d'utilisation doit être assuré.
- ❖ **Les Produits Antiseptiques** : contiennent des agents antiseptiques, substances capables de réduire la flore microbienne cutanée une fois appliquées sur la peau (**Boyce et al., 2002**).

Plusieurs produits sont utilisés en fonction de leur tolérance, leur disponibilité et leur efficacité. Il s'agit entre autres : de la chlorhexidine, du chloroxyfenol, de l'hexachlorophène, de l'iode et les iodophores, du triclosant et des solutions hydro alcooliques (SHA) et les dérivés d'ammonium quaternaire (**OMS, 2005**). **Ex : Alcools** : les alcools les plus largement utilisés en hygiène des mains sont, par activité antiseptique croissante, l'éthanol, l'isopropanol et le n-propanol (**Kramer, 2002**).

3.4.3 **Hygiène des mains par friction hydro alcoolique**

La FHA des mains est définie comme l'application d'un PHA pour réduire ou inhiber la croissance de micro-organismes sans recours à une source exogène d'eau et ne nécessitant ni rinçage, ni séchage à l'aide d'essuie-mains ou autres. C'est cette technique de référence qui est la plus utilisée dans le milieu médical (**OMS, 2010**).

Cette technique par friction au SHA se réalise selon une procédure bien définie (**Figure16**) comprenant des étapes qui s'enchaînent sur une durée de 30 secondes minimum selon le fabricant et l'activité recherchée.



Figure 16 : Technique de friction des mains avec la solution hydro-alcoolique (WHO, 2010)

3.4.3.1 Solution Hydro-alcoolique (SHA)

Les solutions hydroalcooliques sont des solutions antiseptiques permettant des gestes d'hygiène des mains sans eau (**Agence de la santé publique du Canada, 2012**).

Pour être efficaces, ces produits doivent être utilisés dans de bonnes conditions et en respectant une technique d'application éprouvée. La majorité des SHA contiennent de l'isopropanol, de l'éthanol, du n-propanol ou un mélange de ces différents produits auxquels peuvent être ajoutés des quantités limitées d'autres agents antiseptiques tels que la chlorhexidine ou les ammoniums quaternaires. Les SHA avec une teneur en alcool suffisante (60-95%) et utilisés dans les conditions appropriées ont montré un pouvoir de réduction de la charge bactérienne des mains supérieur au savon non antiseptique supérieur ou égal aux savons antiseptiques (**Clément, 2012**).

3.4.3.2 Gels Hydro-alcooliques (GHA) :

Les GHAs Ce sont des solutions à séchage rapide, conçues spécifiquement pour la désinfection des mains. Ils s'appliquent par friction sans rinçage sur des mains sèches et propres (sans souillure visible)) (Maslo, 2002). Une simple friction des mains pendant 30 secondes élimine 99,99% des germes présents (Travkine, 2012). Selon la formule de l'Organisation Mondiale de la Santé, le gel hydro-alcoolique est composé d'un principe actif qui est de l'alcool, de l'eau, un émoullient et un gélifiant. Dans le cadre des Recommandations pour l'hygiène des mains, l'OMS propose deux formules de solutions/gels hydro-alcooliques (Formulation N° 1 et Formulation N° 2) dont les composants sont donnés dans les (tableaux 09 et 10) :

Tableau 09 : Constituants des Formulations OMS de Solution hydro-alcoolique (OMS, 2009).

Formulation N° 01 :	Formulation N °02 :
Ethanol 96 %	Isopropanol 99,8%
Peroxyde d'hydrogène 3%	Peroxyde d'hydrogène 3%
Glycérol 98%	Glycérol 98%
Eau distillé stérile (ou eau portée a ébullition et refroidie	Eau distillé stérile (ou eau portée a ébullition et refroidie

Tableau 10 : Quantités recommandées pour chaque Constituants des Formulations (OMS, 2009)

Formulation N°01 :	Quantité :	Formulation N°02 :	Quantité :
<i>Ethanol à 96%</i>	<i>8333 ml</i>	<i>Isopropanolà 99,8%</i>	<i>7515 ml</i>
<i>Peroxyde d'hydrogène 3%</i>	<i>417 ml</i>	<i>Peroxyde d'hydrogène 3%</i>	<i>417 ml</i>
<i>Glycérol 98%</i>	<i>145 ml</i>	<i>Glycérol 98%</i>	<i>145 ml</i>
<i>Eau distillé stérile</i>	Quantité suffisante pour 10L	<i>Eau distillé stérile</i>	Quantité suffisante pour 10L

3.4.4 Comparaison des protocoles d'hygiène des mains :

En 1999, Paulson et al ont comparé l'activité de 5 procédures de lavage et/ou de désinfection des mains (savon non antiseptique, savon antiseptique, gel hydroalcoolique, savon non antiseptique + gel hydroalcoolique, savon antiseptique + gel hydroalcoolique). Les résultats dans le (tableau 11) ont montré que l'efficacité dans le temps est supérieure par l'utilisation simultanée de savon antiseptique ou non antiseptique associé à un gel hydroalcoolique par rapport aux autres procédures.

Tableau11 : Activité comparée de cinq procédures de lavage et de désinfection des mains (Paulson et al., 1999)

Procédure de lavage et / ou désinfection	décroissance du nb de germes après 1 cycle (log 10) nb de sujets 32	décroissance du nb de germes après 10 cycles (log 10) nb de sujets 32	Commentaires
Savon non antiseptique	2	2	L'efficacité d'un savon non antiseptique est faible mais se prolonge dans le temps au fur et à mesure des cycles de contamination /lavage en raison de l'effet mécanique de rinçage à l'eau
Savon antiseptique	2.5	2	L'efficacité d'un savon antiseptique est moyennement important mais se prolonge dans le temps au fur et à mesure des cycles de contamination /lavage en raison de l'effet mécanique de rinçage à l'eau
Gel hydroalcoolique	4	2	L'efficacité d'un gel hydroalcoolique est très importante et rapide mais son action est limitée dans le temps au fur et à mesure des cycles de contamination /désinfection en raison de l'accumulation des germes microbiens. L'auteur suggère de ne pas dépasser 3 à

			5 frictions et d'intercaler des lavages au savon ant
Savon non antiseptique + gel hydroalcoolique	3.25	3.25	L'efficacité d'un savon non antiseptique + gel hydroalcoolique est importante et se prolonge dans le temps au fur et à mesure des cycles de contamination /lavage /désinfection en raison de l'effet mécanique de rinçage à l'eau
Savon antiseptique + gel hydroalcoolique	3.25	3.5	L'efficacité d'un savon antiseptique + gel hydroalcoolique est importante et se prolonge dans le temps au fur et à mesure des cycles de contamination /lavage /désinfection en raison de l'effet mécanique de rinçage à l'eau

1 cycle = [contamination artificielle des mains suivie d'une procédure de lavage et / ou désinfection

Tableau 12 : Comparaison des différentes techniques d'hygiène des mains (**Eggimann et Pittet, 1981**).

	Lavage	Désinfection	
	Savon simple	Savon antiseptique	Solution hydro alcoolique
Élimination de la flore transitoire	90%	99,900%	99,999%
Élimination de la flore résidente	Aucune action	50%	99%
Élimination des souillures	+	+	-

Durée du traitement	30 secondes	Minimum 30 secondes	10 à 15 secondes
Durée de la procédure	60 à 90 secondes	60 à 90 secondes	20 à 30 secondes
Irritation des mains	++	+++	(+)

La qualité du lavage des mains a une influence sur l'écosystème bactérien (**Pittet et al., 1999**). Les résultats montrent qu'un lavage avec une solution moussante antiseptique ou une friction hydro-alcoolique permet de maintenir un niveau de contamination inférieur à celui obtenu après lavage des mains avec du savon ordinaire. Elles montrent une efficacité antimicrobienne supérieure d'un produit à base d'alcool par rapport à deux savons simples et antiseptiques.

Les risques liés à l'utilisation des gels hydro alcooliques sur la santé humaine

L'alcool, contenu en forte concentration dans ces produits, peut être responsable du dessèchement de la peau (**Houben et al., 2006**). Les inconvénients des alcools sont liés au fait qu'ils assèchent la peau, ce qui oblige à l'associer à un émollient pour assurer une bonne tolérance. De plus, leur efficacité est réduite, par dilution, sur les mains mouillées, ce qui explique pourquoi ils ne doivent être utilisés que sur des mains sèches (**Haxhe, 2002**).

Les réactions allergiques aux produits de soins personnels (allergie de contact) peuvent se présenter soit comme une réaction retardée (dermatite allergique de contact), soit comme une réaction immédiate (urticaire de contact). Ce dernier est moins fréquent (**Garnier, 2010**). Des accidents, chez des enfants, dus à la projection de PHA dans les yeux ont également été signalés aux centres antipoison (**Richard et al., 2010**).

Partie Expérimentale :

Matériel et méthodes

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie à l'Université 08 mai 1945 Guelma et au niveau du laboratoire de bactériologie de l'établissement public hospitalier (EPH Ibn Zohr), Guelma.

1 Matériel

1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal est composé de plante d'*aloe vera* et des huiles essentielles de trois plantes médicinales qui sont : le clou de girofle (*syzygium aromaticum*), le thym (*thymus vulgaris*) et la sauge (*salvia officinalis*). L'*aloe vera* a été récolté à l'espace vert de l'université 08 mai 1945 (wilaya de Guelma) en avril 2023, cependant les autres plantes ont été achetées sous forme d'huiles essentielles (AromaZone, France). L'identification de l'espèce d'*aloe vera* a été faite par un professeur de botanique de notre département de biologie.

1.2 Matériel non biologique

Le **tableau 13** suivant résume tous les matériaux utilisés pour mener cette étude soit les appareils et les verreries ou mêmes les réactifs chimiques utilisés.

Tableau 13 : Liste du matériel utilisé dans l'étude

Verreries et petits Matériels	Appareils	Réactifs et produits Chimiques
<ul style="list-style-type: none"> - Bécher 60 ml - Eprouvette 10 ml - Eprouvette 100 ml - Tubes à vis stérile - Boîtes de pétris - Bec bunsen - Micropipettes - Pipettes pasteures - Écouvillon - Lame bistouri stérile - Lames et lamelles - Pince - Spatule - Flacons en verre ambré - Verre de montre - Porte tube - Mortier avec pilon 	<ul style="list-style-type: none"> - Autoclave - Four pasteur - Bain marie - L'étuve - Balance de précision - Agitateur magnétique - Réfrigérateur - Microscope optique 	<ul style="list-style-type: none"> - Eau distillé stérile - Eau physiologique - Chlorure de sodium NaCl - Ethanol - l'eau oxygéné H₂O₂ - Alcool chirurgical 70° - Milieux de culture - Violet de gentiane - Lugol - Fuschine - Réactif TDA - Réactif James - Réactif Vp1 et Vp2

- Pipette compte-gouttes stérile - disque d'oxydase - Galerie Api E		
---	--	--

1.3 Souches bactériennes utilisées

Le laboratoire de de bactériologie de l'EPH Ibn Zohr Guelma a fourni 3 souches bactériennes de référence ATCC (American Type Culture Collection) (**Figure 17**), et 4 souches cliniques (**Figure18**). Les souches ont été repiquées par le personnel du laboratoire à partir des milieux de conservation et les informations des souches bactériennes cliniques et ATCC sont représentés dans **les tableaux 14 et 15**. Ces souches sont un excellent modèle pour étudier les effets antibactériens de substances naturelles ou synthétiques.

Tableau 14 : les souches bactériennes d'ATCC collectées

N° ATCC	Espèce	Gram	Famille
25922	<i>Escherichia coli</i>	bactérie à Gram négative.	<i>Enterobacteriaceae</i>
27853	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	bactérie à Gram négative).	<i>Pseudomonadaceae</i>
25923	<i>Staphylococcus aureus</i>	bactérie à Gram positive	<i>Staphylococcaceae</i>

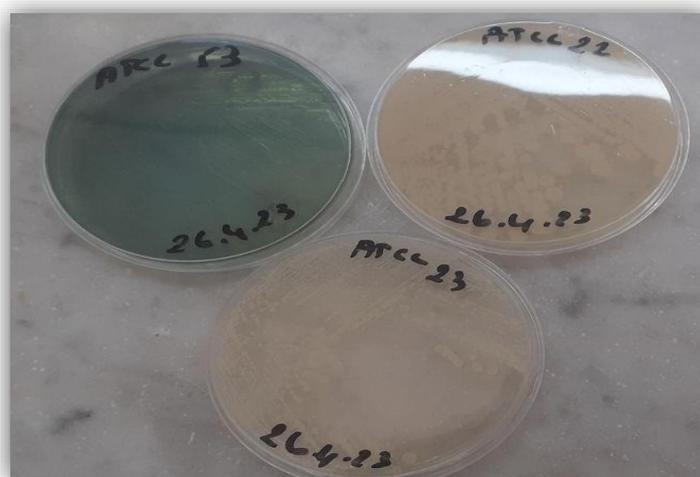


Figure 17 : Souches des références d'ATCC

Tableau 15 : Origine des souches bactériennes cliniques collectées

Souche Bactérienne		Lieu	Date	Nature de prélèvement	Sexe	Age	Méthode de conservation
<i>Enterobacteriaceae</i>	E.coli	<i>Hopital Ibn Zohr</i>	02-05-2023	Urine (ECBU)	M	Ad	MC en boîte de Pétri
	Salmonella sp		23-04-2023	Selle (Copro)	M	58 ans	GN inclinée en tube
<i>Pseudomonadaceae</i>	P.aeruginosa		10-04-2023	ECB de pus	F	75 ans	GN en boîte de Pétri
<i>Staphylococcaceae</i>	S.aureus		30-04-2023	ECB de pus	M	75 ans	Chapman en boîte de Pétri

F : féminin, M : masculin, GN : gélose nutritive, MC : Mac Conkey, ECBU : Examen cyto bactériologique des urines

**Figure 18** : Les souches bactériennes des malades utilisées

Les souches bactériennes ont été entretenues par repiquage sur les milieux spécifiques qui ont été favorable à leur croissance et incubées pendant 24h à 37°C.

1.4 Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés dans l'étude sont les suivantes :

Gélose nutritive (GN) : un milieu d'isolement non sélectif utilisé dans le but de repiquer la bactérie.

Le milieu Mueller Hinton (MH) : reconnu pour être le milieu de référence pour l'étude de la sensibilité des bactéries à l'ATB et à toutes autres substances ayant une activité antibactérienne.

Le milieu de Chapman : Il est utilisé pour l'isolement des bactéries du genre *Staphylococcus*.

Le bouillon nutritif : C'est un milieu d'enrichissement qui a été utilisé pour l'efficacité du gel sur des mains. La composition et le mode de préparation des milieux de culture sont indiqués en **annexe1**.

2 Méthodes expérimentales

2.1 Préparation de gel antibactérien

2.1.1 Récupération de gel d'*aloe vera*

Le gel d'*aloe vera* est récupéré selon les étapes suivantes :

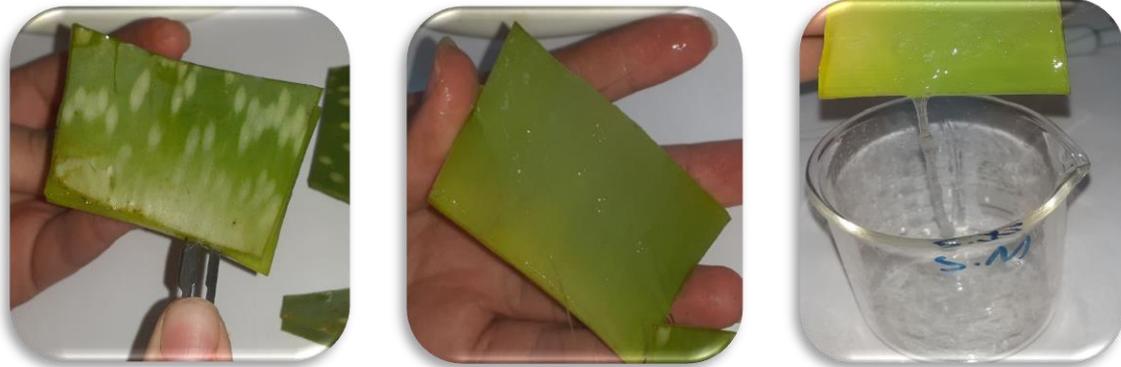
Il faut d'abord choisir et découper les feuilles de la plante.



Les feuilles sont ensuite lavées et puis coupées en morceaux après avoir retiré les épines.



Dans les conditions stérile enlever la peau à l'aide d'une lame bistouri stérile et recueillir le gel avec l'aide d'une spatule stérile .



Commencer le broyage a l'aide d'un mortier avec pilon jusqu'à obtenir un extrait fluide.



2.1.2 Formulation d'un gel antibactérien

Pour 50 ml , le gel consiste a prendre 15 ml d'alcool 70° puis on le mélange avec 20 gouttes de chaque huile essentielle de thym (*thymus vulgaris*), clous de girofle (*eugenia caryophyllus*) et de huile essentielle de la sauge (*salvia officinalis*) , on ajoute 20 gouttes d'huile végétale de lavande et ensuite on les verse sur 30 ml de gel d'*aloe vera*, le tout (**Figure 19**) est bien mélangé et homogénéisé avant de transférer dans une flacon en verre ombré.

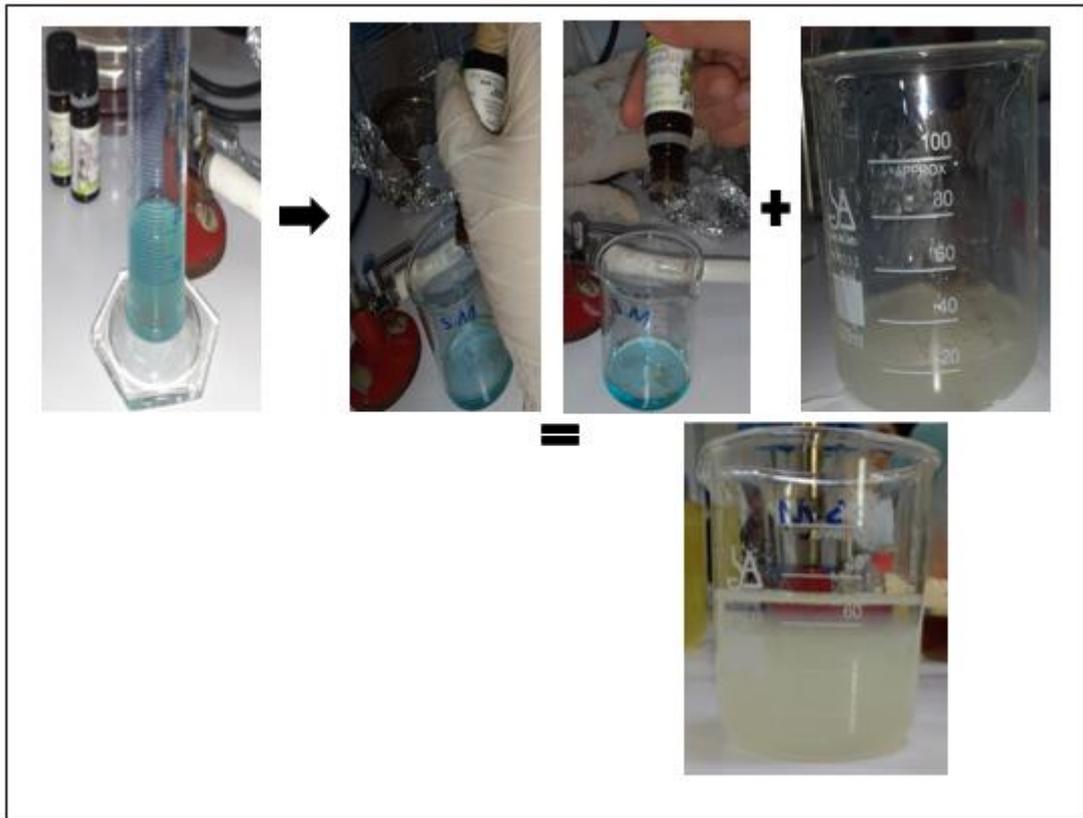


Figure 19 : Préparation d'un gel antibactérien (Personnelle, 2023)

2.1.3 Préparation des dilutions

Le gel est dilué dans l'eau distillé stérile, on a préparés deux dilutions (**Figure 20**) de notre gel :

Dilution $\frac{1}{2}$: 1 ml de gel ajouté a 1 ml d'eau distillé stérile.

Dilution $\frac{1}{4}$: 3ml d'eau distillé ajouté a 1 ml de gel antibactérien.



Figure 20 : Les dilutions de gel antibactérien (Personnelle, 2023)

2.2 Evaluation de l'activité antibactérienne

2.2.1 Repiquage des souches bactériennes

Les différentes espèces bactériennes ont été repiquées dans des boîtes de pétris contenant le GN par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies jeunes isolées (moins de 24 heures) qui vont servir à la préparation de l'inoculum (**Dulger, 2004**).

2.2.2 Préparation de la suspension bactérienne

A partir des boîtes contenant les bactéries on a préparé des suspensions pour chaque espèce étudiée (**Figure 21**). A l'aide d'une pipette pasteur, nous avons prélevé quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, elles ont été mises dans une tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile a 0,9% de NaCl. La suspension bactérienne est bien homogénéisée (**WHO, 2005**), Son opacité doit être équivalente à 0,5 McFarland ou à une D.O de 0,08 à 0,13 lue à 625 nm (**Meziani, 2012**).

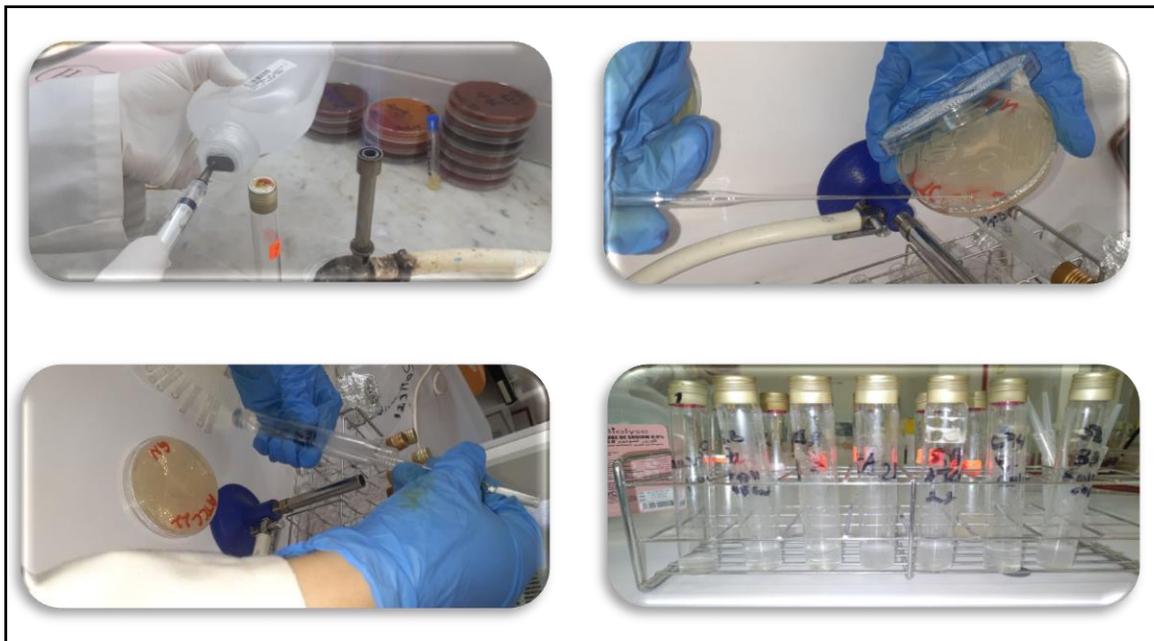


Figure 21 : les étapes de préparation d'inoculum (**Personelle, 2023**)

2.2.3 Ensemencement sur le milieu de culture

La gélose de Muller Hinton stérile a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles. Ces derniers sont laissés refroidir et se solidifier pendant 30 min à température ambiante du laboratoire avant l'utilisation (**Rota et al, 2008**).

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne puis il est frotté sur toute la surface de la MH (**Figure22**), de haut en bas, en stries serrées, l'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire tourner l'écouvillon sur lui-même, l'ensemencement est finalisé en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

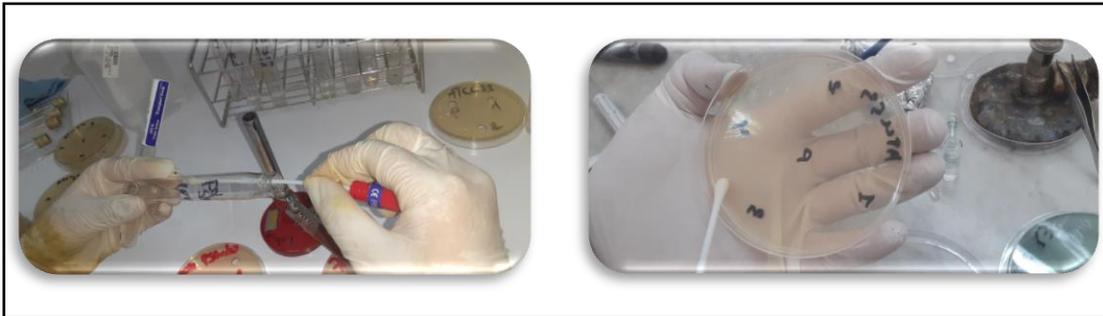


Figure 22 : Ensemencement par écouvillonnage (**Personnelle, 2023**)

2.3 Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne

La méthode employé pour l'évaluation de l'effet antibactérien de notre gel antibactérien) est : la méthode de diffusion des disques (l'aromatogramme pour les huiles essentielles).

2.3.1 L'aromatogramme

C'est une technique choisie pour déterminer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle (**Fridolia, 2012**). Cette méthode a le même principe que l'antibiogramme (permet de mettre en évidence l'effet antibactérien de l'HE sur la souche étudiée), sauf que les disques des antibiotiques sont remplacés par papier wattman N°1, imprégnés d'huile essentielle d'une concentration donnée (**Figure23**). L'activité des HEs utilisées et du gel antibactérien est évaluée par la mesure des diamètres d'inhibition autour des disques.

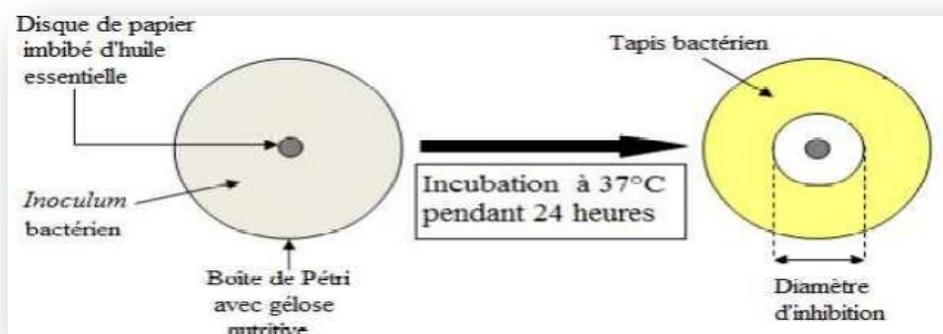


Figure 23 : Principe de méthode d'aromatogramme et méthodes des disques

2.3.2 Préparation des disques

Les disques ont été préparés à partir du papier Wattman n°1 de 6 mm de diamètre par la suite ils ont été stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes et à la fin les disques sont enfermés dans un flacon stérile et sont prêtes à l'utilisation.

2.3.3 Application des disques des huiles essentielles (Aromatogramme)

A l'aide de pinces stériles, pour chaque boîte de Pétri contenant une suspension bactérienne différente, trois disques sont prélevés et trempés dans 10 µl d'huile essentielle, chaque disque contenant une des trois huiles essentielles. Ces derniers sont déposés à la surface du MH, puis on les laisse diffuser sur la paillasse. puis incubé à 37°C pendant 24 heures. Pour une autre expérience, nous avons mélangé deux de chaque huile essentielle puis imbibé le disque avec 10 µl de chaque nouveau mélange et les placés a la surface du gélose contenant les inoculums des souches de références et les avons incubés pendant 24h.

2.3.4 Application des disques du gel à tester

Avant de tester notre gel nous avons d'abord testé les synergies entre les différents composants du gel par exemple la synergie entre l'alcool et l'huile essentielle ou l'alcool et l'aloé vera..(Figure 24), puis nous avons testé l'efficacité de notre gel antibactérien et de ses dilutions.



Figure 24 : La synergie de différents composants de gel (Original)

A l'aide de pinces stériles, des disques de papier whatman contenant les solutions à tester sont placés à la surface de chaque boîte inoculées par des suspensions bactériennes des souches de références (Figure25) .

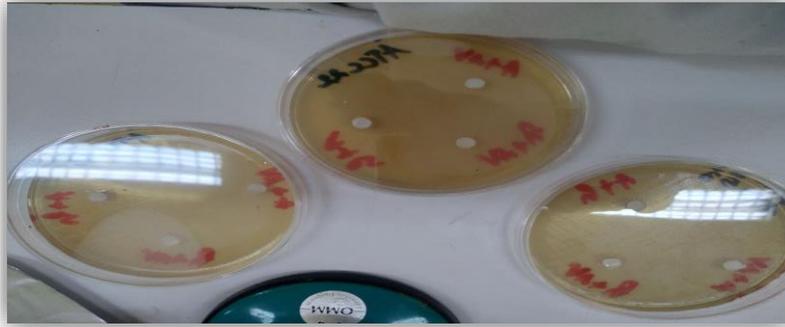


Figure 25 : Diffusion de disques de solutions à tester (**Original**)

Pour le gel, on a placé un disque sur la surface de la MH inoculée, puis on a mis 10 μ l de gel dessus, puis on a placé un autre disque juste au dessus du premier disque, puis on a ajouté 10 μ l de gel par dessus. La même action a été répétée pour les dilutions et pour chaque boîteensemencée (**Figure26**). La lecture des résultats (l'activité antibactérienne) se fait en mesurant à l'aide d'une règle en (mm) le diamètre d'inhibition, caractérisé par une zone sans croissance bactérienne autour du disque, après 24h d'incubation à 37°C .

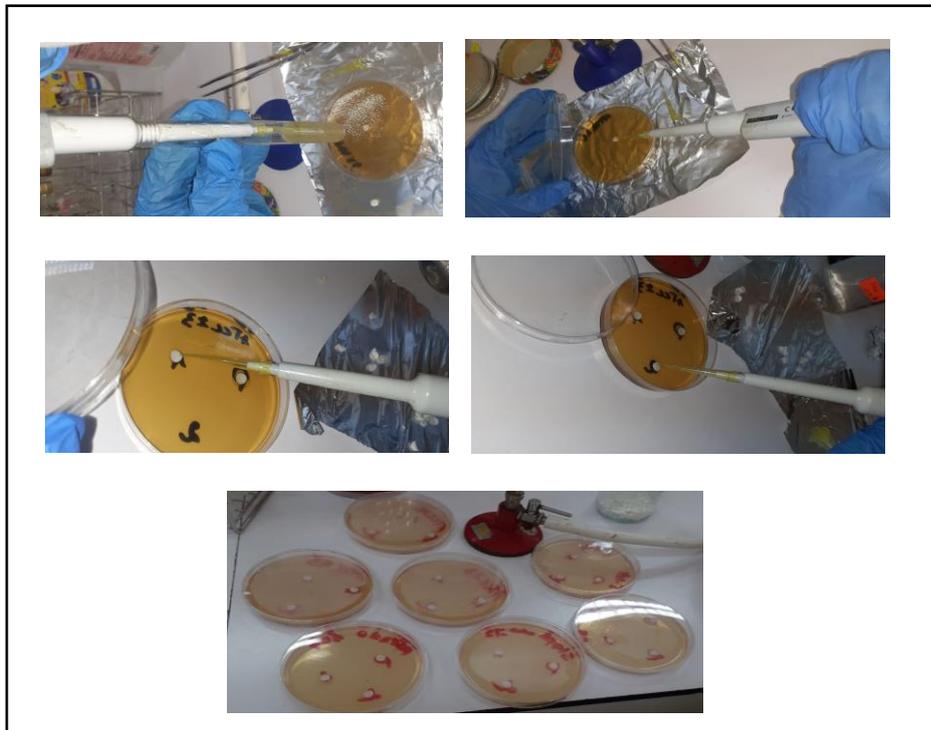


Figure 26 : Méthode de disques de gel à tester (**Personnelle, 2023**)

Selon (**Ponce et al., 2003**), la sensibilité des différentes souches vis-à-vis des agents antibactérien étudiées est classée selon le diamètre d'inhibition selon les critères suivants :

Non sensible ou résistante, si : $d < 8$ mm , Sensible si : $9 \text{ mm} < d < 14$ mm , Très sensible si : $15 \text{ mm} < d < 19$ mm , Extrêmement sensible si : $d \geq 20$ mm . Après cela nous avons comparé entre nos résultats et les résultats obtenus à partir de l'antibiogramme déjà réalisé par les techniciens du laboratoire d'hôpital ibn zohr.

2.4 Prélèvement de surfaces des mains avant et après l'utilisation du gel

A fin de déterminer l'efficacité du gel préparé sur des mains et évaluer la tolérance du gel et la sensibilité de la personne, les étapes suivantes ont été réalisées :

Encemencement

La récupération des micro-organismes cultivables peut être réalisée en frottant la surface à prélever avec un écouvillon stérile humidifié par l'eau distillée stérile, puis introduire dans des tubes contenant du bouillon nutritif (**Le gallou et le pelletier, 2017**)

Enrichissement

Une fois les différents échantillons prélevés, les écouvillons sont placés dans des tubes de bouillon nutritif. Les tubes sont ensuite emmenés au laboratoire où ils seront incubés à 37°C pendant 24 à 48 heures jusqu'à l'apparition d'un trouble dans le milieu.

Isolement et purification

Après incubation, l'isolement a été fait à partir des tubes de bouillon nutritif présentant un trouble. Prendre une goutte du bouillon nutritif et ensemercer sur des boîtes de pétri contenant les différents milieux de culture. Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures jusqu'à l'apparition des colonies.

Milieux Gélosés Utilisés

Gélose Nutritive

Ce milieu est dit non sélectif car il ne permet pas de sélectionner une souche bactérienne précise. Ce milieu permet donc à toutes souches bactériennes de pouvoir pousser après l'incubation. Donc l'utilisation de ce milieu doit conduire à l'obtention des colonies différentes.

Gélose Chapman

La gélose Chapman est un milieu sélectif pour l'isolement et la numération des staphylocoques. Il permet également de différencier les espèces fermentant le mannitol de celles qui ne le fermentent pas. La sélectivité de ce milieu est basée sur la présence de chlorure de sodium qui inhibe la plupart des bactéries à Gram (+) et à Gram (-). La

différenciation des Staphylocoques est basée sur leur capacité à fermenter ou non le mannitol. S'il y a fermentation, cela induit une acidification qui entraîne une coloration jaune du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH).

Gélose Mac-conkey

La gélose MacConkey, développée par Alfred Theodore MacConkey 1900, est une gélose sélective et différentielle qui ne cultive que des espèces bactériennes gram-négatives, il peut en outre différencier les organismes à Gram négatif en fonction de leur métabolisme du lactose :

- a) Les fermenteurs de lactose, les colonies, deviennent rouges ou roses sur la gélose MacConkey
- b) Les non-fermenteurs ne changent pas de couleur (**microbiologiemedicale.fr**).

Purification des souches

Après incubation, la purification des colonies suspectes est procédée par repiquages successifs sur les mêmes milieux de culture afin d'obtenir des cultures pures.

2.5 Identification des bactéries

2.5.1 Identification macroscopique

L'identification des bactéries repose sur l'observation des aspects macroscopiques (taille, forme, couleur, consistance, opacité, l'allure du contour) de colonies obtenues à partir de différents milieux d'isolement (**Delarras, 2007**).

2.5.2 Identification microscopique

L'examen microscopique est le premier stade de la détermination des bactéries. Il est cependant indispensable pour orienter les recherches ultérieures : culture et isolement, mise en évidence des caractères biochimiques. L'examen morphologique des bactéries peut se faire soit à l'état frais, soit après coloration de Gram.

La coloration de Gram est une coloration différentielle basée sur la structure de la paroi bactérienne qui est différente selon qu'il s'agisse de bactéries à Gram positif ou à Gram négatif, ainsi que la forme et mode de regroupement des cellules (Tripathi and Sapra, 2023) (**Ziane et Taffine, 2019**).

Technique :

- a) **Préparation d'un frottis**: réalisation de frottis d'une culture bactérienne à partir de culture fraîches à l'aide d'une pipette pasteur/ anse de platine, et l'étaler sur une goutte d'eau distillé déposée sur une lame propre, suivi de séchage et fixation à la chaleur.
- b) **Coloration de gram** : une coloration au violet de gentiane est ajoutée à la culture fixée. Après 10 à 60 secondes, la tache est versée et l'excédent de tache est rincé à l'eau. Le but est d'éliminer la tache sans perdre la culture attachée. La solution de Lugol est utilisée pour recouvrir le frottis pendant 10 à 60 secondes puis lavée à l'eau. Cette étape est connue sous le nom de "fixation du colorant". Quelques gouttes de décolorant « alcool » sont ajoutées à la lame. Cette étape est connue sous le nom de "traitement au solvant". La lame est rincée à l'eau en 5 secondes pour éviter une décoloration excessive des cellules gram-positives. Le frottis est contre-coloré avec une solution basique de fuchsine pendant 40 à 60 secondes puis lavé à l'eau.
- c) **Examen microscopique** : la lame doit subir un examen au microscope (grossissement 100x avec une goutte d'huile d'immersion) (**Tripathi and Sapra, 2022**).

Lecture : Avec cette coloration, les bactéries « Gram + » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram - » sont colorées en rose ou en rouge (**Delarras, 2014**).

2.5.3 Identification biochimique

A fin de déterminer les caractères biochimiques des souches cultivées, trois test biochimiques ont été réalisés.

- a) **Test de catalase**

Déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) , à l'aide d'une pipette pasteur prélever une colonie et dissocier la colonie dans la goutte.

- b) **Test d'oxydase**

Placer le disque d'oxydase sur une lame propre, l'humidifier avec deux gouttes d'eau distillée stérile, à l'aide d'une anse de platine stérile, déposer la colonie testée sur le disque.

- c) **Galerie biochimique miniaturisée API**

Elle comporte des micro-tests permettant de déterminer 20 caractères biochimiques de la souche à identifier (**Figure 27**). La lecture met en jeu un code numérique pouvant être traduit grâce à un dictionnaire ou un logiciel.



Figure 27 : Galerie d'identification API 20^E (Original)

Préparation de suspension bactérienne

Prendre deux colonies isolées (provenant d'une culture pure de mac conkey et gélose nutritive avant d'utiliser du gel antibactérien) à l'aide d'une pipette pasteur et préparer la suspension bactérienne dans un tube contenant 5ml d'eau physiologique stérile (**Figure28**).



Figure 28 : Préparation de suspension bactérienne (Personelle, 2023)

Préparation de la galerie

On met de l'eau distillé sur le fond du support de la galerie API. Toutes les alvéoles doivent être remplies (**Figure29**).



Figure 29 : Préparation de galerie (Original)

Inoculation de la galerie

Remplir les tubes et les cupules CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne et remplir uniquement les tubes des autres tests, créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine, puis fermer la boîte d'incubation (**Figure 30**) et la placer à 35-37°C pendant 18 à 24 heures. La lecture directe ou après addition de réactifs, (positives ou négatives) se fait en fonction des variations des couleurs : se référant au tableau de lecture spécifique à chaque API.

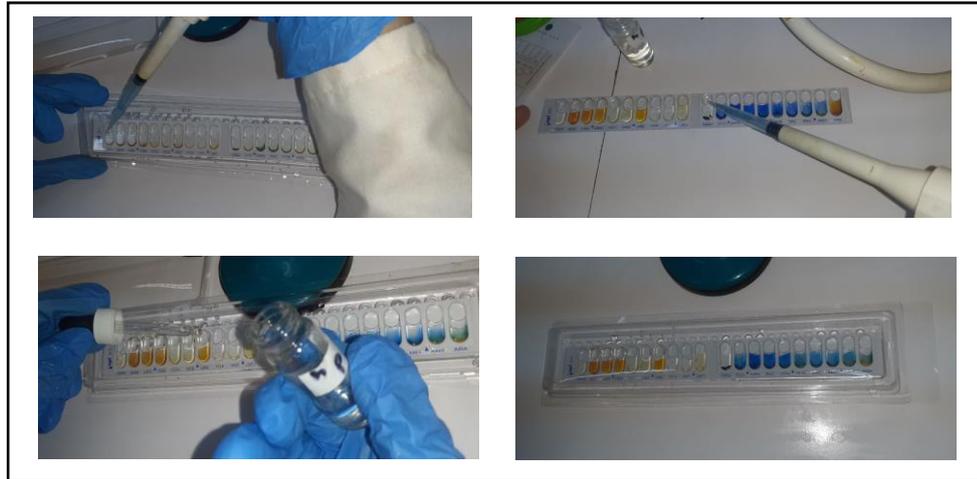


Figure 30 : Les étapes d'inoculation de galerie

Lecture

Les réactifs appropriés sont ajoutés aux compartiments :

- ❖ 1 goutte de réactif de Kovac à l'IND (faire la lecture dans les minutes qui suivent).
- ❖ 1 goutte de réactif de VP1 et VP2 (une réaction positive peut prendre jusqu'à 10minutes).
- ❖ 1 goutte de réactif TDA.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification (Annexe 3) et par l'utilisation du logiciel d'identification Api web.

Résultats et discussion

1 Résultats :

1.1 Formulation de gel a base des huiles essentielles :

La formule finale du gel est résumée dans le (**Tableau 16**) suivante :

Tableau 16 : Pourcentage des composants du gel formulé

Les composants	Pourcentage
Gel d'aloé vera	61%
Alcool 70°	31%
Huilles essentielles	6%
Huile Végétale	2%

1.2 L'évaluation de l'activité antibactérienne :

1.2.1 L'aromatogramme :

La sensibilité des souches bactériennes impliquées dans cette étude aux huiles essentielles de thym, clou de girofle et sauge déterminée par la méthode de diffusion des disques sur gélose solide (Muller Hinton) est résumée dans **les tableaux 17, 18** et l'histogramme indiqué dans la **Figure 31**. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition mesuré à l'aide d'une règle en (mm).

Tableau 17 : Diamètres d'inhibition (mm) de l'activité antibactérienne des HE.

Souches Bactériennes	Diamètre (mm)		
	Thym	Clous de girofle	Sauge
<i>ATCC22</i>	32	19	10
<i>ATCC23</i>	22	21	7
<i>ATCC53</i>	9	7	7
<i>P.aeruginosa</i>	15	/	/
<i>S.aureus</i>	17	25	/
<i>Salmonella spp</i>	23	16	/
<i>E.coli</i>	30	15	/

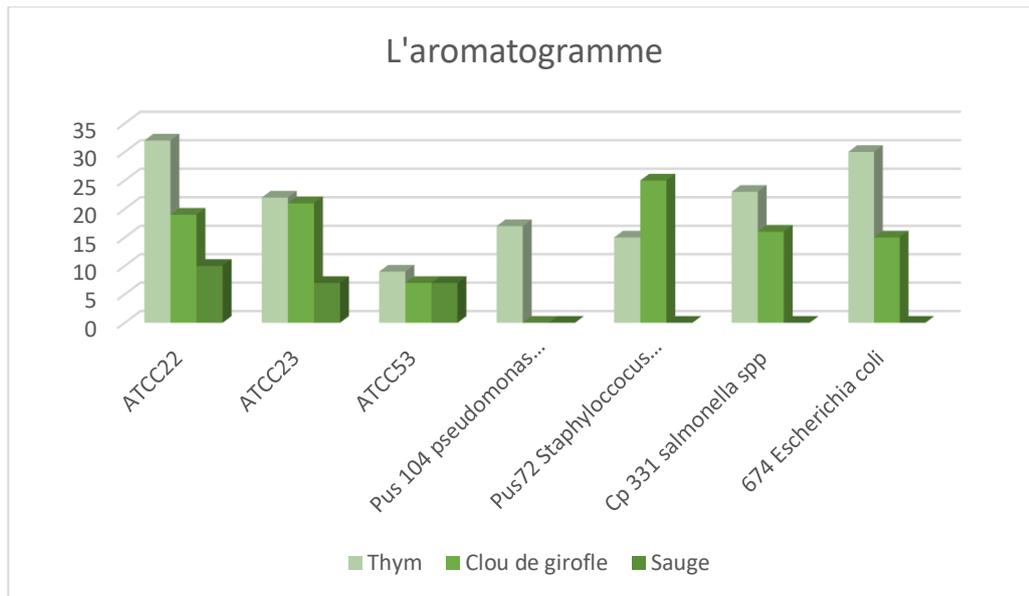


Figure 31 : Variations des résultats d'aromatogramme

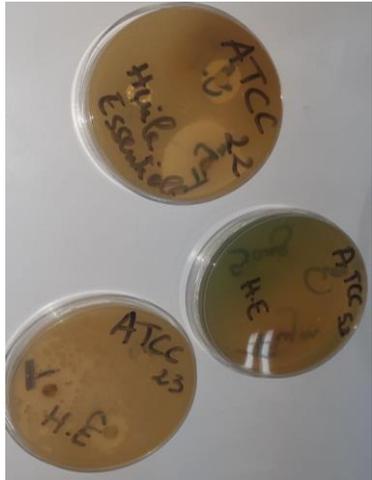
Les résultats des diamètres de zone d'inhibition ont montré que toutes les souches testées étaient sensibles à l'huile essentielle de thym (**tableau 17**). La meilleure activité antibactérienne de l'huile de thym a été observée contre les souches *ATCC22*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, et par contre l'huile essentielle de clou de girofle a montré la meilleure efficacité contre *Staphylococcus aureus*.

Le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec *ATCC22* (32 mm). Notamment, l'huile essentielle de clou de girofle a une activité antibactérienne modérée contre les souches *d'Escherichia coli* et de *Salmonella*. La zone d'inhibition varie de 15 mm à 25 mm de diamètre. Cependant, une activité antibactérienne faible contre *Pseudomonas aeruginosa* a été enregistrée uniquement avec le thym. L'huile essentielle de saugé a une très faible activité contre les bactéries avec des diamètres d'inhibition qui varient de 7 à 10 mm.

Afin de simplifier les tableaux CA-SFM / EUCAST, la catégorie intermédiaire n'est pas listée. Elle est interprétée comme étant la valeur entre les concentrations critiques S et R. Par exemple, pour des concentrations critiques présentées $S \leq 1$ mg/L et $R > 8$ mg/L, la catégorie intermédiaire est 2-8 (techniquement $>1-8$). Pour des diamètres critiques présentés $S \geq 22$ mm et $R < 18$ mm, la catégorie intermédiaire est 18-21 mm ».

- ✓ $D < 17$ mm : souches résistantes (-).
- ✓ $18 \text{ mm} \leq D \leq 21 \text{ mm}$: souches intermédiaires (+).
- ✓ $22 \text{ mm} \leq D$: souches très sensibles (++) .

Tableau 18 : Résultat de l'aromatogramme pour les sept souches.

Souches Bactériennes	Sensibilité			Résultat
	Thym	Clous de girofle	Sauge	
<i>ATCC22</i>	(++)	(+)	(+)	
<i>ATCC23</i>	(++)	(++)	(-)	
<i>ATCC53</i>	(+)	(-)	(-)	
<i>P.aeruginosa</i>	(+)	(-)	(-)	
<i>S.aureus</i>	(+)	(++)	(-)	
<i>Salmonella spp</i>	(++)	(+)	(-)	
<i>E.coli</i>	(++)	(+)	(-)	

1.2.2 Effets des mélanges d'huiles essentielles de clou de girofle (*Syzygium aromaum*), de thym (*Thymus vulgaris*) et de sauge (*Salvia officinalis*)

Les résultats sont exprimés dans le (Tableau 19) et (Figure32) par le diamètre de la zone d'inhibition qui peut être symbolisé par des signes selon la sensibilité des souches vis-à-vis des huiles essentielles

Tableau 19 : Diamètres des zones d'inhibition de différents mélanges d'huiles essentielles sur les souches bactériennes de références utilisées.

Souche de référence	Diamètre et sensibilité des souches						
	Thym + Clou de girofle	Sensibilité	Thym + Sauge	Sensibilité	Clou de girofle + Sauge	Sensibilité	3 HE
<i>ATCC22</i>	40	(++)	29	(++)	26	(++)	23
<i>ATCC23</i>	22	(++)	7	(-)	12	(+)	10
<i>ATCC53</i>	18	(+)	7	(-)	7	(-)	7

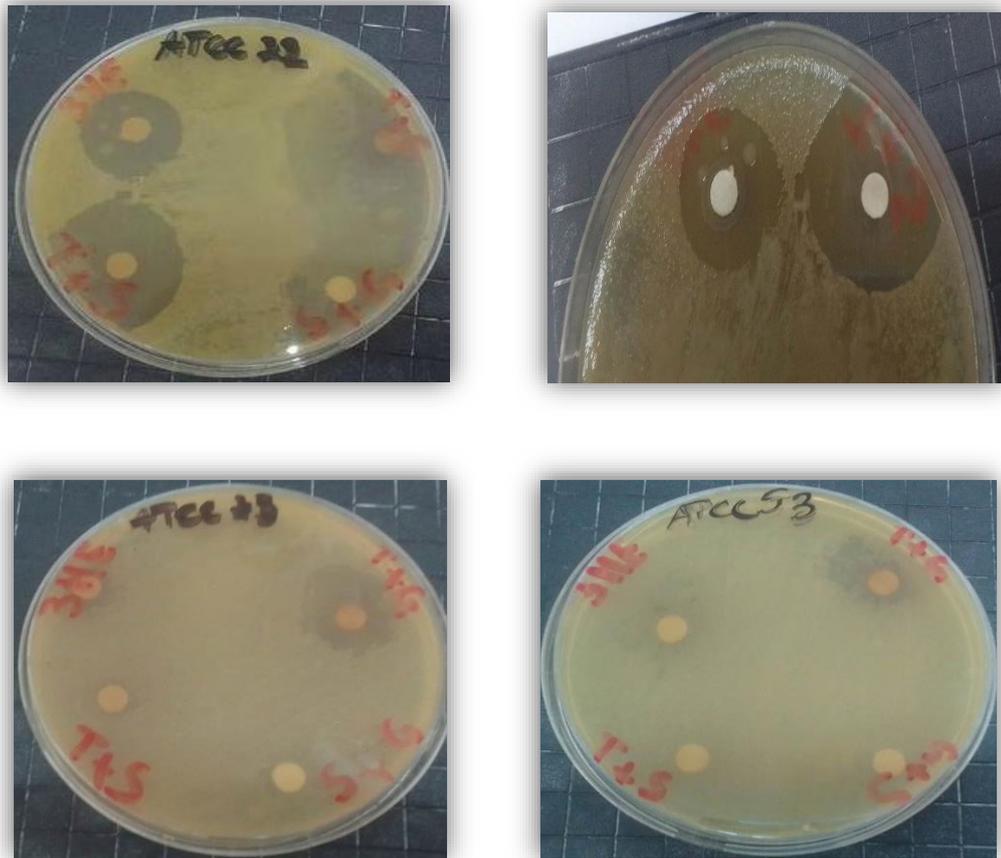


Figure32 : L’effet antibactérienne de différents mélanges d’huiles essentielles

Les espèces microbiennes testées présentent des diamètres d’inhibition différents qui varient de 7 mm à 40 mm.

L’association entre les deux huiles essentielles de thym et de clou de girofle a montré une très forte activité inhibitrice notamment contre la souche *ATCC22* qui représente la souche extrêmement sensible avec des diamètres les plus grands.

Une activité antibactérienne modérée des huiles essentielles de thym et de clou de girofle mélangées a été signalée avec *ATCC53* alors que les autres huiles combinées ne montrent aucune activité contre elle.

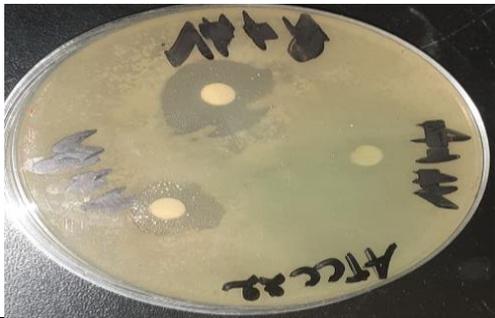
1.2.3 Effets inhibitrices des combinaisons de constituants du gel formulé

Vu que la préparation du gel antibactérien contient des différents composants hors les huiles essentielles afin d’évaluer l’efficacité des huiles essentielle en combinaison à deux avec d’autres agents antimicrobiens, les résultats du **Tableaux 20 et 21** montrent les effets antibactériens de la combinaison de deux agents antimicrobiens sur les souches d’ATCC.

Tableau 20 : Résultats de la combinaison des composants de gel.

Souche de référence	Diamètre d'inhibition (mm)		
	HE + Alcool 70°	HE + Gel <i>d'aloë vera</i>	Alcool 70° + Gel <i>d'aloë vera</i>
ATCC22	17	24	8
ATCC23	11	10	/
ATCC53	8	10	/

Tableau 21 : Effet antibactérien des interactions des composants de gel sur les souches d'ATCC.

Les souches bactériennes	Résultats d'interactions
ATCC22	
ATCC23	
ATCC53	

D'après les résultats des **Tableaux 20 et 21**, on peut voir que certaines espèces de bactéries. Se sont montrées sensibles à l'interaction de l'alcool à 70° et des huiles essentielles, ainsi des huiles essentielles et du gel *d'aloë vera* qui montrent une interaction d'indifférence car ce gel *d'aloë vera* n'a pas affecter l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.

Les diamètres des zones d'inhibition produites par la combinaison d'huiles essentielles et d'alcool sont considérés comme légèrement inhibiteurs par rapport à la combinaison d'huiles et de gel *d'aloë vera* qui montre une activité modérément inhibitrice contre les bactéries. L'alcool à 70° mélangé au gel *d'aloë vera* a montré l'effet le moins puissant avec un diamètre de 8 mm, cela peut signifier qu'ensemble ils forment une interaction d'antagonisme.

1.2.4 Evaluation d'activité antibactérienne du gel à tester

Les figures 33, 34 et tableau 22 suivantes indiquent la présence d'un effet antibactérien du gel pur par rapport au gel dilué qui ne montre aucune activité.

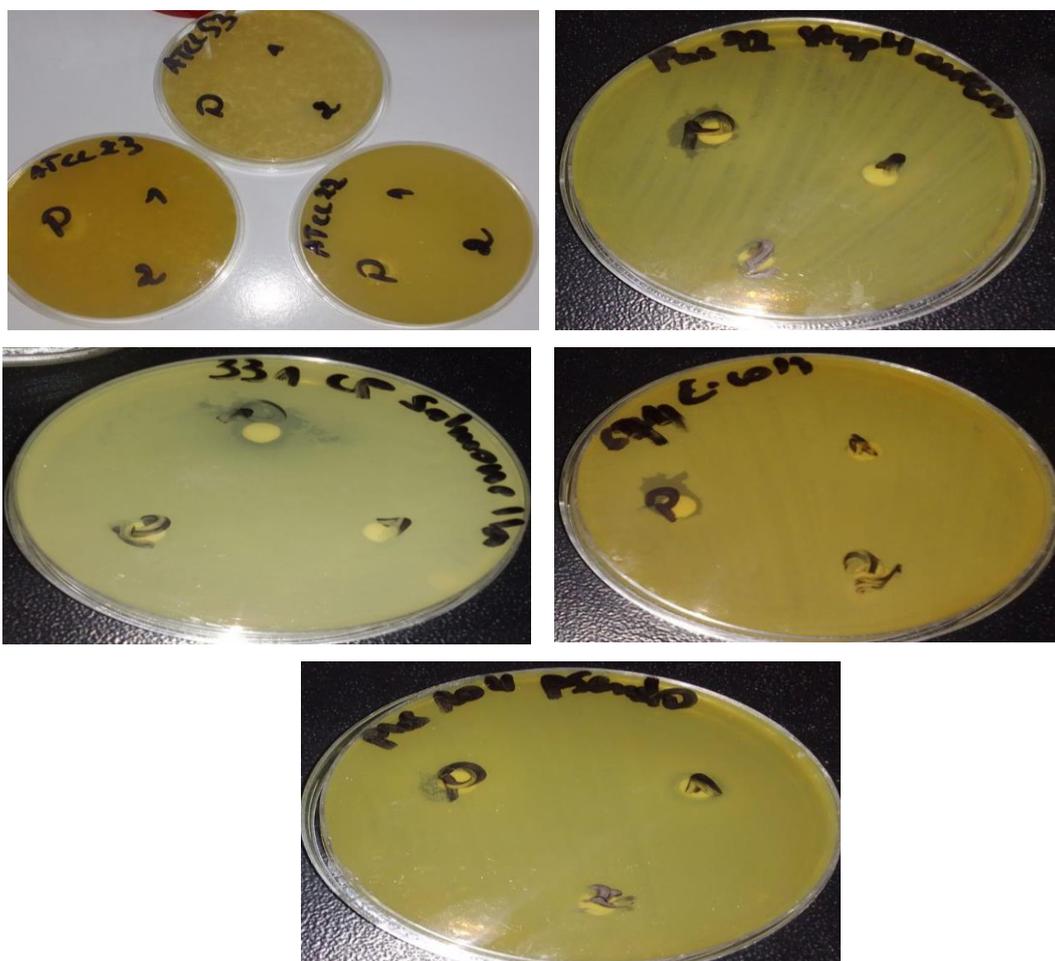


Figure 33 : Activité antimicrobienne du gel et de ses dilutions sur les souches testées

Tableau 22 : Résultats de l'activité antibactérienne du gel formulé et de ses dilutions (Diffusion en mm par disques).

Souches bactériennes testées	Diamètre d'inhibition en mm			
	Gel pur	Sensibilité	Dilution 1/2	Dilution 1/4
<i>ATCC22</i>	12	(+)	6	6
<i>E.coli</i>	8	(-)	6	6
<i>ATCC23</i>	16	(++)	6	6
<i>S.aureus</i>	15	(++)	6	6
<i>ATCC53</i>	7	(-)	6	6
<i>P.aeruginosa</i>	7	(-)	6	6
<i>Salmonella spp</i>	15	(++)	6	6

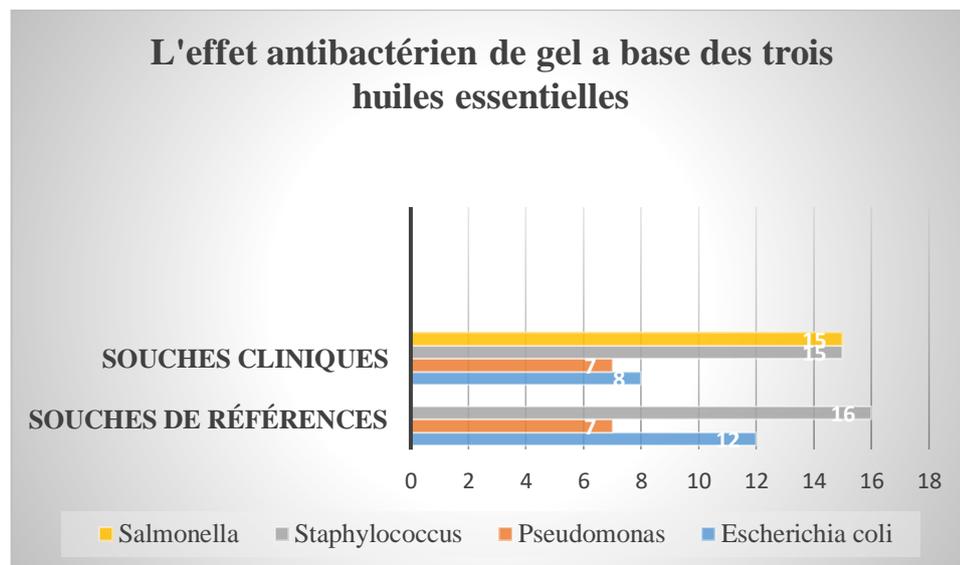


Figure 34 : Résultats d'évaluation d'activité antibactérienne du gel formulé

Selon la méthode de diffusion sur gélose, le gel a présenté une activité antimicrobienne contre les souches d'ATCC22 et 23, aussi bien vis-à-vis des souches cliniques *Staphylococcus aureus* et *Salmonella sp*, et un effet moins marquant sur *E.coli*. Par contre la souche d'ATCC 53 et la souche clinique *P.aeruginosa* présentent une résistance vis-à-vis de gel.

Aucune activité antibactérienne a été signalé avec les dilutions 1/2 et 1/4. , la plus grande surface d'inhibition est observée dans le cas de la souche de référence ATCC23 (16mm), *Staphylococcus aureus* (15mm) et *Salmonella sp* (15mm), Ces espèces sont donc les plus

sensibles à ce gel. Il ressort de la barre présentée sur la **figure 34** que le gel antibactérien étudié a une activité inhibitrice variable selon les bactéries testées.

1.2.5 Etude comparative de l'activité antibactérienne du gel antibactérien avec celle des antibiotiques

1.2.5.1 Étude de la résistance des bactéries aux antibiotiques :

Dans le but de connaître l'efficacité de notre gel formulé contre les bactéries et de le comparer à l'activité des antibiotiques vis-à-vis les mêmes souches, les résultats d'antibiogramme sont présentés dans le **tableau 23** suivant. Les diamètres des zones d'inhibition mesurées ont été comparés aux diamètres critiques donnés afin de classer la bactérie dans l'une des catégories Résistante, Intermédiaire, Sensible.

Tableau 23 : Résultat d'antibiogramme sur les souches collectées

Souche bactérienne	ATB	Charge du disque (µg)	Diamètre d'inhibition (mm)	Catégorie clinique	Diamètre d'inhibition du gel formulé
<i>674 E.coli</i>	LVX	5	-	R	8
	TCC	75	-	R	
	ATM	30	16	R	
<i>Pus72 S.aureus</i>	OX	1	-	R	16
	VA	30	14	R	
	LVX	5	24	S	
	OFX	5	24	S	
<i>Pus104 P.aeruginosa</i>	TIC	75	-	R	7
	TCC	75	-	R	
	ATM	30	30	S	
	IPM	10	30	S	
	LVX	5	-	R	
	CAZ	10	18	R	
<i>331 Cp Salmonella sp</i>	ATM	30	38	S	15
	IPM	10	35	S	
	LVX	5	12	R	

ATB : antibiotique ; **ATM** : aztréonam ; **CAZ** : céftazidine ; **IPM** : imipénème ; **LVX** : lévofloxacine ; **OFX** : ofloxacine ; **OX** : oxacilline ; **TIC** : ticracilline ; **TCC** : ticracilline + acide clavulamique ; (-) : aucune zone d'inhibition. **R** : Résistante. **S** : Sensible.

La majorité des souches étudiées sont résistantes à trois antibiotiques (lévofloxacine, ticracilline et ticracilline+acide clavulamique), la souche *d'Escherichia coli* présente une résistance à les trois antibiotiques testées.

Les antibiotiques aztréonam et imipénème ont montré une activité inhibitrice sur les souches cliniques *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella sp* ainsi que les antibiotiques lévofloxacine et ofloxacine pour le *Staphylococcus aureus*.

D’après les résultats cités précédemment, nous avons constaté que la souche de *Pseudomonas aeruginosa* est résistante au gel formulé contrairement aux antibiotiques aztreonam et imipénème qui présentait comme même un effet antibactérien sur celle-ci cependant elle a montré une résistance à 4 autres antibiotiques. La sensibilité des bactéries diffère selon l'agent antibactérien utilisé.

Les antibiotiques testés ont provoqué une inhibition plus importante à celle du gel antibactérien avec la bactérie *Salmonella sp*.

Le gel formulé à base de 3 huiles essentielles a une faible efficacité contre la souche *Salmonelle sp* par rapport aux deux antibiotiques Aztréonam et Imipénème, il a ainsi provoqué une plus grande activité antibactérienne que l'antibiotique lévofloxacine.

Les diamètres d'inhibition des tests de comparaison montrent que la souche de *Staphylococcus aureus* est plus sensible au gel antibactérien que celle de l'antibiotique vancomycine.

1.2.6 Application du gel formulé sur les mains :

1.2.6.1 Mise en culture des bactéries de la paume des mains avant et après l'utilisation du gel

➤ **Identification macroscopique :**

Après une période d'incubation de 24 heures à 37°C, l'aspect macroscopique des colonies cultivées sur les différents milieux utilisés (Mac-conkey, gélose nutritive et Chapman) avant et après application du gel sur les mains est présenté dans le **tableau 24**.

Tableau 24 : Aspect macroscopique des colonies après l’incubation

	Milieu de culture	Lecture macroscopique
Avant l'utilisation du gel	Mac-conkey	Colonies moyennes crémeuses sous forme de voile avec un aspect brillant de couleur marron.
	Gélose nutritive	Petite colonies rondes de couleur blanchâtres.
	Chapman	Petites colonies rondes de couleur blanchâtres avec l’absence de virage du milieu.
Après l'utilisation	MC	Absence de colonies.
	GN	Présences des petites colonies.

	Chapman	Présences des colonies rondes blanchâtres mannitol (-).
--	---------	---

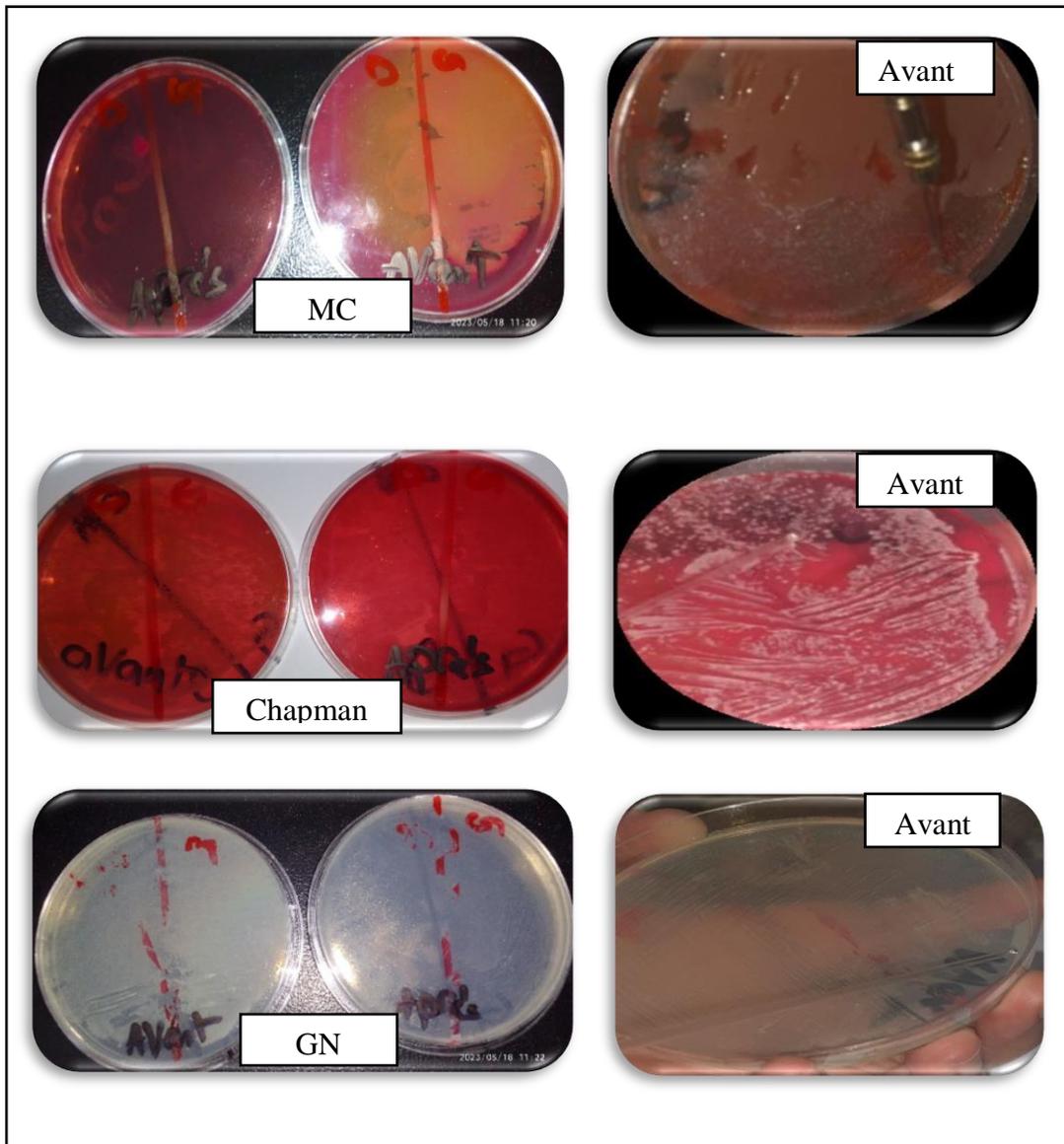


Figure 35 : Aspects macroscopiques des colonies des différents milieux de culture.

➤ **Identification microscopique :**

Les résultats de coloration de gram des bactéries isolée a partir des milieux Chapman, MacConkey et gélose nutritive avant l'utilisation du gel sont représentés dans **le tableau 25**.

Tableau25 : Aspect microscopique des colonies après la coloration de gram

Milieu de culture	Aspect microscopique (microscope optique, objectif : 100x)
MacConkey	Bacilles gram négatif
Gélose nutritive	Bacilles gram négatif + cocci gram positif
Chapman	Cocci gram positif en amas

➤ **Identification biochimique**

Les résultats des tests biochimiques sont illustrés dans les figures suivantes :



Figure 36 : Catalase positif

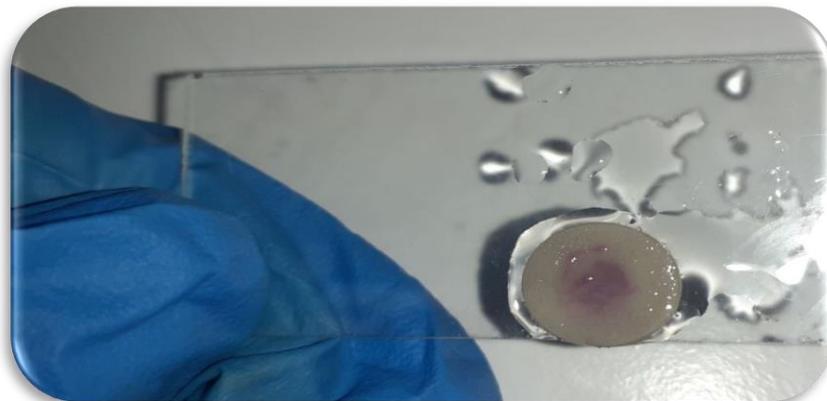


Figure 37 : Oxydase positif

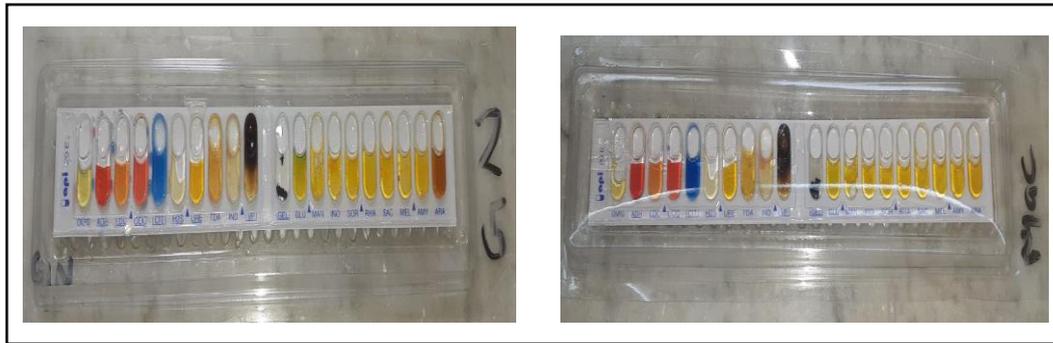


Figure 38 : Résultats de test biochimique de galerie API 20^E

Tableau 26 : Résultats de la galerie biochimique API 20 E

Milieu de culture	Code	Identification
MacConkey	7306777	Serratia odorifera1
Gélose nutritive	7306773	Serratia odorifera 1
Chapman	Sans Api	Staphylococcus epidermidis

2 Discussion :

L'étude de la sensibilité et du pouvoir de résistance des souches bactériennes aux huiles essentielles montrée que l'huile essentielle de *thymus vulgaris* a présenté une activité antibactérienne très significative contre toutes les souches testées avec des zones d'inhibition allant de 9 à 40 mm, une meilleure inhibition a été enregistrée sur la souche de référence ATCC22 d'*Escherichia coli* bactérie à Gram négatif.

Selon (Chourfa et al, 2013), l'huile de *thymus vulgaris* montre une activité antibactérienne intéressante contre les bactéries Gram+ ainsi que contre les bactéries Gram- cependant, une étude réalisée par (Yakhlef et al., 2011) montre que les souches de *Staphylococcus aureus* à Gram positif sont plus sensibles au *thymus vulgaris* que les autres souches bactériennes à Gram négatif testées. Des résultats obtenus par (Berrada et al., 2016) montrent que l'huile essentielle de *thymus vulgaris* a présenté une efficacité maximale et un large spectre d'action aussi bien sur les bactéries à Gram positif que celles à Gram négatif.

L'huile essentielle de clou de girofle est active contre toutes les souches bactériennes alors que les *Pseudomonas* n'ont marquées aucune inhibition, les souches de *Pseudomonas aeruginosa* s'avèrent être les plus résistantes, ceci est lié à leur grande capacité à développer une résistance contre de nombreux agents antimicrobiens. Selon (Shakeri et al., 2014) *Pseudomonas aeruginosa* est une souche Gram-négative résistante aux huiles essentielles grâce à sa membrane bactérienne riche en liposaccharides qui lui confèrent une surface hydrophile. Dans son étude, (Rhayour, 2016) a montré que l'huile essentielle de clou de girofle exerce son effet bactéricide principalement grâce à son composant principal, l'eugénol.

Pour l'huile essentielle de sauge, les résultats observés ont montré une très faible activité antibactérienne sur les souches sauf l'ATCC22 qui est légèrement sensible à la sauge avec une faible zone d'inhibition de 10mm. Nos résultats ne concordent pas avec les résultats de (Balouiri, 2011), les résultats obtenus montrent que la sauge officinalis a un effet inhibiteur sur les souches *E. coli*, *B. subtilis* et *S.aureus*. à l'exception de *P.aeruginosa* qui s'est révélée totalement résistante.

L'effet des interactions entre les huiles essentielles dépend des interactions de leurs composants, toutes les interactions synergiques entre les trois huiles essentielles ont marqué une activité antimicrobienne allant de faible à puissante. L'association d'huile essentielle de

thym et d'huile essentielle de clou de girofle a démontré la plus grande activité antibactérienne contre les bactéries Gram positives et Gram négatives testées.

D'après (Nazzaro et al., 2013; Tomazelli Júnior et al., 2018), Le thymol et le carvacrol sont les principaux constituants des huiles essentielles de thym et possèdent une activité antimicrobienne capable d'affecter la membrane externe des bactéries Gram-négatives, leur interaction avec l'eugenol a présenté l'effet synergique le plus élevé.

nos résultats indiquent que l'association huile essentielle de thym avec HE de sauge exerce un effet inhibiteur contre la souche d'ATCC 22 uniquement. Pour le moment, l'effet antimicrobien des combinaisons d'huile essentielle de clou de girofle ou d'huile de thym avec d'autres huiles essentielles n'est pas bien étudié.

Dans le but d'évaluer l'efficacité antibactérienne des composants du gel formulé, nous avons testé l'effet antimicrobien de combinaisons de constituants du gel sur les souches d'ATCC. D'après (Pibiri, 2005), les effets des combinaisons d'agents antimicrobiens, sont définis selon quatre interactions possibles:

- Indifférence : l'activité d'un agent antimicrobien n'est pas affectée par l'autre.
- Addition : l'effet de l'association est égal à la somme des effets de chaque agent étudiée isolément, à la même concentration que dans l'association.
- Synergie : c'est l'effet est significativement supérieur à la somme de chaque agent étudiée isolément.
- Antagonisme: l'association diminue l'activité de l'un des agents antimicrobiens ou de l'autre.

Certaines études de (Lawless et Allan, 2000; Pugh et al., 2001) montrent que les agents antimicrobiens du gel d'Aloe vera peuvent réduire la croissance ou éliminer *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, l'association de gel d'aloë vera avec l'huile essentielle présente une effet synergique contre l'ATCC22 ainsi que une activité légèrement inhibitrice contre les ATCC23 et 53.

On constate que l'effect antibactérien de combinaison d'alcool 70° et les trois huiles essentielles est plus important en le comparant à l'effet de l'alcool et le gel d'aloë vera qui a montré un effet antagoniste. L'activité antibactérienne de notre gel a été testée sur les sept souches bactériennes par la méthode de diffusion de disques sur un milieu gélosé MH . Nous avons testé la sensibilité des souches cliniques vis-à-vis certains antibiotiques, pour la comparer à celle de gel a base des huiles essentielles. Selon les résultats de l'antibiogramme, la souche d'*Escherichia coli* est résistante aux les trois antibiotiques testés.

Alors que *S. aureus*, *P.aeruginosa* et *Salmonella sp* sont sensibles aux deux antibiotiques, respectivement : lévofloxacine et ofloxacine, Aztréonam et Imipenème.

Selon les résultats d'évaluation d'activité antibactérienne de notre gel, cinq souches sont montrées sensibles vis-à-vis le gel antibactérien formulé. Concernant *P.aeruginosa*, les résultats ont montré que cette souche présente une multi résistance vis-à-vis au gel et ses constituants ainsi que plusieurs antibiotiques.

La comparaison de l'efficacité du gel antimicrobien à base des huiles essentielles avec celle des antibiotiques a montré que le gel formulé s'est avéré efficace et avait une activité antimicrobienne même lorsque l'antibiotique a montré une supériorité. Des auteurs ont rapporté que la sensibilité des bactéries est indépendante de Gram (**Dorman et al. 2000**), et dépend plutôt des agents antibactériens utilisés. L'application de notre gel sur les mains sales a permis de réduire certains germes pathogènes (*Serratia odoriflora*), ce qui signifie qu'il a montré un excellent effet antiseptique pour l'hygiène des mains. Cette bactérie *S. odorifera* a été nommée en 1978 par Grimont et d'autres, qui ont étudié 25 souches similaires isolées principalement à partir de divers spécimens humains. *S. odorifera* n'est pas pigmenté et a été nommé pour son odeur caractéristique de pomme de terre (**Grimont et al., 1978**). Selon **Bartlett et al. (2022)**, cette espèce est un pathogène humain établi. On note que les staphylocoques coagulase négative étaient les seules germes présents après l'application du gel et ils représentent des bactéries qui appartiennent à la flore commensale de mains humaines. Bien que largement apprécié comme un symbiote cutané abondant, de nouvelles preuves suggèrent que la colonisation cutanée par des souches spécifiques de *S. epidermidis* peut en fait être préjudiciable à l'hôte dans certaines conditions. La peau intacte est une barrière redoutable pour les agents pathogènes et les commensaux, mais la perturbation de cette barrière, par mutation génétique ou physique, peut modifier considérablement le comportement de *S. epidermidis* de bénin à pathogène (**Brown and Horswill, 2020**).

Conclusion et perspectives

Dans ce travail, nous avons réalisé une nouvelle conception d'un gel antibactérien composé des trois huiles essentielles qui présentent des activités antibactériennes : huile de thym, huile de clou de girofle et huile de sauge, en plus de gel *d'aloë vera* et d'un faible pourcentage d'alcool. Cette formule contient principalement des plantes médicinales aromatiques, en raison de leurs propriétés efficaces, qui sont généralement extraites sous forme d'huiles essentielles, quant au gel *d'aloë vera*, il est considéré comme un excellent hydratant et émollient pour la peau et pour l'alcool il est connu d'avoir une forte propriété inhibitrice contre les microbes en général.

À la lumière de cela, et afin de connaître l'efficacité de notre gel et de ses composants, nous avons testé les trois huiles essentielles par la méthode de diffusion de disque sur un milieu gélosé, où les résultats ont prouvé ce qui suit : toutes les souches testées (*ATCC22*, *ATCC23*, *ATCC53*, *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *Salmonella*, *E.coli*) étaient sensible à l'huile de thym et de clou de girofle. La meilleure activité antibactérienne a été observée avec les souches *ATCC22*, pour l'huile de thym par un diamètre (32 mm) et *staphylococcus aureus* pour l'huile de clou de girofle par un diamètre (25mm), tandis que l'huile de sauge avait la plus faible activité contre ces souches. L'effet synergique des deux huiles essentielles de thym et de clou de girofle a montré une très forte activité inhibitrice pour les (*ATCC22*, *ATCC23*), et une activité modérée observée avec (*ATCC53*) alors que les autres huiles combinées montrent une faible activité inhibitrice.

Les résultats de la méthodes de disque ont montré que notre gel formulé présentent une activité antibactérienne sur les souches (*ATCC22 et 23*, *Salmonella*, *staphylococcus aureus*), par contre on signale aucune activité pour les souches (*ATCC 53 et P.aureuginosa*), l'étude comparative de l'activité antibactérienne du gel avec des antibiotiques montre que la souche de *Staphylococcus aureus* est plus sensible au gel antibactérien que celle de l'antibiotique vancomycine, aussi la souche de *P.aeruginosa* est résistante au gel contrairement aux antibiotiques (*ATM, IPM*).

L'utilisation du gel sur la paume des mains a montré l'élimination de certains germes pathogènes et aucune activité n'a été observée sur la flore résiduelle de la main dont nous pouvons conclure que le gel présente un effet antiseptique efficace avec une tolérance meilleure que celle d'un gel hydroalcoolique ordinaire.

En perspectives et après avoir prouvé l'efficacité du gel préparé contre les différents types de souches bactériennes de référence et cliniques, on propose de prouver son efficacité également contre les champignons et les virus, aussi nous suggérons également d'utiliser d'autres huiles essentielles de plantes médicinales pour obtenir une autre formulation du gel antiseptique avec un excellent effet. Pour pouvoir se réclamer d'un effet contre une catégorie de microorganismes (virus, champignons...), les produits doivent passer des tests standardisés sur des souches modèles. Conçues par le Comité européen de Normalisation (CEN), ces normes ont pour intérêt majeur de prouver l'efficacité biocide d'un produit hydroalcoolique :

- EN* 14476 : Efficacité virucide avérée (virus enveloppés type coronavirus) pour le traitement hygiénique des mains par frictions.
- EN* 13624 : Atteste de l'exigence relative à l'activité fongicide et levuricide des désinfectants chimiques et des produits antiseptiques pour une désinfection chirurgicale.
- EN* 1650 : Concerne les produits antiseptiques et désinfectants chimiques par essai quantitatif de l'activité fongicide pour une désinfection hygiénique (domaine domestique et collectivité).
- EN* 13727 : Spécifie les prescriptions minimales relatives à l'activité bactéricide des produits antiseptiques et désinfectants chimiques pour une désinfection chirurgicale.
- EN* 1276 : Norme appliquée pour assurer l'efficacité bactéricide d'un produit biocide pour une désinfection hygiénique (domaine domestique et collectivité).
- EN* 1500 : Cette norme européenne décrit une méthode d'essai simulant des conditions pratiques afin d'établir si un produit pour le traitement hygiénique des mains réduit la flore transitoire et conserve des propriétés bactéricides lorsqu'il est utilisé par frictions des mains artificiellement contaminées de volontaires.

Références Bibliographiques

A

- Abbara, A., (2004).** Ecologie microbienne de la peau. La flore cutanée et ses caractéristiques
[en ligne]. Livre interactif en gynécologie obstétrique. France.
- Abdelli, W., (2017).** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des Huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de Doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem, Algérie.
- Abed, S., Messaadia, B., Djessas, M., (2021).** Etude des propriétés physicochimiques et biologiques de *Thymus vulgaris*L. Mémoire en vue de l'obtention d'un diplôme de master. Constantine : Université des frères mentouri.
- Adli D., (2015).** Effets prophylactique de l'administration d'un extrait de *Syzygium Aromaticum* (Clou de girofle) chez les rats wister en croissance intoxiqués au plomb et au manganèse. Étude biochimique, histologique et neurocomportementale. Thèse de Doctorat : Biochimie, département de biologie, Université d'Oran, 16 pages.
- AFNOR., (1986).** Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris. P57.
- AFNOR., (2011).** Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et jus de fruits et légumes, éd. AFNOR. , Paris.
- Agence de la santé publique du Canada., (2012).** Pratiques en Matière d'Hygiène des mains dans les milieux de soins, prévention et contrôle des maladies infectieuse. Document technique, 104p.
- Aggoune, M., Baffoy, N., Baret, MF., Flechet, ML., Huang, M., Huchon-Bécel, D., Macrez, A., Sinègre, M., (2001).** CCLIN Paris-Nord. Hygiène des mains Guide de bonnes pratiques. Décembre 2001 3ème édition.
- Alice, D., (2011).** Faisabilité de la mise en place d'une indication géographique. Thèse de doctorat.Ecole superieure d'agro-développement international Istom.
- Amshoff, G., (1966).**Myrtacées.Paris : MNHN ; p. 3-4 ; 16.
- Andrienne, P., (1998).** La Gemmothérapie, médecine des bourgeons. Amyris Éd., Bruxelles, 1998, 207 p.
- Assistance Publique Hôpitaux de Paris., (1993).** Service Etudes, Hygiène et Prévention, Maîtrise de la diffusion des germes hospitaliers multi-résistants.

B

- Baba-aissa, F., (2011)** .Encyclopédie des plantes utiles. Almarifa.P330.
- Bakkali, D., (2008)**. Biological effects of essential oils. A review Food and Chemical Toxicology: Vol.46: PP 446-475.
- BALOUIRI M. (2011)**. Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de trois
- Barth, J.H., (1987)**. Nasal carriage of staphylococci and streptococci .Int J Dermatol .26.pp
- Baudoux, D., (2006)**. Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française, volume 5 : Grossesse. Amyris. 316 p.
- Bekhechi, Ch., Abdelwahid, Dj., (2010)**. Les huiles essentielles. Office de publication universitaire Algérie. P 9, 10, 38, 39, 40, 41.42
- Belgaid, A et Rahmani, A., (2018)**.Activité insecticide du thym (*Thymus vulgaris* L) sur un Insecte des stocks *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera Bruchidae). Mémoire de Master, Université de Bouira, Algérie.
- Beloued, A., (2005)**. Plantes médicinales d'Algérie. Office de publication universitaire OPU » p 196.
- Beloued, A.E.K., (2001)**. Plantes médicinales d'Algérie. O.P.U. Alger, 277p.
- Belsito, E. L., Carbone, C., Di Gioia, M. L., Leggio, A., Liguori, A., Perri, F., & 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.
- Benazzeddine, S., (2010)**. Effet insecticide de cinq huiles essentielles vis- à - vis de *Sitophilus oryzae* (Coleoptera; Curculionidae) et *Tribolium confusum* (Coleoptera; Curculionidae). Ecole nationale supérieure agronomique El- Harrach d'Alger, Mémoire Online.
- Benbouali, M., (2006)**. Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de : « *Mentha rotundifolia* & *Thymus vulgaris* ». Mémoire de Magister, Université Hassiba Ben Bouali –Chlef, Algérie.
- Benmadi, Z et Abida, H., (2018)**.Effet des extraits de *Thymus vulgaris* chez *Escherichia Coli* responsable des infections uro-génitales. Mémoire de Master, Université Abdel Hamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie.
- Benyadah, N., (2008)**. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines, moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stokes.

Laboratoire des Substances Naturelles et Thermolyse Éclair Département de Chimie
Faculté des Sciences de rabat.

- Berrada,S., Bennani,L., Chahbi,A., Sqalli Houssaini,T., El Ouali Lalami,A., Benjelloun Touimi, G., Sqali Houssaini, F.Z. (2016).** Effet antibactérien de deux huiles essentielles (Thymus vulgaris et Lavandula) International Journal of Innovation and Applied Studies.
- Berthélémy, S., (2013).** Conseils à un patient se plaignant d'un rhume. Actual. Pharm. 52, 45–48.
- Binâta, G et Dikes, L., (2018).** Etude de l'effet antibactérien et prébiotique des extraits de Thymus vulgaris et de Thymus serpyllum. Mémoire de Master, Université Djilali Bounaama De Khemis Miliana, Algérie.
- Botineau, M., (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Paris : EditionsTEC & DOC.
- Bouacida, k., (2021).** Étude de l'effet de l'eugénol extrait de la plante Syzygium aromaticum sur le biofilm dentaire, Mémoire de Mastère : Biotechnologie végétale, Département de biologie, Université de SFAX, 64.
- Boughendjioua, H., (2015).** Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau. Composition chimique, activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de Citrus limon, Cinnamomum zeylanicum et Thymus numidicus. Thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat en sciences. Annaba: Université Badji- Mokhtar.
- Boukhatem M., Ferhat M., Kameli A., Saidi F., Taibi H., Djamel T., (2014).** Valorisation De l'essence aromatique du Thym (Thymus vulgaris L.) en aromathérapie anti-infectieuse. International Journal of Innovation and Applied Studies, 8 :.1418-1431.
- Boullard, B., (2001).** Plantes médicinales du monde réalités et croyances, Paris: Editions ESTEM.
- Boutalbi, (2014).** criblage chimique et l'activité biologique de spiruline (Arthrospira Platensis).mémoire . université kasdi merbah Ouargla.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A. et al., (2017).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. Phytothérapie.
- Bouzabata, A., (2020).** Médecine traditionnelle et COVID-19 : croyances et réalités 01/04/20 Publié dans 20 ans Sci Dev Net, Edition : Afrique Sub – Saharienne.

- Boyce, JM., Pittet, D., (2002).** Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings: recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the Hand Hygiene Task Force. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 23, S3-40.
- Bruneton, J., (1999).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3^{ème} Ed Tec&Doc. Paris.
- Bruneton, J., (2009).** Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales, Paris: Lavoisier.

C

- Cabaret, J., (1986) .** « 167 plantes pour soigner les animaux, phytothérapie vétérinaire, point vétérinaire ».1^{ème} Ed., Paris, 209 p.
- Carson, CF., Ashton, L., Dry, L., Smith, DW., Riley, TV., (2001).** Melaleuca alternifolia (tea tree) oil gel (6%) for the treatment of recurrent herpes labialis. *J Antimicrob Chemother*.
- Carson, CF., Hammer, KA., Riley, TV.,(2006).** Melaleuca alternifolia (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin Microbiol Rev*.
- Chabrier, J-Y., (2010).** Plantes Médicinales et Formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse. Université Henri Poincare-Nancy.
- Chemat et Maisuthisakul, P., Suttajit M., Pongsawatmanit, R., (2012).** Assessment of phenolic content And freeradical scavengingcapacity of someThaiindigenous plants. *Food chem*. 100 :1409-1418
- Cheurfa M., Allem R., Sebahia M. S., Belhireche. (2013).** Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites. *Phytothérapie*, 11 : 154-160.
- Chouhan, S., Sharma, K., Guleria, S., (2017).** Antimicrobial Activity of Some Essential Oils-Present Status and Future Perspectives. *Medicines (Basel)*.
- Clément , B., (2012).** prévention des infections nosocomiales au centre hospitalier universitaire vétérinaire d'al fort : etude bibliographique, evaluation expérimentale de l'hygiène des mains et rédaction de recommandations concernant l'hygiène des mains. Doctorat vétérinaire, la faculté de médecine de créteil. Al fort.131p.
- Cordonnier, F., (2016).** Etude de la transmission des virus respiratoires dans les espaces clos : le role des surfaces. Thèse Pour obtenir le grade de Docteur. Université Paris EST Creteil.
- Cowan, M., (1999).** Plants products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Review*, Vol. 12, 564-582.

Cretti., (1981). « Les plantes aromatiques et médicinales, comment les reconnaître et les utiliser ». Ed., ATLAS, 197 p.

Cusson, C., (2007). L'Aromathérapie & Les huiles essentielles. Livre En ligne.. [consulté en Mars 2018].

D

Danielle, C., (2011). Fiche Technique Bactériologie : Enterobacter cloacae . Laboratoire De Bactériologie Hygiène Toulouse. Pp1-2.

Delarras, C., (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire. Lavoisier, France, pp.66-67.

Dellile L., (2007). Medicinal plants of Algeria. BERTI. P 240.

Djrourou, M et Habouchi, S., (2018). Etude de l'activité insecticide des extraits Méthanoïques et huiles essentielles de Sinapis arvensis et Thymus vulgaris sur les larves de Aphis spiraecola (Patch). Mémoire de Master, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Algérie.

Dobler,D. ; Runkel, F. et Schmidts,T. (2020). « Effect of essential oils on oral halitosis» Essential Oils and Natural Products.

Dorosso, J., (2002). Composition chimique des huiles essentielles extraites de plantes Aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : valorisation. Université Ouagadougou.

Dréno, B., (2009). Anatomie et physiologie de la peau et de ses annexes. Annales de

Dulger, B., et Gonuz, A., (2004). Antimicrobial activity of some Turkish medicinal plants. Pakistan journal of biological sciences. 7 (9): p1559-1562.

Dupont, F., Guignard, J., (2012). Botanique : les familles des plantes. 15e éd. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson ; 2012. p. 16.

E

Eberhard, T., (2005). Plantes aromatique, épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Robert auton Lobstein Paris P:444-447.

Eggimann, P., Pittet, D., (2014). Hygiène Des Mains Et Utilisation Des Solutions Hydroalcooliques En Réanimation. ResearchGate.

Elalami, A., (2021). Bienfaits et dangers des plantes médicinales : Substances bioactives, effets thérapeutiques et toxicité des plantes, 50p.

- Elhaib, A., (2011).** Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformation catalytique [thèse] Toulouse : Université de Toulouse.
- en pharmacie Diplôme d'état faculté -de pharmacie de Grenoble : Université de Joseph Fourier, p 65.
- Eraky MA, El-Fakahany AF, El-Sayed NM, Abou-Ouf EA, Yaseen DI., (2016).** Effects of *Thymus vulgaris* ethanolic extract on chronic toxoplasmosis in a mouse model. *Parasitol Res.*2863-71.
- Essawi, Tet Srour, M., (2000).** *Journal Of Ethnopharmacology*, 70 : 343-349.

F

- Farhat, A., (2010).** Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Sciences des Procédés, Sciences des Aliments), Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France) & Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès (Tunisie).
- Farrell, G et Sulten, G.G.M., (2002).** Larger grain borer in Africa ; a history of efforts to Limit its impact. *Integr.Pest Manage. Rev*, 7,67-84.
- Ferhat, M. A., Boukhatem, M. N., Hazzit, M., & Chemat, F. (2016).** Rapid extraction of volatile compounds from Citrus fruits using a microwave dry distillation. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 8(3), 753-781.
- Frohne, D., Pfander, H., Anton, R., (2009).** *Plantes à risques*. Ed., Lavoisier, Paris, 244 p.
- Fronchomme, P., Pénéol, D. (1990).** *Matière médicinale aromatique fondamentale, l'aromathérapie exactement* Royer jullois editeurs. Vol 4 - P317-446.

G

- Garnier, H., (2010).** *Les produits hydroalcooliques :de l'hôpital au grand public, synthèse*
- Ghomari FN., Kouache B., Arous A., Cherchali S., (2014).** Effet de traitement par Fumigation du thym (*Thymus vulgaris*) sur le *Varroa destructor* agent de la varroase des Abeilles. *Nat et Technol, Scie Agron et Biol*, 10 : 34-38.
- Ghorbani, A., et Esmailizadeh, M., (2017).** Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of traditional and complementary medicine*, 7(4), 433-440.
- Girard, G.(2010).** *Les propriétés des huiles essentielles dans les soins bucco-dentaires d'hier à aujourd'hui* .thèse. Nancy : Université Henri Poincaré.

- Goetz, P., Le Jeune, R., (2010).** Syzygium aromaticum (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) Giroflier . Phytothérapie 8:37-43
- Goetz, P., Ghédira, K.,(2012).** Phytothérapie anti-infectieuse. Springer Science & Business
- Gould, D., (1994).** The significance of hand–drying in the prevention of infection. Nurs Times 1994;90:33-5. 13 .
- Graham R., (2007).** Encyclopedia of Perennial Plants. Gallimard. P495.
- Granry, G., Dubé, L., Monrigal, J., (2001).** Bronchiolites aiguës. Société Française d'Anesthésie et de Réanimation. Unité d'anesthésie et de réanimation polyvalente de l'Enfant, département d'anesthésie-réanimation, CHU, 49033 Angers cedex 01, France SFAR p: 2-4.
- Gerunwald, J, Janicke C., (2006).** Guide de la PHYTOTHERAPIE. 2èmedition. Edition MARABOUT. Italie.
- Guignard, J.L., Dupont F., (2004).** « Botanique systématique moléculaire ». 13^{ème} Ed., Masson, Paris, 234-235.

H

- Hans, W.K. (2007).**1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition.
- Harbarth, S., Sudre, P., Dharan, S, Cadenas. M., Pittet, D., (1999).** Outbreak of Enterobacter cloacae related to understaffing, overcrowding, and poor hygiene practices. Infect Control Hosp Epidemiol 1999;20:598-603.
- Haxhe, J.J., Zumofen, H., (2000)** Hygiène des mains [en ligne]. Faculté de médecine, Université catholique de Louvain, UCI Bruxelles.
- Haxhe,J., ZUMOFEN, M., (2002).** Notions d'hygiène hospitalière les antiseptiques et désinfectants.
- Hilan, C., Sfeir, R., (2006).** Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des lamiaceae.Lebanese science Journal; Vol.7; n°2.
- Houben, E., DePaepe, K., Rogiers, V., (2006).** Skin condition associated with intensive use
- Hurabielle, M., (1980).** Abrégé de Matière Médicale (Pharmacognosie), Tome 1 PParis.

I

- Iserin, P., (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. 2Eme Ed. Larousse. Londres Pp : 143 et 225-226.
- Iserin,P, M., Masson et Restillini, J., (2001).** Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins, Paris : Larousse.

J

- Jaquet, F., (2022).** Fiche 1. Infections associées aux soins, in: Réussir tout le DEAP en 75 fiches de révision et 80 entraînements - Pour les auxiliaires de puériculture, AS/AP. Vuibert, pp. 262–265.
- Joachim, L et Christiane, N., (2008).** Adapté d’Aloe vera : guérir, soigner et lutter contre le Vieillessement Traitement Naturel, p 5-6.
- Johnson, T., (1998).** CRC Ethnobotany Desk Reference. CRC Press, p 122.

K

- Kaddem, S., (1990).** Medicinal plants of Algeria. The world of pharmacists. P159.
- Kaloustian, J., Hadji-Minaglo, F.. (2012).** La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et Aromathérapie. Paris. Edition Springer.
- Kampf, G., Kramer, A., (2004).** Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs. Clin Microbiol Rev. Oct; 17(4): 863-93.
- Kemassi A., Darem S., Cherif R., Boual Z., Sadine SE., Aggoune MS et al., (2014).** Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la Pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M’Zab (Sahara septentrional Est Algérien). Journal of Advanced Research in Science and Technology: 2352-9989.
- Kemmerich, B., Eberhardt, R., Stammer, H., (2006).** Efficacy and tolerability of a fluid extract combination of thyme herb and ivy leaves and matched placebo in adults suffering from acute bronchitis with productive cough. A prospective, double-blind, placebo-controlled clinical trial. Arzneimittelforschung. 56(9) :652-60.
- Khedher, M., Khedher, S. B., Chaieb, I., Tounsi, S., & Hammami, M. (2017).** Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. EXCLI journal, 16, 160.
- Khiredine, H., (2013).** Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelque plantes médicinales d’Algérie, Mémoire de Magister, option : Technologie Alimentaire, université Bougara-Boumerdes.
- Kownatzki, E., (2003).** Hand hygiene and skin health. J Hosp Inf. 55: 239-45.

Kramer, A., Rudolph, P., Kampf, G. et Pitter, D., (2002). Limited efficacy of alcohol-based hand gels. *Lancet*, 359, 1489-90.

Kunkele, U., Lobmeyer, T.R., (2007). Plantes médicinales, Identification, Récolte, Propriétés et emplois. Edition parragon Books L tol : 33-318.

L

Lagunez Rivera, L. (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique.

Lagunez, C., (2013). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes Matières végétales en réacteur chauffent par induction thermomagnétique directe. Thèse De doctorat N 2360. Institut National polytechnique de Toulouse .64p.

Lakhdar, L., (2015). Evaluation de l'activité antibacterienne d'huiles essentielles Marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* : étude in vitro. Faculté de médecine dentaire de Rabat, centre d'études doctorales des sciences de la vie et de la santé.

Larson, E., (1995). APIC guideline for handwashing and hand antisepsis in health care settings. *Am J Infect Control*, 1995; 23 (4): 251-69.

Laurent, B.,(2007). Le grand livre des plantes aromatiques. Nustica éditions.

Lawless, J., Allan, J., (2000). The Clinical Composition of Aloe vera, In: *Aloe vera natural*

Le Gallou, F et Lepelletier, D., (2007). Contrôles particuliers et microbiologiques de l'air et contrôle microbiologiques des surfaces dans les établissements de santé. Elsevier Masson SAS. Doi : 10.1016/S2211-9698(17)74812-1.

Legrand G., (1978). Manuel préparatoire en pharmacie. 8ème éd. Masson.

Lemberg, S., (1982). « Armoise » *Artémisia herba alba*. *Perfumer flavorist*, 7, p 58 - 63, 1982.

Lorenzetti, Salisbury, Beal, Baldwin, (1964). Bacteriostatic Property of Aloe vera. *J. Pharmacol., Sci.*, 3, 1287. p104.

M

Mahmoudi, Y., (2003). El bachaeir the most used plants in Algeria. P:67.

Mainebeau, P., (1994). La nouvelle Aromathérapie, 2^{ème} édition Jakin, Paris, 28-9.

- Mamadou, b., (2011).**Thèse doctorat Etude ethnobotanique, Phytochimique et d'activité biologique de nauclea latifolia Smith une plante médicinale Africaine récolte au mali .kunThèse université de Mali .
- Margaux, R., (2015).** Le Gel d'Aloe Vera En Usage Topique Et Ses Vertus Cicatrisantes. Thèse De Doctorat : Pharmacie. Université De Picardie Jules Verne UFR De Pharmacie, Amiens, France, 85p.
- Martini, M., (2006).** Introduction À La Dermopharmacie et À La Cosmétologie.Ed. Lavoisier (2ème édition).
- Maslo, C., (2002).** la désinfection des mains par friction hyro-alcoolique.Campagne SHA AP-HP.pp 1-15.
- Mayer,B.G., (1999).** « Extraction au CO2 : Nouvelles applications pour l'industrie Alimentaire », Bios (Paris), vol 21, N° 3 ;, pp 47-51
- Messaili, B., (1995).** Botanique, systématique des spermatophytes. OPU (Ed). Alger, 91p.
- Meyer, S., Reeb, C., Bosdeveix, R., (2004).** Botanique Biologie et Physiologie Végétales. Editions Maloine, Paris.
- Meziani, M., (2012).**Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques: Cas des Entérobactéries et Pseudomonas. Mémoire de Magister. Université Mentouri.Constantine.68p.
- Michayewicz, N., (2013)** . L'Aloevera, plante médicinale traditionnellement et largement utilisée depuis des millénaires, aux nombreuses propriétés thérapeutiques. Plante miracle.Thèse Doctorat, Université de Lorraine, France, 149p.
- Mokni, M., Abdelhak, S., (2014).** Flore cutanée,microbiote et microbiome.dermatologie
- Morales , R., (2002).** The history, botany and taxonomy of the genus Thymus. In : Thyme : the genus Thymus. Ed. Taylor & Francis. London. 1-43p.
- Morel, JM., (2012).** Le guide de gemmothérapie : se soigner par les bourgeons. First Éd., Paris, 56 p.
- MoroBuronzo, A., (2008).** Grand guide des huiles essentielles: Santé beauté bien-être, édition Hachette, 244 p.

N

- Nazzaro, F., Fratianni, F., Martino, L., Coppola, R., Feo, V.,(2013).** Effect of essential oils on pathogenic bacteria. Pharma 6, 1451–1474.

- Nedjai, I. Nedjai, S., (2017).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles. Mémoire de Master, Université A. MIRA – Bejaia, Algérie.
- Nixon, M., McCaw, M., (2001).** The Compleat distiller. New Zealand: The Amphora Society.
- Nolkemper, S., Reichling, J., Stintzing, FC., Carle, R., Schnitzler,P., (2006).** Antiviral effect of aqueous extracts from species of the Lamiaceae family against Herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro. *Planta Med.* 1378-82.

O

- OMS., (2010).** Résumé des recommandations de l’OMS pour l’hygiène des mains au cours des soins [Internet, consulté le 10/03/2020].
- Organisation Mondiale de la santé (OMS)., (2005).** Recommandations OMS pour l’hygiène des mains au cours des soins (version avancée) : Synthèse.
- Oudjerit, K., Aissaoui, M., Tebjoune, H., (2021).** Phytothérapie et covid19. Mémoire. Université des frères mentouri constantine 1.
- Oulebsir, M., Khemili-Talbi, S., Benzina, F., Halouane, F. (2015).** Isolation and Identification of Entomopathogenic Bacteria from Algerian Desert Soil and their Effects Against the Migratory Locust, *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) (Orthoptera : Acrididae).*Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 25(3), 739-746.

P

- Pandey, R., Mishra, A., (2010).** Antibacterial activities of crude extract of aloe barbadensis to clinically isolated bacterial pathogens. *Appl.Biochem.Biotechnol.* 160,1356–1361.
- Paris, M et Murabielle, H., (1981).** Abrégé de Matière médicale. Pharmacog, nosie. Tome I Masson, Paris, 182-194.
- Paris, R., Moyse, H., (1971).** « Matière médicale ». Tome 3. Ed., Masson, Paris, 509 p.
- Paulson,S., Fendler,E., Dolan, M., Williams, R., (1999).** A close look at alcohol gel as an antimicrobial sanitizing agent. *Am J Infect Control* 1999;27:332-8.
- Perrier, H., (1953).** Flore de Madagascar et des Comores, 152ème famille, Myrtacées. Paris : Firmin-Didot et Cie. p. 1-2.
- Perrot, E et Paris, R., (1971).** Les plantes medicinales. Tome 1, Ed. Presses universitaires de France, p.9.

- Pharmacopée Européenne., (2007).** Direction de la Qualité du Médicament & Soins de Santé du Conseil de l'Europe (DEQM), Strasbourg, France.)
- Piochon, M., (2008).** Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique. Activités pharmacologiques et hémisynthèse ; aout 2008.
- Pistrick, K., (2002).** Notes on neglected and underutilized crops Current taxonomical overview of cultivated plants in the family's Umbelliferae and Labiatae, Genetic Resources and Crop EVolution, 49: 211-225.
- Pittet, D., Dharan, S., Touveneau, S., Sauvan, V., Perneger, TV., (1999).** Bacterial contamination of the hands of hospital staff during routine patient care. Arch Intern Med .159:821-6.
- Ponce, A.G ., Fritz, R., Del Valle, C., Roura, S.I . (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss Chard 36, 679–684.

Q

- Quezel, P. et Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. C.N.R.S. Paris. p603, 781-793.

R

- Rafi, A., Tasneem, S., et Ashfaq, A., (1995).**The essential oils. Hamdard Medicus (Hamdard Medicus ed.).
- Razzaghi, M et Rai, M., (2013).** Antifungal metabolites from plants. Springer Science & Business Media, p 469.
- Reynolds, T., Dweck, A.C., (1999).** Aloe vera leaf gel: a review update. J. Ethnopharmacol. 68, pp 3-37.
- Rhayour, K., (2016).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur Esherichia coli, Bacillus subtiliset sur Mycobactirium phleiet, Mycobacterium fortuitum thèse présentée en vue de l'obtention du Doctorat National.
- Rice-evans, C.A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., &Pridham, J. B. (1995).** The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids.Free radical research, 22(4), 375-383.

- Richard, H., et Peyron, F.,(1992).** Epices et aromates, Ed .Tec & Doc-Lavoisier, Paris,p. 339.
- Richard, P., et Saviuc, P., (2010).**Produits hydro-alcooliques destinés à l’usage cutané : étude rétrospective des cas d’intoxications recensés dans les centres antipoison et de toxicovigilance (CAPTV) en 2009.
- Ristic, D., Brikic N.T &Zalfija. (1999).**salvia officinalis I ,Bric D (ed) institute for medicinal plants Josif Panacic. Belgrade and Art Grafik Belgrad 1999 , p 151-167.
- Rombi, M., Robert D., (2007).** « 120 plantes médicinales ». Ed., Alpelem 09, avenue Albert II Mc- 98000 MONACO, 225-227.
- Rota, M., Herrera, A., Martinez, R., Soto Mayor, J et Jordán, M, (2008).**Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. Food control, 19: 681-687.

S

- Sanago, R., (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université de BamakoD.
- Shakeri A., Khakdan F., Soheili V., Sahebkar A., Rassam G., Asili J., (2014).** Chemical composition, antibacterial activity, and cytotoxicity of essential oil from *Nepetaucrainica* L.spp. *kopetdaghensis*. Ind. Crop. Prod.58, 315-321.
- Shivangi, J., (2013).** Extraction of essential oil from eucalyptus leaves using solar distillation method. Thesis in agricultural engineering. University of Jabalpur.
- Smyth, R.I., Brearey, S.P., (2006).** Bronchiolitis.Elsevier Ltd.pp 268-275.
- Sophie, B., (2015).**Le giroflier :Historique , description et Utilisation de La plante et de son huile essentielle. Diplôme d’Etat de docteur : Pharmacie .Université de Lorraine, 114 pages.
- Soriano, L., (2016).** Aloe vera. Thèse De Doctorat : Des De Cosmetologie, Université du Québec à Chicoutimi, 30p.

T

- Tetau, M., (1987).** Nouvelles cliniques de gemmothérapie – pratique clinique homéopathique. Similia Éd., Paris. 156 p.
- Tetau, M., (1996).**Définition et galénique. Cahiers de Biothérapie. 138 : 7-10.

- Travkine, M., (2012).** L'intérêt des produits hydro-alcooliques en milieu hospitalier, collectivité et milieu individuel et familial. Thèse pour l'obtention de Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université de Lorraine.
- Tredez, N., (2006).** Asepsie chirurgicale en pratique vétérinaire (asepsie du matériel et du chirurgien). Th med vet Toulouse.
- Tripathi, N., Sapra, A., (2022).** Gram Staining, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Truan, (2016).** principe actif de plante.

V

- Vimalanathan, S., (2014).** Anti-influenza virus activity of essential oils and vapors. American Journal of essential oil and natural product.
- Vaugente., (2013).** Maladies hivernales : 80% des microbes transmis par les mains [WWW Document]. www.pourquoidocteur.fr. (accessed 5.24.23).

W

- Walker, J. B., Kenneth, J., Treutlein, J et Wink, M., (2004).** Salvia (lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of Salvia and tribe Menthae. American Journal of Botany, 91 (7), 111.
- WHO., (2010).** Résumé des Recommandations de l'OMS pour l'Hygiène des Mains au cours des Soins- Premier Défi Mondial pour la Sécurité des Patients: Un Soin propre est un Soin plus sûr . Genève- Organisation mondiale de la Santé.
- Wichtl, M., Anton, R., (2009).** Plantes thérapeutiques tradition, pratique Officinale, Science et thérapeutique. Edition LAVOISIR, Paris : 38, 41.
- Wilson, M., (2010).** Huiles essentielles pour la cuisine et le bien-être. Montréal]: Fides.wonder cure. Thorsons, Publishing Ltd., London, United Kingdom. pp 161-171.
- World Health Organization., (2009).** WHO guidelines on hand hygiene in health care. WHO Guideline series. Geneva: World Health Organization.

Y

Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*.

Z

Zaid, B et Tifourghi, H., (2020). Contribution d'étude de l'activité antifongique des huiles Essentielles de thym (*Thymus vulgaris*) contre *Aspergillus niger*. Mémoire de Master, Université Mohamed khider, Biskra, Algérie.

Zeghad, N., (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt Economique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Diplôme de Magister, Université des Frères Mentouri, Constantine. Algérie.

Sites Web :

1: <https://ellasciences.jimdofree.com/méthodo/chimie/hydrodistillation/>

2: Homéopathie-Définition, avantage et controverse. [En ligne].2018 ; consulté le 28 février 2018.disponible sur : www.santé-medecine.journaldesfemmes.fr

3: Gélose Mac Conkey: <https://microbiologiemedicale.fr/gelose-mac-conkey/>

Annexe

Annexe1 : Composition des solutions et milieux de culture utilisés.

1. Eau physiologique stérile

Composition en g/l :

Chlorure de sodium

(NaCl).....9g

Eau distillée.....1000ml

pH=7

Stérilisation à 121°C/15min.

2. Gélose Mueller Hinton (MH)

Composition en g/l

Extrait de viande3g

Hydrolysate acide de caséine.....17,5g

Agar.....18g

pH=7,4

Stérilisation à 120°C/15 min

3. Gélose nutritive (GN)

Composition en g/l

Peptone10g

Extrait de viande.....3g

Extrait de levure3g

Chlorure de sodium5g

Agar.....18g

pH=7,2±0,2

Stérilisation à 120°C/15 min

4. Gélose Chapman

Composition en g/l

Extrait de viande.....	1g
Extrait de levure	3g
Tryptone	5g
Peptone bactériologique	10g
Mannitol	10g
Rouge de phénol.....	0,025g
Agar.....	15g

pH=7.4

Stérilisation à 120°C/15 min

5. Bouillon nutritif

Peptone.....	5 g
Extrait de viande.....	1 g
Extrait de levure.....	2 g
Chlorure de Sodium.....	5 g
Eau distillée.....	1000ml

Annexe02 : Tableau de lecture des résultats de la galerie api 20 E

Tests et réactifs	Réactions/enzymes	Résultats négatifs	Résultats positifs
ONPG	β -galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine-dihydrolase	Jaune	Rouge/orange
LDC	Lysine-décarboxylase	Jaune	Rouge/orange
ODC	Ornithinedécarboxylase	Jaune	Rouge/orange
CIT	Citrate utilisation	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/bleu
H2S	H2S production	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Uréase	Jaune	Rouge/orange
TDA TDA/immédiat	Tryptophanedésaminase	Jaune	Marron-rougeâtre
IND Kovacs/immédiat	Indole production	Incolore Vert-pâle/jaune	Rose
VP VP 1+ VP 2 / 10 min	Acetoin production	Incolore	Rose/rouge
GEL	Gélatinase	Aucune diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose fermentation/oxydation	Bleu / bleu-vert	Jaune/ jaune gris
MAN	Mannitol fermentation/oxydation	Bleu / bleu-vert	Jaune
INO	Inositol fermentation/oxydation		
SOR	Sorbitol fermentation/oxydation		
RHA	Rhamnose fermentation/oxydation		
SAC	Saccharose fermentation/oxydation		
MEL	Melibiose fermentation/oxydation		
AMY	Amygdalin fermentation/oxydation		
ARA	Arabinose fermentation/oxydation		

