

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA
TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire / Biologie Moléculaire
des Procaryotes

Thème :

**Détermination de l'effet antibactérien de l'huile essentielle
du *Myrtus communis***

Présenté par :

MOUADJIDIA Selma

SERIDI Meryem

Membres du jury:

- | | | |
|-----------------------------------|-------|----------------------|
| - Président (e) : Mme MESSIADE R. | M.A.A | Université de Guelma |
| - Examinatrice : Mme AZOUZ F. | M.A.A | Université de Guelma |
| -Encadreur : Mlle ZIDI Sourour. | M.A.A | Université de Guelma |

Juin 2014

Remerciement

On remercie le bon dieu pour le courage qu'il nous a donné pour surmonter toutes les difficultés durant nos années d'études.

*On remercie **mlle ZIDI sorour** de nous avoir encadrés et d'avoir contribué à l'élaboration de ce modeste travail.*

*Nous tenons également à remercier **Mdm BOUSSANENE H** de nous avoir honorés en acceptant de présider le jury.*

*Nous remercions sincèrement **Mdm AZOUZ F** d'avoir accepté de juger notre travail.*

Nos profonds remerciements vont à tous les enseignants du département de biologie qui ont contribué à notre formation et nous ont transmis leurs connaissances et leurs expériences.

Selma

meryem

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère **GHANIA***

*A mon père **BELKACEM**, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années d'études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à m'aider et à me protéger.*

Que dieu les garde et les protège.

*A mes adorables frères : **TAREK, ABDENOUR, YOUNESS, ET HAKIM***

*A mes sœurs : **IMENE, RIMA, ET AMINA***

*A tous mes amis surtout : **SARA, MERIEM, AMIRA, IMENE, ET AHLEM***

*A mon petit ange **MIDOU***

*A ma chère camarade de travail **SELMA***

Je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chères et qui m'aiment.

Meryem

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère **Houria***

*A mon père **Madjid**, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.*

Que dieu les gardes et les protège.

*A mes adorables frères : **Karim, Hacene, Salim***

*A mes sœurs: **Karima, Wedad, Assia***

*A tous mes amis surtout : **Ibticem, Besma, Aya, Lamis, Rokaya, Imen, Nessrine, Rayen Et Haroun***

*A mon petit ange **ISLEM***

*A ma chère camarade de travail **MERYEM***

A tous ceux qui me sont chères et qui m'aiment

Je dédie ce travail.

Selma

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Myrtus communis	11
02	Structure d'une bactérie avec ses différents éléments : obligatoires et facultatifs	14
03	La paroi des bactéries à gram négatif	16
04	Schéma de la paroi des bactéries à gram positif	16
05	Mode d'action des antibiotiques	19
06	Un hydrodistillateur et leurs composées	32
07	L'aromatogramme de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> testé par les souches étudiées.	41

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Effets de certains principes actifs des plantes médicinales.	08
02	Liste des souches microbiennes testés.	28
03	valeurs critiques des zones d'inhibition dues aux antibiotiques	34
04	Les principes actifs identifiés dans le Myrte.	36
05	Les zones d'inhibition des antibiotiques testés sur les six souches étudiées.	37
06	la sensibilité des souches étudiées à l'huile essentielle de myrte.	40

liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ATCC : American Type Culture Collection

CHCl₃ :Chloroforme

C₂H₅OH :Ethanol

FeCl₃ : Chlorure de fer

GN : Gélose Nutritive

HCL :Acide Chlorhydrique

HE : Huile essentielle

HgCl₂ :Chlorure de mercure

H₂SO₄ :Acide sulfurique

KI :Iodure de potassium

K₂SO₄ : Sulfate de potassium

LPS :Lipopolysaccharides

MgCl₂ : Chlorure de magnésium

MH : Muller Hinton

Nacl : Chlorure de sodium.

NH₄OH :Ammoniaque

ORL : Oto-rhino-laryngologie

ADH : Arginine dihydrolase

OCD : Ornithine décarboxylase

LDC : Lysine décarboxylase

PH : Potentiel hydrogène

g : gramme

mg : milligramme

ml : méililitre

% : pourcentage

Introduction :

La connaissance par l'homme de l'utilisation des plantes, qu'il s'agisse de plantes alimentaires, médicinales ou toxiques, est très ancienne. L'homme sera toujours servi pour se nourrir et se soigner de manière empirique guidé par la tradition. La plupart des grands médecins du passé étaient des phytothérapeutes [01].

Actuellement, dans le domaine des anti-infectieux, la recherche des nouvelles substances à partir des plantes attire tous les regards et constitue une étape substantielle dans le développement de nouveaux médicaments, car la plupart des agents anti-infectieux (tels que les antibiotiques) ne répondent pas aux besoins des patients en tant qu'un traitement efficace et éventuellement, plusieurs accidents risquent d'être à l'origine d'un état indésirable [02].

Les raisons qui ont mené à l'usage des plantes médicinales sont nombreuses. Elles sont d'abord d'un coût inférieur aux médicaments, et pourraient constituer une solution face à la résistance bactérienne et aux effets secondaires liés à l'usage des ATB.

Faisant partie des plantes médicinales ont bénéficié un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles.

Ces dernières sont des substances aromatisantes utilisées en industrie alimentaire, en cosmétique et comme agents antimicrobiens, en médecine populaire. Plusieurs études récentes menées, *in vitro*, ont démontré l'activité antimicrobienne de certaines huiles [03].

L'objectif de notre travail vise à démontrer l'effet antibactérien de l'huile essentielle contenue dans les feuilles de *Myrtus communis* sur quelques bactéries impliquées dans différentes pathologies infectieuses : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Vibrio cholerae*, *Proteus mirabilis*.

Notre étude est subdivisée en deux parties :

- Une partie bibliographique sur la phytothérapie, les plantes médicinales, la plante utilisée, les antibiotiques et les bactéries potentiellement pathogènes.
- Une partie expérimentale dans laquelle nous avons testé l'effet antibactérien de cette huile sur les souches choisies.

I- La phytothérapie :

1-Définition :

La phytothérapie correspond au traitement des maladies par les plantes sous différentes formes, à dose pondérale. En allant de l'espèce alimentaire céleri, radis noir, chou- à la plante médicinale dans son ensemble -totem de plante, poudre de racine de gentiane, par exemple ou faire appel à des formes spécifiques, qui sont les extraits fluides et solides (extrait d'écorce de saule) ainsi que les produits de distillation (huiles essentielles) [04].

2-Avantages de la phytothérapie :

Malgré l'énormes progrès réalisés par la médecine moderne, actuellement les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections gravées) décroît par rapport à la résistance des bactéries et des virus [05].

3-Différents types de phytothérapie :

- ❖ **La gemmothérapie** : se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicelles.
- ❖ **La herboristerie** : correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée; elle utilise soit la plante entière, soit 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. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale.
- ❖ **La 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.
- ❖ **La 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... [06].

❖ **L'aromathérapie :** L'aromathérapie est une thérapie qui correspond à l'utilisation des huiles essentielles pures, extraites des plantes. Substances huileuses mais non grasses, les huiles essentielles sont volatiles et aromatiques. On les obtient le plus souvent par distillation à la vapeur d'eau. Elles sont utilisées pour leur activité stimulante -huiles de basilic, cannelle, jasmin ou sédative- huiles d'anis, bergamote, camomille ... pour le système nerveux. Cependant, quelques huiles ont un double effet, stimulant certaines zones du cerveau et en apaisant d'autre [04].

II-Les plantes médicinales :

1-Définition :

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Environ 35000 espèces de plantes sont employées par les mondes à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répandre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne [07].

2-Historique des plantes médicinales :

Des plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutique [08].

Depuis toujours les plantes ont constitué la source majeure de médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle le métabolisme secondaire. Cependant, l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux, en particulier à partir du néolithique (8000 ans av. J.C.). L'observation liée à l'expérience et la transmission des informations obtenues au cours du temps font que certains hommes sont devenus capables de poser un diagnostic, de retrouver la plante qui soigne et finalement de guérir le malade [09].

Chapitre I phytothérapie et plantes médicinales

Dans les civilisations chinoises, indiennes (médecine ayurvédique) ou aztèque, on trouve la trace d'utilisations médicinales très anciennes. Le premier livre de matière médicale, le Shen Nung Ben Cao jing ("Traité des plantes médicinales de l'empereur Shen Nung"), fut rédigé vers 2900 avant J.-C. 4000 ans avant J.-C. Les populations babyloniennes et sumériennes utilisaient les plantes pour se soigner : 600 tablettes d'argiles mentionnent 1000 plantes pour leurs vertus curatives et plus de 800 remèdes sont décrits par les Egyptiens.

Le soin de la peau a commencé 3000 ans avant la naissance du christ, quand les Egyptiens ont enregistré en forme hiéroglyphique le soin de la peau sur des peintures des murs des temples [09] [10].

Les grands médecins grecs, dont le plus célèbre est Hippocrate (5^{siècle} av .J.-C.), utilisaient couramment les narcotiques, les laxatifs ou des émétiques (vomitifs). Théophraste (370-285 av.J.-C.) classa les plantes dans son ouvrage *Historia plantarum* [09].

A l'apogée de l'empire arabe (dont les frontières allaient de l'Inde à l'Espagne), tous les documents des plantes écrits furent réunis à Bagdad dans la plus grande bibliothèque de l'époque (entre le 7 et 9 siècles). Les arabes avaient leurs spécialistes en médecine et en pharmacie : Abu Bakr al-Razi ou Rhazés (865-925), fut l'un des plus grands médecins de son temps et aussi le précurseur de la psychothérapie [09].

3-Le pouvoir des plantes :

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes. Depuis le XVIII^{ème} siècle. Les savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent. On considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs. 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 diagoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes [05].

4-Les domaines d'applications des plantes médicinales :

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui sont des molécules actives nouvelles, et des matières premières pour la semi synthèse [11].

❖ **Utilisation en médecines** : en tant que médicament pour l'homme ; exemple

- En urologie, dermatologie, gastrites aiguës, toux, ulcères d'estomac, laxatifs, sommeil et désordres nerveux [12].
- Le système cardiovasculaire, ex : Flavine et un médicament constitué par la flavine non substitué en combinaison avec la rutine et isoquercétine. Il est utile dans le traitement de l'athérosclérose [13].
- Les drogues immunostimulantes, antispasmodiques et anti-inflammatoires (*Melaleuca alternifolia*, *Echinacea angustifolia*, *Chysantenum parthenium*, *Achillea millefolia*,...etc) [12].
- Contre le diabète (*Azadirachta indica*) [14].
- Les maladies de stress et les activités antioxydantes ; tels que le thé noir, le thé vert et le cacao qui sont riches en composés phénoliques, parmi lesquels la theoflavine, le resvératrol, la gallate et l'epigallocatechine sont très étudiés en raison de leur rôle en tant qu'agent chimopréventifs, basé sur leurs capacités antioxydantes [15]. D'excellentes capacités à inhiber les réactions oxydatives ont été mises en évidence pour les huiles essentielles de romarin, sauge, thym, origan, sarriette, clou de girofle, gingembre et curcuma [16].
- Depuis des périodes très anciennes les produits naturels des plantes ont joué un rôle important dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques ex : la quinine obtenue à partir du quinquina "*Cinchona*" a été avec succès employée pour traiter le malaria [17]. L'arbre de thé (*Melaleuca alternifolia*) est renommé pour ses propriétés : antibactériennes, anti-infectieuses, antifongiques et antivirales [12].

❖ **En agriculture** : exemple : l'arbre *Azadirachta indica*, qui se développe dans tout le subcontinent indien, est une des plantes médicinales les plus importantes au

Chapitre I phytothérapie et plantes médicinales

Bangladesh. Les huiles de cet arbre ont des utilisations dans l'agriculture dans la contrôle de divers insectes et nématodes (vers parasites) [14].

- ❖ **En alimentation :** assaisonnements, des boissons et des colorants [12]. Les épices et les herbes aromatiques utilisées dans l'alimentation sont considérés comme condiments et aromates.
- ❖ **En cosmétique :** Les plantes sont utilisées dans des produits de beauté, parfums et articles de toilettes ainsi que des produits d'hygiène [18].

5- Importance des plantes médicinales :

Les plantes avec leur nombre illimité constituent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels, grâce à ses molécules qui présentent l'avantage d'une grande diversité de structure chimique et activités biologiques.

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques car elles contiennent des principes actifs (telles que les polyphénols et les flavonoïdes, tanins, huiles essentiels) qui sont doués de plusieurs propriétés physiologiques et biologiques, surtout celles destinées à la santé humaine et qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapies ; elles présentent, en effets des avantages dont les médicaments sont dépourvus [26].

6-les substances actives des plantes médicinales :

La capacité d'un remède à base de plantes d'influencer les fonctions du corps humain est due à ses différents composants. Il s'agit la plupart du temps reproduits du métabolisme de la plante qui, d'un point de vue chimique, peuvent appartenir aux groupes de substances les plus variés. Nous vous présentons ci-après les composants les plus importants des plantes médicinales [19] [20].

6-1- les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les

Chapitre I phytothérapie et plantes médicinales

flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones.

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides, et aussi, sont responsables de la couleur des aliments. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits et aussi dans le miel. Ils ont des effets bénéfiques pour le cœur, les artères, le foie, le système immunitaire, les tissus musculaires et le système nerveux [19] [21] [22].

6-2-les alcaloïdes :

Groupe de substances naturelles d'intérêt thérapeutique, le plus important en termes de nombre, de diversité structurale et de l'éventail de leurs activités pharmacologiques. Ils agissent comme des alcalins, Ceci étant dû à la présence d'azote. Ils existent dans la plante sous forme de sels (pour éviter la toxicité intracellulaire) [19] [20].

6-3- les tanins :

Les tanins sont des métabolites secondaires des plantes, leur conférant une protection contre les prédateurs (herbivores et insectes). Ils se divisent en deux catégories: les tanins hydrolysables (groupe principalement responsable des effets toxiques pouvant apparaître lors de la consommation de certaines plantes) et les tanins condensés (ils ne traversent pas la barrière intestinale. Ils sont donc beaucoup moins toxiques que les tanins hydrolysables) [20].

6-4-les saponines :

Principaux constituants de nombreuses plantes médicinales, les saponines sont des glucosides contenus dans les plantes qui doivent leur nom au fait qu'elles moussent lorsqu'on les mélange avec de l'eau. Il existe deux groupes différents de saponines : Les saponines tri-terpènes et les saponines stéroïdes. La structure chimique des stéroïdes est similaire à celle de nombreuses hormones humaines (œstrogène, cortisone), et de nombreuses plantes qui en contiennent ont un effet sur l'activité hormonale. Les saponines tri-terpènes sont souvent des expectorants très puissants, c'est-à-dire des substances qui facilitent l'évacuation des sécrétions des voies respiratoires et des bronches [19] [20].

Chapitre I phytothérapie et plantes médicinales

6-5-les phénols :

Les phénols, sont caractérisés par leur structure en anneau. Ils comprennent notamment l'acide salicylique, à partir duquel la célèbre aspirine a été développée. Les phénols étaient autrefois utilisés pour désinfecter les blessures, mais à hautes doses, ils peuvent provoquer de fortes irritations cutanées [19].

6-6-les Mucilages :

Sont des produits de la polymérisation de nombreux sucres dont certains peuvent être modifiés (exemple l'acide uronique qui est un polysaccharide hétérogène). Les mucilages ont la propriété de gonfler dans l'eau [23] [24]. (Voir **Tableau 01**)

Tableau 01 : Effets de certains principes actifs des plantes médicinales [35] [36].

Principes actifs des plantes médicinales	Effets
Phénols	Anti-inflammatoires et antiseptiques.
Flavonoïdes	Anti-inflammatoires, antioxydants, antivirales et des effets protecteurs sur le foie.
Tanins	Astringents, cytostatiques, anti-diarrhéique et bactéricides.
Terpènes	Antiseptiques.
Anthocyanes	Puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres et anti-œdémateux.
Coumarines	Fluidifient le sang, soignent les affections cutanées, et de puissants vasodilatateurs coronariens.
Saponosides	Tensio-actifs, angio-protecteurs, antiseptiques, diurétiques, anti-inflammatoires et antiulcéreux.
Arthraquinones	Ils contribuent à transférer les liquides des tissus et du système circulatoire vers les conduits urinaires.
Polysaccharides	Utilisés pour calmer et protéger les tissus enflammés, ou la paroi des intestins enflammée et douloureuse.

6-7-les huiles essentielles :

6-7-1-Définition :

Les huiles essentielles (essences = huiles volatiles), sont des substances huileuses, volatiles, d'odeur et de saveur généralement fortes extraites à partir des différentes parties de certaines plantes aromatique [25].

La norme française AFNOR NFT 75-006 définit l'huile essentielle comme : un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citruses, soit par distillation et qui sont séparés de la phase aqueuse par procédés physiques [26].

6-7-2-Différentes utilisations des huiles essentielles :

L'emploi strictement médical des huiles essentielles, celles-ci sont utilisées dans de nombreux domaines tels que la parfumerie, la cosmétologie, l'agro-alimentaire et l'industrie chimique. Deux industries se partagent ce marché mondial florissant, il s'agit de l'industrie agroalimentaire et la parfumerie. Les huiles essentielles interviennent dans la fabrication

- des produits alimentaires : jus de fruits, crèmes glacées, bonbons, etc.
- de tabac pour cigarettes
- des produits d'hygiène et de beauté
- des parfums, la désinfection des locaux (elles sont antiseptiques) [37] [38] [39].

6-7-3-Méthodes d'extraction :

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles. Les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité.

Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimique de l'essence à extraire. L'usage de l'extrait et l'aroma du départ au cours de l'extraction [40].

Voici les techniques d'extractions les plus utilisées :

- **L'hydrodistillation**

C'est sans aucun doute le procédé chimique le plus ancien ; en effet, il fut importé en Europe par les Arabes entre le VIII^{ème} et le X^{ème} siècle, mais le principe était déjà connu et utilisé par les Egyptiens au IV^{ème} siècle après J.C. Cette technique est facile à réaliser ; la partie de la plante contenant la molécule à extraire est placée dans un ballon avec de l'eau et quelques pierres ponce pour assurer le brassage de la solution, en chauffant, l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques, l'eau se condense en passant par le réfrigérant, elle est ensuite récupérée dans un Erlenmeyer où on distingue clairement deux phases: une phase aqueuse et une phase organique. Ces deux phases sont transférée dans une ampoule à décanter afin d'éliminer l'eau. Il ne restera alors que l'huile essentielle [45].

- **Extraction par solvants organiques :**

L'hydrodistillation n'était pas efficace avec certains végétaux tels que la rose, le narcisse ou encore le mimosa, ce qui a poussé les chercheurs à mettre au point de nouvelles méthodes d'extraction des huiles essentielles. Ainsi, dès le XVIII^{ème} siècle, des tentatives ont été menées en utilisant un solvant : l'éther. Cependant, cette technique fut rapidement abandonnée à cause des coûts trop élevés de production et des risques d'explosions liés au solvant. Au XIX^{ème} siècle, les chercheurs optèrent pour l'hexane et le benzène en raison de leur grand pouvoir de solubilisation et de leur volatilité [46].

III- La plante sélectionnée :

1-Description :

Le *myrtus communis* (Rihane en kabyle) forme le genre *myrtus* de la famille des myrtacées. Il a pour nom latin *Myrtus communis*. Deux variétés sont utilisées : l'une donnant une HE rouge et l'autre une HE verte. Les feuilles donnent une huile jaune-orangée au parfum frais et doux [50] [51]. (Voir Fig 01).



Figure 01 : *Myrtus communis* [50].

2-Caractéristiques :

Le *myrtus communis* est un arbuste persistant de 1 à 3m de haut, caractéristique des formations végétales de type maquis. Il est originaire du bassin méditerranéen. Les fleurs sont blanches et très odorantes, de même que les fruits, de petites baies vertes devenant à maturité noire violacées au parfum prononcé. Il est odorant, aux feuilles vert vif, ovales, lisses, brillantes et petites (2 à 4cm). Très utilisé jusqu'au XVIII^{ème} siècle, il est maintenant un peu oublié.

D'après TEUCHER(2005), *Myrtus communis* peut vivre plus de 300ans, comme le lentisque (*Pistacialentiscus*) qui sont des plantes qui poussent à l'état spontané en Algérie. Contrairement aux autres espèces de sa famille (myrtacées), pour la plupart originaires des zones tropicales de l'hémisphère sud, le myrte se rencontre dans les régions tempérées chaudes de l'hémisphère nord [50].

3-Composition chimique et propriétés :

Le myrte contient 0.3 à 0.5% d'une HE aromatique, composée d'un alcool primaire, le myrténol, et d'une substance complexe, le myrtol, renfermant entre autres de l'eucalyptol. Il est astringent, antiseptique, et stimulant. Le myrte a des emplois voisins de ceux de l'eucalyptus [51] [50].

4-Utilisations :

Selon HURTEL (2001). L'huile en inhalation est utile dans les infections bronchiques et des voies respiratoires supérieures. Elle est aussi préconisée dans les infections urinaires. Traditionnellement, l'infusion des feuilles (30g par litre d'eau) est utilisée comme cicatrisant antiseptique [51].

I- Bactériologie :

1-Histoire de la découverte du monde microbien :

C'est au cours du XVII^{ème} siècle qu'Antony van Leewenhoek révéla au monde scientifique la prodigieuse diversité des microorganismes et l'incroyable richesse des milieux naturels en protozoaires, algues, levures et bactéries. Ses observations et ses magnifiques descriptions sont d'une précision telle qu'aujourd'hui encore elles forcent l'admiration et permettent l'identification. Entre-temps, les médecins continuent d'attribuer les maladies à des "miasmes" ou des causes mystiques, et ils demeurent à peu près imperméables à la notion de contagion. C'est par dizaines de milliers que se comptent les victimes de cette ignorance, fondée sur des croyances philosophiques. Il faut attendre pourtant le XIX^{ème} siècle et les expériences de Pasteur pour que ce monde microbien soit exploré et que les différents caractères des microorganismes inventoriés apparaissent dans leur immense variété [27] [28] [29].

2-Morphologie et structure fine des bactéries :

Durant de longues années, la bactérie était considérée comme "un sac d'enzymes" car le pouvoir de résolution du microscope optique était insuffisant pour révéler les détails de sa structure. L'observation des bactéries a permis alors de reconnaître la forme des cellules (sphérique ou coccoïde, cylindrique ou bâtonnet, spiralée ou hélicoïdale), leurs dimensions (qui varient selon les espèces de 0.1µm ; les *Entérobactéries* 2 à 3 µm de long, certaines *Spirochaeta* entre 30 et 500 µm) et les arrangements ou les groupements qu'elles constituent entre elles (en grappe, en chaînette, en paire ou diplocoque, en palissade ou paquet d'épingles chez les *Corynébactéries*...). Ce sont les caractéristiques qui définissent la morphologie bactérienne, et qui étaient les critères essentiels de reconnaissance et d'identification, et qui ont un rôle très important dans le diagnostic.

Les caractères morphologiques sont une stratégie d'adaptation et de survie ; dans l'environnement aquatique ou tellurique, il existe des bactéries qui sont amorphes, ovoïdes, cubiques, étoilées ou filamenteuses. Elles peuvent être groupées en amas, en paires, et aussi en rosettes ou en réseau, en cubes, en corps fructifiant,...etc [28].

Pour distinguer entre les bactéries au microscope optique ; on utilise une méthode importante et largement employée en bactériologie, c'est "la coloration de Gram". Elle

consiste à traiter des bactéries fixées à la chaleur, par un colorant basique (le violet de gentiane) puis une solution iodo-iodurée (le mordantage), toutes les cellules se colorent alors en violet. Soumises ensuite à l'action de l'alcool éthylique, elles se répartissent en : cellules qui conservent la coloration violette dites à gram positif et qui sont décolorées, appelées à gram négatif. Pour mieux distinguer ces deux catégories, le frottis bactérien est finalement traité par de la fuchsine basique, les bactéries à gram négatif sont roses et celles à gram positif restent violettes [28] [29].

Cette distinction de réponse à la coloration de gram est due à la différence qui existe dans la composition des parois bactériennes : celles des bactéries à gram négatif laissent passer la solution alcoolique, tandis que celles des bactéries à gram positif représentent une véritable barrière que la solution alcoolique ne peut franchir [30].

C'est la microscopie électronique avec ses différents modes d'exploitation qui a mis en lumière l'architecture interne de la bactérie. (Voir Fig n° 02)

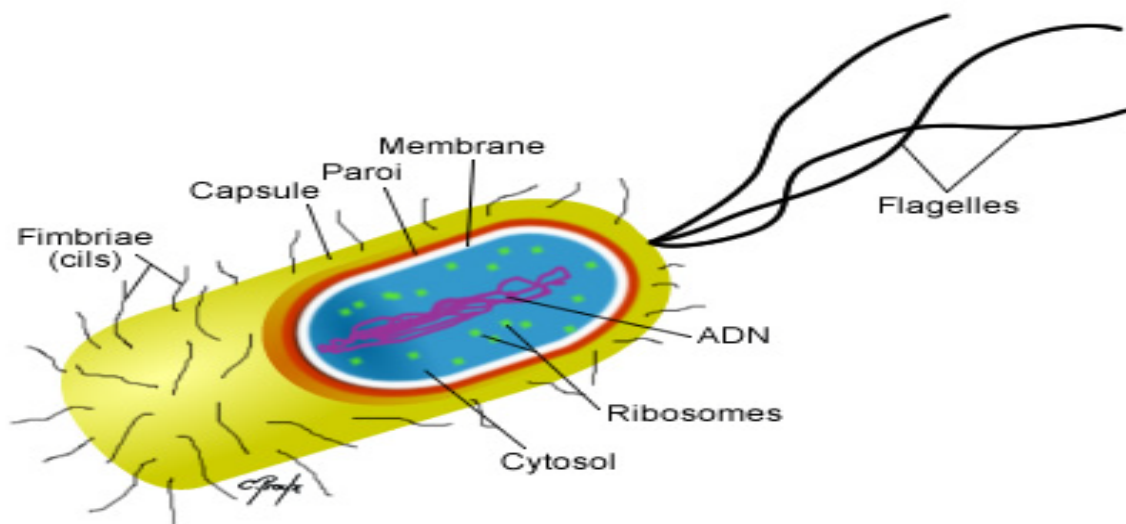


Figure 02: Structure d'une bactérie avec ses différents éléments : obligatoires et facultatifs

[33].

La cellule est enveloppée par une paroi rigide, qui lui donne sa forme et sa résistance. Épaisse chez les bactéries à gram positif et plus mince chez les bactéries à gram négatif. La paroi entoure une membrane cytoplasmique, plus fine et plus délicate. Les bactéries à gram négatif possèdent une seconde membrane dite membrane externe permettant de la distinguer de la membrane cytoplasmique, dite interne. Le cytoplasme sous-jacent contient essentiellement des granulations d'acide ribonucléique, les ribosomes ainsi que des substances de réserve comme le glycogène. L'appareil nucléaire se distingue par son aspect fibrillaire, finement réticulé, occupant une grande partie de l'espace cellulaire. Il n'est pas entouré d'une membrane. Il existe des structures membranaires intracytoplasmiques appelées mésosomes qui sont le plus souvent étroitement associées à l'appareil nucléaire (rôle de fixation). D'autres composants peuvent être présents (éléments facultatifs), comme le glycocalyx (polymère de surface, polysaccharidique), la capsule, les flagelles, les fimbria (fixation sur d'autres cellules), les pili sexuels (interviennent au cours des processus de conjugaison). Enfin, certaines bactéries peuvent contenir des éléments d'ADN circulaires extra chromosomique ou ADN mobile, qui sont les plasmides et qui portent des informations génétiques spécifiques (exemple : résistance à certains antibiotiques) (**voir Fig n° 02 et 03**) [28].

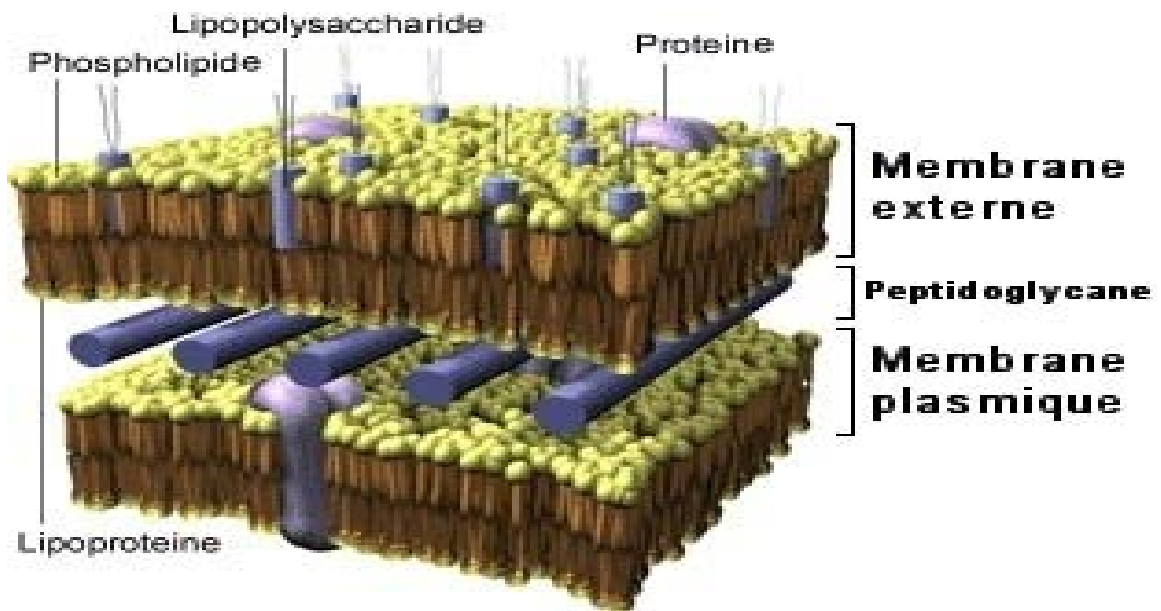


Figure 03 : La paroi des bactéries à gram négatif [47].

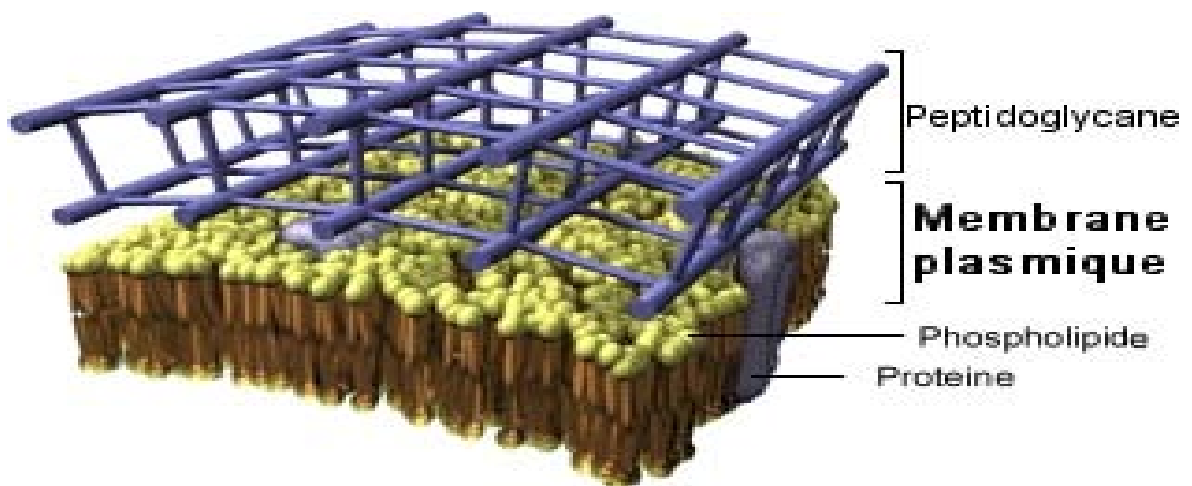


Figure 04 : Schéma de la paroi des bactéries à gram positif [47].

II-Les antibiotiques :

1-Définition :

On appelle « Antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, une substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes :

- Activité antibactérienne.
- Activité en milieu organique.
- Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme.

Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'hôte [31].

2-Histoire des antibiotiques :

L'usage des antibiotiques a augmenté l'espérance de vie moyenne d'une quinzaine d'années. La découverte des antibiotiques a constitué donc un événement majeur dans l'histoire de la médecine.

En 1887, le **Français Ernest Duchesne** fut le premier à remarquer le pouvoir antibactérien des moisissures du genre *Penicillium* et à envisager des possibilités thérapeutiques. Mais son travail, encore trop précurseur, n'eut pas de suite.

En 1889, l'**Allemand Rudolf Emmerich** fut le premier à effectuer des essais cliniques sur une substance antibiotique, la pyocyanase. Découvert par hasard un an auparavant, cet actif avait la capacité de détruire de nombreuses bactéries pathogènes, dont celles de la fièvre typhoïde, du charbon, de la diphtérie, de la peste et des abcès cutanés. Mais l'intérêt soulevé par cette découverte retomba rapidement, le médicament se révélant instable et toxique. Il fut cantonné à des utilisations externes sous forme de pommade pour les dermatoses.

Quelques années plus tard, **Paul Ehrlich** obtient de bons résultats sur la syphilis avec un colorant associé à de l'arsenic, le salvarsan. Mais la toxicité de la substance et ses effets secondaires importants relativisèrent cette efficacité. Le milieu médical fourmillait alors de découvertes ponctuelles, d'essais cliniques, de pistes explorées puis abandonnées. La chimiothérapie semblait devoir émerger comme une révolution dans l'art de traiter les

maladies, mais il restait encore aux médecins à trouver le médicament « miracle », à la fois efficace et sans effets négatifs, car l'enthousiasme du public risquait de disparaître.

En 1928, à l'hôpital Sainte-Marie de Londres, le docteur **Alexander Fleming** redécouvrit ce phénomène. Alors qu'il effectuait des recherches sur les staphylocoques, il remarqua dans l'une de ses boîtes de Pétri, utilisées pour tester la toxicité d'un produit sur une souche de bactéries – que les colonies de staphylocoques proches de la moisissure *Penicillium* étaient mortes. Il fut le premier à publier un article sur les effets antibactériens de la pénicilline.

Quelques années plus tard, **Howard Florey, Ernst Chain et Norman Heatley** étendirent les travaux de Fleming ; ils réussirent à faire produire et à purifier la pénicilline, prouvant ainsi son intérêt en tant que médicament. Alors que leurs recherches commençaient à être couronnées de succès, la Seconde Guerre Mondiale fut déclarée. Le projet fut déplacé aux États-Unis pour le préserver des bombardements allemands, et les travaux s'orientèrent vers la fabrication en grandes quantités de la moisissure produisant la pénicilline. L'objectif était de pouvoir fournir un médicament pouvant traiter les nombreux blessés dus à la guerre.

Le monde entier parla alors de la pénicilline et de ses effets miraculeux. Dans l'inconscient collectif, les antibiotiques commencèrent à devenir le remède aux maladies infectieuses [48].

3-Mode d'action des ATB :

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie. (Voir **Fig n° 05**)

Ils agissent par :

- **Toxicité sélective au niveau de la :**

- Synthèse de la paroi bactérienne.
- Membrane cytoplasmique.
- Synthèse des protéines.
- Acides nucléiques.

- **Inhibition compétitive :** dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie [49].

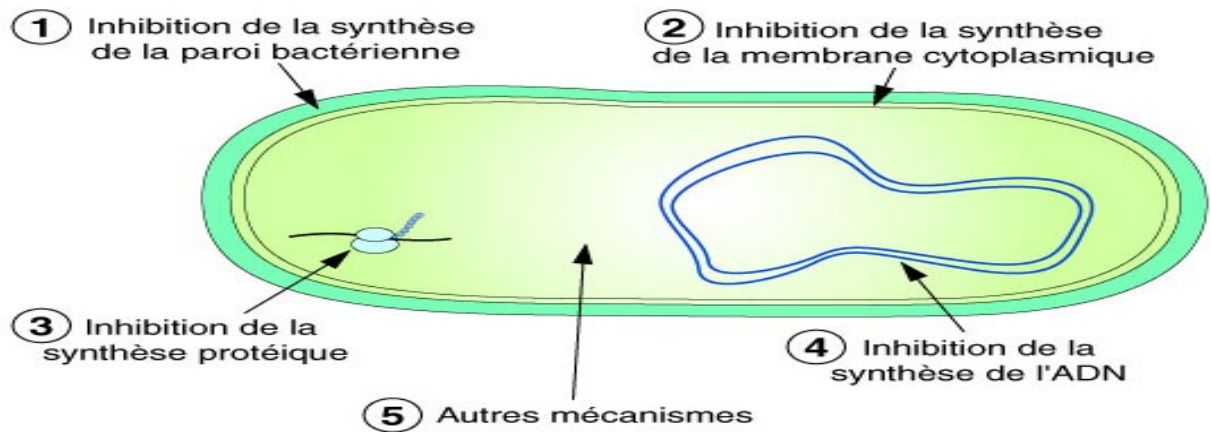


Figure 05 : Mode d'action des antibiotique [49].

4-Critères de Classification :

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- **L'origine** : élaborés par un organisme (naturels) ou produits par synthèse (synthétiques ou semi synthétiques)
- **Le mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.
- **Le spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)
- **La nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse.
La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (β lactamines, aminosides, tétracyclines.....etc.) [48] [49].

5-Résistance des bactéries aux ATB :**5-1-La résistance**

Une bactérie est « résistante » lorsqu'elle se développe en présence d'une concentration d'antibiotique, qui habituellement, inhibe sa croissance [31].

5-2- Les différents types de résistances :**5-2-1-La résistance naturelle**

La résistance naturelle, appelée aussi résistance intrinsèque, est une caractéristique propre d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Portée par les chromosomes, elle est stable, et transmise à la descendance. Elle constitue un caractère d'identification des bactéries et détermine leur phénotype « sauvage » [31] [49].

5-2-2-La résistance acquise

La résistance acquise ne concerne que certaines souches bactériennes au sein d'une espèce donnée. Variable dans le temps et dans l'espace, elle se propage de façon importante. Elle est portée par le chromosome, les plasmides, ou des éléments génétiques mobiles, permettant ainsi une transmission verticale à la descendance mais aussi une transmission horizontale, parfois entre espèces différentes. Elle détermine le phénotype de résistance des bactéries et constitue un caractère épidémiologique. Elle s'acquière soit par mutation sur un chromosome, soit par l'acquisition de gènes extra-chromosomiques [31].

III- Généralités sur certaines bactéries potentiellement pathogènes :**1-Staphylococcus aureus :****• Caractères morphologiques :**

Cocci à gram positif, immobile, pigmenté à jaune, non sporulé en amas (grappes de raisin), G+C : 30-39%, température optimal à 37°C, PH optimal : 7.2-7.4, NaCl : 7.5%, anaérobie facultatif, oxydase+, catalase+ [33].

- **Habitat**

C'est un ubiquitaire qui se trouve dans le sol, l'air. C'est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme. On le trouve à l'état normal dans l'oropharynx, les fosses nasales, et dans les selles au niveau du périnée ou des aisselles [32].

- **Pouvoir pathogène**

Le *Staphylococcus aureus* possède des pouvoirs pathogènes notamment, des pouvoirs invasifs et des pouvoirs toxiques ; cette souche possède également la capacité de donner des mutants résistants aux antibiotiques et est responsable de lésions suppuratives et nécrotiques s'accompagnant de lésions veineuses. Les lésions staphylococciques apparaissent sous différents aspects cliniques :

- Infections cutanées suppuratives (furuncles, abcès, panaris et anthrax qui évoluent et entraînent des septicémies)
- Infections de la sphère ORL
- Infections des différents viscères
- Infections urinaires et génitales
- Infections respiratoires et pulmonaires
- Endocardites
- Intoxications alimentaires dues à l'ingestion de l'entérotoxine préformée dans les aliments
- Infections bucco-dentaires [31].

- **Sensibilité aux antibiotiques :**

Les souches communautaires sont généralement résistantes aux pénicillines G et A, mais sensibles aux pénicillines M. Elles sont souvent sensibles aux macrolides, aux synergistines, et fluor quinolones [32].

2- *Pseudomonas aeruginosa* :**• Caractères morphologiques :**

Bacille à gram négatif, mobile à ciliature polaire monotriche, caractérisé par la pigmentation bleu-vert, sporulé, température optimale : 30 à 43°C, PH optimal 6.5-8, aérobie strict, chimioorganotrophe, oxydas+, catalase+, gaz -, LDC-, ODC-, ADH+, géatuaie+ et psychrotrophe [32].

• Habitat

C'est une bactérie répandue dans la nature. Elle vit dans l'eau et sur le sol. On la trouve aussi dans l'environnement hospitalier, surtout dans les endroits humides de lavabos, des savons liquides, des humidificateurs, et des solution d'antiseptiques (chlorhexidine chlorure de benzelkonuim, cétrimide notamment). *Pseudomonas aeruginosa* se trouve dans le tube digestif et plus rarement dans la salive [32].

• Pouvoir pathogène

Le *Pseudomonas aeruginosa* est très résistant aux antibiotiques, Il s'adapte rapidement aux attaques médicamenteuses. Cette espèce produit naturellement une céphalosporinase, synthétisée à un faible niveau mais conférant à ces bactéries une résistance naturelle aux céphalosporines. Ce germe est aussi résistant aux aminopénicillines. *P. aeruginosa* exprime d'autre part plusieurs systèmes d'efflux lui procurant la capacité d'expulser les antibiotiques dans le milieu extérieur à la manière d'une pompe en utilisant l'énergie du gradient électrochimique de la membrane plasmique, ce qui explique sa résistance innée à de nombreux antibiotiques [34].

• Sensibilité aux antibiotiques

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie généralement multi résistante, les antibiotiques pouvant avoir une bonne activité sur cette bactérie sont : la ticarcilline, la pipéracilline, l'azolocilline, la ceftazidime, la cefuslodime, le cefépime, l'imipénème et les aminosides.

Les souches résistantes à la colistine sont très rares. La ciprofloxacine est la plus active des quinolones. L'activité de tous ces antibiotiques n'est pas régulière et doit toujours être précisée par antibiogramme [32].

3- *Escherichia coli* (colibacille) :

- **Caractères morphologiques**

Bacille à gram négatif apparentant à la famille des Entérobactéries. *E. coli* se développe sur gélose ordinaire. Indol +, urée, fermente le lactose, gazogène, mais ne produit pas d'acétine.

- **Habitat**

E. coli est un hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux. Chez l'homme, il est présent à raison de 10 bactéries/g de selles, densité cependant très inférieure à celle des anaérobies qui constituent la flore dominante. La présence d'*E. Coli* dans l'environnement est le témoin d'une contamination fécale [33].

- **Pouvoir pathogène**

- **Infection urinaire**

Plus fréquent chez la femme en raison de la brièveté. Chez l'homme l'infection est généralement secondaire à un obstacle sur urinaires.

- **Infection intestinale**

Responsable de gastro-entérites.

- **Infection néonatale**

Peut se traduire par une méningite ou une septicémie.

- **Infections diverses**

E. coli est impliqué dans de nombreuses infections à point de départ digestif ou urinaire, suppurations localisées. Il peut s'agir d'infection communautaire ou nosocomiale [34].

- **Sensibilité aux antibiotiques**

La bactérie était initialement sensible à beaucoup d'antibiotiques, mais l'acquisition de résistance est fréquente, surtout en milieu hospitalier. Cependant la résistance aux amino et aux carboxipénicillines par production de pénicillinase défasse 40 des souches. Une partie de ces souches résistent à l'association amoxicilline-acide clavulanique, et pour les autres antibiotiques, les fréquences de résistance, sont faibles à l'exception des sulfa-mides (50%), tétracyclines (40%) et du chloramphénicol (25%) [32].

4-*Vibrio cholerae* :

- **Caractères morphologiques :**

Est un bacille à Gram négatif, incurvé, possédant une oxydase, mobile aéro-anaérobie, facultatif, cultivant sur milieux ordinaires mais supportant de fortes concentration de NaCl et capable de se développer sur un milieu alcalin (PH 8.6 à 9).

Il est sensible au composé vibriostatique, fermente le glucose et le saccharose mais pas le lactose, réduit les nitrates ou nitrites et produits l'indole [56] [57].

- **Habitat :**

Les vibrions sont largement répandus dans la nature, dans les eaux douces mais surtout dans les eaux de mer des côtes, et des estuaires. Ce sont aussi des hôtes de la faune marine : mollusques, crustacés, poissons, et planctons. On les trouve également dans les algues, les vases et les boues marines [56].

- **Pouvoir pathogène :**

Le choléra est une toxi-infection intestinale aigue. Après une incubation de quelques heures à quelque jour, une diarrhée sévère survient avec émission de quinze à vingt selles « eau de riz » accompagnée de vomissements. La perte d'eau ainsi occasionnée provoque un état de déshydrations extracellulaire rapide et sévère avec hémococoncentration, collapsus et hypothermie conduisant à un état de choc irréversible si une réhydratation n'est pas entreprise [57].

- **Sensibilité aux antibiotiques :**

La tétracycline est le médicament de choix, bien que la résistance à cet agent soit de plus en plus fréquente. La ciproflaxine, la doxycycline et le co-trimoxazole peuvent aussi être utilisés. Une épidémie survenue en 1979 au Bangladesh avait été causée par des souches du biotype El Tor résistantes à plusieurs médicaments: 36 % des souches à l'origine de cette épidémie résistaient à la tétracycline, l'ampicilline, la kanamycine, la streptomycine et le triméthoprime-sulfaméthoxazole [56].

5-*Bacillus cereus* :

- **Caractères morphologiques :**

Les *Bacillus* sont des bacilles Gram+, à spore terminale, subterminale ou centrale. Ils sont aéro-anaérobies facultatifs ou parfois aérobies stricts.

Les souches de *Bacillus cereus* sont constituées de bacilles, aux extrémités arrondies, généralement mobiles grâce à une ciliature péritriche, d'une longueur supérieure à 3µm et d'un diamètre moyen de 1.4µm, souvent groupés en chaînes.

Appartenant à la famille des *bacillaceae*, *Bacillus cereus* formant des spores ovoïdes thermorésistante (résistant à 100°C et donc à la pasteurisation), de 1 à 1.2 µm de large sur 3 à 7 µm de long, catalase+. C'est une bactérie anaérobie facultative.

B.cereus est un fort producteur d'enzymes. Il possède une phospholipase très active. Il peut réduire le nitrate en nitrite. Il peut métaboliser l'arabinose et le mannitol.

Aucune croissance n'est obtenue à PH 4.5 et pour des températures de 50 °C ou 60 °C. Les colonies un diamètre compris entre 2 et 7 mm, elles sont soit circulaires soit de forme irrégulière avec des bords ondulés, crénelés ou filamenteux, leur aspect est crémeux et lisse ou mat ou granuleux [59].

- **Habitat :**

La spore est très résistante (dessiccation, chaleur...) et persiste dans certains produits alimentaires ou dans l'air et l'environnement (terre, végétaux, aliments).

- **Pouvoir pathogène :**

- Toxi-infection alimentaire.

- syndrome diarrhéique 8 à 16h après le repas .
- syndrome émétique 1 à 6 h après l'ingestion.
- Infection des plaies traumatiques souillées par de la terre.
- Infection osseuse.
- Infection sur brûlure.
- Infection de plaie chirurgicale.
- Infection oculaire.
- Septicémie (contamination de poches de sang) [59].

- **Sensibilité aux antibiotiques :**

Il n'existe pas actuellement de recommandation spécifique du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie pour l'interprétation de l'antibiogramme ni de diamètres critiques spécifiques.

Les *Bacillus* poussent sur Muller Hinton : l'incubation en atmosphère normale ne doit pas dépasser 18 heures. L'étude de la sensibilité de la souche est indispensable.

B. cereus est résistant aux Béta-lactamine notamment à la pénicilline G, amoxicilline, amoxicilline+acide clavulanique, céphalosporines. : Plusieurs types de bêta-lactamases chromosomiques rendent compte de cette résistance. Il peut y avoir une induction de la sécrétion de bêta-lactamase par l'imipénème : des images d'antagonisme sont visibles. Seuls les carbapénèmes sont actifs [59].

6-*Proteus mirabilis* :

- **Caractères morphologiques :**

Bacilles mobiles à Gram négatif. Pas d'exigence particulière, *P. mirabilis* pousse bien sur milieux ordinaires (c'est une Entérobactérie) à 37°C. Colonies grosses, non hémolytiques, envahissant la surface de la gélose au sang en ondes concentriques (cette propriété est liée à la mobilité exceptionnelle que lui confèrent plusieurs centaines de flagelles)

- **Habitat :**

C'est une bactérie commensale de l'intestin de l'homme et des animaux.

- **Pouvoir pathogène :**

- ✓ **Infections urinaires** : communautaires ou nosocomiales. *P. mirabilis* grâce à son uréase puissante peut alcaliniser les urines et être responsable de lithiases. Ces lithiases se comportent comme du matériel étranger qui permet à l'infection de devenir chronique, entraînant ainsi une destruction progressive du parenchyme rénal.
- ✓ **Infections localisées surtout cutanées** :
Mais d'autres localisations sont possibles (abcès du cerveau, infections pleurales et péritonéales, infection de cathéter.....)
- ✓ **Infections des voies respiratoires** : surtout en milieu hospitalier : infections ORL et pneumopathies.
- ✓ **Septicémies et bactériémies.**

- **Sensibilité aux antibiotiques :**

Proteus mirabilis a une résistance naturelle à la colistine, aux cyclines (spécificité de l'espèce mirabilis) et aux furanes. Les autres antibiotiques testés sur les bacilles à Gram – type Entérobactéries sont habituellement actifs (β -lactamines, aminosides, quinolones, cotrimoxazole, chloramphénicol) [31].

1-Matériel :

1-1-matériel végétal :

Les feuilles de la plante étudiée, ont été récoltées dans la région de Boumahra dans la willaya de Guelma durant le mois de février 2014.

1-2-les souches microbiennes testées :

Les souches bactériennes utilisées dans notre étude sont représentées dans le tableau suivant (voir **Tab 02**) . Ces germes pathogène font partie de la collection ATCC.

Tableau 02 : Liste des souches microbiennes testés.

Souches testée	N° ATCC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC49565
<i>Vibrio cholerae</i>	ATCC39315
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC14579

1-3-Les milieux de culture utilisés :

Gélose de Muller Hinton (MH) : est une gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme.

Gélose Chapman : permet l'isolement sélectif, de la recherche et le dénombrement des staphylocoques.

Gélose King A : Le milieu de King A permet la détection de la synthèse de pyocyanine, pigment élaboré spécifiquement par *Pseudomonas aeruginosa* (bacille pyocyanique).

Matériel et méthodes

Gélose SS : est un milieu sélectif et différentiel pour l'isolement des bacilles entériques pathogènes, particulièrement ceux appartenant au genre *Salmonella* issus d'échantillon cliniques.

Gélose nutritive : est un milieu d'isolement non-sélectif, réalisé dans le but de contrôler la pureté d'une souche bactérienne ou de purifier la souche bactérienne si elle est contaminée.

2- Méthodes :

2-1- le séchage des feuilles de la plante étudiée :

Le matériel végétale (feuilles de *Myrtuscommunis*) collecté à été nettoyé des débris et étalé sur papier puis laissé sécher à l'ombre à l'abri de la lumière et de l'humidité à température ambiante pendant une semaine avant d'être utilisée pour l'extraction de l'huile essentielle.

2-2-Extraction des Huiles Essentiel :

L'huile essentielle (HE) utilisées dans cette étude a été extraite parhydrodistillation au niveau du laboratoire de Chimie Analytique- Département de Pharmacie, Université Badji Mokhtar Annaba, selon le protocole suivant :

100g des feuilles préalablement séchées et émiettées, ont été mises dans un ballon avec une quantité d'eau distillée et par la suite posé sur une chauffe ballon.

A ébullition pendant 3 heures, l'huile essentielle s'évapore. Elle sera entraînée vers le réfrigérant ou elle subira une condensation donnant naissance à deux phases : Une phase organique et une phase aqueuse. Ces deux dernières seront séparées par décantation.

L'HE obtenue est conservée à une température voisine de 4°C dans un tube en verre ombré, fermé hermétiquement pour la préserver de l'air, de la lumière et des variations de température qui sont des principaux agents de l'altération des HE.

2-3- Tests préliminaires de la composition chimique des feuilles de la plante :

2-3-1-Alcaloïdes :

10g de la poudre de plante sont mélangés avec quelques millilitres de HCL à 1 % dans un récipient. Après une demi-heure de macération, le mélange est filtré avec un papier filtre. Au filtrat obtenu, on additionne quelques gouttes de réactif de Mayer (5g de KI + 1,358g de HgCl₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillé).

L'apparition d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes [52].

2-3-2-Flavonoïdes :

Macérer 10g de la poudre sèche dans 150 ml d'une solution d'HCl diluée à 1% pendant 24h, filtrer et procéder au test suivant : Prendre 10 ml du filtrat, le rendre basique par l'ajout d'une goutte de NH₄OH.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune dans la partie supérieure de tube à essai [53].

2-3-3-Tanins :

A 10g de la plante sèche, on ajoute une solution hydro- alcoolique de C₂H₅OH. Le mélange est filtré. On additionne au filtrat quelques gouttes d'une solution aqueuse FeCl₃. L'apparition d'une couleur verte confirme la présence des tanins [54].

2-3-4-Saponosides :

On introduit dans une fiole renfermant 80 ml d'eau distillée bouillante, 2g de poudre. On maintient le mélange à l'ébullition modérée pendant 30 min, puis on filtre. Après refroidissement, on agite le filtrat verticalement.

L'apparition d'une mousse qui dure quelques instants indique la présence des saponosides [54].

2-3-5-Mucilages:

A 1 ml de la solution à analyser, on ajoute 5ml d'alcool absolu (éthanol à 95%). L'apparition de précipités floconneux montre la présence de mucilage [52].

2-3-6-Stérols et terpènes :

Dissoudre 5g de la poudre, dans 210 ml d'éther de pétrole. Filtrer puis évaporer (à l'aide d'un rota-vapeur). Le résidu obtenu est dissout dans 0,5 ml d'acide acétique et ensuite dans 0,5 ml de CHCl_3 . Les deux solutions sont transférées dans un tube essai, puis on ajoute 1 ml d' H_2SO_4 concentré.

La formation d'un cercle marron ou violet indique la présence des stérols et terpènes[52].

2-4-Extraction de l'huile essentielle du *Myrtus communis* :

L'huile essentielle (HE) utilisée dans cette étude a été extraite par hydrodistillation au niveau du laboratoire de Chimie Analytique- Département de Pharmacie, Université Badji Mokhtar Annaba, selon le protocole suivant :

100g des feuilles de *Myrtus communis* préalablement séchées et émiettées, ont été mises dans un ballon avec une quantité d'eau distillée et par la suite posées sur un chauffe ballon (voir Fig 06).

A ébullition pendant 3 heures, l'huile essentielle s'évapore. Elle sera entraînée vers le réfrigérant, ou elle subira une condensation donnant naissance à deux phases : Une phase organique et une phase aqueuse. Ces deux dernières seront séparées par décantation.



Figure 06 : Un hydrodistilateur et leurs composées[47].

2-5-Calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle est le rapport de la quantité d'huile essentielle récupérée sur la quantité de la plante qui a été traitée par hydro distillation, il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante : $R = \frac{Pb}{Pa} \times 100$ [55].

R: Rendement de l'huile essentielle.

Pb: Quantité de l'huile essentielle récupérée en gramme.

Pa : Quantité de la plante utilisée en gramme.

2-6- Conservation de l'huile essentielle obtenue :

L'HE obtenue par hydrodistillation est conservée à une température voisine de 4°C dans un tube en verre ombré, fermé hermétiquement pour la préserver de l'air, de la lumière et des variations de température qui sont les principaux agents d'altération des HE.

3- Etude de l'activité antibactérienne :

3-1- préparation de l'inoculum :

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 [*E.coli*(gelose nutritive), *Staphylococcus aureus* (chapman), *Pseudomonas aeruginosa*(King A), *Bacillus cereus* (Muller Hinton), *proteus mirabilis* (gelose SS), *vibrio cholera* (nutritive AB)]. 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 pour être appliquée à l'antibiogramme.

3-2- L'antibiogramme :

On a testé la sensibilité des bactéries par la méthode des disques ou antibiogramme standard. Le but de la réalisation de ce dernier, est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques.

3-2-1-Principe

Des disques d'antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance des disques. Après incubation, les disques peuvent s'entourer de zones d'inhibitions circulaires correspondant à une absence de culture.

3-2-2-Application

La surface de la gélose MH(6 boîtes correspondant au nombre de souches utilisées) a été ensemencée par la méthode d'écouvillonnage, à partir d'un inoculum de chaque souche testée, et des disques d'antibiotiques de doses connues ont été appliqués à sa surface, à des distances déterminées (3 à 5 disques/boîte). Les boîtes sont incubées à température ambiante pendant 30 mn, ensuite dans une étuve à 37°C pendant 18 à 20 heures. La lecture des résultats se fait par la mesure de la zone d'inhibition, qui est représentée par une

auréole formée autour de chaque disque au aucune croissance n'est observée. Les valeurs sont comparées avec celles des références.

3-2-3-Choix des antibiotiques :

En a utilisé (9) disques d'antibiotiques. Dans chaque boîte d'antibiogramme on a met 5 ou 4 ATB. Le choix des antibiotiques a été fait en fonction de la disponibilité .

Tableau 03 : valeurs critiques des zones d'inhibition dues aux antibiotiques

Antibiotiques	Abréviations	Familles	Charges du disque	Diamètre critique(mm)	
				Sensible	Résistants
Imipénème	IPM	Carbapénème	10	≥ 22	< 17
Rifampicine	RA	Divers	5	≥ 19	< 14
Bacitracine	B	Pénicilline	8	≥ 15	< 15
Chloramphénicol	C	Phénicolé	30	≥ 23	< 19
Ciprofloxacine	CIP	Quinolone	5	≥ 22	< 19
Pénicilline G	P	Pénicilline	10	≥ 29	< 8
Acide fusidique	FA	Divers	10	≥ 22	< 15
Nitrofurantoïne	NIT	Nitrofurane	300	≥ 17	< 15
Ticarcilline	TI	Pénicilline	75	≥ 22	< 16

3-3- L'aromatogramme :

3-3-1-Principe

L'aromatogramme est une méthode inspirée de l'antibiogramme qui permet de déterminer l'activité inhibitrice de la croissance bactérienne des huiles essentielles par mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque de cellulose imprégné d'huile essentielle ou de produit à base d'huile essentielles.

3-3-2-Application

De la même manière que pour l'antibiogramme, une suspension de chaque germe utilisé a été préparée en eau distillée stérile et la surface et la gélose MH a étéensemencée par les inoculums bactériens, par la méthode d'écouvillonnage.

On a mis pour chaque gélose ensemencée, 3 disques stériles de papier buvard de 6mm dont 2 sont imprégnés de l'huile essentielle de myrte et le dernier fait office de témoin.

Matériel et méthodes

NB : On a testé plusieurs disques imbibés d'huile essentielle pour confirmer l'effet antibactérien de cette huile.

3-3-3-Lecture

La lecture des diamètres d'inhibition (D) se fait après 24-48 h d'incubation à l'étuve à 37°C. les résultats sont exprimés selon trois niveaux d'activité : résistant ($D < 6\text{mm}$), intermédiaire ($13\text{mm} > D > 6\text{mm}$) et sensible ($D > 13\text{mm}$).

Pour chaque souche étudiée on a choisi le diamètre de la zone d'inhibition le plus important

I-Résultats :

1-Les tests phytochimiques :

Les tests phytochimiques sur la poudre de plante montre la présence de plusieurs principes actifs qui sont indiqués et répertoriés dans le tableau suivant :

Tableau 04 : Les principes actifs identifiés dans le Myrte.

Les principes actifs	Les saponosides	Les alcaloïdes	Les tanins	Les stérols et terpènes	Les flavonoïdes	Les Mucilages
La poudre de plante	++	-	++	+	++	+

(++): Présence en quantité importante, (+) : Présence en faible quantité, (-) : Absence.

Les tests de la composition chimique réalisés sur la poudre des feuilles du Myrte , nous ont permis d'identifier les principaux groupes chimiques présents dans cette plante à travers les réactions de caractérisation qui révèlent la présence plus ou moins importante de quelques principes actifs (voir **Tab 04**) : flavonoïdes, tanins, saponosides, et mucilages avec une prédominance des saponosides , tanins, et des flavonoïdes et l'absence complète des stérols , terpènes et alcaloïdes.

2- Rendement en huile essentielle

Nous rappelons que l'huile essentielle a été extraite des feuilles des fleurs par un hydrodistillation. Nous avons obtenu une huile de couleur jaune pale avec une odeur aromatique assez prononcée. La quantité huileuse est plus ou moins satisfaisante avec un rendement voisin de 0.3%.

3- L'antibiogramme :

La sensibilité des 06 souches. *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *V. cholerae* ,*P.mirabilis*, *B. cereus* vis-à-vis des 09 ATB utilisés est représentée dans le tableau si dessous :

Résultats et discussion

Tableau 05 : Les zones d'inhibition des antibiotiques testés sur les six souches étudiées.

Souches	ATB	Abréviations	Les zones d'inhibitions en mm	Résultats
<i>Escherichia.coli</i>	Bacitracine	B	6	Résistante
	Ticarcilline	TI	6	Résistante
	Ciprofloxacine	CIP	40	Sensible
	Chloramphenicol	C	33	Sensible
	Rifampicine	RIF	14	Résistante
	Penicilline-G	P	6	Résistante
	Nitrofurantoine	NIT	23	Sensible
	Acid fusidique	FA	8	Résistante
	Imipénème	IPM	41	Sensible
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Bacitracine	B	9	Résistante
	Ticarcilline	TI	8	Résistante
	Ciprofloxacine	CIP	8	Résistante
	Chloramphenicol	C	12	Résistante
	Rifampicine	RIF	6	Résistante
	Penicilline-G	P	6	Résistante
	Nitrofurantoine	NIT	29	Sensible
	Acide fusidique	FA	46	Sensible
	Imipénème	IPM	21	Sensible
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	Bacitracine	B	6	Résistante
	Ticarcilline	TI	14	Sensible
	Ciprofloxacine	CIP	50	Sensible
	Chloramphenicol	C	25	Sensible
	Rifampicine	RIF	8	Résistante
	Penicilline-G	P	6	Résistante
	Nitrofurantoine	NIT	8	Résistante
	Acide Fusidique	FA	6	Résistante
	Imipénème	IPM	36	Sensible

Résultats et discussion

Souches	ATB	Abréviations	Les zones d'inhibitions en mm	Résultats
<i>Proteus mirabilis</i>	Bacitracine	B	6	Résistante
	Ticarcilline	TI	20	Sensible
	Ciprofloxacine	CIP	48	Sensible
	Chloramphenicol	C	34	Sensible
	Rifampicine	RIF	6	Résistante
	Penicilline-G	P	6	Résistante
	Nitrofurantoine	NIT	18	Sensible
	Acide fusidique	FA	6	Résistante
	Imipénème	IPM	26	Sensible
<i>Bacillus cereus</i>	Bacitracine	B	17	Sensible
	Ticarcilline	TI	11	Résistante
	Ciprofloxacine	CIP	38	Sensible
	Chloramphenicol	C	31	Sensible
	Rifampicine	RIF	19	Sensible
	Penicilline-G	P	10	Intermédiaire
	Nitrofurantoine	NIT	20	Sensible
	Acide fusidique	FA	19	Intermédiaire
	Imipénème	IPM	40	Sensible
<i>Vibrio cholerae</i>	Bacitracine	B	6	Résistante
	Ticarcilline	TI	6	Résistante
	Ciprofloxacine	CIP	34	Sensible
	Chloramphenicol	C	6	Résistante
	Rifampicine	RIF	6	Résistante
	Penicilline-G	P	6	Résistante
	Nitrofurantoine	NIT	6	Résistante
	Acide fusidique	FA	6	Résistante
	Imipénème	IPM	24	Sensible

Résultats et discussion

Nous avons remarqué que parmi les 9 antibiotiques utilisés (Bacitracine , Ticarcilline , Ciprofloxacine , Chloramphenicol , Rifampicine , Penicilline-G , Nitrofurantoine , Acide fusidique , Imipénème) , 4 ATB (Imipénème , Nitrofurantoine, Chloramphenicol , Ciprofloxacine) ont eu une importante activité antibactérienne vis-à-vis d'*E.coli* avec des zones d'inhibition qui sont respectivement des 41mm, 23mm, 33mm et 40mm). Mais elle est résistante à 5 ATB (penicilline-G, Acid fusidique, Bacitracine, Ticarcilline-G, Rifampicine).

Pour les memes ATB utilisés, *S.aureus* serait sensible à 3 ATB (Imipénème, Nitrofurantoine, Acide fusidique) avec des diametres d'inhibition qui sont respectivement 21mm, 29mm et 46mm. Cette bacterie est résistante aux autres 6 ATB (Penicillin-G, Rifampicine, Ciprofloxacine , Ticarcilline , Bacitracine , chloromphenicol) .

Les resultats de l'antibiogramme de *P.aeruginosa* ont montré que sur 9 ATB utilisés la bacterie est résistante à 5 ATB (Rifampicine , Acide fusidique , Nitrofurantoine , Penicilline-G , Bacitracine) .Cette souche à développé une forte sensibilité aux 4 ATB (Imipénème , Ciprofloxacine, chloramphenicol , Ticarcilline) avec des zones d'inhibition qui sont respectivement de 36mm, 50mm , 25mm et 14mm.

Les résultats obtenus montre que *P. mirabilis* est résistante à 4 ATB (Rifampicine, Acide fusidique, Penicilline-G, et Bacitracine). Cette souches est completement sensible aux ATB suivants : (Imipénème , Ticarcilline , chloramphenicol , Ciprofloxacine , Nitrofurantoine) avec des diametres d'inhibition(26mm , 20 mm , 34mm , 48mm, 18mm) .

Alors que les résultats montrent que *Bacillus* a une forte sensibilité à la plus part des ATB et avec de grandes zones d inhibition avec (La Rifampicine : 19mm) (La Nutrofurantoine : 20mm) (L'Imipénème : 40mm) et avec (Le chloramphenicol : 31mm) (La Bacitracine : 17mm) (Le Ciprofloxacine : 38mm) , cette souche possède aussi une sensibilité intermédiaire à 2 ATB (La Penicilline-G : 10mm) (L'Acide fusidique : 19m) et elle est résistant a la Ticarcilline (11mm).

On a remarqué aussi que parmi les 9 ATB *V. cholerae* possède une sensibilité que avec 2 ATB (Imipénème : 24mm) (Ciprofloxacine : 34 mm) mais elle est résistante à tous les autres ATB.

En comparant les résultats de l'antibiogramme, on peut conclure que toutes les souches utilisées possèdent un profil différent de sensibilité et de résistance aux antibiotiques. Il est à noter que *V.cholerae* est la plus résistante d'entre toutes.

Résultats et discussion

4/ L'aromatogramme :

L'effets de HE du myrte sur la croissance des souches bactériennes testées : *E.coli* , *S. aureus* , *P. aeruginosa* , *V. cholera* , *P. mirabilis* et *B.cereus* est représenté dans les photos (voir Fig 07) et résumé dans le tableau suivant :

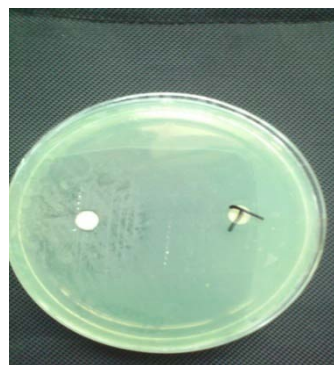
Tableau 06 : la sensibilité des souches étudiées à l'huile essentielle de myrte.

Souches	Huiles essentielles	
	Diamètre en mm	Résultats
<i>Escherichia. coli</i>	12mm	Intermédiaire
<i>Staphylococcus. aureus</i>	13mm	Intermédiaire
<i>Pseudomonad. aeruginosa</i>	8mm	Resistance
<i>Vibrio. Cholerae</i>	6mm	Resistance
<i>Bacillus cereus</i>	34mm	sensible
<i>Proteus.mérabilis</i>	6mm	résistance

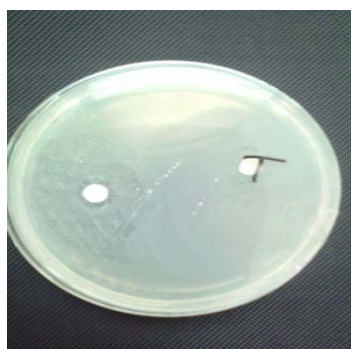
On remarque selon le tableau (06) que *B. cereus* est la souche la plus sensible à l'HE du myrte avec un diamètre d'inhibition de 34mm, en comparaison avec les autres espèces bactériennes (12mm, 13mm) 8mm, 6mm, 6mm, respectivement pour *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonad Aeruginosa*, *Vibrio Cholerae*, *Proteus mirabilis*.



E.coli



P. aeruginosa



P. mérabilis



V. Cholerae



S. aureus



B.sereus

Figure 07 : L'aromatogramme de l'huile essentielle de *Myrtus communis* testé par les souches étudiées.

II-Discussion :

L'extraction de l'HE Myrte a démontré une activité antimicrobienne considérable spécialement vis-à-vis de *Bacillus cereus*.

Nos résultats ont montré que *P. aeruginosa*, *Vibrio cholerae* et *Proteus mirabilis* sont les espèces les plus résistantes vis-à-vis de l'huile essentielle testée et ceci n'est pas surprenant ; selon la littérature et les travaux menés sur ces mêmes espèces, plusieurs hypothèses ont été établies quant à leur résistance. Selon **PIBIRI, (2006)**, ces dernières ont la réputation d'être très résistantes à toutes sortes d'agents antimicrobiens et antibiotiques en générale.

Les bactéries à Gram- se sont montrées généralement plus résistantes à l'effet de l'HE de Myrte que les bactéries à Gram+ en raison des lipopolysaccharides présents dans la membrane externe. Il semble que le mécanisme d'action de ces huiles est lié essentiellement à la structure de la paroi [59].

En comparant l'effet antibactérien de l'huile essentielle de Myrte, à celui des antibiotiques testés sur les mêmes souches, on constate que : pour *E.coli* et *Staphylococcus aureus*, les diamètres de la zone d'inhibition de l'huile essentielle (12mm, 13mm) sont légèrement inférieures aux plus grands diamètres d'inhibition de l'antibiogramme et qui sont représentés par l'Imipénème, pour *E.coli* (40mm) et l'acide fusidique pour *Staphylococcus aureus* (46mm). De là, on conclut qu'*E.coli* et *Staphylococcus aureus* présentent une sensibilité à l'antibiotique largement supérieure à l'huile essentielle testée.

L'inhibition de la croissance de *Bacillus cereus* par l'HE est presque semblable à celle provoquée par l'Imipénème. Elle est légèrement inférieure (zone d'inhibition de l'huile essentielle = 34mm et celle de IMP = 38mm). Mais pour le même antibiogramme elle est légèrement supérieure au chloramphenicol (zone d'inhibition de l'HE = 34mm et celle du chloramphenicol = 31mm) . On conclut donc que l'effet antibactérien de l'huile essentielle de Myrte vis-à-vis de *Bacillus cereus* est presque le même que celui des antibiotiques testés.

En fin *P. aeruginosa*, *V. cholerae* et *P. mirabilis* ne présentent aucune sensibilité à l'HE, contrairement aux antibiotiques testés : Ciprofloxacine (*P. aeruginosa* = 48mm), (*V. cholerae* = 34mm) , et (*P. mirabilis* = 48mm). On pense que les raisons qui font que ces bactéries soient résistantes à l'HE sont les mêmes qui font d'elles, des souches multi résistantes aux agents

Résultats et discussion

biocides. Ces dernières possèdent une pseudo capsule hydrophile qui empêche les substances hydrophobes (HE) de pénétrer.

L'analyse phytochimique de *Myrtus comminus*, montre que notre matériel végétal contient principalement des flavonoïdes, des saponosides, des tanins, des mucilages, et des stérols et terpènes. Le rendement en huile essentielle extraite par hydrodistillation a été de 0.3%. En comparant nos résultats à ceux de **Flamini G et al (2004)**, qui a extrait une huile essentielle à partir des feuilles de *Myrtus communis* d'une variété tunisienne, une similitude entre le rendement en huile (0,2 à 0,3 %) a été remarquée. Ceci pourrait être dû à la ressemblance du climat et du sol.

Le rendement faible en huile essentielle pourrait être lié aux facteurs environnementaux (climat, saison et sols), la diversité génétique de l'espèce, les conditions géographiques, la période de récolte (le cycle végétatif de la plante) et la technique d'extraction. Ces facteurs ont une influence sur les voies biosynthétiques de la plante par conséquent, son métabolisme, les proportions de la production de leurs composés actifs et leurs principales caractéristiques [60].

L'huile essentielle de *Myrtus communis* a donné un effet antibactérien appréciable sur *B. cereus*, *E.coli*, et *S.aureus*. Cet effet pourrait être dû aux composants terpéniques et /ou phénoliques [61].

La phytothérapie est très répandue dans le monde. Beaucoup de gens utilisent les plantes et leurs extraits pour guérir.

Les infections bactériennes comptent parmi les affections les plus répandues. Le traitement par les antibiotiques et l'apparition de souches multirésistantes a fait qu'actuellement, les chercheurs se sont tournés vers la nature en quête de nouvelles substances antimicrobiennes purement naturelles telles que les huiles essentielles.

Différents travaux ont montré que les HE, dont les composés majoritaires sont de nature phénoliques et terpéniques ont un large spectre bactérien.

Dans notre étude, nous avons voulu mettre en évidence, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Myrtus communis*. Cette activité a été testée par la méthode de diffusion en disques (l'aromatogramme).

Pour les six souches bactériennes (*E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *V. cholerae*, *P.merabilis*, *B. cereus*), une activité antibactérienne importante de l'HE a été enregistrée avec un effet supérieur vis-à-vis de *B cereus* suivit de *S.aureus*, *E.coli* et enfin de *P. aeruginosa*, alors que les deux souches *P.mérabilis* et *V. Cholerae* semblent n'avoir qu'une faible sensibilité envers cette huile.

Un antibiogramme à été mis au point dans le but de comparer l'effet des antibiotiques par rapport à celui de l'huile essentielle. Les résultats ont montré que selon l'antibiotique testé, les souches utilisées sont parfois plus sensibles à l'huile et dans d'autres cas plus sensibles à l'antibiotique. Ces résultats sont positifs et ouvrent voie vers d'autres recherches.

Perspectives

L'objectif de ce travail est la mise en évidence des propriétés antibactériennes de l'huile essentielle du Myrte et dans le but de faire progresser ce travail, il est intéressant d'envisager dans un proche avenir de :

- Déterminer la composition chimique précise de l'huile essentielle du Myrte par CPG-SM, pour mieux comprendre son mécanisme d'action.
- Faire une extraction des composés de l'HE et tester leur effet antibactérien, tout d'abord individuellement, ensuite leur combinaison.

Conclusion

- Elargir la gamme d'espèces bactérienne testées. Il est également intéressant d'utiliser des champignons et des virus.
- Faire des dilutions de l'HE de *Myrtus communis* par DMSO.
- Utiliser différentes méthodes d'aromatogramme.

Références bibliographiques

- [01]: **Stanier RY., Doudoroff M., Adelberg ED A.,** (2000). Microbiologie générale. Masson et Cie Editeurs, 21p.
- [02]: **Majinda R. R. T., Abegaz B., Bezabih M., Ngadjui B.T., Wanjala C.C. W., Mdee L. K. et al.,** (2001). Recent results from natural products research at the University of Botswana. *Pure. Appl. Chem*, 73, pp 1197-1208.
- [03]: **Mohhamdi Z.,** (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de TELEMEN. Thèse de Magistère, Université Abou Baker Belkaid, 115p.
- [04]: **Gahbiche S.,** (2009). Phytothérapie, école supérieur de la santé de Sousse, section : hydrothermo-thalassothérapie, 268p.
- [05]: **Grosmond G.,** (2001). La phytothérapie. Elevage et agriculture biologique. Bulletin des GTV et HS, 143-145p.
- [06]: **Strang C.,** (2006). Larousse médical. Ed Larousse.
- [07]: **Bruneton J.,** (1999). Pharmacognosie/ Phytochimie/ Plantes médicinales.
- [08]: **Nostro A., Germano M.p., D'Angelo V., Marino A., Cannatelli M.,** (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity letter applied microbiology, 30, pp379.
- [09]: **Fouché J.G., Marquet A., Hambukers A.,** (2000). (NF T 01-012). Les plantes médicinales, de la plante au médicament. Observatoire du monde des plantes Sart-Tilman.
- [10]: **Dweck A. C.,** (2010). Herbal medicine for the skin. Their chemistry and effects on skin and mucous membranes. Personal Care Magazine, 3, pp 12-21.
- [11]: **Bahorun T.,** (2009). Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle, AMAS. *Food and Agricultural Research Council*. Réduit . Mauritius, 12, pp 45-51.
- [12]: **Svoboda K.P., Hampson J.B.,** (1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti inflammatory and other related

Références bibliographiques

pharmacological activities. Plant biology Department, SAC Auchincruive, ayr. Scotland, 55, pp 76-83.

[13]: **Narayana K.R.**, (2000). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic Potentiel. *Indian Journal of pharmacology*, 33, pp 2-13.

[14]: **Amjad Hossain M.**, (2005). Neem seed oil: Bangladesh, examples of the development of pharmaceutical products from medicinal plants. *Bangladesh Council of Scientific and Industrial Research* (BCSIR), 10, pp 59-63.

[15]: **Lee K.W., Kim Y.J., Lee C.Y.**, (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxydant capacity than teas and red wine. *J Agric Food Chem*, 51, pp 7292-7295.

[16]: **Cuvelier M.E.**, (1996). Antioxidative activity and phenolic composition of pilot –plant and commercial extracts of sage and rosmar. *Jam oil ChemSoc*, 73, pp 645-652.

[17]: **Dastidar S.G.**, (2004). Studies on the antibacterial potentiality of are flavones. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 23, pp 99-102.

[18]: **Porter N.**, (2001). Essential oils and their production. *Corps & Food Research*. Number 39.

[19]: **Dr.HanswKothe.**, (2007). Plantes aromatique et médicinales. Toulouse: Edition Terres, 10-13p

[20] : **Larousse.**, (2002). Encyclopédie des plantes médicinales identification, préparation, soins Edition, 14-16p.

[21]: **Middleton JR. E., Chithan K.**, (2011). The impact of plant flavonoids on mammalianbiology implications for immunity, inflammation and cancer. In: Harborne J.B., editor, 89p.

[22]: **Grange J.M., Davey R.W.**, (2005). Antibacterial properties of propolis (bee glue).

J. R. Soc. Med , 83, pp 159–60.

[23] : **Ledard F., Guinaudeau H.**, (2000). Encyclopédie des plantes et leurs propriétés. Algo Vision Ed, 159p.

[24]: **Hernandez O., LEON R.**, (2005). Substitution de solvants et matières, actives de synthèse par combiné « Solvant/ Actif ». D'origine végétale. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechniques de Toulouse. France, 225p.

Références bibliographiques

[25]: **Zhiri A.**, (2006). Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré. Nutrition. Prévention et sante. Edition la fondation pour le libre choix.J.Drug.target , 12-8p.

[26]: **Bruneton J.**, (2010). Pharmacognosie, photochimie. Plantes médicinales. Technique et documentaire, 3^{ème} Edition Lavoisier, Paris, 1120p.

[27]: **Messadié G.**, (2009). Les compacts : les grandes découvertes de la science. Casbah Editions Alger, 91p.

[28]: **Leclerc H., Gaillard J.L., Simonet M.**, (2001). Microbiologie général, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, paris, 201p.

[29]: **Bousbia N.**, (2004). Extraction et identification de quelques huiles essentielles (nigelle. coriandre. origan. thym. romarin), étude de leurs activités antibactériennes. Thèse de Magistère. Option Sciènes Alimentaires, INA. Algérie , 147p.

[30]: **Madigan M., Martinko J., Parker J.**, (2006). Brock biologie of microorganisms. Prentice Hall International Editions, 30p.

[31]: **Jean L.F., Jean L.A.**, (2002). Bactériologie générale et médicale. Paris Ellipses éditions, 141-239p

[32]: **Fouchère J.L., Avril J.L.**, (2002). Bactériologie générale et médicale. Elle ipses edition Marketing, ISBN, 207-273p.

[33]: **Nuciel A., Vilde J.**, (2005). Bactériologie médicale. 2^{ème} édition Masson. Paris, ISBN,2-294p.

[34]: **Delarras C.**, (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. *Technique et Documentation*, 32, pp 585-594.

[35]: **Benhamza L.**, (2008). Effets biologiques de la petite *centauree Erythraea cetraurium*, *Pers.* Anatomie pathologique/pharmacologique. Mémoire de doctorat, Université de Constantine. Algérie, 130p.

[36]: **Hivin B.**, (2008). Phytothérapie et aromathérapie en élevage biologique bovin enquête auprès de 271 éleveurs de France. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Université claud-bernard, Lyon, 89p.

Références bibliographiques

- [37]: **Roulier G.**, (2004). Les huiles essentielles pour votre santé. Traité pratique d'aromathérapie: propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Edt Dangles, France , 16p.
- [38]: **Schwartz R., Davis R., Hilton T.J.**, (2006). Effect of temporary cements on the bond strength of resincement. *Am. J. Dent*, 5, pp147-150.
- [39]: **Sourai P.G.**, (2001). Antimicrobial action of dental materials used in operative dentistry. *Odontostomatol .Proodos* , 43, pp 399-408.
- [40]: **Loza T.**, (1999). Monoterpenes in essential oils: biosynthesis and properties. *Adv. Exp. Med. Biol*, 464, pp 49-62.
- [41]: **Dohou N., Yamni K., Tahrouch S.**, (2003). Screening phytochimique d'une endémiqueibéro-Marocaine, Thymelaealythroïdes. *Bull SocPhrm. Bordeaux*,142, pp 61-78.
- [42]: **Okmu D.**, (2005). Phytochemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. *Int J MolAdvSci*,1, pp 375-381.
- [43]: **Karumi Y., Onyeyili P.A., Ogugbuaja V.O.**, (2004). Identification of active principles of *M. balsamina* (balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci*, 4, pp 179-182.
- [44]: **Burnichon N., Texier A.**, (2003). L'antibiogramme. La détermination des sensibilités aux antibiotiques. *Des bactériologies*, 113p.
- [45]: **Bruneton J.**, (2003). Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales. Edt France. Lavoisier, 278-279p.
- [46]: **Soussa EMBD.**, (2002). Experimental results for the extraction of essential oil from *Myrtus communis*, 65p.
- [47]: **Willem J.P.**, (2002). Le guide des huiles essentielles pour vaincre vos problèmes de santé Editions LMV, 201p.
- [48]: **Fournier. V.**, (2003). La résistance bactérienne aux antibiotiques. Edt Paris, 21p.
- [49]: **Auckenthaler R., Bergogne B., Dellamonica P.**, (2010). Activité antibactérienne. Spectre. Mode d'action. Cibles bactériennes In : Antibiothérapie en pratique clinique. Edt Masson, 17-32p.
- [50]: **Fournier P.**, (1999). Plantes médicinales et vénéneuses de France, 48p.

Références bibliographiques

- [51]: Callery E., (2000). Le grand Livre des herbes « le guide pratique de la culture, du séchage et des vertus de plus de 50 herbes », 110-114p.
- [52] : Pauli A., (2001). Antimicrobial properties of essential oil constituents. Int.J. aromather , 11, pp 126-133.
- [53] : Satrani B., Abdellah F., Fechtal M., Talbi M., Blaghen M., Chaouch A., (2001). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Myrtus communis* du Maroc. Annales des Falsifications, Expertise Chimique et toxicologique, 94, pp 241–250.
- [54] : Dorman H.J.D., Deans S.G., (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J .Appl.Microbiol, 88, pp 308-316.
- [55]: Caree P., (2000). Précis de technologie et de chimie industrielle. T3. Edition. Ballière JB. Et fils, 23p.
- [56]: Murray P.R., Baron E. J., Jorgensen J.H., Landry M.L., (2007). Manual of Clinical Microbiology, 9^{ème} edt, Washington, 385p.
- [57]: Glass M., Huq I., Lee J.V., (2009). Plasmid-borne multiple drug resistance in *vibrio cholerae* Serogroup 01, biotype E1 Tor: Evidence for a point-source outbreak in Bangladesh. *J Infect. Dis*, 13, pp 147-204.
- [58]: Benchaar C., Calsamigla S., Chaves A.V., Fraser G.R., Colombatto D., McAllister T.A., et al., (2008). Plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Anim. Feed. Sci. Tech*, 145, pp 209-228.
- [59]: Bismith R., Leclercq R., (2000). *Bacillus cereus* et antibiotiques. In : Précis de bactériologie clinique. Edt. Freyney JRF, Hansen W, Bollet C, ESKA, Paris, 611-918p.
- [60] : Akin M., Aktumsek A., Nostro A., (2010). Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. and *Myrtus communis* L.growing in northern Cyprus. *African Journal of Biotechnology*, 9, pp 531-535.
- [61] : Flamini G., Coini P., Morelli I., Maccioni S., Baldini R., (2004). Phytochemical typologies in some populations of *M. communis* L. on caprione Promontory, East Liguria, Italy . *Food Chem*, 85, pp 599-604.

Gélose chapman(GH) :

Composition en g/l

Extrait de viande.....	01g
Extrait de levure.....	03g
Tryptone.....	05g
Peptone bactériologique.....	10g
Chlorure de sodium.....	70g
Mannitol.....	10g
Rouge de phénol.....	0,025g
Agar.....	15g

PH=7,4

Gélose Muller Hinton (MH):

Composition en g/l

Extrait de viande.....	03g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5g
Agar.....	18g

PH=7, 4

King A:

Composition en g/l d'eau distillée

Peptone.....	20g
Agar purifié.....	12g
K ₂ SO ₄	10g
MgCl ₂	1,4g

Gélose Nutritive:

Extrait de viande.....	01g
Extrait de levure.....	2,5g
Peptone.....	5g

Chlorure de sodium.....5g

Agar.....15g

PH=7

Gélose SS:

Peptone.....5g

Extrait de viande.....5g

Lactose.....10g

Citrate de sodium.....10g

Citrate de fer III.....01g

Sels biliaires.....8,5g

Vert brillant.....3,3mg

Rouge neutre.....25mg

Thiosulfate de sodium.....8,5g

Agar.....12g

PH=7,3



Tanins



Saponosides



Mucilages



Alcaloïdes



Flavonoïdes



Stérols et terpènes