

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945-Guelma-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Microbiologie Appliquée

Département : EGE

Thème

**Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne de l'huile
essentielle d'*Origanum vulgare* vis-à-vis des souches hospitalières
d'*Escherichia coli*.**

Présenté par :

- Baout Douaâ
- Haouam Sana

Devant le jury composé de :

Présidente : Mme Benhalima Lamia	M.C.A	Université de Guelma.
Examinatrice : Mme Amri Sandra	M.C.B	Université de Guelma.
Encadrante : Mme Abid Farah	M.A.A	Université de Guelma.

2024/2025

REMERCIEMENT

Avant tout, nous rendons grâce à ALLAH, Le Tout-Puissant, pour nous avoir donné la force, la patience et la persévérance nécessaires à la réalisation de ce travail.

Nous remercions chaleureusement mon encadrante Mme Abid Farah pour sa patience, sa disponibilité, ses précieux conseils et son accompagnement tout au long de ce travail. Ses encouragements et son expertise ont été essentiels à l'aboutissement de ce projet.

Nos remerciements vont également aux membres du jury Mme Benhalima Lamia , et Mme Amri Sandra qui ont accepté d'évaluer ce travail. Leur lecture attentive et leurs futures remarques seront d'une grande valeur.

Nous souhaitons exprimer notre sincère reconnaissance au personnel des laboratoires de l'hôpital Ibn-zohr pour leur accueil, leur collaboration et leur aide précieuse lors de la collecte des données et des manipulations.

Un remerciement particulier aux ingénieurs de laboratoire de l'université pour leur soutien technique, leur aide dans l'utilisation des équipements et leurs explications claires, qui ont été d'une aide inestimable.

Nous tenons également à exprimer notre profonde gratitude à l'équipe de recherche de botanique à l'Université Badji Mokhtar – Annaba pour leur aide précieuse dans la réalisation de l'extraction des huiles, qui constitue la base de notre étude.

Dédicace

Avant tout, je rends grâce à Dieu, le Tout-Puissant, pour m'avoir accordé la patience, la force et la persévérance nécessaires à l'accomplissement de ce travail.

Je dédie ce mémoire à :

À ma chère mère (Sihem), merci pour ton amour sans limites, ta patience et ton soutien constant, tu es la première source de mon inspiration et la plus fidèle présence dans mon parcours. Ce mémoire bien que personnel, je te le dédie avec une gratitude infinie, un amour profond, et tout le respect qu'une mère mérite.

À mon cher père (Cherif), tu as toujours été pour moi un exemple de force, de sagesse et persévérance. Par ta présence constante, tes conseils éclairés et ton soutien inébranlable, tu as éclairé mon chemin même dans les moments les plus difficiles.

À mon cher frère (Salah Eddine), pour ses encouragements sincères et sa présence toujours apaisante. Merci d'avoir toujours été là pour moi, de m'avoir soutenu et encouragé à chaque étape.

À ma chère petite sœur (Amani Nour El Houda), tu as toujours été une source de bonheur et de douceur dans ma vie, je remercie pour tout l'amour la joie et son soutien tu m'apportes chaque jour.

À ma binôme (Douaa), merci pour ta collaboration, ton sérieux, ton engagement et ta capacité à avancer ensemble malgré les obstacles. Je suis fière d'avoir accompli ce travail à tes côtés.

À mes collègues de promotion de Microbiologie Appliquée 2024/2025.

À tous mes amis et surtout à (Wissem, Dikra, Sarra, Ilhem et chaïma), pour leur présence fidèle et leurs soutien moral tout au long de ce parcours.

À vous tous, je dédie ce travail avec toute ma gratitude et mon respect.

Sana

Dédicace

*Je dédie ce mémoire avec tout mon amour et ma gratitude à :
Grâce à Dieu, qui m'a guidé, donné la force et la patience tout au long
de ce parcours.*

*À mon père, Pour sa sagesse, sa force tranquille, sa présence
rassurante et ses encouragements constants. Merci pour les sacrifices
silencieux et l'amour inconditionnel.*

*À ma mère, Pour ses prières précieuses, son soutien indéfectible, ses
encouragements, et tous les sacrifices qu'elle a faits avec amour. Son
cœur est ma plus grande force.*

*À mon frère Fakher Eddine, À mes sœurs Rayane, Hadjer et Radja,
Pour leur présence, leur soutien fidèle, et la joie qu'ils apportent dans
ma vie. Vous êtes mon refuge et mon énergie.*

*À mon petit rayon de soleil, mon neveu Annes, Merci pour la joie et
les sourires spontanés que tu sèmes chaque jour dans mon cœur.*

*À mon binôme Sana, Merci pour son sérieux, sa patience, son soutien
et tous les moments de partage pendant ce travail. Travailler avec elle
a rendu cette aventure plus agréable et motivante.*

*À Asma, ma meilleure amie, Merci d'avoir été là quand j'avais besoin
d'elle, pour son amour, son réconfort et son indéfectible soutien.*

*À Anfel, mon amie précieuse, Pour sa douceur, sa gentillesse et son
amitié sincère.*

*À mes amies Sarra et ilhem et chaïma, Pour leurs accompagnements
précieux, les sourires partagés et les souvenirs créés ensemble.*

*Et à toutes les personnes qui m'ont soutenue, encouragée et entourée,
Merci du fond du cœur.*

Enfin à moi-même.

Douaâ

Sommaire

Remerciement.

Dédicace.

Liste des abréviations.

Listes des figures.

Liste des tableaux.

Résumé.

Introduction1

Aperçu Bibliographique1

Chapitre 1 : Les plantes médicinales et aromathérapie

1 Les plantes médicinales3

1.1 Définition des plantes médicinales.....3

1.2 La phytothérapie3

1.3 Les composants des plantes médicinales3

1.4 Domaines d'application6

2. Les huiles essentielles6

2.1 Définition de l'aromathérapie6

2.2 Définition des huiles essentielles7

2.3 Compositions Chimiques des huiles essentielles7

2.4 Propriétés physiques des huiles essentielles9

2.5 Procédés d'extraction des huiles essentielles.....10

2.6 Rôle des huiles essentielles.....13

Chapitre 2 : Description de la plante « *origanum vulgare* »

1. Généralités14

2. *Origanum vulgare*14

3. Classification taxonomique15

4. Répartition géographique15

5. Description botanique16

6. Composition chimique de la plante.....17

7. Utilisation traditionnelle de la plante.....17

7.1. Usage culinaire.....17

7.2. Usages thérapeutiques	17
8. Toxicité	18

Chapitre 3 : L'activité antibactérienne

1. Les antibiotiques	19
1.1. Définition	19
2.1. Classification.....	19
2.1 .1. Selon le mécanisme d'action.....	19
2.1.2. Selon la structure chimique.....	20
2.1.3. Selon le spectre d'activité	21
1.3. Mode d'action	22
2. Résistance bactérienne aux antibiotiques	23
2.1. Définition	23
2.2. Mécanisme de résistance	23
Etude expérimentale	25
I. Matériel et Méthode	26
1. Matériel végétal.....	26
1.1. Critères de choix de la plante	26
1.2. Cueillette, situation géographique et identification botanique	26
2. La souche bactérienne testée.....	27
2.1. Observation microscopique.....	27
2.2. Identification biochimique	27
3. L'extraction de l'huile essentielle	28
3.2. Conservation de l'huile.....	29
3.3. Calcul de rendement.....	29
4. Activité antioxydante	29
• Test de DPPH.....	29
5. Etude de l'activité antibactérienne	30
5.1 Etude de la sensibilité des souches étudiées vis-à-vis des antibiotiques usuels par Antibiogramme	30
5.2. Etude de la sensibilité des souches étudiées vis-à vis l'huile essentielle par aromatogramme	31
5.3. Détermination de la CMI	32
5.4. Détermination de la CMB	33
5.5. Test de Synergie à l'ampicilline, Céfoxitine et gentamicine	33
II. Résultats et discussion.....	34

1. Identification des souches bactériennes.....	34
1.1 Aspect des colonies sur Muller-Hinton	34
1.2 Observation microscopique	34
1.3 Identification biochimique	34
2. AntibioGramme des souches isolées	36
3. Préparation de l'huile essentielle à tester	38
3.1 Extraction de l'huile essentielle	38
3.2 Rendement de l'huile essentielle.....	38
4. Activité antioxydante d'HE d'<i>Origanum vulgare</i>	38
4.1 Test de DPPH	38
5. Evaluation de l'activité antibactérienne d'HE d'<i>Origanum vulgare</i>.....	39
5.1 Méthode de diffusion sur disques.....	39
5.2 Détermination des CMI.....	42
5.3 Détermination des CMB.....	42
5.4 Détermination de rapport CMB/CMI.....	43
5.5 Test de synergie	44
Conclusion.....	47
Références bibliographiques.....	48

LISTE DES ABREVIATIONS

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

HE : Huile Essentielle.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

API 20E : Analytical Profile Index 20 Entérobactéries.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

ml : millilitre.

ABS : Absorbance.

E.coli : *Escherichia coli*.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

MH : Mueller-Hinton.

CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

mm : millimètre.

O.vulgare : *Origanum vulgare*.

µg : microgramme.

Mg : milligramme.

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Structure de l'isoprène.....	8
Figure 2: Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des HE	8
Figure 3: Structures de quelques monoterpènes hydrocarbonés	8
Figure 4: Structures de quelques composés aromatiques	9
Figure 5: Montage d'extraction par Hydrodistillation	10
Figure 6: Montage d'hydrodiffusion.....	11
Figure 7: Montage d'extraction par le CO ₂ supercritique	12
Figure 8: Schéma du montage de l'extraction par la pression à froid.	13
Figure 9: Distribution du <i>Origanum vulgare</i> dans le monde	15
Figure 10: Les feuilles de l' <i>Origanum vulgare</i>	16
Figure 11: Les fleurs de l' <i>Origanum vulgare</i>	16
Figure 12: Les modes d'action des antibiotiques.....	23
Figure 13: Différents mécanisme de résistance aux antibiotiques.....	24
Figure 14: Situation géographique de la région de Seraïdi	26
Figure 15: Appareil d'hydro-distillation type Clevenger.	29
Figure 16: Technique d'ensemencement en surface à l'aide d'un écouvillon.	30
Figure 17: Illustration de la méthode d'aromatogramme	32
Figure 18: Présentation de la synergie (Antibiotique/HE).	33
Figure 19: Aspect des colonies d' <i>E.coli</i> sur le milieu MH	34
Figure 20: Profil d'identification d' <i>E.coli</i> par le système API 20E.....	36
Figure 21: Exemples de résultats d'antibiogramme des souches d' <i>E.coli</i>	37
Figure 22: Zones d'inhibition observées lors de l'aromatogramme d' <i>E.coli</i> /HE d' <i>O.vulgare</i>	41
Figure 23: L'effet synergique obtenu par de la combinaison AMP/HE, GEN/HE, et FOX/HE vis-à-vis d' <i>E.coli</i>	45

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Différents composés d'origines diverses.....	9
Tableau 2: Liste des disques d'antibiotiques testés contre <i>E. coli</i>	31
Tableau 3: Résultats obtenus après la coloration de Gram, test de catalase et test d'oxydase.	35
Tableau 4: Résultats biochimiques typiques d' <i>E.coli</i> obtenus avec la galerie API 20E.	35
Tableau 5: Profil de résistance des souches d' <i>E.coli</i> aux antibiotiques.	36
Tableau 6: Couleur, aspect et rendement d'HE d' <i>Origanum vulgare</i>	38
Tableau 7: Diamètres des zones d'inhibitions (mm) d'HE d' <i>Origanum vulgare</i> vis-à-vis de 13 souches d' <i>E.coli</i> par la méthode des disques.	39
Tableau 8: Les CMI d'HE d' <i>Origanum vulgare</i> vis-à-vis des souches testées d' <i>E.coli</i>	42
Tableau 9: Les CMB d'HE d' <i>Origanum vulgare</i> vis-à-vis des souches testées d' <i>E.coli</i>	43
Tableau 10: Le rapport CMB/CMI d'HE d' <i>Origanum vulgare</i> vis-à-vis des souches testées d' <i>E.coli</i>	43
Tableau 11: Diamètres des zones d'inhibitions (mm) de la combinaison d'HE d' <i>Origanum vulgare</i> avec l'ampicilline, la gentamicine, et la céfoxitine.	44

Résumé :

La présente étude porte sur l'extraction et l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite à partir d'*Origanum vulgare*, une plante médicinale récoltée dans les montagnes de Seraïdi (Annaba). L'extraction a été réalisée par hydrodistillation à partir de 200g de feuilles sèches, en utilisant un appareil de type Clevenger, ce qui a permis d'obtenir un rendement satisfaisant. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle a été évaluée in vitro par la méthode de diffusion sur gélose, et testée sur 13 souches hospitalières d'*Escherichia coli* d'origine urinaire. Les résultats ont mis en évidence une forte activité inhibitrice, avec des zones d'inhibition variant de 13 à 42 mm en fonction de la concentration utilisée. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) étaient comprises entre 12,5 et 25 µg/ml, tandis que les concentrations minimales bactéricides (CMB) variaient entre 25 et 50 µg/ml. Nous avons, donc constaté que, l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* a démontré une activité bactéricide notable vis-à-vis *Escherichia coli*.

Mots-clés : *Origanum vulgare*, Huiles essentielles, activité antibactérienne, *Escherichia coli*.

ملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى استخلاص وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية المستخلصة من نبات *Origanum vulgare*، وهو نبات طبي تم جمعه من جبال سرايدي (عنابة). تم الاستخلاص بواسطة التقطير المائي من 200 غرام من الأوراق، باستخدام جهاز من نوع Clevenger، مما أدى إلى الحصول على عائد مرضٍ.

تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية في المختبر (in vitro) باستخدام طريقة الانتشار في الآجار، وقد تم اختبار فعاليته ضد 13 سلالة استشفائية من *Escherichia coli* ذات أصل بولي. أظهرت النتائج نشاطاً مثبطاً قوياً، حيث تراوحت مناطق التثبيط من 13 إلى 42 مم حسب التركيز المستخدم. تراوحت التركيزات المثبطة الدنيا (CMI) بين 12.5 و 25 ميكروغرام/مل، بينما تراوحت التركيزات البكتيرية الدنيا (CMB) بين 25 و 50 ميكروغرام/مل. في الختام، أظهر الزيت العطري لـ *Origanum vulgare* نشاطاً مبيداً للجراثيم ملحوظاً ضد *Escherichia coli*.

الكلمات المفتاحية: *Origanum vulgare*، زيوت أساسية، نشاط مضاد للبكتيريا، *Escherichia coli*

Abstract:

This study focuses on the extraction and evaluation of the antibacterial activity of essential oils obtained from *Origanum vulgare*, a medicinal plant collected from the mountains of Seraïdi (Annaba). The extraction was performed by hydrodistillation from 200g of leaves, using a Clevenger-type apparatus, which resulted in a satisfactory yield.

The antibacterial activity of the essential oils was evaluated in vitro using the agar diffusion method, and tested against 13 hospital-acquired strains of *Escherichia coli* of urinary origin. The results revealed strong inhibitory activity, with inhibition zones ranging from 13 to 42 mm depending on the concentration used. The minimum inhibitory concentrations (MICs) were between 12.5 and 25 µg/ml, while the minimum bactericidal concentrations (MBCs) ranged from 25 to 50 µg/ml. In conclusion, the essential oil of *Origanum vulgare* demonstrated notable bactericidal activity against *Escherichia coli*.

Keywords: *Origanum vulgare*, Essential oils, Antibacterial activity, *Escherichia coli*.

Introduction

Les plantes médicinales occupent une place essentielle dans les systèmes de soins traditionnels et modernes, en raison de leurs nombreuses propriétés thérapeutiques issues de composés bioactifs naturels. Utilisées depuis l'Antiquité, elles continuent aujourd'hui de faire l'objet de recherches scientifiques pour valider leur efficacité et comprendre leurs mécanismes d'action. Plus de 80 % de la population dans certains pays en développement dépend des remèdes à base de plantes pour les soins de santé primaires, témoignant de leur importance à la fois culturelle et médicale (**Mahomoodally, 2013**).

L'aromathérapie est une approche thérapeutique qui utilise les huiles essentielles, des extraits aromatiques concentrés de plantes, pour favoriser le bien-être physique et mental. Obtenues principalement par distillation, ces huiles sont des mélanges complexes de molécules volatiles, chacune ayant des propriétés uniques (antibactériennes, anti-inflammatoires, relaxantes, etc.). Elles peuvent être utilisées par diffusion, application cutanée diluée ou, dans certains cas, par voie orale sous supervision. Bien que son usage remonte à l'Antiquité, l'aromathérapie moderne repose sur la science, avec de nombreuses études cherchant à valider les bienfaits de ces puissants concentrés naturels, tout en soulignant la nécessité d'une utilisation prudente et informée (**Baudoux, 2017 ; Faucon, 2017**).

La résistance aux antibiotiques représente aujourd'hui un problème de santé publique mondial. Elle résulte d'une utilisation excessive ou inappropriée des antibiotiques, conduisant à l'émergence de souches multirésistantes comme *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ou *Pseudomonas aeruginosa*, à cet égard les huiles essentielles apparaissent comme des agents prometteurs grâce à leur mode d'action complexe et multitarget, réduisant le risque de résistance (**Bouyahya et al., 2018**).

Dans ce contexte, notre attention se porte sur une plante emblématique : *Origanum vulgare*, communément appelée origan. Cette plante aromatique de la famille des Lamiacées est non seulement une herbe culinaire appréciée, mais aussi une plante médicinale de premier ordre, réputée pour ses puissantes propriétés thérapeutiques (**Arcan et al., 2021**). Son huile essentielle, particulièrement riche en carvacrol et en thymol, est au centre de nombreuses études scientifiques qui confirment ses activités antibactériennes, antifongiques, antivirales, antioxydantes et anti-inflammatoires (**Leyva-López et al., 2017**).

Notre travail est structuré en deux parties principales :

- Une partie bibliographique sur les plantes médicinales, la plante utilisée "*Origanum vulgare*", et la résistance aux antibiotiques
- Une partie expérimentale dans laquelle nous avons étudié l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* obtenue par hydrodistillation sur des souches bactériennes hospitalières d'*Escherichia coli*.

Aperçu Bibliographique

1 Les plantes médicinales

1.1 Définition des plantes médicinales

Les propriétés curatives des plantes sont reconnues à l'échelle mondiale depuis des milliers d'années. Les plantes médicinales ont été employées tant dans la Chine impériale que dans l'Égypte ancienne (**Bartel, 1997**).

Les plantes médicinales désignant des végétaux dont une ou plusieurs parties présentent des caractéristiques thérapeutiques (**EL Sayde, 1993**). Elles interviennent dans différents domaines, apparaissant sous la forme de principes actifs, d'huiles, de solution aqueuse ou organique, ou même dans leur état naturel (**Faraj Atiyat, 1995**).

Cette plante renferme, au sein de ses organes, un ou plusieurs principes actifs pouvant être employés à des fins thérapeutiques. En réalité, il s'agit d'une espèce végétale utilisée pour prévenir, traiter ou atténuer divers maux. Les plantes médicinales sont des substances végétales dotées de propriétés médicinales (**EL Sayde, 1993**).

1.2 La phytothérapie

La médecine, particulièrement répandue dans nos zones rurales, continue de s'appuyer sur l'utilisation des plantes médicinales. De plus leur consommation dans les pharmacies ainsi qu'à l'hôpital demeure significative. Chaque année, la vente de ces plantes médicinales, employées dans le cadre thérapeutique, se chiffre en milliers tonnes (**Bardeau, 2009**).

La phytothérapie dérivée des mots grecs « Phytos » signifie végétale et « Therapien » des qui signifie soigner, est la pratique de la guérison à l'aide des plantes (**Morel, 2008**). Malgré l'essor considérable de l'industrie pharmaceutique, environ 80% de la population mondiale continue de bénéficier de la médecine traditionnelle, témoignant ainsi de la valeur des connaissances empiriques transmises par les ancêtres (**EL-Rhaffari et Zaid, 2004**).

D'après l'OMS, la médecine traditionnelle englobe l'ensemble des savoirs et des pratiques employés pour identifier, prévenir ou traiter un déséquilibre, reposant uniquement sur des connaissances transmises de manière orale ou écrite de génération en génération (**Clément, 2005**).

Dans la phytothérapie traditionnelle, les plantes peuvent être employées sous forme fraîche ou séchée, puis intégrées dans différentes préparations afin de conserver leurs principes actifs. Elles sont administrées sous diverses formes telles que des macérats, des tisanes, des compresses ou des baumes (**Morel, 2008**).

1.3 Les composants des plantes médicinales

Les métabolites secondaires désignent des composés phytochimiques qui sont naturellement biosynthétisés par les plantes, sans toutefois jouer un rôle direct dans leur métabolisme (**Dominique et Zoubida, 2005**). Contrairement aux métabolites primaires tels que les protéines, les glucides et les lipides, les métabolites secondaires ne sont pas essentiels à la survie des plantes. Cependant, ils contribuent à leur interaction avec l'environnement, notamment en renforçant la résistance aux ravageurs et aux maladies, en attirant les

Chapitre 1 : Les plantes médicinales et aromathérapie

pollinisateurs ou en servant de molécules de signalisation. Les métabolites secondaires se distinguent par une grande diversité chimique, chaque espèce possédant son propre ensemble de ces composés (**Verpoorte et Alfermann, 2000**).

Il existe plusieurs familles de métabolites secondaires. Selon leur structure de base, chaque famille se divise en sous-familles (**Zakaria, 2023**).

1.3.1 Composés phénolique

Les différentes classes de composés phénoliques présentent une variabilité dans le nombre et la disposition des groupements hydroxyles sur leur structure fondamentale. En outre, il existe diverses méthodes pour remplacer ces structures (**Fournet et al., 1993**).

1.3.1.1 Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des éléments biochimiquement stables que certains micro-organismes du sol peuvent transformer et utiliser comme source de carbone. Les végétaux en décomposition produisent couramment des composés phénoliques simples, comme les acides méthoxy et hydroxy benzoïques ainsi que l'acide cinnamique. Un grand nombre de composés phénoliques libérés par les graines, les racines ou à la suite de la dégradation des tissus, peuvent jouer un rôle défensif contre les agents pathogènes du sol et les insectes (**Mandal et al., 2010**).

1.3.1.2 Les Coumarines

Les 2H-1-benzopyran-2-ones, également connues sous le nom de coumarines, sont des molécules fréquemment présentes dans l'ensemble du règne végétal. On suppose qu'elles appartiennent à la catégorie des lactones (**Bruneton, 1993, Huret et al., 2012**).

1.3.1.3 Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes, des composés polyphénoliques, se retrouvent en quantités notables dans une large gamme de végétaux que les individus consomment chaque jour. Ces substances phénoliques ont été extraites de plus de 8000 espèces de plantes vasculaires (**Zong et al., 2018**).

1.3.1.4 Les Tanins

Les tanins constituent les métabolites secondaires les plus répandus dans le règne végétal, représentant entre 5% et 10% du poids sec des feuilles d'un arbre. Leur appellation provient du terme « tan », qui désigne un produit extrait de l'écorce de chêne (**Thuau, 1921**).

1.3.2 Les Terpénoïdes

Tous les êtres vivants ont besoin des métabolites appelés terpénoïdes. De plus, la faculté de produire leur précurseur, l'isopentényl-pyrophosphate (hemiterpène), est universelle chez les archéobactéries, les eubactéries et les eucaryotes. Ils l'ont obtenu par le biais de l'endosymbiose (**Bouaziz, 2022**).

Chapitre 1 : Les plantes médicinales et aromathérapie

1.3.2.1 Monoterpènes

La plupart des terpénoïdes agissent comme des mécanismes de défense contre les herbivores. Les monoterpènes et les sesquiterpènes présentent une pression de vapeur saturante élevée à température ambiante, ce qui leur permet de se volatiliser aisément. Ainsi, ils ont la possibilité d'agir à distance depuis la plante émettrice **(Dudareva et al., 2007)**.

1.3.2.2 Sesquiterpénoïdes

Les sesquiterpénoïdes sont des composés dotés d'une structure à 15 atomes de carbone, générés par le métabolisme secondaire des végétaux et des micro-organismes (Thomas, 2023). Ils se trouvent principalement dans les parties aériennes des plantes. Ils se rencontrent aussi dans les huiles essentielles **(Zakkad, 2017)**.

1.3.2.3 Les Diterpènes

Les diterpènes sont des composés qui possèdent 20 atomes de carbone, soit quatre unités isoprène.

Ces composés présentent une vaste diversité structurale, comprenant plus de 2700 diterpènes présents dans la nature **(Zakkad, 2017)**.

1.3.2.4 Les Triterpènes

Les triterpènes sont des molécules de structure C₃₀ (composées de six unités isoprène) dérivées de la cyclisation du squalène ou de l'époxy-squalène **(Dey et Harborne, 1993, Loomis et Croteau, 1980)**.

1.3.2.5 Les Tétraterpènes

Les tétraterpènes sont formés par la succession de 8 unités isopréniques. Les caroténoïdes sont des tétra-terpènes, dont les apocaroténoïdes, les diapocaroténoïdes et les mégastigmanes sont les exemples les plus représentatifs **(Zakkad, 2017)**.

1.3.2.6 Les Polyterpènes

Les polyterpènes ou polyisoprènes sont constitués de plus de 8 unités d'isoprène. Ces terpènes fortement polymérisés (de 500 à 5000 unités d'isoprène) **(Zakkad, 2017)**.

1.3.3 Les Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont synthétisés à partir d'acides aminés ou par le biais de transaminations d'autres molécules, et ils contiennent généralement un noyau hétérocyclique qui inclut un atome d'azote **(Aniszewski, 2007)**.

1.3.4 Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont généralement constituées d'un mélange de terpènes, principalement de sesquiterpènes et de monoterpènes, de composés aromatiques et aliphatiques **(Brown, 2014)**.

1.4 Domaines d'application

Les composés naturels issus des plantes offrent de nombreux avantages dans les secteurs de l'industrie, de l'alimentation, des cosmétiques et de la pharmacie. Dans le domaine pharmaceutique, une part notable des médicaments demeure d'origine végétale. En outre, la recherche poursuit l'exploration des plantes pour identifier de nouvelles molécules actives et des matières premières destinées à la semi-synthèse (**Bahorun, 1997**).

a) En médecine

Ces végétaux sont employés dans le domaine médical comme remèdes pour l'être humain :

- Pour soigner les affections associées au stress, agissant comme antioxydants.
- Pour combattre le diabète.
- En tant que substances qui stimulent le système immunitaire.
- En tant que médicaments anti-inflammatoires et analgésiques.
- Pour prévenir les maladies du cœur et des vaisseaux sanguins.
- Pour traiter les infections de la peau en dermatologie (**Koffi, 2013**).

b) En agriculture

Dans le secteur de l'agriculture, les plantes sont employées dans la lutte contre divers vers nuisibles comme les nématodes. C'est notamment le cas d'*Azadirachta indica*, une des plantes médicinales les plus significatives au Bangladesh, qui s'épanouit sur l'ensemble du sous-continent indien (**Koffi, 2013**).

2. Les huiles essentielles

2.1 Définition de l'aromathérapie

Le mot provient de grec « aroma », signifiant odeur, et « therapia », qui se traduit par soin. Il désigne une approche thérapeutique qui fait appel aux essences, huiles essentielles et hydrolats aromatiques issus des plantes médicinales.

Depuis le XX^{ème} siècle, avec l'émergence de technique d'analyse moderne, cette discipline est devenue une science à part entière. Elle constitue une branche de la phytothérapie (**Faucon, 2018**).

La voie d'administration inclut les voies orales, buccale, respiratoire, olfactive, atmosphérique, cutanée, rectale, vaginale, optique et nasale, et les soins peuvent être préventifs ou curatifs. L'aromathérapie offre la possibilité de traiter une vaste gamme d'affection chez l'homme, les animaux, et les plantes, ou peut servir d'élément complémentaire aux soins (**Beaudoux, 2017**).

Chapitre 1 : Les plantes médicinales et aromathérapie

2.2 Définition des huiles essentielles

Extrait aromatique obtenu par distillation à la vapeur d'eau des parties d'une plante aromatique. Il s'agit d'une essence distillée (**Beaudoux, 2017**). Il n'existe pas de définition précise et universelle, cependant, la pharmacopée européenne dans sa sixième édition décrit une huile essentielle comme suit : « Produit aromatique, généralement de composition complexe, extrait d'une matière première végétale définie sur le plan botanique, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation à sec, soit par un procédé mécanique approprié sans application de chaleur. L'huile essentielle est le plus souvent isolée de la phase aqueuse par un procédé physique qui ne modifie pas de manière significative sa composition ». A l'heure actuelle, seule l'huile extraite par distillation à la vapeur d'eau sont employées en aromathérapie.

L'huile essentielle est une substance aromatique d'origine naturelle, caractérisée par sa volatilité, ce qui lui confère souvent une forte odeur, et se présente sous forme liquide ou semi-liquide. Il s'agit d'un extrait pur, naturel et complet des parties odorantes des plantes ou des arbres aromatiques qui ont été distillés (**Caubet, 2020**).

Les huiles essentielles, souvent désignées sous le terme d'essences, sont des substances huileuses qui peuvent varier en fluidité, allant jusqu'à des textures résinoïdes. Elles se caractérisent par leur forte odeur, leur volatilité, leur éventuelle coloration et leur densité, qui est généralement comprise entre 0,750 et 0,990, ce qui les rend plus légères que l'eau (**Bardeau, 2009**).

2.3 Compositions Chimiques des huiles essentielles

Il a été prouvé aujourd'hui que, dans de nombreuses essences, il existe un ou plusieurs composants qui jouent un rôle essentiel en ce qui concerne le parfum (**Charabot et al., 1899**).

Gattefossé s'exprimait comme un visionnaire, car les études les plus récentes révèlent que les huiles essentielles possèdent une activité thérapeutique à la fois remarquable et variée, en raison de leur contenu en vitamines, antibiotiques, hormones, antiseptiques et autres substances actives (**Bardeau, 2009**).

Avant d'explorer les propriétés thérapeutiques des huiles essentielles, il est essentiel de se familiariser avec les principales familles biochimiques contenant les molécules responsables de leur activité thérapeutiques, à savoir le principe actif.

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles révèle qu'elles sont composées de mélanges complexes et variables, attribués exclusivement à deux groupes distincts caractérisés par leurs origines biogénétiques : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du Phénylpropane (**Teisseire, 1991**).

2.3.1 Composés terpéniques : terpènes et terpénoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels qui présentent une structure soit cyclique, soit à chaîne ouverte. Ils ont pour formule chimique $(C_5H_8)_n$ où n représente le nombre d'unités de base, appelées isoprène (ou 2-méthylbuta-1,3-diène), avec une formule C_5H_8 . Donc, selon

Chapitre 1 : Les plantes médicinales et aromathérapie

la valeur, on identifie les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3), les diterpènes (n=4), et ainsi de suite.

Les terpénoïdes, aussi appelés isoprénoïdes, sont des composés qui possèdent la structure des terpènes et appartiennent à diverses familles chimiques, y compris les alcools, les aldéhydes, les cétones, les esters et les éthers-oxydes (**Figure 01, 02, et 03**) (**Benaissa, 2011**).

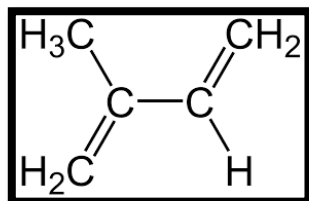


Figure 1: Structure de l'isoprène (Wikilivre, sd).

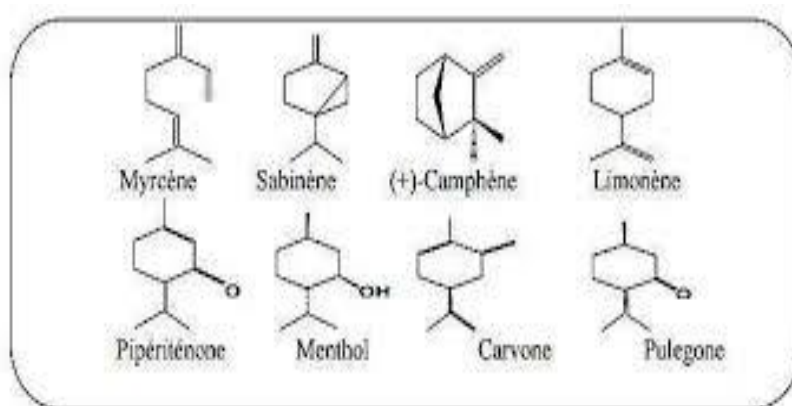


Figure 2: Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des HE (**GUEFFAL et ZENGUI, 2021**).

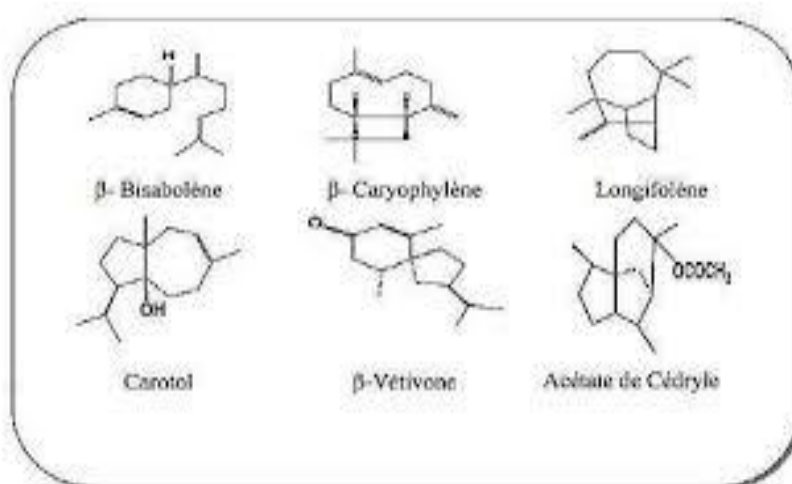


Figure 3: Structures de quelques monoterpènes hydrocarbonés (**GUEFFAL et ZENGUI, 2021**).

2.3.2 Les composés aromatiques

À l'opposé des dérivés terpéniques, les huiles essentielles contiennent moins de composés aromatiques. Cependant, ils sont jugés comme un groupe crucial car ils sont souvent à l'origine des caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles. Il arrive fréquemment qu'on parle d'allyle et de propénylphénol (**Figure 04**) (**Teisseire, 1991**).

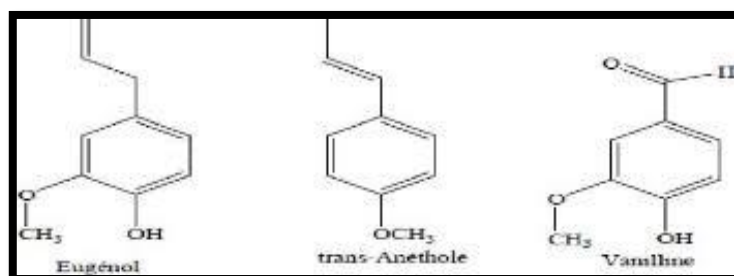


Figure 4: Structures de quelques composés aromatiques (**Boutamani, 2013**).

2.3.3 Les composés d'origines diverses

En plus des composés terpéniques et aromatiques, les huiles essentielles peuvent contenir des éléments tels que les composés azotés, soufrés, des alcools, des acides gras, des coumarines, des lactones, des aldéhydes, des cétones, ainsi que des esters et éthers-oxydes (**Bily, 2023**).

Tableau 1: Différente composés d'origines diverses (**BENCHEIKH, 2017**).

Famille	Exemple
Alcools	Menthol, géraniol, linalol, etc.
Aldéhydes	Géranial, citronellal, etc.
Cétones	Camphre, pipéritone.
Phénols	Thymol, carvacrol, etc.
Esters	Acétate de géranyle, etc.
Acides	Acide gérannique, etc.
Oxydes	1,8-cinéole, etc.
Phénylpropanoïdes	Eugénol.
Terpènes	Limonène, para-cymène, etc.
Autres	Ethers, composés soufrés, composés azotés, sesquiterpène, etc.

2.4 Propriétés physiques des huiles essentielles

Selon (**Bruneton, 1999**) ; les huiles essentielles constituent un ensemble très homogène, présentant les caractéristiques physiques suivantes :

- A température ambiante, les huiles essentielles se présentent sous forme liquide et peuvent être incolores ou jaunes.
- Leur densité est inférieure à celle de l'eau.
- Elles sont particulièrement sensibles à l'oxydation et peuvent facilement se dégrader.

Chapitre 1 : Les plantes médicinales et aromathérapie

- Elles se dissolvent dans les alcools et la plupart des solvants organiques, mais leur solubilité dans l'eau est limitée.
- Leurs points d'ébullition varient entre 60° C et 240° C.
- Lorsqu'elles sont exposées à la chaleur ou à la lumière, elles perdent rapidement leur propriétés **(Bruneton, 1999)**.
- Elles possèdent des propriétés volatiles (odorantes), ce qui facilite leur extraction à la vapeur d'eau durant le processus de distillation.
- Ces substances sont inflammables et il est essentiel de connaître leur point d'éclair pour assurer un stockage et un transport sécurisés **(Zahalka, 2010)**.

2.5 Procédés d'extraction des huiles essentielles

2.5.1 Hydrodistillation

L'hydrodistillation est un procédé de distillation hétérogène où les végétaux sont plongés dans l'eau **(Lucchesi, 2006)**.

On distingue trois types d'hydrodistillation : la distillation à l'eau, la distillation à la vapeur d'eau et la distillation par injection de vapeur. Dans le processus d'hydrodistillation, la matière végétale est d'abord placée dans un compartiment d'alambic, puis une quantité adéquate d'eau est ajoutée avant d'être portée à ébullition. En alternative de la vapeur peut être directement introduite dans la matière végétale. L'eau chaude et la vapeur jouent un rôle essentiel dans l'extraction des composés bioactifs présents dans les tissus végétaux. Le refroidissement indirect à l'eau permet de condenser le mélange de vapeur et d'huile. Ce mélange condensé s'écoule ensuite vers un séparateur, où l'huile et les composés bioactifs se dissocient naturellement de l'eau **(Oreopoulou et al., 2019)**.

La durée de l'hydrodistillation dépend de la matière végétale à traiter et peut d'étendre sur plusieurs heures. Cette durée impact sur le rendement ainsi que sur la composition de l'extrait **(Figure 05) (Lucchesi, 2006)**.

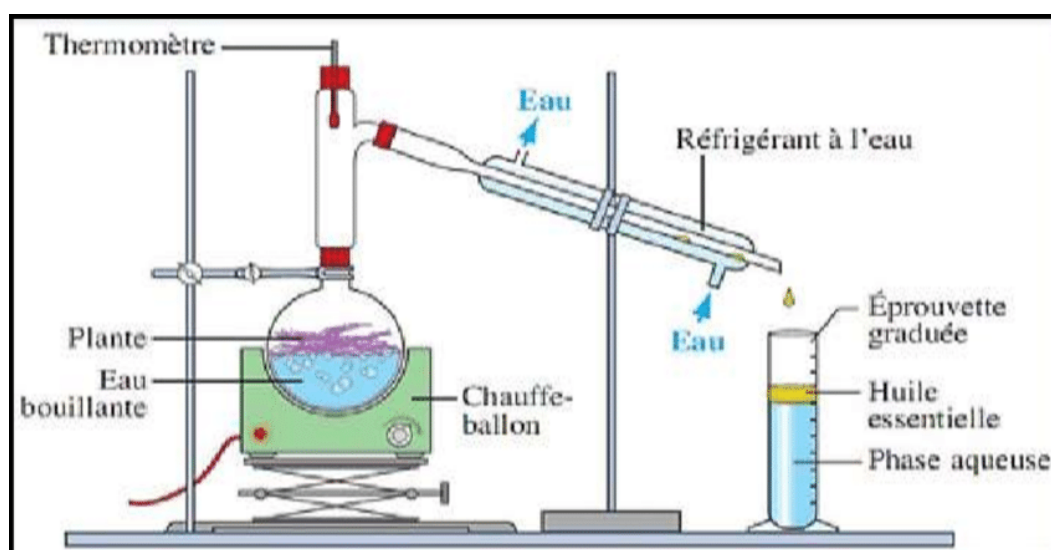


Figure 5: Montage d'extraction par Hydrodistillation **(Goudjil, 2016)**.

2.5.2 Hydrodiffusion

L'hydrodiffusion représente une forme d'entraînement à la vapeur. Cette méthode, qui est à la fois récente et spécifique, tire parti de l'effet osmotique de la vapeur d'eau. Elle implique le passage de la vapeur d'eau à travers la matrice végétale, de haut en bas, sous une pression réduite (**Figure 06**) (**EL HAIB, 2011**).

La distinction réside dans la manière dont la vapeur pénètre dans l'alambic : le flux de vapeur est dirigé vers le bas plutôt que vers le haut cette méthode tire parti de l'action osmotique de la vapeur d'eau son principe repose sur l'utilisation de la gravité pour extraire et condenser le mélange de « vapeur d'eau-huile essentielle » présent dans la matière végétale.

À l'instar de l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion offre l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal avec l'eau, tout en réduisant le temps de traitement (**Clevenger, 1928**).

Cette méthode présente l'avantage d'être plus rapide, ce qui réduit les dommages aux composés volatils, tout en évitant le contact entre le matériel végétal et l'eau. En outre, l'hydrodiffusion favorise des économies d'énergie grâce à la diminution du temps de distillation, entraînant ainsi une baisse de la consommation de vapeur (**EL HAIB, 2011**).

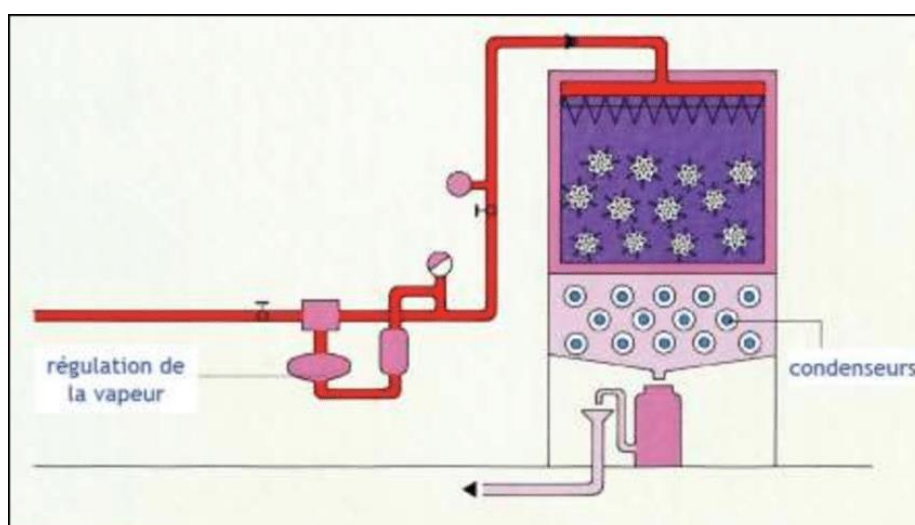


Figure 6: Montage d'hydrodiffusion (**Goudjil, 2016**).

2.5.3 Extraction par du CO₂ supercritique

La méthode repose sur la capacité des composants à se dissoudre dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Cette caractéristique permet au dioxyde de carbone d'effectuer l'extraction dans la phase liquide (supercritique) et de réaliser la séparation dans la phase gazeuse. Pour ce faire, le dioxyde de carbone est d'abord liquéfié par un processus de refroidissement, puis comprimé à la pression d'extraction souhaitée. Il est ensuite introduit dans l'extracteur contenant le matériau végétal, où le liquide se déprend et se transforme en gaz, avant d'être dirigé vers un séparateur pour en extraire les composants et le solvant (**Figure 07**) (**EL HAIB, 2011**).

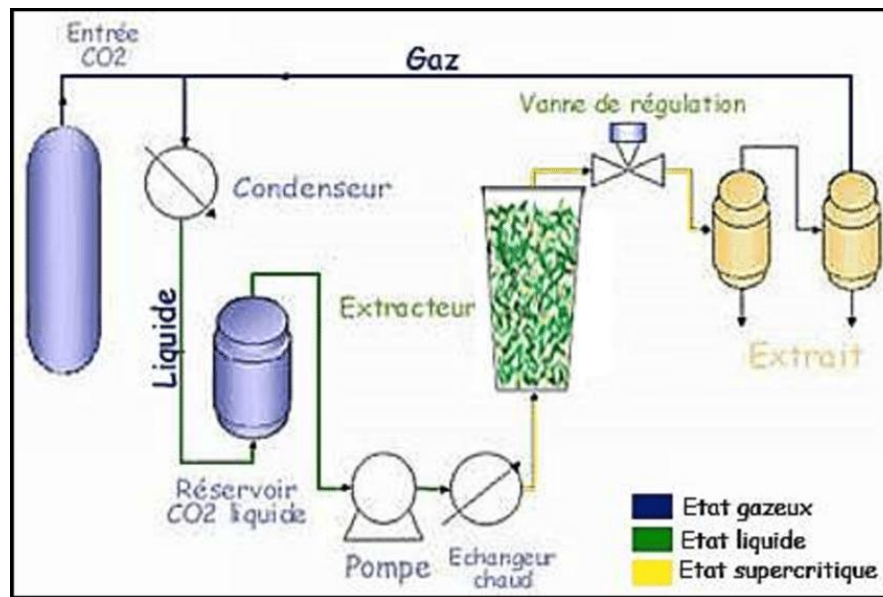


Figure 7: Montage d'extraction par le CO2 supercritique (**Goudjil, 2016**).

2.5.4 Extraction assistée par micro-onde

Contrairement aux méthodes d'extraction traditionnelles, l'extraction assistée par micro-ondes modifie la structure cellulaire des plantes en raison de l'exposition aux ondes. Cela facilite la libération et l'extraction des huiles essentielles. De plus, le mode de chauffage utilisé dans cette technique diffère considérablement de celui des méthodes conventionnelles. En effet, alors que le transfert de chaleur traditionnel repose sur la convection et/ou la conduction, l'utilisation des micro-ondes génère de la chaleur par l'agitation des dipôle (rotation des dipôle et conduction ionique) présents dans le soluté et le solvant.

Dans le cadre de l'extraction des huiles essentielles par micro-ondes, les transferts de chaleur et de matière se produisent simultanément dans la même direction. Cela pourrait expliquer l'accélération du processus ainsi que l'augmentation des rendements (**Veggi et al., 2013**).

2.5.5 Expression mécanique à froid

La méthode de l'expression à froid a été développée en Sicile et en Calabre, avant de se répandre parmi tous les pays producteurs d'argumes (**Bruneton, 2009**).

Cette méthode repose sur la rupture ou la déchirure des parois des sacs oléifères présents dans l'écorce des fruits, provoquée par la pression exercée par le contenu de ces sacs sur les parois. Des procédés industriels ont été développés pour réduire les coûts, améliorer les rendements et protéger le fruit lors de l'extraction de son jus. La plupart de ces procédés utilisent de l'eau, ce qui peut compromettre la qualité des huiles essentielles, incitant ainsi les fabricants à trouver des alternatives (**Figure 08**) (**Lucchesi, 2006**).

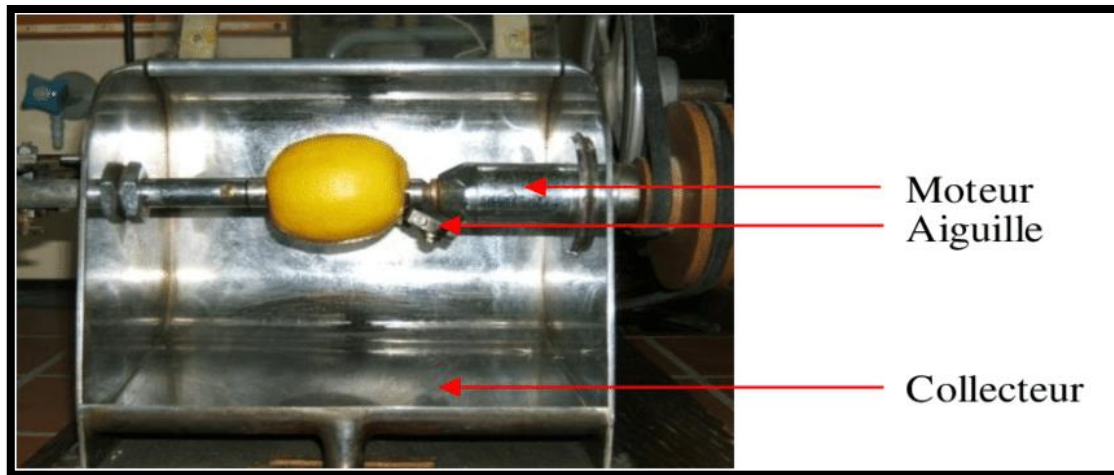


Figure 8 : Schéma du montage de l'extraction par la pression à froid (Farhat, 2010).

2.5.6 Extraction par solvants volatils

Le processus d'extraction repose sur l'utilisation d'un solvant pour extraire les composants odorants de la matière première, permettant ainsi de récupérer un extrait qui, après distillation, se transforme en une concrète ou résinoïde (généralement de consistance solide et insoluble dans l'alcool) contenant des huiles essentielles ainsi que d'autres substances. Ces concrètes sont ensuite traitées avec de l'alcool absolu, qui dissout uniquement les huiles essentielles, produisant ainsi un absolu (tel que l'absolu d'Iris, de Violette, de Jasmin, etc.). Les solvants employés sont des mélanges d'hydrocarbures à faible poids moléculaire, capables d'extraire tous les composants de l'essence sans endommager ni solubiliser la matière végétale, tout en ayant une bonne capacité de pénétration cellulaire et de diffusion dans les tissus, surtout lorsque les organes sécréteurs sont internes (Legrand, 1994 ; Belaiche, 1979).

2.6 Rôle des huiles essentielles

En phytothérapie, les huiles essentielles sont employées en raison de leurs caractéristiques antiseptiques pour lutter contre les infections d'origine bactérienne (Billerbeck et al., 2002).

Un grand nombre d'huiles essentielles possèdent des caractéristiques stimulantes qui pourraient aider à diminuer la fatigue, à accroître la clarté mentale et à optimiser l'attention ainsi que la concentration.

Les huiles essentielles sont largement reconnues pour leurs effets analgésiques, ce qui signifie qu'elles peuvent contribuer à atténuer la douleur.

Elles sont reconnues pour leur capacité à améliorer la digestion en favorisant la libération d'enzymes digestives, en diminuant l'inflammation et en détendant les muscles du tube digestif (Heshelow, 2023).

1. Généralités

Environ quatre milliards de personnes, représentant 80% de la population, vivant dans des pays en développement, se tournent vers les produits médicinaux à base de plantes comme leurs principales sources de soins de santé **(Ekor, 2014)**. Il a été rapporté qu'entre 40000 et 50000 espèces sont connues pour être utilisées dans les systèmes de la médecine traditionnelle et moderne à travers le monde. **(Trease, 2009)**.

La famille des Lamiacées est l'une des plus vastes familles de plantes à fleurs, regroupant approximativement 250 genres et au-delà de 7 000 espèces. La majorité des plantes appartenant à cette famille ont des propriétés aromatiques et représentent par conséquent une ressource significative pour les huiles essentielles. Les Lamiacées sont couramment employées en cuisine et reconnues comme des plantes médicinales dans diverses traditions populaires. Dans la zone méditerranéenne, l'origan, la sauge, le romarin, le thym et la lavande se caractérisent par leur répartition géographique et la diversité de leurs applications **(Karaman, 2017)**.

Les espèces de la famille des Lamiacées sont principalement cultivées pour leurs feuilles comestibles et plusieurs d'entre elles sont couramment utilisées comme herbes culinaires, telles que le basilic (*Ocimum spp*), la lavande (*Lavandula angustifolia* Mill), la marjolaine (*Origanum majorana* L), la menthe (par exemple, la menthe poivrée (*Mentha piperita* L), la menthe verte (*M. spicata* L), l'origan (*Origanum vulgare* L), le romarin (*Rosmarinus officinalis* L), la sauge commune (*Salvia officinalis* L) et le thym (*Thymus vulgaris* L). **(Agatonovic-Kustrin, 2024)**.

2. *Origanum vulgare*

Le nom « origan » vient des mots grecs "Oros", qui se référant à la montagne, et "Ganos", signifiant luminosité, se combinent pour former l'expression "La plante qui illumine les montagnes". D'après la mythologie grecque, Aphrodite aurait engendré l'origan dans le but d'apporter davantage de bonheur dans la vie des individus. **(Key, 2014)**.

L'origan commun (*Origanum vulgare*) communément appelé origan commun, marjolaine sauvage ou marjolaine vivace, est une plante herbacée vivace de la famille des Lamiacées, principalement utilisé comme herbe aromatique et reconnu pour ses propriétés médicinales (antioxydantes, antimicrobiennes) grâce à ses huiles essentielles. Originaire des régions méditerranéennes, il pousse dans des climats ensoleillés et secs **(Leyva-López et al., 2019)**.

3. Classification taxonomique

D'après **Deysson 1967**, la systématique d'*Origanum vulgare* est la suivante :

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Sous-classe : Gamopétales
- Série : Supérovariées tétracycliques
- Super ordre : Tubiflorales
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Sous-famille : Nepetoïdes
- Genre : *Origanum*
- Espèce : *Origanum vulgare* (**FIGUEREDO, 2007**).

4. Répartition géographique

L'origan est une plante herbacée qui se développe dans les terrains montagneux difficilement accessibles de la région Sud-Méditerranéenne, mais on peut également la retrouver en Europe et en Asie centrale (**figure09**). Selon Ietswaart, les espèces du genre *Origanum* sont principalement présentes dans la région Méditerranéenne, avec plus de 81% d'entre elles se trouvant uniquement dans la partie Est Méditerranéenne. Seules quatre espèces sont restreintes à la région de l'Ouest Méditerranée. (**Kintzios, 2002**).

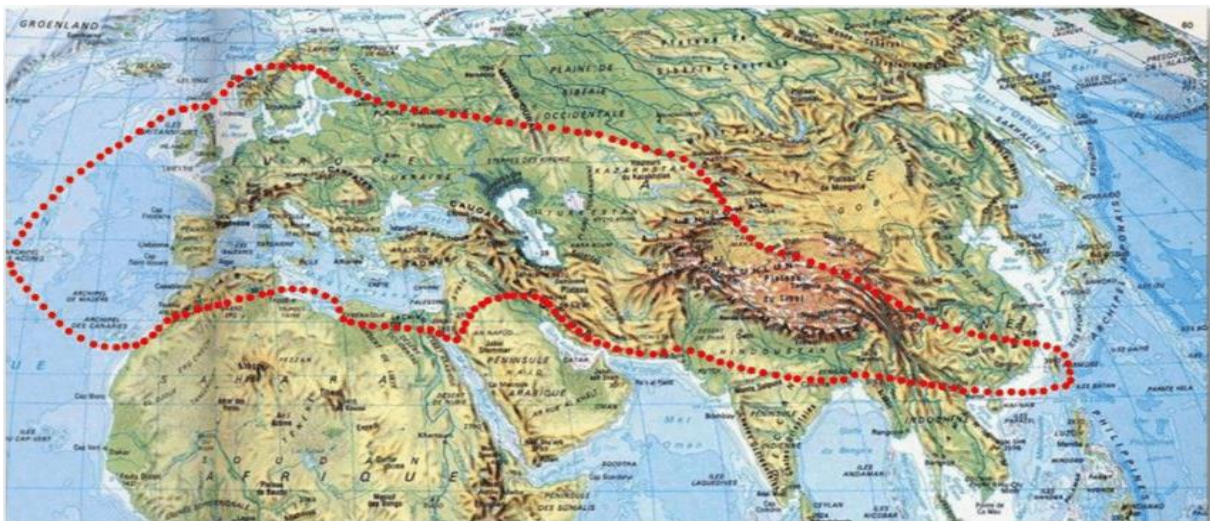


Figure 9: Distribution de l'*Origanum vulgare* dans le monde (**Ietswaart, 1980**).

5. Description botanique

Plante vivace, herbacée ou sous-frutescente, à rhizome, présentant des tiges dressées de 90 cm ou plus, souvent ramifiées au sommet. Les feuilles, ovales et pétiolées, mesurent généralement de 10 à 40 mm de long et de 4 à 25 mm de large, pouvant exceptionnellement atteindre 50 mm de long. Elles sont entières ou légèrement crénelées, glabres ou poilues, avec des glandes ponctuées (**figure10**). Les fleurs, regroupées en verticilles serrés de 5 à 30 mm, sont ovoïdes, oblongues ou prismatiques. Les bractées florales (4–5 mm), différentes des feuilles, sont presque deux fois plus longues que le calice, ovales à oblongues, non acuminées, glabres ou poilues, parfois légèrement glanduleuses (**figure11**). Le calice, ponctué de glandes jaunes, porte cinq dents égales. La corolle (4–7 mm), bilabée, est blanche ou rouge-pourpre. L'androcée comporte quatre étamines fertiles, didynames, à filets divergents. La floraison s'étend de juillet à septembre (**Muñoz Centeno, 2002**).



Figure 10: Les feuilles de l'*Origanum vulgare* (Aquaportail, s.d.).



Figure 11: Les fleurs de l'*Origanum vulgare* (Aquaportail, s.d.).

6. Composition chimique de la plante

Plusieurs études ont montré que la plante contient une grande variété de métabolites secondaires, dont la majorité sont des composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les terpènes, les acides phénoliques, les alcaloïdes, ainsi que des acides gras (**Selles, 2019**). *Origanum vulgare* présente une composition chimique riche et variée, à l'origine de ses nombreuses propriétés pharmacologiques. Parmi les composés volatils de son huile essentielle, le carvacrol et le thymol prédominent. Ces monoterpènes phénoliques possèdent une activité antimicrobienne marquée, attribuée à leur capacité à perturber l'intégrité des membranes cellulaires bactériennes. En parallèle, les extraits non volatils de la plante renferment des molécules telles que l'acide rosmarinique et plusieurs flavonoïdes (lutéoline, apigénine), reconnues pour leurs effets antioxydants et anti-inflammatoires. L'action synergique de ces différents composés confère à *Origanum vulgare* un potentiel thérapeutique prometteur, notamment dans le traitement d'infections bactériennes, y compris celles impliquant des souches résistantes. (**Soltani, 2021**).

7. Utilisation traditionnelle de la plante

7.1. Usage culinaire

Actuellement, l'origan est utilisé pour aromatiser la viande, les saucisses, les salades, les ragôts, les vinaigrettes et les soupes. L'industrie alimentaire utilise l'huile d'origan, la liqueur et la teinture dans les boissons, les produits de boulangerie, les viandes et les produits à base de viande, les condiments et les sauces, les produits laitiers, ainsi que les légumes transformés, les collations, les matières grasses et les huiles. (**Opara, 2021**).

7.2. Usages thérapeutiques

Certaines des utilisations de *Origanum vulgare* en médecine traditionnelle concernent les troubles respiratoires, les maux d'estomac, les menstruations douloureuses, la polyarthrite rhumatoïde, les troubles nutritionnels et les problèmes urinaires, en tant que diurétique et agent anti-lithiasique. Les parties aériennes de la plante étaient principalement utilisées. (**Soltani, 2021**).

La plante de l'origan est utilisée aussi comme épice pour produire de l'huile essentielle d'origan (OEO) et des extraits d'origan (OEX). Ces produits ont des effets antiseptiques et expectorants, ainsi qu'un effet cholagogue. Ils sont utilisés comme remèdes pour améliorer la

Chapitre 2 : Description de la plante « *Origanum vulgare* »

digestion, pour les bains de bouche et les gargarismes, pour les inhalations en cas d'inflammation des voies respiratoires supérieures, et pour les bains médicaux. L'OEO et l'OEX sont décrits comme des conservateurs alimentaires naturels prometteurs et comme des agents bénéfiques pour la fonction gastro-intestinale, en particulier en cas d'inflammation. (Nurzyńska-Wierdak, 2025).

8. Toxicité

Origanum vulgare possède une longue histoire d'utilisation sécuritaire en tant qu'ingrédient alimentaire d'origine végétale et est répertorié comme un extrait naturel généralement reconnu comme sûr (GRAS) (Mendelson, 2021).

L'utilisation de l'origan pendant la grossesse est déconseillée par certaines sources en raison de ses effets stimulants sur l'utérus et de son potentiel abortif. L'origan pourrait également induire une diminution de la progestérone, une hormone cruciale durant la période de gestation. Certaines personnes peuvent développer des réactions allergiques systémiques suite à la consommation de cette plante, tandis que des cas de dermatite de contact ont également été rapportés. L'huile essentielle d'origan pourrait provoquer des irritations cutanées (Ravindran, 2017).

Les huiles essentielles sont beaucoup plus concentrées et donc plus potentiellement dangereuses que les herbes et les extraits d'herbes. Il est essentiel que le carvacrol (et non le thymol) soit l'ingrédient principal de l'huile essentielle d'origan que vous utilisez. L'huile essentielle d'origan à forte teneur en thymol n'est pas considérée comme sûre pour un usage thérapeutique. (Green, 2017).

1. Les antibiotiques

1.1. Définition

Un antibiotique est une substance capable d'inhiber la croissance des bactéries à très faible concentration (de l'ordre du microgramme ou moins par millilitre de milieu organique), sans présenter de toxicité pour l'homme à cette dose. Son action est spécifique et ciblée, visant un élément précis de la bactérie. Toute modification, protection ou disparition de cette cible peut alors conduire à l'apparition d'une résistance bactérienne.

Historiquement, le terme « antibiotique », introduit par Waksman en 1932-1941, désignait exclusivement les substances d'origine naturelle produites par des micro-organismes et actives contre d'autres micro-organismes comme la pénicilline, synthétisée par *Penicillium chrysogenum*. À l'inverse, les composés obtenus par synthèse chimique, tels que les sulfamides, étaient qualifiés d'antibactériens. Toutefois, l'usage actuel tend à regrouper l'ensemble de ces substances sous le terme générique d'« antibiotiques », indépendamment de leur mode de production. **(Michel-Briand, 2009).**

2.1. Classification

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères complémentaires. Les classifications les plus courantes sont celles basées sur le mécanisme d'action (site biochimique ciblé), la structure chimique (famille de molécules) et le spectre d'activité (étendue des bactéries sensibles) **(Haddad et al., 2024).**

2.1.1. Selon le mécanisme d'action

On classe souvent les antibiotiques d'après leur cible bactérienne. Parmi les grandes catégories figurent :

- **Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne** : (bactéries ont besoin de construire un peptidoglycane pour leur paroi). Exemples : **bêta-lactamines** (pénicillines telles que la benzylpénicilline, céphalosporines comme la céphalexine, carbapénèmes comme l'imipénem, monobactames comme l'aztréonam) et **glycopeptides** (vancomycine, teicoplanine). Ces agents empêchent la formation ou le remodelage du peptidoglycane, provoquant la lyse des bactéries en croissance.

Chapitre 3 : L'activité antibactérienne

- **Inhibiteurs de la perméabilité membranaire** : Par exemple, les **polymyxines** (colistine) et les **lipopeptides** (daptomycine) perturbent les membranes cytoplasmiques des bactéries (respectivement des bacilles Gram⁻ pour les polymyxines, Gram⁺ pour la daptomycine). Cela entraîne une fuite des contenus cellulaires et la mort bactérienne.
- **Inhibiteurs de la synthèse protéique** : La traduction bactérienne dépend des ribosomes 70S (sous-unités 30S et 50S). On distingue :
 - **30S** : **aminosides** (gentamicine, streptomycine, tobramycine) et **tétracyclines** (doxycycline, minocycline) se fixent sur la petite sous-unité et empêchent la lecture correcte de l'ARNm.
 - **50S** : **macrolides** (érythromycine, azithromycine), **lincosamides** (clindamycine), **chloramphénicol** et **thiamphénicol**, **streptogramines** (quinopristine/dalfopristine), **oxazolidinones** (linezolid) agissent en bloquant différentes étapes de la synthèse peptidique sur la grande sous-unité.
- **Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques** : Par exemple, les **fluoroquinolones** (ciprofloxacine, lévofloxacine) inhibent l'ADN gyrase ou la topoisomérase IV, bloquant la réplication de l'ADN, tandis que les **rifamycines** (rifampicine) inhibent l'ARN polymérase bactérienne. Les **métabolites azotés** comme le **métronidazole** endommagent l'ADN chez les anaérobies.
- **Antimétabolites** : Les **sulfamides** (sulfaméthoxazole) et le **triméthoprim** inhibent la biosynthèse de l'acide folique (qui est nécessaire à la formation des bases nucléiques) en bloquant respectivement la dihydroptéroate synthase et la dihydrofolate réductase.

Chacune de ces catégories est associée à un effet antibactérien caractéristique. Par exemple, les inhibiteurs de la paroi (bêta-lactamines, glycopeptides) sont généralement bactéricides (ils tuent les bactéries), tandis que beaucoup d'inhibiteurs de la synthèse protéique sont bactériostatiques (ils stoppent la croissance). On parle ainsi de classification « bactéricides vs bactériostatiques » fondée sur le mode d'action.

2.1.2. Selon la structure chimique

Les antibiotiques peuvent aussi être regroupés par famille chimique. Chaque famille partage une charpente moléculaire de base. Les principales classes chimiques sont :

Chapitre 3 : L'activité antibactérienne

- **Bêta-lactamines** (noyau β -lactame) : subdivisées en **pénicillines** (p.ex. pénicilline G, amoxicilline, ampicilline), **céphalosporines** (céfalexine, ceftriaxone, cefepime, etc.), **carbapénèmes** (imipénem, méropénem) et **monobactames** (aztréonam). Souvent associées à des inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique, tazobactam) pour élargir leur efficacité.
- **Aminosides** : gentamicine, tobramycine, amikacine, streptomycine. Ce sont des glycosides aminés (sucres aminés) qui nécessitent un transport actif dans la bactérie.
- **Glycopeptides** : vancomycine, teicoplanine. Ce sont de grosses molécules glycosylées inhibant la paroi bactérienne.
- **Tétracyclines et glycylcyclines** : tétracycline, doxycycline, minocycline, tigécycline. Ce sont des molécules à noyau cyclique térapeptidique.
- **Macrolides et lincosamides** : macrolides (érythromycine, azithromycine) possèdent un large cycle lactone ; lincosamides (clindamycine) sont chimiquement apparentés aux macrolides.
- **Chloramphénicol** : molécule simple avec noyau dichloroacétique, appartenant aux phénicols.
- **Oxazolidinones** : linezolid, tedizolid. Petite classe nouvelle agissant sur le 50S.
- **Streptogramines** : combinaisons quinupristine/dalfoprismine.
- **Fluoroquinolones** : ciprofloxacine, lévofloxacine, moxifloxacine. Molécules cycliques portant un noyau quinolone fluoré.
- **Sulfamides et triméthoprime** : sulfaméthoxazole (sulfamide), triméthoprime. Analogues de p-aminobenzoate et dihydrofolate.
- **Ansamycines (rifamycines)** : rifampicine, rifabutine. Macrolides à chaînes ansamériques inhibant l'ARN polymérase.
- **Polypeptides** : polymyxines (colistiméthate/dispolysil) pour Gram⁻, bacitracine (usage topique) pour Gram⁺.

Cette classification structurale est largement utilisée en pharmacologie.

2.1.3. Selon le spectre d'activité

Le spectre antibactérien d'un antibiotique est l'ensemble des espèces bactériennes sur lesquelles il est actif. On distingue :

Chapitre 3 : L'activité antibactérienne

- **Spectre étroit** : l'antibiotique cible peu de groupes bactériens. Par exemple, la pénicilline G naturelle est surtout active sur les streptocoques et certaines cocci Gram⁺, avec peu d'effet sur les Gram⁻ ; la streptomycine cible essentiellement certaines bactéries à Gram⁻ ou *Mycobacterium tuberculosis*. Ces antibiotiques à spectre étroit agissent sur un petit nombre d'espèces et préservent davantage la flore normale.
- **Spectre large (ou étendu)** : l'antibiotique agit sur un large éventail de bactéries, souvent à la fois Gram⁺ et Gram⁻. Exemples : les tétracyclines (efficaces sur de nombreux Gram⁺, Gram⁻, ainsi que chlamydia, mycoplasmes, rickettsies) ; l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique couvre beaucoup de Gram⁺ et Gram⁻ ; les fluoroquinolones couvrent également de larges spectres Gram. Ces antibiotiques sont utiles en thérapeutique probabiliste lorsque l'agent infectieux n'est pas identifié.
- **Spectre intermédiaire** : la plupart des antibiotiques se situent entre ces extrêmes. Par exemple, les céphalosporines de 2^e génération couvrent plus de Gram⁻ que les 1^e génération, sans atteindre le spectre très large des carbapénèmes. Les glycopeptides (vancomycine) ont un spectre large sur les Gram⁺, mais pas sur les Gram⁻, etc.

Cette notion de spectre est importante pour choisir l'antibiotique adéquat (éviter le sur-traitement par un grand spectre).

1.3. Mode d'action

Les antibiotiques exercent leur action à l'échelle moléculaire en ciblant une ou plusieurs étapes métaboliques essentielles à la survie de la bactérie.

Ils agissent par :

- **Toxicité sélective au niveau de la**
 - Synthèse de la paroi bactérienne
 - Membrane cytoplasmique
 - Synthèse des protéines
 - Acides nucléiques (**Figure12**).
- **Inhibition compétitive** : dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle de la bactérie. (**Clive et al., 1999**).

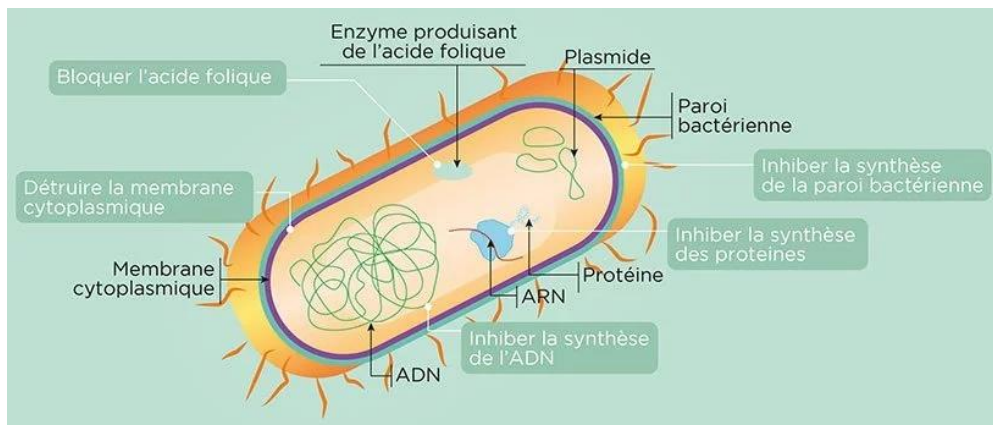


Figure 12: Les modes d'action des antibiotiques. (Martak, 2021).

2. Résistance bactérienne aux antibiotiques

2.1. Définition

La résistance aux antibiotiques se définit comme la capacité d'un micro-organisme (notamment bactérien) à survivre et à se multiplier malgré la présence d'une concentration d'antibiotique qui tuerait ou inhiberait normalement les souches sensibles de la même espèce. (Davies et Davies, 2010).

2.2. Mécanisme de résistance

Les mécanismes moléculaires de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries sont variés et complexes. Ils peuvent être classés en plusieurs catégories, chacune impliquant des stratégies différentes utilisées par les bactéries pour survivre en présence d'antibiotiques. La résistance bactérienne constitue un problème de santé mondiale majeur, avec les mécanismes suivants : (huemer et al., 2020).

1. Pompes d'efflux : Ce sont des protéines spécialisées situées dans la membrane bactérienne qui expulsent activement les antibiotiques hors de la cellule, réduisant ainsi leur concentration à un niveau non létal.

2. Dégradation ou modification enzymatique : Certaines bactéries produisent des enzymes, comme les bêta-lactamases, capables d'inactiver les antibiotiques.

3. Mutations des cibles moléculaires : Les mutations peuvent modifier les composants bactériens ciblés par l'antibiotique (par exemple les ribosomes), rendant le traitement inefficace.

Chapitre 3 : L'activité antibactérienne

4. Formation de biofilms : Les bactéries en biofilms sont plus résistantes aux antibiotiques grâce à une matrice extracellulaire dense, réduisant la pénétration des antibiotiques et ralentissant la croissance bactérienne.

5. Réduction de la perméabilité : Certaines bactéries modifient leur membrane externe ou leur paroi cellulaire, empêchant l'entrée de l'antibiotique.

6. Modification chimique de l'antibiotique : Des enzymes spécifiques peuvent altérer chimiquement la structure des antibiotiques, les rendant inactifs.

7. Transfert horizontal de gènes : Les gènes de résistance peuvent être transférés entre bactéries par des plasmides, des transposons ou des bactériophages, facilitant la propagation rapide de la résistance.

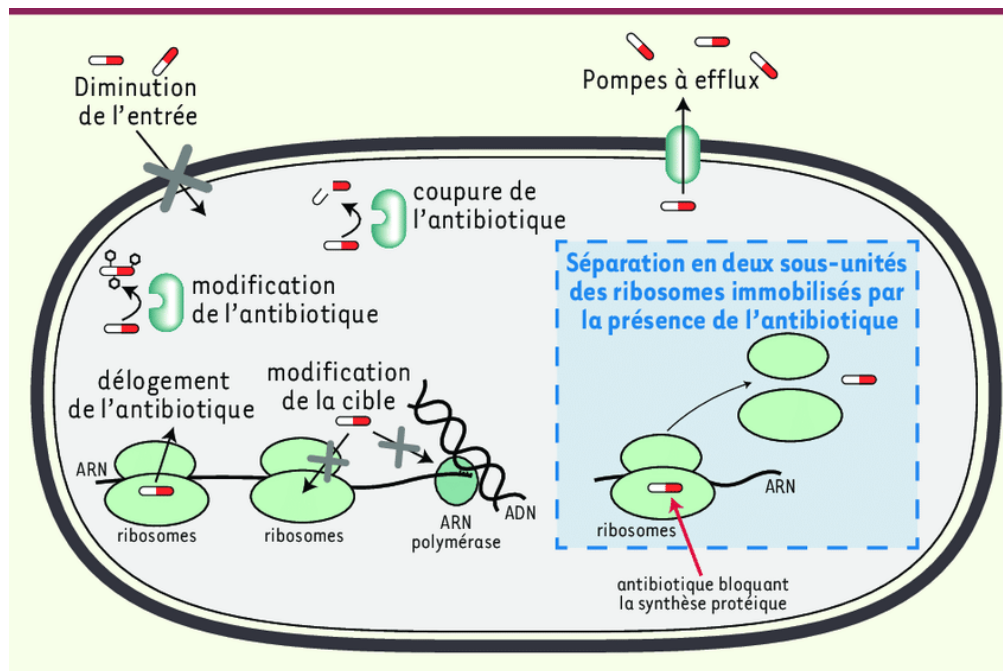


Figure 13: Différents mécanisme de résistance aux antibiotiques (Duval et al., 2019).

Etude expérimentale

I. Matériel et Méthode

1. Matériel végétal

1.1. Critères de choix de la plante

Dans le but de la valorisation de la biodiversité végétale de l'est algérien, nous avons étudié une des espèces de plantes aromatiques à savoir, "*Origanum vulgare*". Le choix de la plante est basé sur les recherches bibliographiques ainsi que les enquêtes ethnobotaniques. Cette espèce a une large utilisation, en raison de son pouvoir curatif et guérisseur en médecine traditionnelle algérienne. Ainsi, les différents critères de choix de la plante choisie dans notre étude sont les suivants :

- ❖ La valorisation des plantes médicinales de l'est algérien.
- ❖ L'abondance de l'espèce dans cette zone.
- ❖ L'utilisation en médecine traditionnelle comme remède pour traiter des maladies de provenance bactérienne.
- ❖ La richesse et la rentabilité de la plante de point de vue molécules bioactives.

1.2. Cueillette, situation géographique et identification botanique

Les feuilles de la plante "*Origanum vulgare*" sont récoltées au niveau de la montagne de la région de Seraïdi, wilaya de Annaba en mois d'avril pendant la période de floraison, puis elles ont été séchées à l'ombre à une température voisine de 25°C (**Figure14**).

L'identification botanique de l'espèce végétale a été réalisée par l'équipe de recherche de botanique à l'université Badji Mokhtar.



Figure 14: Situation géographique de la région de Seraïdi (google maps).

2. La souche bactérienne testée

La souche bactérienne testée dans cette étude est *Escherichia coli*, une bactérie à Gram négatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. Il s'agit d'un bacille ubiquitaire fréquemment utilisé comme organisme modèle en microbiologie.

Dans le cadre de ce travail, des souches d'origine hospitalière ont été sélectionnées afin d'évaluer, in vitro, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*.

Les souches testées ont été collectées au niveau du laboratoire de microbiologie à l'hôpital d'Ibn Zohr-Guelma.

2.1. Observation microscopique

2.1.1. Etat frais

Un frottis bactérien a été préparé à partir d'une culture jeune, déposé entre lame et lamelle et observer à l'objectif x40, afin de mettre en évidence la morphologie et la mobilité de la souche (Denis et al., 2007).

2.1.2. Coloration de Gram

Mode opératoire

- Préparer un frottis bactérien sur une lame propre.
- Fixer le frottis à la flamme (légèrement chauffer pour fixer les bactéries).
- Colorer avec le violet de gentiane pendant 1 minute.
- Rincer à l'eau.
- Ajouter le lugol pendant 1 minute (fixateur).
- Rincer à l'eau.
- Décolorer avec de l'alcool pendant 10–20 secondes.
- Rincer rapidement à l'eau.
- Contre-colorer avec la safranine (ou fuchsine) pendant 30 secondes à 1 minute.
- Rincer à l'eau et laisser sécher.
- Observer au microscope à immersion (objectif 100x avec huile).

2.2. Identification biochimique

2.2.1. Recherche des enzymes respiratoires

• Test de catalase

Certaines bactéries ont la faculté de dégrader le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). En présence d'une bactérie productrice de catalase. On observe à partir de H₂O₂ une libération d'oxygène gazeux (Denis et al., 2007).

• Test d'oxydase

Les bactéries possédant une chaîne respiratoire complète sont dotées d'un cytochrome oxydase. La mise en évidence de cette oxydase est effectuée à l'aide d'un disque imprégné d'une solution aqueuse à 1 % de chlorhydrate de diméthylène. Les colonies sont déposées à l'aide d'une pipette Pasteur. **(Denis et al., 2007).**

2.2.2. Identification biochimique par le système API 20E

La galerie biochimique permet d'analyser le métabolisme des bactéries et est principalement utilisée pour différencier les entérobactéries.

• Mode opératoire

Préparation de la bande 5 ml d'eau distillée stérilisée ont été ajoutés dans les puits du plateau afin de fournir des conditions d'humidité, puis la bande a été placée dans le plateau. Lors de l'inoculation, la suspension bactérienne est ajoutée à la fois sur les parties supérieure et inférieure de certains caplets (CIT, VP, GEL) à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Pour les autres Caplets (H₂S, URE, ADH, LDC, ODC), seule la partie inférieure est remplie avec la suspension jusqu'à la ligne concave. La partie inférieure des caplets est ensuite remplie de paraffine liquide stérile pour créer des conditions anaérobies. Après cela, le tout est couvert et incubé pendant 24 heures à 37°C. Enfin, après l'incubation, des réactifs spécifiques sont ajoutés aux Caplets pour la lecture des résultats :

- Une goutte de réactif de Kovac est ajoutée au Caplet IND et la lecture est effectuée immédiatement.
- Une goutte de chlorure ferrique à 10 % est ajoutée au Caplet TDA et la lecture est réalisée immédiatement. Pour le Caplet VP.
- Une goutte de VP1 est ajoutée, suivie d'une goutte de VP2, et la lecture est effectuée après 10 minutes. **(Al-Agha, 2017).**

3. L'extraction de l'huile essentielle

3.1. Mode opératoire

L'extraction de l'huile essentielle des feuilles d'*Origanum vulgare* a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger **(figure15).**

Pour cela, 200g de feuilles séchées, préalablement à l'ombre à température ambiante, sont placés dans un ballon de 2 L rempli aux 1.5 L d'eau distillée. Le mélange est chauffé jusqu'à ébullition pendant environ 3 heures. La vapeur d'eau entraîne les composés volatils de la plante, qui se condensent ensuite dans un réfrigérant. Le liquide obtenu est recueilli dans le tube du Clevenger, où deux phases se forment : l'huile essentielle (phase organique) qui flotte au-dessus de l'eau (phase aqueuse) Les deux phases sont séparées par décantation à l'aide d'une ampoule à décanter. L'huile est ensuite récupérée, séchée avec du sulfate de sodium anhydre pour éliminer l'eau restante, puis conservée dans un flacon en verre ambré, au frais (à 4 °C **(Bajpai et al., 2008).**



Figure 15: Appareil d'hydro-distillation type Clevenger (photo personnel).

3.2. Conservation de l'huile

La conservation des huiles essentielles est essentielle pour préserver leur efficacité, leur pureté et leurs propriétés thérapeutiques. Elles doivent être stockées dans des flacons en verre teinté (ambre ou bleu foncé), bien fermés, à l'abri de la lumière, de la chaleur et de l'humidité. Il est recommandé de les conserver dans un endroit frais, de préférence entre 4°C, et hors de portée de l'air pour éviter l'oxydation. Une bonne conservation prolonge la durée de vie des huiles essentielles et garantit leur sécurité d'utilisation.

3.3. Calcul de rendement

Selon (**l'AFNOR, 1926**) Le rendement est la quantité maximale d'huile essentielle qui fournit une masse donnée de végétal pendant une période donnée. Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$R\% = M / M' \times 100$$

R : Rendement d'extraction d'huile essentielle

M : Masse de la matière sèche

M' : Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme

4. Activité antioxydante

• Test de DPPH

Le radical DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical libre stable à longue durée de vie qui a une couleur violet profond. Il abstrait l'atome d'hydrogène labile des composés chimiques et est utilisé pour déterminer l'activité de piégeage des radicaux libres (FRSA) des huiles essentielles (**Brand-Williams W, 1995**). Différentes aliquotes (100, 50, 25, et 12.5 µL) des huiles essentielles, extraits et standards ont été préparées. Ensuite, une solution méthanolique de DPPH (2 ml) a été ajoutée. Les essais ont été soigneusement mélangés et

Matériel et Méthode

incubés dans l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance a été mesurée à 517 nm contre le méthanol comme blanc. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif.

Activité antioxydante = (abs contrôle – abs échantillon) x100/ Abs contrôle.

5. Etude de l'activité antibactérienne

5.1 Etude de la sensibilité des souches étudiées vis-à-vis des antibiotiques usuels par Antibiogramme

5.1.1. Préparation de l'inoculum

Une suspension bactérienne a été préparée à partir de colonies jeunes (âgées de 18 à 24 heures) cultivées sur gélose nutritive. Les colonies ont été prélevées à l'aide d'une anse stérile et suspendues dans une solution saline stérile (NaCl 0,9 %). La turbidité de la suspension a été ajustée à 0,5 McFarland à l'aide d'un spectrophotomètre, en mesurant l'absorbance à 625 nm. Une valeur comprise entre 0,08 et 0,10 a été considérée comme équivalente à l'étalon 0,5 McFarland, correspondant à une concentration d'environ $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, conformément aux recommandations du (CLSI, 2023).

5.1.2. Ensemencement

Après préparation de la suspension bactérienne, À l'aide d'un écouvillon stérile imbibé de la suspension, nous avons réparti l'inoculum de manière homogène sur toute la surface de la boîte de Pétri en effectuant des passages aériennes, nous avons procédé à un ensemencement par écouvillonnage sur une gélose Mueller Hinton successifs dans trois directions différentes, en tournant légèrement la boîte à chaque fois pour assurer une couverture uniforme. (Figure16).

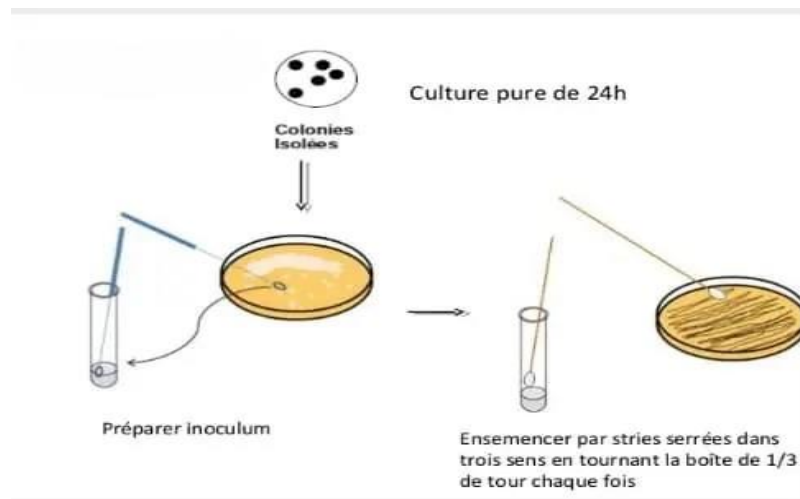


Figure 16: Technique d'ensemencement en surface à l'aide d'un écouvillon (slideplayer, s.d).

Matériel et Méthode

5.1.3. Dépôt des disques antibiotique

Après ensemencement uniforme de la gélose Mueller-Hinton avec la suspension bactérienne ajustée à 0,5 McFarland, les disques d'antibiotiques ont été placés à l'aide d'une pince stérile, en veillant à maintenir une distance suffisante entre eux afin d'éviter le chevauchement des zones d'inhibition. Les disques ont été délicatement appliqués à la surface du milieu pour assurer un contact optimal. (CLSI, 2023). Les antibiotiques utilisés sont les suivants :

Tableau 2: Liste des disques d'antibiotiques testés contre *E. coli*.

L'antibiotique	L'abréviation	Dosage
Cefoxitine	FOX	30 µg
Céfotétan	CT	10 µg
Amikacine	AK	30 µg
Cephalotine	CN	10 µg
Céfoxime	CXM	30 µg
Ampicilline	AMP	10 µg
Ciprofloxacine	CIP	5 µg
Acide nalidixique	NA	30 µg
Céfazoline	CZ	30 µg
Entrapénème	ETP	10 µg
Nitrofurantoïne	F	300 µg
Fosfomycine	FO	200 µg
Amoxicilline	AMC	30 µg

5.1.4. Incubation

Une fois le dépôt des disques terminé, les boîtes de Pétri ont été bien fermées et retournées pour éviter la condensation sur la surface de la gélose. Elles ont ensuite été placées dans l'étuve et incubées pendant 24 heures à 37 °C.

5.1.5. Lecture

À l'aide d'une règle, les diamètres des zones d'inhibition autour des disques imprégnés d'extraits ont été mesurés. Les résultats obtenus sont classés en trois niveaux d'activité :

- Souches résistantes (Diamètre < 7 mm).
- Souches sensibles (8 mm < Diamètre <14 mm).
- Souches très sensibles (15 mm < Diamètre <19 mm) (CA-SFM, 2024).

5.2. Etude de la sensibilité des souches étudiées vis-à vis l'huile essentielle par aromagramme

5.2.1. Mode d'opération

L'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des de l'*Origanum vulgare* a été réalisée par la méthode de Vincent, qui repose sur le même principe de l'antibiogramme

(NCCLS, 1997). Des disques stériles en papier Wattman de 6 mm de diamètre, imprégnés avec 20 μ L et (1/2, 1/4) de d'huile essentielle et autre par DMSO comme un contrôle, sont placés à l'aide d'une pince stérile sur la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé avec 100 μ L d'une suspension microbienne dont la turbidité a été réglée à 0,5 selon l'échelle de McFarland. Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées à température ambiante pendant 30 minutes pour permettre la diffusion, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures (**Figure 17**).

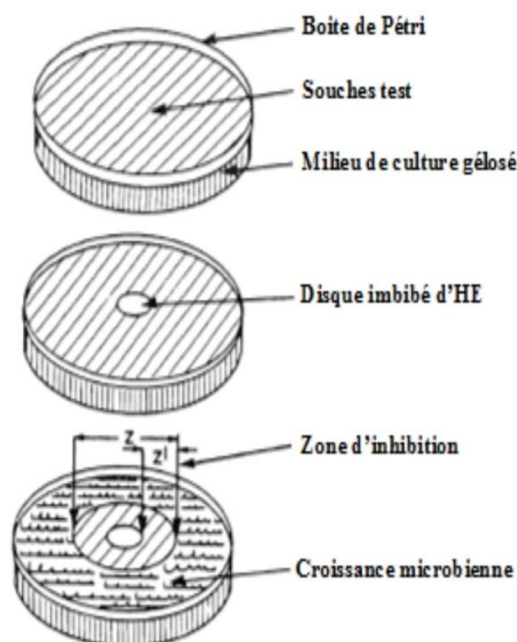


Figure 17: Illustration de la méthode d'aromatogramme (**Zaika, 1988**).

5.2.2. Lecture

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle est évaluée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition formée autour du disque.

5.3. Détermination de la CMI

La concentration minimale inhibitrice (CMI) correspond à la plus faible concentration de la substance empêchant toute croissance bactérienne visible à l'œil nu après une incubation de 18 à 24 heures. Sa détermination a été faite par observation du trouble induit la croissance des germes étudiés dans chaque tube (**Toty et al., 2013**).

- **Mode opératoire**

Chaque tube, contenant 1 ml de bouillon de Mueller-Hinton (MH), est inoculé avec la suspension bactérienne. Par la suite, un volume de 100 μ L correspondant à chaque concentration de la dilution d'huile essentielle (100, 50, 25, 12.5 et 6.25) est ajouté. Un tube témoin, contenant uniquement l'inoculum sans traitement à l'huile, est également préparé afin de servir de contrôle négatif. L'ensemble des tubes est incubé à 37 °C pendant 18 heures. (**Joffin, 2013**).

5.4. Détermination de la CMB

La concentration minimale bactéricide (CMB), est la concentration de l'anti -microbien qui laisse au plus 0.01% de germes survivants (**Morohet al., 2008**).

- **Mode opératoire**

À l'aide d'une anse calibrée à 2 µl, les contenus des tubes ne présentant aucun trouble ont été prélevés, en commençant par celui correspondant à la CMI, puis ensemencés sur une gélose Mueller-Hinton. L'ensemencement s'effectue sous forme de stries individuelles sur le milieu solide (MH), suivi d'une incubation des boîtes de Pétri à 37°C pendant 18 à 24 heures (**Toty et al., 2013**).

5.5. Test de Synergie à l'ampicilline, Céfoxitine et gentamicine

L'activité synergique antimicrobienne se caractérise par l'interaction de deux agents antimicrobiens, tels qu'un antibiotique et un extrait végétal, dont l'association induit une efficacité supérieure à celle obtenue par chacun des composés utilisés isolément. Cette synergie est généralement mise en évidence, in vitro, par une augmentation significative du diamètre de la zone d'inhibition ou par une réduction notable de la concentration minimale inhibitrice (CMI) (**Shanmugam, 2008**).

- **Mode opératoire**

Une gélose Mueller-Hinton (MH) a été préparée dans des boîtes de Pétri, puis ensemencée par écouvillonnage à l'aide d'une suspension bactérienne. L'activité synergique a été évaluée en utilisant des disques de l'Ampicilline (30 µg) seuls et en combinaison avec 10 µL d'extrait de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*, la même chose pour céfoxitine et gentamicine (**Figure18**) La synergie était indiquée par une augmentation de la zone d'inhibition par rapport aux antibiotiques utilisés individuellement (**Zifang et al., 2024**).

- Puits n°1 : Antibiotique seul (AMP), (FOX), (GEN).
- Puits n°2 : Combinaison de l'extrait HE de la plante et de l'antibiotique (AMP), (FOX), (GEN).

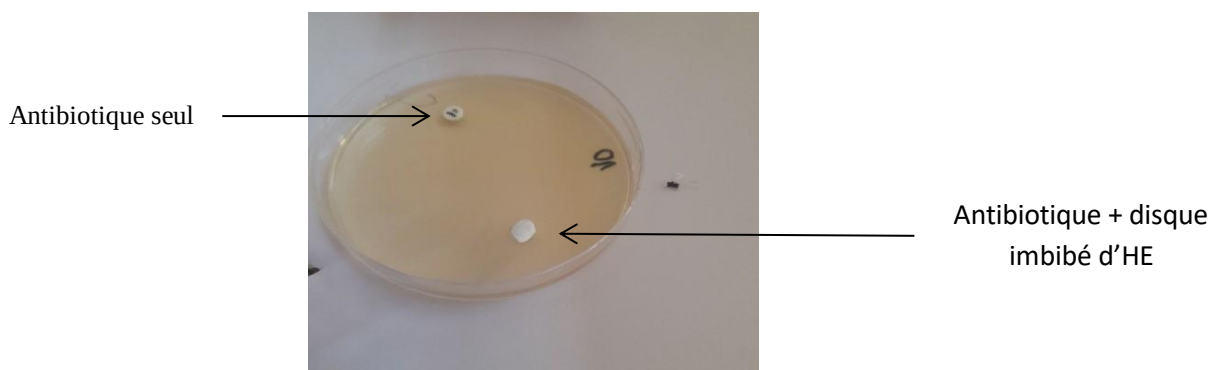


Figure 18: Présentation de la synergie (Antibiotique/HE) (photo personnel).

II. Résultats et discussion

1. Identification des souches bactériennes

1.1 Aspect des colonies sur Muller-Hinton

Les colonies d'*E.coli* apparaissent sur gélose MH sous une taille moyenne à grande, rondes, régulières, lisses, brillantes, de couleur blanchâtre à grisâtre, à bord net et bien délimité (**Figure 19**).



Figure 19: Aspect des colonies d'*E.coli* sur le milieu MH (photo personnel).

1.2 Observation microscopique

- **À l'état frais**

L'examen au microscope optique révèle que la souche d'*Escherichia coli* présente une mobilité sous la forme de bacilles polymorphes.

- **Après coloration de Gram**

L'examen microscopique suite à la coloration de Gram révèle la présence de coccobacilles à Gram négatif, qui apparaissent en rose. (**Tableau 03**).

1.3 Identification biochimique

1.3.1 Recherche des enzymes respiratoires

- **Recherche de la catalase**

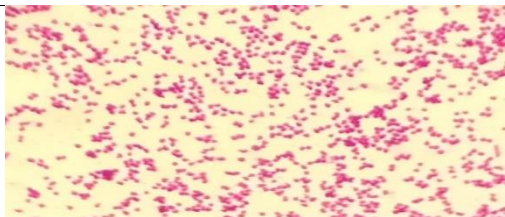
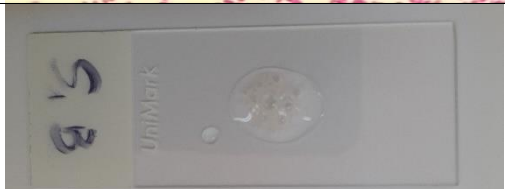
La recherche de la catalase a permis d'observer une libération rapide de bulles d'air après l'ajout de peroxyde d'hydrogène, donc le test a révélé une réaction positive (**Tableau 03**).

- **Recherche de l'oxydase**

La recherche de l'oxydase a permis de visualiser une colonie blanchâtre à grisâtre (la colonie garde sa couleur naturelle), indiquant l'absence de l'enzyme cytochrome oxydase, donc le test a révélé une réaction négative (**Tableau 03**).

Résultats et Discussion

Tableau 3: Résultats obtenus après la coloration de Gram, test de catalase et test d'oxydase.

Test	Résultats
Coloration de Gram <i>E.coli</i> est une bactérie à Gram positif.	
Test de catalase <i>E.coli</i> est une bactérie catalase positive.	
Test de l'oxydase <i>E.coli</i> est une bactérie oxydase négative.	

1.3.2 Identification biochimique par le système API 20E

Après incubation, les résultats obtenus ont été enregistrées dans le tableau 04.

Tableau 4: Résultats biochimiques typiques d'*E.coli* obtenus avec la galerie API 20E.

Test	Résultat
ONPG	+
ADH	-
LDC	+
ODC	+
CIT	-
H ₂ S	-
URE	-
TDA	-
IND	+
VP	-
GEL	-
GLU	+
MAN	+
INO	-
SOR	+
RHA	+
SAC	+
MEL	-
AMY	-
ARA	+

(+) : Résultat positif ; (-) : Résultat négatif.



Figure 20: Profil d'identification d'*E.coli* par le système API 20E (photo personnel).

2. Antibiogramme des souches isolées

Les résultats concernant la sensibilité aux antibiotiques des 13 souches d'*E.coli* sont présentés dans le tableau 05.

Tableau 5: Profil de résistance des souches d'*E.coli* aux antibiotiques.

Souches	AMP	ETP	CZ	AK	FOX	CT	NA	CIP	F	FO	AMC	CXM	CN
<i>E.coli</i> 1	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R
<i>E.coli</i> 2	R	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S
<i>E.coli</i> 3	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	S	S
<i>E.coli</i> 4	R	R	R	S	S	R	S	S	R	S	R	R	S
<i>E.coli</i> 5	R	I	R	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S
<i>E.coli</i> 6	R	S	R	S	S	R	S	I	S	S	R	S	S
<i>E.coli</i> 7	R	I	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	S
<i>E.coli</i> 8	R	S	R	S	S	R	R	I	S	S	R	S	S
<i>E.coli</i> 9	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S
<i>E.coli</i> 10	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	S	S
<i>E.coli</i> 11	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S
<i>E.coli</i> 12	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	S
<i>E.coli</i> 13	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S

S : Sensible

I : Intermédiaire

R : Résistante

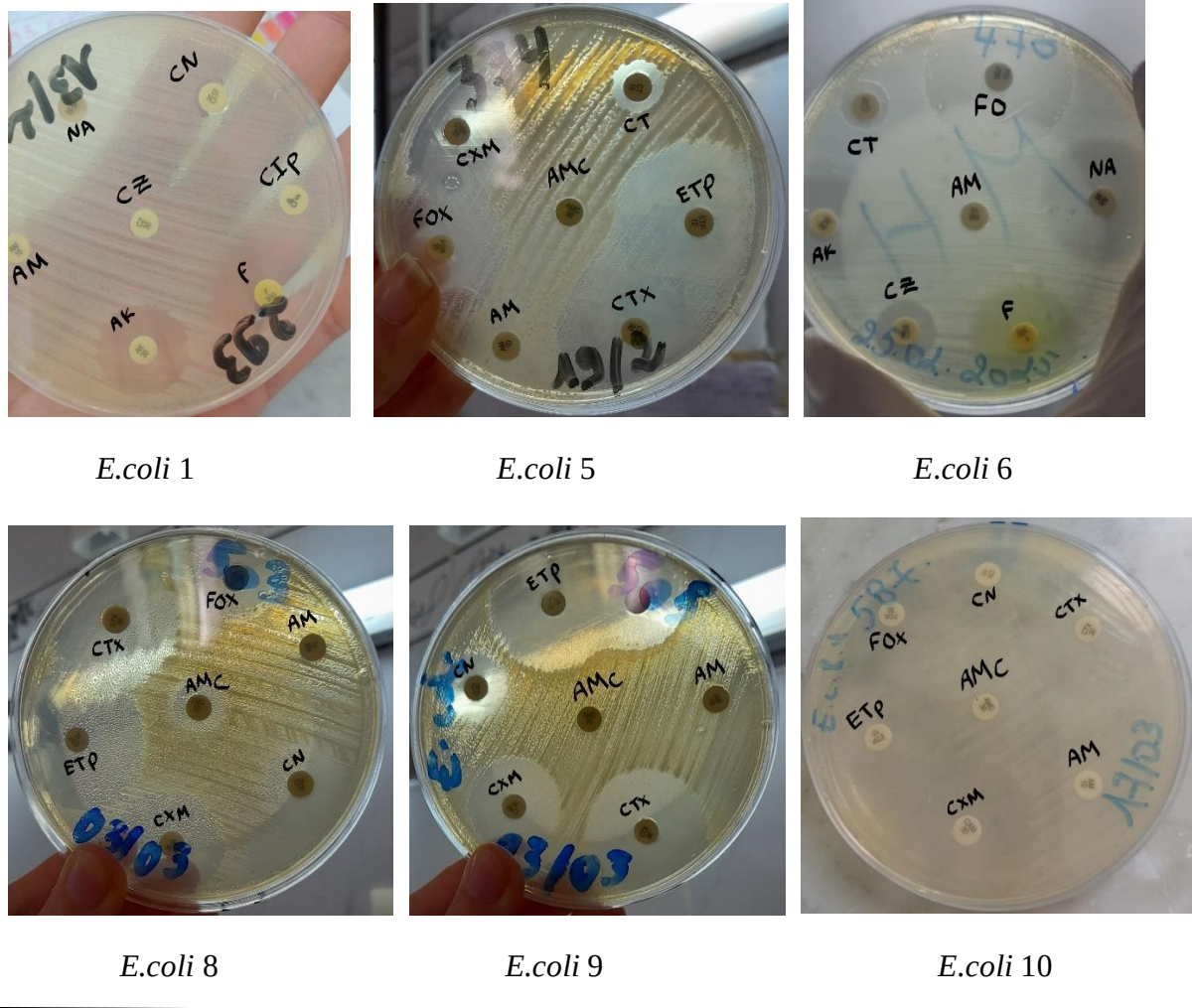


Figure 21: Exemples de résultats d'antibiogramme des souches d'*E.coli* (photo personnel).

L'antibiogramme est un outil essentiel pour établir la sensibilité ou la résistance des bactéries aux antibiotiques.

Les souches d'*E.coli* sont résistantes à l'ampicilline (AMP), à la céfazoline (CZ) et à la céfotétan (CT), et sensibles à l'ertapénène (ETP) et à l'amikacine (AK). Une recherche effectuée par (**Mukherjee et al. 2018**) a mis en évidence une forte résistance à l'ampicilline (environ 70%), tandis que la sensibilité à la gentamicine et à la ciprofloxacin était comparable à celle constatée dans cette étude.

L'amikacine démontre une efficacité notable vis-à-vis de l'ensemble des souches, affichant une sensibilité complète. D'après les résultats obtenus et diverses recherches, l'amikacine demeure la molécule la plus efficace, affichant une sensibilité de 100 % des souches (**Gangoue Piebouji., 2004 ; Wu et al., 2007 ; Djahida., 2011**).

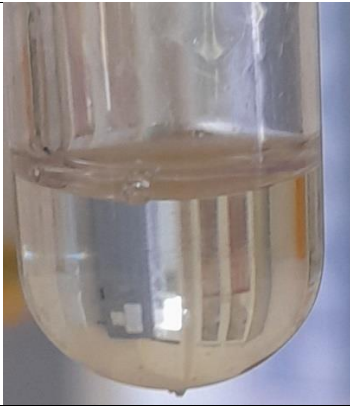
3. Préparation de l'huile essentielle à tester

3.1 Extraction de l'huile essentielle

L'huile essentielle d'*Origanum vulgare*, extraite par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger, apparaît sous la forme d'un liquide huileux, dont la teinte varie du jaune au brun clair, dégageant une forte odeur aromatique, et saveur fortement piquante. Elle présente une solubilité limitée dans l'eau possède une densité supérieure à celle de l'eau.

La couleur et l'aspect de l'huile essentielle obtenue est présenté dans le tableau ci-dessous

Tableau 6: Couleur, aspect et rendement d'HE d'*Origanum vulgare*.

Huile essentielle Figure	
Couleur	Jaune
Aspect	Liquide
Rendement	1%

3.2 Rendement de l'huile essentielle

À partir de 200 g de matière végétale sèche d'*O.vulgare*, un rendement en huile essentielle de 1% a été obtenu, ce qui correspond à un volume de 2 ml d'HE.

Ce résultat est proche de celui rapporté par (MAHFOUF, 2018), qui a trouvé un rendement d'*Origanum vulgare* de 1,15%. Cette légère différence peut s'expliquer par plusieurs facteurs :

- ✓ La période d'hydrodistillation ;
- ✓ La durée de séchage ;
- ✓ Le ratio Eau/Matière végétale ;
- ✓ La température de chauffage (Fadil et al., 2014).

4. Activité antioxydante d'HE d'*Origanum vulgare*

4.1 Test de DPPH

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*O.vulgare*, réalisée à l'aide du test de piégeage du radical DPPH. Il est largement reconnu que lorsqu'une solution de DPPH est combinée avec celle d'une substance riche en antioxydants, le radical libre stable DPPH (de

Résultats et Discussion

couleur violet foncé) se transforme en 1,1-diphényl-2-picryle hydrazine, ce qui provoque une décoloration qui peut être facilement quantifiée par spectrophotométrie à 517 nm (**Molyneux, 2004**).

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle par la méthode DPPH a montré une inhibition radicalaire dépendante de la concentration. On a constaté que la plante a une forte activité antioxydante d'une valeur maximale de 80,6%. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés dans une étude de (**Walasek-Janusz et al, 2024**) qui ont déterminés l'activité antioxydante d'huile essentielle d'*Origanum vulgare* où les valeurs varient entre 71,42-80,44%, la valeur que nous avons obtenue dans notre recherche est légèrement plus élevée et reste cohérente avec ces résultats, ceux-ci montrent que HE extraite et étudiée dans notre recherche a une bonne activité antioxydante.

5. Evaluation de l'activité antibactérienne d'HE d'*Origanum vulgare*

L'évaluation de l'activité antibactérienne d'HE d'*Origanum vulgare* a été réalisée par la méthode de diffusion sur disques (aromatogramme).

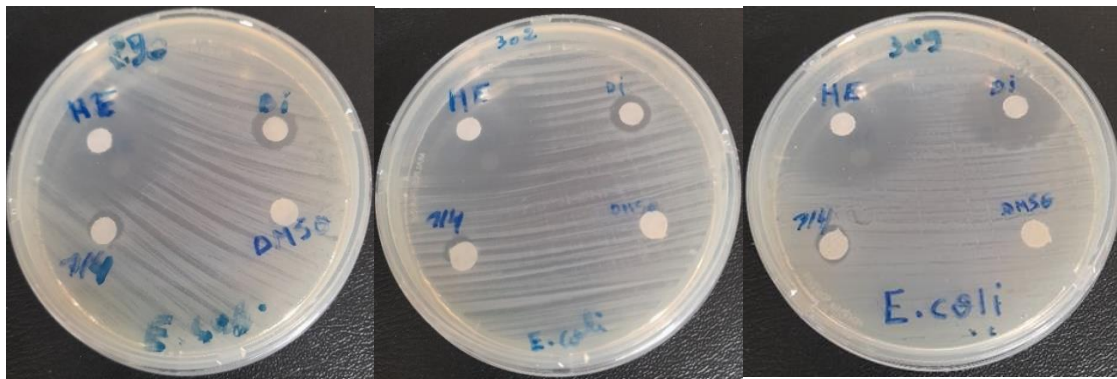
5.1 Méthode de diffusion sur disques

Les résultats concernant l'activité antibactérienne d'HE extraite des feuilles de la plante *Origanum vulgare* sur 13 souches de l'espèce *Escherichia coli* sont présentés dans le tableau 07.

Tableau 7: Diamètres des zones d'inhibitions (mm) d'HE d'*Origanum vulgare* vis-à-vis de 13 souches d'*E.coli* par la méthode des disques.

Souche	HE	Di (1/2)	Di (1/4)	DMSO
<i>E.coli</i> 1	38	12	8	6
<i>E.coli</i> 2	33	11	8	6
<i>E.coli</i> 3	35	10	6	6
<i>E.coli</i> 4	35	23	7	6
<i>E.coli</i> 5	13	10	9	6
<i>E.coli</i> 6	22	9	6	6
<i>E.coli</i> 7	23	11	8	6
<i>E.coli</i> 8	42	13	11	6
<i>E.coli</i> 9	35	11	11	6
<i>E.coli</i> 10	36	16	12	6
<i>E.coli</i> 11	32	22	9	6
<i>E.coli</i> 12	36	12	7	6
<i>E.coli</i> 13	41	12	10	6

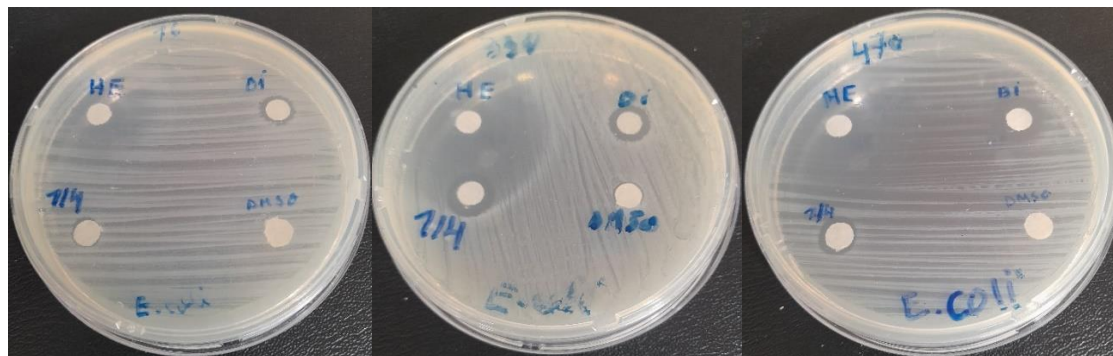
Résultats et Discussion



E.coli 1

E.coli 2

E.coli 3



E.coli 4

E.coli 5

E.coli 6



E.coli 7

E.coli 8

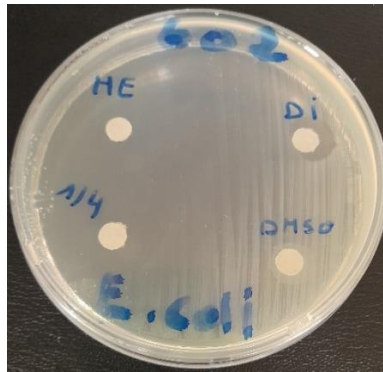
E.coli 9



E.coli 10

E.coli 11

E.coli 12



E.coli 13

Figure 22: Zones d'inhibition observées lors de l'aromatogramme d'*E.coli* /HE d'*O.vulgare*.

L'aromatogramme mesure l'activité antibactérienne des huiles essentielles en les confrontant directement aux bactéries. Les résultats du test de diffusion sur disque ont été évalués de la manière suivante :

- non sensible (-) pour un diamètre inférieur ou égal à 8,0 mm,
- sensibilité modérée (+) pour un diamètre variant entre 8,0 et 14,0 mm,
- sensible (++) pour un diamètre allant de 14,0 à 20,0 mm
- et très sensible (+++) pour un diamètre égal ou supérieur à 20,0 mm (**Djabou et al., 2013**).

Les résultats obtenus révèlent que l'HE de cette plante présente un fort potentiel antibactérien contre les souches d'*E.coli* testées, avec des zones d'inhibition variant entre 13 et 42 mm pour 10 μ l d'HE seule, entre 9 et 23 mm pour la dilution 1/2 (5 μ l de DMSO et 5 μ l d'HE), entre 6 et 12 mm pour la dilution 1/4 (7,5 μ l de DMSO et 2,5 μ l d'HE), et 6 mm pour 10 μ l de DMSO seul (tableau 05).

Nous avons comparé nos résultats à ceux de (**Mahfouf, 2018**) ayant évaluée l'activité antibactérienne de l'HE d'*O.vulgare* qui a démontré une activité remarquable sur la plupart des souches bactériennes évaluées, avec des diamètres des zones d'inhibition variant de 20,6 à 32,6 mm pour *E.coli*. Les résultats de notre étude dépassent la gamme rapportée dans cette étude.

Par ailleurs, une recherche menée par (**Bouzidi et al. 2017**) dans laquelle, les zones d'inhibition de la croissance des souches d'*E.coli* obtenues sont d'un diamètre de 20 mm pour l'HE d'*O.vulgare* vis-à-vis de ses souches, ce qui est nettement inférieur à la valeur maximale observée dans notre étude (42 mm), cette différence suggère une meilleure efficacité de l'HE testée dans notre travail.

Les zones d'inhibition que nous avons mesurées pour *E.coli* surpassent de manière significative celles rapportées par (**Imtara et al. 2018**) qui étaient respectivement de $32,5 \pm 3,54$ mm. Ces résultats suggèrent un pouvoir antibactérien meilleur pour l'HE que nous avons étudié.

Résultats et Discussion

5.2 Détermination des CMI

Les résultats des CMI de l'huile essentielle extraite d'*Origanum vulgare* sont regroupés sur le tableau 08.

Tableau 8: Les CMI d'HE d'*Origanum vulgare* vis-à-vis des souches testées d'*E.coli*.

Souches	CMI (µg/ml)
<i>E.coli</i> 1	12.5
<i>E.coli</i> 2	12.5
<i>E.coli</i> 3	25
<i>E.coli</i> 4	12.5
<i>E.coli</i> 5	12.5
<i>E.coli</i> 6	12.5
<i>E.coli</i> 7	12.5
<i>E.coli</i> 8	25
<i>E.coli</i> 9	12.5
<i>E.coli</i> 10	12.5
<i>E.coli</i> 11	12.5
<i>E.coli</i> 12	25
<i>E.coli</i> 13	25

Les valeurs des CMI d'*E.coli* varient de 12,5 à 25 µg/ml, nous avons adopté l'échelle de classification de (Aligiannis et al, 2001) pour interpréter les valeurs des CMI. D'après leur point de vue, un extrait serait considéré comme ayant une forte inhibition si sa CMI est inférieure à 0,5 mg/ml, et modérée s'il se situe entre 0,6 et 1,5 mg/ml et finalement jugée faible si elle dépasse 1,6 mg/ml.

Nous avons également comparé nos résultats avec ceux d'une autre étude de (Tejada-Muñoz et al, 2024) ayant déterminés la CMI d'HE d'*O.vulgare* sur la souche *E.coli* avec une valeur de 0,49 mg/ml (soit 490 µg/ml) cette valeur est beaucoup plus élevée que nos résultats ce qui montre que notre HE est plus efficace à plus faible dose.

Les résultats que nous avons obtenus sont nettement plus faibles que cette rapportées dans une autre étude de (L. Brito et al, 2024) où la CMI était de 256 µg/ml. Cette différence suggère que notre HE est efficace et pourrait, à une concentration relativement basse, inhiber la croissance bactérienne, car une CMI plus faible indique une activité antibactérienne plus forte.

Selon (Teixeira Durate et al, 2005), toute huile essentielle ayant une CMI inférieure à 2000 µg/ml est dotée d'une grande capacité antimicrobienne. L'huile essentielle d'*O.vulgare* possède un effet antibactérien sur la souche *E.coli*.

5.3 Détermination des CMB

Les résultats des CMB de l'huile essentielle extraite d'*O.vulgare* sont présentées dans le tableau 09.

Tableau 9: Les CMB d'HE d'*Origanum vulgare* vis-à-vis des souches testées d'*E.coli*.

Souches	CMB (µg/ml)
<i>E.coli</i> 1	12,5
<i>E.coli</i> 2	25
<i>E.coli</i> 3	25
<i>E.coli</i> 4	12,5
<i>E.coli</i> 5	25
<i>E.coli</i> 6	25
<i>E.coli</i> 7	12,5
<i>E.coli</i> 8	50
<i>E.coli</i> 9	12,5
<i>E.coli</i> 10	12,5
<i>E.coli</i> 11	25
<i>E.coli</i> 12	25
<i>E.coli</i> 13	25

Selon les données présentées dans le tableau 09, les valeurs des CMB pour les souches d'*E.coli* fluctuent respectivement de 12,5 à 50 µg/ml. **Burt et al. (2004)** ont démontré que les huiles essentielles, notamment celle d'origan, présentent une efficacité à des concentrations élevées pour éliminer *E. coli*, ce qui confirme nos propres observations.

Une recherche menée par (**Mihaylova et al, 2022**) a indiqué que la CMB était de 4µg/ml une valeur qui suggère que leur l'huile est plus puissante que la nôtre, cette différence pourrait être attribuée à des variations dans la composition chimique des huiles, la méthode d'extraction ainsi que les conditions expérimentales.

Nous avons également comparé nos résultats avec ceux d'autre étude de (**Tejada-Muñoz et al, 2024**) qui ont rapporté une CMB bien plus élevée atteignant 0,99 mg/ml (soit 990 µg/ml) cette différence suggère que notre huile essentielle est plus active, car elle exerce un effet bactéricide à des concentrations nettement plus faibles.

5.4 Détermination de rapport CMB/CMI

Tableau 10: Le rapport CMB/CMI d'HE d'*Origanum vulgare* vis-à-vis des souches testées d'*E.coli*.

Souches	CMB/CMI	Résultats
<i>E.coli</i> 1	1	Bactéricide
<i>E.coli</i> 2	2	Bactéricide
<i>E.coli</i> 3	1	Bactéricide
<i>E.coli</i> 4	1	Bactéricide
<i>E.coli</i> 5	2	Bactéricide
<i>E.coli</i> 6	2	Bactéricide
<i>E.coli</i> 7	1	Bactéricide
<i>E.coli</i> 8	2	Bactéricide
<i>E.coli</i> 9	1	Bactéricide
<i>E.coli</i> 10	1	Bactéricide

Résultats et Discussion

Souches	CMB/CMI	Résultats
<i>E.coli</i> 11	2	Bactéricide
<i>E.coli</i> 12	1	Bactéricide
<i>E.coli</i> 13	1	Bactéricide

Le rapport CMB/CMI est utilisé pour évaluer si l'agent antimicrobien exerce principalement une action bactériostatique, c'est-à-dire inhibant la croissance des bactéries, ou une action bactéricide, qui consiste à éliminer les bactéries.

Un rapport $CMB/CMI \leq 2$ est habituellement interprété comme révélant une activité bactéricide, alors qu'un rapport >2 suggère une activité bactériostatique.

Selon les données recueillies, le rapport CMB/CMI varie de 1 à 2 (moins de 4), ce qui attribue à l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* à une activité bactéricide contre les souches testées, les résultats sont portés dans le tableau 08.

Cela indique que l'huile essentielle ne se limite pas à inhiber la croissance d'*E. coli*, mais qu'elle a également la capacité de la neutraliser.

D'après une recherche menée par (Benkeblia, 2011) le rapport CMB/CMI pour l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* contre *E. coli* était également d'environ 2,0, ce qui valide nos résultats et renforce l'efficacité antibactérienne de cette huile essentielle contre ce micro-organisme pathogène.

D'après plusieurs études scientifiques (Cetin et al., 2011 ; Wallar et al., 2016 ; Gong et al., 2014 et Jnaid et al., 2016), le carvacrol et le thymol sont identifiés comme les principaux composants de l'huile essentielle d'*O. vulgare*. Ces deux composés, qui présentent des structures similaires, semblent exercer un effet synergique en augmentant la perméabilité de la membrane cellulaire (Lambert et al., 2001).

Le thymol a été précédemment signalé comme capable de perturber la membrane bactérienne, influençant à la fois le gradient de pH et le flux d'électrons à travers celle-ci (Helander et al., 1998 ; Lambert et al., 2001).

5.5 Test de synergie

5.5.1 Détermination de la synergie de l'huile essentielle de la plante étudiée et l'ampicilline, la gentamicine, et la céfoxitine

Tableau 11: Diamètres des zones d'inhibitions (mm) de la combinaison d'HE d'*Origanum vulgare* avec l'ampicilline, la gentamicine, et la céfoxitine.

Souches	AMP seul	HE+AMP	GEN seul	HE+GEN	FOX seul	HE+FOX
<i>E.coli</i> 4	6	18	19	22	29	40
<i>E.coli</i> 10	6	23	25	32	20	30

Selon les données présentées dans le tableau 09, une synergie notable a été observée grâce à l'association de l'ampicilline et de l'huile essentielle d'*O. vulgare*.

Résultats et Discussion

Les diamètres d'inhibition variaient entre 18 et 23 mm. Il est important de noter que les zones d'inhibition mesurées sont supérieures à celles de l'antibiotique testé seul (**Voir figure 23**).

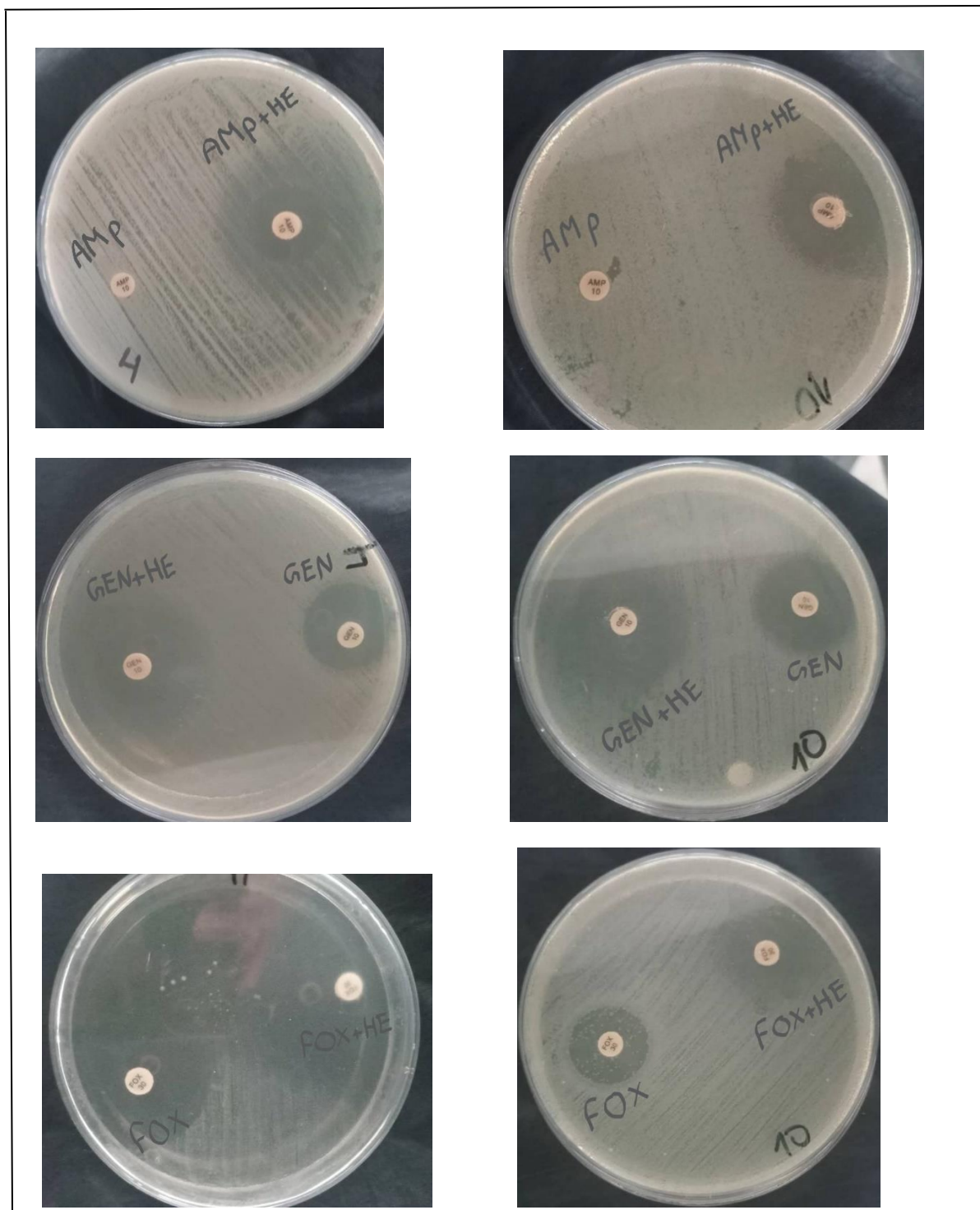


Figure 23: L'effet synergique obtenu par de la combinaison AMP/HE, GEN/HE, et FOX/HE vis-à-vis d'*E.coli* (photo personnel).

Actuellement, les mécanismes par lesquels les composés chimiques présents dans les extraits interagissent en synergie avec les antibiotiques demeurent inexpliqués.

Résultats et Discussion

Les résultats obtenus avec les antibiotiques ; gentamicine et céfoxitine montrent une augmentation modérée des diamètres d'inhibition en présence de l'HE d'*O.vulgare*, pour la gentamicine les diamètres passent de 19 mm à 22 mm pour la souche 4 et de 25 mm à 32 mm pour la souche 10, concernant la céfoxitine, les diamètres augmentent de 29 mm à 40 mm pour la souche 4 et de 20 mm à 30 mm pour la souche 10.

En effet, pour les deux souches testées, l'AMP seul présente une faible activité (zone d'inhibition de 6 mm), tandis que son association avec l'HE entraîne une augmentation significative des diamètres d'inhibition (18 mm et 23 mm) traduisant un effet synergique puissant, en comparaison, les antibiotique GEN et FOX montrent déjà une bonne activité seuls (zones de 19 à 29 mm), et l'ajout de l'HE entraîne une amélioration modérée des diamètres (gains de 3 à 11 mm).

Toutefois, certains chercheurs avancent l'hypothèse d'un effet combiné sur la perméabilité de la membrane cytoplasmique des microorganismes, ce qui favoriserait l'entrée des antibiotiques (**Sibanda., 2007**) ; ou encore d'une inhibition des β -lactamases (**Kusuda et al., 2006 ; Eumkeb et al., 2010**).

Une autre étude de (**Oliveira Ribeiro, Fontaine et al. 2020**) a rapporté un indice FIC de 1,25 pour l'association d'HE d'origan avec des antibiotiques tels que l'ampicilline ou la pénicilline contre *E.coli* indiquant une interaction indifférente, en revanche, notre étude a montré une augmentation notable des diamètres d'inhibition lors de l'association de l'HE d'*O.vulgare* avec l'ampicilline ce qui suggère un effet synergique ou additif, bien que les méthodes utilisées soient différentes (FIC par microdilution vs test de diffusion).

Dans une autre recherche de (**Brito-Junior et al, 2024**) qui ont examiné l'effet combiné d'HE d'*O.vulgare* avec l'ampicilline et la gentamicine sur quatre souches d'*E.coli* et ont rapporté des résultats hétérogènes voire parfois antagonistes, en revanche, dans notre étude l'association HE+AMP ou GEN a toujours amélioré l'activité antibactérienne vis-à-vis les deux souches testées, cela suggère une interaction synergique ou additive contrairement à certains résultats de cette étude.

Conclusion

Au terme de ce travail, nous avons pu mettre en évidence l'activité antibactérienne significative de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* vis-à-vis des souches hospitalières d'*Escherichia coli* isolées à partir de prélèvements urinaires. L'extraction de l'HE a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger a donné un rendement de 1%.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle in vitro par la méthode des disques a révélé une activité fortement inhibitrice avec des zones d'inhibition variant de 13 à 42 mm. Les CMI obtenues (12,5 à 25 µg/ml) et les CMB (25 à 50 µg/ml) indiquent une activité bactéricide notable. Ces résultats peuvent être attribués à la richesse de l'HE en composés phénoliques actifs, notamment le carvacrol et le thymol, reconnus pour leurs propriétés antibactériennes puissantes.

Il est important de souligner que les souches étudiées sont hospitalières, et donc dotées d'une résistance bactérienne aux antibiotiques usuels, le fait d'observer des résultats révélant une bonne activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* testée vis-à-vis des souches étudiées, ceci laisse entrevoir une nouvelle approche d'une véritable alternative thérapeutique.

Ce travail met ainsi en lumière le potentiel des huiles essentielles dans la lutte contre les infections bactériennes multirésistantes. L'HE d'*Origanum vulgare* a révélé une activité antibactérienne significative contre des souches cliniques multi-résistantes et pourrait ainsi servir de traitement alternatif aux antibiotiques qui deviennent de plus en plus inefficaces face aux bactéries ayant développé une résistance, voir une multi résistance à ces agents thérapeutiques.

En conclusion, cette étude nous a permis de valoriser une plante médicinale aux propriétés intéressantes, et de contribuer à l'exploration de solutions innovantes face au défi mondial de l'antibiorésistance. Elle constitue une étape préliminaire qui a permis de tester des composés potentiels, les résultats obtenus in vitro mériteraient d'être ensuite validés par des études in vivo sur des organismes vivants.

Références bibliographiques

A

Abalé Anatole Toty, N. G. (2013). Évaluation in-vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 82, 51-62.

AFNOR(1986). Recueil des Normes Françaises <<huiles essentielles>>, AFNOR. Paris; 57p.

Agatonovic-Kustrin, S. B. (2024). *Mint family herbs (Lamiaceae) and antidiabetic potential.* (R. P. Rajendram, Éd.) CRC Press.

Al-Agha, A. G.-K.-A. (2017). Isolation and Identification of *Klebsiella pneumoniae* using API-20E analytical system and conventional PCR assay. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(8), 203–210.

Aligiannis, N., Kalpotzakis, E., Mitaku, S. and Chinou, I.B. (2001). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two *Origanum* Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40: 476-484.

Aniszewski, T. (2007). Alkaloids - secrets of life: alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role (Amsterdam; Oxford: Elsevier).

Oreopoulou Antigoni, Tsimogiannis Dimitrios and Oreopoulou Vassiliki, (2019). Extraction of Polyphenols From Aromatic and Medicinal Plants: An Overview of the Methods and the Effect of Extraction Parameters. 243-260.

Arcan, I., Arcan, O., & Özek, N. (2021). *Origanum vulgare* L.: A Comprehensive Review on Its Phytochemistry, Biological Activities, and Applications. Academic Press.

B

BAHORUN T., GRESSIER B., TROTIN F., BRUNET C., DINE T., LUYCKX M., VASSEUR J., CAZIN M., CAZIN J. C., and PINKAS M., 1996. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung/Drug Research* 46 II (11): 1086 – 1089.

Bajpai, V. K., Shukla, S., & Kang, S. C. (2008). Chemical composition and antifungal activity of essential oil and various extract of *Silene armeria* L. *Bioresource Technology*, 99(18), 8903–8908.

Bardeau Fabrice., 2009. Les huiles essentielles. P : 315.

Bartel, A., (1997). Guide des plantes du bassin méditerranéen, Ed Eugen welmer. Paris : 400p

Baudoux, D. (2017). L'aromathérapie : Se soigner par les huiles essentielles. Éditions Amyris.

BEAUDOUX D. (2017) Aromathérapie : biochimie des molécules, propriétés pharmacologiques, indications thérapeutiques, Dunod. ed . Malakoff.

Belaiche, P. (1979). Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Edition Maloine-S-S, tome I. Beloued. pp 54 -70.

Benaissa O. (2011). Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. Activité Biologique. Université Mentouri Constantine, Algérie.

BENCHEIKH Salah Eddine. (2017). Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium ssp Aurasianum Labiatae*. Thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat (LMD), spécialité : génie des procédés et environnement. Université Kasdi Merbah – Ouargla.

Benkeblia N., Lanzotti V., (2011). « Allium thiosulfinates: Chemistry, biological properties, and their potential utilization in food preservation », Journal of Food Science, 76(6), p. R113-R122.

Billerbeck V.G., Roques C., Vanière P., Marquier P., (2020). Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles publication scientifique revue Hygienes. N°3.

Bily NEBI. (2023). Composition chimique et activités biologiques d'huiles essentielles obtenues par co-distillation de quelques plantes aromatiques du Burkina Faso. Thèse Unique de Doctorat présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur de l'Université Nazi BONI.

Bouaziz Alexandra Lyor Bouaziz. (2022). Identification de métabolites secondaires des plantes, protecteurs des photorécepteurs à cônes pour le traitement de la rétinopathie pigmentaire. Thèse présentée à l'institut de la vision, pour l'obtention du grade de Docteur en science de l'université pierre et marie curie – paris 6 –. École doctorale ed3c.

Boutamani Mériem. (2013). Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du *Curcuma longa* et *Myristica fragrans* en fonction du temps et de la technique utilisée. Mémoire de Master, domaine : chimie des médicaments. Université de Houari Boumediene Alger.

Bouzidi N., Aouni M., Touati A., Abbassi M.S., 2017, « Distribution of virulence factors and their association with antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Egypt », BMC Microbiology, 17, p. 77.

Bouyahya, A. et al. (2018). Phytothérapie, 16(S1), 173–183.

Brand-Williams W., C. M. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology.*, 28, 25-31.

Brito-Junior. L., Brito. H.C., Simões. M. M., Santos. B., Marques. F. M. C., Medeiros. M. A. A., Alves. M. S., Farias. J. H. A., Pereira. C. T., Diniz. A. F., Oliveira-Filho. A. A., and Vilela. V. L. R. (2024). Evaluation of the antibacterial activity of essential oils from oregano (*Origanum vulgare*) against *Escherichia coli* strains isolated from meat products. vol. 84, e286183.

Brown, S., (2014). Study: Community Based Ecological Mangrove Rehabilitation (CBEMR) in Indonesia. From small (12-33 ha) to medium scales (400 ha) with pathways for adoption at larger scales (> 5000 ha) SAPI EN. S. Surveys and Perspectives Integrating Environment and Society, (7.2).

Bruneton J ., (1999). Pharmacognosie phytochimie plant médicale. 3^{ème} édition, Tec & Doc et EM inter, P : 1120.

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 4e éd, revue et augmentée, Paris, Tec & Doc, Editions médicales internationales, 1288p. Dibong SD, Mpondo Mpondo E, Ngoye A, Kwin NF, Betti JL.2011a. Enthobotanique et phytomédecine des plantes médicinales vendues sur les marchés de Douala, Cameroun. *Journales of Applied Biosciences*. 37: P: 2496-2507.

Bruneton, P. (1993), Geological environment of the Cigar Lake uranium deposit, *Canadian Journal of Earth Sciences*, 30(4) 653-673.

C

CA-SFM. (2024). Rapport annuel sur la résistance aux antibiotiques en Algérie. Ministère de la Santé.

Caubet Betty. (2020). Etude de l'activité d'huiles essentielles sur des souches bactériennes. THÈSE Pour obtenir le grade de DOCTEUR VÉTÉRINAIRE, Présentée et soutenue publiquement devant LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL.

Cetin, B., Cakmakci, S., Cakmakci R. (2011). The investigation of antimicrobial activity of thyme and oregano essential oils. *Turk agric for.*, 35, 145-154.

Charabot. E., J. Dupont., L. Pillet. (1899). Les huiles essentielles et leurs principaux constituants. Paris.

Clément, P., R. (2005). Aux racines de la phytothérapie : entre tradition et modernité (1^{ère} partie) *À Législation*. 4, 171-5.

Clevenger, J.F. (1928). Apparatus for volatile oil determination, *Description of New Type.American Perfumer & Essentielle Oil Review*, P:467-503.

Clive P. Page, Michael J., Curtis, Morley C., Sutter, Michael J., Walker, Brian B., Hoffman. (1999). Pharmacologie intégrée. De Boeck Université. Paris, Bruxelles. 420 p.

D

Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 74(3), 417–433.

Denis, F., Ploy, M.-C., Martin, C., Bingen, É., & Quentin, R. (2007). *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. Paris: Elsevier Masson.

Dey, P.M., Harborne, J.B. (1991): Methods in plant biochemistry. Volume 7, Terpenoids. Academic press.

Djabou N., Lorenzi V., Guinoiseau E., Andreani S., Giuliani M.C., Desjobert J.M., Bolla J.M., Costa J., Berti L., Luciani A. & Muselli A., (2013). Phytochemical composition of Corsican Teucrium essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxi-infectious pathogens. *Food Control*. 30 : 354-363.

Dominique, G., Zoubida, C. (2005). Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (*Argania spinosa*). *Cahiers Agricultures*, pp 509-516.

Dudareva, N., Martin, D., Kish, C.M., Kolosova, N., Gorenstein, N., Faldt, J., Miller, B., and Bohlmann, J. (2003). (E)-beta-ocimene and myrcene synthase genes of floral scent biosynthesis in snapdragon: function and expression of three terpene synthase genes of a new terpene synthase subfamily. *The Plant cell* 15, 1227-1241.

Duval, Mélodie & Cossart, Pascale. (2019). Un nouveau mécanisme de résistance aux antibiotiques : Le recyclage des ribosomes médecine/sciences. 35. 611-613. 10.1051/medsci/2019117.

E

Ekor, M. (2014). The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *frontiers in pharmacology*, 4.

EL HAIB Abderrahim. (2011). Valorisation de terpenes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques, thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de toulouse, discipline ou spécialité : chimie organique et catalyse.

EL-Rhaffari L., Zaid. A. (2004). Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc. Un savoir empirique pour une pharmacopée renouvelée. origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopée savantes. 293-318.

El Sayde Haykle M., (1993). Plantes médicinales et aromatiques 2^{ème} édition, installation connaissances d'Alexandrie, P : 13-134.

Eumkeb, G., Sakdarat, S. and Siriwong, S. (2010). Reversing β -lactam antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* with galangin from *Alpinia officinarum* Hance and synergism with ceftazidime. *Phytomedicine.*, 18, 40–45.

F

Fadil, M., Farah A., Ihssane, B., Haloui, T., Rachiq, S. (2014). *Int. J. Innov. Appl. Stud.*, 8 (2014) 372.

Faraj Atiyat A., (1995). Plantes médicinales et aromatiques dans le monde arabe l'agriculture et la fabrication de plantes médicinales dans le monde arabe. Institution arabe pour les études et publication.

Farhat, Asma. (2010). Microwave steam diffusion: conception, optimization and application.

FAUCON M., LOBSTEIN A., MALAQUIN-PAVAN É. (2017) Traité d'aromathérapie scientifique et médicale, les huiles essentielles : fondements et aide à la prescription.

FIGUEREDO, G. (2007). *Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origan (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne.* Clermont-Ferrand : Université Blaise Pascal.

Fournet. A, F. Roblot, Cavé. A, Richomme. P. (1993). Les chimanines, nouvelles quinoléines substituées en 2, isolées d'une plante bolivienne antiparasitaire : *Galipea Longiflora*, *Journal of natural products*, 56(9) 1547-1552.

G

Gangoué Piéboji, J., Koulla-Shiro, S., Ngassam, P., Adiogo, D., Njine, T., Ndumbe, P. (2004). Antimicrobial resistance of Gram-negative bacilli isolates from inpatients and outpatients at Yaounde Central Hospital, Cameroon. *International J. Infect. Dis.*, 8, 147-154.

Gong, H.Y., Liu, W.H., LV, G.Y., Zhou, X. (2014) Analysis of essential oils of *Origanum vulgare* from six production areas of China and Pakistan. *Revista Brasileira de Farmacognosia.*, 24, 25-32.

Goudjil, Mohamed. (2016). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. 10.13140/RG.2.2.11204.65926.

Green, R. J. (2017). *Natural Therapies for Emphysema and COPD: Relief and Healing for Chronic Pulmonary Disorders.* Rochester : Healing Arts Press.

GUEFFAL Soulaf & ZENGUI Mesbah (2021). Valorisation des huiles essentielles des feuilles de citron. Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Master Académique, Spécialité : Génie Pétrochimique. Université KASDI-MERBAH Ouargla.

H

Helander, I.M., Alakomi, H.L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E.J., Leon, G.M.G., Atte, V.W. (1998). Characterization of the action of selected essential oils on gram negative bacteria. J. Agric. Food Chem., 46, 3590-3595.

Heshelow Emma. (2023). Huile Essentielles Pour Les Débutants, 268p.

Huemer, M., Mairpady Shambat, S., Brugger, S. D., & Zinkernagel, A. S. (2020). Antibiotic resistance and persistence – Implications for human health and treatment perspectives. EMBO Reports, 21(12), e51034.

Huret. J, J. Cigna, V. Leberre (2012), Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology in 2013, Nucleic acids research 41(D1) D920-D924.

I

Ietswaart, J. H. (1980). *Taxonomic Revision of the Genus Origanum (Labiatae)* (Vol. 4). The Hague, Netherlands: Leiden University Press.

Imtara, H., Elamine, Y., Lyoussi B. (2018) Honey antibacterial effect boosting using *Origanum vulgare* L. essential oil. Evidence based complementary medicine. ID 7842583., 14.

Institute (2023). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (éd. 33^e édition). (C. a. Institute, Éd.) Wayne, Pennsylvania, USA.

J

Zahalka Jean-Philippe. (2010). Les huiles essentielles. Paris: 367.

Jnaid, Y., Yacoub, R., Al Biski, F. (2016) Antioxidant and antimicrobial activities of *Origanum vulgare*. International food research journal, 23(4),1706.

Joffin, C. &-N. (2013). *Dictionnaire des techniques de microbiologie (Nouvelle édition actualisée)*. Paris: BoD - Books on Demand.

K

Karaman, İ. &. (2017). Obtained of the essential oil, identified of chemical compositions and tested biological activities of *Ziziphora tenuior* that was collected from Eagen Sea region. *Actes du 1er Congrès International des Plantes Médicinales et Aromatiques (TABKON 2017)*. Konya, Turquie.

Key, E. (2014). *Thyme Oregano: More Than 30 Ways To Use Them*. Handy book sereis.

Kintzios, S. E. (2002). *Oregano: The Genera Origanum and Lippia (Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles)* (éd. Taylor & Francis).

Koffi Allali Eugène. (2013). Étude de l'activité antibactérienne d'extraits de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redhead (Rubiaceae), sur la croissance *in vitro* de souches cliniques et de souches environnementales de *Vibrio cholerae* O : 1. THÈSE Présentée pour l'obtention du Titre de Docteur de l'Université Félix HOUPHOUËT- BOIGNY, Spécialité : Biochimie- Pharmacologie des substances Naturelles.

Kusuda, M., Inada, K., Ogawa, T.O., Yoshida, T., Shiota, S., Tsuchiya, T., Tsuchiya, T., Hatano, T. (2006). Polyphenolic constituent structures of *Zanthoxylum piperitum* fruit and the antibacterial, effects of its polymeric procyanidin on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry.*, 70, 1423–31.

L

Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P., Nychas, G.J.E. (2001) A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.*, 9, 453–462.

Legrand, G. (1994). Manuel du préparateur en pharmacie à l'usage des élèves préparateurs, et étudiants stagiaires en pharmacie. Edition : Elsevier Masson. Paris. pp 1-20.

Leyva-López, N., Nair, V., Ramos-Lopez, G., Badillo-Castillo, V., Ventura-Zapata, E., Perez-Montes, V., & Aguilar-Gonzalez, F. (2017). Essential Oils of Oregano: Biological Activities and Strategies for Their Incorporation in Foods. *Molecules*, 22(12), 1-28.

Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., Vazquez-Olivo, J., & Heredia, J. B. (2019). Orégano (*Origanum vulgare*) extract for food preservation and improvement in gastrointestinal health. *Molecules*, 24(7), 1334.

Lizandro Gonzales., Stella M. Chenet., and Rafael Tapia-Limonchi. (2024). Antimicrobial Activity of *Origanum vulgare* Essential Oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Loomis, D., Croteau, R. (1980). Biochemistry of Terpenoids: A Comprehensive Treatise. In: P. K. Stumpf and E. E. Conn (eds.) the Biochemistry of Plants. Lipids: Structure and Function No. 4. p 364-410. Academic Press, San Francisco.

LUCCHESI M.-E. (2006) Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Autre. Université de la Réunion.

M

MAHFOUF Nora. (2018) Étude de l'espèce *Origanum vulgare* L. Thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat (LMD), spécialité : Ecotoxicologie, Environnement et Santé. Université Chadli Benjedid – El Tarf.

Mahomoodally, M. F. (2013). Traditional medicines in Africa: An appraisal of ten potent African medicinal plants. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013, 617459.

Mandal, S.M., Chakraborty, D., and Dey, S. (2010). Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. Plant signaling & behavior 5, 359-368.

Mendelson, S. D. (2021). *Herbal Treatment of Major Depression: Scientific Basis and Practical Use*. Boca Raton: CRC Press.

Mihaylova Yordanka, Ermenlieva Neli, Stamova Sylvia, Mihaylova Silviya, Georgieva Emilia, Tsvetkova Antoaneta, Georgieva Kalina. (2022). In vitro study of antimicrobial activity of commercial essential oils of the Lamiaceae family against *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Candida albicans* ATCC 10231. Proceeding of CBU in Natural Science and ICT, 3, 8-11.

Molyneux P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol. 26(2): 211-219.

Morel J.-M. (2008). Traité pratique de phytothérapie, remèdes d'hier pour médecine de demain. Paris.

Martak, Daniel. (2021). Épidémiologie des bacilles à Gram négatif dans la communauté, l'environnement et la nourriture.

Moroh, J.-L. A.-G. (2008). Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redheat (Rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'*Escherichia coli*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 77, 44-61.

Mukherjee A., Chakraborty R., Giri A., 2018, « Understanding the Mechanisms of Antibiotic Resistance in Bacteria », *Journal of Medical Microbiology*, 67(2), p. 159-175.

Muñoz Centeno, L. M. (2002). Plantas medicinales españolas : Origanum vulgare L. (Lamiaceae) (Orégano). *Acta Botanica Malacitana*, 27.

N

NCCLS, (1997). Guidelines for antimicrobial susceptibility testing, Assessment Report. 67: 73-78.

Nurzyńska-Wierdak, R. &-J. (2025). Chemical composition, biological activity, and potential uses of oregano (*Origanum vulgare* L.) and oregano essential oil. *Pharmaceuticals (Basel)*, 18(2), 267.

O

Oliveira Ribeiro, S., V. Fontaine, V. Mathieu, A. Zhiri, D. Baudoux, C. Stévigny and F. Souard (2020). "Antibacterial and Cytotoxic Activities of Ten Commercially Available Essential Oils." *Antibiotics* 9(10): 717.

Opara, E. I. (2021). *Culinary Herbs and Spices: A Global Guide*. Cambridge: Royal Society of Chemistry.

R

Ravindran, P. N. (2017). *The Encyclopedia of Herbs and Spices*. Wallingford: CABI.

S

Selles, C. d. (2019). Chemical composition, antimicrobial and antileishmanial activities of *Cinnamomum zeylanicum*, *Origanum vulgare*, and *Curcuma longa* essential oils. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, article 2421695.

Shanmugam Hemaiswarya, A. K. (2008). Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine*, 15(8), 639–652.

Sibanda, T., Okoh, A. I. (2007) The challenges of overcoming antibiotic resistance: Plant extracts as potential sources of antimicrobial and resistance modifying agents. *African Journal of Biotechnology*., 6(25), 2886-2896.

Soltani, S. S. (2021). A review of the phytochemistry and antimicrobial properties of *Origanum vulgare* L. and subspecies. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 20(2).

T

Tejada-Muñoz Sonia., Cortez Denny., Rascón Jesús., Chavez. Segundo G., Caetano. Aline C., Díaz-Manchay. Rosa J., Sandoval-Bances Julio., Huyhua-Gutierrez Sonia., Gonzales Lizandro., Chenet. Stella M., and Tapia-Limonchi Rafael. (2024). Antimicrobial Activity of *Origanum vulgare* Essential Oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Teisseire, P.J. (1991). *Chimie des substances odorantes : Technique et documentation*Lavoisier.

Teixeira Durate MC, Mara Figueira G, Sartoratto A, et al. (2005) Anti-candida activity of Brazilian medicinal plants. *J Ethnopharma-* col 97 : 305-11.

Thuau, U.J. (1921). Evoluution of the diverse methods of tanning. In *Le cuir, édition technique* (Paris), pp. 105.

Trease, G. e. (2009). *Trease and Evans' Pharmacognosy* (éd. 16e). Saunders Elsevier.

V

Veggi, P., Martinez, J., Angela, M., Meireles, A. (2013). Fundamentals o microwave extraction. In F. C. Chemat, *Microwave assisted extraction for bioactive compounds* (pp. 15-52). Springer.

Verpoorte, R., Alfermann, A.W. (2000). Metabolic engineering of plant secondary metabolism. Edition El khtwer Academic Publishers, London, pp : 1-29 ; 128-129.

W

Walasek-Janusz Magdalena., Grzegorzcyk Agnieszka., Malm Anna., Nurzyńska-Wierdak Renata., and Zalewski Daniel. (2024). Chemical Composition, and Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Oregano* Essential Oil. 29, 435.

Waller, S.B., Madrid, I.M., Ferraz, V., Picoli, T. (2016) Cytotoxicity and anti-sporothix brasiliensis activity of the *Origanum majorana* Linn.oil. *Brazilian journal of microbiology.*, 47,896-901.

Wu, J.J., Ko, W.C., Tsai, S.H., Yan, J.J. (2007) Prevalence of plasmid-mediated quinolones resistance determinants QnrA, QnrB, and QnrS among clinical isolates of *Enterobacter cloacae* in a Taiwanese hospital., 51(4), 1223-1227.

Z

Zahalka Jean-Philippe. (2010). Les huiles essentielles. Paris : 367.

Zakaria Samia. (2023). Contribution à l'étude phytochimique et pharmacologique de quelques plantes du nord-est algérien. Thèse présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat, option : chimie organique appliquée. Université Badji Mokhtar- Annaba.

Zakkad Farida. (2017). Etude phytochimique et évaluation de quelques propriétés biologiques de trois espèces de l'Euphorbia. THESE Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat, Option : Synthèse et développement des molécules bioactives. UNIVERSITE BADJI MOKHTAR-ANNABA.

Zifang Shang,. V. (2024). Phytochemical Characterization and Synergistic Antibacterial Effects of Colebrookea Oppositifolia Essential Oil as Adjuvants to Modern Antibiotics in Combating Drug Resistance. *Drug Design, Development and Therapy*, 18, 4601-4614.

Zong. B, Song. Q, Cheng. W, Lumezanu. C, Chen. H. (2018). Deep autoencoding gaussian mixture model for unsupervised anomaly detection, international conference on learning representation-international conference on learning representations.

Site web :

<https://fr.wikibooks.org/wiki/Accueil>

<https://www.aquaportail.com/fiche-plante-3743-origanum-vulgare.html>

<https://slideplayer.fr/slide/17990873/>