République Algérienne Démocratique et Populaire
Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem
Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie
Département de Biologie

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Microbiologie appliquée

Par

BELALEM Aicha

&

BELLAKEHAL Meriem Adraa

Thème :

Évaluation *in vitro* de l'effet des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L, *Laurus nobilis* L et *Thymus vulgaris* L sur les lactobacilles du microbiote vaginal humain.

Soutenue le 18 /06/2026

Devant le jury composé de :

Président	DJIBAOUI Rachid	Pr	Université de Mostaganem
Encadrante	BECHELAGHEM Nadia	MCA	École Supérieure d'Agronomie de Mostaganem
Co-encadreur	ARABI Abed	MCA	Université de Mostaganem
Examinatrice	BENGUENAB Asma	MCB	Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2025/2026

Remerciements

Nos plus sincères remerciements vont avant tout à Dieu الحمد لله , le Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, le courage, la santé et la persévérance nécessaires afin d'achever ce mémoire dans les meilleures conditions.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre encadrante **Dr. BECHELAGHEM Nadia** pour la confiance qu'elle nous a accordée tout au long de la réalisation de ce mémoire. Nous lui sommes également reconnaissantes pour ses encouragements constants, son soutien bienveillant ainsi que pour la richesse de ses connaissances qu'elle a généreusement partagées avec nous.

Nous souhaitons à adresser nos remerciements les plus sincères à notre Co-encadreur **Dr. ARABI Abed** pour son suivi attentif, ses précieux conseils et son soutien constant tout au long de la réalisation de ce mémoire. Son accompagnement et ses conseils précieux ont été d'une grande aide dans l'avancement de ce travail et l'amélioration de nos compétences pratiques et scientifiques**.**

Nous adressons nos sincères remerciements à Monsieur le **Pr. MEKHALDI Abdelkader** pour nous avoir accueillis chaleureusement dans son laboratoire de recherche en Microbiologie et Biologie Végétale .

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Madame **TAHLAITI Amina**, Ingénieure de laboratoire de recherche en Microbiologie et Biologie Végétale, pour sa bienveillance, sa générosité et son accompagnement précieux tout au long de ce travail. Nous la remercions sincèrement pour ses conseils avisés, ainsi que pour le temps considérable qu'elle nous a consacré avec patience et disponibilité lors des différentes manipulations.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à Monsieur le **Pr. DJIBAOUI Rachid,** qui nous a fait l'honneur et l'amabilité d'accepter de présider ce jury. C'est pour nous un immense honneur de bénéficier de sa présence et de son expertise. Nous saluons également son engagement, sa générosité scientifique et l'ensemble de ses efforts et enseignements qui ont largement contribué à notre formation et à notre parcours académique.

Nous exprimons notre profonde gratitude et nos plus sincères remerciements à **Dr**. **BENGUENAB Asma,** qui nous a fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail. Nous lui sommes très reconnaissants pour l'intérêt qu'elle a porté à notre mémoire ainsi que pour le temps consacré à son évaluation.

Nous adressons nos sincères remerciements à toutes les femmes volontaires ayant accepté de participer à cette étude. Leur contribution, leur confiance et leur disponibilité ont été essentielles à la réalisation de ce travail scientifique. Nous leur exprimons notre profonde gratitude pour leur précieuse collaboration.

Dédicaces

Mon chemin n'a pas été facile, mais mon espoir n'était pas loin ; grâce à Dieu Tout-Puissant et aux prières de mes parents, je l'ai atteint

Au terme de ce parcours universitaire, j'ai l'honneur de dédier ce travail de recherche, fruit de ma persévérance et de ma passion pour la science :

À ceux dont je porte le nom avec tant de fierté, à la lumière de ma vie et à mon soutien : mes chers parents, Mohammed et Aicha.

À mon père, Mohammed

L'exemple de la discipline et de la droiture. Tes sacrifices silencieux et ta foi inébranlable en mes capacités sont ce qui a tracé mon chemin vers la réussite. Ce diplôme est le couronnement de tes efforts**.**

À ma mère, Aicha

Ma boussole et ma source de sérénité. Tes prières au milieu de la nuit ont été mon plus grand soutien face aux doutes, et ton amour a été mon refuge permanent. Puisse ce travail être un hommage à votre dévouement à tous les deux. Que Dieu vous préserve et vous garde.

À moi-même, Meriem Adraa

À la jeune femme qui a surmonté les doutes, enduré le stress des manipulations et du laboratoire, et qui n'a jamais abandonné face aux obstacles. Cette recherche est le témoin de ma force intérieure, de ma rigueur et de ma détermination à aller de l'avant jusqu'à la réalisation de mis rêves académiques.

À mon cousin et frère, Samir, et à l'entreprise Biosif

Pour avoir été présent dans les moments décisifs, pour tes conseils avisés et ton soutien constant qui n'a jamais failli.

À ma précieuse binôme, Aicha

À ma compagne de laboratoire et de rigueur scientifique. Des protocoles aux paillasses, nous avons partagé les exigences de ce travail avec une complicité et un respect mutuel exemplaires. Ce mémoire est la consécration de notre synergie.

À ma grande famille

À mes sœurs tous mes proches, pour leur bienveillance, leurs encouragements et l'affection dont ils m'entourent au quotidien.

Meriem Adraa.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail, avant tout, à mes très chers parents,

« Larbi » et « **Oumria** »,

en témoignage de mon profond amour, de mon immense gratitude et de mon respect infini.

Merci pour vos sacrifices, votre patience, vos prières et votre soutien inestimable tout au long de mon parcours.

Que Dieu vous protège et vous accorde santé et bonheur.

À ma petite sœur **Amel**, qui a toujours été à mes côtés par son affection, son soutien et sa présence réconfortante.

À mes chers frères **Djamel Eddine**, **Abdelkrim**, **Mohamed Salah**, malgré la distance qui nous sépare, vous demeurez toujours proches de mon cœur.

A ma chère belle sœur **Fatima zohra** qui m'a toujours encouragée tout au long de mon parcours

À ma chère cousine **Fatima**, qui m'accompagne depuis mon enfance et avec qui j'ai partagé les plus beaux souvenirs.

À mes très chères copines **Bouchra, Ghezlan** , **Fatima Zahra**, **Sarah** , **Soundouce**, qui ont illuminé mon parcours par leur présence, leur sincérité et leur soutien indéfectible. Votre amitié représente pour moi une véritable source de force et de bonheur, et je garderai toujours en mémoire les merveilleux souvenirs partagés avec vous.

À ma binôme **Meriem Adraa**, avec qui j'ai partagé les efforts, les difficultés et les moments marquants de ce travail. Merci pour ta collaboration, ton sérieux, ton soutien et tous les souvenirs vécus durant cette expérience.

À ma collègue **Hemissia Mebarki**, pour son aide précieuse, son soutien et son accompagnement tout au long de la réalisation de ce mémoir.

Aicha

ملخص

تشكل البكتيريا المهبلية، التي تهيمن عليها بكتيريا جنس *Lactobacillus*، عنصراً أساسياً في التوازن المهبلي والحماية من الالتهابات البولية والتناسلية. وفي هذا السياق، تحظى الزيوت العطرية باهتمام متزايد بسبب خصائصها المضادة للميكروبات التي تم وصفها على نطاق واسع ضد العوامل الميكروبية الممرِضة ومع ذلك، لا تزال انتقائيتها تجاه بكتيريا حمض اللاكتيك المفيدة لم تُدرس بشكل كافٍ ، في حين أن عدم وجود تأثير انتقائي قد يؤدي إلى تغيير في مجتمع الكائنات الدقيقة المهبلية .في هذا السياق، تهدف هذه الدراسة إلى تقييم مدى أمان ثلاثة زيوت عطرية (*Thymus vulgaris*، *Salvia officinalis* و *Laurus nobilis*) تجاه بكتيريا حمض اللاكتيك المعزولة من مجتمع الكائنات الدقيقة المهبلية، من أجل تقييم إمكانية استخدامها بأمان في مجال صحة المرأة .تم عزل 10 سلالات بكتيريا حمض اللاكتيك من10 عينات مهبلية مأخوذة من نساء سليمات، ثم تم تحديدها من خلال توصيف ظاهري يعتمد على صبغة غرام واختبارات كيميائية حيوية. تم الحصول على الزيوت العطرية عن طريق التقطير المائي من نوع Clevenger والتقطير بالبخار المائي، مع مردود يتراوح بين 0,65٪ و 2,295٪. أظهرت نتائج اختبارات حساسية البكتيريا ضد الزيوت العطرية تباينًا في النشاط.حيث بيّنت *T. vulgaris* نشاطًا مثبطًا ملحوظًا، مع منطقة تثبيط بلغت 30.82 ملم. بالمقارنة مع *S. officinalis* و *L. nobilis* نشاطات أكثر اعتدالاً، حيث بلغت مناطق التثبيط 14,30 ملم و 11,70 ملم على التوالي. وتراوحت التركيزات الدنيا المثبطة الملاحظة بين 0,312 ميكرولتر/مل و 10 ميكرولتر/مل. تشير هذه النتائج إلى أن الزيت العطري لـ *T. vulgaris* له تأثير محتمل في إحداث خلل في التوازن الميكروبيوتي المهبلي بسبب تأثيره المثبط القوي على بكتيرياحمض اللاكتيك، في حين أن *S. officinalis* و *L. nobilis* يظهران نشاطًا أكثر اعتدالًا، مما يشير إلى توافق أفضل مع الحفاظ على مجتمع الكائنات الدقيقة المهبلية. إن إجراء تحقيقات إضافية، تشمل التحاليل الجزيئية، وتحديد المركبات الفعالة، والدراسات في الجسم الحي والدراسات السريرية، ضروري لتأكيد فعالية وسلامة الزيوت الأساسية في علاج التهابات المهبل، مع الحفاظ على الميكروبيوتا المهبلية

الكلمات المفتاحية:

مجتمع الكائنات الدقيقة المهبلية *Lactobacillus,*، الزيوت العطرية، *Thymus vulgaris*، *Salvia officinalis*، *Laurus nobilis*، النشاط المضاد للميكروبات، خلل التوازن المهبلي.

Résumé

Le microbiote vaginal, dominé par les bactéries du genre *Lactobacillus*, constitue un élément clé de l'équilibre vaginal et de la protection contre les infections uro-génitales. A cet égard, les huiles essentielles suscitent un intérêt croissant en raison de leurs propriétés antimicrobiennes largement décrites contre les agents pathogènes. Cependant, leur sélectivité vis-à-vis ces bactéries amicales demeure insuffisamment explorées, alors que l'absence d'un effet sélectif pourrait entraîner une altération du microbiote vaginal. Dans ce contexte, la présente étude vise à évaluer l'innocuité de trois huiles essentielles (*Thymus vulgaris, Salvia officinalis* et *Laurus nobilis*) vis-à-vis des lactobacilles isolés du microbiote vaginal, afin d'apprécier leur potentiel d'utilisation en toute sécurité en application gynécologique. Dix isolats de lactobacilles ont été obtenus à partir de dix prélèvements vaginaux réalisés chez des femmes saines, puis identifiés sur la base de leurs caractéristiques phénotypiques. Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation de type Clevenger et entraînement à la vapeur d'eau, avec des rendements compris entre 0,65 % et 2,295 %. Les résultats des tests de sensibilité *in vitro* ont mis en évidence une variabilité d'activité selon les huiles essentielles. *T. vulgaris* a présenté une activité inhibitrice marquée, avec une zone d'inhibition de 30,82 mm. En comparaison, *S. officinalis* et *L. nobilis* ont montré des activités plus modérées, avec des zones d'inhibition respectives de 14,30 mm et 11,70 mm. Les concentrations minimales inhibitrices observées variaient entre 0,312 µl/ml et 10 µl/ml. Ces résultats indiquent que l'huile essentielle de *T. vulgaris* exerce un effet potentiellement déséquilibrant sur le microbiote vaginal en raison de son action inhibitrice prononcée sur les lactobacilles, tandis que *S. officinalis* et *L. nobilis* présentent un profil d'activité plus modéré, suggérant une meilleure compatibilité avec la préservation de la flore protectrice. Des investigations complémentaires, incluant des analyses moléculaires, l'identification des composés actifs et des études *in vivo* et cliniques, sont nécessaires pour confirmer l'efficacité et l'innocuité des huiles essentielles dans le traitement des infections vaginales tout en préservant le microbiote vaginal.

Mots-clés

Microbiote vaginal, *Lactobacillus*, huiles essentielles, *Thymus vulgaris*, *Salvia officinalis*, *Laurus nobilis*, activité antimicrobienne, dysbiose vaginale.

Abstract

The vaginal microbiota, dominated by bacteria of the genus *Lactobacillus,* is a key component of vaginal balance and protection against urogenital infections. Accordingly, essential oils are attracting growing interest due to their widely reported antimicrobial properties against pathogens. However, their selectivity towards beneficial lactobacilli flora remains insufficiently explored, whilst the absence of a selective effect could lead to an alteration of the vaginal microbiota. In this context, the present study aims to assess the safety of three essential oils (*Thymus vulgaris*, *Salvia officinalis* and *Laurus nobilis*) with regard to lactobacilli isolated from the vaginal microbiota, in order to evaluate their potential for safe use in gynaecological applications. Ten *Lactobacillus* isolates were recovered from vaginal swabs collected from ten healthy women and were identified based on their phenotypic characteristics. The essential oils were obtained by Clevenger-type hydrodistillation and steam distillation, with yields ranging from 0.65% to 2.295%. The results of *in vitro* susceptibility tests revealed variability in activity among the essential oils. *T. vulgaris* exhibited marked inhibitory activity, with an inhibition zone of 30.82 mm. In comparison, *S. officinalis* and *L. nobilis* exhibited more moderate activity, with inhibition zones of 14.30 mm and 11.70 mm respectively. The minimum inhibitory concentrations observed ranged from 0.312 µl/ml to 10 µl/ml. These results indicate that the essential oil of *T. vulgaris* exerts a potentially disruptive effect on the vaginal microbiota due to its pronounced inhibitory action on lactobacilli, whilst *S. officinalis* and *L. nobilis* exhibit a more moderate activity profile, suggesting better compatibility with the preservation of the protective flora. Further investigations, including molecular analyses, identification of active compounds, and in vivo and clinical studies, are necessary to confirm the efficacy and safety of essential oils in the treatment of vaginal infections while preserving the vaginal microbiota.

Keywords

Vaginal microbiota*, Lactobacillus*, essential oils, *Thymus vulgaris, Salvia officinalis, Laurus nobilis*, antimicrobial activity, vaginal dysbiosis .

Table des matières

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 14

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I: Phytotherapie et aromatherapie

I.1 La phytothérapie 3
I.1.1 Définition 3
I.1.2 Limite et risque de la phytothérapie 3
I.1.3 Avantage de la phytothérapie 4

I.2 L'éthnobotanique 4

I.3 Aromathérapie 4

I.4 Les plantes médicinales 5
I.4.1 Définitions 5
I.4.2 Les composants des plantes médicinales 5
I.4.2.1 Composés phénoliques 5
I.4.2.2 Les alcaloïdes 6
I.4.2.3 Les huiles essentielles 6
I.4.3 Localisation des plantes médicinales dans le monde 7
I.4.4 Domaine d'applications 7
I.4.4.1 En médecine 7
I.4.5 En agriculture 7

I.5 Les huiles essentielles 8
I.5.1 Propriétés physico- chimique des huiles essentielles 8
I.5.2 Les terpénoïdes 8
I.5.3 Les composés aromatiques 8
I.5.4 Répartition botanique et localisation des huiles dans la plante 9
I.5.5 Procédés d'extraction des huiles essentielles 9
I.5.5.1 L'extraction par entraînement à la vapeur d'eau 9
I.5.5.2 L'hydrodistillation 10
I.5.5.3 L'expression à froid 11
I.5.5.4 L'extraction par solvant organique 12
I.5.5.5 L'extraction assistée par micro-ondes 13
I.5.6 L'originalité de la SFE (extraction par fluide supercritique) 13
I.5.7 Rôles des huiles essentielles 14

I.6 Description des plantes 14

I.6.1 *Thymus vulgaris* L 14
I.6.1.1 Definition 15
I.6.1.2 Classification taxonomique 15
I.6.1.3 Répartition géographique 15
I.6.1.4 Description botanique 16
I.6.1.5 L'huile essentielle 16
I.6.1.6 Les activités biologiques de l'HE de *T.vulgaris* 17
I.6.1.7 Usage traditionnel de plante thym 18
I.6.1.8 Toxicité de l'huile essentielle de thym 19
I.6.2 *Laurus nobilis* L 19
I.6.3 Définition 20
I.6.4 Classification taxonomique 20
I.6.5 Répartition géographique de cette plante 21
I.6.6 Description botanique 21
I.6.7 L'huile essentielle 22
I.6.8 Les activités biologiques de *L. nobilis* 22
I.6.9 Usage traditionnel de *L. nobilis* 23
I.6.10 Toxicité de l'huile de *L. nobilis* 24

I.7 *Salvia officinalis* L 24
I.7.1 Généralités 24
I.7.2 Définition 24
I.7.3 Classification taxonomique 25
I.7.4 Description botanique 25
I.7.5 Répartition géographique 26
I.7.6 L'huile essentielle 26
I.7.7 Les activités biologiques de *S. officinalis* 27
I.7.8 Usage thérapeutique de la sauge 28
I.7.9 Toxicologie 29

CHAPITRE II: Écosysteme vaginal et Lactobacillus

II.1 Le microbiote vaginal 31

II.2 La flore de Döderlein : base protectrice du microbiote vaginal 31

II.3 Composition et diversité de l'écosystème vaginal 31

II.4 Dynamique du microbiote vaginal au cours de la vie 33
II.4.1 Dès la naissance à l'enfance 33
II.4.2 A la puberté 33
II.4.3 A la grossesse 34
II.4.4 A La ménopause 34

II.5 Fonctions physiologiques des lactobacilles 35
II.5.1 Rôle protecteur 35
II.5.2 Les mécanismes de defense 35
II.5.3 Rôle sur la santé néonatale 37
II.5.4 Rôle dans la fertilité de la femme 37

II.6 Facteurs modulant l'équilibre du microbiote vaginal 37

II.7 Outils d'évaluation du microbiote vaginal 37
II.7.1 Le score de Nugent 37
II.7.2 La culture microbiologique 39

II.8 La dysbiose vaginale 39
II.8.1 Conséquences cliniques de la dysbiose vaginale 39
II.8.1.1 Infertilité 39
II.8.1.2 Infections urinaires 39
II.8.1.3 Vaginose bactérienne 39
II.8.1.4 La vaginite bactérienne 40
II.8.1.5 La candidose vulvo-vaginale 41
II.8.1.6 Les maladies sexuellement transmissibles 41

PARTIE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE III: Matériel et methodes

III.1 Objectif de travail 42

III.2 Matériel végétal 42
III.2.1 Critère de choix 42
III.2.2 Extraction des huiles essentielles 42
III.2.3 La récolte 42
III.2.4 L'extraction de l'HE de *T. vulgaris* par hydrodistillation 44
III.2.5 L'extraction de l'HE *S. officinalis* par hydrodistillation 45
III.2.6 Extraction de l'HE de *L. nobilis* par entraînement à la vapeur 45
III.2.7 Conservation des huiles essentielles 46
III.2.8 Le calcul du rendement R% 46
III.2.9 Caractérisation de l'huile essentielle 47
III.2.9.1 Caractérisation organoleptique 47
III.2.9.2 Caractérisation physico-chimique 47
III.2.9.3 Densité relative 47
III.2.9.4 Indice d'acidité 48
III.2.9.5 Potentiel d'hydrogène (pH) 49

III.3Prélèvement vaginaux et isolement des lactobacilles 49
III.3.1 Echantillonnage 49
III.3.2 Prélèvement 50
III.3.3 Isolement 50
III.3.4 Purification 50
III.3.5 Étude phénotypique 50
III.3.5.1 Étude morphologique 50

III.3.5.1.1 Macroscopique 50

III.3.5.1.2 Microscopique 51
III.3.5.2 Étude biochimique et physiologique 52

III.4 L' effet des HEs sur les lactobacilles 53
III.4.1 Aromatogramme 53
III.4.2 Concentration minimale inhibitrice (CMI) 54

III.4.3 Concentration minimale bactéricide CMB 54

CHAPITRE IV: Résultats et discussion

IV.1 Caractérisation des HEs étudiées 55
IV.1.1 Extraction des HEs 55
IV.1.2 Calcul du rendement (R%) 55
IV.1.2.1 Rendements en HE de *T. vulgaris* 55
IV.1.2.2 Rendements en HE de *S. officinalis* 56
IV.1.2.3 Rendements en HE de *L. nobilis* 57
IV.1.3 Caractérisation des HEs 58
IV.1.3.1 Caractéristiques organoliptiques 58
IV.1.3.2 Caractérisation physico-chimique 60

IV.2 Isolement des lactobacilles 63
IV.2.1 Étude morphologique 64
IV.2.1.1 Examen macroscopique 64
IV.2.1.2 Examen microscopique 64
IV.2.2 Caractérisation biochimique et physiologique 65
IV.2.2.1 Test de catalase 65
IV.2.2.2 Recherche du nitrate réductase 65
IV.2.2.3 Croissance à 4% et 6,5% du NaCl 66
IV.2.2.4 Type fermentaire 66
IV.2.2.5 Fermentation des glucides 67
IV.2.3 Evaluation de l'activité antibactérienne des HEs 68
IV.2.3.1 Aromatogramme 68
IV.2.3.2 Concentration minimale inhibitrice et bactéricide 72

Conclusion 74
Références bibliographiques 75

Annexes

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01: Les activités biologiques les plus courantes de l'huile essentielle de thym. 18

Tableau 02: Les méthodes traditionnelles de traitement les plus courantes avec le thym. 19

Tableau 03: La classification taxonomique de *L. nobilis* 21

Tableau 04: Les activités biologiques les plus courantes de la plante *L. nobilis.* 23

Tableau 05: Classification systématique de *S. officinalis.* 25

Tableau 06: Les activités biologique de *S.officinalis* 28

Tableau 07: Les lactobacilles les plus fréquemment isolés à partir du vagin 32

Tableau 08: Mécanismes d'inhibition de la croissance et de l'adhésion des pathogènes par les lactobacilles. 36

Tableau 09: Grille de lecture du score de Nugent pour le diagnostic de la vaginose bactérienne.....38

Tableau 10: Rendements en HE de *T. vulgaris* 56

Tableau 11: Rendements en HE de *S. officinalis.* 57

Tableau 12: Rendements en HE de *L. nobilis* 58

Tableau 13: Caractéristiques organoleptiques des HEs de *T. vulgaris, S. officinalis et L. nobilis.* 59

Tableau 14: Valeurs des densités relatives des HEs de *T. vulgaris, S. officinalis* et *L. nobilis*.61

Tableau 15: Valeurs du pH des huiles essentielles étudiées. 62

Tableau 16: Détermination de l'indice d'acide des huiles essentielles étudiées. 68

Tableau 17 : récapitulatif des résultats des tests d'identification phénotypique des lactobacilles.....68

Tableau 18: Résultat de l'aromatogramme des huiles essentiels de *T.vulgaris, L.nobilis, S.officinalis* (diamètre de zones d'inhibition en mm) 69

Tableau 19: Détermination des CMI et CMB (exprimées en ul/ml), et du rapport CMB/CMI des huiles essentielles de *T.vulagirs, L.nobilis et S. officinalis* 73

LISTE DES FIGURES

Figure 01: Structures phénoliques 6

Figure 02 : Structure des alcaloïdes. 6

Figure 03 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau 10

Figure 04 : Montage d'extraction par hydrodistillation. 11

Figure 05 : Montage de l'expression à froid 12

Figure 06 : Montage l'extraction par solvant organique. 12

Figure 07 : Montage l'extraction assistée par micro-ondes 13

Figure 08 : L'originalité de la SFE. 14

Figure 09: *T. vulgaris* 16

Figure 10 : *L. nobilis.* 22

Figure 11 : *S. officinalis.* 26

Figure 12 : Abondance relative du microbiote vaginal en fonction de l'âge. 34

Figure 13: Extraction de *T.vulgaris* par hydro distillation 43

Figure 14: Extraction de *L.nobilis* par entraînement à la vapeur. 44

Figure 15: Récupération de l'huile essentielle purifiée et détermination de son volume. 45

Figure 16: Échantillons d'huiles essentielles extraites par hydrodistillation *T. vulgari* 46

Figure 17: Échantillons d'huiles essentielles extraites par hydrodistillation *S.officinalis* 59

Figure 18 : Échantillons d'huiles essentielles extraites par hydrodistillation *L.nobilis* 60

Figure 19: Observation macroscopique des différentes colonies des lactobacilles sur milieu MRS. 60

Figure 20: Observation microscopique des cellules des lactobacilles après coloration de Gram. 64

Figure 21 : Résultat négative de nitrate réductase. 65

Figure 22 : Résultat positif de croissance à concentration de 4% NaCl. 66

Figure 23 : Résultat positive de la production de gaz par fermentation de glucose. 66

Figure 24 : Résultat positive de la fermentation du saccharose et mannitol. ..... .67

Figure25: Résultat positive de la fermentation du saccharose et mannitol 67

Figure 26 : Effet inhibiteur des huiles essentielles de *T.vulgaris , L.nobilis* et *S.officinalis* sur differents isolats de lactobacilles 69

Figure 27 : Aromatogramme de l'huile essentielle de *T.vulgaris* sur les lactobacilles. 69

Figure 28: Aromatogramme de l'huile essentielle de *L.nobilis* sur les lactobacilles. 70

Figure 29 : Aromatogramme de l'huile essentielle de *S.officinalis* sur les lactobacilles 70

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR : Association Française de Normalisation.

CAMD: Distillation par Micro-ondes Assistée par Air Comprimé.

CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

Cst: Type d'État Communautaire.

D_{20}: Densité relative.

DO: Densité optique.

EDQM: Direction européenne de la qualité du médicament.

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène.

HE : Huile Essentielle.

I_a : Indice d'acide.

KOH: hydroxyde de potassium.

MRS : Man, Rogosa et Sharpe

MRSA : Man, Rogosa et Sharpe Agar

MRSB : Man, Rogosa et Sharpe bouillon

MST: Maladies sexuellement transmissibles .

MTC: Médecine Traditionnelle Chinoise.

MV: Matière végétale.

N: Normalité du KOH.

pH: Potentiel d'hydrogène.

R%: Rendement.

RHE: rendement en huile essentielle.

ROS: Reactive Oxygen Species.

SFE : Extraction par fluide supercritique.

UFC: Unité Formant Colonie.

VB: Vaginose Bactérienne.

Introduction

Introduction

Le vagin humain abrite une communauté microbienne dont la composition diffère nettement de celle de tous les mammifères. Les lactobacilles constituent l'espèce vaginale la plus abondante **(Young *et al.,* 2026)** qui produit de l'acide lactique afin de maintenir un milieu acide, grâce à la compétition, au blocage de l'adhésion et à la libération de composés antibactériens et immunomodulateurs, de plus les cellules du système immunitaire inné, notamment les neutrophiles et les monocytes présents dans l'appareil reproducteur féminin, peuvent être attirées et activées par les métabolites des lactobacilles. Leur prédominance dans ce milieu est associée à une protection contre divers problèmes de santé **(Raval *et al*., 2026)**.

Un écosystème vaginal marqué par une abondance majoritaire des lactobacilles dans un environnement à faible diversité reste la définition la plus largement admise d'un état sain du microbiote vaginal, leur diminution s'accompagne d'une augmentation de la diversité, reflétant une prolifération d'anaérobies stricts et facultatifs, comme dans le cas de la vaginose bactérienne **(Ignacio *et al.,* 2026).** Le traitement spécifique des infections est particulièrement important pour préserver le microbiome vaginal et réduire le risque d'atteinte inflammatoire des organes de l'appareil génital supérieur, ainsi que ses conséquences à long terme, telles que la stérilité, les grossesses extra-utérines et les douleurs chroniques **(Westermann *et al.*, 2026)**.

Avec la montée des effets secondaires des médicaments de synthèse et le développement de la résistance des microorganismes pathogènes aux antibiotiques classiques **(Essawi *et al.,* 2000),** Il devient donc essentiel d'orienter les recherches vers des agents thérapeutiques efficaces, présentant le moins d'effets indésirables possible. Dans cette optique, les extraits d'origine végétale suscitent un intérêt croissant en tant que source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ces derniers font l'objet de nombreuses études en vue de leur éventuelle utilisation comme alternative dans la prise en charge des maladies infectieuses **(Boughendjioua, 2015)**, ces végétaux ont toujours joué un rôle essentiel dans le domaine médical, une plante médicinale se définit comme toute plante contenant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, d'atténuer ou de guérir des maladies **(Djilani et Dicko, 2012; El amri *et al*., 2014)** des études récentes ont mis en évidence un potentiel important des plantes medicinales et de leurs constituants en tant qu'agents antimicrobiens et dans divers domaines industriels et médicaux. La diversité moléculaire des métabolites qu'elles renferment leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés ainsi qu'une utilisation moins dommageable puisqu'elles n'ont pas d'effets secondaires **(Mazari *et al*., 2010 ; Goetz et Ghedira, 2012).**

Pour la même raison, aucune résistance particulière aux huiles essentielles n'a été décrite, il est important de noter que certaines d'entre elles constituent des alternatives efficaces ou des compléments aux antibiotiques sans présenter le même effet secondaire **(Rosato *et al.,* 2010)**. Les huiles issues de plantes médicinales, notamment *T. vulgaris* et *S. officinalis* présentent des propriétés antibactériennes bien établies et sont traditionnellement utilisées dans la prise en charge des infections vaginales **(Rashidipour *et al.,* 2022).** Dans le même contexte, *L. nobilis* se distingue par son potentiel anticandidosique notable, comme l'ont rapporté **(Ouibrahim *et al.,* 2015)**. Par ailleurs, ces usages s'inscrivent dans une pratique plus large de médecine traditionnelle, où de nombreuses femmes ont recours à des remèdes maison à base de plantes médicinales pour traiter les infections gynécologiques , bien que ces traitements soient couramment administrés par voie topique, mettant ainsi en évidence l'importance de leur action locale dans le traitement de ces affections, les connaissances concernant l'impact des extraits de plantes médicinales préparés traditionnellement sur le microbiote vaginal restent limitées, en particulier sur les espèces bénéfiques telles que *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri* et *Lactobacillus jensenii* **(Vardeman *et al.,* 2026).**

Dans le cadre de cette thématique, le présent travail est structuré en deux parties principales. La première partie est consacrée à l'étude bibliographique et comprend deux chapitres : le premier traite la phytothérapie et les huiles essentielles de *T. vulgaris*, *S. officinalis* et *L. nobilis*, leurs propriétés et leurs applications biologiques ; le second est dédié à l'écosystème vaginal et aux lactobacilles en mettant en évidence leur rôle dans l'équilibre du microbiote vaginal et la protection contre les infections.

La seconde partie correspond à l'étude expérimentale et comprend deux chapitres: le chapitre du matériel et méthodes, subdivisés en deux volets consacrés respectivement aux huiles essentielles et aux lactobacilles et le chapitre de résultats et discussion. Enfin, ce travail se termine par une conclusion générale présentant les principaux résultats et les perspectives de recherche.

Partie bibliographique

Chapitre I:

Phytothérapie et aromathérapie

I.1 La phytothérapie

Selon la Pharmacopée Européenne, « les plantes médicinales sont essentiellement la plante entière ou des parties d'une plante qui ont été broyées ou hachées et utilisées directement, le plus souvent sous forme séchée ou fraîche » **(EDQM, 1964)**.

Les plantes médicinales sont des complexes composés de molécules issues d'une ou plusieurs plantes. Aujourd'hui, les préparations à base de plantes se présentent sous de nombreuses formes, certaines plus innovantes que d'autres, rendant les infusions traditionnelles quelque peu obsolètes. Cependant, ces changements de forme peuvent parfois masquer leur impact sur l'activité métabolique ou la biodisponibilité des principes actifs **(Wichtl & Anton, 2003)**.

I.1.1 Définition

Depuis 1987, la phytothérapie est pleinement reconnue par l'Académie de médecine des États-Unis **(Chabrier, 2010).** Le terme « phytothérapie » provient des mots grecs phyton qui signifie « plante » et thérapie qui signifie « traitement ». Elle se définit donc comme l'utilisation des plantes pour traiter les maladies **(Moatti, 1990).**

Aujourd'hui, la phytothérapie s'appuie sur les progrès scientifiques et l'étude des principes actifs végétaux. Après leur identification, ces composés sont normalisés. Cette démarche aboutit à la création de phyto-médicaments dont la commercialisation, conformément à la réglementation nationale, nécessite une autorisation de mise sur le marché. Ce domaine est désigné sous les termes de pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique **(Bellamine, 2017)**.

I.1.2 Limite et risque de la phytothérapie

Bien que la phytothérapie soit souvent perçue comme une « médecine naturelle » et donc sans risque, cette idée d'innocuité n'est pas systématiquement fondée. En réalité, toute plante à usage thérapeutique, même lorsqu'elle est employée dans des conditions normales, peut engendrer des effets indésirables ou secondaires. Dans certaines situations, Le recours aux plantes peut même conduire à de réelles intoxications. De plus, les plantes médicinales peuvent être souillées par des micro-organismes, des toxines d'origine microbienne, des parasites, des métaux lourds, ainsi que par des résidus de pesticides et de solvants. Cette

contamination constitue également une menace potentielle pour la santé **(Laccourreye *et al*., 2017).**

I.1.3 Avantage de la phytothérapie

Les lésions hépatiques causées par les plantes sont peu fréquentes. Par ailleurs, leurs symptômes cliniques et leur gravité peuvent présenter une grande diversité : hépatite bénigne, insuffisance hépatique aiguë nécessitant une greffe, entre autres **(Bruneton, 2016)**.

I.2 L'éthnobotanique

L'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie étudient les savoirs traditionnels des communautés autochtones sur l'utilisation des plantes pour se soigner et combattre les maladies. De nombreux médicaments couramment employés à travers le globe ont été identifiés grâce à des travaux ethnobotaniques et ethnopharmacologies menés auprès de populations locales dans diverses régions **(El Alami *et al.,* 2016)**.

L'ethnobotanique explore les relations entre les connaissances traditionnelles, la diversité des plantes et la gestion des environnements naturels. Elle cherche à saisir la manière dont les végétaux s'inscrivent dans les pratiques et les systèmes culturels humains **(Cunningham, 2014).**

I.3 Aromathérapie

Le terme trouve son origine dans le grec « Aroma », qui désigne une odeur, et « Therapia », signifiant soin. L'aromathérapie consiste à employer des huiles essentielles chimiotypées, appliquées sur la peau, ingérées ou inhalées, afin de procurer des bienfaits préventifs, curatifs ou de bien-être à l'individu **(Franchomme et Pénoël, 2001).**

L'utilisation thérapeutique des huiles essentielles pour apporter des soins de santé holistiques, visant à améliorer les réponses physiques, émotionnelles et spirituelles du patient face à la maladie **(Buckle, 2015)**.

Les remèdes naturels sont souvent perçus comme exempts de toute toxicité du fait de leur origine naturelle, ce qui explique pourquoi des cas d'intoxication continuent d'être signalés. La toxicité végétale peut se présenter sous diverses formes : hépatique, neurologique, cardiaque, rénale, photosensibilisant, irritante ou allergique, en fonction du mode d'administration de ces produits naturels **(Kanoune, 2021).**

I.4 Les plantes médicinales

I.4.1 Définitions

Les végétaux constituent l'une des principales ressources naturelles exploitées par l'humanité pour la prévention, le soin et la réadaptation dans le domaine de la santé. Le recours aux plantes médicinales pour traiter les affections **(Ouedraogo *et al*., 2024).**

Selon la dixième édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Autrement dit, une plante médicinale est une plante dont un organe spécifique, comme la feuille ou l'écorce, présente des propriétés thérapeutiques lorsqu'il est employé selon un dosage défini et un mode d'utilisation précis. Au moyen age, ces plantes étaient désignées par le terme de "simples" **(Mehani, 2015).**

I.4.2 Les composants des plantes médicinales

Les métabolites secondaires correspondent à des composés phytochimiques que les plantes produisent naturellement par biosynthèse, sans pour autant participer directement à leur métabolisme **(Guillaume et Charrouf, 2005).**

Les métabolites secondaires se répartissent en plusieurs catégories distinctes. Chacune de ces familles se subdivise ensuite en sous-familles, en fonction de leur structure chimique fondamentale **(Samai, 2023).**

I.4.2.1 Composés phénoliques

Tous les types de composés phénoliques présentent des quantités et des emplacements distincts de groupements hydroxyles sur leur squelette fondamental **(Suwal, 2018)**. En outre, ces structures peuvent subir diverses formes de substitution comme il est montré dans la **figure 1.**

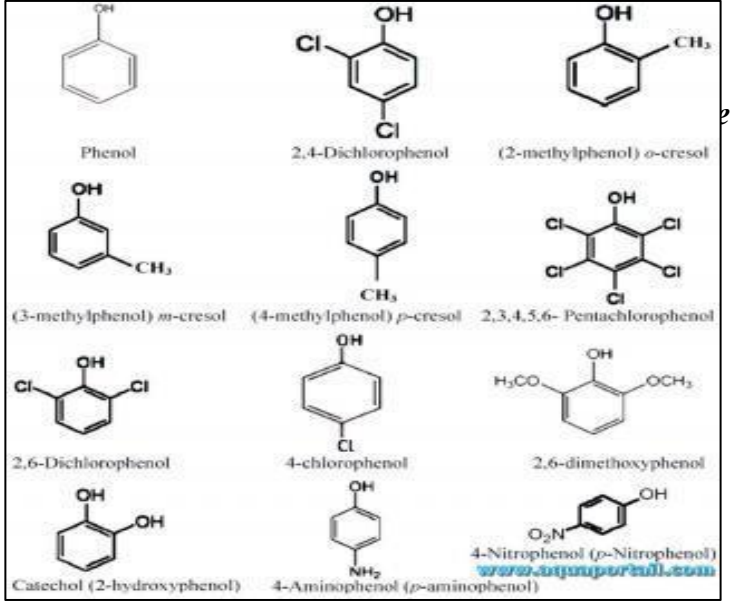


Figure 01 : Structures phénoliques **(Aqua Porta, 2021)**.

I.4.2.2 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont produits à partir d'acides aminés ou par le biais de réactions de transamination impliquant d'autres molécules**(Aniszewski, 2007)**. Ils possèdent généralement une structure hétérocyclique intégrant un atome d'azote présenté en **figure 2.**

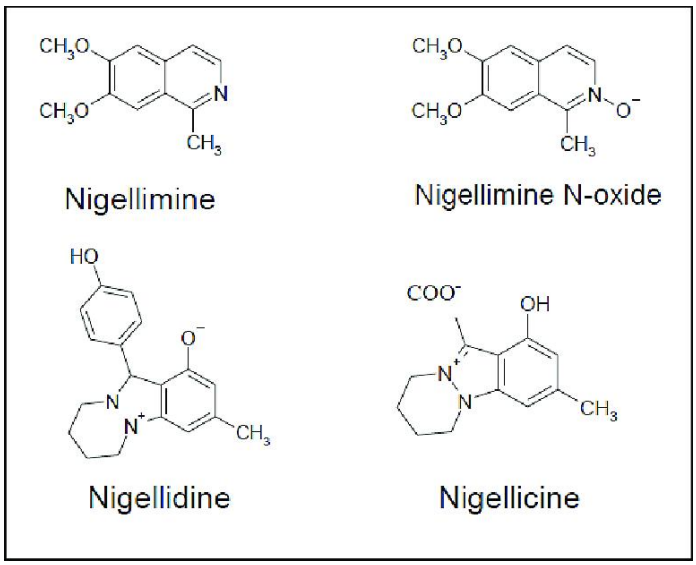


Figure 02 : Structure des alcaloïdes **(Toparslan, 2012).**

I.4.2.3 Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont principalement composées d'un assemblage de terpènes, incluant surtout des sesquiterpènes et des mono terpènes, ainsi que de substances aromatiques et aliphatiques **(Brown, 2014).**

I.4.3 Localisation des plantes médicinales dans le monde

- ✔ Afrique : plus de 80 % des habitants comptent sur les plantes pour leurs soins de santé primaires.

- ✔ Chine : près de 10 000 à 12 000 espèces végétales sont employées dans le cadre de la Médecine Traditionnelle Chinoise (MTC).

- ✔ Inde : environ 7 000 à 8 000 espèces sont utilisées dans les systèmes de médecine traditionnelle.

- ✔ Algérie : plus de 600 espèces ont été recensées comme étant à la fois médicinales et aromatiques **(Pironon *et al.*, 2024).**

I.4.4 Domaine d'applications

Les substances naturelles dérivées des végétaux présentent de multiples atouts dans les domaines industriels, alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques. Dans le secteur pharmaceutique, une proportion significative des médicaments continue d'être obtenue à partir de sources végétales. Par ailleurs, la recherche scientifique continue d'étudier les plantes pour découvrir de nouvelles molécules bioactives et des matières premières utilisables en semi-synthèse **(Koffi, 2013).**

I.4.4.1 En médecine

Ces plantes sont utilisées dans le domaine médical comme traitements pour l'être humain : Pour soigner les troubles liés au stress, en agissant comme antioxydants, Pour lutter contre le diabète, en tant qu'agents stimulant le système immunitaire, comme médicaments anti-inflammatoires et analgésiques, pour prévenir les maladies cardiovasculaires, pour traiter les infections cutanées en dermatologie **(Koffi, 2013).**

I.4.5 En agriculture

Dans le domaine agricole, les végétaux sont utilisés pour combattre différents parasites tels que les nématodes. C'est le cas, par exemple, d'*Azadirachta indica*, l'une des plantes médicinales les plus importantes au Bangladesh, qui prospère sur l'ensemble du sous-continent indien **(Koffi, 2013).**

I.5 Les huiles essentielles

Les huiles essentielles, également désignées sous les noms d'essences ou essences aromatiques végétales, sont des substances odorantes, volatiles et de consistances huileuses présentes dans les végétaux. Elles sont produites à partir des sucres générés par la photosynthèse, au sein de cellules spécialisées (ou sécrétrices) qui se trouvent le plus souvent dans les fleurs et les feuilles. Il est également possible d'utiliser le fruit, le bois ou encore la racine de la plante concernée. L'huile essentielle constitue un extrait pur et naturel de la partie odorante des plantes aromatiques **(Lardry et Haberkorn, 2007).**

Les huiles essentielles sont des substances liquides extrêmement complexes. Elles possèdent des caractéristiques et des méthodes d'emploi spécifiques, ayant conduit à l'émergence d'une nouvelle discipline au sein de la phytothérapie : l'aromathérapie **(Cimanga *et al*., 2002).**

I.5.1 Propriétés physico- chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles, composés volatils, lipophiles et aromatiques, sont constituées de centaines de molécules organiques provenant du métabolisme secondaire des végétaux, ce qui les rend particulièrement représentatives de cette caractéristique naturelle. Ces molécules diverses jouent un rôle important dans les interactions de la plante avec son milieu (défense, communication, stockage d'énergie...). Leurs constituants, principalement des terpènes (monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes) et leurs dérivés oxygénés (alcools, aldéhydes, esters, cétones, phénols...) sont en grande majorité des molécules chirales **(Aribi et Couic, 2021).**

I.5.2 Les terpénoïdes

Souvent appelés de manière générique « terpènes », forment la famille la plus abondante. Il s'agit d'hydrocarbures issus de la polymérisation d'unités isopréniques (C_5H_8) **(Yahyaoui, 2020).**

I.5.3 Les composés aromatiques

Bien que moins répandus que les terpénoïdes, les dérivés du phénylpropane jouent un rôle essentiel par leur puissance aromatique. On y trouve des molécules emblématiques comme l'eugénol (clou de girofle), la vanilline (vanille) l'estragole (estragon). Ces substances

sont particulièrement caractéristiques des HE appartenant à la famille des Apiaceae (fenouil, basilic, etc.) **(Yahyaoui, 2020).**

I.5.4 Répartition botanique et localisation des huiles dans la plante

Les huiles essentielles sont couramment présentes dans le règne végétal, avec des teneurs élevées dans certaines familles telles que les conifères, les rutacées, les myrtacées, les ombellifères, les lamiacées et les géraniacées. Ces composés aromatiques peuvent être localisés dans des cellules sécrétrices individuelles, comme c'est le cas chez les lauracées et les magnoliacées. Le plus fréquemment, elles sont stockées dans des structures sécrétrices spécialisées dont la morphologie diffère selon les familles botaniques. Ainsi, on rencontre des poils glandulaires chez les lamiacées, des poches sécrétrices chez les rutacées et des canaux résinifères chez les conifères. L'appareil producteur peut être de type externe, comme chez de nombreuses lamiacées, ou interne, comme chez les eucalyptus (myrtacées) **(Dalia, 2022).**

On peut obtenir des huiles essentielles à partir de différentes parties d'une plante, comme l'écorce (cannelle, citron, orange, bergamote), les graines (carvi, cardamome, coriandre, fenouil), les feuilles (eucalyptus, mélisse, citronnelle), les racines (angélique, vétiver), les fleurs (origan, ylang-ylang, camomille), le bois (cèdre, santal), les résines (encens, myrte), les bourgeons (pin) et les fruits (badiane), pour n'en citer que quelques-unes **(Dris, 2020).**

I.5.5 Procédés d'extraction des huiles essentielles

I.5.5.1 L'extraction par entraînement à la vapeur d'eau

La distillation à la vapeur d'eau constitue l'une des techniques classiques pour extraire les huiles essentielles. Cette méthode consiste à faire circuler de la vapeur à travers la matière végétale **(figure 03)**, sans qu'elle soit préalablement immergée. Les vapeurs, chargées de composés volatils, sont ensuite refroidies et condensées, puis soumises à une décantation. Cette opération permet d'isoler une phase aqueuse (l'hydrolat aromatique) d'une phase organique (l'huile essentielle). L'absence de contact direct entre l'eau et la plante, ainsi qu'entre l'eau et les composés aromatiques, limite les risques d'hydrolyse ou d'altération, ce qui contribue à préserver la qualité de l'huile. En règle générale, une trentaine de minutes suffisent pour recueillir environ 95 % des molécules volatiles, une quantité satisfaisante pour les applications industrielles et en parfumerie, comme c'est le cas pour la lavande. toutefois,

en aromathérapie, il est recommandé de prolonger la durée de distillation afin de capter la totalité des composés aromatiques volatils **(Boukhattem *et al*., 2019) .**

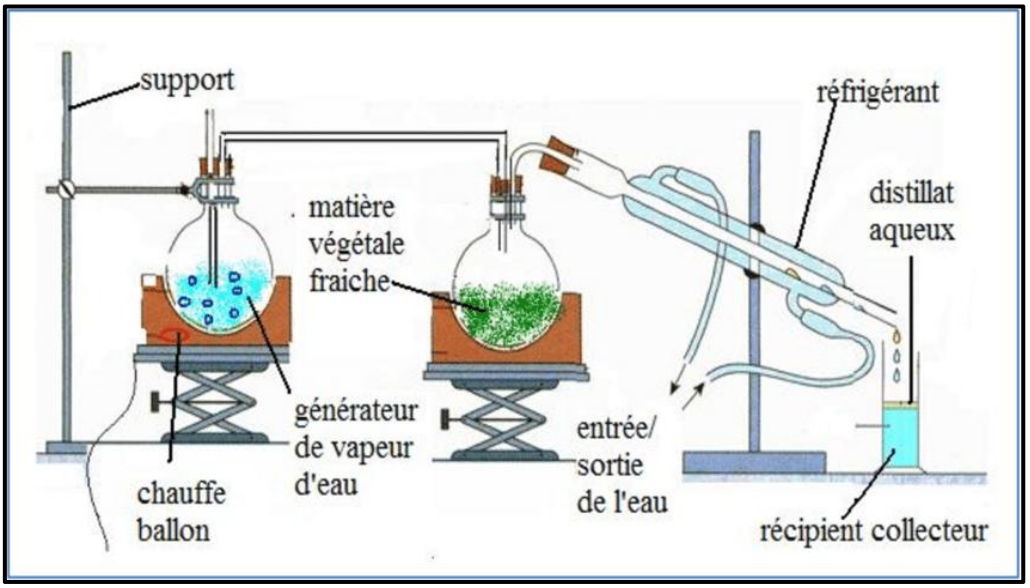


Figure 03 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau **(Belayachi, 2014).**

I.5.5.2 L'hydrodistillation

Le matériau est entièrement immergé dans l'eau, qui est portée à ébullition par l'application directe de chaleur (ou d'une autre source d'énergie) **(figure 04)**. La principale caractéristique de ce procédé est le contact direct entre l'eau bouillante et la matière végétale. Les alambics de distillation sont du type le plus simple et sont largement utilisés par les petits producteurs pour l'extraction d'huiles essentielles. Les inconvénients de cette technique sont liés à une chaleur non contrôlée, ce qui signifie que le taux de distillation est variable. Il existe également un risque de surchauffe localisée et de "brûlure" de la matière première, pouvant entraîner une huile de faible qualité. Un autre désavantage de ce système est qu'il nécessite le chauffage d'une grande quantité d'eau, en plus du coût et du temps requis pour chaque distillation **(Hilali, 2020) .**

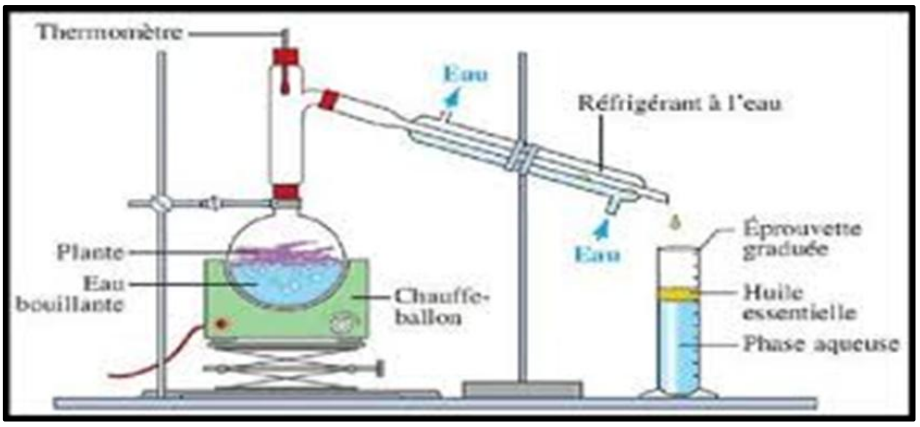


Figure 04 : Montage d'extraction par hydrodistillation **(Benkhaira, 2020).**

I.5.5.3 L'expression à froid

Cette technique est spécifiquement conçue pour différents fruits ou végétaux, tels que les agrumes (oranges, citrons, mandarines…). Les huiles essentielles de ces fruits se trouvent dans les petites glandes de la peau (l'écorce).

La méthode peut être réalisée sans chauffage, elle nécessite l'emploi d'une presse hydraulique pour soumettre la matière végétale à une haute pression. Ce processus s'effectue à l'aide de machines complexes **(figure 5)**.

L'extraction par pression à froid de fruits entiers (c'est-à-dire jus et pulpe) consiste à trier les plantes selon leur taille, puis à les presser à froid sans chauffage afin de libérer les huiles essentielles des végétaux. Celles-ci remontent à la surface du jus, qui est ensuite séparé par centrifugation.

L'extraction de l'écorce implique de retirer celle-ci, de la broyer, puis de la frotter sur un appareil équipé d'une pointe métallique pour rompre les sacs d'huile contenant l'essence végétale **(Bouguerra *et al.*, 2021).**

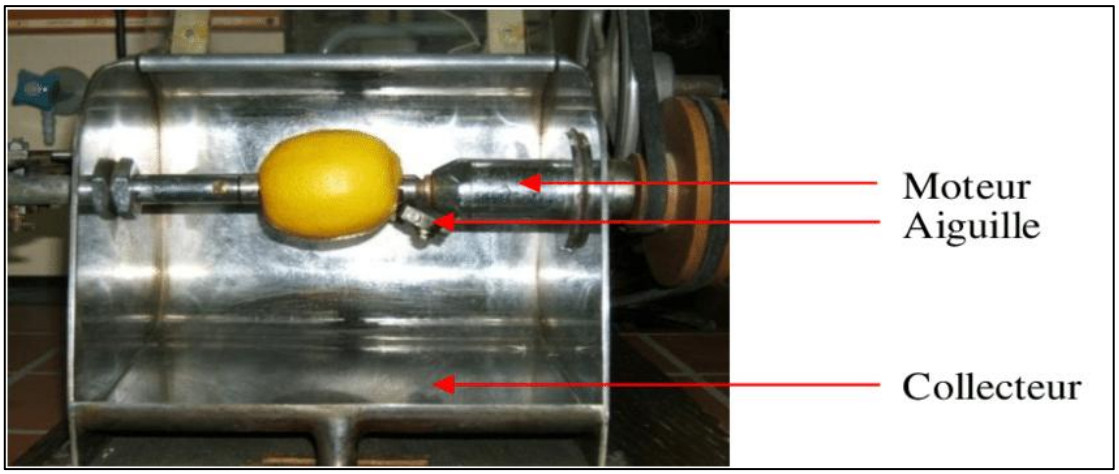


Figure 05 : Montage de l'expression à froid **(Ferhat, 2007).**

I.5.5.4 L'extraction par solvant organique

L'extraction par solvant est employée pour récupérer les huiles difficiles d'accès **(figure 06)**, comme celles contenues dans le tourteau de presse ou dans les graines oléagineuses à faible teneur en lipides. Cette méthode constitue la technique d'extraction la plus performante, car elle permet une récupération quasi complète de l'huile (> 97 %). Dans le secteur industriel, un solvant unique est utilisé pour cette extraction, ce qui explique pourquoi cette étape est communément appelée extraction à l'hexane. Le choix de l'hexane se justifie par plusieurs propriétés avantageuses, sa grande sélectivité envers les lipides, son coût modéré et sa facilité de recyclage **(Gagnon, 2021) .**

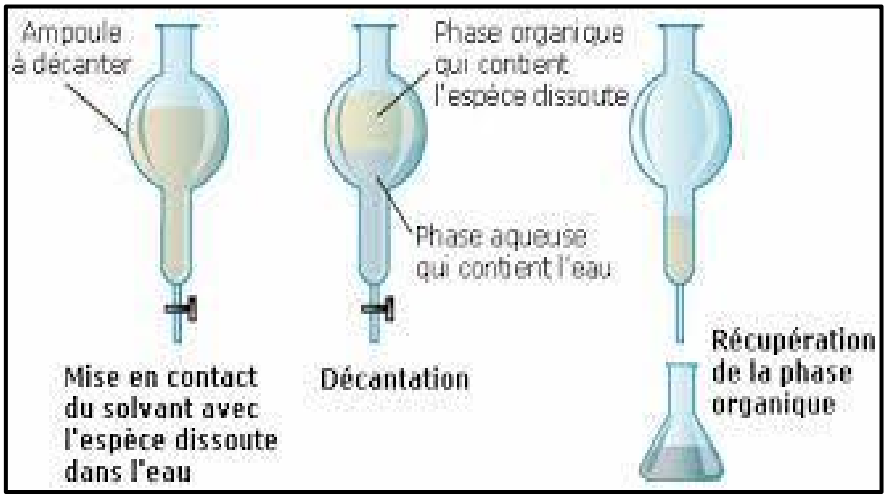


Figure 06 : Montage extraction par solvant organique **(Maxicours, 2024).**

I.5.5.5 L'extraction assistée par micro-ondes

L'entraînement à l'air assisté par micro-ondes (CAMD) **(figure 07)** a été introduit en 1989 par Craveiro et ses collaborateurs, représentant la première méthode d'extraction d'huiles essentielles utilisant un chauffage micro-ondes. L'installation CAMD est constituée de trois éléments principaux, un compresseur qui envoie de l'air dans le récipient contenant la matière végétale, un four à micro-ondes et un système de réfrigération.

Cette méthode s'appuie sur le principe de l'entraînement à la vapeur, mais utilise de l'air comprimé au lieu de la vapeur pour extraire les huiles essentielles. Elle fonctionne en injectant en continu de l'air comprimé dans le réacteur d'extraction, où la matière végétale est immergée dans de l'eau et chauffée par micro-ondes. La vapeur d'eau, saturée en molécules volatiles, est ensuite entraînée vers un vase de récupération placé dans un système de réfrigération et situé à l'extérieur du four. En quelques minutes, l'eau ainsi que les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle se condensent et sont récupérées dans des proportions similaires à celles d'un procédé classique. Cette technique a démontré des résultats qualitatifs et quantitatifs sensiblement équivalents en seulement 5 minutes, comparés aux 90 minutes généralement requises pour un entraînement à la vapeur traditionnel **(Farhat, 2010) .**

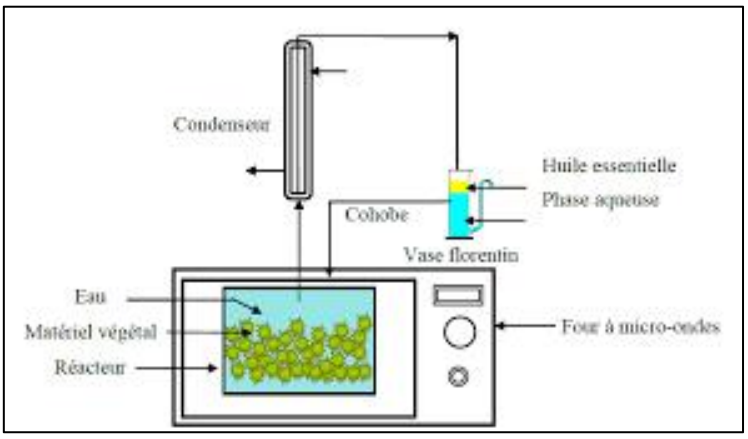


Figure 07 : Montage extraction assistée par micro-ondes **(Sahraoui, 2012) .**

I.5.6 L'originalité de la SFE (extraction par fluide supercritique)

Actuellement, les fluides supercritiques sont envisagés comme des alternatives aux solvants organiques dans les procédés de séparation, notamment ceux reposant sur l'extraction **(figure 8)**. Ainsi, l'extraction par fluide supercritique s'est substituée à diverses

méthodes traditionnelles d'extraction liquide-solide, telles que la macération, la percolation, la lixiviation ou l'extraction accélérée par solvant. Ces techniques présentent en effet plusieurs inconvénients, qu'il s'agisse de la toxicité des solvants, de la durée des opérations, des coûts ou encore de leur impact environnemental. En revanche, l'extraction par fluide supercritique permet d'obtenir une nette amélioration du rendement et, grâce à la sélectivité du fluide, une pureté significativement accrue de l'extrait. L'extraction à partir de matières solides constitue l'application la plus répandue, la majorité des installations industrielles se situant dans le secteur agroalimentaire **(Melloul, 2023).**

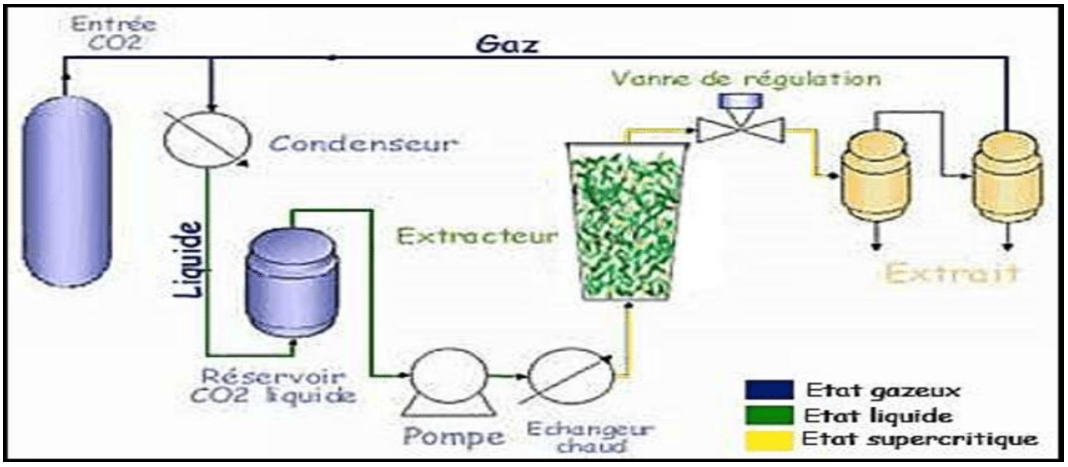


Figure 08 : L'originalité de la SFE (extraction par fluide supercritique) **(Hassas, 2018).**

I.5.7 Rôles des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent enrichir notre quotidien de multiples manières, que ce soit pour se détendre, atténuer le stress, soutenir les défenses immunitaires ou proposer des alternatives naturelles pour l'entretien et les soins corporels **(Heshelow, 2023).**

I.6 Description des plantes

I.6.1 *Thymus vulgaris* L

Le *T. vulgaris* L, communément désigné sous le nom de thym, est une plante fleurissante appartenant à la famille des Lamiacées, originaire du sud de l'europe, elle est aujourd'hui largement répandue à travers le globe. Cette plante s'avère utile pour lutter contre différentes infections et infestations intestinales, notamment les ankylostomes, les ascaris, les bactéries Gram positives et négatives, les champignons, les levures comme *Candida albicans*. Son composé actif, le thymol, a démontré une efficacité contre les entérobactéries. On lui

reconnaît également des vertus telles que l'amélioration de la fonction hépatique, la stimulation de l'appétit et l'aide au traitement des infections touchant le cartilage des tubes, des bronches et des voies urinaires, ainsi que la laryngite et les états inflammatoires **(Reddy *et al*., 2017).**

I.6.1.1 Definition

Le *T. vulgaris* L. une plante médicinale et aromatique répandue, est reconnu pour les multiples vertus thérapeutiques de son huile essentielle. Divers facteurs, comme le chémotype, les conditions environnementales, les pratiques culturales et le stade de développement végétatif, influencent sa croissance, son rendement en biomasse, la concentration en huile essentielle et sa composition chimique. Puisque la production des plantes médicinales et aromatiques accorde une importance particulière à la qualité de la matière première, il est essentiel d'adopter des méthodes d'agriculture durable **(Najar, 2023).**

T.vulgaris une plante aromatique et médicinale appartenant à la famille des Lamiacées, est originaire du bassin méditerranéen et s'est aujourd'hui acclimatée à divers environnements à travers le globe le terme *« Thymus »* dérive du grec ancien « *Thymos »,* signifiant « parfumer », en référence à l'arôme caractéristique de la plante elle est communément désignée sous les noms de thym de jardin ou thym commun **(Fani et Kohanteb, 2017).**

I.6.1.2 Classification taxonomique

Le *T.vulgaris* L., souvent désigné sous le nom de thym commun, fait partie du règne végétal Plantae et se range dans la classe des Magnoliopsida, au sein de l'ordre des Lamiales. Il constitue un membre important de la famille des Lamiaceae, plus précisément rattaché à la sous-famille des Nepetoideae. Son classement dans le genre *Thymus L.* Détermine ses principales caractéristiques botaniques, ce qui en fait une espèce représentative des plantes aromatiques à usage médicinal **(Zeghad, 2009).**

I.6.1.3 Répartition géographique

Cette espèce végétale est originaire du pourtour méditerranéen, du nord de l'Afrique et de certaines régions d'Asie. Sur le continent africain, sa culture est notamment attestée en Égypte, au Maroc, en Algérie, en Tunisie, en Libye, au Cameroun au Nigéria et en Afrique du Sud **(Kuete, 2017).**

I.6.1.4 Description botanique

Il s'agit d'un petit arbuste aromatique mesurant entre 10 et 30 cm de haut **(figure 09)**, présentant une teinte vert blanchâtre ou grisâtre. Ses tiges ligneuses, dressées ou ascendantes, non radicantes et sinueuses, forment un buisson compact et dense. Les rameaux, recouverts d'un tomentum blanchâtre, portent de petites feuilles lancéolées, rhomboïdales ou linéaires, à l'extrémité arrondie, aux bords enroulés et non ciliés à la base. Les fleurs, de couleur rose ou blanchâtre, sont rassemblées en têtes globuleuses ou en épis, avec des verticilles inférieurs espacées. Le calice est velu, avec un tube légèrement bossu à l'avant de sa base **(Touhami, 2017) .**

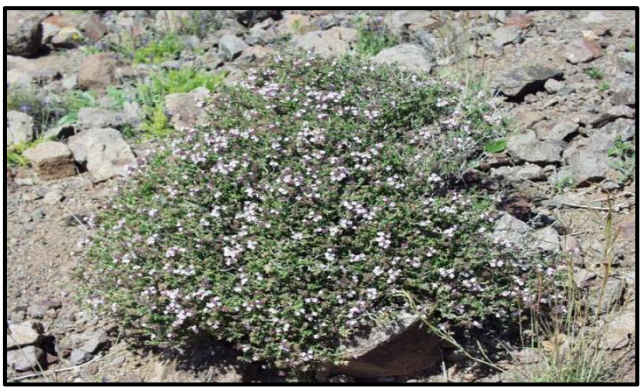


Figure 09: *T.vulgaris* **(Pépinières Rouxel, 2024).**

I.6.1.5 L'huile essentielle

L'huile essentielle issue de *T. vulgaris* L plus connu sous le nom de thym, est célèbre pour sa forte teneur en composés phénoliques, en particulier le thymol et le carvacrol. Ces substances sont reconnues pour leurs puissantes propriétés antimicrobiennes et antioxydantes **(Ali *et al.,* 2026).**

De nombreuses études ont mis en évidence la présence d'une grande diversité de composés dans les parties aériennes du *T. vulgaris.* Leur concentration fluctue selon plusieurs paramètres, notamment la localisation géographique, le climat, Les conditions de séchage et de conservation, ainsi que les techniques analytiques employées (extraction et détection). La facilité d'hybridation de cette espèce engendre une variabilité significative au sein de la plante, ce qui influence la constance du rendement d'extraction et la composition chimique obtenu **(Amiot, 2005).**

I.6.1.6 Les activités biologiques de HE de *T.vulgaris*

Le thym est véritablement un allié pour la santé. Il possède des propriétés désinfectantes et apaise les spasmes bronchiques. Il constitue un remède efficace contre les infections respiratoires. Ses composants agissent également contre les vers **(Bazylko et Strzelecka, 2007).** Le *T. vulgaris* posséderait de nombreux effets biologiques. Cette plante est fréquemment employée en médecine traditionnelle, et la science confirme un grand nombre de ses propriétés pharmacologiques. Dans les pratiques ancestrales, elle est utilisée pour traiter divers troubles, notamment les affections respiratoires, les problèmes digestifs et l'hypertension **(Sanches *et al.*, 2021).**

Le **tableau 1** suivant répertorie certaines des activités biologiques les plus courantes de l'huile essentielle de thym.

Tableau 1 : les activités biologiques les plus courantes de l'huile essentielle de thym.

Activité	Description	Références
1Activité anti-inflammatoire	L'huile de *T.vulgari* est principalement constituée de monoterpènes. Elle est particulièrement riche en thymol et en carvacrol, qui sont des substances naturelles. ces composés possèdent des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes, bénéfiques pour la santé, notamment contre la toux, les spasmes et les infections bactériennes. *Le Thymus spp* contient également des terpénoïdes, des aglycones flavonoïdes, des glycosides de flavonoïdes et des acides résiniques de synthèse**.**	**(Prasanth *et al*., 2014).**
2-Activité antioxydante	Le *T. vulgaris* se classait parmi les herbes séchées présentant les plus fortes capacités antioxydantes. Divers composants du thym lui confèrent ce statut, notamment les phénols (thymol et carvacrol), les flavonoïdes, l'acide caféique et la vitamine E, ces constituants inhibent la peroxydation lipidique induite in vitro dans les mitochondries et les microsomes. Ils inhibent également partiellement la production de l'anion superoxyde.	**(Kulisic *et al*., 2005).**
3-Activité antimicrobienne	Le *T. vulgaris* L est réputé pour ses propriétés antimicrobiennes, ce qui justifie son emploi traditionnel en tant qu'agent antibactérien,l' activité antibactérienne de l'huile essentielle de trois plantes, incluant le *T. vulgaris.* L'huile de *T. vulgaris* a démontré une activité notable contre les bactéries Gram positif. En effet, *L. monocytogenes* une souche particulièrement dangereuse, s'est révélée très sensible à celle-ci.	**(Bouhdid *et al*., 2006).**

I.6.1.7 Usage traditionnel de plante thym

Boucharara et Boudjiema (2016) recensent les différents usages traditionnels du thym, qu'ils répartissent en deux catégories : usage externe et usage interne. Ils expliquent la méthode de traitement et son objectif, comme le résume le **tableau 2**.

Tableau 2 : les méthodes traditionnelles de traitement les plus courantes avec le thym.

Usage	Méthode	Description
Usage interne	**Infusion**	Pour apaiser les fermentations intestinales ou gastriques, recommandent de faire infuser une cuillère à soupe bien pleine de thym dans un litre d'eau bouillante durant 15 à 20 minutes. Consommez plusieurs petites tasses au cours de la journée, sur une période d'au moins quelques jours. Il est également possible d'en boire une tasse à jeun, de préférence le matin.
	Préparation liquide	Appliquez 4 à 5 gouttes, environ 3 à 5 fois par jour, sur un morceau de sucre ou mélangées à du miel.
	Préparation en poudre	Consommez une à deux cuillères à café de feuilles de thym séchées et réduites en poudre chaque jour. Pour une prise plus facile, vous pouvez les associer à du miel ou de la confiture
Usage externe		Pour les affections buccales, il peut être employé en gargarisme, contre les troubles respiratoires, pratiquez des inhalations 2 ou 3 fois par jour. sous forme de décoction, il est efficace contre la chute des cheveux,utilisé dans le bain, il soulage la fatigue, les rhumatismes et l'arthrite.

I.6.1.8 Toxicité de l'huile essentielle de thym

L'huile essentielle peut causer des irritations cutanées et gastriques en cas d'ingestion. a forte dose, son absorption peut être toxique pour le foie. Comme de nombreuses autres plantes de la famille des Lamiacées, l'huile essentielle de *T. vulgaris* renferme du linalol et du limonène, substances qui, conformément au 7ème Amendement de la Directive Européenne sur les cosmétiques, sont susceptibles de déclencher des réactions allergiques **(Boulade, 2018).**

I.6.2 *Laurus nobilis* L

L. nobilis, est une espèce aromatique et médicinale de la famille des Lauraceae, appartient à un groupe qui compte approximativement 2 500 à 3 500 espèces. Le genre *Laurus* se compose de deux espèces distinctes : *L. azorica* et *L. nobilis*, le nom *Laurus*, qui forme la partie générique de sa dénomination binomiale, dérive directement du terme latin

désignant l'arbre, lui-même vraisemblablement tiré d'un ancien mot celte, blaur, signifiant vert. L'épithète *nobilis* est un mot latin se traduisant par noble et renommé. Il s'agit d'un arbuste à feuillage persistant originaire du bassin méditerranéen, également connu sous les noms de laurier-sauce, laurier d'Apollon, laurier grec, vrai laurier ou simplement laurier **(Dobroslavić *et al*., 2022).**

I.6.3 Définition

Laurier noble, appartenant à la famille des Lauracées, est célèbre pour son feuillage qui reste vert toute l'année. Son emploi ancestral dans la gastronomie et la médecine traditionnelle est largement documenté. de nombreuses études scientifiques ont exploré sa composition chimique et ses possibles applications thérapeutiques. Les recherches ont mis en évidence ses capacités antioxydantes, antibactériennes et antifongiques, lui attribuant ainsi une importance clinique significative **(Awada *et al.,* 2023)**.

Le laurier (*L. nobilis,* Lauracées) est un arbre persistant employé depuis des millénaires. C'est un composant fondamental dans l'art culinaire et pour de nombreux usages ancestraux. Ses feuilles, fraîches ou sèches, parfument les préparations. Son huile essentielle odorante est prisée dans l'industrie des parfums. De plus, le laurier est utilisé de longue date en médecine traditionnelle pour ses multiples vertus pharmacologiques, telles que ses actions antimicrobiennes, antioxydantes, anticancéreuses, insecticides et antifongiques **(Khodja *et al.,* 2023)**.

I.6.4 Classification taxonomique

D'après les recherches de **Pierre et Sébastien (1962)**, le laurier noble est classé dans le règne des plantes et plus précisément dans le sous-règne des plantes vasculaires. En tant que plante à graines, il relève de l'embranchement des Spermaphytes et du sous-embranchement des Angiospermes, qui se définit par la protection des ovules au sein d'un ovaire

La classification taxonomique selon **Bekhti (2021)** est présentée dans le **tableau 03** suivant:

Tableau 3 : la classification taxonomique de *L. nobilis* **(Bekhti, 2021).**

Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Dialypétales
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	*Laurus*
L'espèce	*L. nobilis L*

I.6.5 Répartition géographique de cette plante

L. nobilis est la seule espèce de la famille des Lauracées présente dans le bassin méditerranéen est fréquemment cultivée pour ses feuilles parfumées, commercialisées dans plusieurs pays comme la Turquie, l'Algérie, le Maroc, le Portugal, l'Espagne, l'Italie, la France, la Grèce et le Mexique.Sa propagation, que ce soit par semis ou par bouturage, s'est diffusée à de nombreuses régions du globe, couvrant la Méditerranée, l'Asie, l'Amazonie et l'Australie **(Tomar *et al.*, 2020).**

I.6.6 Description botanique

Dans son habitat naturel, *L. nobilis L* est un arbuste à feuillage persistant qui atteint fréquemment une hauteur de 15 à 20 mètres **(figure 10)**. En culture ornementale, il reste plus modeste, mesurant généralement entre 4 et 6 mètres. Il peut être formé en arbre à tronc unique ou en arbuste à plusieurs tiges. Sa bonne tolérance à la taille permet de le sculpter en topiaire ou de le conduire en tige. L'écorce est lisse, de couleur vert olive à rougeâtre. Les feuilles, lancéolées et disposées de manière alterne, portent de courts pétioles. Ces feuilles, mesurant de 5 à 8 cm de long sur 3 à 4 cm de large, ont une texture coriace. Elles présentent des ponctuations translucides et des bords entiers, légèrement ondulés et enroulés. La face supérieure, glabre et lustrée, varie du vert olive au brun, tandis que la face inférieure, d'un vert olive à brun mat, laisse apparaître une nervure centrale et des veinules bien marquées.

Les fruits sont des baies à un seul noyau libre. Ressemblant à de petites olives, les baies de laurier sont vertes avant de devenir bleu-noir à pleine maturité. Les fruits séchés de *L.*

nobilis L sont des drupes ovoïdes d'environ 15 mm de long et 10 mm de large **(Paparella *et al.*, 2022).**

Figure 10 : *L.nobilis* **(Pépinières Bretagne, 2024).**

I.6.7 L'huile essentielle

En règle générale, les huiles essentielles sont obtenues à partir de diverses parties végétales, comme les fleurs, les feuilles, les tiges, l'écorce, le bois, les racines, les graines ou les fruits. Le rendement en huile varie selon la partie de la plante utilisée **(Chahal *et al.*, 2017).**

Des études ont identifié jusqu'à 270 substances distinctes dans les huiles essentielles issues des feuilles de laurier. Les constituants majeurs sont le 1,8-cinéole (22-56%), le linalol (0,9-26,9%), l'acétate d'α-terpinyle (4,5-18,2%), l'α-pinène (2,2-15,9%), le β-pinène (1,9-15,3%), le sabinène (4,5-12,7%), l'α-terpinéol (0,9-12,0%) et le terpinéol-4 (0,9-4,1***%)*** **(Stefanova *et al*., 2020).**

L'analyse chimique des feuilles de *L. nobilis L* issues de différentes origines montre que le 1,8-cinéole constitue un composé volatil prédominant, avec des teneurs pouvant atteindre 50 %, et même 70 % dans certaines situations **(Konovalov et Alieva, 2019).**

I.6.8 Les activités biologiques de *L. nobilis*

Les diverses activités de la plante *L. nobilis* ont fait l'objet de nombreuses études scientifiques ; le tableau ci-joint **(tableau 4)** met en évidence les plus importantes d'entre elles.

Tableau 4: les activités biologiques les plus courantes de la plante *L. nobilis.*

Activité	Description	Référence
Activité antioxydante	Les feuilles de laurier *(L. nobilis L)* contiennent des composés phénoliques responsables de leurs propriétés antioxydantes. L'association d'antioxydants et de composés organiques du laurier contribue à ralentir la prolifération des cellules cancéreuses (sein et côlon) et à protéger contre les radicaux libres. Trois types de préparations ont été testées : huile essentielle, extrait méthanolique et décoction . Parmi dix plantes médicinales évaluées, *L. nobilis* a montré une activité antioxydante élevée dans les trois extraits. Les extraits polaires (comme l'extrait méthanolique) ont donné les résultats les plus significatifs.	**(Gupta *et al*., 2012).**
Activité antibactérienne	L'emploi d'extraits naturels d'origine végétale dans l'élaboration de substances antimicrobiennes représente une piste prometteuse. Les extraits de *L. nobilis L* revêtent une importance particulière dans le contexte actuel de montée des résistances aux antibiotiques, offrant une alternative envisageable aux traitements conventionnels	**(Patrakar *et al.*, 2012).**
Activité anti-inflammatoire	L'extrait méthanolique a également présenté un effet anti-inflammatoire chez des souris stimulées par des liposaccharides (LPS), en inhibant la production d'oxyde nitrique (NO). Cette propriété est attribuée aux composés sesquiterpéniques présents dans l'extrait méthanolique.	**(Zhu *et al*., 2018).**

I.6.9 Usage traditionnel de *L. nobilis*

Traditionnellement, les feuilles sont employées pour atténuer les symptômes de troubles digestifs. Elles servent aussi d'agent antirhumatismal, antiseptique et carminatif. Selon **Barla *et al.* (2007).** Les fruits, les fleurs et les feuilles de laurier pourraient avoir des propriétés antimutagènes et anticancéreuses.

L'huile essentielle extraite des feuilles de cette plante s'avère utile pour apaiser les hémorroïdes et les douleurs rhumatismales. De plus, l'industrie cosmétique l'emploie dans la parfumerie et la production de savons. Elle est reconnue comme un excellent répulsif contre les insectes **(Goudjil, 2016).**

I.6.10 Toxicité de l'huile de *L. nobilis*

Pour évaluer la toxicité des extraits aqueux et de la fraction huileuse volatile issus des graines de *L. nobilis* L., une recherche a été conduite sur des souris mâles albinos,une autre investigation s'est concentrée sur la toxicité aiguë de l'extrait de feuilles *de L. nobilis* chez des souris, concluant que son utilisation pour traiter la douleur aiguë ne générait pas d'effets indésirables. Toutefois, la toxicité liée à l'ingestion des fruits provient de la mézéréine présente dans les graines, susceptible d'entraîner de sérieux troubles digestifs (ulcérations, diarrhées, spasmes) et même des convulsions. L'écorce de l'arbre, contenant de la daphnétoxine, peut également causer des irritations cutanées au contact **(Botineau, 2010).**

I.7 *Salvia officinalis* L

I.7.1 Généralités

La sauge officinale (*S. officinalis* L.) est une plante aromatique appartenant à la famille des Lamiacées. Elle pousse naturellement dans toute la région du bassin méditerranéen et est assez commune en Algérie. Utilisée en cuisine comme aromate, elle se présente sous forme de feuilles séchées ou d'huile essentielle. Elle est également employée en phytothérapie et dans l'industrie cosmétique **(Ladjel et Laraba, 2020).**

I.7.2 Définition

Le terme sauge provient du mot italien salvare, signifiant sauvé. Cette origine linguistique illustre l'estime traditionnelle accordée à la plante, fréquemment vue comme possédant des vertus protectrices, voire magiques, pour le bien-être des personnes **(Lopresti, 2017).**

Les plantes médicinales, en particulier celles appartenant à la famille des Lamiacées, font l'objet d'une culture et d'une commercialisation importante en raison de leurs multiples applications et de leur forte valeur marchande. Ainsi, les cultivateurs sont perpétuellement à la recherche de méthodes pour améliorer simultanément la productivité et la qualité de ces végétaux. La sauge *S. officinalis* une plante vivace du genre *Salvia*, est l'espèce la plus cultivée au sein de cette famille et est très prisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cette espèce possède de nombreuses caractéristiques biologiques et pharmacologiques, incluant des effets antitumoraux, anti-inflammatoires, anticoagulants, antioxydants, antimicrobiens,

analgésiques, antidiabétiques et hypolipémiants, attribuables à sa composition riche en composés polyphénoliques et terpénoïdes **(Rashidi *et al*., 2025).**

I.7.3 Classification taxonomique

La sauge officinale fait partie du règne végétal et appartient à la division des Magnoliophyta, qui regroupe les plantes à fleurs. Elle est classée dans la catégorie des Magnoliopsida, correspondant aux dicotylédones **Hans (2007).** Sa classification sur le plan de la systématique, qui a été résumé sur le **(tableau 5).**

Tableau 5 : classification systématique de *S. officinalis* **(Hans, 2007).**

Règne	Plantae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae (Labiées)
Genre	*Salvia*
Espèce	*Salvia officinalis*

I.7.4 Description botanique

La sauge officinale est un sous-arbrisseau vivace qui atteint une hauteur de 0,50 à 1 mètre **(figure 11)**. Très ramifié et aromatique, il devient ligneux à sa base, avec des tiges formant des rameaux dressés, quadrangulaires et velus. Ses feuilles sont opposées, pointues, rugueuses et finement crénelées, présentant une pubescence grisâtre. La base du limbe est arrondie, pouvant être simplement ou doublement auriculée. La forme et la taille des feuilles varient selon leur position sur la tige,en général, elles mesurent de 3 à 10 cm de long et jusqu'à 3 à 4 cm de large **(Hans, 2007).**

Figure11 : *Saliva officinalis* L **(Hans, 2007).**

I.7.5 Répartition géographique

Cette plante vivace est native des zones orientales du bassin méditerranéen. Elle affectionne particulièrement les sols chauds et calcaires. On la trouve à l'état sauvage et en culture tout autour de la Méditerranée, de l'Espagne à la Turquie, ainsi que dans le nord de l'Afrique. Il s'agit d'une espèce euro-méditerranéenne, relativement répandue **(Baba Aissa, 2000).**

I.7.6 L'huile essentielle

La composition chimique de l'huile essentielle de *S. officinalis L* vendue dans le commerce est régie par la norme ISO 9909. Cette norme précise les onze composés suivants, avec les quantités recommandées : α-pinène (1,0–6,5 %), camphène (1,5–7 %), limonène (0,5–3 %), 1,8-cinéole (5,5–13 %), linalol total et acétate de linalyle (≤1 %), α-thujone (18–43 %), β-thujone (3,0–8,5 %), camphre (4,5–24,5 %), acétate de bornyle (≤2,50 %) et α-humulène (≤12 %). Une concentration appropriée de chaque molécule est nécessaire pour atteindre les objectifs physiologiques et pharmacologiques visés. un déséquilibre dans la composition pourrait entraîner une perte des avantages thérapeutiques ou des effets néfastes **(Anjali *et al.*, 2024).**

L'huile essentielle de sauge renferme du cinéole, du bornéol et de la thujone. la feuille de sauge contient de l'acide tannique, de l'acide oléique, de l'acide ursonique, de l'acide ursolique, de la niacine, des flavones de nicotinamide, des glycosides de flavonoïdes, du

cornsole, de l'acide cornsolique, de l'acide fumarique, de l'acide chlorogénique, de l'acide caféique et des substances œstrogéniques **(Behradmanesh *et al.*, 2013).**

I.7.7 Les activités biologiques de *S. officinalis*

Les plantes médicinales et aromatiques suscitent un intérêt accru depuis quelques années, grâce à leurs composés bioactifs et leurs bienfaits reconnus pour la santé. La *S. officinalis L.* est une des plantes les plus importantes dans ce domaine. Elle possède de multiples usages et des propriétés thérapeutiques variées **(tableau 06)**, comme des actions antibactériennes, antivirales, antioxydantes, anti-inflammatoires, antidiabétiques et antitumorales **(Giannoulis *et al.*, 2021).**

Tableau 06 : les activités biologique de *S.officinalis.*

Activité	Description	Référence
Activité antibactérienne	L'activité biologique des extraits de *S. officinalis L* est liée à leur composition chimique, aux groupes fonctionnels de leurs principaux composés, ainsi qu'à leurs effets synergiques. cette propriété est attribuable à la forte concentration en agents inhibiteurs présents dans les extraits de la plante. Il s'agit vraisemblablement des composés phénoliques, qui possèdent une puissante action antibactérienne. l'intensité de cette activité démontre de manière croissante l'efficacité de ces substances contre ces bactéries pathogènes.	**(Benkherara *et al.*, 2015).**
Activité antioxydante	Le stress oxydatif est un facteur clé dans le déclenchement et l'évolution de nombreuses pathologies, notamment le cancer, les affections cardiovasculaires, le diabète et les maladies neurologiques. Les antioxydants naturels défendent les cellules contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS), et de nombreuses recherches indiquent que *S. officinalis L* présente des propriétés antioxydantes remarquables.	**(Toyokuni, 2016).**
Activité anti-inflammatoire	Les recherches pharmacologiques ont démontré que *S. officinalis L.* possède des propriétés anti-inflammatoires et antinociceptives. lors d'un essai randomisé en double aveugle, les activités anti-inflammatoire et antalgique ont été confirmées, montrant qu'un collutoire contenant 15% d'extrait de *S. officinalis* L. A permis de soulager les symptômes de la pharyngite en 2 heures après son administration, comparativement à un placebo.En application locale, il semble que l'extrait chloroformique soit le plus efficace pour réduire un œdème dans des modèles murins d'inflammation induite par la carragénine. Le composé majoritaire de cet extrait est l'acide ursolique testé isolément, ce principe actif présente une activité anti-inflammatoire deux fois plus puissante que celle de l'indométacine, un anti-inflammatoire non stéroïdien utilisé comme référence dans cette étude.	**(Libérale *et al.*, 2022).**

I.7.8 Usage thérapeutique de la sauge

Historiquement, l'infusion de sauge a été employée dans la gestion de diverses affections. Ces applications traditionnelles incluent le traitement des troubles digestifs et circulatoires, des affections respiratoires telles que la bronchite, la toux et l'asthme, ainsi que l'angine de poitrine. Elle était également utilisée pour apaiser les inflammations buccales et pharyngées, la dépression, l'hyperhidrose, et diverses dermatoses, parmi un éventail d'autres pathologies. Par ailleurs, la plante elle-même a trouvé des applications en tant qu'agent cicatrisant, dans la formulation de produits pour les soins cutanés et capillaires, et dans la prise en charge des affections rhumatismales. Son usage s'étendait également à la mitigation

des faiblesses sexuelles et au traitement de certains troubles mentaux et nerveux **(Sharifi *et al.*, 2018)**.

La sauge est traditionnellement employée en gargarisme pour la prise en charge des affections inflammatoires de la cavité buccale, telles que les aphtes, les gingivites, les amygdalites et les ulcérations. Elle contribue également à la gestion des abcès et favorise la cicatrisation cutanée. par ailleurs, des infusions de sauge sont préconisées dans le traitement de diverses pathologies, incluant notamment celles relatives au système circulatoire. En tant que plante aromatique, la sauge est appréciée en cuisine pour son profil gustatif distinctif, caractérisé par des notes puissantes, légèrement amères et camphrées. Sur le plan thérapeutique, elle est intégrée dans la prise en charge de troubles digestifs tels que les ballonnements épigastriques, la dyspepsie, les régurgitations et les flatulences. Des propriétés additionnelles lui sont attribuées, notamment des activités antibactériennes, antivirales, antitumorales, antispasmodiques, antioxydantes, ainsi que des effets calmants, céphaliques et fébrifuges. Elle est également pertinente dans le cadre des traitements anti-inflammatoires et pour la gestion de certains troubles neuropsychiques elle est en outre utilisée comme désinfectant, appliquée en cataplasme, et incorporée dans certains bains pour contrer les dermatoses d'origine mycosique. Ces usages peuvent parfois s'opérer pour des raisons dont les mécanismes demeurent à élucider. Des données suggèrent son efficacité potentielle contre l'asthénie consécutive à une maladie infectieuse, ainsi que contre l'hypersudation nocturne, notamment lorsqu'elle est associée à la ménopause **(Bruneton, 2009).**

I.7.9 Toxicologie

De manière générale, l'utilisation de *S. officinalis L*. n'entraîne pas d'effets secondaires indésirables, même après de longues années d'usage. Son emploi aux doses habituelles est considéré comme sûr. Toutefois, une consommation excessive peut avoir des conséquences négatives en raison de sa teneur élevée en thuyone. L'huile essentielle de *S .officinalis L* peut contenir jusqu'à 50 % de thuyone, une substance potentiellement épileptogène et neurotoxique. Malgré cela, aucune toxicité aiguë ou chronique n'a été observée suite à l'utilisation des feuilles de sauge et de son huile essentielle aux doses courantes (jusqu'à 15 gouttes par jour**) (Hamidpour et Shahlari, 2014).**

Cependant, la thuyone peut provoquer une irritation locale ainsi que des effets psycho-mimétiques centraux après absorption. Une consommation chronique de thuyone peut

entraîner des troubles irréversibles du système nerveux central et perturber les fonctions hépatiques, rénales et cardiaques. Étant donné que la quantité utilisée en cuisine est faible, il n'y a pas de danger pour les consommateurs. Une toxicité aiguë peut survenir après l'administration d'une dose importante d'huile essentielle (2 g ou plus). Par conséquent, la consommation régulière de sauge, même sous forme de tisane, n'est pas nécessairement recommandée **(Teuscher *et al*., 2005).**

Chapitre II

Ecosystème vaginal et Lactobacillus

II.1 Le microbiote vaginal

Le microbiote vaginal correspond à l'ensemble des micro-organismes colonisant le vagin. Comparé aux microbiotes d'autres muqueuses, notamment celui du tractus gastro-intestinal, il se caractérise par une diversité plus faible et une prédominance de quelques espèces, principalement les lactobacilles, essentielles au maintien de la santé génitale **(Vinerbi *et al*., 2025).**

Ce microbiote constitue la première ligne de défense contre toute agression microbienne. Le vagin est une cavité contenant une microflore normale, qui peut subir des modifications importantes physiologiques sous l'influence de nombreux facteurs tels que : âge, imprégnation hormonale, activité sexuelle, contraception, conditions hygiéniques. L'écologie vaginale d'une femme saine comporte donc un système bactérien dynamique et mouvant en fonction des différents stades de la vie génitale **(Bergogne- Bérézin, 2007).**

II.2 La flore de Döderlein : base protectrice du microbiote vaginal

Albert Döderlein (1860-1941) fut le premier à découvrir l'importance des bactéries productrices d'acide lactique dans le microbiote vaginal . En 1895 Krönig, un collègue de Döderlein, a décrit les lactobacilles comme des bâtonnets anaérobies et courbés, qui ont ensuite été cultivés par Curtis en 1913 et nommés *Mobiluncus curtisii* par Spiegel et Robert en 1984. Enfin, Stanley Thomas en 1928 a inventé le terme *Lactobacillus acidophilus* **(Mendling , 2016).**

II.3 Composition et diversité de l'écosystème vaginal

Plus de 500 espèces bactériennes ont été identifiées au niveau vaginal. Les principales espèces sont des lactobacilles (*L. jensenii*, *L. gasseri*, *L. crispatus* et *L. iners*) **(tableau 07)**. L'ensemble des lactobacilles est dénommé comme étant la flore de Döderlein. D'autres lactobacilles moins fréquents sont *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. casei*, etc **(Surbone *et al*., 2022).**

La composition du microbiote vaginal peut être classée en cinq grands types d'états communautaires (CST) sur la base du séquençage du gène 16_S. Il s'agit des CST I (*L. crispatus*), CST II (*L. gasseri*), CST III (*L. iners*), CST IV (un groupe diversifié et dysbiotique) et CST V (*L. jensenii*) **(Haahr *et al*., 2025).** Les classes 1 et 2 sont les plus

fréquentes chez les femmes saines **(Surbone *et al*., 2022)** leur concentration peut atteindre 10^7 UFC par ml de sécrétion vaginale. D'autres espèces sont présentes à des taux très variables parmi lesquelles dominent des espèces anaérobies: *Peptostreptococci, Prevotella bivia, Prevotella spp, Bacteroides spp, Eubacterium spp*. La présence de *Mycoplasma hominis* ou de *Ureaplasma urealyticum* est inconstante et pose la question de la pathogénicité potentielle de ces 2 espèces particulières. On peut isoler aussi au sein du microbiome vaginal normal *Staphylococus aureus*, *Eschrichia coli* et d'autres entérobactéries mais en proportions infimes et occasionnelles (**Bergogne-Bérézin, 2007).**

Des levures font également partie intégrante de l'écosystème vaginal. Des espèces du genre *Candida* sont ainsi retrouvées chez plus de 60% des femmes asymptomatiques présentant un microbiote vaginal équilibré et dans la majorité des cas, n'induisent aucune manifestation clinique **(Surbone *et al*., 2022).**

Tableau 07 : les lactobacilles les plus fréquemment isolés à partir du vagin humain **(Verhelst *et al*., 2005)**

Espèce	%
L. crispatus	48,3
L. jensenii	25,3
L. gasseri	23,5
L. iners	20,5
L. vaginalis	11,6
L. reuteri	1,4
L. fermentum	1,1
L. rhamnosus	0,9

II.4 Dynamique du microbiote vaginal au cours de la vie

Des changements dans la composition du microbiote du vagin humain peuvent se produire à différentes étapes de la vie **(figure 12)**, notamment pendant l'enfance, la puberté, la grossesse et la ménopause **(Chee *et al*., 2020)** .

II.4.1 Dès la naissance à l'enfance

À la naissance, il y a un lien direct entre la composition du microbiote digestif et la voie de naissance, les enfants nés par voie basse ont un microbiote comparable à celui des microbiotes vaginal et digestif maternels, alors que ceux nés par césarienne ont un microbiote colonisé par des bactéries opportunistes. La période néonatale est marquée par un début de colonisation de l'épithélium vaginal par des bactéries lactiques, du fait de l'imprégnation hormonale résiduelle venant de la mère. au cours de l'enfance, le microbiote vaginal est constitué de bactéries des microbiotes cutanés et digestifs : *Staphylococcus, Bacteroides, Streptococcus, Actinomyces, Bifidobacterium*, etc **(Surbone *et al.,* 2022) .**

II.4.2 A la puberté

Après la ménarche, le microbiote vaginal des adultes en bonne santé se caractérise par une forte concentration de bactéries lactiques homo-fermentaires, qui produisent du lactate et d'autres acides organiques, ce qui rend l'environnement vaginal plus acide. Les groupes de microbiotes vaginaux chez les adolescentes, avant et après la ménarche, se caractérisent par des proportions élevées de différentes espèces de *Lactobacillus*. Un autre groupe comprend des proportions de *S. agalactiae, S. anginosus, Prevotella et Anaerococcus*. Certaines adolescentes hébergent rarement des populations *d'Atopobium vaginae*, de *Gardenrella vaginalis* et de mycoplasmes génitaux **(Vinitha *et al*., 2025) .**

Les variations du taux d'œstrogènes au cours du cycle sont responsables, via la modulation du taux de glycogène, d'une diminution du pH au cours de la phase folliculaire, puis d'une ré-augmentation au cours de la phase lutéale. Au cours des menstruations, le pH peut remonter au-delà de 6, et par conséquent certaines bactéries aérobies peuvent proliférer dans la cavité vaginale dans ces circonstances **(Surbone *et al.*, 2022).**

II.4.3 A la grossesse

La grossesse remodèle le microbiome vaginal avec des changements caractéristiques. Il acquiert plus de stabilité et moins de diversité au début de la grossesse avec la prédominance d'une ou plusieurs espèces des lactobacilles **(Saraf *et al.*, 2021).**

II.4.4 A La ménopause

La ménopause s'accompagne de changements hormonaux importants. Parmi ceux-ci, il convient de noter une forte baisse du taux d'œstrogènes. La réduction du taux d'œstrogènes entraîne une atrophie vulvo-vaginale et une altération du microbiome vaginal, il est principalement colonisé par *Streptococcus spp* et *Prevotella spp*, tandis que , celui des femmes préménopausées était dominé par *Lactobacillus spp (L. crispatus, L. jensenii, L. iners et L. gasseri*). Chez les femmes en périménopause, ce sont les espèces *Atopobium* qui prédominaient **(Saraf *et al.*, 2021).**

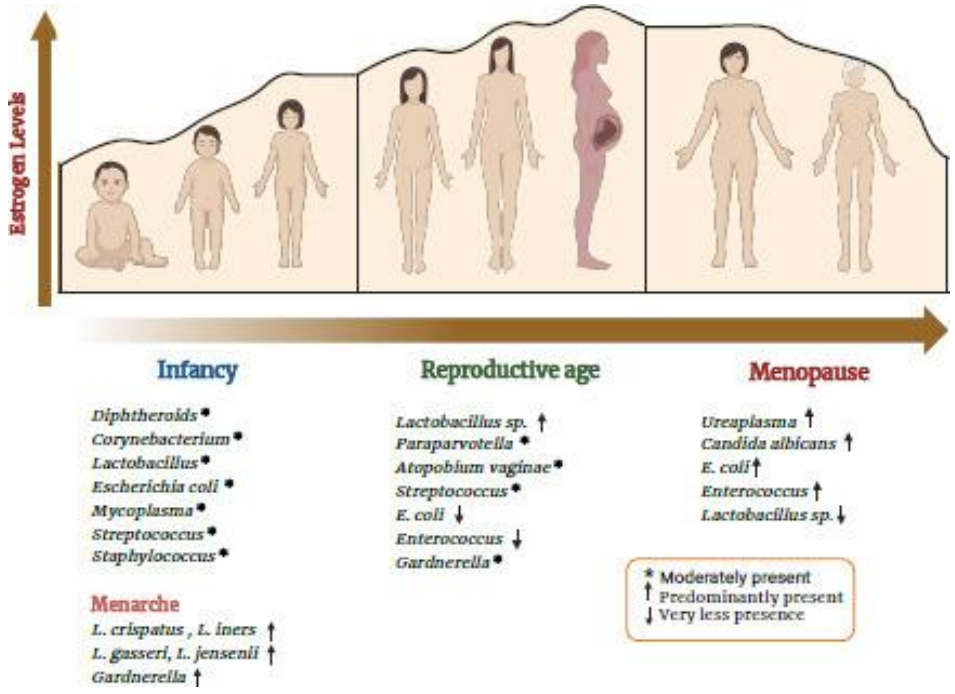


Figure 12 : Abondance relative du microbiote vaginal en fonction de l'âge **(Vinitha *et al.*, 2025) .**

II.5 Fonctions physiologiques des lactobacilles

II.5.1 Rôle protecteur

Le microbiote vaginal exerce une fonction de protection contre certains pathogènes. Les estrogènes et la progestérone induisent la libération du glycogène par l'épithélium vaginal qui est alors métabolise par les lactobacilles en acide lactique, participant ainsi au maintien du pH vaginal autour de 4, les lactobacilles produisent également du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) permettant de détruire certains micro-organismes anaérobies **(Mauries *et al.*, 2021).** Les risques d'infection sont fortement réduits grâce a l'effet barrière des bactériocines et d'autres substances antimicrobiennes produites par ces lactobacilles **(Tailliez, 2004).**

II.5.2 Les mécanismes de défense

Les lactobacilles vaginaux exercent plusieurs mécanismes d'inhibition de la croissance des pathogènes et de leur adhésion **(tableau 8).** L'acide lactique libère des ions hydrogène qui ont la capacité de modifier les protéines de surface des micro-organismes, ils pénètrent les membranes lipidiques, acidifient le cytosol ou perturbent le métabolisme microbien. La régulation du système immunitaire de l'hôte contre les infections virales et le maintien de l'intégrité des cellules hôtes et aussi assuré par l'acide lactique en déclenchant les processus d'autophagie. L'H_2O_2 a une activité biocide liée à sa capacité à traverser les membranes des micro-organismes et à réagir dans le cytosol en tant qu'oxydant, *in vivo* il peut réagir avec les ions ferreux, générant un radical hydroxyle qui peut rapidement oxyder les molécules cellulaires telles que les acides nucléiques, les protéines et les lipides, entraînant ainsi des effets mutagènes et cytotoxiques **(Avitabile *et al.,* 2024)**. Les lactobacilles exercent un mécanisme de défense par adhérence compétitive à l'épithélium vaginal stratifié et non kératinisant, ce qui entraîne l'exclusion et le rejet de micro-organismes pathogènes tels que *C. albicans*, *G. vaginalis*, *E. coli*, *S. agalactiae* et *S.aureus* **(Kovachev, 2017)**. L'association entre les lactobacilles et l'Épithélium vaginal entraîne la formation d'un biofilm qui le protège contre la colonisation par ces micro-organismes. Cet effet est renforcé par la capacité des lactobacilles vaginaux à Co-agréger avec les agents pathogènes potentiels. La plupart des isolats vaginaux s'auto-agrègent, une propriété qui disparaît après traitement des cellules par la protéinase K, ce qui laisse supposer que cet effet dépendrait de la production d'une protéine exo cellulaire. La capacité d'agrégation se manifeste également à l'égard d'autres micro-organismes tels qu'*E. coli*, *G.vaginalis* et *C. albicans*, ce qui induit un effet antimicrobien notable, probablement du fait que le contact étroit qui s'établit augmente l'efficacité de

l'acide lactique, le peroxyde d'hydrogène et d'autres produits microbicides générés par les lactobacilles **(Martín, 2008)**.

Tableau 08 : mécanismes d'inhibition de la croissance et de l'adhésion des pathogènes par les lactobacilles.

Mécanisme	Rôle principal	Effet sur le pathogène	Espèces clés	Références
Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)	Désinfection et stress oxydatif	Destruction enzymatique et membranaire	*L.crispatus*, *L. jensenii*, *L. gasseri*	**(Lamont et Sobel, 2011).**
Acide lactique	Maintien du pH acide vaginal	Inhibition directe des pathogènes	*Lactobacillus spp.*	**(Tachedjian *et al.*, 2017)**
Bactériocines	Substances antimicrobiennes protéiques	Inhibition sélective de bactéries urogénitales	*L. brevis* DT24 *L.acidophilus* KS40 *L. reuteri*	**(Trivedi *et al.*, 2013)** **(Gaspar *et al.*, 2018)** **Cicenia *et al.*, 2014)**
Compétition nutritionnelle	Consommation de substrats communs (arginine)	Limitation de la croissance des pathogènes	*Lactobacillus spp.*	**(Grattepanche, 2022)**
Adhésion cellulaire	Fixation aux cellules épithéliales et à la fibronectine	Empêche la colonisation pathogène	*Lactobacillus spp.*	**(Bohbot, 2007)**
Biosurfactants	Réduction de la tension de surface et régulation du biofilm	Perturbation des membranes pathogènes	*L. fermentum*, *L. acidophilus*	**(Aude, 2016)**

II.5.3 Rôle sur la santé néonatale

Le microbiote vaginal maternel joue un rôle important dans la colonisation du microbiote intestinal de l'enfant. en effet, des études ont montré que le microbiote vaginal et fécal maternel contribue significativement au microbiote fécal de l'enfant **(Liu *et al.*, 2025).**

II.5.4 Rôle dans la fertilité de la femme

La composition du microbiote vaginal joue un rôle dans la fertilité féminine,en particulier, une prédominance des espèces des lactobacilles serait associée à une probabilité accrue de conception, suggérant ainsi l'implication du microbiote dans les mécanismes de fertilité et d'infertilité **(Chopra *et al.* 2024).** Le peroxyde d'hydrogène produit par les lactobacilles dans le vagin crée un environnement utérin favorable à l'implantation et à la placentation **(Han *et al.,* 2021).**

II.6 Facteurs modulant l'équilibre du microbiote vaginal

Le microbiote vaginal est influencé par plusieurs facteurs notamment la consommation de tabac et d'alcool, stress psychosocial, comportement sexuel, l'hygiène personnelle **(Morsli *et al.*, 2024).** Un taux plus élevé de déséquilibre de microbiote vaginale a été observé chez les femmes utilisant les savons intimes par rapport à celle utilisant uniquement l'eau **(Haahr *et al*., 2025)** les douches vaginales internes peuvent entraîner une modification de l'écosystème vaginal **(Youssef *et al*., 2023)** .Les changement hormonaux , en particulier de l'œstradiol, peut en effet stimuler la transition du CST I (dominé par *L. Crispatus*) vers le CST III (dominé *L.iners*) ou vers une communauté mixte de lactobacilles, mais rarement vers une communauté vaginale malade, la flore vaginale et aussi influence par l'utilisation incontrôlée d'antibiotiques **(Chee *et al*., 2020).** La capacité individuelle à produire des niveaux faibles ou élevés de facteurs antimicrobiens ou pro-microbiens influence la composition du microbiote vaginal **(Mendling, 2016).**

II.7 Outils d'évaluation du microbiote vaginal

II.7.1 Le score de Nugent

C'est une méthode standardisée d'interprétation de la coloration de Gram conçue pour évaluer la microflore vaginale afin de détecter la VB, fourni un système de notation permettant d'évaluer l'altération de la microflore vaginale, de l'état normal à l'état anormal de

VB **(tableau 09)**. Les frottis vaginaux sont notés sur une échelle de 10 points en fonction de la présence ou de l'absence de morphotypes de lactobacilles **(Delaneyet et Onderdonk, 2001),** de type lactobacilles (grands bacilles Gram-positifs uniformes), de type *G. vaginalis* (petits bacilles pléomorphes Gram-variables) ou de type *Prevotella*/Bacteroides (petits bacilles Gram négatifs) et de type *Mobiluncus* (bacilles courbés Gram variables) **(Muthusamy et Elangovan, 2016).** Le score de Nugent en trois groupes en fonction de l'état du microbiote vaginal : normal (score de Nugent de 0 à 3), intermédiaire (score de Nugent de 4 à 6) et VB (score de Nugent de 7 à 10) **(Biswas *et al*., 2023).**

Tableau 09: grille de lecture du score de Nugent pour le diagnostic de la vaginose bactérienne **(Grattepanche, 2022).**

Types de population	Nombre de bactéries visibles (objectif 100)	Score
Lactobacillus	**30 >**	**0**
	30 – 6	**1**
	5 – 1	**2**
	< 1	**3**
	0	**4**
Gardnerella et Bacterioides	**> 30**	**4**
	30 – 6	**3**
	5 – 1	**2**
	< 1	**1**
	0	**0**
Mobiluncus	**30 – 6**	**2**
	5 – 1	**1**
	0	**0**

II.7.2 La culture microbiologique

Les échantillons sont prélevés dans la zone postérieure du fornix vaginal avec des écouvillons stérile puis ensemencé sur gélose MRS (Man Rogosa Sharpe) et incubées à 37 °C en anaérobiose pendant 48 heures **(Martínez-Peña *et al*., 2013).** Cette méthode de culture permet l'identification et la quantification de diverses espèces bactériennes et fongiques, fournissant ainsi des informations détaillées sur la composition du microbiote vaginal **(Liu *et al*., 2025).**

II.8 La dysbiose vaginale

La dysbiose du microbiote vaginal peut être physiologique ou pathologique selon l'interaction entre les facteurs métaboliques et microbiens **(Saraf *et al*., 2021).**

II.8.1 Conséquences cliniques de la dysbiose vaginale

II.8.1.1 Infertilité

La composition du microbiote vaginal influence la fertilité chez les femmes. la prévalence de quatre taxons spécifiques, à savoir *Gardnerella, Prevotella, Enterobacteria* et *Atopobium*, a montré une augmentation statistiquement significative chez les femmes souffrant d'infertilité **(Chopra *et al*., 2024).**

Des études récentes ont montré qu'un microbiome anormale a un effet défavorable sur le succès de la grossesse **(Van Den Tweel *et al*., 2024).** Une diminution de l'abondance des lactobacilles a été observé chez 20% des femmes subissant une fécondation *in vitro* et qui présentent un microbiote vaginal dysbiotique **(Haahr *et al.*, 2025).**

II.8.1.2 Infections urinaires

La dysbiose vaginale peut entraîner la perte de l'effet protecteur des bactéries lactiques dans le vagin et augmenter le risque de remontée d'uro-pathogènes depuis le vagin, pouvant éventuellement conduire à des infections urinaires **(Chee *et al.*, 2020)** .

II.8.1.3 Vaginose bactérienne

La vaginose bactérienne est causée par une dysbiose du microbite vaginal, lorsque les espèces bénéfiques de *Lactobacillus* ne sont plus dominantes et sont remplacées par des bactéries anaérobies nocives (**Vardeman *et al*., 2026).**

Bien qu'il n'existe pas de micro-organisme unique dont la présence confirme potentiellement le diagnostic, le *G. vaginalis*, et *A. vaginae* sont des indicateurs forts de VB **(Vazquez *et al.*, 2018).**

Sur le plan clinique, Les manifestations de la vaginose bactérienne comprennent les des pertes vaginales malodorantes, une sensation de brûlure lors de la miction et des démangeaisons autour et à l'extérieur du vagin, Elle peut être symptomatique ou asymptomatique selon le degré de dysbiose, la virulence de l'agent pathogène colonisant et sa charge **(Saraf *et al*., 2021).**

Les femmes atteintes de VB courent un risque plus élevé de transmission d'infections sexuellement transmissibles, ainsi que d'autres conséquences néfastes, telles que les maladies inflammatoires pelviennes, l'infertilité, les naissances prématurées et les mortinaissances, et le cancer du col de l'utérus **(Vardeman *et al*., 2026).**

II.8.1.4 La vaginite bactérienne

Les vulvo-vaginites se définissent par des symptômes cliniques divers dominés par les phénomènes inflammatoires. Elles se différencient ainsi des vaginoses bactériennes dans lesquelles, par définition, l'inflammation est inexistante ou mineure, les symptômes cliniques les plus souvent rapportés par les patientes sont le prurit et/ou les brûlures vaginales et/ou vulvaires et l'apparition de leucorrhées inhabituelles. L'aspect de ces leucorrhées est variable selon les étiologies, classiquement épaisses et crémeuses au cours des mycoses, fluides et jaune verdâtre au cours des vaginites bactériennes, enfin mousseuses et aéré es au cours des trichomonas. D'autres signes cliniques sont parfois rapporté s tels que brûlures mictionnelles et dysurie. La dyspareunie est pratiquement constante en raison de l'inflammation locale. La vaginite bactérienne est caractérisée par la prédominance d'un ou de plusieurs germes, des streptocoques, des entérobactéries et des staphylocoques ont été identifiés **(Bohbot *et al*., 2011) .**

Elle peut aussi être liée à la prolifération anormale d'une bactérie habituellement présente dans la flore normale mais en très faible nombre, cette pullulation liée à des modifications locales de l'équilibre bactérien, s'accompagne de phénomènes inflammatoires qui signent l'infection tel est le cas de l'infection à *G. vaginalis* (**Bergogne-Bérézin, 2007).**

II.8.1.5 La candidose vulvo-vaginale

C'est l'infection fongique vaginale la plus courante, elle se manifeste généralement par une inflammation des muqueuses, notamment des pertes vaginales blanchâtres, ainsi que des brûlures, des démangeaisons et des rougeurs vulvo-vaginales. Des études ont montré que la candidose vaginale survient principalement en cas de dysbiose vaginale et de déficience immunitaire, et qu'elle est causée par une prolifération de *C. albicans* (**Han *et al*., 2021).**

II.8.1.6 Les maladies sexuellement transmissibles

Les maladies sexuellement transmissibles sont des infections qui peuvent facilement se passer d'une personne à l'autre par les relations sexuelles, peuvent causer des maladies chroniques, des complications pendant la grossesse, l'infertilité et même la mort. La majorité des MST sont asymptomatiques, les femmes dont la flore bactérienne est pauvre en lactobacilles sont plus sensibles aux agents pathogènes sexuellement transmissibles. Infections virales sexuellement transmissibles telles que le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), le papillomavirus humain (HPV), le virus de l'herpès simplex (HSV) et le cytomégalovirus (CMV) infection **(Nardis *et al*., 2023).**

Partie expérimentale

Chapitre III

Matériel et méthodes

III.1 Objectif de travail

Notre étude, réalisée au sein du Laboratoire de Recherche de Microbiologie et Biologie Végétale de la Faculté des Sciences Exactes et de l'Informatique (Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem), porte sur l'évaluation *in vitro* du potentiel antimicrobien des huiles essentielles de trois plantes médicinales locales majeures : *L. nobilis, T. vulgaris et S. officinalis.* L'originalité de ce travail repose sur une démarche expérimentale en deux étapes : d'une part, l'extraction des essences végétales par des méthodes rigoureuses, et d'autre part, le test de leur efficacité sur des isolats cliniques issus de prélèvements vaginaux obtenus à la maternité de la Polyclinique du Plateau (Benfoughlou AEK de Mostaganem.) Menée entre Février et Mai 2026, cette recherche vise à valider scientifiquement l'usage traditionnel de ces plantes contre les infections génitales, tout en analysant leur sélectivité vis-à-vis du microbiote vaginal afin de proposer des alternatives thérapeutiques naturelles et respectueuses de l'équilibre de la flore protectrice.

III.2 Matériel végétal

III.2.1 Critère de choix

La sélection des plantes étudiées *(L. nobilis, T vulgaris et S. officinalis*) a été déterminée selon une méthode pluridisciplinaire. Premièrement, une revue bibliographique détaillée a été effectuée pour inventorier les composés phytochimiques et les effets antimicrobiens déjà rapportés dans les publications scientifiques. La concordance entre les connaissances scientifiques et les savoir-faire ancestraux a formé le principal critère de choix pour la réalisation de ces travaux expérimentaux.

III.2.2 Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles de *T. vulgaris* et de *S. officinalis* à partir de matériel végétal séché a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Cette technique a été choisie en raison de la souplesse des tissus végétaux de ces espèces, qui favorise la libération des composés volatils lors de leur immersion dans l'eau bouillante. De plus, elle permet d'obtenir un bon rendement tout en préservant la stabilité thermique des principaux constituants de l'huile essentielle.

En revanche, l'huile essentielle de *L. nobilis* a été obtenue par entraînement à la vapeur d'eau. Ce procédé est particulièrement adapté à la structure foliaire plus coriace de

cette espèce, la vapeur d'eau assurant une meilleure pénétration des tissus végétaux. Il limite également les phénomènes d'hydrolyse et de dégradation thermique susceptibles d'altérer les composés aromatiques, contribuant ainsi à la préservation des propriétés organoleptiques et de la composition chimique de l'huile essentielle obtenue.

III.2.3 La récolte

Le matériel végétal utilisé dans cette étude comprenait trois espèces médicinales obtenues durant le mois de février 2026 dans la wilaya de Mostaganem. Le thym, *T.vulgaris*, et la sauge, *S. officinalis*, ont été obtenus sous forme séchée. Le premier a été acquis auprès d'un herboriste à Sidi Ali, tandis que la seconde a été achetée au marché couvert de Mostaganem.

Concernant le laurier, *L. nobilis* **(figure 13)**, les feuilles fraîches provenaient d'un jardin privé situé à Mazagran. Elles ont ensuite été soumises à un séchage traditionnel à l'air libre et à l'ombre pendant une durée de dix jours **(Müller et Heindl, 2006).**

L'ensemble des échantillons a par la suite été conservé dans des sacs en papier, à l'abri de l'humidité et de la lumière, jusqu'à l'étape d'extraction des huiles essentielles.

Figure 13 : Arbre de *L. nobilis* source de l'échantillon étudié.

III.2.4 L'extraction de l'HE de *T. vulgaris* par hydrodistillation

L'extraction de l'HE de *T. vulgaris* a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger **(figure 14)**. Afin d'assurer la reproductibilité des résultats, la manipulation a été effectuée en double essais distincts à partir de matière végétale séchée .

Pour la première charge, une masse de 126,28 g de plante a été introduite dans un ballon d'une capacité de 1L, additionnée de 650 ml d'eau distillée. Pour la seconde charge, une masse de 69,77 g a été immergée dans 700 ml d'eau distillée au sein du même dispositif. Dans les deux cas, le mélange a été porté à ébullition à l'aide d'un chauffe-ballon pendant une durée de trois heures, décomptée à partir de l'apparition de la première goutte de distillat. Les vapeurs chargées en composés volatils ont été condensées à l'aide d'un réfrigérant à eau, permettant la séparation de l'essence par décantation directe dans la colonne graduée du dispositive .

L'HE, constituant la phase organique flottant au-dessus de la phase aqueuse, a ensuite été récupérée et séparée par décantation à la colonne graduée du dispositive . Les extraits obtenus ont été conservés dans des flacons opaques à une température de 4 °C afin de prévenir toute altération chimique avant la réalisation des tests antimicrobiens **(Bajpai *et al.*, 2008).**

Figure 14: Extraction de l' HE *T.vulgaris* par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger.

III.2.5 L'extraction de l'HE *S. officinalis* par hydrodistillation

La partie aérienne séchée de *S. officinalis* a été grossièrement broyée manuellement, puis introduite dans un ballon d'une capacité de 1 L. De l'eau distillée a ensuite été ajoutée de manière à recouvrir entièrement la matière végétale, soit 600 ml pour le premier lot de 152 g et 550 ml pour le second lot de 169,10 g. Le ballon a été relié à un appareil d'extraction de type Clevenger puis porté à ébullition pendant une durée de trois heures. Les vapeurs générées se sont élevées le long de la colonne en entraînant les huiles essentielles . Après condensation dans un réfrigérant, les composés volatils ont été récupérés par décantation. L'huile essentielle obtenue a ensuite été séchée puis conservée dans un flacon opaque à une température de 4 °C au réfrigérateur jusqu'à son utilisation **(Mekhaldi *et al*., 2015)**.

III.2.6 Extraction de l'HE de *L. nobilis* par entraînement à la vapeur

L'échantillon de *L. nobilis*, séché à l'air libre pendant une 10 jours et pesant 221,96 g, a été découpé puis introduit dans une unité d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau **(figure 15)**. Un volume de 2,5 L d'eau distillée a ensuite été versé dans une cuve de 5 L servant de générateur de vapeur. La matière végétale a été disposée sur une grille interne afin d'éviter tout contact direct avec l'eau bouillante, puis soumise à un entraînement à la vapeur pendant une durée de trois heures. Au cours de l'extraction, le débit de vapeur a été contrôlé par la mesure du volume des eaux de distillation (hydrolat) récupérées dans le décanteur par unité de temps, jusqu'à l'obtention d'un volume final d'environ 650 mL. L'huile essentielle a ensuite été séparée de l'hydrolat par décantation, puis conservée dans un flacon ambré au réfrigérateur à une température de 4 °C **(Charchari *et al*., 2013)**.

Figure 15: Extraction de l'HE *L. nobili*s par entraînement à la vapeur.

III.2.7 Conservation des huiles essentielles

Afin de préserver l'intégrité chimique, la pureté ainsi que les propriétés biologiques des extraits obtenus, une étape de conservation rigoureuse a été appliquée. Après l'extraction, les huiles essentielles de *T. vulgaris*, *S. officinalis* et *L. nobilis* ont été conditionnées dans des tubes hermétiquement fermés. Ces contenants ont été systématiquement enveloppés dans du papier aluminium afin d'assurer une protection optimale contre la photo-oxydation et les rayonnements lumineux. Les échantillons ont ensuite été conservés au réfrigérateur à une température stable de 4 °C, à l'abri de toute source d'humidité et de chaleur. Ce protocole de stockage a permis de limiter les risques d'oxydation et de dégradation thermique, garantissant ainsi la stabilité des molécules actives jusqu'à la réalisation des tests d'activité antimicrobienne.

III.2.8 Le calcul du rendement R%

Le rendement en huile essentielle (RHE) a été évalué en fonction de la masse de la matière végétale sèche utilisée **(figure 16)**. Conformément aux normes de **AFNOR (2000)**, ce rendement est exprimé en pourcentage (%) et correspond au rapport entre la masse de l'huile essentielle extraite (MHE) et la masse de la matière végétale de départ (MV), selon l'équation suivante :

$$\text{RHE (\%)} = \left(\frac{MHE}{MV}\right) \times 100.$$

Où :

- ✓ RHE : rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage (%).
- ✓ MHE : masse de l'huile essentielle récupérée (en grammes).
- ✓ MV : masse de la matière végétale sèche traitée (en grammes).

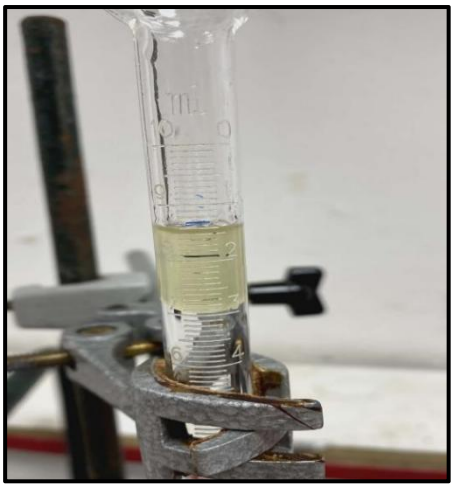


Figure 16 : Récupération de l'HE purifiée et détermination de son volume.

III.2.9 Caractérisation de l'huile essentielle

III.2.9.1 Caractérisation organoleptique

L'évaluation des propriétés organoleptiques constitue une étape essentielle dans l'appréciation de la qualité des huiles essentielles . Dans cette étude, la caractérisation qualitative des extraits de *T. vulgaris*, *S. officinalis* et *L. nobilis* s'est appuyée sur l'analyse de trois paramètres principaux : l'odeur, la couleur et l'apparence. Cette évaluation sensorielle préliminaire a permis de vérifier la conformité des essences obtenues aux caractéristiques botaniques de référence et de détecter d'éventuelles modifications liées aux procédés d'extraction ou aux conditions de conservation **(Salemkour *et al*., 2026)**.

III.2.9.2 Caractérisation physico-chimique

La détermination des propriétés physico-chimiques, notamment la densité, l'indice d'acidité, le potentiel hydrogène (pH) ainsi que l'activité antioxydante, constitue une étape fondamentale dans le contrôle de la qualité et l'authentification des huiles essentielles. Ces constantes physiques, régies par les normes de la Pharmacopée, sont systématiquement mesurées afin d'évaluer la pureté et la qualité des extraits de *T. vulgaris, S. officinalis et L. nobilis* **(Djousse *et al.*, 2022).**

III.2.9.3 Densité relative

La mesure de la densité relative constitue un critère analytique essentiel pour évaluer la pureté et la composition chimique globale d'une huile essentielle. Selon les méthodes

normalisées établies par l'**AFNOR (1999)** et par la **EDQM (2022)**, cette propriété physique correspond au rapport entre la masse d'un volume donné d'huile essentielle et la masse du même volume d'eau distillée, les deux mesures étant effectuées à une température constante de 20 °C. En pratique, le protocole expérimental repose sur l'utilisation d'un tube de 10 ml, dans lequel des pesées successives permettent de déterminer la densité selon l'équation suivante :

$$D_{20} = \frac{m2\text{-}m0}{m1\text{-}m0}$$

Où :

- ✓ m0 : masse en gramme de la fiole vide.
- ✓ m1 : masse en gramme de la fiole remplie d'eau..
- ✓ m2 : masse en gramme de la fiole remplie de l'HE

III.2.9.4 Indice d'acidité

L'indice d'acidité des huiles essentielles a été évalué à l'aide de l'équation ci-dessous. Cette mesure renseigne sur la teneur et le comportement des acides libres présents dans les huiles essentielles de *T. vulgaris*, *S. officinalis* et *L. nobilis*. En suivant le protocole expérimental décrit par **Naouel (2015)**, la méthode consiste à introduire 0,3 g d'huile essentielle dans un erlenmeyer, puis à ajouter 15 ml d'éthanol à 96 % ainsi qu'environ 5 gouttes de phénolphtaléine comme indicateur coloré. Le mélange est ensuite titré à l'aide d'une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium (KOH) 0,1 N jusqu'à l'apparition d'une coloration rose persistante, indiquant le point d'équivalence.

$$I_a = \frac{V \times c \times 56.1}{M}$$

Où :

- ✓ I_a : indice d'acide .
- ✓ V : volume de KOH utilisé en ml .
- ✓ C : concentration exacte, en moles par litre de la solution de KOH .
- ✓ M : Masse de la prise d'essai.

III.2.9.5 Potentiel d'hydrogène (pH)

Le potentiel hydrogène (pH) est un paramètre physico-chimique fondamental permettant de déterminer si une huile essentielle (HE) présente un caractère acide, basique ou neutre. Bien que les huiles essentielles soient des composés hydrophobes, la mesure de leur acidité résiduelle peut être réalisée afin d'évaluer leur stabilité ainsi que leur conformité aux normes de qualité établies par l'**AFNOR (1999)**.

Dans cette étude, la détermination du pH a été réalisée de manière semi-quantitative à l'aide de papier indicateur de pH. La procédure consistait à déposer une goutte d'huile essentielle pure sur une bandelette réactive. Après quelques secondes de contact, la coloration obtenue sur la zone réactive a été comparée à l'échelle colorimétrique de référence fournie par le fabricant. Cette méthode simple et rapide permet d'obtenir une estimation indirecte de la concentration en ions H^+ présents dans l'échantillon, conformément aux recommandations méthodologiques de l'Organisation mondiale de la Santé **(OMS, 2016)**.

III.3 Prélèvement vaginaux et isolement des lactobacilles

III.3.1 Echantillonnage

Une souche de *L. rhamnosus* a été isolée à partir du médicament probiotique vaginal **Intimini (annexe n°1)**. Par ailleurs, un échantillon vaginal a été prélevé chez une femme présentant une infection vaginale, tandis que dix échantillons vaginaux ont été recueillis auprès de femmes saines.

Les participantes retenues répondaient aux critères suivants : âge reproductif compris entre 18 et 45 ans, absence de ménopause, absence de symptômes d'infections vaginales, absence de traitement antibiotique durant les quinze jours précédant le prélèvement et absence d'utilisation de contraceptifs. Toutes les volontaires ont respecté les conditions suivantes avant le prélèvement :

- Absence de toute toilette intime, de tout traitement local (crème, ovules, savons ou gels) ainsi que de tout rapport sexuel dans les 24 heures précédant l'examen ;
- Réalisation du prélèvement généralement avant la première miction matinale ;
- Prélèvement effectué avant tout traitement antibiotique ou à distance de celui-ci ;

- Absence de prélèvement durant la période menstruelle, la flore vaginale étant alors modifiée et souvent polymorphe **(Bergal, 2016)**.

Les prélèvements ont été réalisés après obtention d'un consentement écrit et signé par les volontaires **(annexe n°2)**. Par ailleurs, une enquête relative à l'état de santé vaginale des participantes a également été menée **(annexe n°3)**.

III.3.2 Prélèvement

Le prélèvement des échantillons vaginaux a été réalisé de manière aseptique par une sage-femme à l'aide d'écouvillons stériles. Les échantillons ont ensuite été transportés directement au laboratoire de Recherche de Microbiologie et Biologie Végétale de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, site INES.

III.3.3 Isolement

Dès leur arrivée au laboratoire, les écouvillons ont été ensemencés sur gélose MRS puis incubés en conditions d'anaérobiose à 37 °C pendant 24 heures. Les colonies obtenues ont ensuite été purifiées sur gélose MRS selon la méthode décrite par **Abdel-Daim *et al.* (2013)**.

III.3.4 Purification

Sur la base de leurs caractéristiques morphologiques, des colonies individuelles distinctes ont été sélectionnées puis repiquées sur de nouvelles boîtes de gélose MRS. Cette opération a été répétée jusqu'à l'obtention de cultures pures. Une culture était considérée comme pure lorsque des colonies présentant un aspect homogène et uniforme **(Zhang *et al*., 2025).**

III.3.5 Étude phénotypique

III.3.5.1 Étude morphologique

III.3.5.1.1 Macroscopique

Cet examen permet de mettre en évidence la morphologie des colonies obtenues sur milieu solide, en déterminant plusieurs caractères macroscopiques tels que la forme, la taille, l'odeur l'opacité, l'aspect, la couleur ainsi que le contour des colonies **(Badis *et al*., 2005)**.

III.3.5.1.2 Microscopique

Cette étude a été réalisée selon deux techniques complémentaires : l'observation à l'état frais et l'observation après coloration de Gram.

- **Observation à l'état frais**

Cette technique permet d'observer les bactéries vivantes et de déterminer leur morphologie. Elle permet également, dans certains cas, de mettre en évidence la mobilité cellulaire. La méthode consiste à déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame propre puis, à l'aide d'une anse de platine stérile, à prélever un échantillon bactérien à partir d'une colonie à identifier et à le dissocier dans la goutte d'eau physiologique. La préparation est ensuite recouverte d'une lamelle en veillant à éviter la formation de bulles d'air. L'observation est réalisée au microscope optique à l'objectif ×40 **(Singleton et Straits, 2005)**.

- **Coloration de Gram**

Cette technique est l'une des plus utilisées en microbiologie. Elle permet de distinguer les bactéries en deux grands groupes : les bactéries Gram positives et les bactéries Gram négatives **(Tortora *et al*., 2003)**. La première étape de la coloration de Gram consiste à appliquer le cristal violet comme colorant primaire sur la lame. L'étape suivante, appelée « fixation du colorant », repose sur l'utilisation de l'iode afin de former un complexe cristal violet–iode, ce qui empêche l'élimination facile du colorant. Ensuite, un agent décolorant, généralement l'éthanol, est utilisé pour éliminer le colorant non fixé. Le principe fondamental de la coloration de Gram repose sur la capacité de la paroi cellulaire bactérienne à retenir le complexe coloré lors du traitement au solvant. Les bactéries à coloration de Gram positives possèdent une forte teneur en peptidoglycane, tandis que les bactéries à coloration de Gram négatives présentent une teneur plus élevée en lipides **(Tripathi *et al*., 2025)**. Ainsi, les bactéries Gram positives apparaissent violettes en raison de la rétention du cristal violet, alors que les bactéries Gram négatives se colorent en rose après contre-coloration à la fuchsine **(Tortora *et al*., 2003).**

III.3.5.2 Étude biochimique et physiologique

III.3.5.2.1 Recherche de la catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante : $H_2O_2 \rightarrow 1/2\ O_2 + H_2O$.

Sur une lame propre, une colonie isolée est déposée puis une goutte de peroxyde d'hydrogène (H2O2 à 10 volumes) est ajoutée. L'observation est immédiate après l'ajout du réactif : l'apparition d'un dégagement gazeux indique la présence de l'enzyme catalase, tandis que l'absence de bulles traduit son absence **(Mahmoudi et Mameche, 2019)**.

- **Conservation des isolats**

Les isolats ayant présenté une coloration de Gram positive et une absence d'activité catalase ont été cultivés sur gélose MRS inclinée. Après incubation à la température optimale de croissance, les cultures ont été conservées à 4 °C et régulièrement entretenues par repiquage périodique. Une conservation à long terme a également été réalisée dans un milieu MRSB supplémenté en glycérol à 30 % **(Badis *et al*., 2005)**.

III.3.5.2.2 Recherche de nitrate réductase

Ce test permet de déterminer si les isolats possèdent la capacité de produire l'enzyme nitrate réductase, responsable de la réduction du nitrate en nitrite. La technique consiste à ensemencer une culture jeune de 18 h, incubée à 37 °C, dans un bouillon au nitrate. L'apparition d'une coloration rose fugace après l'ajout de trois gouttes de solution d'acide sulfanilique (réactif de Griess A) et de trois gouttes de solution de naphtylamine (réactif de Griess B), ou l'absence de changement de couleur après addition de poudre de zinc, indique dans les deux cas la présence de nitrate réductase **(François *et al*., 2011)**.

III.3.5.2.3 Type fermentaire

Ce test vise à déterminer si les isolats sont homofermentaires ou hétérofermentaires. Un volume de 50 µl d'une culture de LAB âgée de 18 h et incubée à 37 °C est inoculé dans des tubes contenant des cloches de Durham inversées et 5 ml de bouillon MRS sans citrate. L'incubation est réalisée à 37 °C pendant 5 jours en conditions d'anaérobiose.

L'apparition de gaz dans la cloche de Durham indique une fermentation du glucose avec production gazeuse **(Bulut, 2003)** .

III.3.5.2.4 Croissance à différentes concentrations de NaCl

Ce test évalue la tolérance des isolats au sel afin de déterminer leur capacité à survivre et à se multiplier dans des milieux de salinité variable. Des tubes contenant 5 ml de bouillon MRS supplémenté de 0,05 g/l d'indicateur de pH (pourpre de bromocrésol) et de deux concentrations de NaCl (4 % et 6,5 %) sont inoculés avec 50 µl d'une culture jeune de LAB . L'incubation est effectuée à 37 °C pendant 7 jours en conditions d'anaérobiose. La croissance bactérienne est mise en évidence par un changement de couleur du violet au jaune **(Bulut, 2003)**.

III.3.5.2.5 Test de fermentation des glucides

Afin de déterminer les sucres fermentés par les isolats de LAB , 50 µL d'une culture jeune sont inoculés dans des tubes contenant 5 mL de bouillon MRS sans glucose ni extrait de viande, supplémenté de 1 % de sucre (lactose, saccharose ou mannitol). Deux gouttes de rouge de phénol sont ajoutées comme indicateur de pH, pour chaque milieu de fermentation, un tube non inoculé est conservé comme contrôle négatif. Les tubes sont ensuite incubés à 37 °C pendant 24 h en conditions d'anaérobiose. Le passage de la couleur rouge au jaune indique la fermentation du sucre testé ainsi que la croissance bactérienne **(Abdulsalam *et al*., 2024)**.

III.4 L' effet des HEs sur les lactobacilles

III.4.1 Aromatogramme

Les cultures jeunes de LAB ont été ajustées à une densité optique (DO) à 600 nm comprise entre 0,08 et 0,1, correspondant à environ 10^8 UFC/mL **(Zhang *et al*., 2025)**. L'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne des HE a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose MRSA, pour cela, des disques stériles de 6 mm de diamètre ont été imprégnés de 5 µl d' HE brute, puis déposés aseptiquement à la surface des boîtes de gélose préalablement ensemencées. Les boîtes ainsi préparées ont été laissées à température ambiante pendant 15 minutes afin de permettre la diffusion de l'huile essentielle. Elles ont

ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 a 48 heures en conditions d'anaérobiose **(Kablan *et al*., 2008)**. Trois répétions on été effectué pour chaque HE .

III.4.2 Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Cette technique repose sur l'utilisation d'un solvant permettant d'assurer le contact entre les micro-organismes testés et l'agent antimicrobien durant toute la durée de l'expérience. Le DMSO a été utilisé comme solvant **(Wilkinson, 2006 ; Elshikh *et al*., 2016)**. La détermination de la CMI a été réalisée par la méthode de microdilution en milieu liquide dans des plaques de microtitrage à 96 puits. Une solution mère de l'huile essentielle de volume 950 ml solubilisée dans un volume de 50 ml de DMSO a d'abord été préparée. Ensuite, 100 µl de bouillon ont été distribués dans chaque puits, puis 100 µl de la solution mère ont été ajoutés au premier puits. Des dilutions successives de puits en puits ont ensuite été effectuées . Les suspensions bactériennes ont été standardisées à 10^8 UFC/ml, puis 100 µl de chaque suspension microbienne ont été ajoutés dans les puits correspondants . La dernière rangée de puits, ne contenant pas de micro-organismes, a servi de contrôle négatif, tandis que le milieu de culture additionné de suspension bactérienne a constitué le contrôle positif de croissance. Après incubation à 37 °C pendant 24 h, le premier puits ne présentant aucune turbidité visible a été considéré comme correspondant à la concentration minimale inhibitrice **(Schwiertz *et al*., 2006).**

III.4.3 Concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration d'huile essentielle capable d'éliminer plus de 99,9 % de l'inoculum microbien initial (soit moins de 0,1 % de survivants). Elle reflète ainsi l'effet bactéricide d'une huile essentielle 5 µl de culture bactérienne sont prélevés à partir des puits ne présentant aucune croissance visible, puis ensemencés par stries sur la gélose MRS. Les boîtes de gélose sont ensuite incubées pendant 18 heures à 37 °C. La CMB est déterminée à partir de la plus faible concentration d'huile essentielle correspondant à la première boîte ne montrant aucune croissance bactérienne **(Chebaibi *et al*., 2016)**.

Chapitre IV

Résultats et discussion

IV.1 Caractérisation des HEs étudiées

Ce chapitre présente une analyse approfondie des données expérimentales recueillies après les étapes d'extraction et de conditionnement des huiles essentielles.

IV.1.1 Extraction des HEs

L'efficacité des méthodes d'extraction a été validée par l'obtention d'huiles essentielles de bonne qualité, dont la composition chimique a été préservée grâce à un contrôle rigoureux des paramètres opératoires **(Bajpai *et al*., 2008 ; Charchari *et al*., 2013; Mekhaldi *et al*., 2015)**. Une séparation de phase nette a été observée entre les composés volatils et l'hydrolat, indiquant une extraction efficace des structures sécrétrices des plantes. La transparence des huiles essentielles de *T. vulgaris*, *S. officinalis* et *L. nobilis* confirme l'absence de produits de décomposition thermique et témoigne de la préservation des métabolites secondaires avant leur analyse.

IV.1.2 Calcule du rendement (R%)

Les rendements en HEs , exprimés par rapport à la matière végétale sèche, ont été évalués pour les trois espèces étudiées et sont présentés dans les tableaux **10, 11 et 12** correspondants ci-dessous. Un rendement moyen maximal de 2,295 % a été obtenu pour *T. vulgaris*, suivi de *S. officinalis* avec une valeur de 1,34 %. L'extraction de *L. nobilis* par entraînement à la vapeur d'eau a quant à elle donné un rendement de 1,12 %.

IV.1.2.1 Rendements en HE de *T. vulgaris*

Un rendement moyen global de 2,295 % a été obtenu pour l'espèce *T. vulgaris* à l'issue des deux opérations d'hydrodistillation. Une variabilité a été observée entre les deux essais : un rendement de 1,95 % a été enregistré pour une charge initiale de 126,28 g de matière végétale, tandis qu'une valeur de 2,86 % a été atteinte lors du second essai, réalisé avec une masse de 69,77 g. Cette différence entre les deux manipulations peut s'expliquer par l'hétérogénéité naturelle de l'échantillon végétal ou par une optimisation progressive des paramètres cinétiques de distillation au cours de la seconde extraction. Les résultats sont présentés dans le **tableau 10** suivant :

Tableau 10: rendements en HE de *T. vulgaris.*

Essai	Masse végétale (g)	Volume d'HE obtenu (ml)	Rendement (%)
Extraction 01	126,28	2,5	1,95
Extraction 02	69,77	2,0	2,86
Moyenne Totale	196,05	4,5	2,295

Le rendement en huile essentielle de l'échantillon de *T. vulgaris* analysé s'est établi à 2,295 %. Cette valeur se situe dans la fourchette rapportée par **Bencheqroun *et al.* (2012)**, qui ont observé des rendements chez le thym variant généralement entre 2 % et 2,75 %. Ce rendement peut être considéré comme relativement élevé, notamment en comparaison avec celui de nombreuses autres espèces végétales exploitées à l'échelle industrielle, dont les taux d'extraction restent souvent inférieurs à 1 % . Bien que nos résultats dépassent certaines données bibliographiques, où des rendements proches de 1,2 % sont parfois rapportés, cette différence pourrait s'expliquer par l'influence du bioclimat semi-aride caractérisant l'Ouest algérien. En effet, le stress hydrique et thermique propre à cette région est reconnu pour stimuler la biosynthèse des métabolites secondaires et favoriser l'augmentation de la densité des structures sécrétrices chez les Lamiacées, contribuant ainsi à une production plus importante d'huile essentielle. Par ailleurs, cette variation peut également s'expliquer par plusieurs facteurs expérimentaux, notamment :

- la période d'hydrodistillation ;
- la durée de séchage ;
- le ratio eau/matière végétale ;
- la température de chauffage **(Fadil *et al*., 2014)**.

IV.1.2.2 Rendements en HE de *S. officinalis*

Un rendement global moyen de 1,34 % a été obtenu pour l'espèce *S. officinalis* après deux cycles d'extraction. Une différence notable a été observée entre les deux essais : un rendement de 0,65 % a été enregistré pour une charge initiale de 152 g de matière végétale,

tandis que le second essai, réalisé avec une masse de 169,10 g, a donné un rendement de 1,95 %. Les résultats sont présentés dans le **tableau 11** suivant :

Tableau 11: rendements en HE de *S. officinalis.*

Essai	Masse végétale (g)	Volume d'HE obtenu (ml)	Rendement (%)
Extraction 01	152,00	1,0	0,65
Extraction 02	169,10	3,3	1,95
Moyenne total	321,10	4,3	1,34

Le rendement obtenu par *S.officinalis* est de 1,34 % comparable à ceux rapportés par **Bousbia *et al.* (2009)** pour des populations de sauge en Algérie, variant entre 1,15 % et 1,40 %. Le stress hydrique modéré caractéristique de la région de Mostaganem pourrait favoriser l'augmentation de la densité des trichomes glandulaires sur la surface foliaire, améliorant ainsi la capacité de stockage et la production des huiles essentielles.

IV.1.2.3 Rendements en HE de *L. nobilis*

Le rendement obtenue par *L. nobilis* est de 1,12 % après une opération d'entraînement à la vapeur réalisée sur une charge de 221,96 g de feuilles sèches. Ce résultat unique traduit une efficacité d'extraction satisfaisante, rendue possible par l'application des paramètres techniques recommandés par **Charchari *et al.* (2013**). Le **tableau 12** ci-dessous récapitule les données relatives à *L. nobilis*.

Tableau 12: rendements en HE de *L. nobilis.*

ESSAI	Masse végétale (g)	Volume d'HE obtenu (ml)	Rendement (%)
Extraction	221,96	2,5	1,12

L' HE de *L. nobilis*, a donné un rendement de 1,12 % qui est conforme aux données rapportées par **Sangun *et al.* (2007)**, qui indiquent des valeurs comprises entre 0,9 % et 1,3 %

pour le laurier méditerranéen. Cette concordance confirme que la technique d'entraînement à la vapeur permet d'obtenir des rendements compatibles avec une exploitation industrielle, tout en préservant les qualités organoleptiques des extraits. L'ensemble de ces rapprochements valide la représentativité des échantillons étudiés et met en évidence le potentiel phyto-pharmacologique des plantes aromatiques locales.

IV.1.3 Caractérisation des HEs

IV.1.3.1 Caractéristiques organoliptiques

L'évaluation des propriétés organoleptiques constitue une étape préliminaire indispensable permettant de vérifier à la fois la pureté des extraits et la préservation des composés thermosensibles **(Kholkhal, 2014)**. Ces critères qualitatifs, incluant l'aspect, la couleur et l'odeur, ont été examinés dès la récupération des échantillons après la phase de déshydratation, conformément aux recommandations de la **Pharmacopée Européenne (2022)**. **Hudaib *et al.* (2002)** soulignent que toute variation de ces paramètres macroscopiques peut refléter des phénomènes tels que l'oxydation, la polymérisation ou l'hydrolyse des esters, susceptibles d'altérer la qualité biochimique de l'essence . Les résultats issus de ces analyses sont présentés dans le **tableau 13** ci-après.

Tableau 13: caractéristiques organoleptiques des HE de *T. vulgaris, S. officinalis* et *L. nobilis.*

Espèce végétale	Aspect	Couleur	Odeur
T. vulgaris	Fluide	Jaune	Forte, aromatique et caractéristique
S. officinalis	Fluide	Jaune claire	Herbacée et camphrée
L. nobilis	Liquide	Vert olive claire	Épicée et aromatique

D'après les travaux de **Boukhatem *et al.* (2014)**, les caractéristiques physiques observées chez *T. vulgaris*, notamment la coloration jaune prononcée et l'arôme phénolique persistant, traduisent une adaptation métabolique aux conditions de stress thermique. Cette adaptation favoriserait la biosynthèse de composés phénoliques tels que le thymol, au détriment de certains précurseurs non volatils **(figure 17)**.

Figure 17: Échantillon de l'HE de *T. vulgaris* extraite par hydrodistillation .

Pour l'huile essentielle de *S. officinalis*, la limpidité et la fluidité observées correspondent aux critères de pureté décrits par **Taleb-Toudert (2015)**. Selon cet auteur, la clarté de l'huile résulte d'une distillation à cinétique lente permettant de préserver les fractions légères, notamment les thuyones et le cinéole. Par ailleurs, l'odeur caractéristique, herbacée et prononcée, témoigne de l'absence de composés issus de la dégradation oxydative, phénomène fréquemment associé à une conservation prolongée du matériel végétal **(figure 18)**.

Figure 18: Échantillon de l'HE de *S.officinalis* extraite par hydrodistillation .

Enfin, la teinte vert olive clair de l'huile essentielle de *L. nobilis*, associée à son parfum épicé caractéristique, présente des similitudes avec les observations rapportées par **Taleb-Toudert (2015)** concernant les Lauracées de la région méditerranéenne. Ces travaux ont mis en évidence une relation entre cette caractéristique chromatique et certains paramètres physico-chimiques, notamment l'indice de réfraction, considéré comme un indicateur fiable

pour détecter d'éventuelles adultérations de l'huile essentielle. La stabilité de ces paramètres macroscopiques confirme l'efficacité du procédé d'extraction employé et met en évidence le potentiel biotechnologique des extraits dans des applications anti-microbiennes spécifiques **(figure19)**.

Figure 19: Echantillon de l'HE de *L.nobilis* extraite par hydrodistillation .

IV.1.3.2 Caractérisation physico-chimique

IV.1.3.2.1 La densité relative

La densité relative D20 à 20°C est déterminée en comparant la masse de l'huile essentielle à celle d'un même volume d'eau distillée,Les données recueillies concernant les trois espèces étudiées sont présentées dans le **tableau 14** ci-dessous :

Tableau 14: valeurs des densités relatives des HEs de *T. vulgaris, S. officinalis* et *L. nobilis.*

Espace végétal	M_0 (g)	M_1 (g)	M_2 (g)	Densité calculée (d)	Les données de la littérature
T.vulgaris	10.82	11.47	11.17	0.74	0,9-0,9550 **(Haddouchi *et al.*, 2009)**
S. officinalis	9.42	10.70	10.53	0.86	0,91 **(Fellah *et al.*, 2006).**
L. nobilis	9.98	10.70	10.65	0.93	0,9043 **(Ouled *et al.*, 2017)**

La densité de l'huile essentielle de *T. vulgaris* mesurée dans notre étude (0,74) est légèrement inférieure à celle rapportée par **Haddouchi *et al.* (2009)**, qui était de 0,79. Cette différence pourrait s'expliquer par des variations de la composition chimique de l'huile, notamment au niveau des composés volatils . En effet, les huiles essentielles de thym présentent une variabilité importante selon l'origine géographique, les conditions climatiques ainsi que les méthodes d'extraction utilisée s. Néanmoins, la proximité des valeurs observées confirme la cohérence des résultats obtenus .

Concernant l'huile essentielle de *S. officinalis*, une densité de 0,86 a été enregistrée. Cette valeur reste inférieure à celle rapportée par **Fellah *et al.* (2006)**, qui ont observé des densités proches de 0,91 dans certaines conditions de stress abiotique. La valeur obtenue dans cette étude traduit une huile présentant une fluidité satisfaisante. Par ailleurs, la littérature indique que les propriétés physico-chimiques de la sauge varient selon le stade phénologique de la plante, notamment durant la floraison, ce qui pourrait expliquer les écarts modérés observés par rapport aux valeurs standards généralement comprises entre 0,905 et 0,925.

L'huile essentielle de *L. nobilis* a présenté une densité de 0,93. Afin de situer cette valeur, une comparaison a été réalisée avec les résultats rapportés par **Ouled *et al.* (2017)** au Maroc, où une densité de 0,9043 a été obtenue pour le laurier noble. La différence observée entre ces deux valeurs (0,0257) demeure relativement faible. Cette proximité suggère une certaine stabilité des propriétés physiques de cette espèce à l'échelle du bassin méditerranéen, notamment entre l'Algérie et le Maroc.

IV.1.3.2.2 Potentiel d'hydrogène (pH)

Les mesures du potentiel hydrogène (pH) ont été réalisées à l'aide de bandelettes indicatrices . Une goutte de chaque échantillon a été déposée sur la bandelette, puis laissée en contact pendant deux minutes avant la détermination de la valeur du pH par comparaison avec une échelle colorimétrique standard. Les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau 15** suivant :

Tableau15 : valeurs du pH des HEs étudiées.

HE	pH	État d'acidité
T.vulgaris	5.5	Acide
S.officinalis	5	Acide
L.nobilis	6.5	Légèrement acide

Selon les travaux de **Bakkali *et al.* (2008)**, la majorité des huiles essentielles présentent un pH compris entre 4 et 7. Les valeurs obtenues dans cette étude pour *T. vulgaris* (5,5), *L. nobilis* (6,5) et *S. officinalis* (5) s'inscrivent dans cette plage de référence.

Une acidité modérée peut être considérée comme un indicateur de qualité satisfaisante. En revanche, des valeurs de pH trop faibles, traduisant une acidité élevée, pourraient témoigner de phénomènes d'oxydation ou de transformation des terpènes en acides carboxyliques, souvent associés à des conditions de conservation inadéquates, notamment une exposition prolongée à la lumière ou à l'air.

IV.1.3.2.3 Indice d'acidité

Les tests d'acidité ont été réalisés sur les trois huiles essentielles : *T. vulgaris, S. officinalis* et *L. nobilis*. Le protocole de titrage direct à la potasse (KOH) a été suivi conformément aux recommandations de **Kaloustian et Hadji-Minaglou (2013)**. Cette méthode permet d'utiliser l'indice d'acide comme un indicateur direct de l'état de conservation des huiles essentielles. Les résultats sont regrouper dans **tableau 16** suivant :

Tableau 16: détermination de l'indice d'acide des HEs étudiées.

Les unités	*T. vulgaris*	*S. officinalis*	*L. nobilis*
Masse de l'HE (m)	0.3g	0.3g	0.3g
Volume de KOH versé (v)	0.10 ml	0.09ml	0.11 ml
Normalité du KOH (N)	0.1N	0.1N	0.1N
Indice d'acide (Ia)	1.87mg KOH/g.	1.68mg KOH/g.	2.05mg KOH/g.
Les données de la littérature	1,20 à 3,50mg KOH/g. **(Hazzit *et al.*, 2009)**	1,50 à 2,05mg KOH/g.**(Ben Taarit *et al.*, 2009)**	2,5mg KOH/g **(Ould taarabt *et al.*,2017)**

L'indice d'acidité mesuré pour l'huile essentielle de *T. vulgaris* est de 1,87 mg KOH/g. Ce résultat est en accord avec les données rapportées par **Hazzit *et al.* (2009)**, qui ont observé une plage de variation comprise entre 1,20 et 3,50 mg KOH/g pour des échantillons de thym provenant d'Algérie. Cette valeur d'acidité, bien que légèrement plus élevée que celles obtenues pour les autres huiles essentielles analysées dans la présente étude, semble refléter une particularité des chimiotypes phénoliques, notamment ceux caractérisés par une forte teneur en thymol et en carvacrol.

En ce qui concerne l'HE de *S. officinalis*, une stabilité intermédiaire a été observée, avec un indice d'acidité de 1,68 mg KOH/g. Ces résultats sont proches de ceux rapportés par **Ben Taarit *et al.* (2009)**. Ainsi, la valeur de 2,05 mg KOH/g obtenue pour *L. nobilis* a été confrontée aux donnés de la littérature notamment aux travaux menés par **Ould taarabt *et al.(* 2017),** il apparaît ainsi que les conditions de séchage appliquées ont contribué à préserver de manière satisfaisante les composés estérifiés majoritaires de la plante, en limitant les réactions d'hydrolyse acide fréquemment observées chez cette espèce.

IV.2 Isolement des lactobacilles

L'isolement réalisé sur milieu MRS à partir de 10 échantillons vaginaux a permis d'obtenir 10 isolats présentant des caractéristiques compatibles avec des lactobacilles. Ces

isolats ont été retenus afin de poursuivre les tests de confirmation de leur appartenance au groupe des bactéries lactiques.

IV.2.1 Étude morphologique

IV.2.1.1 Examen macroscopique

Conformément à **Hesser *et al.* (1967)**, l'observation macroscopique des isolats cultivés sur milieu MRS a révélé des colonies présentant différentes morphologies. Les colonies isolées de lactobacilles présenté une odeur légèrement acidulée, mesurant généralement entre 0,5 et 1 mm de diamètre. Elles sont majoritairement de couleur blanche, de forme ronde, avec un contour régulier, tout en présentant de légères variations d'aspect d'une colonie à une autre **(figure 20)**.

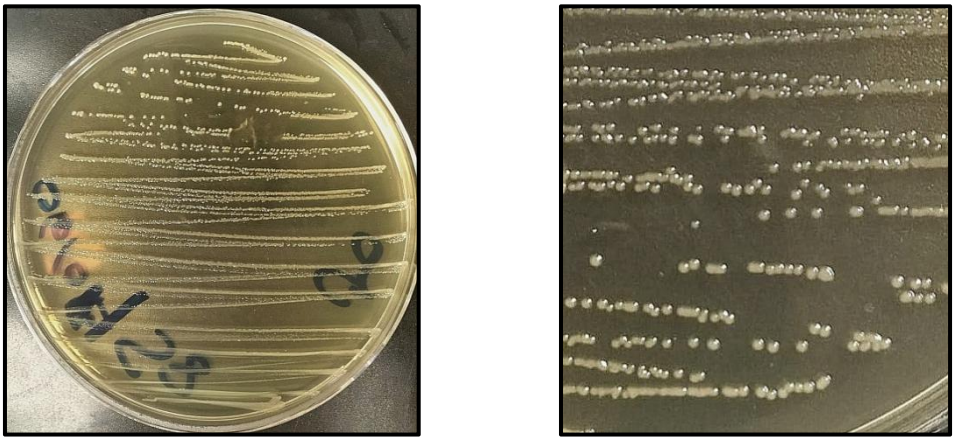


Figure 20: Observation macroscopique des différentes colonies des lactobacilles sur milieu MRSA

IV.2.1.2 Examen microscopique

IV.2.1.2.1 Observation à l'état frais

L'observation microscopique des isolats a révélé des cellules de forme bacillaire, se présentant sous forme de bâtonnets longs et fins, courts, légèrement incurvés ou parfois ovoïdes, avec une absence de mobilité. Ces résultats sont conformes à ceux rapportés par **Tailliez (2004)**, qui indiquent que les lactobacilles sont généralement des bacilles immobiles.

IV.2.1.2.2 Coloration de Gram

L'examen microscopique des lactobacilles isolés a révélé une coloration de Gram positive avec deux formes dominantes : bacillaires et coccobacillaires, observés à la fois sous forme isolée et en chaînettes **(figure 21 et tableau 17)**. Ces observations concordent avec celles rapportées par **Tajabadi *et al.* (2014) et Gupta *et al.* (2023)** .

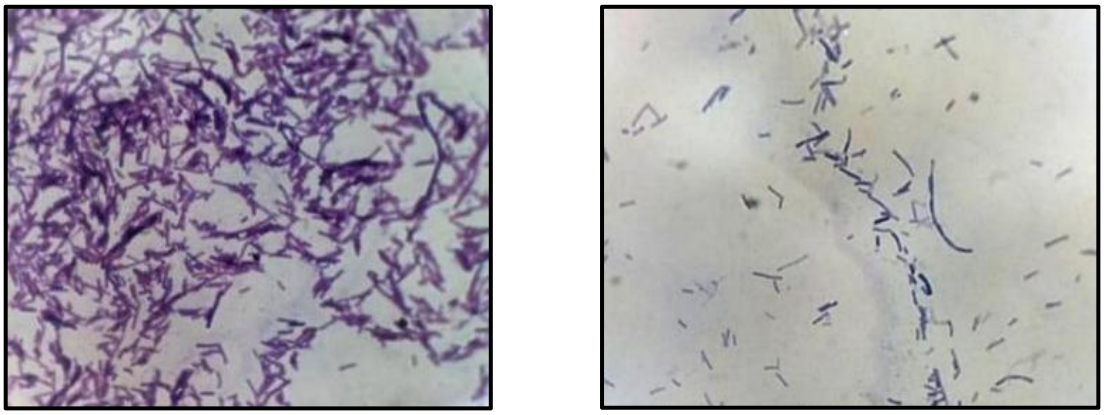


Figure 21: Observation microscopique des cellules de lactobacilles après coloration de Gram grossissement x100.

IV.2.2 Caractérisation biochimique et physiologique

IV.2.2.1 Test de catalase

Après l'addition de peroxyde d'hydrogène sur les colonies cibles, aucune formation de bulles n'a été observée, ce qui indique que les isolats de lactobacilles ne possèdent pas l'enzyme catalase **(tableau 17)**. Des observations similaires ont été rapportées par **Coeuret** et ***al.* (2003)** et **Karami *et al.* (2017).**

IV.2.2.2 Recherche du nitrate réductase

Le test de la nitrate réductase révèle que tous les isolats étudiés ne possèdent pas cette enzyme, car après l'ajout des réactifs de Griess A et B, aucun changement de couleur n'a été observé. Après addition de poudre de zinc, l'apparition d'une coloration rouge a été notée **(figure 22 et tableau 17)**. Selon **Gärtner *et al.* (2015)**, les bactéries incapables de réduire les nitrates sont généralement identifiées comme des lactobacilles.

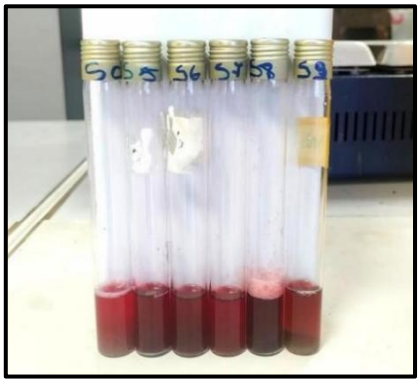


Figure 22: Résultat négative de nitrate réductase.

IV.2.2.3 Croissance à 4% et 6,5% du NaCl

Toutes les cultures ont présenté une croissance à 4 % et 6,5 % de NaCl, indiquant une tolérance au sel **(figure 23 et tableau 17)**. Des résultats comparables ont été rapportés par **Abdulsalam *et al.* (2024)**, qui ont évalué la résistance des lactobacilles à des concentrations de NaCl de 4 % et 6,5 %.

Figure 23 : Résultat positif de croissance à concentration de 4% NaCl.

IV.2.2.4 Type fermentaire

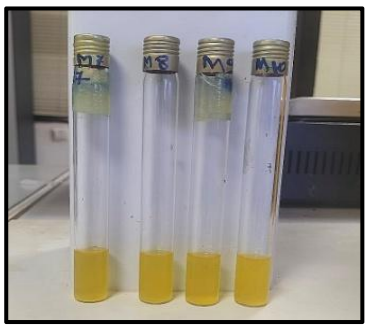
Les résultats de l'étude du pouvoir fermentaire sont présentés dans le **tableau 17**. Ce test est réalisé en milieu MRS liquide à l'aide de cloches de Durham et permet de différencier les isolats homofermentaires des hétérofermentaires après incubation à 37 °C en anaérobiose pendant 5 jours. La production de gaz (CO_2) dans les cloches traduit un résultat positif. Selon **Tailliez (2004)**, certaines espèces de lactobacilles possèdent un métabolisme homofermentaire strict et produisent deux molécules de lactate par molécule de glucose fermenté. D'autres présentent un métabolisme hétérofermentaire et génèrent divers produits

finaux tels que l'acétate, l'éthanol, le formiate, le succinate et le CO_2. Dans notre étude, les souches (L1, Lc, L4) sont identifiées comme homofermentaires, tandis que les isolats (L2, L5, L6, L7, L8, L9, L10, L1) sont hétérofermentaires **(figure 24 et tableau 17)**.

Figure 24 : Résultat positif de la production de gaz par fermentation de glucose.

IV.2.2.5 Fermentation des glucides

Les dix isolats sélectionnés présentent une capacité de fermentation du saccharose et du mannitol, avec une faible fermentation du lactose. Cependant, les isolats L1 et L10 montrent une fermentation positive du lactose **(figure 25 et tableau 17)**.



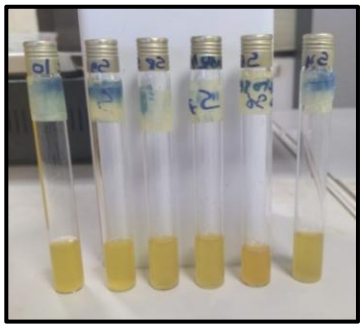


Figure 25 : Résultat positif de la fermentation du saccharose et mannitol.

Tableau 17 : récapitulatif des résultats des tests d'identification phénotypique des lactobacilles.

	LC	L1	L2	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	LI
Gram	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Catalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Production de gaz	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
4%Nacl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6,5%Nacl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrate réductase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lactose	f	+	f	f	f	f	f	f	f	+	f
Sacharose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Manitole	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(+) : test positif, (-) : test négatif, (f) : test faiblement positif

IV.2.3 Evaluation de l'activité antibactérienne des HEs

IV.2.3.1 Aromatogramme

Le diamètre de la zone d'inhibition a été mesuré en excluant celui du disque (6 mm), par soustraction de sa valeur du diamètre total observé. Cette mesure permet d'évaluer l'activité antibactérienne *in vitro* des huiles essentielles testées . Le diamètre des zones d'inhibition varie selon les isolats et selon l'extrait utilisé **(figures 26, 27, 28,29 et tableau 18).**

Tableau 18: résultat de l'aromatogramme des huiles essentiels de *T. vulgaris, L.nobilis, S. officinalis* (diamètre des zones d'inhibition en mm)

	Lc	L1	L2	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	LI
T. vulgaris	21,6	12,2	21,2	16,45	16,03	15,13	20,77	26,80	10,82	30,82	19,39
L.nobilis	8,24	-	-	-	5,77	-	6,66	8,57	8,08	11,70	3,15
S. officinalis	5,31	-	-	7,2	10,43	5,04	10,95	8,06	14,30	7,12	10,66

(-) : aucune zone d'inhibition

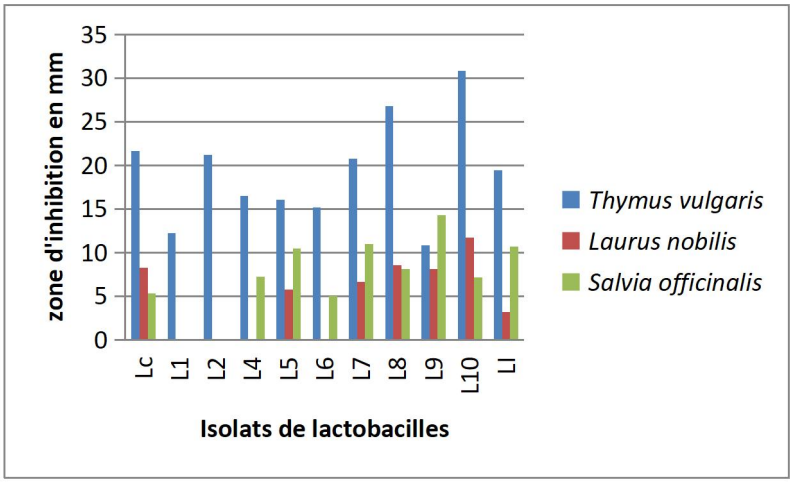


Figure 26: Effet inhibiteur des HEs de *T. vulgaris, L. nobilis et S. officinalis* sur les différents isolats de lactobacilles

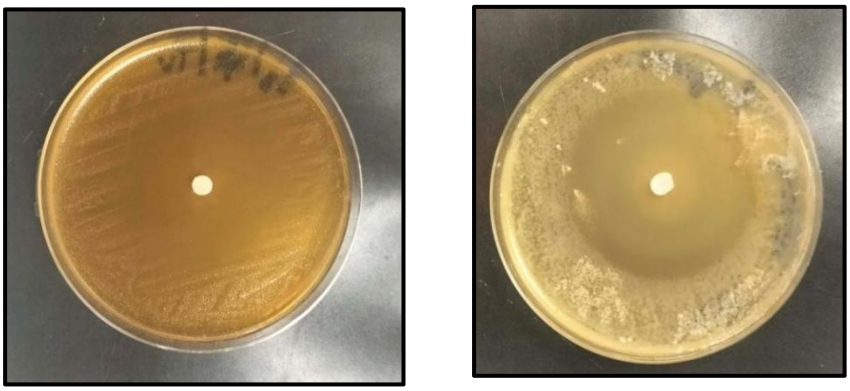


Figure 27 : Aromatogramme de l'HE de *T. vulgaris* sur les lactobacilles (L8, L10)

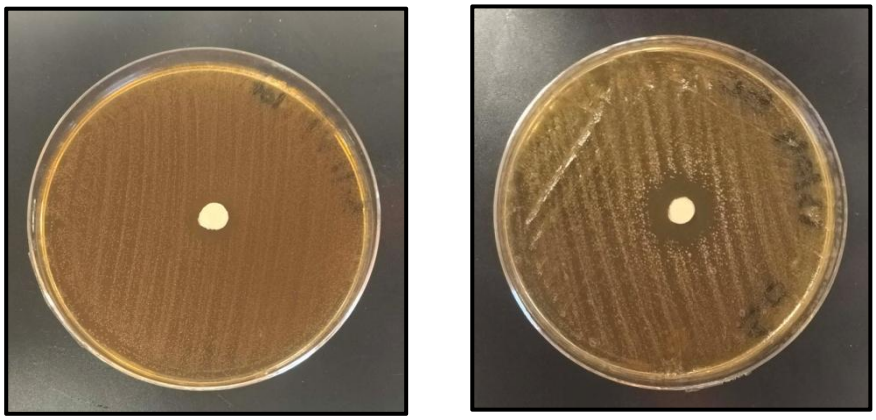


Figure 28: Aromatogramme de l'HE de *L. nobilis* sur les lactobacilles (L5, L7)

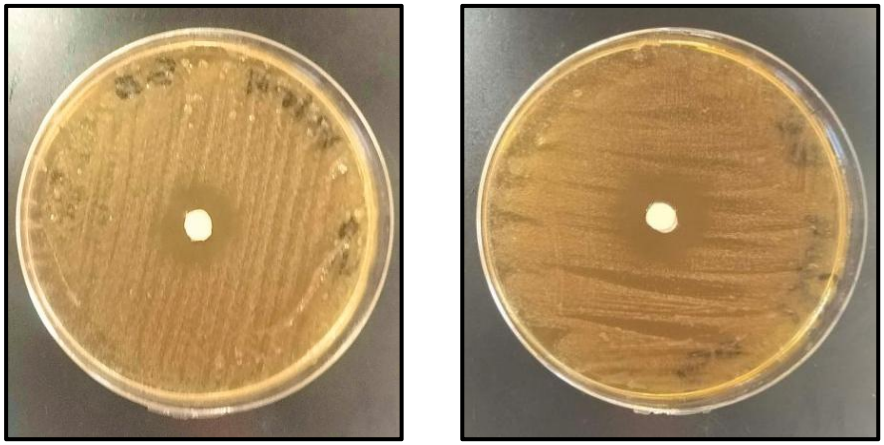


Figure 29: Aromatogramme de l'HE de *S.officinalis* sur les lactobacilles (L5 et L7)

L'aromatogramme a permis de classer les HEs selon leur activité antimicrobienne, évaluée à partir du diamètre des zones d'inhibition. Les catégories retenues étaient les suivantes : activité élevée (diamètre ≥ 20 mm), activité modérée (diamètre compris entre 14 et 20 mm), faible activité (diamètre compris entre 8 et 14 mm) et absence d'activité (diamètre < 8 mm) (**Ezzariga *et al*., 2025)**.

Selon **Amatiste *et al.* (2014)**, les bactéries Gram positives sont généralement plus sensibles à l'action des HEs, en raison de la structure particulière de leur paroi cellulaire. Les composés des HEs peuvent interagir plus facilement avec cette paroi, entraînant des altérations importantes et une perturbation de l'intégrité cellulaire.

On note que l'HE de *T. vulgaris* a exercé une forte activité antibactérienne. Un volume de 5 µl d'huile a été suffisante pour inhiber la croissance des lactobacilles testés. Parmi celles-ci, l'isolat L10 s'est révélée la plus sensible, avec un diamètre d'inhibition atteignant 30,82

mm. Des résultats comparables ont été rapportés par **De-Souza (2021)**, suggérant un effet inhibiteur important de l'HE de *T. vulgaris* contre *L. acidophilus* ainsi que contre plusieurs bactéries pathogènes. Ces observations concordent également avec celles de **Schwiertz *et al.* (2006)**, qui ont montré que l'HE de *T. vulgaris*, bien qu'efficace contre les agents pathogènes responsables des infections vaginales, exerce aussi un effet inhibiteur sur les lactobacilles.

Selon **Arnal-Schnebelen *et al.* (2004)**, l'HE de *T. vulgaris* figure parmi les huiles essentielles les plus actives contre plusieurs microorganismes vaginaux pathogènes, notamment *C. albicans*, *E.coli*, *S. agalactiae* et *E. faecalis*. Cette plante possède des propriétés antimicrobiennes particulièrement reconnues, ce qui justifie son utilisation en médecine traditionnelle comme agent antibactérien **(Yakhlef *et al.*, 2011)**. Cependant, son effet inhibiteur sur les lactobacilles suggère un impact négatif potentiel sur l'équilibre du microbiote vaginal, en réduisant la flore protectrice naturellement présente. Cette perturbation pourrait paradoxalement favoriser l'installation d'infections opportunistes **(Moya-Beltrán *et al.*, 2025)**.

En revanche, l'HE de *S. officinalis* a également montré une certaine activité inhibitrice sur la croissance bactérienne, bien que celle-ci soit moins marquée que celle observée avec *T. vulgaris*. Certaines isolats ont présenté une faible sensibilité, tandis que d'autres se sont révélées résistantes.

Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Ziarno *et al.* (2021)**, qui ont également observé une faible sensibilité des bactéries lactiques à l'HE de *S. officinalis*. De même, **Arnal-Schnebelen *et al.* (2004)**, travaillant sur des bactéries pathogènes, ont signalé une activité inhibitrice relativement faible de cette HE, suggérant ainsi une activité antimicrobienne globalement limitée.

Cette faible activité a également été observée avec l'HE de *L. nobilis*, qui présente globalement un faible pouvoir inhibiteur vis-à-vis des lactobacilles. Par ailleurs, **Ouibrahim *et al.* (2015)** ont montré que l'HE de *L. nobilis* possède une activité anticandidosique contre des souches vaginales de *Candida* . Ces résultats suggèrent que cette HE pourrait exercer une activité antimicrobienne relativement sélective, capable d'inhiber certaines souches pathogènes tout en préservant les bactéries bénéfiques du microbiote vaginal, notamment les lactobacilles.

Ces résultats indiquent que les huiles essentielles de *L. nobilis* et de *S. officinalis* pourraient présenter un profil d'utilisation plus sûr dans un contexte traditionnel ou médicinal visant à préserver l'équilibre du microbiote vaginal. En favorisant la survie des lactobacilles, ces huiles essentielles pourraient contribuer au maintien du rôle protecteur de ce microbiome, notamment par la production d'acide lactique et le maintien d'un pH vaginal acide défavorable au développement des agents pathogènes.

IV.2.3.2 Concentration minimale inhibitrice et bactéricide

La détermination des paramètres d'inhibition (CMI) et (CMB) a non seulement confirmé les résultats obtenus précédemment, mais elle a également permis de quantifier l'activité antibactérienne des HEs de *T. vulgaris*, *L. nobilis* et *S. officinalis* **(tableau 19)**.

Selon **Bogavac *et al.* (2015)**, de faibles valeurs de CMI et de CMB, obtenues à des concentrations correspondant à des dilutions élevées de l'HE, traduisent une activité antibactérienne plus marquée de l'huile testée, ainsi qu'une sensibilité accrue des souches bactériennes vis-à-vis de celle-ci.

Les résultats obtenus montrent que l'HE de *T. vulgaris* présente la plus forte activité antibactérienne, avec les valeurs de CMI les plus faibles observés . En effet, la souche L10 a montré une sensibilité importante avec une CMI de 0,312 µl/ml. L'HE de *L. nobilis* présente une activité intermédiaire, avec une CMI de 1,25 µl/ml, tandis que *S. officinalis* s'est révélée la moins active, avec une CMI de 2,5 µl/ml.

Selon Abid *et al.* (2025), un rapport CMB/CMI inférieur à quatre indique un effet bactéricide plutôt qu'un effet bactériostatique. Les résultats de notre étude montrent que l' HE de *T. vulgaris* présente un effet bactericide sur les isolats Lc et LI et un effet bactériostatique sur l'isolat L10 , l'HE de *L. nobilis* a montré un effet bactericide sur les isolats LI et L10 et un effet bactériostatique sur l'isolat LC , enfin l'HE de *S. officinalis* présente un effet bactéricide sur les isolats Lc et LI et un effet bactériostatique sur l'isolats L9 .

Tableau 19 : détermination des CMI et CMB (exprimées en µl /ml), et du rapport CMB/CMI des HEs de *T. vulagirs, L.nobilis et S.officinalis.*

Plantes	***T. vulgaris***			***L. nobilis***			***S. officinalis***		
Isolats	LC	LI	L10	LC	LI	L10	LC	LI	L9
CMI	10	1,25	0,312	1,25	10	2,5	5	5	2,5
CMB	20	1,25	10	20	20	5	10	10	10
CMB/CMI	2	1	32,05	16	2	2	2	2	4

Conclusion

Conclusion

Dans cette étude, nous avons évalué l'effet antibactérien des HEs de *T. vulgaris*, *S. officinalis* et *L. nobilis*, traditionnellement utilisées dans le traitement et la prévention des infections vaginales, sur les lactobacilles du microbiote vaginal. Les HEs ont d'abord été caractérisées par des tests physico-chimiques, notamment la détermination du pH et de l'indice d'acide, afin de garantir leur qualité. Les rendements d'extraction obtenus étaient de 1,95% et 2,86% pour *T. vulgaris*, 0,65% et 1,95 %pour *S. officinalis* et 1,12% pour *L. nobilis*.

Par ailleurs, les isolats de lactobacilles ont été identifiés à l'aide de tests morphologiques ainsi que de tests biochimiques et physiologiques, incluant la coloration de Gram, le test de la catalase, la réduction des nitrates, la tolérance au NaCl, la production de CO_2 ainsi que la fermentation des glucides, assurant ainsi la validité des analyses réalisées. En effet, l'ensemble des isolats étaient à coloration de Gram positive et catalase négatifs. Concernant la production de gaz, sept isolats ont montré une réaction positive tandis que trois isolats étaient négatifs. L'étude de la croissance en présence de différentes concentrations de NaCl (4 % et 6,5 %) a révélé une croissance positive des isolats testés. En revanche, le test de la nitrate réductase était négatif pour tous les isolats. Pour la fermentation des glucides, les résultats indiquent une fermentation positive du mannitol et du saccharose chez tous les isolats. Le lactose était faiblement fermenté dans la majorité des cas, sauf chez deux isolats qui ont montré une fermentation positive nette.

L'activité antibactérienne, évaluée par aromatogramme ainsi que par la détermination des CMI et CMB, a révélé des différences notables entre les huiles testées. L'HE de *T. vulgaris* a présenté la plus grande zone d'inhibition, avec une moyenne de 30,82 mm, traduisant une activité antibactérienne importante vis-à-vis des lactobacilles. Cette forte activité suggère un effet potentiellement délétère, susceptible d'induire un déséquilibre du microbiote vaginal.

En revanche, *S. officinalis* et *L. nobilis* ont présenté des zones d'inhibition plus faibles, respectivement de 14,30 mm et 11,70 mm, indiquant une activité inhibitrice limitée. Certains isolats ont également montré une résistance à ces deux HEs .

Les rapports CMB/CMI obtenus indiquent que les huiles essentielles testées ont présenté un effet bactéricide sur certains isolats de lactobacilles et un effet bactériostatique sur d'autres. Malgré leur potentiel thérapeutique vis-à-vis de certains agents pathogènes, elles peuvent donc également exercer une activité inhibitrice à l'encontre de certaines souches de lactobacilles, l'utilisation de ces HEs, en particulier celle de *T. vulgaris*, doit être réalisée avec prudence afin d'éviter une altération du microbiote vaginal protectrice.

En perspective, des recherches complémentaires, notamment moléculaires, seraient nécessaires afin d'identifier précisément les espèces de lactobacilles étudiées et de mieux comprendre la sensibilité différentielle de ces bactéries aux HEs. De plus, l'identification des composés actifs responsables de cette activité antibactérienne, ainsi que la réalisation d'études *in vivo* et cliniques, permettraient de mieux évaluer l'innocuité et l'efficacité de ces huiles essentielles dans le traitement des infections vaginales, tout en préservant l'équilibre du microbiote vaginal.

Références bibliographiques

- **Abdel-Daim, A., Hassouna, N., Hafez, M., Ashor, M. S., & Aboulwafa, M. M. (2013).** Antagonistic activity of Lactobacillus isolates against Salmonella typhi in vitro. BioMed research international, 2013, 680605. https://doi.org/10.1155/2013/680605

- **Abdulsalam, R., Bala, J. D., Abalaka, M. E., Ocheme, O. B. (2024).** Evaluation of Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Some Fermented Foods. In *Nigerian Journal of Microbiology* (Vols. 38–38, Issue 2, pp. 7174–7185).

- **Abid, F., Bouacha, M., Bourzama, G., Boussouf, L., Boutennoun, H., & Boutefnouchet, N. (2025)**. GC/MS analysis of *Thymus vulgaris* essential oil and antibacterial effect towards multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Chemical Health Risks, 15*(1), Article 7268

- **Adossides A, (2003)** La filière plantes aromatiques & médicinales, FAO Projet. Assistance au recensement agricole, 70p

- **AFNOR (2000).** Huiles essentielles — Vocabulaire et définitions — Méthodes.
- **AFNOR. (1999**). Huiles essentielles — Détermination de la densité relative à 20 °C.

- **Ali, M., Alkhalaifah, H., Chand, N., Naz, S., Khan, R. U., Abudabos, A., Abass, K. S., Ahmad, S., & Alhidary, I. A. (2026)**. Synergistic effects of Moringa oleifera and Thymus vulgaris methanolic extracts on growth performance, Gut acid-base balance, Humoral immunity, and nutrient digestibility in broiler chickens. Journal of King Saud University - Science, 38(4), Article 106423.

- **Amatiste, Simonetta, Daniele Sagrafoli, GiuseppinaGiacinti, Giulia Rosa, Virginia Carfora, NiclaMarri, AndreanaTammaro, EmanuelaBovi, and Remo Rosati. (2014). ―**Antimicrobial Activity of Essential Oils Against Staphylococcus Aureus in Fresh Sheep Cheese.‖ Italian Journal of Food Safety 3 (3): 148–50.

- **Amiot, J. (2005).** Thymus vulgaris, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires (Thèse de doctorat, École Nationale Supérieure d'Agronomie de Montpellier). (192 p).

- **Aniszewski, T. (2007).** Alkaloids - secrets of life: Alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role. Elsevier.

- **Anjali, Garg, D., Pragi, Kumar, V., Dimple, & Monika. (2024).** A review of therapeutic properties and uses of Salvia officinalis. Journal of Pharma Insights and Research, 2(3), 146–154.

- **AquaPortail. (2021).** Phénol: définition, propriétés et explications. AquaPortail. URL

- **Aribi-Zouioueche, L., & Couic-Marinier, F. (2021)**. Huiles essentielles et chiralité moléculaire. Comptes Rendus. Chimie, 24(3), 397-414.

- **Arnalschnebelen, B. (2004)** Hadjiminaglou, F., Peroteau, J., Ribeyre, F., & Debillerbeck, V. . Essential oils in infectious gynaecological disease : a statistical study of 658 cases. *International Journal Of Aromatherapy*, *14*(4), 192- 197. https://doi.org/10.1016/j.ijat.2004.09.003

- **Avitabile E, Menotti L, Croatti V, Giordani B, Parolin C, Vitali B., (2024)** Protective Mechanisms of Vaginal Lactobacilli against Sexually Transmitted Viral Infections. Int J Mol Sci ;25(17):9168.

- **Awada, F., Hamade, K., Kassir, M., Hammoud, Z., Mesnard, F., Rammal, H., & Fliniaux, O. (2023)**. Laurus nobilis Leaves and Fruits: A Review of Metabolite Composition and Interest in Human Health. Applied Sciences, 13(4606).

- **Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., & Ouzrout, R. (2005).** Caracterisation phenotypique des bacteries lactiques isolees a partir de lait cru de chevre dedeux populations caprines locales" arabia et kabyle". *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 30-37.

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

- **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008**). Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology, 46(2), 446-475.

- **Barla, A., G. Topcu, S. Oksuz, G. Tumen, and D. Kingston, (2007)** Identification of cytotoxic sesquiterpenes from Laurus nobilis L. Food Chemistry, . 104(4): p. 1478-1484.

- **Bazylko, A., & Strzelecka, H. A. L. I. N. A. (2007).** A HPTLC densitometric determination of luteolin in Thymus vulgaris and its extracts. Fitoterapia, 78(6), 391-395.

- **Behradmanesh, S., Derees, F., & Rafieian-Kopaei, M. (2013)**. Effect of Salvia officinalis on diabetic patients. Journal of Renal Injury Prevention, 2(2), 51–54.

- **Bekhti, N. (2021).** Caractérisation physico-chimique des polyphénols et Alcaloïdes. utilisés en médecine. Thèse de Doctorat en chimie. Sidi Bel Abbes : université Djilali Liabes.224 P.

- **Belayachi, L. (2014).** Figure n°3 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau [Image]. ResearchGate. https://www.researchgate.net/figure/Figure-n-3-Montage-dentrainement-a-la-vapeur-deau_fig3_265163661.

- **Bellamine, K. (2017).** La phytothérapie clinique dans les affections dermatologiques. Société Marocaine de Phytothérapie Clinique. (112 p).

- **Ben Taarit, M., Msaada, K., Hosni, K., & Marzouk, B. (2010**). Changes in fatty acid and essential oil composition of sage (Salvia officinalis L.) leaves under NaCl stress. Food Chemistry, 119(3), 951-956.

- **Bencheqroun, H. K., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., & Chaouch, A. (2012).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Artemisia mesatlantica, plante endémique du Maroc. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 81, 4-21

- **Benkhaira, N. (2020).** Montage d'extraction par Hydrodistillation [Image]. ResearchGate. https://www.researchgate.net/figure/Montage-dextraction-parHydrodistillation_fig3_343615181

- **Benkherara, S., Bordjiba, O., Djahra, A. B. (2015).** Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de Salvia officinalis. Phytothérapie. (5 p).

- **Bergal , A , (2016)**. Etude épidémiologique moléculaire du portage de streptocoque de groupe B chez la femme enceinte à Guelma: prévalence, facteurs de risque et résistance aux antibiotiques des souches isolées [thèse , université de guelma].

- **Bergogne-Bérézin.E, 2007,Flores** vaginales normales, vaginites et vaginoses bactériennes : diagnostic et thérapeutique**,***Antibiotiques,*9,139-144

- **Bessah, R et Benyoussef, E. (2015)**. La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. Centre de développement des Energie Renouvelables, CDER 16340, Alger, Alegria, 513 P.

- **Bohbot, J., Sednaoui, P., Verriere, F., & Achhammer, I. (2011).** Diversité étiologique des vaginites. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, *40*(10), 578–581

- **Botineau M., (2010)**. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Paris: Ed. Tec &Doc;. pp. 35-41.

- **Boughrara, B. (2016).** Inventaire et étude ethnobotanique et chimique des plantes à intérêts thérapeutique et nutritif du Parc national El-kala. Thèse de doctorat en pytochimie à l'Université Badji Mokhtar-Annaba, 179.

- **Bouguerra, A., Aggoune, R., & Saadi, N. (2021).** Étude Comparative des méthodes d'extraction des huiles Essentielle dans les plantes.(49).

- **Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Bouhdid D., Skali N.S., et Abrini J. (2006).**Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès International de biochimies, Agadir. 324-327.

- **Boukhatem, M. N., Ferhat, A., & Kameli, A. (2019)**. Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : Revue de littérature. Revue Agrobiologia, 9(2), 1653–1659.

- **Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kameli, A., Saidi, F., Taibi, H., & Djamel, T. (2014).** Valorisation de l'essence aromatique du Thym (Thymus vulgaris L.) en aromathérapie anti-infectieuse. International Journal of Innovation and Applied Studies, 8(4), 1418–1431.

- **Boulade C . (2018)** . Lamiaceae : caractéristiques et intérêts thérapeutiques à l'officine. Thèse de Doctorat en Pharmacie . Université Toulouse III Paul Sabatier.

- **Bousbia, N., Abert Vian, M., Ferhat, M. A., Petitcolas, E., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2009).** Comparison of two isolation methods for essential oil from Algerian rosemary (Rosmarinus officinalis L.): Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. Food Chemistry, 114(1), 355-362.

- **Bogavac, M., Karaman, M., Janjušević, L., Sudji, J., Radovanović, B., Novaković, Z., Simeunović, J., & Božin, B. (2015).** Alternative treatment of vaginal infections - in vitro antimicrobial and toxic effects of Coriandrum sativum L. and Thymus vulgaris L. essential oils. *Journal Of Applied Microbiology*, *119*(3), 697- 710. https://doi.org/10.1111/jam.12883

- **Brown, B., Fadillah, R., Nurdin, Y., Soulsby, I., & Ahmad, R. (2014).** Case study: Community Based Ecological Mangrove Rehabilitation (CBEMR) in Indonesia. From small (12-33 ha) to medium scales (400 ha) with pathways for adoption at larger scales (> 5000 ha). SAPI EN. S. Surveys and Perspectives Integrating Environment and Society, (7.2).

- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie,phytochimie des plantes médicinales ,3 eme édition ,TEC et DOC .Paris ,p :310-312-318-319-321-370-371-372-463-783-784-790.1292.

- **Bruneton, J. (2016).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (5e éd.). Éditions Lavoisier. (1488 p).

- **Buckle, J. (2015).** Aromatherapy for stress in patients and hospital staff. Alternative and Complementary Therapies, 21(5), 210–213.

- **Chabrier, J.-Y. (2010)**. Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie (Thèse d'exercice de Docteur en Pharmacie, Université Henri Poincaré - Nancy 1). HAL thèses. (184 p).

- **Chahal, K. K., Kaur, M., Bhardwaj, U., Singla, N., & Kaur, A. (2017).** A review on chemistry and biological activities of Laurus nobilis L. essential oil. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 6(4), 1153–1161

- **Charchari, S., Beddar, B., & Arab, S. (2013).** Entraînement à la vapeur d'eau à l'échelle semi-pilote de l'huile essentielle du Rosmarinus officinalis L.: optimisation et extraction assistée par tensioactif. Récents Progrès en Génie des Procédés, (104), pp. 1-8. Éditions SFGP.

- **Chebaibi A., et al. (2016).** Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. Phytotherapie, 14(6):355-362.

- **Chee.W. J. Y., Chew, S. Y., & Than, L. T. L. ,(2020),** Vaginal microbiota and the potential of Lactobacillus derivatives in maintaining vaginal health, *Microbial Cell Factories*, *19*(1), 203.

- **Chopra, C., Kumar, V., Kumar, M., & Bhushan, I , (2024)** ,Role of vaginal microbiota in idiopathic infertility: a prospective study , *Microbes and Infection* , *26*(4), 105308.

- **Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., ... & Vlietinck, A. J. (2002).** Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of ethnopharmacology*, *79*(2), 213-220.

- **Coeuret, V., Dubernet, S., Bernardeau, M., Gueguen, M., & Vernoux, J. P. (2003).** Article. *Le Lait*, *83*(4), 269-306. https://doi.org/10.1051/lait:2003019

- **Cunningham, A. B. (2014).** Applied ethnobotany: People, wild plant use and conservation. Routledge. (312 p).

- **Dalia, F., & Bentchouala, C. (2022).** Etude des principales plantes médicinales aromatiques utilisées traditionnellement en infectiologie respiratoire dans le Nord-Est Algérien (Doctoral dissertation, Université Constantine 3 Salah Boubnider, Faculté de médecine). (175 p).

- **Dasari S., Shouri R.N.D., WudayagiriR.et Valluru L. (2014)** Antimicrobial activity of against microbial flora of cervicovaginal infections. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 4(1): 18-24.

- **De Oliveira Ignacio, M. A., Marconi, C., Bidinotto, L. T., Balsanelli, E., Belleti, R., Da Silva, M. G., & Duarte, M. T. C. (2026).** Characteristics associated with Lactobacillus-depleted vaginal microbiota in women with different sexual behavior. Scientific Reports, 16(1). https://doi.org/10.1038/s41598-025-34977-2

- **De Souza, E. L. (2021).** Insights into the current evidence on the effects of essential oils toward beneficial microorganisms in foods with a special emphasis to lactic acid bacteria – A review. *Trends In Food Science & Technology*, *114*, 333-341. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.011

- **Delaney, M. L., & Onderdonk, A. B. (2001).** Nugent score related to vaginal culture in pregnant women. Obstetrics and gynecology, 98(1), 79–84.

- **Djilani, A. et Dicko, A. (2012).** The Therapeutic Benefits of Essential Oils. Nutrition, Well-Being and Health, Pp : 155-178.

- **Djousse, B. M. K., Ngoune, N. F., Djoukeng, H. G., Nono, L. W., Sogang, H. S., & Tangka, J. K. (2022).** Extraction et caractérisation des huiles essentielles de trois plantes aromatiques cultivées à l'Ouest-Cameroun : Rosmarinus officinalis, Salvia officinalis et Cymbopogon citratus. Cameroon Journal of Biological and Biochemical Sciences, 30(2), 121-133.

- **Dobroslavić, E., Repajić, M., Dragović-Uzelac, V., & Elez Garofulić, I. (2022).** Isolation of Laurus nobilis leaf polyphenols: A review on current techniques and future perspectives. Foods, 11(2), Article 235

- **Dris, I. (2020).** Caractérisation chimique des huiles essentielles de Pistacia lentiscus L. Evaluation du pouvoir antimicrobien et antioxydant Thèse de doctorat, Université Ahmed Ben Yahia El wancharissi-Tissemsilt). (162 p).

- **EDQM. (2022**). Pharmacopée européenne (11e éd.). Direction européenne de la qualité du médicament & soins de santé, Conseil de l'Europe**.**

- **El Alami, A., Farouk, L., & Chait, A. (2016).** Étude ethnobotanique sur les plantes médicinales spontanées poussant dans le versant nord de l'Atlas d'Azilal (Maroc). Algerian Journal of Natural Products, 4(2), 271-282

- **El amri, J. ; Elbadaoui, K. ; Zair, T. ; bouharb, H. ; chakir, S. et Alaoui, T. L. (2014).** Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de Teucrium Références bibliographiques 95 capitatium L et l'extrait de Siléne vulgaris sur différentes souches testées. Journal of Applied Biosciences, 82: 7481-7492.

- **Essawi, T., et Srour, M., (2000)**. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. Journal of Ethnopharmacology ,70, pp. 343-349.

- **Ezzariga, N., Moukal, A., Asdadi, A., Lemkhente, Z., Moustaoui, F., Kaaya, A., & Aghrouch, M. (2025).** Evaluation of the Antimicrobial Activity of 20 Essential Oils and

Their Combinations on Bacterial and Fungal Strains. Cureus, 17(2), e79499. https://doi.org/10.7759/cureus.79499

- **Elsevier. (s.d.).** Salvia officinalis – an overview. ScienceDirect Topics
- **F. Baba Aissa,(2000)**« Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident », Ed Libr. Mod. Rouiba, vol. 46,
- **Fadil, M., Farah, A., Ihssane, B., Haloui, T., & Rachiq, S. (2015).** Optimisation des paramètres influençant l'hydrodistillation de Rosmarinus officinalis L. par la méthodologie de surface de réponse Optimization of parameters influencing the hydrodistillation of Rosmarinus officinalis L. by response surface methodology. J. Mater. Environ. Sci, 6(8), 2346-2357.
- **Fani, M., & Kohanteb, J. (2017).** In vitro antimicrobial activity of Thymus vulgaris essential oil against major oral pathogens. Journal of evidence-based complementary & alternative medicine, 22(4), 660-666.
- **Fellah, S., Romdhane, M., & Abderraba, M. (2006).** Extraction et étude des huiles essentielles de la Salvia officinalis L. cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. Journal de la Société Algérienne de Chimie, 16(2), 193-202
- **Ferhat,M.A.(2007).** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes des huiles essentielles des Citrus d"Algérie : Compréhension, Application et Valorisation(36). Thèse de l"Université des Sciences et Technologie Houari Boumediene, Faculté de Chimie, Algérie. 2007.
- **Franchomme, P., & Pénoël, D. (2001)**. L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Éditions Roger Jollois. (490 p).
- **François, B., Borga, M., Anquetin, S., & Vivoni, E. R. (2011).** "Physically based modeling of flash flood in Mediterranean regions." Environmental Modelling & Software, 26(10), 1389-1401.
- **Frydrysiak, E., Śmigielski, K., Zabielska, J., Kunicka-Styczyńska, A., & Frydrysiak, M. (2017)**. Antibacterial activity of essential oils potentially used for natural fiber

pantiliner textronic system development. Procedia Engineering, 200, 416–421. https://doi.org/10.1016/j.proeng.2017.07.058

- **Gagnon, Y. (2021)**. Étude de l'extraction des huiles végétales en milieu aqueux assistée par des tensioactifs (Thèse de doctorat, Université de Technologie de Compiègne). (231 p). HAL Thèses. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-03667948

- **Gärtner, M. A., Bondzio, A., Braun, N., Jung, M., Einspanier, R., & Gabler, C. (2015).** Detection and characterisation of Lactobacillus spp. in the bovine uterus and their influence on bovine endometrial epithelial cells in vitro. *PloS one*, *10*(3), e0119793. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119793
- générales d'analyse. Norme NF T 75-006, Association Française de Normalisation, Paris, France.

- **Giannoulis, K. D., Skoufogianni, E., Bartzialis, D., Solomou, A. D., & Danalatos, N. G. (2021)**. Growth and productivity of Salvia officinalis L. under Mediterranean climatic conditions depends on biofertilizer, nitrogen fertilization, and sowing density. Industrial Crops and Products, 160, Article 113136.

- **Goetz P et Ghedira K. (2012).** Phytothérapie anti-infectieuse. Edition : Springer-Verlag

- **Goudjil, M. B. (2016).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques (Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah – Ouargl). (197 p).

- **Guillaume, D., & Charrouf, Z. (2005).** Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (Argania spinosa). Cahiers Agricultures, 14(6), 509-516.

- **Gupta R.K, Nand P, Drabu S. (2012)**. In vitro antibacterial and antioxidant potential of medicinal plants used in the treatment of acne. Int. J. Pharm. Sci. 4: 185-190

- **Gupta, M., Raut, R., Manandhar, S., Chaudhary, A., Shrestha, U., Dangol, S., G C, S., Budha, K. R., Karki, G., Díaz-Sánchez, S., Gortazar, C., de la Fuente, J., Rajbhandari, P., Manandhar, P., Napit, R., & Karmacharya, D. (2023).** Identification and characterization of probiotics isolated from indigenous chicken (Gallus domesticus) of Nepal. *PloS one*, *18*(1), e0280412. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0280412

- **Haahr, T., Ovesen, S., la Cour Freiesleben, N. *et al.*, (2025),** Vaginal microbiota correlations to gynecological symptoms, intimate hygiene practices, and background parameters of IVF patients: a cross-sectional study. *J Assist Reprod Genet* **42**, 3443–3452 https://doi.org/10.1007/s10815-025-03629-9

- **Haddouchi, F., Lazouni, H. A., Meziane, A., & Benmansour, A. (2009)**. Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de Thymus fontanesii Boiss & Reut. Afrique science: Revue internationale des sciences et technologie, 5(2).

- **Hamidpour, M. R. S., Shahlari, M. (2014)** - Chemistry, Pharmacology, and Medicinal Property of Sage (Salvia) to Prevent and Cure Illnesses such as Obesity, Diabetes, Depression, Dementia, Lupus, Autism, Heart Disease, and Cancer. Vol.4, N°, pp.82– 88

- **Han, Y., Liu, Z., & Chen, T. (2021).** Role of vaginal microbiota dysbiosis in gynecological diseases and the potential interventions. *Frontiers in microbiology*, *12*, 643422.

- **Hans, W. K. (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition, 6-7.

- **Hassas, B. (2018).** Valorisation de la plante Inula viscosa : Extraction des huiles essentielles et des antioxydants, et étude de leur activité biologique (Thèse de doctorat, Université Frères Mentouri Constantine1). ResearchGate https://www.researchgate.net/figure/Montage-dextraction-par-les-fluides supercritiques_fig8_343615181

- **Hazzit, M., Baaliouamer, A., Veríssimo, A. R., Faleiro, M. L., & Miguel, M. G. (2009).** Chemical composition and biological activities of Algerian Thymus vulgaris L. and Thymus algeriensis Boiss. & Reut. essential oils. Food Chemistry, 116(3), 714-721.

- **Heshelow, E. (2023)**. Livre d'huiles essentielles pour les débutants : Améliorez le sommeil, l'énergie, la digestion, la peau et le système immunitaire en comprenant le pouvoir des huiles essentielles et les bases et la science qui les sous-tendent. Emma Heshelow. (164 p).

- **Hesser, J. M., Hartman, P. A., & Saul, R. A. (1967).** Lactobacilli in ensiled high-moisture corn. Applied microbiology, 15(1), 49–54. https://doi.org/10.1128/am.15.1.49-54.1967

- **Hilali, S. (2020)**. Procédé d'extraction des huiles essentielles et des hydrolats aromatisés des plantes aromatiques et médicinales (PAM) par énergie solaire (Doctoral dissertation, Université d'Avignon; Université Cadi Ayyad (Marrakech, Maroc). (172 p.)

- https://cpcms.fr/guide-stage/knowledge-base/phytotherapie-et-aromatherapie

- https://doi.org/10.1016/S1294-5501(04)94231-8 .
- https://doi.org/10.4103/jphi.JPHI_8_17
- **Hudaib, M., Speroni, E., Di Pietra, A. M., & Cavrini, V. (2002).** GC/MS evaluation of thyme (Thymus vulgaris L.) essential oil and fixed oil: Corrosion inhibition and anti-inflammatory issues. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 29(4), 691-700.

- **Hussain, M. S., Jakhmola, V., Maqbool, M., Rana, A. J., Sultana, A., Ramalingam, P. S., Arumugam, S., Goyal, K., Rekha, A., Gupta, S., Ali, H., & Gupta, G. (2025**). The Dual Identity of Laurus nobilis L. : A Culinary Delight and Pharmacological Treasure. *Current Traditional Medicine*, *12*. https://doi.org/10.2174/0122150838401509250818105001

- **Joulault, S. (2012).** La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de diplôme d'état de docteur en pharmacie, faculté de phrmacie.université de lorraine.

- **Kablan B. J., Adiko M., Abrogoua D. P. (2008).** Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de Kalanchoe crenata et de Manotes longi,flora utilisées dans les ophtalmies en Côte d'ivoire.Phytothérapie, 6(5), 282-288.

- **Kanoune, K. (2021**). Phytothérapie entre intérêts et risques (Thèse de doctorat en médecine, Université Mohammed V de Rabat). Toubkal. (180 p).

- **Karami, S., Roayaei, M., Hamzavi, H., Bahmani, M., Hassanzad-Azar, H., Leila, M., & Rafieian-Kopaei, M. (2017).** Isolation and identification of probiotic *Lactobacillus* from local dairy and evaluating their antagonistic effect on pathogens. *International journal of pharmaceutical investigation*, *7*(3), 137–141.

- **Khodja, Y. K., Bachir-bey, M., Belmouhoub, M., Ladjouzi, R., Dahmoune, F., &, B. (2023)**. The botanical study, phytochemical composition, and biological activities of

Laurus nobilis L. leaves: A review. International Journal of Secondary Metabolite, 10(2), 269–296

- **Kholkhal, F. (2014).** Étude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de Thymus ciliatus ssp coloratus et ssp euciliatus [Thèse de Doctorat]. Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen, 148 p

- **Koffi, A. E. (2013).** Étude de l'activité antibactérienne d'extraits de Morinda morindoides (Baker) Milne-Redhead (Rubiaceae), sur la croissance in vitro de souches cliniques et de souches environnementales de Vibrio cholerae O: 1 (Doctoral dissertation, Université Félix Houphouêt-Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire); Numéro d'ordre 832/2013). (171 p).

- **Konovalov, D. A., & Alieva, N. M. (2019).** Phenolic compounds of Laurus nobilis (review). Pharmacy & Pharmacology, 7(5), 244–259.

- **Kovachev, S. (2017).** Defence factors of vaginal lactobacilli. *Critical Reviews in Microbiology*, *44*(1), 31–39 https://doi.org/10.1080/1040841x.2017.1306688

- **Kuete, V. (2017)**. Thymus vulgaris. Medicinal spices and vegetables from Africa, 599-609.

- **Kulisic, T., Radonic, A., & Milos, M. (2005)**. Antioxidant properties of thyme (Thymus vulgaris L.) and wild thyme (Thymus serpyllum L.) essential oils. Italian journal of food science, 17(3), 315.

- **Kovachev, S. (2017).** Defence factors of vaginal lactobacilli. Critical Reviews inMicrobiology, 44(1), 31–39 https://doi.org/10.1080/1040841x.2017.1306688

- **Laccourreye, O., Werner, A., Laccourreye, L., & Bonfils, P. (2017).** La phytothérapie en pratique clinique en otorhinolaryngologie : apport, limites et risques. Annales françaises d'Otorhino-laryngologie et de Pathologie Cervico-faciale, 134(2), 90-95.

- **Lardry, J.-M., & Haberkorn, V. (2007).** L'aromathérapie et les huiles essentielles. Kinésithérapie, la Revue, 7(61), 14–17.

- **Liberale L, Badimon L, Montecucco F, Lüscher TF, Libby P, Camici GG. (2022).** Inflammation, Aging, and Cardiovascular Disease: JACC Review Topic of the Week. J Am Coll Cardiol. Mar 1;79(8):837-847.

- **Liu, S., Chen, Y., Zhang, K., Tang, D., Zhang, J., Wang, Y., Zhao, J., Li, D., & Wang, T. (2025).** Exploring vaginal microbiome: from traditional methods to metagenomic next-generation sequencing-a systematic review. *Frontiers in microbiology*, *16*, 1578681. https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1578681

- **Liu.T, Kress, A. M., Debelius, J., Zhao, N., Smirnova, E., Bandyopadhyay, S., Bonham, K., Comstock, S. S., Gill, S., Gern, J. E., Koinis-Mitchell, D., Klepac-Ceraj, V., Lee-Sarwar, K., Litonjua, A. A., McKee, K., McCauley, K., O'Connor, T. G., Rosas-Salazar, C., Scheible, K., Stanford, J. B., Moore, B., Jacobson, L. P., & Mueller, N. T.** , **(2025)**, *Maternal vaginal and fecal microbiota in later pregnancy contribute to child fecal microbiota development in the ECHO cohort*. **iScience, 28**, 112-211.

- **Lopresti, A. L. (2017).** Salvia (sage): a review of its potential cognitive-enhancing and protective effects. Drugs in R&D, 17(1), 53-64.

- **Abdelkader, B. Ahcen, D. Rachid, et H. Hakim**, **(2015)**« Phytochemical study and biological activity of sage (Salvia officinalis L.) », Int. J. Bioeng. Life Sci., vol. 8, n 11 p. 1253- 1257,

- **Mahmoudi A. et Mameche K. (2019).** Les infections urinaires et les infections vaginales Caractérisées dans un laboratoire médical du Dr. Boudissa à Boumerdès. Mémoire de Master. Département de biologie. Faculté de SNV et ST. Université AKLI Mohand Oulhadj de Bouira. P (3-60).

- **Martín, R., Soberón, N., Vázquez, F., & Suárez, J. E. (2008).** La microbiota vaginal: composición, papel protector, patología asociada y perspectivas terapéuticas. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 26(3), 160–167. https://doi.org/10.1157/13116753

- **Martínez-Peña, M. D., Castro-Escarpulli, G., & Aguilera-Arreola, M. G. (2013).** Lactobacillusspecies isolated from vaginal secretions of healthy and bacterial vaginosis-

intermediate Mexican women: a prospective study. *BMC Infectious Diseases*, *13*(1), 189. https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-189

- **Mauries.C, Ranisavljevic, N., Gallet, R., Fournier, A., Gala, A., Ferrières-Hoa, A., Brouillet, S., & Hamamah, S., (2021),** Évaluation du microbiote génital : une approche émergente en assistance médicale à la procréation , Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie , 49(3), 185–192

- **Maxicours. (s. d.).** Principe de l'extraction par un solvant. Consulté le 22 mai 2024, à l'adresse https://www.maxicours.com/se/cours/principe-de-l-extraction-par-un-solvant/

- **Mazari K, Bendimerad N, Bekhechi C et Fernandez X. (2010).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian Juniperus phoenicea L. and Cupressus sempervirens L. Journal of Medicinal Plants Research. 4(10), 959-964, 18.

- **Mehani, M. (2015).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Eucalyptus camaldulensis dans la région de Ouargla (Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah – Ouargla). (137 p).

- **Melloul, S., & Zehioua, R. (2023)**. Conception de fluide supercritique pour l'extraction a fluide supercritique d'huile des plantes naturelles (Doctoral dissertation, Université Constantine 3 Salah Boubnider, Faculté de génie des procédés pharmaceutiques).(115 p).

- **Mendil, A., & Laraba-djebari, F. (2020).** Antioxidant and Anti-Inflammatory properties of Essential Oils of Salvia officinalis on Immunopathological effects induced by Scorpion Envenomation. Algerian Journal of Health Sciences, 2(2), 15-24.

- **Mendling. W, (2016),**.Vaginal Microbiota. In Advances in Experimental Medicine and Biology (pp. 83–93).

- Méthode de référence (Norme NF ISO 279). Association française de normalisation

- **Moatti, R. (1990).** La phytothérapie. Revue des Deux Mondes, 80-89. (10 p).

- **Mondiale de la Santé, O. (2016).** Préparation de solution tamponnée à pH 7, 2 (No. WHO/HTM/GMP/MM/SOP/2016.03 a). Organisation mondiale de la Santé.

- **Morsli .M, Gimenez, E., Magnan, C., Salipante, F., Huberlant, S., Letouzey, V., & Lavigne, J. (2024).** The association between lifestyle factors and the composition of the vaginal microbiota: a review. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, *43*(10), 1869–1881
- **Martín, R., Soberón, N., Vázquez, F., & Suárez, J. E. (2008).** La microbiota vaginal: composición, papel protector, patología asociada y perspectivas terapéuticas. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 26(3), 160–167. https://doi.org/10.1157/13116753
- **Moya-Beltrán, A., Sánchez, C., Bórquez B., C. *et al.* (2025)** Characterization of vaginal prokaryotes and eukaryotes microbiota and its link to sexually transmitted infections. *Sci Rep* **15**, 34073. https://doi.org/10.1038/s41598-025-14573-0
- **Muthusamy, S., & Elangovan, S. (2016).** Comparison of Amsel's criteria, Nugent score and culture for the diagnosis of bacterial vaginosis. *SHILAP Revista De Lepidopterología*. https://doi.org/10.7860/njlm/2016/17330:2095
- **Müller, J., & Heindl, A. (2006).** Aspects of dried medicinal plants. In R. J. Bogers, L. E. Craker, & D. Lange (Eds.), Medicinal and Aromatic Plants: Agricultural, Commercial, Ecological, Legal, Pharmacological and Social Aspects (pp. 71–86).
- **Najar B, Pistelli L, Ferri B, Angelini LG, Tavarini S(2021)** Crop Yield and Essential Oil Composition of Two Thymus vulgaris Chemotypes along Three Years of Organic Cultivation in a Hilly Area of Central Italy. Molecules. 23;26(16):5109.
- **Naouel O, (2015).** Étude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, .de fenouil et de persil. Thése doctorat Université d'Oran 1, wilaya d'Oran, Algérie, 239 p.
- **Nardis, C., Mosca, L., & Mastromarino, P. (2013).** Vaginal microbiota and viral sexually transmitted diseases. *Ann Ig*, *25*(5), 443-56.
- **Ouedraogo, W. J., Yerbanga, R. S., Meda, R., Ouedraogo, J. B., & Ouedraogo, G. A. (2024)**. Revue des Plantes Médicinales à Potentiel Aromatique du Burkina Faso: Medicinal Plants of Aromatic Potential from Burkina Faso: a Review. Health Research in Africa, 2(8).

- **Ouibrahim, A., Kaki, Y. T., Bennadja, S., Mansouri, R., Kaki, S. A., Khbizi, S., & Djebar, M. (2015).** Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de Laurus nobilis L. provenant de la région d'El Kala (Nord–Est Algérien). DOAJ (DOAJ : Directory Of Open Access Journals).
https://doaj.org/article/25fef2ea68ee4dd09d3a5080109a7745

- **OUIBRAHIM, A., TLILI AIT KAKI, Y., BENNADJA, S., MANSOURI, R., AIT KAKI, S., KHBIZI, S., & DJEBAR, M.-R. (2015).** Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de Laurus nobilis L. provenant de la région d'El Kala (Nord–Est Algérien). Algerian Journal of Natural Products, 3(3), 209-2016. https://asjp.cerist.dz/en/article/34845

- **Ouled Taarabt, K., Koussa, T., & Najib Alfeddy, M. (2017).** Caractéristiques physicochimiques et activité antimicrobienne de l'huile essentielle du Laurus nobilis L. au Maroc. Afrique SCIENCE, 13(1), 349-359.

- **P. Tailliez**, Les lactobacilles : propriétés, habitats, rôle physiologique et intérêt en santé humaine, Antibiotiques,Volume 6, Issue 1, Part 1,2004,Pages 35-41,ISSN 1294-5501,

- **Paparella, A., Nawade, B., Shaltiel-Harpaz, L., & Ibdah, M. (2022).** A review of the botany, volatile composition, biochemical and molecular aspects, and traditional uses of Laurus nobilis. Plants, 11(9), Article 1209.

- **Patrakar, R., Mansuriya, M., & Patil, P. (2012)**. Phytochemical and pharmacological review on Laurus nobilis. International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives, 3(3), 595–602

- **Pépinières Bretagne. (s.d.). (**2024) Laurus nobilis (Laurier sauce). Consulté le 22 mai 2024, à l'adresse https://www.pepiniere-bretagne.fr/detailarticle.php?ID_ARTICLE=8153

- **Pépinières Rouxel. (2024). (s.d). Thymus vulgaris 'Compactus' -Thym compact. https://www.pepinieres-rouxel.fr/plantes-couvre-sol/5245-thymus-vulgaris compactus-thym-compact.html**

- **Pironon, S., Borrell, J. S., Williams, C., Govaerts, R., & Willis, K. J. (2024).** The global distribution of plants used by humans. Science, 383(6680), 293–297.

- **Prasanth Reddy, V., Ravi Vital, K., Varsha, P. V., & Satyam, S. (2014).** Review on Thymus vulgaris traditional uses and pharmacological properties. Med Aromat Plants, 3(164), 2167-0412.

- **Quézel P.,Santa S., (1962)**. New flora of Algeria and the southern desert regions. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique. 565

- **Rashidi, M., Shahhoseini, R., & Abtahi, F. S. (2025)**. Metabolic and morpho-physiological responses of Salvia officinalis to superabsorbent polymer in combination with chemical and biological nitrogen nutrition. Industrial Crops and Products, 238, Article 122358.

- **Rashidipour, M., Shakib, P., Goudarzi, G., Pournia, Y., Karimi, M., & Sarlak, M. (2022).** Native Iranian Medicinal Plants with Anti-Vaginal Infection Properties: A Systematic Review. Infectious disorders drug targets, 22(6), e010522204326. https://doi.org/10.2174/1871526522666220501171551

- **Raval, K., Shekh, S., Prajapati, B., Jangbari, N., Rana, A., Gupta, S., Joshi, C., & Joshi, M. (2026)**. Understanding the probiotic potential of a healthy human vaginal flora, Lactobacillus gasseri K9 : genomic and in vitro aspects. Journal Of Genetic Engineering And Biotechnology, 24(2), 100671. https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2026.100671

- **Reddy, T. U. K., Sindhu, G., Rajesh, S., & Aruna, B. (2017).** A review on Thymus vulgaris for its reported pharmacological activities and major chemical constituents. Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences, 4(5), 1372–1376

- **Rosato A, Piarulli M, Corbo F, Muraglia M, Carone A,Vitali M E et Vitali C.(2010).**In Vitro Synergistic Action of Certain Combinations of Gentamicin and Essential Oils.Current Medicinal Chemistry. 17 (28), 3289-3295.

- **Sahraoui, N. (2012)** Mise au point d'un nouveau procédé d'extraction d'huiles essentielles assisté par microondes: Application à la valorisation des plantes locales et comparaison

avec les procédés conventionnels. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Polytechnique d'Alger.

- **Salemkour, N., Chaib, W., Absi, K., Bettiche, F., Mancer, H., Bengouga, K., & Fadlaoui, H. (2026).** Étude des caractères organoleptiques, physico-chimiques et de l'activité antioxydante de l'huile essentielle du Romarin (Rosmarinus officinalis L.). Journal Algérien des Régions Arides, 19(1), 1-13.

- **Samai, Z. (2023).** Contribution à l'étude phytochimique et pharmacologique de quelques plantes du nord-est algérien (Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar - Annaba. (210 p).

- **Sangun, L., Karaca, H., Bayrak, A., & Ekici, K. (2007**). Comparison of yield and chemical composition of essential oil of Laurus nobilis L. leaves from different regions in Turkey. Journal of Applied Biological Sciences, 1(2), 73-76

- **Saraf .V.S., Sheikh, S. A., Ahmad, A., Gillevet, P. M., Bokhari, H., & Javed, S. (2021).** Vaginal microbiome: normalcy vs dysbiosis. Archives of Microbiology, 203(7), 3793–3802

- **Schwiertz, A., Duttke, C., Hild, J., & Muller, H. (2006)**. In vitro activity of essential oils on microorganisms isolated from vaginal infections. *International Journal Of Aromatherapy*, *16*(3- 4), 169- 174. https://doi.org/10.1016/j.ijat.2006.09.005

- **SHARIFI-RAD, Mehdi, et al.(2018).** Salvia spp. plants-from farm to food applications and phytopharmacotherapy. Trends in Food Science & Technology, , 80: 242-263

- **Silva, A. S., Tewari, D., Sureda, A., Suntar, I., Belwal, T., Battino, M., ... & Nabavi, S. F. (2021)**. The evidence of health benefits and food applications of Thymus vulgaris L. Trends in Food Science & Technology, 117, 218-227.

- **Singleton, D.R., Powell, S.N., Sangaiah, R., Gold, A., Ball, L.M., Aitken, M.D**.(2005) Stableisotope probing of bacteria capable of degrading salicylate, naphthalene, or phenanthrene in a bioreactor treating contaminated soil. Appl. Environ. Microbiol. ;71:1202

- **Stefanova, G., Girova, T., Gochev, V., Stoyanova, M., Petkova, Z., Stoyanova, A., & Zheljazkov, V. D. (2020)**. Comparative study on the chemical composition of laurel (Laurus nobilis L.) leaves from Greece and Georgia and the antibacterial activity of their essential oil. Heliyon, 6(12), Article e05698.

- **Surbone .A, Pache .B, Mathevet.P. (2022).** Microbiote vaginal et vaginose, *Revue Médicale Suisse*, *18*(800), 1941–1949

- **Suwal, S., & Marciniak, A. (2018).** Technologies for the Extraction, Separation and Purification of polyphenols–A Review. Nepal Journal of Biotechnology, 6(1), 74-91.

- **Tailliez, P. (2004).** Les lactobacilles : propriétés, habitats, rôle physiologique et intérêt en santé humaine. *Antibiotiques*, *6*(1), 35–41.

- **Tajabadi, N., Mardan, M., Saari, N., Mustafa, S., Bahreini, R., & Manap, M. Y. (2014).** Identification of Lactobacillus plantarum, Lactobacillus pentosus and Lactobacillus fermentum from honey stomach of honeybee. Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology], 44(3), 717–722. https://doi.org/10.1590/s1517-83822013000300008

- **Taleb-Toudert, K. (2015**). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé Callosobruchus maculatus (Coleoptera : Bruchidae) (Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou)

- **Teuscher E., Anton R., et Lobstein A. (2005).** Plantes Aromatiques (épices, aromates, condiments et huiles essentielles).Edition Tec et Doc. Paris. Edition. E.M. inter. Allemagne. P : 266

- **Tomar O., Veli G., Gokhan A., Mohamed F., Ramadan H. (2020).** Composition and antibacterial effects of laurel (Laurus nobilis L.) leaves essential oil. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 23(2), 414-421

- **Toparslan, O. (2012).** Structure chimique des principaux alcaloïdes de N. sativa L. ResearchGate.

- **Tortora, G.J., Funke, B.R., Case C.L. (2003)**.Introduction à la microbiologie. Edition durenouveau pédagogique.Canada.945p.

- **Touhami A. (2017).** Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres Thymus récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement.Thèse de doctorat,chimie,Université Badji Mokhtar Annaba,134p

- **Toyokuni S. (2016)**. Oxidative stress as an iceberg in carcinogenesis and cancer biology. Arch BiochemBiophys. 595: 46-49.

- **Tripathi, N., Zubair, M., & Sapra, A. (2025, March 28).** Gram staining. StatPearls - NCBI Bookshelf. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562156/

- **Van Den Tweel, M., Van Den Munckhof, E., Van Der Zanden, M., Molijn, A., Van Lith, J., & Boers, K. (2024).** The vaginal microbiome changes during various fertility treatments, *Reproductive Sciences*, *31*(6), 1593–1600.

- **Vardeman, E. T., Cheng, H., Vandebroek, I., & Kennelly, E. J. (2026).** The effects of the Caribbean medicinal plant Argemone mexicana on Gardnerella vaginalis using a co-culture method with vaginal Lactobacillus spp. Scientific Reports, 16(1), 1553. https://doi.org/10.1038/s41598-025-26731-5

- **Vardeman, E.T., Cheng, HP., Vandebroek, I. *et al.* (2026).** The effects of the Caribbean medicinal plant *Argemone mexicana* on *Gardnerella vaginalis* using a co-culture method with vaginal *Lactobacillus* spp.. *Sci Rep* 16, 1553.

- **Vazquez.F., Fernández-Blázquez, A., & García, B. (2018).** Vaginosis. Microbiota vaginal. Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica, 37(9), 592–601.

- **Verhelst, R., Verstraelen, H., Claeys, G., Verschraegen, G., Van Simaey, L., De Ganck, C., De Backer, E., Temmerman, M., & Vaneechoutte, M. (2005)**. Comparison between Gram stain and culture for the characterization of vaginal microflora : Definition of a distinct grade that resembles grade I microflora and revised categorization of grade I microflora. BMC Microbiology, 5(1), 61. https://doi.org/10.1186/1471-2180-5-61

- **Vinerbi .E , F. Chillotti, A. Maschio, S. Lenarduzzi, S. Camarda, F. Crobu, D. V. Zhernakova, V. Lo Faro, G. Beltrame Vriz, S. Incollu, J. Spreckels, N. Kuzub, A. Kadric, R. Gacesa, A. Zhernakova, F. De Seta, D. Mazzà, F. Busonero, M. L. Ferrando, G. Girotto, S. Sanna. (2025).** Lactobacillus iners dominates the vaginal microbiota of healthy Italian women of reproductive age,mSystems ,Volume 10.

- **Vinitha.G., Balakrishnan, J., Nagarajan, P., & Kannan, S. (2025).** Reconnoitering the Association of Vaginal Microbiota Composition in the Female Reproductive Tract with Health and Disease. The Open Microbiology Journal, 19(1).

- **Wichtl, M., & Anton, R. (2003).** Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique (2e éd., p. 1). Tec & Doc. (692 p).

- **Yahyaoui, M. (2020).** Application des huiles essentielles dans le domaine des embalages alimentaires. (192 p).

- **Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011).** Évaluation de l'activité antimicrobienne de Thymus vulgaris et de Laurus nobilis, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*, *9*(4), 209-218.

- **Young, R. B., Correia, G. D., & MacIntyre, D. A. (2026).** Host, microbial, and environmental drivers of vaginal microbiota composition. Fertility And Sterility, 125(4), 548- 557. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2026.01.020

- **Youssef, A.A., Shaaban, O.M., Kamal, M. *et al., (*2023)**, Internal vaginal douching increases the incidence of vaginal infection among IUD users: a cross-sectional study. *Middle East Fertil Soc J* 28, 19 . https://doi.org/10.1186/s43043-023-00143-9

- **Zeghad N. (2009)**. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne . Mémoire de magister (Ecole doctorale). Université Mentouri Constantine.p: 83.

- **Zhang, J., McWhorter, A. R., Khan, S., Willson, N. L., & Chousalkar, K. K. (2025).** Characterization of Lactobacillus spp. isolated from layer hens as probiotic candidates. BMC veterinary research, 21(1), 416. https://doi.org/10.1186/s12917-025-04847-0

- **Zhu, F., Du, B., Xu, B., (2018).** Anti-inflammatory effects of phytochemicals from fruits,vegetables, and food legumes: A review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 58, 1260–1270
- **Ziarno, M., Kozłowska, M., Ścibisz, I., Kowalczyk, M., Pawelec, S., Stochmal, A., & Szleszyński, B. (2021)**. The Effect of Selected Herbal Extracts on Lactic Acid Bacteria Activity. *Applied Sciences*, *11*(9), 3898. https://doi.org/10.3390/app11093898

Annexes

Annexe 01 : Photographie du produit probiotique utilisé pour l'isolement des lactobacilles

Annexe02 : le consentement

Etablissement public de santé de proximité (EPSP) de Mostaganem
Rue Benanteur Charef, Mostaganem, Algeria
Telephone: +213 45 20 24 05
Email: epsp2701@gmail.com

Nadia BECHELAGHEM
Ecole supérieure d'agronomie de Mostaganem, Algeria.
Mobile: +213782314836
Email: n.bechelaghem@esa-mosta.dz

Consentement à participer à la recherche [Evaluation *in vitro* de l'effet des huiles essentielles de plantes médicinales traditionnelles utilisées contre les infections vaginales sur le microbiote vaginal]

Référence d'approbation de l'établissement public de santé de proximité (EPSP) de Mostaganem :……..

Objectif de cette recherche : Examen *in vitro* des caractéristiques des lactobacilles isolés à partir de prélèvements vaginaux de femmes algériennes en bonne santé comme éventuel probiotique ou post-biotique pour la prévention et le traitement des infections génitales.

Ces femmes peuvent consulter et voir leurs résultats après la fin de cette étude et tous se passe comme un dépistage.

*Veuillez cocher chaque case si vous êtes d'accord

- J'ai eu l'occasion d'examiner les informations, de poser des questions et j'ai obtenu des réponses satisfaisantes. ☐
- Je comprends que ma participation est volontaire et que je suis libre de me retirer à tout moment [jusqu'au …/..../ .....], sans donner de raison. ☐
- Je comprends qui aura accès aux données personnelles fournies, comment les données seront stockées et ce qu'il adviendra des données à la fin du projet ☐
- Je comprends que je ne serai pas identifiable à partir de toute publication ou énumérez ici d'autres résultats de recherche, par exemple, des rapports pour des organisations spécifiques, des présentations ☐
- Je comprends comment mes informations seront utilisées dans les résultats de la recherche. ☐

Je confirme avoir lu et compris la fiche d'information version relative à la recherche ci-dessus

Etablissement public de santé de proximité (EPSP) de Mostaganem
Rue Benanteur Charef, Mostaganem, Algeria
Telephone: +213 45 20 24 05
Email: epsp2701@gmail.com

Nadia BECHELAGHEM
Ecole supérieure d'agronomie de Mostaganem, Algeria.
Mobile: +213782314836
Email: n.bechelaghem@esa-mosta.dz

Nom de la participante	Date	Signature
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____
_____.	_____.	_____

Nom de la personne prend le consentement	Date	Signature
BECHELAGHEM Nadia		
_____	_____	_____

Annexe3 : Le Questionnaire

University Abdelhamid Ibn Badis -Mostaganem-
Faculté de sciences de la nature et de la vie
Département de biologie
Microbiologie appliqué 2

Questionnaire pour un recherche de fin d'étude sur la santé vaginale des femmes algériennes

Au cours de la recherche scientifique, nous au t'en que des étudient en Master Microbiologie appliqué et afin de prouver notre thème de recherche « **Evaluation *in vitro* de l'effet des huiles essentielles de plantes médicinales traditionnelles utilisées contre les infections vaginales sur le microbiote vaginal** » on a obligé de faire un prélèvement vaginale extérieur chez les femmes saines non enceinte dont l'âge est entre 18 et 45 ans.

Ces femmes peuvent consulter et voir leur résultat après la fin de cette étude et tous se passe comme un dépistage.

*Veuillez cocher chaque case si vous êtes d'accord

- J'ai eu l'occasion d'examiner les informations, de poser des questions et j'ai obtenu des réponses satisfaisantes. ☐
- Je comprends que ma participation est volontaire et que je suis libre de me retirer à tout moment [jusqu'au …/..../ .....], sans donner de raison. ☐
- Je comprends qui aura accès aux données personnelles fournies, comment les données seront stockées et ce qu'il adviendra des données à la fin du projet ☐
- Je comprends que je ne serai pas identifiable à partir de toute publication ou énumérez ici d'autres résultats de recherche, par exemple, des rapports pour des organisations spécifiques, des présentations ☐
- Je comprends comment mes informations seront utilisés dans les résultats de la recherche. ☐

Je confirme avoir lu et compris la fiche d'information version relative à la recherche ci-dessus

Nom du participant	Date	Signature
Nom de la personne prenant	Date	Signature

University Abdelhamid Ibn Badis -Mostaganem-
Faculté de sciences de la nature et de la vie
Département de biologie
Microbiologie appliqué 2

Échantillon N° :……. Date de prélèvement : …../…./……..

Ce questionnaire est divisé en deux parties : Informations personnelles (marquées d'un *) qui ne seront pas divulguées. Informations relatives aux facteurs physiques, chimiques et psychologiques qui affectent le type et la composition des bactéries vaginales affectant la santé des femmes.

- Nom* : ……
- Prénom* : ……
- Age : ……
- Etat civil : ……
- Durée de cycle menstruel : ……
- Date des dernières règles : ……
- À quelle étape de votre cycle menstruel vous trouvez-vous actuellement ?

  ……
- L'avez-vous la zone intime d'avant en arrière ou vice versa ? ……..
- Utilisez-vous des produits spéciaux pour prendre soin de la zone intime ?

  ☐ Oui ☐ Non
- Comment décririez-vous votre routine ?

  ☐ Régulier ☐ Rare ☐ Rude
- Avez-vous suivi un traitement au cours des 15 dernières jours ?

  ☐ Oui ☐ Non
- Comment décririez-vous votre état psychologique ces jours-ci ?

  ☐ Calme ☐ Normal ☐ Nerveux
- Avez-vous une infection urogénitale dernièrement ?

  ☐ Oui ☐ Non

Annexe 3 : Composition des milieux liquides et solides utilisés

Milieux liquides

MRS Bouillon (MRSB) (g/l)

Peptone de caséine ……..10g

Extrait de viande ……..8g

Extrait de levure ……..4g

Glucose ……..20g

Hydrogénophosphate dipotassique ……....2g

Tween 80…….1g

Hydrogénocitrate di-ammonium ……2g

Acétate de sodium……..5g

Sulfate de magnésium ……0,2g

Sulfate de manganèse ……0,04g

Eau distillée ……..1000 ml

pH =6,5±0,1

Milieux solides

MRS Agar (MRSA) (g/l)

Peptone de caséine ……10g

Extrait de viande…….8g

Extrait de levure……..4g

Glucose …….20g

Hydrogénophosphate dipotassique ……2g

Tween 80……1g

Hydrogénocitrate di-ammonium ……...2g

Acétate de sodium……..5g

Sulfate de magnésium …….0,2g

Sulfate de manganèse …….0,04g

Agar ……..20g

Eau distillée……1000 ml

pH =6,5±0,1