

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
قائمة 1945 ماي 8 جامعة
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 : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Département : des Sciences Biologiques

Thème

**Evaluation de l'activité antibactérienne d'extraits
d'*Origanum vulgare***

Présenté par :

- Badi Selma
- Cheikh Imen
- Ouarti Lotfi

Devant le jury composé de :

Présidente :	Mme Hamdikene	M.C.B	Université de Guelma
Examinatrice :	Mme Boussadia M.I	M.C.B	Université de Guelma
Encadreur :	Mme Zidi Sourour	M.C B	Université de Guelma

Juillet 2019

Remerciements

Nous remercions avant tout ALLAH tout puissant et miséricordieux, qui nous a guidé toutes les années d'étude et qui nous a donné la volonté, la patience et le courage pour réaliser ce travail à terme.

Nous tiens à remercier vivement

Mme. Zidi Sourour. Maître assistante à la faculté de science de la nature et de la vie à l'université 08 Mai 1945 Guelma., nous est satisfaite de vos qualités exceptionnelles de bonne enseignante dont votre simplicité et votre amour du travail ont fait de vous une enseignante admirable dont l'exemple à suivre. Recevez ici, chère Mme notre sentiments de gratitude pour votre disponibilité, pour nous avoir encadrée, votre aide, votre orientations, votre conseils, votre corrections sérieuses, votre patience au long de la réalisation de ce travail.

On tient à exprimer Nos remerciements et nos gratitude à Mme Hamdikene et Mme Boussadia M.I Maîtres assistantes à l'université de 08 Mai 1945 pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Sans oublier les personnels de laboratoire

En dernier lieu, nos remerciements aussi pour tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à élaborer cette étude.

Dédicace

A l'aide de Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et matériel tout au long de ma vie, dans les moments difficiles et dans mes années d'études, ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour ma réussite. Que Dieu te procure une bonne santé et une longue vie mon très cher Papa.

A lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, celle qui m'a transmis le courage et l'amour, pour sa tendresse et pour ses encouragements durant mon parcours, à ma très chère Maman que j'adore.

A mes adorables frères : ALI et DHIYAA-EDINE.

A mes chères sœurs : KARIMA et AMEL.

A mes grands-mères et ma grand père que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A mes tantes et mes oncles, en particulier mon oncle ALLAWA pour leur encouragement qui m'ont permis de prendre d'avantage confiance en moi-même.

A mes amies : MOUNA, LOUBNA, GHADA, AYA, ZAYNEB....

A tout la promotion 2019. Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible.

IMENE

Dédicace

A l'aide de Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et matériel tout au long de ma vie, dans les moments difficiles et dans mes années d'études, ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour ma réussite. Que Dieu te procure une bonne santé et une longue vie mon très cher Papa.

A lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, celle qui m'a transmis le courage et l'amour, pour sa tendresse et pour ses encouragements durant mon parcours, à ma très chère Maman que j'adore.

A mes adorables frères : ALI .Abdalah et Younes .

A ma chère sœur : Amina .

A mes grands-mères que dieu leurs procure bonne santé et longue vie.

A mes amies : Lamyia .Maroua .Dounia

A tout la promotion 2019. Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible.

Selma

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde mes chers parents qui m'ont permis de continuer mes études dans les meilleures conditions.

Je dédie aussi cette modeste réalisation à :

Mes chères sœurs et mes frères

A mes amis les plus proche : Rouabhia Belkaseem, Ouarti Riadh

A tous mes collègues de la promotion :

*Mebarki Med Lamine, Kedadra youcef, Madi Messaude ,Aounalleh Mohamed
AmineSafri Nassereddine, , Boursse Abedelrahmane, Tebani Saif eddine.*

A mes camarades de la promotion de Master Biologie Moléculaire et Cellulaire

A mes enseignants et professeurs de primaire à l'université.

A tous ceux qui adorent la science et participent à son évolution

Lotfi

Sommaire

Liste de figure

Liste de tableau

Liste d'abréviation

Introduction.....1

Partie bibliographique

I. La phytothérapie	3
I.1. Historique de la phytothérapie	3
I.2. Définition de la phytothérapie	3
I.3. Parties des plantes utilisées en phytothérapie	3
I.4. Différents types de la Phytothérapie	4
I.5. Les avantages de la phytothérapie	4
I.6. Les plantes médicinales	5
I.7. L'importance de l'utilisation des plantes médicinales	5
I.8. Les principes actifs des plantes médicinales	5
I.9. Modes de préparation des plantes	7
I.10. Les huiles essentielles	8
I.10.1 Définition	8
I.10.2 Localisation	9
I.10.3 Compositions chimiques	9
I.10.4 Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	9
I.10.5. Rôle physiologique	10
I.10.6. Extraction des HE	10
I.10.6.1. L'hydrodistillation	10
I.10.6.2. L'expression à froid	11
I.10.6.3. Entraînement à la vapeur d'eau	11
I.10.6.4. Extraction par les solvants	11
I.10.6.5. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes	12
I.10.6.6. Extraction au CO2 supercritique	12
I.11. Effet thérapeutique des huiles essentielles	12
I.11. Action des huiles essentielles sur les bactéries	13
I.12. Toxicité des huiles essentielles	13

II.	Présentation de l'espèce végétale étudiée.....	14
	II.1.Origanum vulgare	14
	II.1.1 Généralité	14
	II.1.2.Classification de l'origan	14
	II.1.3.Distribution géographique	15
	II.1.4.Composition chimique de l'<i>Origanum vulgare</i>	16
	II.1.4.1.Principaux composés chimiques de la plante entière	16
	II.1.4.2.Principaux composés chimiques de l'huile essentielle de la plante	16
	II.1.5.Utilisation de l'<i>Origanum vulgare</i>	16
	II.1.5.1. Usage culinaire	16
	II.1.5.2. Usage thérapeutique	16
III.	Activité antimicrobienne	18
	III.1. Généralités	18
	III.2. Les antibiotiques.....	18
	III.2.1.Définitions	18
	III.3.L'aromatogramme	19
	III.3.1. Notion du bactériostatique et du bactéricide	20
	III.4.Souches bactériennes testées.....	20
	III.4.1. Bactéries à Gram négatif.....	20
	III.4.1.1.Le genre <i>Escherichia</i>.....	20
	III.4.1.2.Le genre <i>Pseudomonas</i>	22
	III.4.2.Bactéries à Gram	24
	III.4.2.1.Le genre <i>Staphylococcus</i>	24

Partie pratique

I.	Matériel et méthodes	27
	I. Matériel	27
	I.1Matériel végétal	27
	I.2. Souches bactériennes utilisées	27
	I.2.1. Récolte du matériel végétal	28
	I.2.2. Les milieux de culture utilisés	28
II.	Méthodes	29
	II. 1.Séchage du matériel végétal	29
	II. 2.Les tests phytochimiques	29

II.3. Protocole d'extraction de l'huile essentielle de l'origan	30
II.4. Conservation de l'huile essentielle obtenue	31
II. 5. Détermination du rendement en huile essentielle.....	31
II. 6. Préparation de l'extrait méthanolique	32
II. 6.1. Conservation de l'extrait méthanolique	32
II. 6.2. Calcul de rendement	32
II.7. Protocole de l'infusion	32
II.3. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	33
II.3. Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne	33
II.3. Etude du comportement des souches utilisées vis-à-vis des différents extraits de la plante étudiée.....	35
II.3.1. Recherche de la CMI	36
II.3.2. Recherche de la CMB	37
II. Résultats et discussion	38
II.1. Screening phytochimique.....	38
II.2. Rendement de l'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i>	41
II.3. Rendement de l'extrait méthanolique d' <i>origanum vulgare</i>	41
III. Résultats de l'activité antibactérienne	42
III.1. Antibiogramme	42
III.4. Etude du comportement des souches utilisées vis-à-vis des différents extraits de la plante étudiée.....	43
III.4.1- La souche <i>E. Coli</i>	43
III.4.2- La souche <i>S. aureus</i>	45
III.4.3- la Souche <i>P. aeruginosa</i>	46
III.5. Détermination des (CMI) et des (CMB).....	47
Conclusion	49
Références bibliographiques	51
Annexes.....	62
Résumé	

LISTE DES FIGURES

Figure 1	<i>Origanum vulgare</i>	14
Figure 2	Schéma représentant le mode d'action des antibiotiques	19
Figure 3	Observation microscopique d' <i>Escherichia coli</i>	21
Figure 4	Observation microscopique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23
Figure 5	Observation microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i>	24
Figure 6	: <i>Origanum vulgare</i>	27
Figure 7	Montage de l'hydrodistillation	31
Figure 8	Test d'identification des saponosides	38
Figure 9	Test d'identification des alcaloïdes	39
Figure 10	Test d'identification des tanins	39
Figure 11	Test d'identification des mucilages	39
Figure 12	Test d'identification des flavonoïdes	40
Figure 13	Test d'identification des coumarines	40
Figure 14	activité antibactérienne des antibiotiques vis-à-vis des 03 souches testées	42
Figure 15	Présentation graphique des différents produits testés sur <i>E.coli</i>	43
Figure 16	Présentation graphique des différents produits testés sur <i>S.aureus</i>	45
Figure 17	Présentation graphique des produits testés sur <i>P.aeruginosa</i>	46

Liste des tableaux

tableau	Titre	Page
1	Différentes méthodes de préparation des plantes médicinales	7
2	Liste des microorganismes testés.	28
3	Valeurs des diamètres critiques des antibiotiques testés	34
4	CMI et CMB de l'huile essentielle d' <i>Origanum.vulgare</i> .	48

LISTE DES ABREVIATIONS

ATB : Antibiotiques.

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique.

ATCC:American type culture collection.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

CMB: Concentration minimale bactéricide.

CASFM: Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

DMSO: Diméthylsulfoxyde.

MH : Mueller hinton.

GN :Gélose nutritif

OMS :Organisation mondiale de la santé.

O.R.L : Oto-rhino-laryngologie.

O.vulgare :Origanumvulgare.

V : Vancomycine

P : Pénicilline

C : Chloramphénicol.

E : Erythromycine.

AMX : Amoxicilline

GN : Gentamycine.

CTX :Céfotaxine

FOS :Fosfomycine.

µl : microlitre.

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité comme traitement pour diverses maladies parce qu'elles contiennent des composants riches en principes thérapeutiques (**khaldi et al, 2012**). Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), près de 80% de populations dépendent de la médecine traditionnelle. La plupart des plantes sont utilisées empiriquement et sans validation scientifique de leur efficacité et sécurité (**Moutinho, 2013**).

Les extraits volatiles des plantes aromatiques sont recherchés pour leurs propriétés biologiques. Au nombre de celles-ci, on reconnaît les propriétés antibactériennes et antifongiques. Plusieurs travaux scientifiques relataient de l'action antiseptique de plusieurs huiles essentielles. Depuis ce temps l'utilisation des huiles essentielles s'est développée jusqu'à devenir depuis plus d'une vingtaine d'années, une sérieuse alternative à la médecine des antibiotiques dans les pathologies infectieuses. En effet, de nombreuses bactéries sont devenues résistantes aux antibiotiques à large spectre de l'arsenal pharmaceutique. Il s'avère donc nécessaire de chercher une autre opportunité qui prendra la relève dans les traitements anti-infectieux. La connaissance des plantes et l'étude de leurs propriétés, leurs effets thérapeutiques se révèlent une nécessité primordiale, pour découvrir de nouveaux principes actifs pouvant annoncer une révolution de la médecine. Les huiles essentielles sont, donc, devenues une matière première de valeur très estimable attirant de plus en plus les chercheurs. (**Remmal et al, 1993 ; Dorman et Deans, 2000**).

L'*Origanum vulgare* compte parmi les plantes endémiques les plus abondantes du Nord-Est algérien. Elle produit des métabolites secondaires bioactives (polyphénols, tanins... etc) et des HEs riches en dérivés phénoliques carvacrol et thymol. Ces deux molécules sont très connues pour leur grand pouvoir antibactérien. (**Bahorun et al, 1996 ; Kempf et al, 2011**).

Notre travail a pour objectif principal d'étudier l'effet antibactérien de différents extraits d'*Origanum vulgare* (HE, infusion, extrait méthanolique) sur des souches connues par leurs pathogénicités (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) après avoir déterminé au préalable son screening phytochimique.

Notre recherche est divisée en deux grandes parties, commençant par la partie théorique, où on a défini la phytothérapie et les domaines d'utilisation des plantes médicinales ainsi que leurs importances dans la médecine moderne, par la suite on a cité des

Introduction

généralités sur la plante qui a fait l'objet de notre étude (*Origanum vulgare*), sa composition phytochimique et enfin un chapitre sur l'activités antimicrobienne.

La deuxième partie de notre travail c'est consacré à l'expérimentation sur :

- ✚ Nous avons en premier lieu réalisé un screening phytochimique pour vérifier la présence ou l'absence de certains principes actifs
- ✚ Nous avons par la suite confectionné 03 sortes d'extraits de la plante étudiée (huile essentielle, infusion, extrait méthanolique) en utilisant les techniques adéquates.
- ✚ Et enfin nous avons testé l'activité antibactérienne de ces 03 extraits sur les 03 souches bactériennes choisies (souches potentiellement pathogènes) en les comparants à certains antibiotiques.

I. La phytothérapie

I.1. Historique de la phytothérapie

Le premier texte connu sur la médecine par les plantes est gravé sur une tablette d'argile, rédigé par les Sumériens en caractères cunéiformes 3000 ans av. J.-C. Ils utilisaient des plantes telles que : le myrte, le chanvre, le thym, le saule en décoctions filtrées.

Le Papyrus Ebers, du XVI^e siècle av. J.-C. est le premier recueil connu consacré aux plantes médicinales. De loin le plus volumineux connu de l'Égypte ancienne avec « 110 pages ». Il fait référence à de plus anciens documents citant des dizaines de plantes accompagnées d'un mode d'utilisation (**Ghabiche ,2009**). Les Grecs et les Romains utilisaient également de nombreuses plantes. On en retrouve des références, entre autres, dans l'œuvre de Dioscoride (médecin grec du 1^{er} siècle). En Europe, les plantes représentent l'essentiel de la pharmacopée jusqu'à la fin du XIX^e siècle et l'avènement de la chimie moderne. Encore largement utilisées après la seconde guerre mondiale, elles furent ensuite supplantées par les médicaments de synthèse plus simple d'emploi. En France, le diplôme d'herboriste a été supprimé en septembre 1941 par le gouvernement de Vichy. De 4 500 herboristes en 1941, ils sont désormais une dizaine tandis qu'en Allemagne ou en Italie, on compte plusieurs milliers d'herboristes.

Depuis l'Antiquité, les spécialistes des plantes étaient clairement identifiés, du médecin à l'herboriste. Cette séparation est encore en vigueur dans d'autres sociétés de par le monde (**Ghabiche ,2009**).

I.2. Définition de la phytothérapie

La phytothérapie vient du grec « phytos » : la plante et « therapiea » : la thérapie (**Grosmond ,2001**) C'est la thérapie qui se base sur les vertus thérapeutiques des plantes et de leurs extraits pour le traitement et la prévention des maladies ou pour la promotion de la santé. (**Bouzuïta ,2016**).

I.3. Parties des plantes utilisées en phytothérapie

Les parties les plus concentrées en principes actifs sont la plante entière, les feuilles, les tiges, les rameaux, les sommités fleuries, les écorces, les racines et les fruits ou les fleurs, utilisées fraîches ou sèches (**Mohammedi, 2013**).

I.4. Différents types de la Phytothérapie

I.4.1. Aromathérapie :

Est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou les huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes ; ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.

I.4.2. Gemmothérapie :

Se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules (**Besançon, 2012**).

I.4.3. Herboristerie :

Correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée ; de la plante entière, ou une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération (**Besançon, 2012**). Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale.

I.4.4. Homéopathie :

A recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive ; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.

I.4.5. Phytothérapie pharmaceutique :

Utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats... (**Strang, 2006**).

I.5. Les avantages de la phytothérapie

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des

médicaments tels que les antibiotiques décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (**Korib, 2017**).

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite (**Inserin et al, 2001**).

I.6. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des drogues végétales, dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, leurs principes actifs sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits de soins (**Hans, 2007**). En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération, infusion, cataplasme, huile essentielle et gélules etc, une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racines, feuilles et fleurs. (**Djaalab Mansour, 2013**)

I.7.L'importance de l'utilisation des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie : elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (**Chevallier, 2001**). La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels. Aujourd'hui les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre la malaria ou sans la digoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes (**Iserin et al, 2001**).

I.8. Les principes actifs des plantes médicinales

Les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants biochimiques naturellement présents dans une plante. Ils lui confèrent son activité thérapeutique. Les principes actifs se trouvent dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale et ils n'ont pas les mêmes propriétés. Actuellement plus de 100000 métabolites secondaires ont été identifiées. Ils appartiennent à trois classes principales qui sont : les terpènes (un groupe des

lipides), les alcaloïdes (dérivés d'acides aminées), et les composés phénoliques (dérivés de glucides) (**Benamor, 2008**).

➤ **Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes constituent le plus large groupe des phénols dans la plante. Ces pigments sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Ils sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV. Les flavonoïdes ont une activité antibactérienne très vaste et très diversifiée. En effet, ils s'attaquent à un grand nombre de bactéries avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème dans lequel il se trouve (**Babayi et al, 2004 ; Madi, 2010**),

➤ **Les alcaloïdes**

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique). On les trouve dans plusieurs familles de plante. La plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (**Wichtl et Anton, 2009**).

➤ **Les Saponosides**

Les saponosides sont des hétérosides de poids moléculaire élevé, appartenant aux stérols ou triterpènes. Ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes. Ils sont caractérisés par leur action tensioactive (abaissement de la tension superficielle).

La plupart des saponosides présentent des propriétés hémolytiques, certains sont des matières premières pour l'hémi-synthèse de molécules médicamenteuses stéroïdiques (**Mansour-Djaalab, 2013**)

➤ **Les tanins**

Les tanins, sont groupe de substances phénoliques polymères sont trouvés dans presque chaque partie de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines. Dans le tissu végétal, ils sont synthétisés et accumulés après une attaque microbienne. Leur mode d'action antimicrobienne peut être lié à leur capacité à inactiver les adhésines microbiennes, les enzymes, et les protéines de transport, à cause d'une propriété connue sous le nom astringence (**Kahlouche-Riachi, 2014**). Ils peuvent aussi être toxiques pour les champignons

filamenteux et les levures .Les tanins sont donc dotés d'un pouvoir anti- infectieux (**Scalbert, 1991 ; Latte et Kolodziej, 2001 ; Leitao et al. 2005**).

➤ Coumarines

Les coumarines sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Les conditions structurales requises pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes (**Colette, 2003**)

I.9.Modes de préparation des plantes

Il existe plusieurs méthodes de préparation des médicinales (voir tableau 01).

Tableau 01 : Différentes méthodes de préparation des plantes médicinales.

La forme	La préparation
L'infusion	L'infusion est la méthode de préparation de tisanes la plus courante et la plus classique, elle s'applique généralement aux organes délicats de la plante : fleurs, feuilles aromatiques et sommités La formule consiste à verser de l'eau bouillante sur une proportion d'organes végétaux : fleurs, feuilles, tiges..., à la manière du thé. Une fois la matière infusée (au bout de 5 à 10 min environ), il suffit de servir en filtrant la tisane sur coton, papier filtre, ou un tamis à mailles fines non métallique (Baba aissa, 2000).
Décoction	Une décoction consiste à faire bouillir dans de l'eau les plantes séchées ou fraîches, préalablement coupées en petits morceaux ; puis à filtrer le liquide obtenu (le décocté). On peut la consommer chaude ou froide (Chevallier, 2001).
Les Huiles essentielles	On obtient par distillation à la vapeur, pour cela il faut un ballon, alambic et récipient pour recueillir le distillat, cette huile n'est pas grasses, et concentre l'essence de plante, autrement dit son parfum (Nogaret, 2003).

Macération	La macération est une opération qui consiste à laisser tremper une certaine quantité de plantes sèches ou fraîches dans un liquide (eau, alcool, huile ou même du vin) pendant 12 à 18 heures pour les parties les plus délicates (fleurs et feuilles) et de 18 à 24 heures pour les parties dure, puis laisser à température ambiante. Avant de boire, il faut bien la filtrer (Khetouta, 1987 ; Stary, 1992) .
Poudre	Préparées par pulvérisation, dans un mortier ou dans un moulin, peuvent s'utiliser pour un soin interne ou externe (Delille, 2007) .
Sirop	Le miel et le sucre non raffiné sont des conservateurs efficaces qui peuvent être mélangés à des infusions et des décoctions pour donner des sirops et des cordiaux. Ils ont aussi des propriétés adoucissantes qui en font d'excellents remèdes pour soulager les maux de gorge. Les saveurs sucrées des sirops permettent de masquer le mauvais goût de certaines plantes, de manière à ce que les enfants les absorbent plus volontairement (Aili, 1999) .
Pommade (Onguent)	La pommade est préparée par un mélange de plante sous forme de poudre ou suc, avec une substance grasse comme la vaseline, huile de coco, huile d'olive, huile d'amande ou même des graisses animales (Delille, 2007) .
Fumigation	L'herbe est plongée dans l'eau bouillante. Son utilisation nécessite le recouvrement de la tête, épaules et récipient avec une même serviette pour mieux concentrer la vapeur (Delille, 2007) .

I.10. Les huiles essentielles

I.10.1 Définition

Les huiles essentielles (HE) est un mélange de substances aromatique volatiles de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actif **(Lahlou, 2004 ; Lardry et Haberkorn ,2007)**.

Les huiles essentielles sont des produits généralement de Composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la

vapeur d'eau, soit par distillation sèche ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage (Nouioua, 2012).

I.10.2 Localisation

Les HE sont localisés le plus souvent dans des organes sécréteurs. Leurs stockages se font au niveau des fleurs, feuilles, fruits, tiges, bois, écorces et parties souterraines (racines, rhizomes) à proximité de la surface. Bien que toutes les parties d'une plante puissent contenir des essences, leurs compositions chimiques varient d'un organe à un autre, mais la plus importante concentration se trouve au niveau des fleurs et des feuilles (Benbouali, 2006)

I.10.3 Compositions chimiques :

Les HEs ont une composition assez complexe. On y trouve généralement de nombreux constituants appartenant principalement à deux grandes familles chimiques : les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Les composés terpéniques sont formés d'unités isopréniques (en C5) et comprennent les monoterpènes en (C10), les sesquiterpènes (C15), les diterpènes (C20) et les triterpènes en (C30). Ils ont la même origine métabolique. Ces terpènes peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. En général, une HE est un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. Parmi ces composés oxygénés, on peut noter la présence d'alcools, d'esters, d'aldéhydes, de cétones, d'ether-oxydes et de carbures. A l'intérieur d'une même espèce végétale, on observe des variations chimiques (qualitatives et quantitatives) importantes ayant conduit à admettre l'existence de races chimiques (exemple : Thymus à thymol, à géraniol, à carvacrol, à linalol), et parmi les nombreux constituants d'une HE, l'un domine généralement ; On l'appelle composé majoritaire. La composition chimique des HE varie encore de façon appréciable avec le milieu et la période de la végétation. Elle peut aussi être modifiée au cours de l'extraction ou durant la conservation (Rhayour, 2002).

I.10.4 Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont les caractéristiques physiques suivantes :

- Elles sont liquides à température ordinaire
- Elles sont incolores ou jaune pâle
- Leur densité est le plus souvent inférieure à 1 (excepté les HE de cannelle de giroflier et de saffran qui ont une densité supérieure à celle de l'eau)

- Elles ont un indice de réfraction élevée.
- Sont très altérables et sensible à l'oxydation.
- Leur point de d'ébullition varie de 160° à 240°C.
- Elles sont insolubles dans l'eau et solubles dans les alcools, les huiles fixes et la plupart des solvants organique
- Leur volatilité les oppose aux huiles fixes
- elles ont tendance à polymériser donnant naissance à des produits résineux, elles sont donc de conservation limitée

Les huiles essentielles s'oxydent facilement et sont à la fois photosensibles et thermosensibles. C'est pourquoi, il faut les conserver à l'abri de lumière, de la chaleur mais surtout de l'oxygène de l'air, prévenant les risques d'acidification des ses composés (aldéhydes, cétones, phénols ...) (**Afnor, 1992 ; Roux et Catier, 2007**)

I.10.5. Rôle physiologique

Le rôle exact des huiles essentielles dans la physiologie de la plante reste encore mal connu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des propriétés biologiques très variées qui leur permettent d'exercer plusieurs effets utiles pour la plante tels que : repousser ou au contraire attirer les insectes pour favoriser la pollinisation, inhibition de la multiplication de la flore microbienne infectieuse (**Mann, 1987 ; Deroin, 1988 ; Bakkali, 2008**). Dans les climats désertiques, elles permettent de conserver l'humidité de la plante. De plus, elles peuvent être utilisées comme moyen de compétition aux ressources environnementales par l'inhibition de la germination des graines des autres espèces de plante ou par la limitation de la croissance de certaines espèces voisines (**Fischer et al, 1994 ; Bakkali et al, 2008**).

I.10.6. Extraction des HE

Les quantités d'essences secrétées par les plantes sont extrêmement variables et les procédés techniques utilisés pour l'obtention de ces essences sont aussi très variables. Les modes d'extraction les plus fréquemment employés sont : (**Boukhris ,2009**)

I.10.6.1.L'hydrodistillation

Elle est de loin le procédé le plus répandu, car il convient à la majorité des plantes. C'est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle

de qualité. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique, et comme les HE sont insolubles dans l'eau mais soluble dans la vapeur, lorsqu'on envoie de la vapeur d'eau sur la plante, elle se charge au passage des huiles (**Fasty, 2007**). La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. « eau + huile essentielle » distille qui à une température égale 100°C à pression atmosphérique. La plupart très élevées, la vapeur d'eau ainsi mélangée à ces essences est envoyée dans un compartiment pour y refroidir. Là, elle redevient donc liquide et les huiles s'en désolidarisent (elles flottent à la surface). On les récupère alors par décantation (**Franchomme, 1990**).

I.10.6.2.L'expression à froid

Cette technique d'extraction est utilisée pour obtenir des essences d'agrumes contenues dans les zestes. Les fruits sont pressés à froid. Ensuite, par centrifugation, on sépare l'huile essentielle du jus de fruit. Cette technique permet d'extraire à faible coût des essences de bonne qualité. Les agrumes les plus utilisés sont la bergamote, la mandarine, l'orange et le citron (**Lucchesi., 2005**).

I.10.6.3.Entrainement à la vapeur d'eau

Ces méthodes d'extraction sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînés par la vapeur d'eau (**Lucchesi,2005**).le matériel végétal est placé dans l'alambic sur une plaque perforée ,sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée a l'extracteur , les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées est appelée eau de distillation (ou hydrolat ou eau florale) (**Dastmalchi et al 2008**).

I.10.6.4.Extraction par les solvants

Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui sera ensuite éliminé par distillation sous pression réduite .l'évaporation du solvant donne la concrète : mélange odorant de consistance pâteuse .l'extraction de la concrète avec l'alcool conduit à l'absolue. Cette méthode est très couteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants (**Samate ,2002**).

I.10.6.5.Extraction sans solvant assistée par micro-ondes

Cette méthode permet de réaliser des extractions du matériel végétal frais à pression atmosphérique, sans ajout d'eau ou de solvant (**Lucchesi et al, 2004**). La matière végétale est placée dans une enceinte close et chauffée par la micro-onde. Les molécules volatiles sont entraînées par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau contenue dans le végétal (**Piochon, 2008**). Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, par la suite facilement séparable par simple décantation (**Lucchesi et al, 2004**).

I.10.6.6.Extraction au CO2 supercritique

Ce procédé, très moderne, consiste à faire éclater les poches à essences des végétaux et ainsi entraîner les substances aromatiques en faisant passer un courant de CO₂ à haute pression dans la masse végétale (en générale les fleurs). On utilise le CO₂ car il possède de nombreux atouts : il s'agit d'un produit naturel, inerte chimiquement, inflammable, facile à éliminer totalement, aisément disponible, peu réactif chimiquement et enfin peu coûteux (**Keville, 1995 ; Baysal, 1999**).

I.11.Effet thérapeutique des huiles essentielles

Les huiles essentielles représentent un outil thérapeutique très efficace qui permet d'élargir le champ des traitements médicaux conventionnels (**Robard, 2004**). L'utilisation des huiles essentielles dans différentes pathologies (digestive, infectieuse,...) fait appel à leurs propriétés : anti-infectieuse, antalgique, anti-inflammatoire, sédative, antimicrobien, anti-spasmodique et anti-oxydante (**Bessah et Benyoussef, 2015**).

La plus spécifique des propriétés des huiles essentielles est celle qui concerne l'amplitude du spectre antimicrobien vis-à-vis des virus, des mycoplasmes et chlamydiae, des bactéries, des champignons y compris leurs spores, et les protozoaires (**Inouye et Abe, 2007**). Les huiles essentielles présentent une action cytotoxique contre des lignées cellulaires tumorales représentant différents type de cancer. Plusieurs molécules présentes dans les huiles essentielles sont douées de propriétés antitumorales, et particulièrement les phénols (tels que le carvacrol, le thymol et l'eugénol, les alcools et les aldéhydes) (**Bouyahya et al, 2016**). Les huiles essentielles présentent des activités insecticides elles sont aussi utilisées dans la lutte biologique contre les ravageurs (**Bessah et Benyoussef, 2015**).

I.11. Action des huiles essentielles sur les bactéries

Le mode d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé (**Kalemba et Kunicka, 2003 ; Burt, 2004**)

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HE, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des HE ait son propre mécanisme d'action. Le mode d'action des HE dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (**Cox et al, 2000 ; Carson et al, 2002**).

D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases :

* Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.

* Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.

* Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (**Daferera et al, 2003**).

I.12. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Certaines d'entre elles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau, en raison de leur pouvoir irritant (les huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) ou photo-toxique (huiles de citrus contenant des furacoumarines), d'autres ont un effet neurotoxique (les cétones comme l' α -thujone). La toxicité des huiles essentielles est assez mal connue. La plupart du temps, sous le terme de toxicité sont décrites des données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que représente leur emploi (**Guba, 2001**).

II. Présentation de l'espèce végétale étudiée

II.1. *Origanum vulgare*

II.1.1 Généralité

Le genre *Origanum* est un des 200 genres les plus diversifiés de la famille des Lamiacées, qui sont connues pour leurs huiles essentielles aromatiques. La plus connue est sans conteste *Origanum vulgare* L. localement connu sous le nom de (*zaatar*). L'origan est souvent considéré comme une forme sauvage de la marjolaine. *Origanum* sert à désigner en latin et en grec signifierait « parure des montagnes ». Les autres noms communs : marjolaine vivace, thym des bergers ...etc.

Les plantes atteignent généralement une taille variant entre 30 et 80 cm. Les tiges rouges à section carrée sont velues avec des feuilles arrondies, vertes, légèrement dentées. Les fleurs sont roses ou pourpres et sont regroupées en petits panicules. (**Figure 01**)(Barrantre, 1998 ; Morales ,2002 ; Amiot, 2005).



Figure 01: *Origanum vulgare* (Machu, 2008)

II.1.2. Classification de l'origan :

L'origan appartient au :

- **Règne** : Plantae
- **Embranchement** : Angiosperme.
- **Classe** : Magnolipsida.

- **Sous classe** : Astériida.
- **Ordre** : Lamiales.
- **Famille** : Lamiaceae.
- **Sous famille** : Stachyoidae.
- **Genre** : *Origanum*.
- **Espèce** : *Origanum vulgare* (Machu, 2008)

II.1.3.Distribution géographique

L'*Origanum vulgare* est une plante spontanée qui pousse abondamment dans les lieux arides, caillouteux et ensoleillés des bords de la mer à la montagne (Poletti ,1988).

C'est une plante qui se présente toujours dans un état sauvage dans les plaines et les montagnes (Kaloustian, 2003).

II.1.3.1.Dans le monde

Le genre *Origanum* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des labiées(Naghibi *et al* ,2005). Selon (Dob ,2006) il existe près de 350 espèces d'origan réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée. C'est un genre très répandu dans le nord-ouest africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye), il pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte (Mebarki, 2010).

On peut le trouver également en Sibérie et même en Himalaya. Selon une étude menée par Nickavar *et al*, 2005, environ 110 espèces différentes du genre *Origanum* se concentrent dans le bassin méditerranéen.

II.1.3.2.En Algérie

L'Origan comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (Mebarki, 2010). Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leurs variabilités et leur tendance à s'hybrider facilement.

II.1.4. Composition chimique de l'*Origanum vulgare*

II.1.4.1. Principaux composés chimiques de la plante entière

L'*Origanum vulgare* est constituée de Phénols (60 à 70%) (Carvacrol, Thymol), Huile essentielle à carvacrol majoritaire, Monoterpènes (25 à 30%) Terpinène, Monoterpénols (5 à 10%) (Linalol), Tanins, Flavonoïdes : (hétérosides de lutéoline), d'Apigénine, de Naringénine, et Acides Phénoliques). Dans les parties souterraines de l'Origan on retrouve de la stachyose (Machu, 2008).

II.1.4.2. Principaux composés chimiques de l'huile essentielle de la plante :

L'essence d'Origan (0,2% de la plante fraîche) est un liquide jaune/rouge très aromatique soluble dans l'alcool. Elle est riche en phénols *carvacrol* (jusqu'à 74%) ou *thymol* (jusqu'à 25%). Elle peut contenir aussi des alcools libres et estérifiés, des carbures (ex : α -terpinène, organène (essence de chypre)) (Machu, 2008).

II.1.5. Utilisation de l'*Origanum vulgare* :

II.1.5.1. Usage culinaire :

L'*Origanum vulgare* est une des plus populaires plantes aromatiques utilisées dans le monde entier. Ses applications sont très vastes et touchent le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle (Adwan, 2009).

L'huile essentielle d'Origan est utilisée abondamment dans l'industrie alimentaire, pharmaceutique et cosmétique. L'épice quant à elle est intensivement cultivée en Europe et aux Etats-Unis dans l'assaisonnement des poissons, volailles, des potages et des légumes (Özcan, 2004 ; Jordán et al, 2006).

II.1.5.2. Usage thérapeutique

La feuille et la sommité fleurie d'Origan sont traditionnellement utilisées par voie orale dans le traitement symptomatique de troubles digestifs tels que : le ballonnement épigastrique, la lenteur à la digestion, l'éructation, la flatulence ainsi que dans le traitement symptomatique de la toux et de la bronchite (Bruneton, 1999). Sa feuille a été employée en tant que bronchospasmodique, expectorant et antibactérien. (Bruneton, 1999 ; Kitajima, et al 2004).

L'infusion de la plante entière est utilisée contre les maux de l'appareil respiratoire (toux, bronchite, asthme) et son huile essentielle pourrait posséder aussi une forte activité bactéricide mise à profit dans certains produits pharmaceutiques (Debuigne, 1982). En usage

local, l'Origan est traditionnellement utilisé, pour le traitement des petites plaies après lavage abondant, pour soulager les piqûres d'insectes et les douleurs rhumatismales, et en bain de bouche pour l'hygiène buccale (**Poletti ,1988**).

L'huile essentielle de cette plante entre dans les formulations de diverses spécialités : pommades antiseptiques et cicatrisantes, sirops pour traitement des affections des voies respiratoires (**Bruneton ,1999**).

Origanum vulgare à carvacrol est connue pour son activité antiseptique majoritaire alors que l'H.E. d'*origan* à thymol à des propriétés anti-infectieuses majeures (**Franchomme,2001**).

III. Activité antimicrobienne

III.1. Généralités

Un microbe, ou micro-organisme, fait partie d'un groupe large et extrêmement divers d'organismes. Ces organismes sont regroupés sur la base d'une seule propriété : ils sont si petits qu'ils ne peuvent être visualisés sans l'aide d'un microscope. Les microbes sont indispensables à la vie. Parmi leurs nombreux rôles, ils sont nécessaires au cycle géochimique et la fertilité de sols. Ils sont utilisés pour produire des aliments ainsi que des composants pharmaceutiques et industriels. D'un autre côté, ils peuvent être la cause de nombreuses maladies végétales et animales et des contaminations alimentaires. Enfin les microbes sont largement utilisés dans les laboratoires de recherche pour étudier les processus cellulaires (Nicklin *et al*, 2000).

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (Billing et Sherman, 1998).

III.2. Les antibiotiques

III.2.1. Définitions

Les antibiotiques sont des agents dont la toxicité sélective résulte d'un mode d'action spécifique. Ils agissent à faible dose pour inhiber la croissance des micro-organismes ou pour les détruire. Ils peuvent être produits de manière naturelle par des champignons et des bactéries ou obtenus par synthèse et hémisynthèse. (Mangin, 2016)

III.2.2. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent traiter les infections bactériennes par 4 modes d'action principaux :

a. L'interférence avec la synthèse de la paroi cellulaire : carbapénèmes, vancomycine, β lactamines.

b. de la synthèse des protéines microbiennes:

- ❖ Se lier avec la sous-unité 50S du ribosome: macrolides, le chloramphénicol, la clindamycine.
- ❖ Se lier avec la sous-unité 30S du ribosome: aminoglycosides, tétracyclines.
- ❖ Se lier avec l'enzyme bactérienne isoleucyl-ARNt synthétase: chloramphénicol, tétracyclines.

c. L'interférence avec la synthèse des acides nucléiques :

- Inhibition de la synthèse de l'ADN: fluoroquinolones.
- Inhibition de la synthèse d'ARN: la rifampicine.

d. L'inhibition des voies métaboliques: les sulfamides, les analogues de l'acide folique.
(Fig-4) (Tenover, 2006)

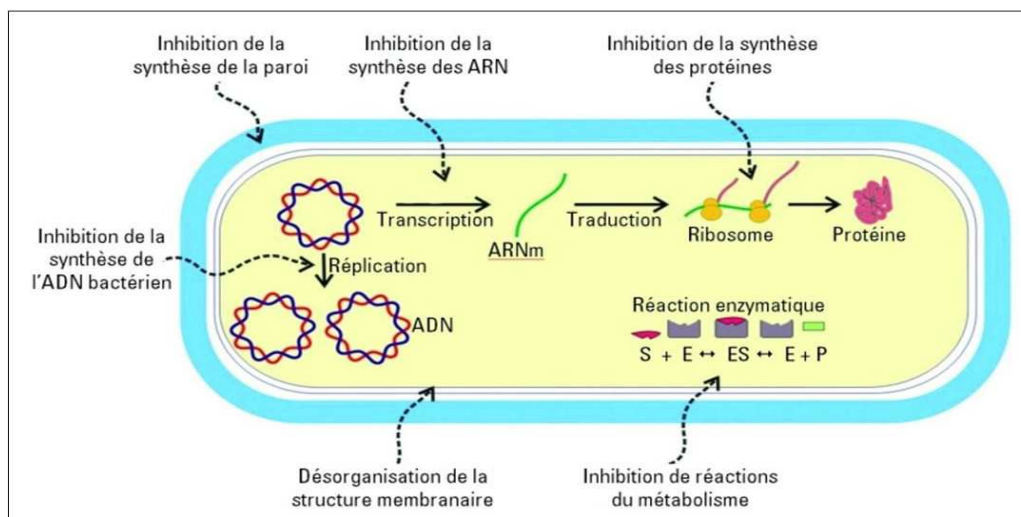


Figure 2 : Schéma représentant le mode d'action des antibiotiques (1)

III.3.L'aromatogramme

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des H.E. testées, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (Boudjemaa et al, 2010). Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisée dans une boîte de Pétri.

Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée d' H.E.

III.3.1. Notion du bactériostatique et du bactéricide

Quand l'ATB inhibe seulement la croissance des bactéries, on parle ici de l'effet bactériostatique, mais lorsqu'il provoque la mort des bactéries on parle de l'effet bactéricide (Haddouchi et al, 1999).

- **L'effet bactériostatique**

C'est une activité bactérienne au cours de laquelle il ne se manifeste aucune destruction bactérienne, on remarque une inhibition de la croissance bactérienne, croissance qui reprend dès que la substance disparaît. En limitant la croissance bactérienne, la molécule permet aux défenses naturelles de l'organisme d'entrer en jeu sans être dépassées. L'effet bactériostatique d'une molécule est évalué par la concentration minimale inhibitrice. Pour une souche donnée, la CMI est la plus faible concentration inhibitrice d'antibiotique pour laquelle il n'y a plus des germes microbiens visibles (Muanda, 2010).

- ❖ **L'effet bactéricide**

C'est un effet qui se manifeste par une accélération de la mort des bactéries aux concentrations d'ATB utilisées *in vivo* ou *in vitro*; s'il persiste moins de 0,01% de survivants après 18 h de culture (Muanda, 2010).

III.4. Souches bactériennes testées

III.4.1. Bactéries à Gram négatif

III.4.1.1. Le genre *Escherichia*

- **Généralités**

Escherichia coli (colibacille) est une entérobactérie. 70% d'entre elles possèdent un flagelle ; elles peuvent donc être mobiles ou immobiles, elles sont capables de fermenter le lactose et de produire de l'indole. Ce sont des bacilles (Fig-3) à Gram négatif à respiration aérobie-anaérobie. Cette espèce représente un hôte commun de la microflore commensale intestinale de l'Homme et des animaux à sang chaud. Son établissement dans le tractus s'effectue durant les premières heures ou journées qui suivent la naissance (Avril, 1992 ; Prescott 2007).

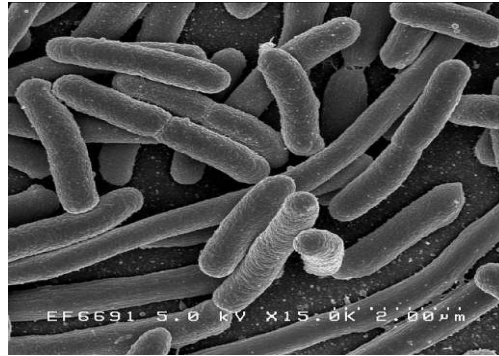


Figure 03 : Observation microscopique d'*Escherichia coli*. (Bioquel)

➤ **Classification**

Règne : Bacteria

Embranchement : Proteobacteria

Classe : Gamma proteobacteria

Ordre : Enterobacterales

Famille : Enterobacteriaceae

Genre : *Escherichia*

Espèce : *coli* (Castellani et Chalmers, 1919).

➤ **Habitat**

En 1885, l'allemand Theodor Escherich décrit pour la première fois la bactérie *Escherichia coli* isolée à partir de selles de nourrissons, il remarqua qu'elle constituait une espèce bactérienne sous-dominante du microbiote aérobie-anaérobie facultatif (Cowan et al, 1954).

E.coli une bactérie colonisatrice du tube digestif des animaux à sang chaud. Ce germe se rencontre aussi au niveau de diverses muqueuses mais également des reptiles. Le tractus digestif constitue son habitat primaire. Sa présence dans le milieu environnant est un signe de contamination fécale. (Gordon et Cowling 2003).

➤ **Pouvoir pathogène**

Escherichia coli peut provoquer plusieurs types d'infections. Elle est responsable de la majorité des infections urinaires et est impliquée dans de nombreuses infections extra-intestinales. Elle est responsable aussi de la majorité des diarrhées infantiles dans les pays en voie de développement. Son implication dans les syndromes diarrhéiques est également importante chez l'adulte. Le mode de transmission se fait par ingestion d'aliments ou d'eaux contaminés comme par transmission interhumaine directe en conditions de proximité et d'hygiène douteuse (Bleibtreu, 2016).

➤ **Résistance aux antibiotiques**

Les souches d'*E. coli* sont généralement sensibles à la plupart des antibiotiques actifs sur les Gram négatifs. Elles ont néanmoins développé des résistances engendrées par des antibiothérapies abusives, de ce fait 40% des souches sont devenues résistantes aux amino-pénicillines, aux carboxy-pénicillines et à l'association amoxicilline-acide clavulanique par production de pénicillinases. Ce type de souches est non seulement pathogène mais peut aussi être un vecteur de transmission de gènes de résistance à d'autres bactéries (Talou, 2004 ; Fred, 2006 ; Paterson, 2006).

III.4.1.2. Le genre *Pseudomonas*

❖ **Généralités**

P. aeruginosa a reçu plusieurs noms à travers son histoire sur la base de ses cultures de coloration bleu-vert caractéristique produisant le plus souvent des pigments de pyocyanine. Elle a été isolée pour la première fois en 1882 par Gessard qui a démontré que ce pigment a été le produit d'un organisme, *Bacillus pyocyaneus* (bacille pyocyanique) (Gessard, 1984)

Il s'agit d'un bacille à Gram négatif en forme de bâtonnet (Fig-4), c'est également une bactérie dépourvue de spores et de capsules, mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire (Hafiane et Ravaoarinoro, 2008)



Figure 4 : Observation microscopique de *Pseudomonas aeruginosa* (Bioquel).

❖ Classification

Règne : Bacteria

Division : Proteobacteria

Classe : Gamma proteobacteria

Ordre : Pseudomonadales

Famille : Pseudomonaceae

Genre : *Pseudomonas*

Espèce : *Pseudomonas aeruginosa* (Migula , 1900)

❖ Habitat

Pseudomonas aeruginosa est un organisme que l'on trouve très souvent dans la nature à une faible fréquence. Il peut être récupéré dans l'eau, le sol et les plantes. Cette espèce peut vivre en commensale chez l'Homme au niveau de la peau, de l'appareil respiratoire supérieur et du tube digestif, bien que son habitat principal reste controversé. En général, *P. aeruginosa* est détecté en grande quantité dans les eaux usées contaminées par l'Homme et les animaux (Romling et al, 1994).

❖ Pouvoir pathogène

P. aeruginosa est un pathogène opportuniste, responsable d'un grand nombre d'infections aiguës ou chroniques. La diversité des mécanismes pathogènes de *P. aeruginosa* combiné avec l'extrême adaptabilité conférée par son très grand génome fait de lui un germe redoutable. Sa pathogénicité est multifactorielle. Elle est notamment liée à la synthèse de multiples facteurs de virulence (Ben haj khalifa et al, 2011).

❖ Résistances aux antibiotiques

Cette bactérie opportuniste est caractérisée par son fort potentiel d'adaptation au milieu environnant et par sa rapidité d'acquisition de résistances aux antibiotiques. Ainsi, les molécules habituellement actives sur cette bactérie sont de nombre limité et sont représentées par certaines β -lactamines (pipéracilline et ticarcilline, avec ou sans inhibiteur, ceftazidime, céfépime, aztréonam, imipénème, méropénème, doripénème), les fluoroquinolones (ciprofloxacine, lévofloxacine), les aminosides (sauf la kanamycine), la fosfomycine et la colimycine. Les résistances acquises pour ces antibiotiques sont cependant très fréquentes, résultant de l'accumulation de mécanismes de résistance liés à des mutations chromosomiques et à l'acquisition de gènes transférables. *P.aeruginosa* produit naturellement une céphalosporinase qui malgré sa synthèse à faible échelle, lui confère une résistance naturelle aux céphalosporines (Mérens et al ,2011).

III.4.2. Bactéries à Gram +

III.4.2.1. Le genre *Staphylococcus*

❖ Généralités

La famille des staphylococcaceae comprend quatre genres, dont le plus important est le genre staphylococcus. Ce sont des bactéries à Gram positif aéro-anaérobies facultatifs. Leurs cellules bactériennes ont la forme de coques regroupées en amas, ayant la forme d'une grappe de raisin (Fig-5) elles sont immobiles et non sporulé. Elles sont cultivés sur des milieux de cultures ordinaires .Elles sont catalase –positives, oxydase négative fermentent le glucose et possèdent des acides teichoïques dans leur paroi cellulaire (Prescott ,2007).

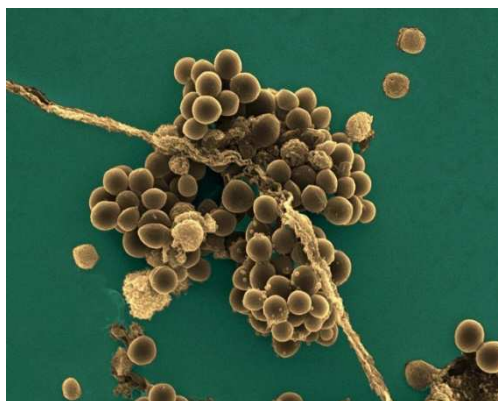


Figure 5 : Observation microscopique de *Staphylococcus aureus*(Bioquel)

❖ Classification

Règne : Bacteria

Division : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : *Staphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *aureus*. (Ludwig et al, 2010)

❖ Habitat

L'espèce en question est ubiquitaire présente dans l'environnement et chez les animaux mais son habitat préférentiel est l'homme. Dans les heures qui suivent la naissance, *S. aureus* colonise la peau, l'ombilic, le tube digestif et le périnée du nouveau-né. Cette colonisation fluctue jusqu'à l'âge de 6 ans où l'on considère qu'elle est représentative du portage à l'âge adulte. Chez celui-ci, *S. aureus* est présent dans les zones cutanées humides et colonise surtout les muqueuses des fosses nasales et de l'oropharynx mais aussi le périnée. La peau, particulièrement celle des mains, est régulièrement colonisée. La fréquence du portage nasal varie de 20 à 30% dans la population générale (Durand, 2009).

❖ Pouvoir pathogène

Bien qu'étant commensal, *S. aureus* est également responsable d'un grand nombre d'infections chez l'Homme, notamment des infections cutanées (impétigos, folliculites, furoncles, panaris), et des infections des muqueuses (conjonctivites, otites, salpingites, endométrites, pneumonies). (Lowy, 1998).

S. aureus possède de nombreux facteurs de virulence et de pathogénicité (facteurs d'adhésion, toxines, enzymes) et exerce son pouvoir pathogène par la libération d'une ou de plusieurs toxines. Parmi les toxines, les entérotoxines libérées par la bactérie sont responsables de toxico-infections alimentaires (Shallcross, 2013).

❖ Résistances aux antibiotiques

La multirésistance de *Staphylococcus aureus* reste un problème d'actualité et un sujet de préoccupation légitime. Les souches de *S. aureus* résistantes à plusieurs antibiotiques sont apparues et se sont révélées difficiles à traiter médicalement. Les *S. aureus* résistants aux β -

lactamines, ce germe produit des pénicillinases qui ouvrent le cycle β -lactame et inactivent l'antibiotique. Les aminosides peuvent aussi subir des modifications par divers enzymes staphylococciques conférant à cette espèce une résistance à de nombreux antibiotiques comme la gentamycine, l'amikacine ou encore la kanamycine (**Prescott, 2012**).

I. Matériel et méthodes

I. Matériel

I.1 Matériel végétal

Le but de notre travail est de tester l'activité antibactérienne de l'infusion, de l'extrait et de l'huile essentielle de *l'Origanum vulgare*..

I.2.1. Récolte du matériel végétal

L'origan a été récolté au niveau des rochers calcaires des montagnes de la région 'El magron d'Oued Cheham municipalité de la wilaya de Guelma en avril 2019. C'est une plante de la famille des lamiaceae. (Barrantre, 1998).

Sa partie aérienne a été cueillie durant un temps ensoleillé sur une altitude de 800-900m , lavé à l'eau puis débarrassée des impuretés.



Figure 6 : *Origanum vulgare* (prise personnelle)

I.2. Souches bactériennes utilisées

Pour mettre en évidence la capacité antibactérienne des fractions huileuses, l'infusion et d'extrait d'Origan, un totale de 3 souches microbiennes a été utilisé (2 bactéries à Gram- et 1 à Gram+) comme montré le **tableau 2**. Trois souches sont des bactéries de référence de

type ATCC (American Type Culture Collection) .Ces souches nous ont été fournies par le laboratoire de bactériologie de l'Hôpital IBN ZOHR -Guelma- .

Tableau 02 : Liste des microorganismes testés.

Type	Espèce	Famille
Bactéries à Gram négatif	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Enterobacteriaceae</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Pseudomonaceae</i>
Bactéries à Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	<i>Micrococaceae</i>

I.2.1. Récolte du matériel végétal

L'origan a été récolté au niveau des rochers calcaires des montagnes de la région 'El magron d'Oued Cheham municipalité de la wilaya de Guelma en avril 2019.C'est une plante de la famille des lamiaceae.(Barrantre, 1998).

Sa partie aérienne a été cueillie durant un temps ensoleillé sur une altitude de 800-900m avant la période de floraison, lavé à l'eau puis débarrassée des impuretés.

I.2.2. Les milieux de culture utilisés

Pour assurer la survie des bactéries et tester les différents extraits de la plante étudiée, plusieurs milieux de culture ont été utilisés :

* Le milieu gélose nutritive (*Escherichia.coli*), le milieu Chapman (*Staphylococcus aureus*) et le milieu King A (*Pseudomonas aeruginosa*).

*Le milieu Mueller – Hinton (MH):est utilisé pour tester l'activité antibactérienne d'une substance donnée (antibiotiques, huiles essentielles, extrait méthanolique, infusion).ce milieu permet la croissance de nombreux bactéries et ne contient pas des inhibiteurs des antibiotiques.

II.2.Méthodes

II.2.1.Séchage du matériel végétal

Les feuilles de l'*Origanum vulgare* ont été séchées à une température ambiante dans un endroit aéré et ombragé pendant une semaine, dans des étagères recouvertes de papier-peint afin d'éviter tout dépôt de moisissures. (Owen et Johns, 1999)

II.2.2.Les tests phytochimiques

Une quantité des feuilles a été émietée pour l'extraction de l'huile essentielle et de l'infusion .et une autre réduite en poudre et mise dans des flacons hermétiques à l'abri de la lumière. C'est à partir de cette poudre que l'extrait méthanolique a été confictionné et que les tests phytochimiques ont été réalisés.

❖ Les saponosides

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

❖ Les alcaloïdes

On ajoute à 10 g de la drogue végétale pulvérisée, quelques millilitres d'HCL à 1% et on laisse le mélange en macération pendant 30 mn. Après on filtre le mélange et on ajoute le réactif de Mayer au filtrat. L'apparition d'une solution trouble indique la présence d'alcaloïdes(Dohou, 2001)

❖ Les tanins

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

❖ Les flavonoïdes

On ajoute à10 g de la drogue végétale, 150 ml d'HCL diluée à 1% .On laisse macérer 24h. Après filtration, on prend 10 ml de filtrat et on lui ajoute une goutte de NH₄OH pour le

rendre basique. L'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube à essai indique la présence de flavonoïdes.(Okmu ,2005).

❖ Les Mucilages

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

❖ Les Coumarines

1g de l'échantillon de la poudre végétal est placé dans un tube à essai en présence de quelques gouttes d'eau distillée. Le tube est recouvert avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et porté dans un bain marie pendant quelques minutes. On ajoute par la suite 0.5ml de NH₄OH dilué (10%) au tube. Enfin on met deux taches de la solution du tube sur un papier filtre et on examine sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (Rizk, 1982).

II.2.3. Protocole d'extraction de l'huile essentielle de l'origan

L'extraction de l'huile essentielle d'origan se fait grâce à un hydrodistillateur de la marque ISOLAB **figure(07)**, elle a été réalisée dans le laboratoire de chimie analytique Université Badji Mokhtar Annaba – (département de pharmacie).

L'opération consiste à introduire 100 g de l'échantillon (feuilles séchées et emmiellées) dans un ballon en verre de 2 litres, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon **figure (07)**. C'est au bout d'une demi-heure de chauffage régulier, que commence l'évaporation. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière.

Après condensation, le liquide ainsi obtenu ou le distillat s'écoule goutte à goutte et recueilli dans un flacon collecteur, situé à l'extrémité inférieure du tube réfrigérant. L'extraction dure environ trois heures. L'huile essentielle sera séparée par

décantation puis récupérée dans des flacons opaques bien scellés, et enfin conservée à température basse (4-5 C°).



Figure 7 : Montage de l'hydrodistillation

II.2.4. Conservation de l'huile essentielle obtenue

La conservation de l'huile essentielle obtenue exige certaines précautions qui sont indispensables. Elle doit être récupérée dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière et doit être conservée à une température voisine de 4°- 5°C (Hallal, 2011).

II.2.5. Détermination du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle (R) est le rapport entre le poids de l'huile extraite (P') et le poids de la plante traitée (P) ; Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante : (Labioud, 2016).

$$R\% = (P'/P) \times 100$$

R% : rendement de l'huile en (%)

P' : poids de l'huile en (g)

P : poids de la plante en (g)

II.2.6. Préparation de l'extrait méthanolique

La méthode utilisée est celle décrite par **Bruneton (1999)**. Elle est basée sur le degré de solubilité des molécules dans les solvants modifiés. 60 g de la drogue végétale mélangée dans du méthanol à 85% et complétée avec l'eau distillée à 250ml est introduits dans un erlenmeyer de 1L. L'extraction est réalisée par macération à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 72 heures. Le filtrat a été soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un rota vapeur (**BUCHI – zwitter bland**) à 45°C. (**Fadili, 2015**).

II.2.6.1. Conservation de l'extrait méthanolique

Le résidu obtenu est mélangé au DMSO et est conservé à froid jusqu'à son utilisation.

II.2.6.2. Calcul de rendement

Le rendement en pourcentage (%), est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait et celle de la plante sèche en poudre. Il est calculé par la formule suivante :

$$R \% = 100 m/m_0$$

R : rendement en pourcentage (%).

m : masse de l'extrait brut de la plante

m₀: masse de la plante sèche en poudre.

II.2.7. Protocole de l'infusion

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **Kankon et al, (2006)** en y apportant quelque modification.

- Peser 10 gramme de feuilles séchées.
- Ajouter les feuilles séchées au 200ml d'eau distillée puis agiter manuellement et doucement.
- Chauffer le mélange dans un bain-marie bouillant pendant 30 minutes.
- Filtrer sur un papier Wathman.

- Répéter la procédure trois fois (fraction retenue par le filtre dans 200 ml distillée bouillante).

II.3.Evaluation de l'activité antibactérienne

Etude du comportement des souches utilisées vis-à-vis des antibiotiques

Le but de la réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique. Il sert également :

- ❖ A la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne.
- ❖ A l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles.

La sensibilité aux antibiotiques est étudiée par la méthode de diffusion en milieu solide par la méthode de disque, selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM, 2012). Cette méthode permet de déterminer la sensibilité des bactéries à croissance rapide vis-à-vis d'une gamme d'antibiotiques (François, 2000 ; Cavallo, 2007).

➤ Préparation de la suspension bactérienne

Avant de déterminer l'activité antibactérienne de n'importe quelle substance, une suspension de chaque bactérie utilisée doit être préparée de la manière suivante :

Il est nécessaire d'avoir des colonies jeunes de 18h. Pour cela, chaque souche étudiée, a été repiquée sur son milieu de culture approprié. Après croissance, une colonie bien déterminée de chaque espèce bactérienne a été prélevée à l'aide d'une pipette pasteur stérile et introduite dans un tube stérile contenant de l'eau physiologique stérile (0,9 % NaCl). La suspension bactérienne doit être trouble (densité de 0,5 Mcfarland) (Mohhamdi, 2006).

➤ Ensemencement

Après avoir introduit un écouvillon stérile dans l'inoculum ajusté au témoin d'opacité standard, rejeter l'excès de bouillon par pression sur les parois du tube. Ensemencer la gélose. L'écouvillon doit passer 2 à 3 fois sur toute la surface en tournant la boîte 3 fois de 60° afin d'assurer une bonne répartition de l'inoculum. Laisser sécher les boîtes 10 minutes avant de déposer les disques.

➤ **Dépôt des disques et incubation**

Poser les disques en appuyant légèrement pour qu'ils adhèrent bien à la gélose. Les disposer à 15 mm minimum de la périphérie de la boîte de manière à ce que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas.

Incuber les boîtes à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. (Fauchère, 2002 ; Aissa, 2004)

➤ **Lecture**

Pour chaque souche, et pour chaque antibiotique :

Mesurer la zone d'inhibition en millimètre à l'aide d'une règle. Rapporter cette mesure sur l'échelle de concordance correspondante indiquant si la bactérie est sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) à l'antibiotique (Tableau 3)(Carret, 2004)

Tableau 03 : Valeurs des diamètres critiques des antibiotiques testés (CASFM, 2012).

		ATB	Sigle du disque	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)	
					Sensible	Résistante
β-lactamines	Pénicillines	Pénicilline G	P	6µg	≥ 29	< 18
		Amoxicilline	AMX	25 µg	≥ 23	< 16
	Céphalosporines	Céfotaxime	CTX	30 µg	≥ 26	< 23
Aminosides		Gentamicine	GN	15 µg	≥ 18	< 16
Phénicolés		Chloramphénicol	C	30 µg	≥ 23	< 19
Macrolides		Erythromycine	E	15 UI	≥ 22	< 17
Glycopeptides		Vancomycine	V	30µg	≥16	<16
Autres		Fosfomycine	FOS	50 µg	≥14	< 14

II.3. Etude du comportement des souches utilisées vis-à-vis des différents extraits de la plante étudiée

➤ L'huile essentielle

L'huile essentielle d'*O. Vulgare* est testée sur les souches bactériennes préalablement sélectionnées, d'une part à l'état brut (pour la méthode des disques) et d'autre part à l'état dilué pour la détermination de la CMI (concentration minimale inhibitrice).

Les dilutions de cette huile sont préparées par solubilisation de l'huile essentielle brute dans le diméthylsulfoxyde (DMSO).

➤ L'extrait méthanolique

L'extrait méthanolique d'*O. vulgare* est testé sur les souches bactériennes préalablement sélectionnées. Il est dissous dans du (DMSO) à une concentration finale de 50 mg/ml

➤ L'infusion

L'extrait aqueux de la plante est testé sur les souches bactériennes préalablement sélectionnées. Il est préparé dans l'eau distillée stérile.

➤ Préparation de la suspension

Comme pour l'antibiogramme avant de déterminer l'activité antibactérienne de n'importe quelle substance, une suspension de chaque bactérie utilisée doit être préparée de la manière suivante :

Il est nécessaire d'avoir des colonies jeunes de 18h. Pour cela, chaque souche étudiée, a été repiquée sur son milieu de culture approprié, après croissance, une colonie bien déterminée de chaque espèce bactérienne a été prélevée à l'aide d'une pipette pasteur stérile et introduite dans un tube stérile contenant de l'eau physiologique stérile (0,9 % NaCl). La suspension bactérienne doit être trouble (densité de 0,5 Mcfarland) (Mohhamdi, 2006).

➤ Ensemencement

Dans des boîtes de Pétri, le milieu de culture gélosé MH en surfusion est coulé aseptiquement à raison de 15 ml par boîte. Après la solidification, un écouvillon stérile imbibé avec la suspension bactérienne fraîchement préparée est étalé à la surface de la gélose à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur

la périphérie de la gélose dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. On laisse sécher les boîtes pendant 15 à 20 min. avant de déposer les disques des différents extraits de la plante étudiée.

➤ **Dépôt des disques et incubation**

Afin d'évaluer qualitativement *in vitro* le pouvoir antibactérien de l'*O. vulgare* de l'huile essentielle, de l'extrait méthanolique et de l'infusion nous avons utilisé la technique de la diffusion sur disque en milieu gélosé ou encore méthode des disques (**Dayal et Purohit, 1971**)

La technique utilisée est celle de la diffusion sur disque en milieu gélosé ou encore méthode des disques (**Dayal et Purohit, 1971**). C'est une méthode d'évaluation qualitative *in vitro* du pouvoir antibactérien de huile essentielle, d'extrait méthanolique et de l'infusion.

Dans cette méthode, on utilise des disques de papier Whatman n°1 (6 mm), imprégnés des différents extraits de la plante étudiée. Ces disques seront par la suite déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé en surface à l'aide d'une suspension bactérienne. Après incubation (à l'étuve à 37°C pendant 24h)

➤ **Lecture**

Les résultats du test de diffusion sur disque ont été appréciés comme suit :

- ❖ Pas sensible (-) : de diamètre inférieur ou égal à 8.0 mm,
- ❖ Moyennement sensible (+) : pour un diamètre compris entre 8.0 et 14.0 mm.
- ❖ Sensible (++) : pour un diamètre compris entre 14.0 et 20.0 mm.
- ❖ Extrêmement sensible (+++) : pour un diamètre égal ou supérieur à 20.0 mm (**Djabou et al, 2013**).

Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne

III.3.1. Recherche de la CMI

La CMI représente la plus faible concentration d'huile essentielle à laquelle aucune poussée bactérienne n'est observée. Le calcul de la CMI a été réalisé par la méthode de l'incorporation en milieu gélosé selon les recommandations du **Casfm(2012)**. A partir d'une solution mère, des dilutions de l'huile essentielle ont été préparées dans le DMSO, qui semble être le solvant idéal pour sa miscibilité avec l'HE et son innocuité vis-à-vis des microorganismes. Les dilutions ainsi obtenues ont été incorporées au milieu Mueller Hinton en surfusion puis coulées dans des boîtes de Pétri. Après séchage du milieu, des échantillons

de chacune des souches tests ont été déposés à la surface de la gélose (sous forme de spots). Après une incubation de 24 h à 37°C, nous avons procédé à la lecture des résultats, la distinction entre les souches sensibles et les souches résistantes se fait selon qu'il y ait poussé ou non des souches à leur emplacement (**Benjilali et al, 1986 ; Billerbeck et al, 2002**).

II.3.2. Recherche de la CMB

La CMB représente la plus faible concentration d'huile essentielle qui détruit 99,9% de l'inoculum bactérien, ce qui correspond à un dénombrement bactérien inférieur à un intervalle compris entre 10⁴ et 10² UFC/ml après 24h d'incubation (l'inoculum initial étant entre 10⁶ et 10⁸). Des prélèvements d'échantillons ont été effectués sur chacune des boîtes n'ayant montrées aucune croissance bactérienne lors du test précédent, ces prélèvements ont été ensuite repiqués sur gélose nutritive puis incubés à 37 °C pendant 24h.

La concentration minimale bactéricide correspond à la plus faible concentration d'huile essentielle pour laquelle aucune croissance n'a été observée (**Haddouchi, 2009**).

IV. Résultats et discussion

II.1. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur la poudre à partir de la partie aérienne (feuilles) d'*Origanum vulgare* en utilisant des solvants de polarité différente et des réactifs spécifiques de révélation.

Le screening phytochimique a pour objectif de détecter les principaux métabolites secondaires existants dans *O.vulgare* via une analyse qualitative de réactions de coloration spécifiques, de précipitation, de turbidité, d'essais de solubilités des constituants et d'utilisation des techniques de fluorescences (examen sous la lumière ultraviolette).

Les résultats du screening phytochimique sont représentés par les **figures (1,2,3,4,5)**. Ils montrent la présence des flavonoïdes, des tanins, des saponosides, des mucilages et l'absence des alcaloïdes et les coumarines au niveau des feuilles de la plante.

❖ Les saponosides

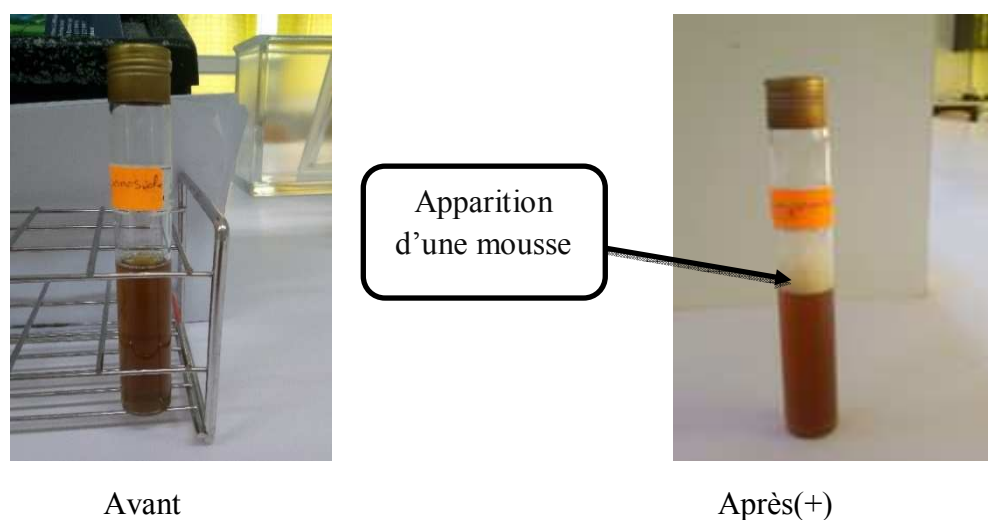


Figure 8 : Test d'identification des saponosides.

❖ Les alcaloïdes

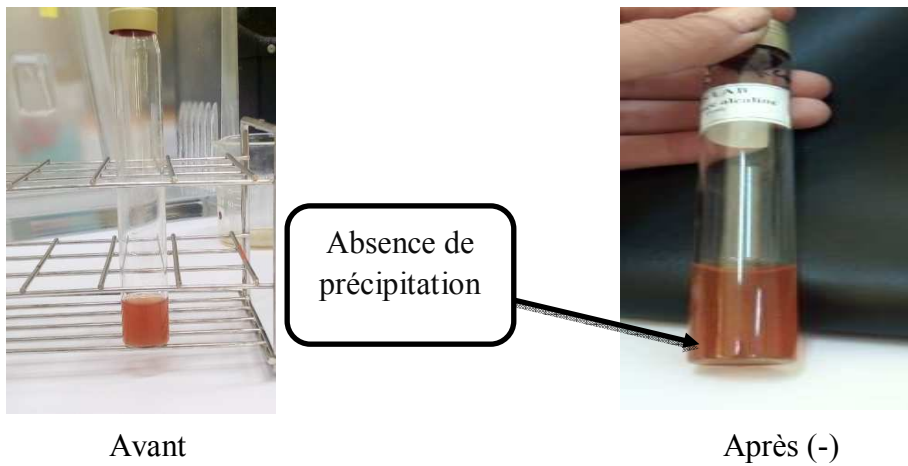


Figure 9 : Test d'identification des alcaloïdes.

❖ Les tanins

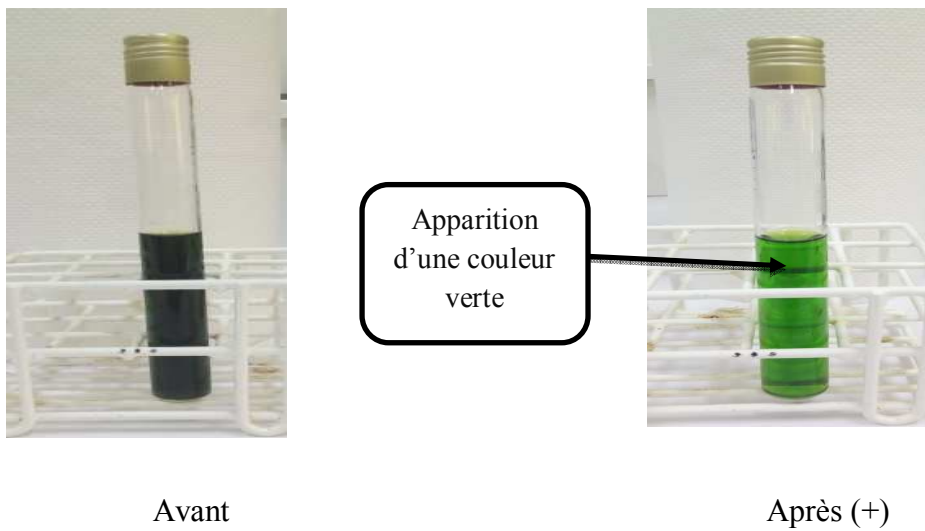


Figure 10 : Test d'identification des tanins.

❖ Les mucilages

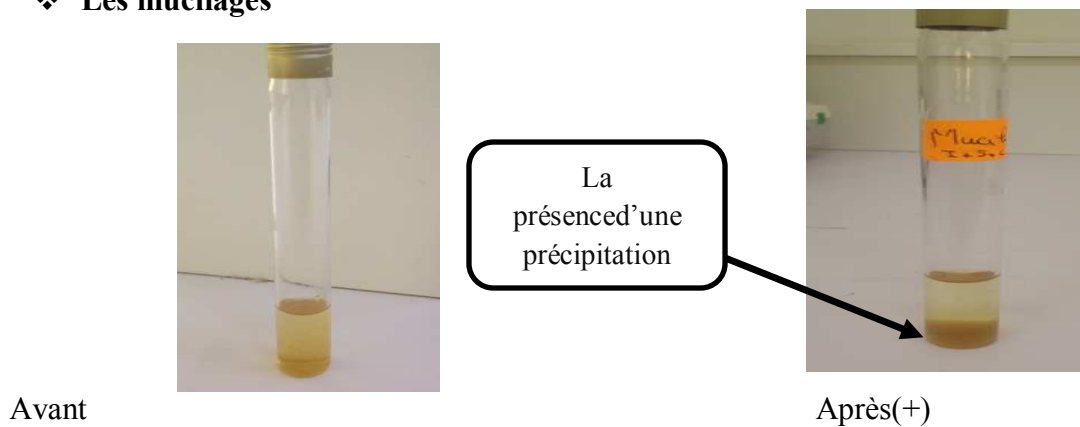


Figure 11 : Test d'identification des mucilages.

❖ Les flavonoïdes

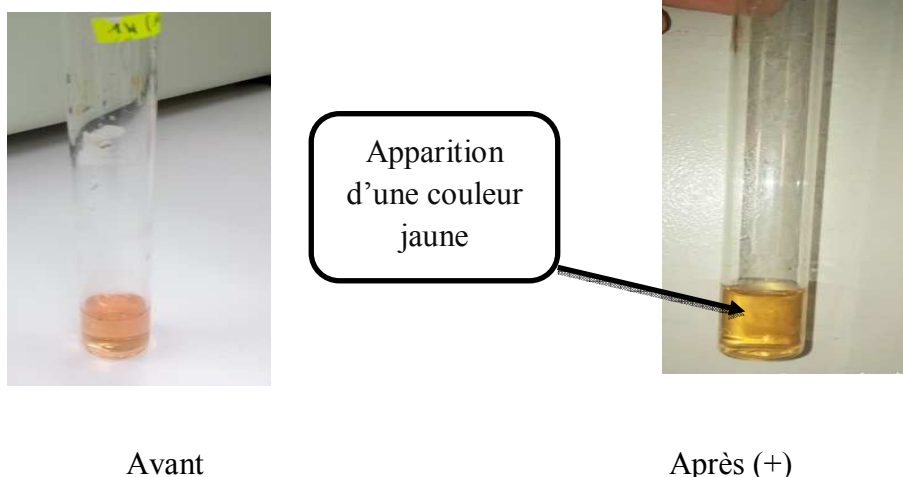


Figure 12 : Test d'identification des flavonoïdes

❖ Coumarine

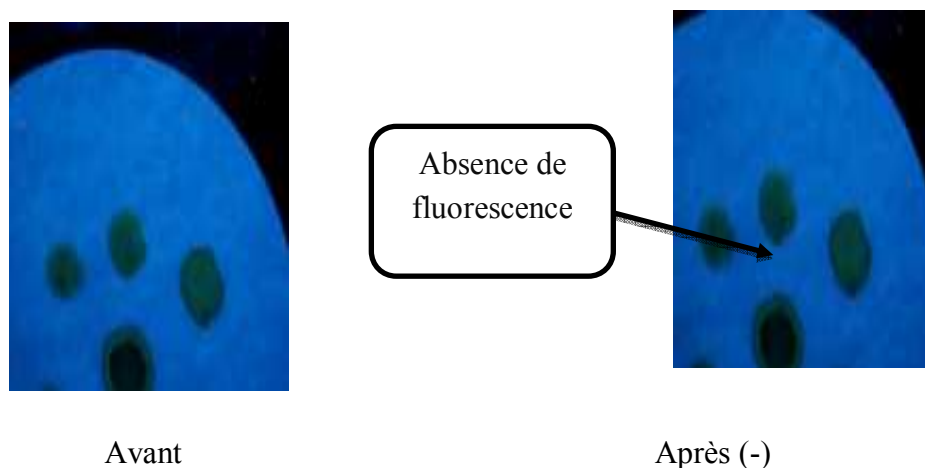


Figure 13 : Test d'identification des coumarines

Les travaux antérieurs sur les tests phytochimiques d'*Origanum vulgare* montrent qu'il n'existe pas de différences entre les groupes chimiques existants dans la plante étudiée par comparaison avec l'étude réalisée par **Bendifallah et al (2015)**. De même, les tests phytochimiques réalisés par **Vasudeva (2015)** et **Tamert et al (2017)** sont en accord avec nos résultats. La présence de ces métabolites secondaires au niveau de l'*Origanum vulgare* explique son fort pouvoir thérapeutique. Par conséquent, ces résultats justifient la large utilisation de cette plante dans la médecine traditionnelle par la population locale. Effectivement, les tanins, les flavonoïdes et les saponosides possèdent plusieurs propriétés bénéfiques notamment antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, vasculo-protectrices, antiulcéreuses et bien d'autres (**Bouhaddouda, 2016 ; Labiod, 2016**).

II.2. Rendement de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*

Selon le résultat obtenu, le rendement moyen en huile essentielle a été calculé en fonction de la matière végétale fraîche de la partie aérienne (les feuilles) de la plante. Les échantillons de l'*O. vulgare* ont fourni un taux d'environ 2.14%. Ce résultat est nettement supérieur à celui reporté par **Gong et al (2014)** et **Bejaoui et al (2013)**. Par ailleurs, notre résultat semble être similaire à celui enregistré par **Semra et al (2013)**. Ce dernier a trouvé un rendement d'huile essentielle de 2.2%, sachant qu'il a utilisé une plante récoltée dans la région de Zighoud Youcef (wilaya de Constantine). **Mechergui et al (2015)** quant à eux ont déterminé des rendements en huile essentielle d'*O. vulgare* supérieurs à notre résultat (entre 2.5% et 4.6%).

Les variations des rendements en huiles essentielles peuvent être liées au choix de la période de récolte de la plante car elle est primordiale en termes de quantité et de qualité de l'huile essentielle. D'autres facteurs peuvent également influencer le rendement en huiles essentielles tels que la zone géographique de collecte, le climat, la génétique de la plante, l'organe utilisé, le stade de développement de la plante, son degré de fraîcheur, la période de séchage, la méthode ainsi que le matériel d'extraction utilisés (**Benbouali, 2006 ; Touré, 2015 ; Abdelli, 2017**).

II.3. Rendement de l'extrait méthanolique d'*origanum vulgare*

L'extrait méthanolique de la plante étudiée a été préparé à partir de la poudre de cette même plante macérée dans du méthanol. Le rendement de l'extrait méthanolique brut est égal à 0.83%.

L'extrait méthanolique d'*O. vulgare* n'a pas fait l'objet d'études. Cependant des extraits méthanoliques d'autres variétés d'origan ont été étudiés. Le rendement retrouvé a été différent du notre. Notamment celui de **Bouhadouda (2015)** qui a pu en déterminer un rendement de 14.35% d'extrait méthanolique d'*O. glandulosum*, de la région de Nechmeya dans les montagnes de Houara. .

On peut céder cette divergence de rendement, aux facteurs influençant la composition des plantes (lieux et périodes de récolte). ainsi qu'aux différences entre espèces.

III. Résultats de l'activité antibactérienne :

III.1. Antibiogramme

Les résultats de l'évaluation de l'action antimicrobienne des antibiotiques testés sur les souches cibles sont présentés par la **figure (14)**.

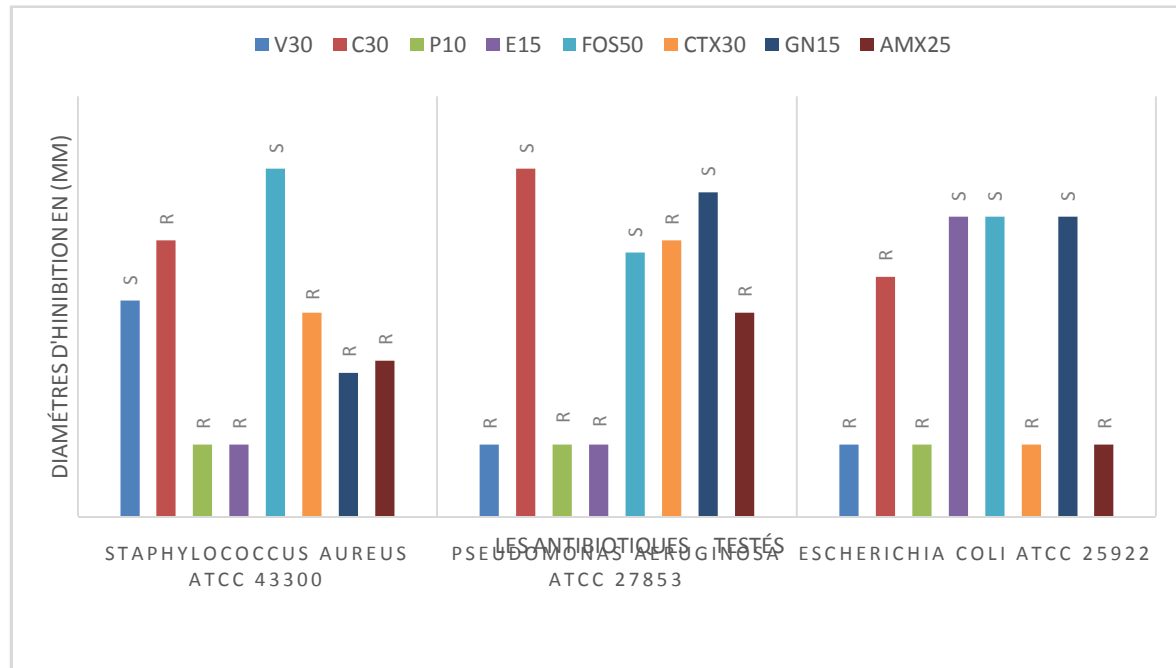


Figure 14 : activité antibactérienne des antibiotiques vis-à-vis des 03 souches testées

On remarque que la souche *Staphylococcus aureus* paraît être résistante vis-à-vis de tous les antibiotiques testés à l'exception de la Vancomycine, du Chloramphénicol et Fosfomycine avec lesquels elle est sensible.

La souche *Pseudomonas aeruginosa* se montre résistante vis-à-vis des antibiotiques testés à l'exception de l'Erythromycine, de la Fosfomycine, la Gentamicine, et du chloramphénicol avec lesquels elle a réagi positivement.

En ce qui concerne *Escherichia coli* cette espèce se montre sensible vis-à-vis du chloramphénicol, de la Fosfomycine et la Gentamycine, et Résistante à l'égard du reste des antibiotiques testés.

Ces mécanismes de réponse différentiels entre les souches cibles vis-à-vis des antibiotiques dépendent principalement de l'état cellulaire de la bactérie. Le chloramphénicol est un antibiotique bactériostatique de la famille des phénicolés qui agit principalement sur les bactéries à Gram+ et à Gram-. La résistance à l'égard de cet antibiotique est due à

l'imperméabilité de la membrane extérieure (pour les bactéries à Gram négatif) ou la membrane cytoplasmique (pour toutes les bactéries).

III.4. Etude du comportement des souches utilisées vis-à-vis des différents extraits de la plante étudiée

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle, de l'extrait méthanolique et de l'infusion d'*Origanum vulgare* vis-à-vis des bactéries testées est expérimentée par la méthode des disques. Leur potentiel antibactérien est qualitativement et quantitativement évalué par la mesure des diamètres des zones d'inhibition.

Rappelons que chaque disque contient 10 µl d'huile essentielle, d'extrait méthanolique et l'infusion d'*O.vulgare*.

Les résultats du test de diffusion sur disque ont été appréciés comme suit :

- **Pas sensible (-)** : de diamètre inférieur ou égal à 8.0 mm,
- **Moyennement sensible (+)** : pour un diamètre compris entre 8.0 et 14.0 mm.
- **Sensible (++)** : pour un diamètre compris entre 14.0 et 20.0 mm .
- **Extrêmement sensible (+++)** : pour un diamètre égal ou supérieur à 20.0 mm
(Djabou et al, 2013).

II.4.1. La souche E. Coli

L'activité antibactérienne des extraits de la plante étudiée sur la souche *E.coli* a été comparée à celle des ATBs est représentée par la figure (15).

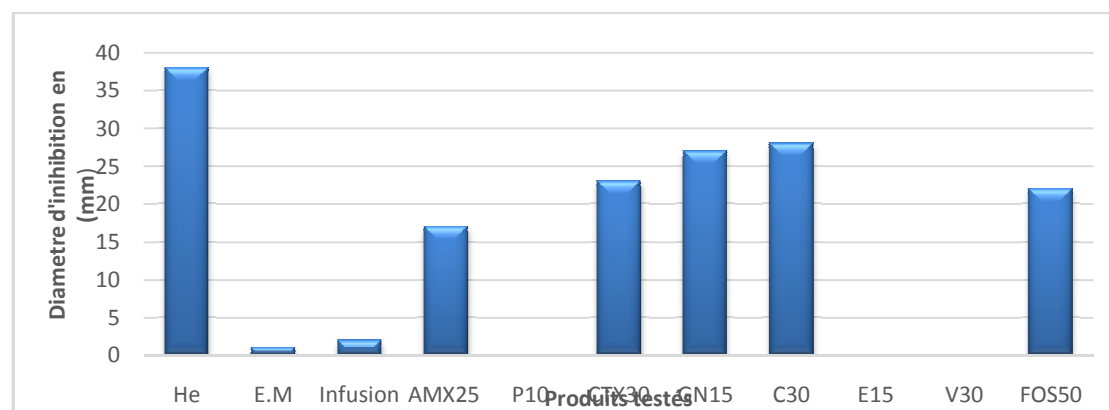


Figure15 : Présentation graphique des différents produits testés sur *E.coli*

Les résultats ont montré clairement que la bactérie *E. coli* s'était avérée extrêmement sensible vis-à-vis de l'HE avec un diamètre d'inhibition de 38 mm, pour l'extrait méthanolique et l'infusion, elle leur a été résistante avec un faible halo d'inhibition de 1 et 2mm de diamètre respectivement. En ce qui concerne les antibiotiques, elle était résistante vis-à-vis la vancomycine, pénicilline et erythromycine et sensible vis à vis des autres antibiotiques.

Nous avons remarqué avec intérêt que l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare* possède une activité antibactérienne meilleure à celle de l'extrait méthanolique, de l'infusion et tous de les antibiotiques testés.

Notre résultat concorde avec celui d'**Amrouni et al (2014)** qui a étudié l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* montrant que ses composants avaient un grand effet contre l'espèce d'*Escherichia coli* (diamètre d'inhibition de 34.1 mm).

Dorman et al (2000) ont testé un grand nombre de composés purs parmi lesquels les composants probables de l'huile essentielle d'origan (carvacrol, thymol, α -terpinéol, γ -terpinène, p-cymène) sur 25 genres de bactéries. Ils ont démontré que le thymol est le composé qui possède le plus large spectre d'activité antibactérienne, suivi du carvacrol et de l' α -terpinéol. Ces auteurs ont montré également que la différence de l'efficacité antimicrobienne observée entre le thymol et le carvacrol est due à la position du groupement hydroxyle sur la structure phénolique des deux molécules.

En ce qui concerne l'extrait méthanolique de l'origan qui a montré un effet négatif sur la souche *e.coli*. notre résultat concorde avec celui de **Chedadba et al (2014)** qui a étudié l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *marrubium vulgare*, une plante de la famille des laïiacées (la même famille que l'origan) montrant l'absence de l'activité antimicrobienne de ces dernières vis-à-vis de cette bactérie.

La résistance des bactéries est attribuée au caractère hydrophile de leur membrane qui bloque la pénétration des molécules hydrophobiques telles que les polyphénols (**Inouye et al ,2001**). La paroi bactérienne d'*Escherichia coli* par exemple est très riche en lipopolysaccharides (LPS) qui empêchent les molécules hydrophobiques de traverser la membrane (**Sharif et al ,2009**).

L'extrait aqueux d'origan (infusion) ne présente aucun effet antibactérien envers la souche *E.coli*. Notre résultats ce concorde avec celui de **Tamert et al (2017)** qui ont étudié le l'activité antimicrobienne des extraits aqueux de *Thymus serpyllum* et de *Thymus vulgaris* vis-à-vis de la même souche

III.4.2. La souche *S.aureus* :

L'activité antibactérienne des extraits de la plante étudiée vis-à-vis la souche *S.aureusa* été comparée à celle des ATBs et est représentée par **la figure (16)**.

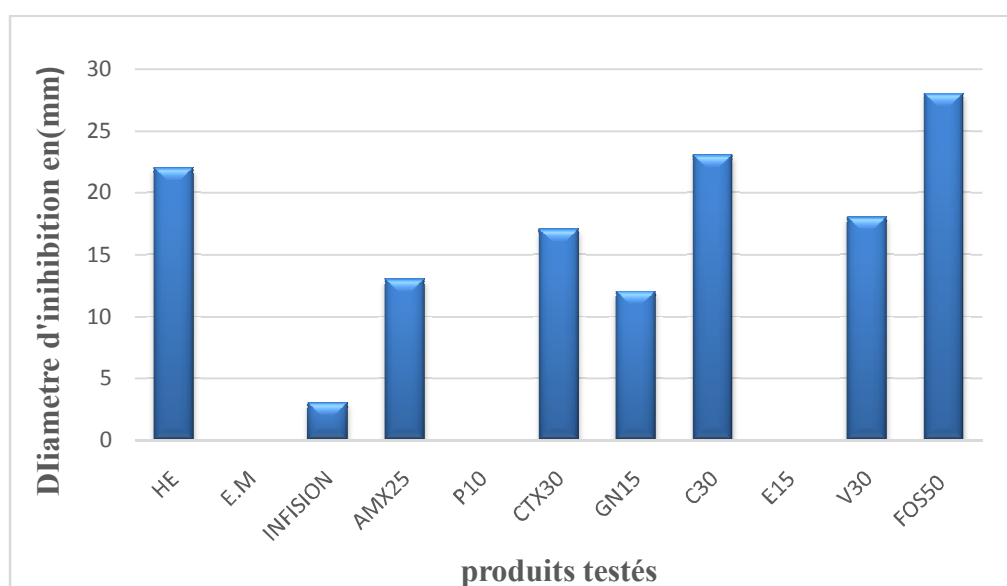


Figure16 : Présentation graphique des différents produits testés sur *S.aureus*

Les résultats obtenus ont montré une sensibilité de la souche vis-à-vis de l'huile essentielle d'*O.vulgare* avec une zone d'inhibition de 22 mm. la bactérie est résistant vis-à-vis de l'extrait méthanolique et égalent à l'infusion avec un diamètre d'inhibition faible de 3mm. Pour ce qui du chloramphénicol et la fosfomycine, ces deux antibiotiques avaient un grand effet inhibiteur avec des diamètres d'inhibitions respectifs de 23 et 28 mm. L'huile essentielle testée avait une activité antibactérienne plus importante que les antibiotiques tels que l'amoxicilline, la pénicilline G, la céfotaxime, la gentamicine, l'érythromycine et la vancomycine.

Pour *S.aureuse* on remarque que l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare* est meilleure que celle de l'extrait méthanolique, de l'infusion et de 7 ATB AMX 25, P10, CTX30, GN15, E15, Va30) par contre les deux ATBs (C30, FOF50), ont une activité meilleure sur cette bactérie.

Nos résultats concordent avec ceux **Bekhechi et al (2008)** qui ont trouvé un diamètre d'inhibition environ 22mm avec la même souche et en utilisant l'huile essentielle d'origan.

Par contre l'extrait méthanolique ne présente aucun effet antibactérien sur la souche *S.aureus*. La résistance des bactéries à Gram (+) telle que *Staphylococcus aureus* vis-à-vis de l'extrait peut être expliquée par la structure de la paroi hétérogène de cette bactérie : la présence de l'exopolysaccharide contenant une couche externe (glycocalyx), la présence de certains composants comme l'acide teichoïque et quelques liens entre les divers composants donnant au polymère fortement réticulé de la paroi une structure tertiaire inconnue (**Sharif et al 2009**).

L'extrait aqueux (infusion) de la plante étudiée ne montre aucun effet antibactérien vis-à-vis de la souche *S.aureus*. Notre résultat est similaire à celui trouvé par **Kaabour (2009)**, qui a étudié l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits aqueux du thé, de l'origan et du gingembre.

III.4.3-la Souche *P. aeruginosa*

Cette bactérie montre une sensibilité uniquement vis à vis certains antibiotiques et une résistance vis à vis d'autres, elle semble être résistante aux autres extraits de la plante étudiée (huile essentielle, extrait méthanolique et infusion).

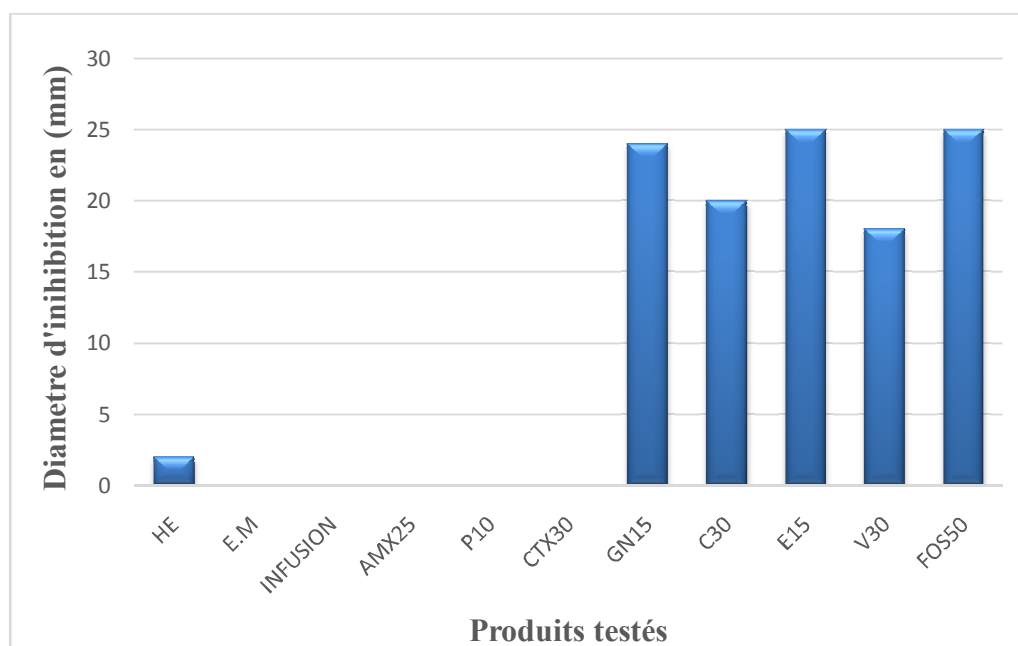


Figure 17 :Présentation graphique des produits testés sur *P.aeruginosa*

Les résultats obtenus ont montré que la souche *P.aeruginosa* est résistante vis-à-vis de l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare* avec un faible halo d'inhibition de 2mm de diamètre de l'extrait méthanolique et de l'infusion (aucun halo d'inhibition). En ce qui concerne certains antibiotiques testés, ils étaient plus actifs vis-à-vis de la souche *P.aeruginosa* que les différents extraits (HE, E.M et l'infusion) utilisés. Il a été remarqué que l'activité antibactérienne de l'HE de l'*Origanum vulgare* possède un effet plus faible que celui des ATB suivants (GN15, C30 E15, V30 et FOS50). **figure (17)**.

Notre résultat concordé avec plusieurs autres études (**Dorman et Dean, (2000) ; Sari et al (2006) ; Bendahou et al (2008) ; Béjaoui et al (2013)**) qui montre que la souche *P.aeruginosa* c'est la souche la plus résistante de l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare* car elle possède une résistance aux agents biocides qui est en relation avec la nature de sa membrane externe (**Mann et al, 2000**).

Lambert et al. (2001) ont montré que *P. aeruginosa* se montre moins sensible à l'effet du mélange thymol et carvacrol que *S.aureus*. Ils ont également constaté que ces mélanges (thymol et carvacrol), ne présentent ni un effet synergique ni antagoniste contre les deux micro-organismes testés. La comparaison de l'activité du mélange thymol carvacrol à celle de l'huile essentielle entière, explique l'inhibition observée pour cette huile. Ça suggère que l'activité antibactérienne de notre huile essentielle de l'espèce *Origanum vulgare* peut être attribuée principalement à ses constituants majoritaires : les phénols.

III.5.Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et des Concentrations Minimales Bactéricides (CMB).

Puisque aucun extrait de la plante n'a donné un effet antibactérien vis-à-vis d'*E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa* à part l'huile essentielle nous avons évalué la CMI et la CMB uniquement pour cette huile .

La Concentration minimale inhibitrice (CMI) est la dilution la plus importante (concentration faible) capable d'inhiber une croissance bactérienne.

La CMB : concentration minimale bactéricide qu'elle provoque la mort des bactéries. (Haddouchi et al, 1999).

La souche *E.coli*

La concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* sur *E.coli* est de 625ug/ml) tableau (4).

Teixeira Duarte et al, (2005) avancent que toute huile essentielle qui présente des CMI inférieures à 2 000 ug/ml est caractérisée par un fort pouvoir antimicrobien. L'huile essentielle d'*O.vulgare* a un effet bactéricide sur la souche *E.coli*.

Nous avons comparé nos résultats avec ceux de **Morris et al, (1979)** qui ont déterminé la CMI des huiles essentielles d'*Origanum* d'Espagne sur quatre souches microbiennes notamment *E.coli* Ils ont enregistré une faible activité par rapport à nos souches à savoir 500 ug/ml.

Nous avons également comparé nos résultats à ceux de **Hussainet al. (2009)** ont évalué l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *T.vulgare* à chémotype thymol vis-à-vis *E.coli* qui a donné une CMI de 0,83 mg/ml. L'huile essentielle d'*O.vulgare* a un effet bactéricide sur la souche *E.coli* Tableau (4).

La souche *S.aureus*

La concentration minimale inhibitrice de l'HE d'*O.vulgare* sur la souche *S.aureus* est égale à 625ug/ml Tableau (4).

Teixeira Duarte et al, (2005) avancent que toute huile essentielle qui présente des CMI inférieures à 2 000 ug/ml est caractérisée par un fort pouvoir antimicrobien.

L'huile essentielle d'Origan à un effet bacteriostatique sur la souche *S.aureus* savaleur.

Tableau(4) : Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricides (CMB) de l'huile essentitelle d'*Origanum.vulgare*.

Ce tableau représente les concetrations minimales inhibitrice et les concetrations minimales bactéricides de l'HE d'O.vulgare envers les trois souches bactériennes testées

Les souches	CMI (ug/ml)	CMB (ug/ml)
<i>E.coli</i>	625	625
<i>S.aureus</i>	625	ND
<i>P.aeruginosa</i>	ND	ND

ND : non déterminé.

IV. Conclusion :

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a eu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part, du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances de composés naturels bioactifs et d'autre part, besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Notre travail porte sur une espèce de la famille des lamiacées : l'*Origanum vulgare* largement répandue en Algérie.

Le screening phytochimique de l'espèce *Origanum vulgare* a permis de détecter différents composés notamment des flavonoïdes, des mucilages, des tanins et des saponosides. L'absence des alcaloïdes et des coumarines.

L'extraction de l'huile essentielle de la plante a été réalisée par hydrodistillation. Le rendement a été de 2.3% et pour le rendement d'extrait méthanolique 0.83%.

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* montrent que ces composants ont un grand effet contre les deux souches *E.coli* et *S.aureus* testées mais le grand diamètre enregistré d'*E.coli* 38 mm. Mais aucun effet antibactérien vis-à-vis de *P.aeruginosa* n'a été enregistré.

Après les résultats obtenus de l'extrait méthanolique et de l'extrait aqueux nous avons remarqué qu'il n'y a aucun effet de l'*O.vulgare* contre les trois souches bactériennes, nous obtenons des petits diamètres environ entre 1 à 4 mm. Les souches bactériennes testées résistent aux deux extraits.

Il a été remarqué également que l'HE de l'origan est plus efficace que l'extrait méthanolique, l'infusion et les antibiotiques principalement, pour la souche *E.coli*.

Les résultats de l'activité antibactérienne en milieu liquide montrent que l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* a une action inhibitrice des souches *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Escherichia coli* ATCC 25922 à une valeur de CMI égale 0.625ul/ml.

L'action des molécules diffusibles sur milieu solide peut être soit bactériostatique c'est le cas de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* sur *S.aureus*, soit bactéricide, ce qui est observé pour l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* sur *E.coli*.

En effet, notre travail reste préliminaire et l'extrait de la plante constitue un réservoir très intéressant pour des recherches ultérieures qui vont nous ouvrir des horizons de recherche ciblés vers cette plante en raison du manque des études similaires à notre étude.

Nous émettons quelques réflexions et recommandations sous forme de perspectives pour l'amélioration et une meilleure exploitation des plantes médicinales en médecine moderne.

- Déterminer par CPG couplée à la spectrométrie de masse, les différents composants de l'HE de l'*Origanum vulgare*.
- Purifier le ou les principes actifs de cette HE.
- Fractionnement et isolement des différents constituants des huiles essentielles des extraits méthanoliques et de l'infusion, afin de connaître la ou les molécules à l'origine des effets antioxydants, antibactériens et antifongiques et l'éventuelle synergie entre elles
- Mettre en évidence les mécanismes d'action des principes actifs.
- Utiliser d'autres méthodes de l'aromatogramme.
- Étude comparative de la composition chimique et de l'effet antimicrobien des huiles essentielles de différentes saisons afin de pouvoir optimiser l'activité antibactérienne.
- Études des autres activités telles que l'activité antivirale, antifongique anticancéreuse, anti-inflammatoire, etc.

Références bibliographiques

A

- **Adiaratou, T. (2001).** Etude de la phytochimie et de l'activité antipalodique de *Alchorena cordifolia* Schmach (Euphobiaceae), Doctorat en pharmacie, Bamako (Mali), p 42.
- **Adwan G., Abu-Shanab B., Adwan K., Abu-Shanab F (2009).** Antibacterial effects of
- **Afnor. (1992).** Recueil des normes francaises sur les huiles esse,tielles . parise
- **Alekshun MN, Levy SB. (2007)** Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 128: 1037–50.
- **Amiot J. (2005)** *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre
- **Aslim, B. et Yucel, N. (2007).**In vitro antimicrobial activity of essential oil from endemic *Origanum minutiflorum* on ciprofloxacin-resistant *Campylobacter* spp. *Food Chemistry*. 107: 602–606.
- **Avril J,L.Dabernat H, Denis F, Monteil H(1992)** *Bactériologie clinique*, 2ème édition, Ed., Marketing. Pp -268-276.

B

- **Babayi, H. ; Kolo, I. and Okogum, J.I. (2004).** The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. *Biochemistri*, 16 (2) : 102-5p.
- **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J., Pinkas, M., (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung.*, 46: 1086 1089
- **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M, (2008),** Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446-475p
- **Barrantre M.D.S, Dorman H.J.D, Deans S., Figueiredo A.C,Barroso J.G, et Ruberto**
- **Baydar, H., Sagdic, O., Ozkan, G. et Karadogan, T. (2004).** Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*. 15 : 169–172.

- **Bejaoui A., Chaabane H., Jemli M., Boulila AN., Boussaid M. (2013).** Essential oil composition and antibacterial activity of *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* Desf. at different phenological stages. *Journal of Medicinal Food*. 16 (12) .1115–1120p.
- **Ben Haj Khalifa A, Didier Moissenet, Hoang Vu Thien, Mohamed Khedher (2011)** Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* : mécanismes et modes de régulations ; *Annales de biologie clinique*, 69 p : 399
- **Benamor, B. (2008).** Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principe actifs ; texturation par Détente instantanée Contrôlée (DIC). Thèse de doctorat en génie des procédés Industriels. Université de la Rochelle.
- **Benbouali, M. (2006).** Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de "*Mentha rotundifolia* et *Thymus vulgaris*". Magister, Génie chimique, Université Hassiba BEN BOUALI –CHLEF
- **Bendahou M., Muselli A., Grignon-Dubois M., Benyoucef M., Desjobert J.M., Bernardini A.F. & Costa J., (2008).** Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chem*. 106: 132-139.
- **Bendifallah L., Tchoulak Y., Djouabi M., Oukili M., Ghezraoui R. (2015)** .Phytochemical Study and Antimicrobial Activity of *Origanum Vulgare* L. (Lamiaceae) in Boumerdes Mountainous Region (Algeria). *Journal of Medical and Bioengineering*., 4(6).471-474p
- **Benjlali B., Hammouni M., Richard H. (1987).** Chemical polymorphism of Moroccan thyme essential oils: compounds characterization. *Sci. Aliments*. 7: 77-91.
- **Besançon., (2012).** Progrès en dermato - Allergologie. Ed. John libbey Eurotext. Paris : 111p.
- **Billerbeck VG., Roques C., Vanière P., Marquier P., (2002).** Activité antibactérienne et antifongiques de produits à base d'huiles essentielles. *Hygiènes*. 3(10): 248-251.
- biological activities and oil properties of *origanum glandulosum* Desf ., *lavoisier*., 2-8p.
- **Bleibtreu, A. (2016).** Déterminants de la virulence extra-intestinale de *Escherichia coli* : de la microbiologie à la clinique. ed : Elsevier .146 p : 1-7.

- **Boudjemaa, N., Ben guega, H. (2010).**L'effet Antibactérien de *Nigella sativa*.Mémoire d'ingénieur, Université Kasdi merbeh-Ouargla.Algerie.60p.
- **Bouhaddouda, N. (2016).**Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium* .Thèse doctorat. Université Badji Mokhtar.Annaba
- **Boukhris M A, (2009).** Activites larvicides des extraits de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaires, sciences et techniques, Fès : Faculté des sciences et techniques, 80p
- **Boukhris, M. A. (2009).** Activites larvicides des extraits de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaires, sciences et techniques, Fès : Faculté des sciences et techniques, 80p
- **Boullard K M ;Boudjemaa N.E et Ben guega H,(2010).** L'effet antibactérien de *Nigella Sativa*. Université.

Boumerdes.

- **Brunton J.(1999),**pharmacognosie,phytochimie,plantes médicinales.
- **Burt S., (2004).** Essential oils: Their antibacterial properties and potential application in Foods. A review intern : J. Food. Microbiol. 94: 223-253
- **Carson, C.F ; Rilley, T.V and Bosque F. (2002).** Antimicrobial activity of the major components of essential oil of *Malaleuca alternifolia*. J.Appl. Bacteriol. 78: 264-269.
- **Charlotte Balière. (2016).**Les *Escherichia coli* potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral : cas des STEC et des EPEC, Microbiologie et Parasitologie. Université de Bretagne occidentale – Brest (France).
- **Chevallier A., Larousse (2001).** Encyclopédie of Medicinal Plants (2nd Edition)
- **Colette E., (2003).** **Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie**
- **Couderec C, (2015)** Impact des antibiotiques sur l'histoire naturelle de la colonisation nasale par *Staphylococcus aureus*, Université de Pierre et Marie Curie, France.
- **Cowan, S. T. (1954).** Abbreviation of bacterial generic names. Science. 120 (3131):1103-1104.

- **Cox SD., Gustafson JF., Warmington JR., Wyllie SG., (1991).** In vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Malaleuca alternifolia* essential oils. *J. Appl. Microbiol.* 88 :170-175 *Curr. Med. Chem.* 10 : 813-829

D

- **Daferera DJ., Ziogas BN., Polissiou MG., (2003).** The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Crop. Protection.* 22 :39–44
- **Debuigne G (1982).** Dictionnaire des plantes qui guérissent. Paris : Larousse.
- **Deroin T, (1988),** Biologie florale d'une Annonacée introduite en Côte D'Ivoire : *Cananga odorata* (Lam.) Hook.f. & Thoms. *Bulletin du Musée National d'Histoire Naturelle*, 10(4), 377-393p
- **Dohou, N. ; Yamni, K. and Tahrouch, S .** Screening phytochimique d'une plante endémique Ibéro-marocaine, *Thymelaeaceae*. *Bull Soc Pharm. Bordeaux* 142 : 61-87 p.
- **Dorman H.J.D. & Deans S.G, (2000).** Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88: 308–316.
- **Dorman H.J.D. et Deans S.G., 2000.** Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, 88, 308-316.
- **Dorman, H.J.D. et Deans, S.G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology.* 88: 308–316.
- **Dubois J, Mitterand H, t Dautat A,** *Dictionnaire étymologique et historique du français*, Éditions Larousse, 2006
- **Durand G. (2009)** Caractérisation, épidémiologie et pathogénie d'un clone de *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline portant le gène de la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1). *Sciences agricoles.* Université Claude Bernard - Lyon I, France

F

- **Fadili K ; Amalich S ; N'dedianhoua S;K.Bouachrine M;Mahdjoubi M;Elhilali F and ZAïr T.(2015)** Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des deux espèces du haut atlas du Maroc: *Rosmarinus Officinalis* et *thymus Satureioides* V.17 N.1. pp : 24
- **Fasty ,D. (2007).** Ma bible des huiles essentielles. Leduc Editions. P : 20.

- **Fischer N.H., Williamson G.B., Weidenhamer J.D., Richardson D.R.,(1994),** In search of allelopathy in the Florida Scrub- the role of terpenoids. *J. Chem. Ecolo*, 20, 1355-1380p
- **Franchomme, P .and Péroël, D. (1990).** L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges. P : 445
- **FRANCHOMME, P., JOLLOIS, R., PENOEL, D(2001).** L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thé
- **Fred .C, Tenorer .P, (2006).** Mecanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Assouciation for professionals in infections control and epidemiology*. 48: 3-10.

G

- **G(1998)** .chemical composition antimicrobial and antioxydantive activity of laurel,
- **Gessard, C. (1984)** Classics in infectious diseases. On the blue and green coloration that appears on bandages. *Rev. Infect Dis*. 6 Suppl 3: 775-776.
- **Ghabiche,S. (2009),**La phytothérapie, Certificat Thalassothérapie, Ecole supérieure des sciences et techniques de la sante, Sousse, 7 p.
- **Gong, HY. ; Liud, WH. ; LV GY. And Zhoue, X. (2014).**Analysis of essential oils of origanum vulgare from six production areas of china and pakistan *societade brasileira de Farmacognosia (24).*, 25-32p.
- **Gordon, D. M., and A. Cowling. (2003).** The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. *Microbiology*. 149 (12):3575-3586.
- **Grosmond G., (2001).** La phytothérapie. Elevage et agriculture biologique. *Bulletin des GTV et HS*.
- **Guba R., (2001).** Toxicity myths-essential oils and their carcinogenic potential. *Int. J. Aromather*. 11: 76-83

H

- **Haddouchi F., Benmansour A., (2008).** Huiles essentielles, utilisations et activité biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire, Article de synthèse*. 8: 1-8.
- **Hafiane.A, and Ravaoarino.M, (2008)** [Various typing methods of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients]. *Med Mal Infect* 38: 238-247).

- **Hallal, Z. (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactérienne et antioxydantes de certains huiles essentielles extraites des citrus, Application à la sardine. Magister de biologie : Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 120p. 65-66p.
- **Hans, W.K. (2007).** 1000 plants aromatiques et médicinales (les 1000). Terres. Toulouse, 335 p
- **Hussain AI., 2009.** Characterization and biological activities of essential oils of some species of Lamiaceae. Thèse en chimie. Université d'agriculture, Faisalabad, Pakistan. P: 134-144. Indian journal of Natural Products and Resources. 6(4). 261-267p.

I

- **Iserin, P. (2001).** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales, Edition.
- **Iserin, P. ; Masson, M. ; Restellini, J. P., and Ybert, E. (2001).** De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deesalle –Féat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J. et Botrel A

J

- **Jehl F, A. Chabaud, A. Grillon. (2015)** L'antibiogramme : diamètres ou CMI ? Journal des Anti-infectieux .Ed : Elsevier Masson. 133. p: 15
- **Jordán M.J. , Martínez R.M. , K.L. Goodner , Baldwin E.A. , Stomayor J.A. (2006)** Seasonal Variation of *Origanum vulgare* L. essential oils composition. *Industrial Crops and products* 24: 253-263.)

K

- **Kahlouche-Riachi F., (2014).** Evaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie. Thèse de Doctorat, Sciences Vétérinaires, Université de Constantine
- **Kalembe D., Kunicka A., (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils.
- **Kaloustian J., El-Moselhy T. F., Portugal H (2003).** Chemical and thermal analysis of the biopolymers in thyme (*Thymus vulgaris*). *Therm. Ochimica. Acta.* 401 : 7786.
- **Karumi, Y. ; Oneyjili, P. A. and Ogugbuaja, V. O. (2004).** Identification of active principles of M balsamina (balsam apple) leaf extract. *J Med Sci* 4 : 179- 182p.
- **Karumi, Y., Oneyjili, P. A. and Ogugbuaja, V. O. (2004).** Identification of active principles of M balsamina (balsam apple) leaf extract. *J Med Sci* 4 : 179- 182p.
- **Khalidi A., Meddah B., Moussaoui A., Benmehdi H. (2012).** Screening phytochimique et effet antifongique de certains extraits de plantes sur le

développement in vitro des moisissures. *European Journal of Scientific Research* 80(3): 311-321.

- **KHAN A, BASHIR S, KHAN S R, GILANI A.H: 2011-** Antiurolithic activity of *Origanum vulgare* is mediated through multiple pathways. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2011, 11:96 (17 October 2011).
- **Kitajima J., Ishikawa T., Urabe A., Satoh M. (2004)** Monoterpenoids and their glycosides from the leaf of thyme. *Phytochemistry*. 65 : 3279-3287.
- l'écologie évolutive des composés secondaire. *Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de Montpellier*
- L
- **Labiod R. (2016).**Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *satureja calamintha*
- **Labiod R.(2016).**Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *satureja calamintha*
- **LAKHRISSI B., BOUKHRAZ A., BARRAHI M., EL HARTITI H., OUHSSINE M.(2016).**antifungal activity of essential oil of oregano (*origanum vulgare*), marjoram (*origanum majorana*) and synergy of two essential oils against *candida albicans* ., *international journal of research studies in science, engineering and technology* ., 3(12)., 14-17p
- **Lambert, R.J.W ; Skandamis, P.N ; Coote P.J. et Nychas. G.-J.E., (2001).** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*. 91: 453-462.
- Larousse. p.10-17 & p.132.
- **Latte L.P., Kolodziej H., (2000).** Antifungal effects of hydrolysable tannins and related compounds on dermatophytes, mould fungi and yeasts. *Naturforsch*, 5 (5-6) : 467-72
- **Leitao D.P., Polizello A.C., Ito I.Y., Spadaro A.C., (2005).** Antibacterial screening of anthocyanic and proanthocyanic fractions from cranberry juice. *J. Med. Food*, 8 (1) : 36-40
- **Lewis K.2013** Platforms for antibiotic discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 12: 371–87.
- **Lowy FD.** *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med*, 1998; 339: 520–532.

- **Lucchesi, M.E. (2005).** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat université de la Réunion

M

- **Machu A.** 2009. Origan vulgaire. Ed. Faculté libre des sciences et technologies. p: 6.
- **Madi, A. (2010).**Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Magister, Biotechnologie végétale, Université Mentouri Constantine.
- **Mangin L. (2016)** Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public, faculté de pharmacie, Université de Lorraine, France
- **Mann C.M., Cox S.D. & Markham J.L., (2000).** The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Lett. Appl. Microbiol.* 30: 294-297.
- **Mann J, (1987),** Secondary metabolism. Clarendon Press, Oxford, UK, 374p
- **Mansour, Djaalab. H. (2014).** Evaluation chimique et activité antidermatophyte de quelques plantes médicinales d'Algérie, Thèse de doctorat, Université de Constantine ; 1 :p.04
- **Mansour, Djaalab. Hadria. (2014).**évaluation chimique et activité antidermatophyte de quelques plantes médicinales d'Algérie, thèse de doctorat, universite de constantine ; 1 :p.04
- **Martinez JL, Baquero F (2000).** Mutation frequencies and antibiotic resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 44: 1771–7.)
- **Mebarki N (2010).** Thèse de magistère. de chimie, Université –M'Hamed Bougara-
- **MECHERGUI K ., JAOUADI W., COELHO J., SERRA M.C ., KHOUJA M.L .(2015)-**
- **Mérens A, Delacoura H, Plésiatb P, Cavalloc J, Jeannotb K.(2011)** *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques. *Rev : Francophone des laboratoires*.Ed : Elsevier 435.p : 49
- **Mohammedi, M. (2013).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques plantes medicinales de la Region Nord et Sud Ouest de l'Algérie, 84p
- **Mohhamdi, Z. (2006).**Etude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et fl avonoïdes de quelque plantes de la région de TLEMEN. Thèse de l'obtention de MAGISTRE R : Université Abou Bakr Belkaid ,115P.

- **Morales, R. (2002)** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In : *Thyme : the genus Thymus. Ed. Taylor & Francis, London. pp. 1-43.*)3
- **Morris A, Khettry A, Seitz EW (1979)** Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils. *J Am Oil Chem Soc* 56: 595-603
- **Moutinho C. (2013).** Antispasmodic activity of aqueous extracts from *Mentha piperita* native from Trás-os-Montes region (Portugal). *International Journal of Indigenous Medicinal Plants* 29(1): 1167-1174.

N

- **Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S.M., Ghorbani A (2005).***Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4(2): 63-79.
- **Nelly, C.B. (2013).** *Prise En Charge Des Douleurs Articulaires Par Aromathérapie Et Phytothérapie [Thèse de Doctorat en Pharmacie]. Toulouse : Université Toulouse Iii Paul Sabatier, Faculté Des Sciences Pharmaceutiques.* nepeta : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide .Thèse doctorat. nepeta : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide .Thèse doctorat, Université Badji Mokhtar –Annaba Nutraceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa* Turk. *J. Biol.* 30 : 239-242.

O

- **Okmu, D. E. (2005).** Vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. *Int J Mol Adv Sci* 1: 375-381p.2005.
- **Özcan M., J.-C. Chalchat (2004)** Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. Growing Wild in Turkey. *Bulg. J. Plant Physiol.* 30 (4): 68-73.

P

- **Paterson YL., Pittsburgh MD, (2006).** Resistance in Gram negative bacteria: Enterobacteriaceae Association for professionals in infections control and epidemiology. 48: 20-28.
- **Poletti A. (1988)** Fleurs et plantes médicinales. 2ème Ed. *Delachaux & Nistlé S. A. Suisse.* Pp : 103 et 131
- **Poletti A. (1988)** Fleurs et plantes médicinales. 2ème Ed. *Delachaux & Nistlé S. A. Suisse.* Pp: 103 et 131.
- **Prescott .L, Harley .J, Klein.D, (2007).** *Microbiologie* 2ème Ed., De Boeck. P: 520-582. research.10,618-627

R

- **Rhayour K. 2002.** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse doctorat en Biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. p: 170.
- **RIZK, A. (1982).** Constituents of plants growing in Qatar. Fitoterrapia, 6ème Editions. l'échelle nationale, pp 25-26.
- **Romling Ute, Wingender J, Muller H, AND Tummlur B. (1994)** A Major *Pseudomonas aeruginosa* Clone Common to Patients and Aquatic Habitats, APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, 60 : p 1734-1738.
- **Roux .D et Catier. O. (2007).** Botanique pharmacognosie. Editions 3^e. wolters kluwer. 141p.

S

- **SAEED S, TARIQ P:** 2009- Antibacterial activity of oregano (*Origanum vulgare* Linn.) against gram positive bacteria. Pak J Pharm Sci. 2009 Oct; 22(4):421-4. PMID: 19783523
- sage, rosemary; oregano, and of coriander essential oils. Journal of essential oil
- **Sari M., Biondi D.M., Kaabeche M., Mandalari G., Manuela D'Arrigo M., Bisignano G., Saija A., Daquino C. & Ruberto G, (2006).** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Desf. Flavour Frag. J. 21: 890–898.
- **Scalbert A., (1991).** Antimicrobial properties of tanins. Phytochemistry, 30: 3875-3883.
- **Semra I., Benmerache A., Chibani S., Kabouche A., Abuhamdah S. & Kabouche Z., 2013.** Composition and antioxidant activity of the essential oil of *Origanum glandulosum* Desf. from Algeria. Der Pharmacia Lettre. 5(3): 381-385
- **Silva L, Silva M, Oliveira D, Gonc M, Cavaleiro C, Salgueiro L., Pinto E .(2012)**-correlation of the chemical composition of essential oils from *Origanum vulgare* subsp. *virens* with their in vitro activity against pathogenic yeasts and filamentous fungi., journal of medical microbiology .,(61)., 252–260p.
- **SShallcross LJ, Fragaszy E, Johnson AM, Hayward AC (2013).** The role of the Panton- Valentine leucocidin toxin in staphylococcal disease: a systematic review and meta- analysis. Lancet Infect Dis,; 13: 43–54.

- **Strang. C,(2006).** Larousse médical. Ed Larousse.

T

- **Talon D, Lallemand De Conto S, Thouverez M, Bertand .X, 2004.***Escherichia coli*: résistance aux quinolones et aux bêta-lactamines des souches cliniques isolées en Franche Coté. Ed: Elsevier, France. 52 (2) : 76-81
- **Teixeira Duarte MC, Mara Figueira G, Sartoratto A, et al. (2005)** Anti-candida activity of Brazilian medicinal plants. J Ethnopharma- col 97: 305-11
- **Tenover F. C. (2006).** Mechanisms of antimicrobial resistance in Bacteria. The American Journal of Medicine. 119 (6A): S3-S10. Université Badji Mokhtar –Annaba
- **Vasudeva, P and Vasudeva, N. (2015).**Origanum majorana L. phyto- pharmacological.,
- **VIJAYA M, CASS I, JUDY G, NADEEM A. T, BOBBY W. E, DEBASIS B, HRRY G. P:** 2010- Antifungal activities of origanum oil against Candida albicans. Molecular andcellular biochemistry, Volume 228, Numbers 1-2: PP111-117.

W

- **WICHTL M., ANTON R., 2009.** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris : 38, 41

**Annexe 1
phytochimique****1. Matériel screening****Les produits chimiques et les réactifs :**

- Méthanol,
- H₂SO₄,
- FeCl₃,
- HCl,
- NaOH,
- NH₄OH,
- Ethanol
- Réactif de stiansy,
- Réactif de MAYER,
- Réactif de WAGNER
- Réactif de Folin, Carbonate de sodium, acide gallique, AlCl₃, quercétine, acide ascorbique
- Acétate d'éthyle, eau distillée, Ninhydrine.

Les équipements :

- Balance de précision (Explorer®Pro).
- Balance (BB310) et (Sartorius).
- Verrerie.
- Agitateur vortex (Snijders 34524).
- Eppendorf.
- Rotavapor R-215 (Büchi).
- Lyophilisateur.
- Spectrophotomètre (JENWAY 6305).

2. Matériel bactériologique**Produit utilisés**

- Méthanol, L'eau physiologique, BaCl₂
- Gélose Nutritive, gélose de Muller Hinton, King A

Les équipements :

- Autoclave
- Four pasteur
- Etuve
- Verrerie
- Réfrigérateur

Annexe 2

1. Solution préparées

1.2 L'eau physiologique

- **L'eau physiologique est une solution à 9%.**

9g de Nacl pour litre d'eau distillée.

Après préparation, stériliser cette solution de la conserver à 4°C jusqu'à son utilisation.

- **Le DPPH 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (C₁₈H₁₂N₅O₆ ; M : 394.33),**

0.04g de DPPH est solubilisé dans 100 ml méthanol à 85%.

2. Préparation des milieux de cultures

2.1 Gélose Nutritive

Suspendre 39g de la poudre dans un litre d'eau distillée, ensuite chauffer sous agitation jusqu'à ébullition pour la dissolution totale du milieu et stériliser par autoclavage à 121°C pendant 15 min. Ensuite conserver dans un endroit frais en absence d'humidité.

2.2 Gélose de Muller Hinton

Gélose Muller Hinton (38g) plus d'eau distillée. Porté à ébullition avec agitations jusqu'à la dissolution complète de la poudre. La solution a ensuite été stérilisée à l'autoclave à 121°C pendant 30 min.

2.3 King A

Dissoudre 51.5 g de poudre GELOSE KUNG A dans une litre d'eau distillée .Autoclaver à 121°C pendant 15 min.

Résumé

Ce travail est basé sur une l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'*Origanum vulgare* qui est une plante de la famille des lamiaceae située à l'Est algérien, Le screening phytochimique montre la présence des flavonoïdes, des saponosides, des tanins et des mucilages chez la plante sélectionnée, Nos résultats ont montré que l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* présente une activité antibactérienne élevée contre *E. coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC43300 alors que *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 montre une résistance vis-à-vis de cette huile. Les résultats de l'extrait méthanolique et de l'extrait aqueux de la plante ne montrent aucune activité inhibitrice vis-à-vis des souches utilisées par rapport à l'huile essentielle

Mots clés : Huiles essentielles, *Origanum vulgare*, extrait méthanolique, screening phytochimique, activité antibactérienne.

Abstract

This work is based on a phytochemical study and the evaluation of antibacterial activity of the *Origanum vulgare* which is a plant of the family of lamiaceae located in the East of Algeria, Phytochemical screening shows the presence of flavonoids, saponosides, tannins and mucilages in the selected plant, Our results showed that the *Origanum vulgare* essential oil exhibits high antibacterial activity against *E. coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC43300 while *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 shows resistance to The results of the methanolic extract and the aqueous extract of the plant show no inhibitory activity vis-à-vis the strains used not compared to the essential oil

الملخص

يرتكز هذا العمل على الدراسة الفيتوكيميائية و تقييم الأنشطة المضادة للبكتيريا للنوع *Origanum vulgare* الذي ينتمي الى عائلة Lamiaceae. الموجود بالشرق الجزائري (ولاية قلمة).

اظهر الفحص الكيميائي النباتي وجود مركبات الفلافونويد . الصابونين . العفص والصبغ في نبات الزعتر

اظهرت نتائج بحثنا ان الزيت العطري للزعتر البري له فاعلية تقوي ضد *E. coli* ATCC 25922 *Staphylococcus aureus* ATCC43300 بينما أظهرت *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 مقاومة له

نتائج مستخلص الميثانول والمستخلص المائي لنبات الزعتر لم تظهر أي نشاط ضد السلالات المستعملة مقارنة بالزيت العطري

الكلمات المفتاحية :

Origanum vulgare، النشاط المضاد للبكتيريا، زيت عطري، مستخلص ميثانول، الدراسة الفيتو كيميائية.