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

ELMOKHTARI Nadjlae

&

BENKADDOUR Halima

Thème :

Étude *in vitro* de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L, *Laurus nobilis* L et *Thymus vulgaris* L sur les agents responsables des infections vaginales chez la femme

Soutenue le 18/06/2026

Devant le jury composé de :

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

Année Universitaire : 2025/2026

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu le Tout-Puissant de nous avoir donné la force, la patience et le courage pour mener à bien ce travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à notre encadrante ***Dr BECHELAGHEM Nadia*** ainsi qu'à notre co-encadrant ***Dr ARABI Abed*** pour leur disponibilité, leurs précieux conseils, leur orientation et leur accompagnement tout au long de la réalisation de ce mémoire. Leur soutien scientifique et leurs encouragements ont été d'une grande importance dans l'aboutissement de ce travail.

Nos remerciements s'adressent également aux membres du jury, le président ***Pr DJIBAOUI Rachid*** et l'examinatrice ***Dr BENGUENEB Asma***, pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'évaluer ce travail ainsi que pour leurs remarques et suggestions constructives.

Nous remercions chaleureusement le directeur du laboratoire de microbiologie et biologie végétale ***Pr MEKHALDI Abdelkader*** pour son accueil, sa confiance et les moyens mis à notre disposition afin de réaliser cette étude dans les meilleures conditions.

Nous adressons aussi nos sincères remerciements à l'ingénieur du laboratoire ***Mme TAHLAITI Amina*** pour son aide précieuse, sa disponibilité, son assistance technique et ses conseils durant la partie expérimentale.

Nos sincères remerciements à ***Dr HAMOUM Hakim*** pour son soutien, ses encouragements et sa bienveillance tout au long de notre parcours.

Enfin, nos profonds remerciements vont au ***Dr SAIM Nabila*** ainsi qu'à toute ***l'équipe du laboratoire médical El Amine*** pour leur collaboration, leur accueil chaleureux, leur soutien et leur professionnalisme.

Nous remercions également toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire et nous ont soutenues durant notre parcours universitaire.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À mon très ***cher père*** et à ma très ***chère mère***, Pour leur amour infini, leurs sacrifices, leurs encouragements et leur soutien tout au long de mon parcours. Que Dieu vous protège et vous accorde santé et bonheur.

À mes chères sœurs, ***Fatima*** et ***Khouloud***, Pour leur affection, leur présence et leurs encouragements constants.

À mes chers frères, ***Ilyes*** et ***Amdjed***, Pour leur soutien, leur aide et tous les bons moments partagés.

À toute la famille ***Benkaddour*** et ***Boughaïta***, Pour leur soutien moral, leurs prières et leur confiance.

À mes amies et à toutes les personnes qui m'ont soutenue de près ou de loin durant mon parcours universitaire.

À ceux qui ont toujours cru en moi, qui ont su m'encourager dans les moments difficiles et partager avec sincérité mes joies comme mes inquiétudes.

Enfin, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers.

Halima.

Dédicace

الى كل من يترك له اسمي أثرا طيبا في قلبه...

نجلاء

Résumé

Les infections vaginales constituent un problème majeur de santé publique en raison de leur forte prévalence et de l'émergence croissante de résistances aux antimicrobiens conventionnels. Dans ce contexte, les huiles essentielles issues de plantes médicinales suscitent un intérêt croissant grâce à leurs nombreuses propriétés biologiques. Le présent travail porte sur l'étude *in vitro* de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L, *Salvia officinalis* L et *Laurus nobilis L*. Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation et entraînement à la vapeur d'eau. L'activité antimicrobienne a été évaluée après isolement des bactéries issues de prélèvements vaginaux, en ciblant *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp*., *Escherichia coli* et *Candida albicans* par la méthode de diffusion sur gélose, suivie de la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI), bactéricides (CMB) et fongicides (CMF). L'activité antioxydante a été déterminée à l'aide du test au DPPH. Les résultats obtenus montrent que les rendements d'extraction des huiles essentielles sont de 3,1524 % pour *T. vulgaris*, 1,888 % pour *S. officinalis* et 0,42 % pour *L. nobilis*, obtenus par hydrodistillation et entraînement à la vapeur d'eau. Les essais d'activité antimicrobienne ont révélé une sensibilité variable des agents microbiens testés en fonction du type d'huile essentielle utilisé. L'huile essentielle de *T. vulgaris* a présenté la plus forte activité antimicrobienne, avec des diamètres d'inhibition variant de 32 à 65 mm et un effet majoritairement bactéricide et fongicide. Les huiles essentielles de *S. officinalis* et de *L. nobilis* ont montré des activités modérées, avec des diamètres d'inhibition compris respectivement entre 6 et16 mm et 5 et 12 mm. Concernant l'activité antioxydante, l'huile essentielle de *L. nobilis* a présenté la meilleure activité avec une IC_{50} de 82,26 µg/ml, suivie de *T. vulgaris* (161,25 µg/ml) et de *S. officinalis* (1504,41 µg/ml). Cette étude met en évidence le potentiel thérapeutique des huiles essentielles évaluées dans la prise en charge des infections vaginales. Toutefois, des recherches supplémentaires, notamment des études *in vivo* et des essais cliniques, demeurent nécessaires afin d'évaluer leur innocuité et de confirmer leur efficacité thérapeutique avant toute application clinique.

Mots-clés : huiles essentielles, activité antimicrobienne, activité antioxydante, infections vaginales, *Thymus vulgaris*, *Salvia officinalis*, *Laurus nobilis*.

Abstract

Vaginal infections constitute a major public health concern due to their high prevalence and the increasing emergence of resistance to conventional antimicrobial agents. In this context, essential oils derived from medicinal plants have attracted growing interest because of their diverse biological properties. The present study aimed to evaluate the *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of essential oils extracted from *Thymus vulgaris*, *Salvia officinalis*, and *Laurus nobilis*. The essential oils were obtained by hydrodistillation and steam distillation. Antimicrobial activity was assessed against *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp*., *E. coli*, and *Candida albicans* using the agar diffusion method (aromatogram), followed by determination of the minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC), and minimum fungicidal concentration (MFC). Antioxidant activity was evaluated using the DPPH radical scavenging assay. The results revealed extraction yields of 3.1524%, 1.888%, and 0.42% for the essential oils of *T. vulgaris*, *S. officinalis*, and *L. nobilis*, respectively. Furthermore, the tested microbial strains exhibited variable sensitivity depending on the essential oil used. *T. vulgaris* demonstrated the strongest antimicrobial activity, with inhibition zones ranging from 32 to 65 mm and predominantly bactericidal and fungicidal effects. *S. officinalis* and *L. nobilis* exhibited moderate antimicrobial activities, with inhibition diameters ranging from 6 to 16 mm and 5 to 12 mm, respectively. Regarding antioxidant activity, *L. nobilis* showed the highest activity with an IC_{50} value of 82.26 µg/ml, followed by *T. vulgaris* (161.25 µg/ml) and *S. officinalis* (1504.41 µg/ml). This study highlights the therapeutic potential of the essential oils investigated for the management of vaginal infections. However, further research, particularly *in vivo* studies and clinical trials, is essential to evaluate their safety and confirm their therapeutic efficacy before clinical application.

Keywords: essential oils, antimicrobial activity, antioxidant activity, vaginal infections, *Thymus vulgaris*, *Salvia officinalis*, *Laurus nobilis.*

الملخص

تمثل الالتهابات المهبلية مشكلة شائعة في الصحة العمومية بسبب انتشارها الواسع وظهور مقاومة متزايدة للمضادات الميكروبية التقليدية. وفي هذا السياق، تحظى الزيوت الأساسية المستخلصة من النباتات الطبية باهتمام متزايد بفضل خصائصها البيولوجية. يهدف هذا العمل إلى دراسة النشاط المضاد للميكروبات والنشاط المضاد للأكسدة في المختبر للزيوت الأساسية لكل من *Thymus vulgaris* و *Salvia officinalis*و *Laurus nobilis*.

تم الحصول على الزيوت الأساسية بواسطة التقطير المائي والتقطير بالبخار. تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات ضد السلالات التالية : *Staphylococcus aureus*و *Streptococcus sp.*و *Escherichia coli*و *Candida albicans*باستعمال طريقة الانتشار على الوسط الصلب، متبوعة بتحديد التركيز الأدنى المثبط (CMI) والتركيز الأدنى القاتل للبكتيريا والفطريات .(CMB/CMF) كما تمت دراسة النشاط المضاد للأكسدة باستعمال اختبار.DPPH

أظهرت النتائج بأن مردودية استخلاص الزيوت الأساسية بواسطة التقطير المائي والتقطير بالبخار،قد بلغت 3.1524٪ و1.888٪ و0.42٪ على التوال وحساسية متفاوتة للسلالات المدروسة حسب نوع الزيت الأساسي المستعمل. *T. vulgaris* أقوى نشاط مضاد للميكروبات، مع مناطق تثبيط تراوحت بين 32 و65 مم، إضافة إلى تأثير قاتل للبكتيريا والفطريات. كما أظهر كل من *S. officinalis* و *L. nobilis* نشاطًا متوسطًا، بمناطق تثبيط تراوحت على التوالي بين 6–16 مم و5–12 مم. أما بالنسبة للنشاط المضاد للأكسدة، فقد أظهر *L. nobilis* أفضل فعالية بقيمة IC50 بلغت (82.26) ميكروغرام/مل، يليه *T. vulgaris* (161.25) ميكروغرام/مل ثم *S. officinalis* (1504.41) ميكروغرام/مل.

تُبرز هذه الدراسة الإمكانات العلاجية للزيوت الأساسية المدروسة في مكافحة الالتهابات المهبلية. ومع ذلك، تبقى هناك حاجة إلى المزيد من الدراسات، خاصةً الدراسات داخل الجسم الحي والتجارب السريرية، من أجل تقييم سلامة استخدامها والتأكد من فعاليتها العلاجية.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للأكسدة، الالتهابات المهبلية، *Thymus vulgaris*، *Salvia officinalis*، *Laurus nobilis*.

Table des matières

Table des matières

- Remerciements
- Dédicaces
- Résumé
- Table des matières
- Liste des tableaux
- Liste des figures
- Liste des abréviations

Introduction 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I Écosystème vaginal et infections

1....Anatomie et écosystème vaginal..... 6
2....Microbiote vaginal 7
3....Microbiote vaginal en eubiose 7
3.1. Rôle des lactobacilles..... 8
4. Variation du microbiote vaginal..... 9
4.1. De la naissance jusqu'à l'enfance 9
4.2.A la puberté 10
4.3. Pendant les menstruations 10
4.4. Chez la femme enceinte..... 11
4.5. A la ménopause 11
5. Les facteurs responsables de l'équilibre du microbiote 12
5.1.Le pH vaginal 12
5.2.Les bactéries protectrices 12
5.3.Les hormones (œstrogènes)..... 13
6. Dysbiose et infections vaginales 13
6.1.Vaginite 13
6.2.Vaginose..... 13
6.3.Bactériologie de la VB..... 14
6.4.Candidose 14
6.5.Infections sexuellement transmissibles 14

Chapitre II Plante ethnopharmaceutique et huiles essentielles

1..... Justification de choix de plantes 17
1.1.....*L.nobilis*..... 17
1.2.....*S.officinalis*..... 17
1.3.....*T.vulgaris*..... 17
2..... Définition et classification des plantes..... 18
2.1.....*L.nobilis* (Laurier noble)..... 18
2.1.1....Définition..... 18
2.1.2....Position systématique..... 18
2.1.3....Description botanique..... 18
2.2.....*S. officinalis*..... 19

2.2.1....Définition..... 19
2.2.2....Position systématique.....19
2.2.3....Description botanique..... 19
2.3.....*T.vulgaris*..... 20
2.3.1....Définition..... 20
2.3.2....Position systématique.....21
2.3.3....Description botanique..... 21
3.....Extraction des huiles essentielles.....22
3.1.Définition des huiles essentielles 22
3.2.Les techniques d'extraction..... 22
3.2.1....Distillation par entraînement à la vapeur..... 22
3.2.2....Extraction par solvant organique volatile..... 22
3.2.3....Hydrodistillation..... 23
3.2.4....Extraction par CO_2 supercritiques.....23
3.2.5....Extraction assistée par une micro-onde.....24
4....Technique d'identification des huiles essentielles.....25
4.1.L'analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG).....25
4.2.Analyse chromatographique des huiles essentielles par CPG-MS..... 26
5....Composition chimique des huiles essentielle.....26
5.1.Composition chimique de l'huile essentielle de *L. nobilis*..... 26
5.2.Composition chimique de l'huile essentielle de *S. officinalis*..... 27
5.3.Composition chimique de l'huile essentielles de *T.vulgaris*.....28
6....Mécanisme d'activité antimicrobienne..... 28
7....Limites et toxicités des huiles essentielles.....29

Partie Expérimentale

Chapitre III Matériel et méthodes

1....Objectif de recherche..... 32
2....Matériel végétaux 32
2.1..L.nobilis..... 32
2.2..*S. officinalis* 32
2.3..T.vulgaris..... 32
3....Extraction des huiles essentielles 33
3.1.. Extraction d'huile essentielle de *L. nobilis* par entraînement à la vapeur..... 33
3.2..Extraction d'huile essentielle de *S. officinalis* et *T. vulgaris* par hydrodistillation..... 33
4....Caractérisation des huiles essentielles 34
4.1..Détermination du rendement d'extraction des huiles essentielles extraites.....34
4.2..Caractéristiques organoleptiques des huiles 34
4.3..Densité relative..... 35
4.4..Indice d'acide 35
4.5..Activité antioxydante des huiles essentielles 35
5....Prélèvement vaginal..... 36
6....Les agents infectieux étudiées 37
7....Confirmation et caractérisation des isolats microbiens.....38
7.1..Transport et Culture des échantillons..... 38

7.2..Milieu de culture 38
7.3..Approches phénotypiques de différenciation..... 38
7.3.1...Caractérisation macroscopique des agents infectieux 38
7.3.2....Caractérisation microscopique des agents infectieux 36
7.3.3....Etat frais..... 38
7.3.4....Coloration de Gram..... 39
7.3.5....Coloration au bleu de méthylène..... 39
7.3.6....Test de germination 39
8....Approches biochimiques..... 39
8.1..Test catalase……..……..... 39
8.2..Test coagulase ……..…….....…..... 40
8.3..Test indole..... 40
9....Test d'activité antimicrobienne..... 40
9.1..Aromatogramme..... 40
9.2..Antibiogramme..... 42
9.3..Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)..... 42
9.4..Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide/Fongicide 43
10..Conservation des isolats 43
11..Conservation sur gélose inclinée..... 43
12..Conservation par glycérol..... 44
Chapitre IV Résultats & discussion
1....Extraction des huiles essentielles des plantes..... 46
2....Propriétés physiques des huiles essentielles..... 47
3....Densité relative..... 47
4....Indice d'acide 48
5....Activité antioxydante..... 49
6. Les agents infectieux étudiés 52
6.1. Approche phénotypique de différenciation..... 52
6.1.1. Caractéristique macroscopique des agents infectieux 52
6.1.2....Caractéristique microscopique des agents infectieux 55
7..... Approches biochimiques..... 58
7.1.....Catalase 58
7.2. Test Coagulase 59
7.3. Test indole 59
8..... Test d'activité antimicrobienne..... 60
8.1. Aromatogramme..... 60
8.2. Antibiogramme…… 64
8.3.....Détermination de CMI, CMB et CMF..... 66
Conclusion..... 71
Références Bibliographiques..... 74
Annexe

Liste des tableaux

Tableau 1. Les agents infectieux étudiés et ses origines. 38
Tableau 2. Rendement d'extraction des huiles essentielles des trois plantes 46
Tableau 3. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles extraites. 47
Tableau 4.Densité des huiles essentielles extraites. 48
Tableau 5. Les résultats obtenus d'indice d'acidité des HEs. 48
Tableau 6 . Valeurs d'IC_{50} obtenues pour les huiles essentielles analysées 49
Tableau 7.Évaluation macroscopique des agents infectieux. 55
Tableau 8. Résultats de l'aromatogramme des huiles essentielles sur les isolats étudiés. 60
Tableau 9 . Résultats de l'antibiogramme. 64
Tableau 10. Résultats de CMI et (CMB)/(CMF) 66

Liste des figures

Figure 1. L'appareil génital féminin. 6
Figure 2 . Les variations du microbiote vaginal 11
Figure 3 . Effets des lactobacilles vaginaux sur les souches à potentiel pathogène 12
Figure 4 . Aspect morphologique des différents organes de *L.nobilis* : (C). 19
Figure 5. La morphologie de feuille de *S. officinalis* 20
Figure 6. (A) La plante (B)les fleurs (C)Les fleurs (D) Les graines de *T. vulgaris* 21
Figure 7 . Equipement d'extraction par CO_2 supercritique.. 24
Figure 8. Dispositif d'extraction des huiles essentielles de *L. nobilis* par entraînement à la vapeur. 33
Figure 9. Dispositif d'hydrodistillation. 34
Figure 10. Test aromatogramme par technique des disques. 42
Figure 11. Mesure du pouvoir antioxydant d'acide ascorbique et HE de *L .nobilis*, *S.officinalis* et de *T.vulgaris* par le radical DPPH. 50
Figure 12.Evaluation de l'activité antioxydante d'acide ascorbique par le test DPPH. 51
Figure 13 .Aspect macroscopique d'isolat de *C.albicans* sur milieu Sabouraud. 53
Figure 14 .Aspect macroscopique d'isolat *d'E.coli* sur milieu MacConkey. 53
Figure 15 .Aspect macroscopique d'isolat de *Streptococcus.spp* sur milieu gélose au sang. 54
Figure 16. Aspect macroscopique d'isolat de *S.aureus* sur milieu Chapman. 54
Figure 17 . Observation microscopique de *C.albicans* à l'état frais 55
Figure 18.Observation microscopique de *C.albicans* après coloration de Gram 56
Figure 19.Observation microscopique de *C.albicans* après coloration par bleu de méthylène. 56
Figure 20.Test de germination de *C.albicans* dans le sérum 57
Figure 21. Observation microscopique de *S.aureus* après coloration de Gram. 57
Figure 22 . Observation microscopique d'E.coli après coloration de Gram. 57
Figure 23. Observation microscopique de *Streptococcus.spp* après coloration de Gram. 58
Figure 24.Réaction catalase pour *S.aureus.* 58
Figure 25. Test coagulase pour *S.aureus*. 59
Figure 26.Test indole pour *E.coli* sur milieu Urée-indole. 60
Figure 27 .Halo d'inhibition obtenue avec HE de *T.vulgaris* sur *C. albicans*. 62
Figure 28.Halo d'inhibition obtenue avec HE de *L.nobilis* sur *C. albicans.* 62
Figure 29. Halo d'inhibition obtenue avec HE de *S.officinalis* sur *S.aureus.* 63
Figure 30. Résultat de la CMI de l'HEs sur les isolats. 67
Figure 31. Résultat de la CMB de l'HEs sur les isolats. 68

Liste des abréviations

BHI: Brain Heart Infusion.

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute.

CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

CMF : Concentration Minimale Fongicide.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DO : Densité Optique.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

HEs : Huiles essentielles.

I% : pourcentage d'inhibition.

IA : Indice d'acidité.

IC50 : Concentration inhibitrice 50 %.

MH : Mueller-Hinton.

VB : vaginose bactérienne

Introduction

Les infections vaginales constituent un problème majeur de santé publique chez la femme. Le vagin est naturellement colonisé par une diversité de microorganismes commensaux, notamment les lactobacilles, qui jouent un rôle essentiel dans la protection contre les infections urogénitales **(Vásquez *et al.*, 2002)**. Les infections vaginales peuvent être causées par différents agents pathogènes, principalement des bactéries telles que *Gardnerella vaginalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus sp*., ainsi que par le protozoaire *Trichomonas vaginalis* et des levures, notamment *Candida albicans* **(Louzi *et al.*, 2005).**

Actuellement, l'antibiorésistance et la résistance aux antifongiques constituent un défi de santé publique. Face à cette augmentation préoccupante, de nombreuses recherches scientifiques se sont orientées vers l'utilisation des plantes médicinales afin de réduire ou de lutter contre ce phénomène. Dans ce contexte, les huiles essentielles issues de plantes ethnopharmacologiques présentent diverses propriétés biologiques, notamment des activités antibactériennes, antifongiques et anti-inflammatoires **(OMS, 2014).**

Laurus nobilis L, *S. officinalis* L et *Thymus vulgaris* L sont des plantes largement utilisées en médecine traditionnelle, notamment dans la région méditerranéenne, en raison de leur richesse en composés bioactifs tels que les terpènes et les composés phénoliques, qui jouent un rôle important dans l'inhibition de la croissance bactérienne et fongique **(Benkherara *et al.*, 2011; Reddy, 2014; Miliani *et al.*, 2017)**. Leur exploitation pourrait contribuer au développement d'alternatives thérapeutiques plus sûres et plus durables.

Ce travail vise à évaluer *in vitro* l'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles de *L. nobilis*, *S. officinalis* et *T. vulgaris* contre les agents pathogènes responsables des infections vaginales chez la femme. Cette étude a également pour objectif d'explorer le potentiel de ces huiles essentielles en tant qu'alternatives thérapeutiques ou adjuvants aux traitements conventionnels.

Le présent travail est structuré en deux grandes parties, chacune subdivisée en deux chapitres.

➢ **La première partie**, consacrée à l'étude bibliographique, comprend deux chapitres. Le premier porte sur l'ecosystème vaginal et infections, en mettant l'accent sur la flore commensale, les agents pathogènes responsables des infections ainsi que les variations du

microbiote vaginal. Le second chapitre est consacré aux plantes médicinales et à leurs propriétés pharmacologiques, en particulier leurs activités antimicrobiennes et leur intérêt thérapeutique.

➢ **La deuxième partie**, dédiée à l'étude expérimentale, comporte également deux chapitres. Le premier décrit le matériel et les méthodes utilisés, incluant l'identification et la conservation des agents infectieux étudiés, ainsi que les différentes techniques expérimentales mises en œuvre, notamment l'aromatogramme, la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), de la concentration minimale bactéricide (CMB) et de la concentration minimale fongicide (CMF). Le second chapitre est consacré à la présentation, à l'analyse et à la discussion des résultats obtenus. Enfin, une conclusion générale synthétise les principaux résultats de cette étude et les perspectives envisagées.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I
Écosystème vaginal et infections

1. Anatomie et écosystème vaginal

Le vagin est un conduit fibromusculaire extensible qui s'étend de la cavité pelvienne (pelvis vrai) **(figure 1)** , en traversant le plancher pelvien jusqu'au périnée. Le col de l'utérus se prolonge à partir de son extrémité proximale élargie, formant le fornix vaginal (anciennement appelé cul-de-sac vaginal). À son extrémité distale, il s'ouvre dans le vestibule vulvaire par l'orifice vaginal **(Khodja, 2024)**.

Au-delà de son rôle anatomique, cet organe représente un écosystème complexe où interagissent les cellules épithéliales, le microbiote vaginal et différents facteurs physicochimiques, notamment les sécrétions vaginales. L'équilibre entre ces composantes est essentiel au maintien de l'homéostasie vaginale. À l'état sain, cet écosystème se caractérise par une muqueuse fonctionnelle et un microbiote majoritairement dominé par des espèces de *Lactobacillus*, qui contribuent à la protection de l'environnement vaginal en maintenant un pH acide et en limitant la prolifération des microorganismes pathogènes (**Ravel *et al.*, 2011 ; Smith & Ravel, 2017**).

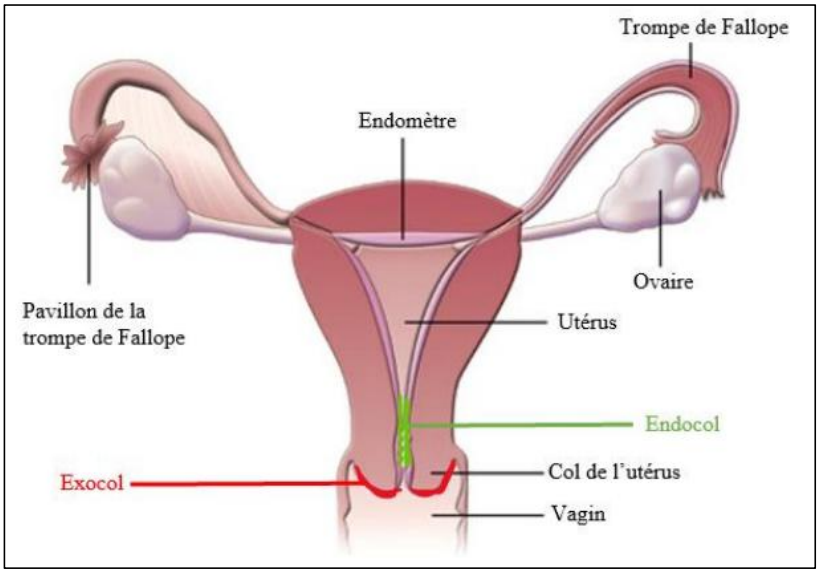

Figure 1. L'appareil génital féminin **(Barbot, 2023).**

2. Microbiote vaginal

Le microbiote vaginal, également appelé flore vaginale, correspond à l'ensemble des micro-organismes qui colonisent naturellement la cavité vaginale. Il est estimé qu'il comprend plus de 200 espèces bactériennes, ainsi que des virus, des champignons, des levures et des protozoaires. Parmi les espèces les plus fréquemment retrouvées figurent notamment *C.albicans*, *G. vaginalis*, ainsi que des genres tels que *Atopobium* et *Prevotella*. On estime également qu'il existe entre 100 millions et 1 milliard de micro-organismes par millilitre de sécrétions vaginales (**Ravel *et al.*, 2011; Mitra *et al.*, 2016)**.

Dès l'enfance, ce microbiote se met progressivement en place et atteint une configuration plus stable à l'adolescence. Cependant, cet écosystème dynamique subit des variations importantes tout au long de la vie, principalement sous l'influence des fluctuations hormonales, notamment lors des menstruations, de la grossesse et de l'accouchement **(Bougacha, 2023).**

Les bactéries présentes dans le microbiote vaginal jouent un rôle essentiel dans le maintien d'un environnement vaginal sain. Certaines d'entre elles, notamment les lactobacilles, contribuent à empêcher la prolifération et l'adhésion de micro-organismes potentiellement pathogènes, limitant ainsi le risque d'infections **(Lefebvre, 2025)**.

3. Microbiote vaginal en eubiose

L'eubiose correspond à un état d'équilibre « normal » du microbiote, considéré comme optimal pour le bon fonctionnement physiologique de l'hôte, ici la femme. À l'inverse, la dysbiose désigne un déséquilibre de ce microbiote, pouvant être associé à diverses altérations de la santé. Le terme « commensal » désigne un organisme vivant en association avec un autre sans lui causer de dommage. Le commensalisme correspond ainsi à une relation biologique entre deux espèces, dans laquelle l'un des organismes tire profit de l'association sans affecter négativement l'autre. Le mycobiote, quant à lui, fait référence à l'ensemble des champignons présents dans un environnement ou une niche écologique donnée **(Lloyd-Price *et al.*, 2016; Bonnal, 2023)**.

• **Composition : qualitative et quantitative**

Albert Döderlein, un gynécologue-obstétricien, qui a été le premier à décrire le microbiote vaginal en 1892. C'est pourquoi les lactobacilles sont aussi appelés bacilles de Döderlein, et le microbiote qu'ils forment est dénommé flore de Döderlein **(Boulanger, 2023)**. Le microbiote vaginal se compose d'un ensemble complexe de micro-organismes qui interagissent à la fois entre eux et avec l'hôte. C'est un écosystème vivant où se produisent des changements et des transformations tout au long de la vie d'une femme et de son cycle menstruel. Toutefois, chez une femme en santé, celui-ci devrait être constant et équilibré. On ne peut pas établir une composition universelle étant donné qu'elle présente des variations au niveau ethnique, interindividuel et intra-individuel **(Ma *et al*., 2012)**. Vers le début du XXe siècle, on décrivait le microbiote vaginal de la façon suivante : Flore prédominante ou aussi appelée flore de portage régulier, flore surdominant également connue sous le nom de flore intermédiaire ou de portage fréquent, flore de portage exceptionnelle. La flore prédominante fait référence aux bactéries présentes en quantité supérieure à 10^8 bactéries par gramme de sécrétion vaginale (**Bonnal, 2023**). Les lactobacilles constituent le genre le plus prévalent. La flore dominée est constituée de micro-organismes, généralement des entérobactéries, des bactéries cutanées et des bactéries anaérobies :

- Entérobactéries : *E. coli, Klebsiella sp, Proteus sp, Enterobacter sp*
- Bactéries anaérobies : *Gardnerella vaginalis, Atopobium vaginae, Mycoplasma hominis, Ureaplasma sp.*
- *Streptococcus agalactiae* et *Streptococcus* non groupable.
- *Staphylococcus. sp.* (**Martín *et al*., 2008; Bonnal, 2023**).

3.1. Rôle des lactobacilles

Le vagin accueille principalement des bactéries du genre *Lactobacillus* comme flore commensale. Le genre compte plus de 130 espèces productrices d'acide lactique qui colonisent divers habitats, et plus de 20 ont été identifiées dans le microbiote vaginal **(Maximilien, 2021).**

Les espèces de lactobacilles sont des bactéries qui se colorent en Gram positif. Habituellement, les cellules apparaissent comme des bacilles allongés et minces (parfois incurvés) ou plus courts et segmentés, avec une taille variant de 0,5 à 1,2µm / 1-10µm. Les lactobacilles ne forment pas de spores et sont généralement non mobiles (pour les souches qui le sont, la ciliature est péritriche). Isolé, parfois assemblé en duo ou en série, le génome des

Lactobacillus varie entre 1,9 et 3,3 Mb **(Kant *et al*., 2011).**

Les lactobacilles assurent la protection du microbiote vaginal par différents mécanismes d'action visant à inhiber la croissance et la propagation des agents pathogènes. Cette activité repose notamment sur la production de plusieurs substances antimicrobiennes. L'acide lactique, issu de la dégradation du glycogène, possède des propriétés bactéricides et virucides contre divers microorganismes, tels que *S. agalactiae* et le VIH, tout en contribuant au maintien d'un pH vaginal acide avoisinant 4, défavorable au développement des pathogènes (**Lorot, 2016; Lesimple, 2024**). Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) exerce une activité antiseptique et microbicide contre les bactéries à catalase négative, les bactéries anaérobies, certaines levures et divers virus, y compris le VIH (**Martín *et al*., 2008**). Par ailleurs, les bactériocines, peptides antimicrobiens produits par les lactobacilles, provoquent la formation de pores dans la membrane cytoplasmique des microorganismes cibles, entraînant leur mort cellulaire. La lactocilline, synthétisée par *Lactobacillus gasseri*, est quant à elle considérée comme un antibiotique naturel doté d'une activité antimicrobienne importante (**Bonnal, 2023**). L'arginine désaminase participe également à l'inhibition de la croissance et de la prolifération des bactéries anaérobies (**Al Kassaa, 2014**). En outre, les lactobacilles limitent l'expansion des pathogènes grâce à des mécanismes complémentaires tels que la co-agrégation avec les microorganismes indésirables, empêchant leur adhésion aux récepteurs épithéliaux, ainsi que la production de DNase qui perturbent la formation du biofilm. Enfin, certaines protéines de surface, notamment les protéines de la couche S (S-layer proteins), exercent des effets immunomodulateurs en activant les cellules immunitaires, telles que les lymphocytes et les macrophages, favorisant ainsi l'élimination des agents pathogènes présents dans l'environnement vaginal **(Boris & Barbés, 2000 ; Petrova *et al.,* 2015; Bonnal, 2023).**

4. Variation du microbiote vaginal

4.1. De la naissance jusqu'à l'enfance

Dès la naissance, une relation directe existe entre le microbiote intestinal et le mode d'accouchement :

•Les enfants qui naissent par voie basse possèdent un microbiote similaire à celui des microbiotes maternels vaginal et digestif.

•Tandis que ceux qui viennent au monde par césarienne sont colonisés par des bactéries opportunistes dans leur microbiote. La colonisation de l'épithélium vaginal par des bactéries

lactiques commence généralement dès la période néonatale, en raison de l'influence hormonale résiduelle provenant de la mère **(Surbone *et al*., 2022).**

4.2. A la puberté

Lors de la puberté **(figure 2)** , le microbiote subit une transformation radicale due à la sécrétion d'hormones sexuelles. Sous l'influence des œstrogènes, l'épithélium vaginal se densifie et les cellules accumulent du glycogène. Ce processus entraînera un appel à la colonisation et au développement de bactéries fermentant le glycogène, telles que les lactobacilles, au détriment d'autres bactéries. Cela entraîne donc une réduction des bactéries de l'intestin et de la peau. Quand les cellules épithéliales supérieures se desquament, le glycogène qu'elles renferment est transformé en acide lactique par les lactobacilles, principalement grâce à leur α-amylase. La présence de *Lactobacillus* va donc provoquer une acidification de l'environnement avec un pH d'environ 4, grâce à la production d'acide lactique suite à la fermentation du glycogène **(Lesimple, 2024; Lefebvre, 2025).**

4.3. Pendant les menstruations

Pendant les menstruations, le pH vaginal peut atteindre des valeurs proches de 6 en raison de la présence du sang menstruel et des variations hormonales du cycle. Cette augmentation du pH s'accompagne d'une diminution relative de la dominance des lactobacilles et d'une réduction de la production d'acide lactique, ce qui favorise le développement de microorganismes associés à la dysbiose vaginale (**Gajer *et al*., 2012; Amabebe & Anumba, 2018**).

Parmi ces microorganismes, *G. vaginalis* est fréquemment associée à une augmentation du pH vaginal et à une diminution des populations de *lactobacilles*. Sa prolifération constitue l'une des principales caractéristiques de la vaginose bactérienne (**Brotman, 2011; Lefebvre, 2025**).

Après les menstruations, l'augmentation des concentrations d'œstrogènes stimule l'accumulation de glycogène dans les cellules épithéliales vaginales. Ce glycogène sert de substrat aux lactobacilles, favorisant leur croissance et leur retour à une position dominante dans le microbiote vaginal, ce qui contribue au rétablissement d'un pH acide protecteur (**Mirmonsef *et al*., 2016 ; Amabebe & Anumba, 2018**).

4.4. Chez la femme enceinte

Au cours de la grossesse, l'acidité du pH augmente considérablement et le microbiote vaginal subit des changements, notamment une hausse significative des lactobacilles au troisième trimestre accompagnée d'une diminution proportionnelle des souches d'*E. coli*. Cela garantit la sécurité du fœtus. Durant la période post-partum, le pH se neutralise, le potentiel redox devient positif, augmentant ainsi la probabilité de portage des pathogènes et le danger d'infection s'avère très élevé **(Romero *et al.*, 2014**; **Delalande, 2017).**

4.5. A la ménopause

La ménopause se déroule généralement entre 45 et 55 ans. Elle entraîne des modifications physiologiques du microbiote vaginal et de son épithélium, et induit un syndrome d'atrophie vulvovaginale. Au cours de la ménopause, le pH tend à se situer environ 7 (PH neutre) en raison d'une réduction du nombre de lactobacilles, causée par une diminution de la production d'oestrogènes. L'atrophie et la sécheresse vaginale, ainsi que la détérioration de la qualité de vie, en particulier sur le plan sexuel, de la femme, sont des conséquences d'une réduction du niveau de glycogène. L'objectif de l'hormonothérapie substitutive est de traiter les symptômes et de favoriser la recolonisation des lactobacilles **(Boulanger, 2023)**

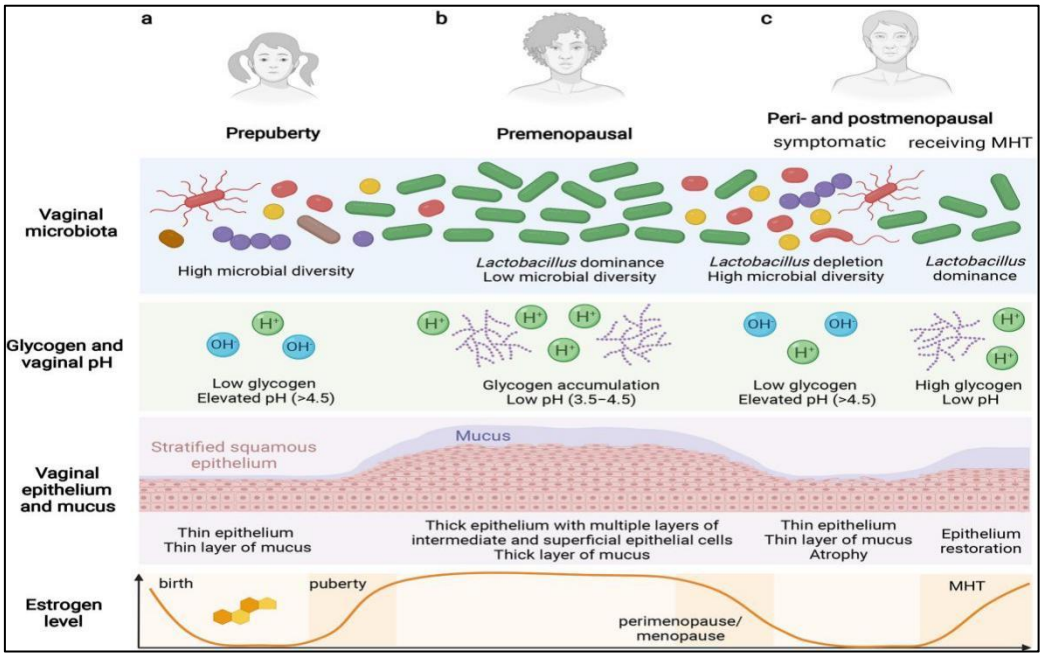

Figure 2 . Les variations du microbiote vaginal **(Łaniewski & Herbst-Kralovetz, 2022).**

5. Les facteurs responsables de l'équilibre du microbiote

Selon **Vinciane** (**2023**) les facteurs suivants mènent une eubiose **(figure 3)** :

5.1. Le pH vaginal

L'acidité est due à l'acide lactique, qui est produit par les lactobacilles à partir du glycogène. Elle a un rôle préventif contre les infections en réduisant la multiplication bactérienne et leur attachement aux cellules vaginales.

5.2. Les bactéries protectrices

- Les lactobacilles ont pour fonction biochimique majeure de transformer le glycogène sécrété par les cellules épithéliales vaginales en acide lactique grâce à un processus d'hydrolyse. Cet acide a une propriété antibactérienne contre les bactéries liées à la vaginose.
- Le peroxyde d'hydrogène est un antioxydant efficace qui freine la prolifération des pathogènes. Toutefois, la production de H_2O_2 par les lactobacilles varie selon les souches.
- Les lactobacilles produisent des bactériocines, qui sont des protéines antibactériennes, pour empêcher la prolifération de bactéries nuisibles (**Amabebe & Anumba, 2018; Vinciane, 2023**).

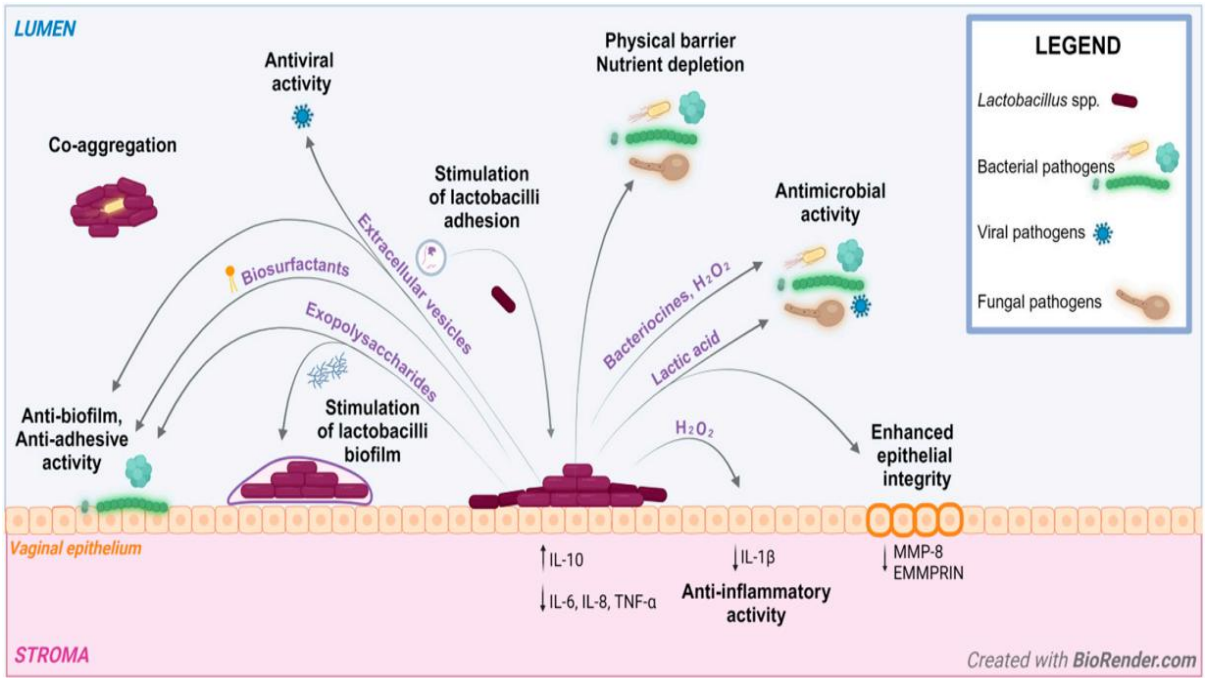

Figure 3 . Effets des lactobacilles vaginaux sur les souches à potentiel pathogène **(Avitabile *et al*., 2024).**

5.3. Les hormones (œstrogènes)

Les lactobacilles dépendent entièrement de l'exposition aux œstrogènes, c'est-à-dire de la production d'œstrogènes, hormones sexuelles féminines majoritairement sécrétées par les ovaires. En conséquence, Les œstrogènes jouent un rôle clé dans l'équilibre du microbiote vaginal (**Mirmonsef *et al*., 2016; Emmanuel & Dilly, 2018**).

6. Dysbiose et infections vaginales

Surbone *et al*. (**2022**) expliquent que la dysbiose représente une perturbation de microbiote vaginal qui peut être à l'origine de diverses maladies. Cela constitue un problème de santé publique, car cette situation est une raison fréquente de visites chez le gynécologue.

6.1. Vaginite

La vaginite aérobie est définie par une réduction ou absence de lactobacilles et la multiplication de bactéries aérobies telles que *E. coli*, *S. aureus*, *Streptococcus* groupe B et entérocoques qui entraînent une réponse inflammatoire significative **(Donders *et al*., 2002; Bohbot, 2021).**

6.2. Vaginose

La vaginose bactérienne (VB) est la dysbiose vaginale la plus fréquente chez les femmes en âge de procréer. Elle se caractérise par une diminution des lactobacilles protecteurs et une prolifération de bactéries anaérobies, notamment *G. vaginalis*, *A. vaginae* et d'autres microorganismes associés à la dysbiose vaginale. Bien qu'elle soit souvent asymptomatique ou bénigne en dehors de la grossesse, la VB est associée à plusieurs complications obstétricales, notamment la rupture prématurée des membranes, la chorioamniotite, les accouchements prématurés et les avortements spontanés **(Brotman, 2011; Muzny & Schwebke, 2016)**.

Par ailleurs, la diminution de la flore lactobacillaire et l'augmentation du pH vaginal favorisent la susceptibilité aux infections sexuellement transmissibles, telles que la gonorrhée, la chlamydiose et l'infection par le VIH. Malgré les nombreuses recherches consacrées à cette affection, les mécanismes impliqués dans son apparition et surtout dans ses récidives demeurent encore imparfaitement compris **(Onderdonk *et al*., 2016 ; Muzny et Schwebke, 2016).**

6.3. Bactériologie de la VB

La VB se caractérise par une surabondance de certaines bactéries aéro-anaérobies commensales telles que *G. aginalis*, ou anaérobies comme *Bacteroides* ou *Prevotella spp*. et *Mobiluncus*, pouvant atteindre des concentrations jusqu'à 1000 fois plus élevées que la normale. Les deux bactéries principales responsables sont *G. vaginalis* et *A. vaginae*. Ces deux bactéries interagissent de manière synergique pour former le biofilm typique de la vaginose bactérienne, qui génère les « clue cells » spécifiques à cette maladie **(Surbone *et al*., 2022).**

6.4. Candidose

La candidose vulvo-vaginale (CVV) désigne une infection touchant les muqueuses du vagin et de la vulve, parties inférieures de l'appareil génital féminin, majoritairement induite par le champignon opportuniste *C. albicans*. Plus de 90 % des cas de CVV sont attribués à *C. albicans*, tandis que les 10 % restants sont liés à des espèces de *Candida* non *albicans* (NAC), comme *C. glabrata, C. krusei, C. tropicalis et C. parapsilosis*. Les infections génitales ascendantes et leur lien avec les coûts économiques directs et indirects font de la CVV une problématique de santé mondiale **(Balakrishnan *et al*., 2022).** Même si elles sont généralement présentes en tant que microorganismes commensaux uniquement dans les muqueuses respiratoires, digestives et vaginales, les espèces du genre *Candida*, notamment *C. albicans*, ont la capacité de faire la transition de l'état commensal à l'état parasitaire. Cela a un impact sur le développement d'une infection appelée candidose. Habituellement, les infections opportunistes les plus courantes sont celles causées par les levures du genre *Candida*, connues sous le nom de candidoses **(Sdoudi *et al*., 2014).**

6.5. Infections sexuellement transmissibles

Les infections sexuellement transmissibles (IST) sont des infections causées par différents agents pathogènes, notamment des bactéries, des virus ou des parasites, et qui se transmettent principalement lors de contacts sexuels vaginaux, anaux ou oraux **(CDC, 2024).** Certaines IST peuvent également être transmises de la mère à l'enfant pendant la grossesse, l'accouchement ou l'allaitement, ainsi que par contact avec du sang contaminé. Ces infections peuvent être asymptomatiques dans de nombreux cas, mais elles peuvent entraîner des complications importantes sur la santé reproductive si elles ne sont pas diagnostiquées et traitées à temps **(WHO, 2025).**

Pour les femmes, les infections sexuellement transmissibles, en particulier les infections non soignées à *Chlamydia*, peuvent entraîner une stérilité ou une grossesse ectopique. Elles entraînent également des conséquences négatives de la grossesse (fausse couche, naissance prématurée, décès périnatal, infections néonatales) **(Lot, 2008).** Les salpingites peuvent être causées par des agents d'infections sexuellement transmissibles (IST) tels que *Chlamydia trachomatis*, *Nesseria gonorrhoeae* et plus rarement *Mycoplasma genitalium* : ce ne sont pas des bactéries commensales, leur présence au niveau urogénital doit toujours être détecté et soignée **(Cazanave & de Barbeyrac, 2019).**

Chapitre II

Plante ethnopharmaceutique et huiles essentielles.

1. Justification de choix de plantes

Les plantes *L .nobilis, S. officinalis et T. vulgaris* sont couramment employées en médecine traditionnelle, notamment dans le traitement des infections. On sélectionne ces plantes en raison de leurs propriétés antimicrobiennes avérées et de leur efficacité face à divers agents infectieux responsables des infections vaginales **(Benkherara *et al.,* 2011 ; Borugă *et al*., 2014; Ouibrahim *et al.,* 2015).**

1.1. L. nobilis

Le laurier noble est souvent employé pour traiter les infections vaginales chez les femmes. Les composés clés du *L. nobilis* tels que le 1-8-cinéole, l'α-terpinol et le linalol possèdent des propriétés antifongiques et antioxydants **(Ouibrahim *et al.,* 2015)**.

Des recherches ont démontré l'efficacité notable des huiles essentielles de *L. nobilis* contre divers agents infectieux tels qu'*E. coli* et *S. aureus* **(Kheyar *et al*., 2014)** .De plus, elles présentent un risque réduit d'altération de la flore naturelle, ce qui constitue une avantage en cas d'infection vaginale **(Ouibrahim *et al.,* 2015; Miliani *et al.,* 2017; Ferhat *et al.,* 2018).**

1.2. S. officinalis

La *S. officinalis*, également connue sous le nom de sauge, est une plante couramment utilisée en médecine traditionnelle. Son huile essentielle, riche en composés chimiques : 1-8cinéole et bornéol qui possède des propriétés antifongiques et antimicrobiennes **(Benkherara *et al.*, 2011)**. L'hydrodistillation de *la S.officinalis* donne généralement un bon rendement en huile essentielle **(Kheyar *et al.,* 2014)**.

L'huile essentielle *de S.officinalis* apporte un potentiel antimicrobien notable contre divers agents pathogènes à l'origine des infections vaginales, en particulier *C.albicans*. Même si son action n'est pas entièrement sélective, les informations indiquent que son impact sur le microbiote normal demeure modeste aux concentrations actives (**Rezagui & Chiahi, 2024)**.

1.3. T. vulgaris

Le *T.vulgaris* est l'une des plantes aromatiques les plus examinées pour ses fortes propriétés antimicrobiennes. Plusieurs recherches ont prouvé l'efficacité de l'huile essentielle de thym contre *C.albicans*, *S.aureus* et *E.coli*. Malgré sa forte activité, l'utilisation contrôlée de l'huile essentielle de thym à faibles concentrations pourrait permettre une efficacité ciblée

tout en limitant l'impact sur la flore vaginale normale **(Borugă *et al.*, 2014)**. Haute productivité en huile essentielle de *T.vulgaris*. Néanmoins, l'emploi intensif de cette huile essentielle, due à sa forte activité biologique, requiert une utilisation mesurée pour équilibrer son efficacité contre les micro-organismes pathogènes (**Bouguerra, 2019**).

2. Définition et classification des plantes

2.1. *L. nobilis* (Laurier noble)

2.1.1. Définition

Le laurier, également appelé laurier-sauce (*L.nobilis L.*), est un arbuste ou un arbre appartenant à la famille des Lauraceae, caractérisé par ses feuilles coriaces et persistantes. D'un point de vue étymologique, le terme latin *Laurus*, qui signifie « toujours vert », fait référence à la végétation persistante de la plante, tandis que *nobilis*, également en latin, signifie « célèbre ». Son appellation représente également un emblème de réussite à l'ère contemporaine, dérivé du latin « Bacca Lauri », qui signifie baies de laurier **(Ouibrahim, 2015).**

2.1.2. Position systématique

L. nobilis L. est une espèce végétale appartenant au règne Plantae. Elle fait partie de la classe des Magnoliopsida, incluse dans l'ordre des Laurales. Cette plante appartient à la famille des Lauraceae. Elle est classée dans le genre *Laurus* et correspond à l'espèce *L. nobilis L* **(Patrakar *et al.*, 2012; Miliani *et al.*, 2017).**

2.1.3. Description botanique

Laurus nobilis L. est un arbre ou un arbuste aromatique sempervirent de la famille des Lauraceae, originaire du bassin méditerranéen. Selon les conditions de croissance, il peut atteindre de 2 à 20 m de hauteur **(figure 4)** . Ses feuilles persistantes sont alternes, coriaces, de forme lancéolée, mesurant généralement entre 5 et 12 cm de longueur et 2 à 6 cm de largeur. Elles présentent une face supérieure vert foncé brillante et une face inférieure plus claire, avec des nervures bien marquées. Lorsqu'elles sont froissées, elles dégagent une odeur aromatique caractéristique. Les fleurs sont petites, jaunâtres et regroupées en inflorescences axillaires, tandis que les fruits sont des drupes ovoïdes noir bleuâtre à maturité. Les feuilles et les fruits sont riches en huiles essentielles auxquelles sont attribuées diverses propriétés biologiques, notamment antibactériennes et antifongiques **(Ouibrahim *et al.*, 2015; Paparella *et al.*, 2022).**

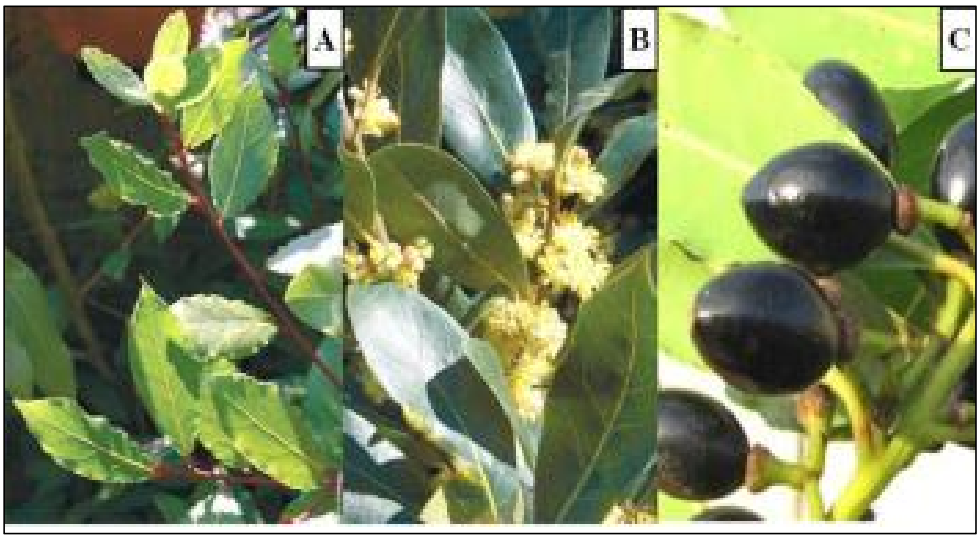

Figure 4 . Aspect morphologique des différents organes de *L.nobilis* : rameau (A), fleurs (B) et fruits (C) **(Khodja *et al.*, 2023).**

2.2. S. officinalis

2.2.1. Définition

La *S. officinalis L*. (sauge) est une plante aromatique qui fait partie de la famille des Lamiacées. Elle pousse de manière spontanée à travers tout le bassin méditerranéen ; allant de l'Espagne à la Turquie, ainsi que dans le nord de l'Afrique. En Algérie, cette variété est assez répandue et principalement cultivée **(Boussadia, 2021)**. On utilise *S. officinalis* pour la consommation d'aliments frais en tant qu'aromate savoureux, soit sous forme de feuilles séchées, soit sous forme d'huile essentielle, dans la médecine alternative et dans le secteur cosmétique **(Ladjel mendil & Laraba-djebari, 2020).**

2.2.2. Position systématique

La *S. officinalis L*. est une plante appartenant à la famille des Lamiacées, sous-famille des Nepetoideae, tribu des Mentheae et genre *Salvia*. Ce dernier est le plus vaste de la famille Lamiaceae, avec environ 1000 espèces recensées **(Jakovljević *et al.*, 2019)**.

2.2.3. Description botanique

Sauge officinale, également connue sous le nom de *S. officinalis* L. C'est une variété de la famille des Lamiacées, mesurant entre 30 et 60 cm de haut, dotée de tiges créant des rameaux quadrangulaires dressés et couverts de velours. Ses feuilles ovales et allongées **(figure 5)**, d'un gris verdâtre dû à une pubescence cotonneuse sur leur face inférieure,

dégagent un parfum spécifique. En outre, elle fleurit en juin ou juillet avec de petites fleurs bleu-violet (**Jakovljević *et al.*, 2019**).

En raison de sa large répartition géographique et de son importance médicinale, *S. officinalis* est connue sous de nombreuses dénominations vernaculaires. Les appellations les plus fréquentes incluent la sauge commune, la sauge des jardins, la sauge culinaire, la sauge vraie et la sauge de Dalmatie. Certaines variétés cultivées sont également appelées sauge pourpre ou sauge rouge. Selon les régions, cette plante est désignée sous différents noms locaux, notamment « adaçayı » en Turquie et « maramia » dans les pays du Levant **(Hamidpour *et al*., 2014)**.

Figure 5. La morphologie de feuille de *S. officinalis* **(Shmygareva *et al*., 2016).**

2.3. Thymus vulgaris

2.3.1. Définition

T. vulgaris L (Thym commun), une Labiacée pérenne de la zone méditerranéenne, est une plante à propriétés aromatiques et médicinales, dont l'importance économique croissante se fait sentir en Amérique du Nord, en Europe, en Asie et en Afrique du Nord. En Algérie, de nombreuses études ont été menées sur l'analyse du profil chimique de l'huile essentielle de plante. Dans ce cadre, le but de cette recherche est d'analyser la composition chimique et d'étudier l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *T. vulgaris* **(Sidali *et al*., 2014; Kuete, 2017).**

2.3.2. Position systématique

D'un point de vue systématique, *T.vulgaris L*. se classe dans le règne Plantae et plus précisément dans le sous-règne Tracheobionta, . Cette espèce appartient à l'embranchement des Magnoliophyta, également connu sous le nom d'angiospermes, et au sous-embranchement des Magnoliophytina. Elle appartient à la classe des Magnoliopsida (dicotylédones) ainsi qu'à la sous-classe des Asteridae. Sous l'aspect taxonomique, *T. vulgaris* L. appartient à l'ordre des Lamiales et se trouve dans la famille des Lamiaceae **(Prasanth *et al*., 2014; Patil *et al.*, 2021).**

2.3.3. Description botanique

T. vulgaris est une plante aromatique appartenant à la famille des labiées, dotée de tiges ramifiées et capable d'atteindre une hauteur de 40 cm. Ce dernier a des feuilles de petite taille **(figure 6)**, courbées sur les bords et d'un vert sombre, qui sont couvertes de poils et de glandes (connus sous le nom de trichomes). L'huile essentielle, principalement composée de monoterpènes, se trouve dans les trichomes. Durant des siècles, les variétés du genre Thymus ont été fréquemment employées dans divers pays comme épices. Les feuilles de *T. vulgaris* sont utilisées sous forme de thé et utilisées en tant qu'épices dans les plats occidentaux pour rehausser la saveur des mets et comme aromatisant distinct **(Chaib, 2021**).

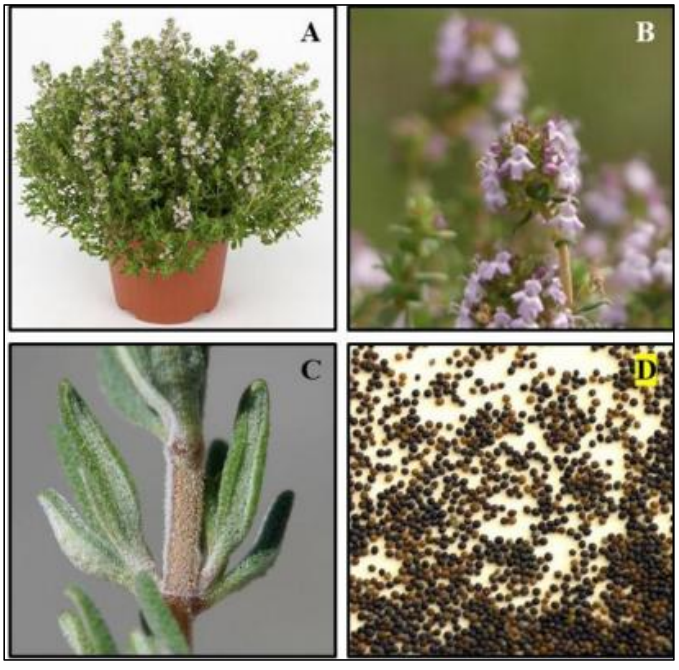

Figure 6. (A) La plante (B)les fleurs (C)Les fleurs (D) Les graines de *T. vulgaris* **(Patil *et al*., 2021)**.

3. Extraction des huiles essentielles

3.1.Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances aromatiques et évanescentes dérivées de matériaux végétaux, tels que les fleurs, racines, écorces, feuilles, graines, fruits, bois et parfois même des plantes dans leur intégralité .Les huiles essentielles sont des composés fortement volatils extraits d'une plante aromatique spécifique par une méthode ou un processus physique. L'huile tire son nom de l'espèce végétale dont elle provient. On qualifie ces huiles d'«essentielles » car elles ont longtemps été perçues comme incarnant l'essence de l'odeur et du goût de la plante (**Benmedour, 2016**) .

Les huiles essentielles, ou huiles volatiles, correspondent à des mélanges complexes de substances organiques volatiles produites par les plantes. Elles renferment principalement des terpènes, des terpénoïdes ainsi que divers composés aromatiques et aliphatiques de faible masse moléculaire, responsables de leurs propriétés physicochimiques et biologiques (**Bassolé & Juliani, 2012)**

3.2.Les techniques d'extraction

3.2.1. Distillation par entraînement à la vapeur

La technique la plus couramment utilisée. Cette procédure requiert l'utilisation de trois réservoirs associés par des tubes. Des sections de plantes sélectionnées sont disposées dans un premier réservoir, à travers lequel passe de la vapeur d'eau. La vapeur issue de la première cuve passe à travers la seconde, emportant avec elle les principes actifs de la plante. Par la suite, cette vapeur se condense en passant par un long canal vers la troisième cuve, où elle se transforme à nouveau en eau. L'eau et l'huile essentielle peuvent alors être distinguées, car l'huile étant moins dense que l'eau, elle demeure à la surface. Avec cette méthode d'extraction, l'huile essentielle conserve ses caractéristiques et l'eau résiduelle après la séparation peut être utilisée pour produire des hydrolats Le rendement des huiles essentielles, toutes espèces confondues, est susceptible de varier entre 1 et 10% **(Boukhatem *et al*., 2019; Sebti, 2020).**

3.2.2. Extraction par solvant organique volatile

L'extraction par solvants organiques volatils constitue l'une des méthodes les plus couramment utilisées pour isoler les composés bioactifs à partir des matrices végétales. Elle consiste à mettre la matière végétale en contact avec un ou plusieurs solvants appropriés, généralement à température ambiante, afin de solubiliser les molécules d'intérêt. Cette

extraction peut être réalisée de manière discontinue par macération ou de façon continue avec un renouvellement permanent du solvant. Divers solvants sont employés selon la nature des composés recherchés, notamment l'éthanol, le méthanol, l'acétone, l'hexane, l'acétate d'éthyle, le dichlorométhane, le butanol ou encore des mélanges hydroalcooliques, particulièrement utilisés pour l'extraction des polyphénols. Malgré son efficacité et sa large utilisation, cette technique présente plusieurs limites, notamment des temps d'extraction souvent longs, une faible sélectivité et le risque de présence de traces résiduelles de solvants pouvant engendrer des effets toxicologiques. De plus, elle favorise l'extraction simultanée de composés indésirables de haut poids moléculaire, tels que les cires, les résines, les graisses et les tanins, et offre peu de possibilités d'automatisation **(Mellouk, 2007; Bensaadi, 2025) .**

3.2.3. Hydrodistillation

Dans l'hydrodistillation, la matière végétale est directement immergée dans l'eau portée à ébullition. Sous l'effet de la chaleur, les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau. Les vapeurs formées traversent ensuite un condenseur où elles sont refroidies et transformées en liquide. Le distillat obtenu, constitué d'un mélange d'eau et d'huile essentielle, est recueilli soit dans un système contenant un solvant organique (généralement le pentane ou l'hexane) afin de concentrer l'huile essentielle, soit directement dans un cylindre gradué permettant la séparation de l'huile et de l'eau condensée. Cette technique simple et couramment utilisée au laboratoire est adaptée à l'extraction des huiles essentielles de nombreuses plantes aromatiques **(Fadil *et al.*, 2015; Boughendjioua & Djeddi, 2018; Menad, 2024).**

3.2.4. Extraction par CO_2 supercritiques

Il s'agit d'une technologie récente, étant donné que les fluides supercritiques ont été envisagés comme une approche alternative pour l'extraction des huiles essentielles. Le dioxyde de carbone est le fluide supercritique le plus couramment employé. Cette méthode repose sur la capacité de certains composants à se dissoudre dans le dioxyde de carbone (CO_2) à l'état supercritique, à des conditions de pression et de température appelées critiques (PC=73,82 bars et TC=31,06°C). L'équipement employé est assez onéreux et doit être capable de résister à des pressions atteignant jusqu'à 300 bars sans risque **(figure 7)**, permettant ainsi la rupture des poches d'essence et l'extraction des composés aromatiques. L'extraction au CO_2 supercritique représente un exemple de méthode simple, rapide, efficace et principalement sans utilisation de solvant ni besoin de prétraitement. Sous les conditions de température et de

pression appropriées, le CO_2, ce fluide, est dirigé vers l'extracteur où il va absorber les composés aromatiques de la plante qui a été préalablement broyée. Ensuite, Le mélange traverse un séparateur où la pression est réduite, permettant au CO_2 de redevenir gazeux, puis il est détendu et se transforme en vapeur.Il est soit jeté, soit recyclé. Le condensat est extrait et récupéré. Par conséquent, grâce à cette technologie, la purification de l'extrait à la fin du processus n'est plus requise, contrairement aux solvants liquides (figure7). (Cette méthode novatrice, destinée au traitement des huiles essentielles sensibles à la chaleur, offre l'avantage essentiel du recyclage et de la réutilisation du solvant) **(Donelian *et al*., 2009; Moussa, 2024).**

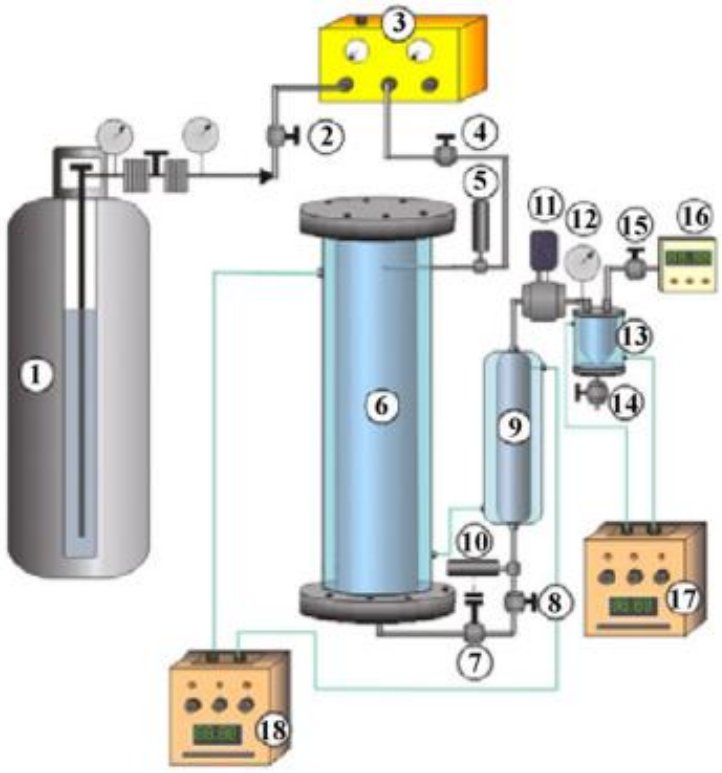

Figure 7 . Equipement d'extraction par CO_2 supercritique. (1) bouteille de CO_2 ; (2, 4, 8 et14) vannes de régulation du débit ; (3) suppresseur à gaz ; (5 et 10) capteurs de pression ; (6) réservoir tampon à double enveloppe ; (7) vanne de commande pneumatique ; (9) cuve d'extraction à double enveloppe ; (11) régulateur de pression en aval ;(12) manomètre ;(13) cuve de séparation ; (15) vanne micrométrique ; (16) débitmètre ; (17 et 18) bains d'eau thermostatiques **(Donelian *et al.*, 2009).**

3.2.5. Extraction assistée par une micro-onde

L'extraction assistée par micro-ondes (MAE) est une technique innovante et respectueuse de l'environnement qui repose sur l'utilisation de l'énergie micro-onde pour chauffer rapidement le mélange contenant la matière végétale et le solvant d'extraction. Selon

la nature des composés ciblés, des solvants absorbant fortement les micro-ondes, comme le méthanol, peuvent être utilisés pour extraire les composés polaires, tandis que des solvants peu absorbants, tels que l'hexane, sont adaptés à l'extraction des composés apolaires. Cette méthode, notamment sous sa forme de distillation assistée par micro-ondes sous vide (Vacuum Microwave Hydrodistillation, VMHD), associe un rayonnement micro-onde contrôlé à une mise sous vide afin d'améliorer l'efficacité de l'extraction. Comparée aux méthodes conventionnelles, comme l'extraction au Soxhlet, la MAE présente de nombreux avantages. Une étude réalisée sur l'extraction de l'huile essentielle de menthe poivrée fraîche a montré qu'une irradiation de seulement 20 secondes permettait d'obtenir un rendement supérieur à celui obtenu après 6 heures d'extraction au Soxhlet, tout en utilisant le même solvant (hexane). De plus, les extraits obtenus par MAE étaient exempts de chlorophylle, réduisant ainsi les étapes de purification. Cette technique se distingue également par une consommation énergétique réduite, l'utilisation de faibles quantités de solvants moins toxiques, une production limitée de déchets et une meilleure préservation des propriétés aromatiques des huiles essentielles **(Mellouk, 2007; Moussa, 2024).**

4. Technique d'identification des huiles essentielles

La littérature a décrit la composition de plusieurs huiles essentielles. Elle change selon plusieurs éléments, y compris le stade de croissance des plantes, les parties prélevées, la saison et la localisation géographique. L'analyse de la composition chimique est souvent réalisée à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) ou de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). La résonance magnétique nucléaire (RMN) peut également être employée pour déterminer les composants des huiles essentielles **(Cavalli, 2002; Guinoiseau, 2010; Miliani *et al.*, 2013).**

4.1. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Des analyses par chromatographie en phase gazeuse (GC) ont été effectuées avec un chromatographe HP-5890 Series II (Hewlett-Packard Company, Wilmington, USA), doté de deux colonnes capillaires DB-WAX et DB-5 (30 m ×0,25 mm de diamètre interne, 0,25 µm d'épaisseur de film). Voici les conditions de fonctionnement de l'analyse : Le four a été réglé pour augmenter la température de 60 °C à 240 °C avec une progression de 3 °C par minute. Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été gardées à 220 °C. Le gaz vecteur utilisé était l'hélium, avec un débit stable de 2 mL/min. Le détecteur à ionisation de flamme (Flame Ionization Detector, FID) était associé au chromatographe. L'injection a été réalisée en mode

divisé, avec un ratio de division de 1 pour 30. On a introduit 0,5 µL d'une solution d'huile à 10 % dans l'hexane. L'identification des constituants a été effectuée pour les deux colonnes, en comparant les temps de rétention obtenus avec ceux de références pures authentiques, ainsi que les indices linéaires de rétention (ILR) calculés par rapport à une série d'n-alcanes (C8-C25**) (Cavalli, 2002; Benmedour, 2016).**

4.2. Analyse chromatographique des huiles essentielles par CPG-MS

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est un dispositif du modèle GC6890 N (HP Agilent Technologies), doté d'une colonne capillaire HP5 (composée de 5% de phényl et 95% de méthylpolysiloxane) mesurant 30 mètres de long et possédant un diamètre interne de 0,25 mm, avec une épaisseur de film pour la phase stationnaire fixée à 0,25 µm. La CPG est associée à un spectromètre de masse (SM) de modèle SM-5973 N (HP Agilent Technologies) possédant un détecteur Scan à impact d'électron. L'équipement analytique utilisé est un chromatographe en phase gazeuse (CPG), modèle GC6890 N (HP Agilent Technologies). Ce dernier est pourvu d'une colonne capillaire HP5 composée de 5% de phényl et de 95% de méthylpolysiloxane, possédant une longueur de 30 mètres et un diamètre interne de 0,25 mm. La phase stationnaire présente une épaisseur de film de 0,25 µm. La CPG est associée à un spectromètre de masse (SM) de modèle SM-5973 N (HP Agilent Technologies) doté d'un détecteur Scan à impact d'électron **(Miliani *et al*., 2013; Lagha benamrouche *et al.,* 2017).**

5. Composition chimique des huiles essentielle

5.1.Composition chimique de l'huile essentielle de *L. nobilis*

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *L. nobilis* via CG-SM a identifié 17 composés, dominés par le 1,8-cinéole (35,31%), le β-linalol (22,52%), l'eugénolméthyléther (9,17%), le camphène (7,37%) et le 3-carène (5,39%), totalisant 96,95% du total. Le groupe chimique prédominant est constitué de monoterpènes, comprenant le β-linalol (22,52%) et le camphène (7,37%). La catégorie des sesquitèrpènes est essentiellement composée de lactones sesquiterpènes, en particulier le Cardinène (0,32%) et le Caryophyllène (0,22%) **(Ouibrahim *et al.,* 2015)**.

L'analyse GC/MS a mis en évidence la présence de 12 composés terpéniques qui constituent 85,395% des éléments isolés. Parmi eux, le 1,8 cinéole est le principal composé de l'huile essentielle (24,66%), suivi par le linalol (18,56%), l'α-terpineol (9,815%), le méthyl-

eugénol (9,871%) et l'eugénol (9,478%). Enfin, on note aussi la présence du L-4-terpineol à hauteur de 9,382%.Les concentrations des autres éléments sont inférieures à 1% (Sabinéne , γ-terpnéne , Cis-linalolxide, exo-2-Hydroxycineole acetate , Elimicine et diisoocty phthalate) **(Miliani *et al.,* 2017)**.

Selon cette étude, l'huile essentielle de L.nobilis est composée de nombreux constituants chimiques, notamment l'α-thujène, l'α-pinène, le sabinène, le β-pinène, le myrcène, l'α-phéllandrène, le 1,8-cinéole, le γ-terpinène, le trans-sabinène hydrate, le cis-sabinène hydrate, le linalool, la pinacarvone, le terpinen-4-ol, l'α-terpinéol, l'acétate de bornyle, le pseudolimonène, l'acétate d'α-terpinyle, l'eugénol, l'acétate de néryle, le β-élémène, le méthyl-eugénol, le germacrène, le bicyclogermacrène, le β-eudesmol, l'élémol, l'eremanthin et l'acide 1,2-benzènedicarboxylique. Cette diversité de composés témoigne de la richesse chimique de l'huile essentielle de Laurus nobilis, dont les constituants appartiennent principalement aux familles des monoterpènes, des sesquiterpènes et de leurs dérivés oxygénés **(Chahal *et al.*, 2017; Sırıken *et al*., 2018).**

5.2.Composition chimique de l'huile essentielle de *S. officinalis*

En tenant compte du le temps de rétention, la surface du pic de l'échantillon ainsi que celle du pic de référence, nous avons réussi à déterminer la composition de divers composés. Le plus présent d'entre eux est l'α-Thujone (36,74%), suivi par le Cinéole (22,97%) et le Camphre qui présente une concentration plus faible (11,34%). La βThujone occupe la quatrième place avec un taux de seulement 8,81 %. Il convient également de mentionner la présence significative de composés terpéniques, dont la concentration varie entre 2,94 et 3,81 %, tels que le Bornéol, le β-Humulène, l'Eucalyptol et le L-Camphre. Les autres composés identifiés présentent des concentrations plutôt basses, variant de 0,20 % pour le DLimonène à 1,54 % pour le Caryophyllène (**Benkherara *et al.,* 2011**).

La composition moyenne de l'huile essentielle de Salvia officinalis au cours du cycle végétatif est caractérisée par la présence de plusieurs composés appartenant aux familles des monoterpènes, des sesquiterpènes et des diterpènes. L'α-thujone constitue le composé majoritaire avec une proportion de 43,6 %, suivie du camphre et du viridiflorol, chacun représentant 8,1 %, puis du 1,8-cinéole (6,7 %), de la β-thujone (5,1 %) et de l'α-humulène (4,6 %). Des teneurs plus faibles sont observées pour l'α-pinène (4,7 %), le bornéol (2,5 %), le β-pinène (1,9 %), le caryophyllène (1,8 %), le manool (1,7 %), le myrcène (1,2 %), le p-cymène (1,0 %), le camphène (0,8 %), le γ-cadinène (0,5 %) et l'acétate de bornyle (0,3 %).

Cette composition met en évidence la prédominance de l'α-thujone au sein de l'huile essentielle étudiée **(Arraiza *et al.*, 2012).**

5.3.Composition chimique de l'huile essentielles de *T. vulgaris*

L'huile essentielle provenant de *T. vulgaris* a démontré une importante proportion de monoterpènes oxygénés (56,53%) et une faible proportion d'hydrocarbures monoterpéniques (28,69%), d'hydrocarbures sesquiterpéniques (5,04%) et de sesquiterpènes oxygénés (1,84%). Thymol, représentant 51.34% des composants de l'huile essentielle, était le principal constituant, tandis que la proportion de tous les autres éléments de l'huile demeurait inférieure à 19% **(Prasanth *et al.*, 2014).**

L'analyse de l'huile essentielle de *T. vulgaris* montre une prédominance des monoterpènes, qui représentent 97,35 % de la composition totale. Les monoterpènes hydrocarbonés constituent 46,5 %, dominés par le γ-terpinène (22,25 %) et le p-cymène (15,59 %), tandis que les monoterpènes oxygénés représentent 50,85 %, avec une forte prédominance du thymol (41,39 %). D'autres composés tels que le carvacrol (2,06 %), le linalol (1,79 %) et le terpinène-4-ol (1,15 %) sont présents en plus faibles proportions. Les sesquiterpènes sont faiblement représentés (1,7 %), principalement par le β-caryophyllène (1,30 %). Cette composition caractérise un chémotype à thymol, reconnu pour ses importantes propriétés antimicrobiennes, antifongiques et antioxydantes. Les variations de composition peuvent être liées à des facteurs environnementaux, génétiques et aux conditions d'extraction **(El-Akhal *et al.*, 2015).**

6. Mécanisme d'activité antimicrobienne

Il a été démontré par plusieurs chercheurs que l'efficacité des huiles essentielles change en fonction de leurs composants dominants, et que le mécanisme d'action est essentiellement connecté au profil chimique des composants de chaque huile essentielle, qui présente une large diversité. Actuellement, aucune étude ne fournit une compréhension nette et exacte du fonctionnement des huiles essentielles. En tenant compte de la complexité de leur composition chimique, il est très probable que chaque composant des huiles essentielles possède son propre mode d'action **(Rhayour, 2002).**

Les huiles essentielles (HE) exercent une activité antimicrobienne globale en agissant sur plusieurs cibles cellulaires, notamment en perturbant la membrane bactérienne grâce à leur caractère lipophile, ce qui altère sa structure, le transport des nutriments et l'équilibre ionique,

tout en modifiant le métabolisme lipidique et la fluidité membranaire ; elles peuvent également interférer avec certaines protéines essentielles impliquées dans la division cellulaire, perturber la production d'ATP en affectant la chaîne respiratoire et le couplage énergétique, et enfin inhiber les mécanismes de communication bactérienne et la formation de biofilms, réduisant ainsi la virulence, même si certaines bactéries peuvent développer des mécanismes d'adaptation pour limiter ces effets **(Bouyahya *et al*, 2017)**.

7. Limites et toxicités des huiles essentielles

Les huiles essentielles, qui sont fréquemment employées en pharmacologie, cosmétique et dans le domaine alimentaire grâce à leurs multiples activités biologiques, possèdent aussi un potentiel toxicologique non négligeable. De nombreuses recherches ont démontré que leur impact est fortement lié à leur composition chimique et à leur concentration. Dans de fortes concentrations, plusieurs huiles essentielles peuvent provoquer une action hémolytique en agissant sur les membranes des globules rouges. Cependant, à des concentrations faibles, certains composés peuvent avoir un effet de protection contre l'hémolyse. Par conséquent, leur emploi doit s'effectuer avec précaution et s'appuyer sur des bases scientifiques robustes (**Ould El Hadj-Khelil *et al*., 2020**).

Les huiles essentielles présentent des risques toxicologiques liés à leur composition chimique et à leur biodisponibilité. Après ingestion ou exposition à fortes doses, certains de leurs constituants peuvent subir des biotransformations hépatiques conduisant à la formation de métabolites potentiellement toxiques, pouvant entraîner une atteinte hépatique. Sur le plan neurologique, certaines molécules appartenant notamment aux cétones peuvent traverser la barrière hémato-encéphalique et provoquer des effets neurotoxiques en cas de forte exposition. De plus, certaines huiles essentielles peuvent présenter une néphrotoxicité et perturber le fonctionnement rénal lors d'une utilisation prolongée ou inappropriée. Par ailleurs, des effets de type hormonal ont également été décrits pour certains composés, nécessitant une vigilance particulière chez les sujets sensibles. Enfin, des interactions avec certains traitements médicamenteux peuvent survenir, ce qui impose une utilisation prudente et encadrée des huiles essentielles en fonction de leur composition et de leur dose (**DGCCRF, 2019).**

Partie Expérimentale.

Chapitre III

Matériel et méthodes.

1. Objectif de recherche

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de microbiologie et de biologie végétale de l'INES Université de Mostaganem .Cette recherche vise à examiner, en laboratoire, l'effet antimicrobien des huiles essentielles dérivées de plantes ethnopharmaceutiques telles que *S.officinalis*, *L. nobilis* et *T.vulgaris*, sur les microbes responsables des infections vaginales chez la femme. Ces maladies, généralement dues à des micro-organismes comme *S. aureus, E. coli, C. albicans et Streptococcus. sp* constituent un enjeu de santé courant. L'objectif de cette recherche est d'évaluer l'efficacité de ces huiles essentielles en analysant leur potentiel d'inhibition, notamment via la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI), et de mettre en parallèle leurs actions respectives. Cette étude s'inscrit dans une approche visant à mettre en valeur les plantes médicinales employées en médecine traditionnelle, afin d'explorer des alternatives naturelles potentielles aux thérapies conventionnelles.

2. Matériel végétal

2.1. L. nobilis

Les feuilles des plantes ont été collectées dans la région de Tissemsilt au cours du mois de mars, puis transportées au laboratoire. Elles y ont été nettoyées à l'eau distillée, ensuite séchées, avant de procéder à l'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau.

2.2. S. officinalis

Les feuilles de *S.officinalis* ont été achetées au cours du mois de février à Mostaganem. Elles ont été utilisées comme matière première pour l'extraction de l'huile essentielle par la méthode d'hydrodistillation de types clevenger.

2.3. T. vulgaris

La matière végétale est composée de feuilles de *T. vulgaris*, acquises en mars dans la zone de Mostaganem, dans le but d'extraire des huiles essentielles à l'aide d'un dispositif clevenger.

3. Extraction des huiles essentielles

3.1. Extraction d'huile essentielle de *L.nobilis* par entrainement à la vapeur

L'extraction a été réalisée dans le système de distillation à la vapeur **(figure 8).** 316g de feuille de laurier ont été pesées et placée dans un vapo-distillateur avec 2500 ml d'eau distillée. L'HE a été récupéré après évaporation pendant 120min dont le volume d'HE est resté constant. La conservation était à 4°C jusqu'à l'analyse **(Řebíčková *et al*., 2020).**

L'entraînement à la vapeur d'eau est une méthode particulièrement adaptée à l'extraction de l'huile essentielle des feuilles de *L.nobilis*, car ses principaux constituants, notamment le 1,8-cinéole, l'α-terpinéol, le linalol et l'eugénol, sont des composés volatils. Cette technique permet d'obtenir une huile essentielle de haute qualité chimique tout en préservant les composés aromatiques thermosensibles. De plus, elle ne nécessite pas l'utilisation de solvants organiques et est conforme aux méthodes recommandées par les pharmacopées ainsi que par les normes internationales relatives aux huiles essentielles **(Caputo *et al*., 2017).**

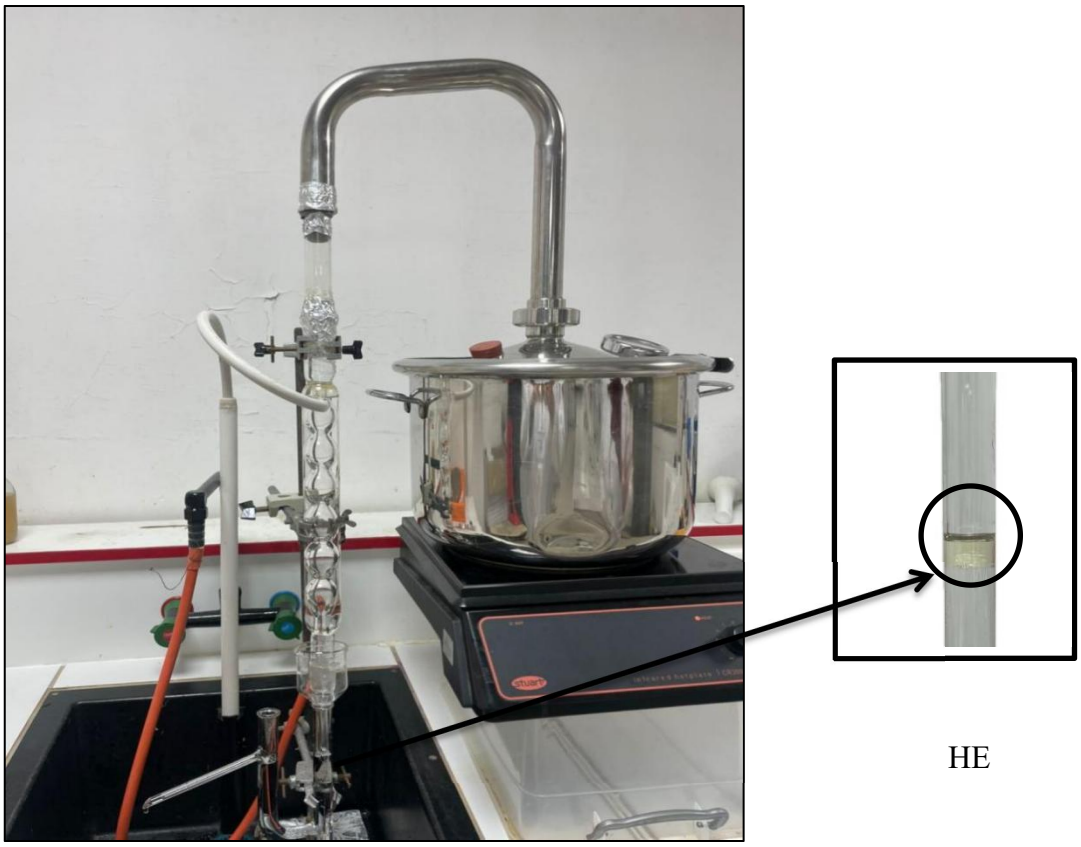

Figure 8. Dispositif d'extraction de l'huile essentielle de *L. nobilis* par entraînement à la vapeur.

3.2. Extraction des huiles essentielles de *S. officinalis* et *T.vulgaris* par hydrodistillation

150 g de matière végétale séché à extraire (*S. officinalis* et *T.vulgaris*) a été remplie dans un ballon qui contient 1500 ml d'eau distillée **(figure 9)**. Le montage a été maintenu en ébullition pendant 3 heures et l'HE a été récupérée de la phase aqueuse et conservé à 4°C **(Bouchenak *et al*., 2018).**

L'hydrodistillation a été choisi pour l'extraction des huiles essentielles de *S.officinalis* et de *T.vulgaris* en raison de son efficacité à isoler les composés volatils tout en préservant leurs

propriétés chimiques. Cette méthode, réalisée à l'aide d'un appareil de Clevenger, est la technique de référence recommandée par la Pharmacopée Européenne pour l'extraction des huiles essentielles. Elle permet d'obtenir des huiles exemptes de solvants organiques, avec une bonne reproductibilité des rendements, tout en étant particulièrement adaptée aux plantes aromatiques riches en monoterpènes et composés phénoliques tels que le thymol, le carvacrol, les thuyones et le 1,8-cinéole **(Bakkali *et al.*, 2008; Azmir *et al.*, 2013).**

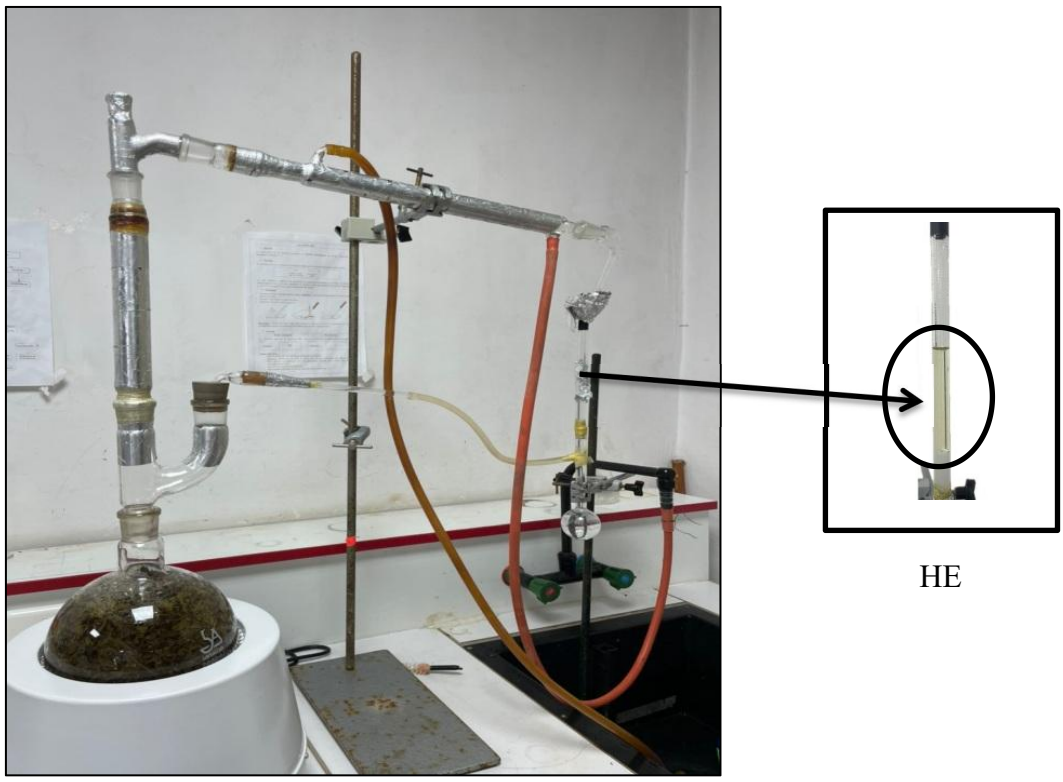

Figure 9. Dispositif d'hydrodistillation.

4. Caractérisation des huiles essentielles

4.1. Détermination du rendement

Le rendement en huile essentielle est défini comme la quantité d'huile obtenue (en ml ou en g) par rapport à la masse de matière végétale sèche utilisée pour l'extraction **(Akrout, 2004).** Dans ce travail, il a été déterminé à partir de 150 g de *S. officinalis* et de *T. vulgaris*, ainsi que de 316 g de *L. nobilis* **.**

Il est déterminé à l'aide de la formule suivante : **(Okkacha *et al.*, 2014)**

$$R = \frac{\text{MHE}}{\text{MV}} \times 100.$$

4.2. Caractéristiques organoleptiques des huiles

Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles regroupent les propriétés perceptibles par les sens, notamment l'odeur, le goût, la couleur et l'aspect. Elles permettent une première évaluation qualitative des huiles essentielles avant toute analyse physico-chimique. Elles constituent ainsi des indicateurs essentiels pour leur identification et le contrôle de qualité dans les domaines pharmaceutique, alimentaire et cosmétique **(Bakkali *et al,* 2008).**

4.3. Densité relative

La densité d'une huile essentielle est définie comme le rapport de sa masse volumique à celle de l'eau **(Abdel Samad *et al*., 2023)**.

4.4. Indice d'acide

L'indice d'acide correspond à la quantité, exprimée en milligrammes, d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libres présents dans 1 g d'huile essentielle AFNOR. L'indice d'acide (IA) est déterminé à partir de l'équation suivante **(Salemkour *et al.*, 2026)** :

$$IA = \frac{(\mathrm{V} \times \mathrm{C} \times 56{,}11)}{\mathrm{M}}$$

Avec :

IA : indice d'acide ;

V : volume de KOH utilisé (ml) ;

C : concentration molaire de la solution de KOH (mol/L) ;

M : masse de l'huile essentielle (g).

4.5. Activité antioxydante des huiles essentielles

L'une des techniques les plus couramment employées pour mesurer l'activité antioxydante des extraits de plantes est le test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Cela s'appuie sur l'usage d'un radical libre stable, le DPPH, qui a la capacité de réagir avec des molécules qui fournissent de l'hydrogène. Cette technique repose sur la diminution du radical DPPH par les antioxydants, entraînant une modification de la couleur de la solution, qui se transforme du violet au jaune à la suite de sa neutralisation. Dans ce test, 25 µL de chaque échantillon à diverses concentrations sont combinés avec 975 µl d'une solution éthanoïque de

DPPH. Ensuite, les tubes sont placés en incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière. On évalue l'activité antioxydante en observant la réduction de l'absorbance à 517 nm suite à une incubation de 30 minutes. Finalement, le taux d'inhibition du radical DPPH est déterminé à l'aide de la formule **(Chirane *et al*., 2019)** :

$$\%\text{inhibition} = \frac{Acontrole - Aechantillon}{A\ controle} \times 100$$

Avec :

A contrôle : représente l'absorption de l'échantillon témoin.

A échantillon : correspond à l'absorption de l'huile ou de l'extrait testé (t= 30 min)

Le paramètre IC_{50}, qui correspond à la concentration induisant une inhibition de 50 % du radical DPPH, représente la quantité de substrat nécessaire pour réduire de moitié l'activité du DPPH, traduite par l'atténuation de sa coloration. Cette valeur est obtenue par régression linéaire à partir des courbes représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations testées **(Ouibrahim, 2015**).

5. Prélèvement vaginal

Les prélèvements vaginaux ont été réalisés au sein du laboratoire d'analyses médicales El Amine dans des conditions d'asepsie rigoureuses. Deux écouvillons vaginaux stériles ont été prélevés chez chacune des sept patientes incluses dans l'étude, présentant des âges variés, puis acheminés au laboratoire de bactériologie pour la réalisation des analyses microbiologiques. Le premier écouvillon a servi à la préparation de trois frottis sur lame destinés à l'examen microscopique direct. Cet examen constitue une étape essentielle du diagnostic microbiologique, car il permet d'apprécier la qualité du prélèvement, de mettre en évidence la présence, la morphologie et la disposition des micro-organismes, ainsi que d'évaluer les réactions cellulaires inflammatoires associées à l'infection.

La première lame a été soumise à la coloration de Gram afin d'évaluer l'équilibre du microbiote vaginal, de différencier les bactéries Gram positif des bactéries Gram négatif et d'orienter la recherche des agents pathogènes responsables d'infections vaginales.

La deuxième lame a été colorée selon la méthode de May-Grünewald-Giemsa (MGG) pour mettre en évidence les cellules inflammatoires, les cellules épithéliales et certains micro-organismes.

La troisième lame a été utilisée pour l'examen à l'état frais, réalisé à l'aide d'une goutte d'eau distillée. Cet examen permet l'observation directe des éléments microbiens mobiles et la recherche de *Trichomonas vaginalis*, protozoaire responsable de la trichomonase vaginale.

La recherche de ce parasite revêt une importance particulière, car toute perturbation de l'équilibre du microbiote vaginal peut favoriser la prolifération d'agents pathogènes et entraîner l'apparition d'infections vaginales accompagnées d'une réaction inflammatoire **(Patricia, 2018)**.

Le deuxième écouvillon a été utilisé pour l'ensemencement sur différents milieux de culture sélectifs et enrichis en vue de l'isolement et de l'identification des micro-organismes responsables de l'infection. Cet examen culturale permet de confirmer la présence des agents pathogènes et d'orienter leur identification.

La gélose au sang cuit (gélose chocolat) a été utilisée pour la recherche et l'isolement de bactéries exigeantes, notamment *Neisseria gonorrhoeae* et les espèces du genre *Haemophilus*, fréquemment impliquées dans les infections génitales.

La gélose au sang a permis l'isolement des bactéries pathogènes ainsi que l'étude de leur pouvoir hémolytique, en particulier celui des streptocoques et des staphylocoques.

Le milieu de Sabouraud a été employé pour la recherche et l'isolement des levures, principalement les espèces du genre *Candida*, souvent responsables des mycoses vaginales.

6. Agents infectieux étudiés

Dans cette étude *in vitro*, plusieurs isolats microbiens associés aux infections vaginales **(tableau 1)** ont été sélectionnés afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *L.nobilis, S.officinalis et T.vulgaris*.

Tableau 1. Les agents infectieux étudiés et ses origines.

Les isolats infectieux	Origine
Staphylococcus aureus	S1: cet isolat a été obtenu à partir d'un prélèvement réalisé chez une femme présentant une infection vaginale. Le prélèvement a été effectué, puis l' isolat à été cultivé et identifié au sein du laboratoire d'analyses médicales « Dr CHAIB DRAA» à Aïn Tedeles (Mostaganem).
	S2: Cet isolat a été obtenu à partir d'un prélèvement réalisé chez une femme présentant une infection vaginale. Le prélèvement a ensuite été cultivé, puis l'isolat a été isolé et identifié au laboratoire d'analyses médicales EL AMINE « Dr SAIM NABILA », situé à Salamandre (Mostaganem).
Candida albicans	C1 : laboratoire d'analyse médicale « Dr CHAIB DRAA à Ain Tedeles-Mostaganem
	C2 : laboratoire d'analyses médicales EL AMINE « Dr SAIM NABILA» à Salamandre-Mostaganem
Streptococcus sp	ST1 : laboratoire d'analyses médicales EL AMINE « Dr SAIM NABILA» à Salamandre-Mostaganem
	ST2 : laboratoire d'analyse médicale « Dr CHAIB DRAA » à Ain Tedeles-Mostaganem
Escherichia coli	E : laboratoire d'analyse médicale « Dr CHAIB DRAA à Ain Tedeles-Mostaganem

7. Confirmation et caractérisation des isolats microbiens

7.1. Transport et culture des échantillons

Les agents microbiens ont été acheminés du laboratoire précédemment cité vers le laboratoire de recherche de microbiologie et de biologie végétale. Ils ont été ensemencés sur des milieux de culture spécifiques, puis incubés à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries (*S.aurus, Streptococcus. Sp et E.coli*) et pendant 48 heures pour *C.albicans.*

7.2. Milieu de culture

Différents milieu de culture ont été utilisés pour effectuer cette étude :

- Milieu Chapman pour *S. aureus*.
- Milieu MacConkey pour *E. coli*.
- Milieu Sabouraud pour *C.albicans.*
- Gélose au sang pour *Streptococcus .sp*.
- Milieu MH.
- Milieu GN .

7.3. Approches phénotypiques de différenciation

7.3.1. Caractérisation macroscopique des isolats

L'examen macroscopique des colonies développées sur boîtes de Pétri permet de les caractériser selon différents critères morphologiques tels que la forme, la dimension, la couleur, l'aspect de la surface, opacité et le type de contour **(Madjeda *et al.*, 2021)**.

7.3.2. Caractérisation microscopique des isolats

L'examen microscopique des isolats a été effectué après coloration de Gram, permettant de déterminer la morphologie et la réaction de Gram des bactéries étudiées, et après coloration au bleu de méthylène afin de mettre en évidence les levures du genre *Candida*.

7.3.2.1. Etat frais

L'observation microscopique des micro-organismes permet d'identifier rapidement leur morphologie et leurs dimensions. Le monde microbien se caractérise par une grande diversité de types cellulaires et, malgré leur taille généralement très réduite, les cellules microbiennes qu'elles soient procaryotes ou eucaryotes présentent une large variabilité de tailles. La morphologie cellulaire constitue un critère utile pour distinguer les différents groupes de micro-organismes et possède souvent une signification écologique. Par ailleurs, la petite taille de la majorité des cellules microbiennes influence fortement leur écologie et conditionne de nombreux aspects de leur fonctionnement biologique **(Mark Welch *et al*., 2016) .**

7.3.2.2. Coloration de Gram

La coloration de Gram est une technique différentielle basée sur la capacité des bactéries à retenir le complexe cristal violet–iode après décoloration à l'alcool. Les bactéries à Gram positif conservent ce complexe et apparaissent violettes, tandis que les bactéries à Gram négatif le perdent et se colorent en rose ou rouge après contre-coloration à la fuchsine. Cette rétention dépend principalement de la structure et de l'intégrité de la paroi cellulaire bactérienne **(Popa & Balogh de Manko-Bük, 2019).**

7.3.2.3. Coloration au bleu de méthylène

La coloration au bleu de méthylène a été réalisée en déposant une goutte de solution de bleu de méthylène sur une lame propre. Une petite quantité de la souche de levure (genre Candida) a ensuite été ajoutée et homogénéisée dans la goutte à l'aide d'une anse stérile. La

préparation a été recouverte d'une lamelle, puis observée immédiatement au microscope optique **(Forbes *et al*., 2007)**.

7.3.3. Test de germination

Ce test repose sur la capacité des blastospores de *C. albicans* ou *C. dubliniensis* à former de véritables tubes germinatifs, correspondant à des prolongements tubulaires issus des cellules levuriformes, sans constriction au point d'émergence de la cellule mère. Dans des conditions spécifiques, une colonie est émulsionnée dans 0,5 ml de sérum (humain ou de mouton), puis incubée à 37 °C pendant 2 à 4 heures **(Iqbal *et al*, 2010).**

7.4. Approches biochimiques

7.4.1. Test catalase

Le test catalase est un examen biochimique qui détecte la présence de l'enzyme catalase dans les bactéries. Cette enzyme facilite la transformation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), une substance nocive produite lors du métabolisme aérobie, en eau et en oxygène. L'apparition de bulles d'oxygène suite à l'ajout de H_2O_2 est un signe positif, témoignant de la présence de catalase. Ce test est couramment employé pour distinguer divers types de bactéries, y compris les genres *Staphylococcus* (catalase positive) et *Streptococcus* (catalase négative) **(Khatoon *et al*, 2022).**

$$H_2O_2 \longrightarrow H_2O + O_2$$

7.4.2. Test coagulase

Le test de coagulase a été réalisé afin de mettre en évidence la capacité des souches de *Staphylococcus spp*. À coaguler le plasma. Une colonie fraîche provenant d'une culture de 16 à 18 heures sur milieu BHI (Brain Heart Infusion) a été utilisée pour l'inoculation. Une suspension bactérienne a été préparée dans ce milieu. Dans un tube stérile, 1 ml de plasma de lapin a été ajouté. Ensuite, 1 ml de la suspension bactérienne issue du milieu BHI a été introduit dans le tube. Le mélange a été homogénéisé doucement puis incubé à 37 °C. La lecture des résultats a été effectuée après 4 heures d'incubation. La présence d'un caillot ou d'une coagulation du plasma a été interprétée comme un résultat positif, tandis que l'absence de coagulation a été considérée comme négative **(Poutrel & Ducelliez, 1979).**

7.4.3. Test Indole

Le milieu urée–indole est un milieu combiné permettant la mise en évidence simultanée de l'activité uréasique et de la production d'indole chez les entérobactéries à partir d'échantillons cliniques, en association avec la recherche de la motilité bactérienne **(Fraile *et al.*, 1980).**

8. Test d'activités antimicrobiennes

8.1. Aromatogramme

L'activité antimicrobienne *in vitro* a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu solide **(figure 10)**. Elle est exprimée par le diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne observées autour des disques imprégnés après incubation **(Bouzid *et al.*, 2011).**

La suspension bactérienne a été préparée dans une solution d'eau physiologique stérile, puis sa densité optique a été mesurée à 600 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, la suspension bactérienne a été ajustée à une turbidité équivalente à 0,5 Mcfarland, correspondant à une densité optique comprise entre 0,08 et 0,10 à 620 nm, soit environ $1,5 \times 10^8$ UFC/ml. Pour les levures, l'ajustement a été réalisé à 600 nm avec une densité optique comprise entre 0,12 et 0,15. Les boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller-Hinton ont ensuite été ensemencées uniformément par écouvillonnage de la suspension bactérienne. Après quelques minutes de séchage à température ambiante, des disques stériles en papier filtre ont été déposés au centre de la gélose. Chaque disque a été imprégné de 5 µl d'huile essentielle à tester. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures en conditions aérobies. L'activité antimicrobienne a été évaluée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des disques **(EUCAST, 2025) .**

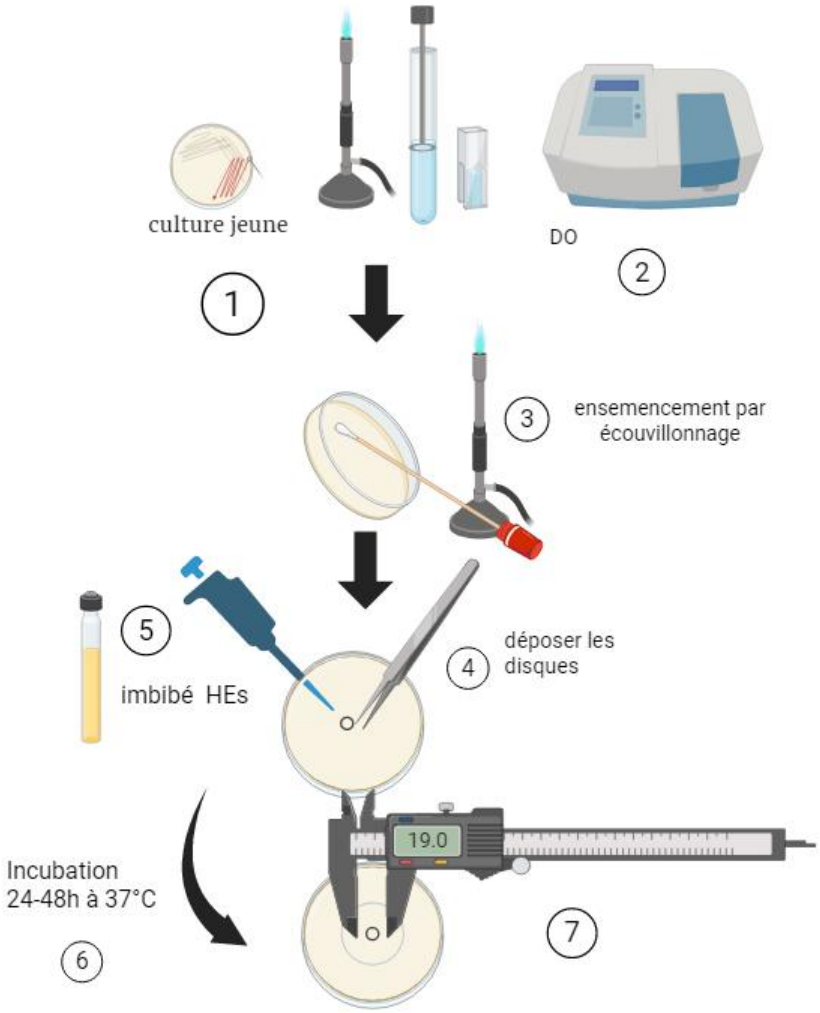

Figure 10. Test aromatogramme par technique des disques.

8.2. Antibiogramme

Un antibiogramme a été réalisé selon la méthode de diffusion sur gélose (méthode des disques**) (Jehl *et al.*, 2015)** afin de comparer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles à celle des antibiotiques de référence. La procédure a été effectuée conformément aux recommandations du CLSI, en utilisant le milieu Mueller-Hinton et une suspension bactérienne ajustée à 0,5 Mcfarland avec une densité optique de 0,08 à 0,10 à 620 pour les bactéries, et de 0,12 à 0,15 à 600 nm pour les levures. Après incubation à 37 °C pendant 18 à 24 heures, les antibiotiques utilisés étaient l'oxacilline (OX15) et l'érythromycine (E15) pour *S. aureus*, amoxicilline (AMC 10) et E15 pour *Streptococcus sp*. AMC 10 pour *E.coli*, et l'éconazole pour *C.albicans.* Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et interprétés selon les normes établies.

8.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) correspond à la plus faible concentration d'un agent antimicrobien capable d'inhiber totalement la croissance visible d'un micro-organisme après incubation dans des conditions standardisées. Elle est déterminée par la méthode de microdilution en milieu liquide en microplaque, qui consiste à exposer une suspension microbienne standardisée à une gamme de concentrations décroissantes de la substance testée. Après incubation, la croissance est évaluée visuellement ou par lecture instrumentale. La CMI est définie comme la plus faible concentration ne présentant aucun signe de croissance microbienne, comparée aux témoins de croissance et de stérilité **(Jehl *et al*., 2015; EUCAST, 2024).**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée par la méthode de micro dilution en milieu liquide sur microplaque à 96 puits, conformément aux recommandations de l'EUCAST.

Une solution mère d'huile essentielle a été préparée en diluant 40 µl d'huile essentielle dans 960 µl de diméthylsulfoxyde (DMSO). Ensuite, 200 µl de cette solution ont été introduits dans le premier puits de la microplaque.

Des dilutions en série au 1/2 ont été réalisées en transférant 100 µl du premier puits vers le puits suivant contenant 100 µl de bouillon Mueller-Hinton (MH), puis en répétant l'opération jusqu'à l'avant-dernier puits. Le dernier puits a servi de témoin de stérilité et contenait uniquement le milieu MH .Par la suite, 10 µl d'une suspension bactérienne standardisée ont été ajoutés dans chaque puits. Enfin, 90 µl de bouillon MH ont été ajoutés dans chaque puits afin d'obtenir un volume final homogène. Les microplaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures. La CMI a été déterminée comme la plus faible concentration d'huile essentielle ne présentant aucune croissance visible, comparativement au témoin de croissance.

Deux contrôles ont été réalisés : un contrôle positif constitué de bouillon Mueller-Hinton inoculé, permettant de vérifier la viabilité de la souche, et un contrôle négatif constitué du milieu MH avec la souche.

8.4. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide/Fongicide (CMB)/(CMF) en milieu solide

La concentration minimale bactéricide (CMB) et la concentration minimale fongicide (CMF) désignent la concentration minimale d'huile essentielle nécessaire pour éliminer au moins 99,9 % de l'inoculum initial (c'est-à-dire moins de 0,01 % de survivants). Elles permettent d'identifier respectivement l'effet antibactérien ou antifongique de l'huile essentielle. Suite à l'élaboration de la concentration minimale inhibitrice (CMI), un échantillonnage est réalisé à partir des puits où aucune croissance visible n'a été observée après incubation. Ce prélèvement est par la suite ensemencé en stries sur un milieu gélosé approprié : la gélose Mueller-Hinton pour les bactéries et la gélose Sabouraud pour *C.albicans* .Les boîtes sont par la suite placées en incubation à 37 °C, pendant une durée de 18 à 24 heures pour les bactéries et de 24 à 48 heures pour les levures. La CMB ou la CMF représente la concentration minimale à laquelle aucune reprise de croissance n'est perçue suite à ce repiquage **(Benzaid, 2019)** .

9. Conservation des isolats

9.1. Conservation sur gélose inclinée

Les isolats microbiens ont été conservées sur une gélose inclinée en ensemençant des cultures pures sur un milieu nutritif gélosé. Après une incubation à 37 °C pendant une journée, les tubes ont été stockés à 4 °C afin de garantir la survie des souches à court terme **(Solunke, 2019).**

9.2. Conservation par glycérol

Utiliser la congélation en présence de glycérol pour conserver les isolats microbiens est un procédé fréquemment adoptée en microbiologie. Le glycérol joue le rôle de cryoprotecteur en empêchant la création de cristaux de glace à l'intérieur des cellules, ce qui contribue à maintenir la viabilité cellulaire lors du stockage à des températures froides **(Tutrina & Zhurilov, 2024).**

Chapitre IV

Résultats & discussion.

1. Extraction des huiles essentielles des plantes

Après une extraction réalisée pendant 2 heures par entraînement à la vapeur à partir de 316 g de feuilles de *L.nobilis*, et 3 heures par hydrodistillation et de 150 g de *S.officinalis* et de *T.vulgaris*, les huiles essentielles obtenues ont été recueillies. Les résultats sont présentés dans le **tableau 2**.

Tableau 2. Rendement d'extraction des huiles essentielles des trois plantes (*L.nobilis , S.officinalis et T.vulgaris*).

La plante	Méthode d'extraction	Poids végétales (g)	Volume d'eau (ml)	Poids d'HE (g)	Rendement (%)
L. nobilis.	Entraînement à la vapeur	**316,29**	**2500**	**1,3321**	**0,42**
S. officinalis.	hydrodistillation	**150**	**1500**	**2,832**	**1,888**
T. vulgaris	hydrodistillation	**153,46**	**1500**	**4,8377**	**3,1524**

Les rendements en huiles essentielles obtenus pour les trois plantes étudiées montrent des variations intéressantes lorsqu'ils sont comparés aux données de la littérature.

Pour *L.nobilis*, le rendement obtenu (0,47 %) est légèrement inférieur à celui rapporté dans l'étude de **(Caputo *et al.*, 2017)** (0,57 %) et nettement plus faible que celui de l'étude de **(Di Leo Lira *et al.*, 2009)** (0,9 %). Cette différence pourrait s'expliquer en partie par l'état de la plante utilisée lors de l'extraction. En effet, l'utilisation de feuilles fraîches (vertes) conduit généralement à des rendements plus faibles en raison de leur forte teneur en eau, qui dilue les composés volatils et limite leur libération. À l'inverse, le séchage permet une concentration des huiles essentielles et une meilleure rupture des structures cellulaires, favorisant ainsi l'extraction. D'autres facteurs comme les conditions écologiques et les paramètres d'extraction peuvent également intervenir.

Concernant *S.officinalis*, le rendement obtenu (1,88 %) est supérieur aux études de **(Arraiza *et al.*, 2012; Ben Farhat *et al.*, 2016)** (1,1–1,5 % et 1,45–1,49 %). Ce résultat relativement élevé pourrait indiquer une richesse particulière en composés volatils de la plante étudiée. Cette variation peut être liée à une récolte effectuée à un stade optimal de

développement (floraison), ou encore à des conditions d'extraction favorables ayant permis une meilleure récupération des huiles essentielles.

Pour *T.vulgaris*, le rendement obtenu (3,15 %) se situe dans l'intervalle rapporté dans la littérature (0,3 % à 4,0 %) **(Pavela *et al*., 2018)**, bien qu'il soit nettement supérieur à certaines valeurs spécifiques comme (1,25 %) **(Borugă *et al.*, 2014)**. Cela confirme que le thym est une plante particulièrement riche en huiles essentielles, avec une forte variabilité selon l'origine géographique et les conditions environnementales. Le rendement élevé observé dans cette étude pourrait être lié aux conditions climatiques favorables dans la région de collecte.

De manière générale, les écarts observés entre les résultats expérimentaux et les données rapportées dans la littérature peuvent être attribués à plusieurs facteurs, notamment la variabilité génétique des plantes, les conditions environnementales, l'état du matériel végétal (frais ou sec), la période de récolte ainsi que la méthode d'extraction utilisée. Par conséquent, le rendement en huile essentielle constitue un paramètre variable, fortement influencé par les conditions expérimentales et les caractéristiques du matériel végétal.

2. Propriétés physiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles obtenues présentent des caractéristiques organoleptiques similaires. Elles se distinguent par une couleur allant de l'incolore au jaune pâle, ainsi qu'une texture fluide et homogène. Elles dégagent une odeur chaude et épicée, caractéristique des plantes d'origine **(tableau 3)**.

Tableau 3. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles extraites.

Huiles extraites	Couleur	Aspect	Odeur
HE de *L.nobilis.*	Transparente à jaune clair	Limpide et fluide	Forte, très épicés
HE de *S. officinalis*	Jaune pale.	Limpide	Chaude, identique que la plante.
HE de *T.vulgaris*	Jaune clair	Limpide	Très forte, identique à celle des plantes

3. Densité relative

La densité relative des huiles essentielles a été mesurée, et les valeurs obtenues sont présentées dans le **tableau 4**.

Tableau 4. Densité des huiles essentielles extraites.

HE	D
L.nobilis.	0,9186
S.officinalis.	0,842
T.vulgaris	0,8951

Les valeurs de la densité relative des huiles essentielles extraites sont présentées dans le tableau 4. L'huile essentielle de *L.nobilis* a montré une densité de 0,9186, légèrement supérieure à celle rapportée par **Di Leo Lira et al. (2009)**, qui ont obtenu une valeur de 0,900. Concernant *S.officinalis*, la densité mesurée (0,842) est inférieure à celle rapportée dans une étude réalisée à Azzaba (Skikda), où une valeur de 0,905 a été enregistrée. En revanche, l'huile essentielle de *T.vulgaris* présente une densité de 0,8951, relativement proche des valeurs rapportées dans la même région, comprises entre 0,915 et 0,935 **(Frydrysiak *et al*., 2021)**.

De manière générale, les écarts observés entre les valeurs expérimentales et celles rapportées dans la littérature peuvent être attribués à plusieurs facteurs, notamment les conditions pédoclimatiques, l'origine géographique des plantes, leur stade de développement, les conditions de récolte, ainsi que la méthode d'extraction employée. La variabilité naturelle de la composition chimique des huiles essentielles peut également influencer leurs propriétés physicochimiques, notamment leur densité relative.

4. Indice d'acide

Les résultats obtenus concernant l'indice d'acidité des huiles essentielles analysées sont regroupés dans le **tableau 5** ci-dessous .

Tableau 5. Les résultats obtenus d'indice d'acidité des HEs.

HE	IA (mg KOH/g)
L.nobilis	2,24
S. officinalis	1,12
T. vulgaris	2,24

L'huile essentielle de *L.nobilis* présente un indice d'acidité de 2,24 mg KOH/g, légèrement inférieur à la valeur de **Taarabt *et al.* (2017)** (2,5 mg KOH/g). Cet écart peut s'expliquer par des différences liées aux conditions agroclimatiques, au stade de récolte ou encore aux paramètres d'extraction utilisés. Malgré cette légère diminution, la valeur reste cohérente avec les données bibliographiques, ce qui confirme une bonne qualité de l'huile obtenue.

Pour *S. officinalis*, l'indice d'acidité obtenu (1,12 mg KOH/g) est inférieur à celui rapporté dans la littérature chez **(Djousse *et al.*, 2022)** (1,49 mg KOH/g). Cette réduction pourrait indiquer une teneur plus faible en composés acides libres, potentiellement due à une meilleure conservation de la matière végétale ou à des conditions d'extraction limitant l'hydrolyse des constituants lipidiques. Ce résultat suggère également une bonne stabilité chimique de l'huile analysée.

En revanche, *T.vulgaris* présente un indice d'acidité de 2,24 mg KOH/g, identique à la valeur de **Madouni (2023)** .Cette concordance traduit une forte reproductibilité des résultats et confirme la fiabilité du procédé d'extraction et d'analyse utilisé.

5. Activité antioxydante

L'efficacité des huiles essentielles et de l'acide ascorbique à capturer le radical DPPH est illustrée par les valeurs d'IC_{50} **(tableau 6)**; elles indiquent la concentration d'antioxydant nécessaire pour neutraliser 50% de la concentration initiale du radical libre dans l'environnement. Plus l'IC_{50} est faible, plus l'activité antiradicalaire d'un composé est considérable (**Ouibrahim, 2015**).

Tableau 6 . Valeurs d'IC_{50} obtenues pour les huiles essentielles analysées

HE	IC_{50} (µg/ml)
Acide ascorbique	3,12
L. nobilis	82,26
S. officinalis	1504,41
T. vulgaris	161,25

Les résultats relatifs à l'activité antioxydante des différentes huiles essentielles ont été représentés sous forme de graphiques afin de permettre une comparaison claire et une meilleure interprétation des valeurs d'IC_{50} **(figure 11)**.

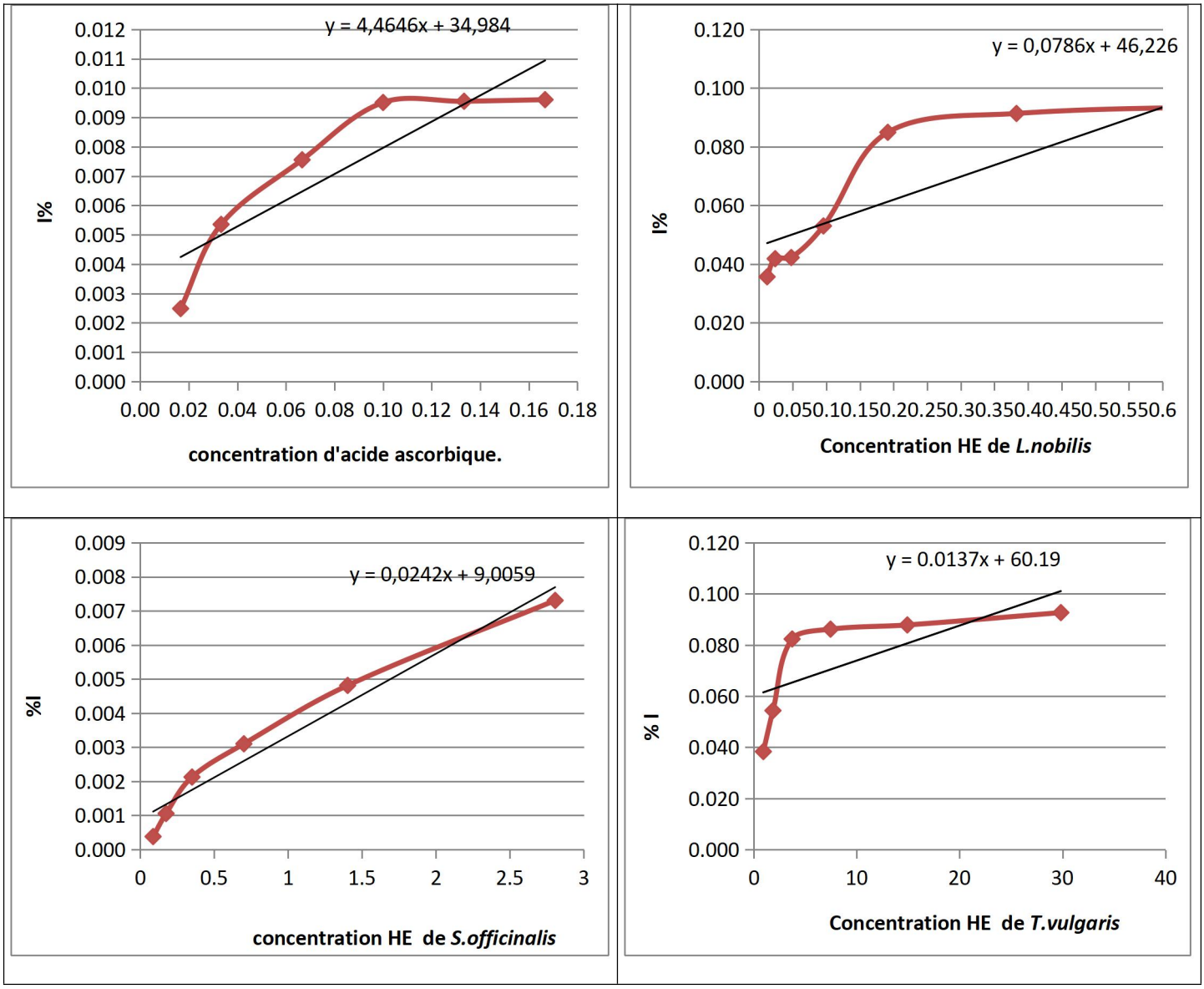

Figure 11. Mesure du pouvoir antioxydant d'acide ascorbique et HE de *L .nobilis*, *S.officinalis* et de *T.vulgaris* par le radical DPPH.

L'acide ascorbique, utilisé comme contrôle positif, a présenté une IC_{50} de 3,12 µg/ml, confirmant sa très forte activité antioxydante.

Cette valeur est comparable, voire légèrement meilleure, que celles rapportées dans la littérature, notamment 4,39 µg/ml **(Madouni, 2023)** et 3,395 µg/ml **(Van Loc *et al.*, 2026)**. Ces résultats confirment la pertinence de l'acide ascorbique comme standard de référence dans le test DPPH **(figure 12)**.

L'analyse comparative des IC_{50} montre une variabilité importante de l'activité antioxydante entre les différentes huiles essentielles étudiées. Globalement, *L.nobilis* présente l'activité la plus élevée parmi les huiles testées, suivie de *T.vulgaris*, tandis que *S.officinalis* montre une activité plus faible.

Ces variations sont surtout dues à la composition chimique distincte de chaque huile essentielle, ainsi qu'aux facteurs environnementaux et méthodologiques qui impactent leur extraction. En fin de compte, l'acide ascorbique réaffirme sa position prédominante en tant que référence antioxydante.

Figure 12.Evaluation de l'activité antioxydante d'acide ascorbique par le test DPPH.

L'huile essentielle de *L .nobilis* a montré une IC_{50} de 82,26 µg/ml, indiquant une activité antioxydante relativement élevée.

Ce chiffre est largement inférieur à celui mentionné par **Ouibrahim** (**2015**), soit 1,55 mg/ml (1550 µg/ml), soulignant ainsi d'une activité antioxydante supérieure de notre échantillon. Toutefois, elle dépasse légèrement les résultats de **Goudjil** (**2016**) et **Saab *et al***. (**2012**), qui ont enregistré respectivement 72,78 µg/ml et 53,5 µg/ml, indiquant une activité légèrement plus marquée dans leurs recherches. Ces variations peuvent s'expliquer par la composition chimique de l'huile essentielle de *L.nobilis*, dont les proportions peuvent varier en fonction des conditions géographiques et écologiques.

L'huile essentielle de *S.officinalis* a présenté une IC_{50} de 1504,41 µg/ml, indiquant une activité antioxydante relativement faible.

Ce résultat est moins élevé que celui de **Bourazmi (2018),** qui était de 6,41 mg/ml (6410 µg/ml), affirmant une activité antioxydante supérieure dans notre échantillon. Néanmoins, il surpasse largement la valeur déterminée par **Nguyen *et al.* (2024)**, qui était de 457,59 µg/ml, signalant ainsi une activité plus importante dans cette recherche. Cette variabilité peut être liée à la complexité chimique de *S. officinalis*, et les conditions de l'environnement.

L'huile essentielle de *T.vulgaris* a présenté une IC_{50} de 161,25 µg/ml, traduisant une activité antioxydante modérée.

Ce résultat est mis en parallèle avec diverses références bibliographiques. **Ismaili *et al.* (2017)** ont mentionné une IC_{50} considérablement plus élevée de 4,57 mg/ml (4570 µg/ml), signalant ainsi une activité antioxydante significativement inférieure. De façon similaire, **Madouni (2023)** a mesuré une valeur de 783,0 µg/ml, qui dépasse aussi celle relevée dans notre recherche. En revanche, **Mancini *et al.* (2015)** ont indiqué un IC_{50} de 64,93 µg/ml, permettant de suggérer une activité antioxydante supérieure. On peut attribuer ces variations à la variabilité de la composition chimique de l'huile essentielle, qui est affectée par divers éléments tels que le chémotype, les conditions climatiques, le moment de la récolte et les méthodes d'extraction.

5. Agents infectieux étudiés

5.1. Approches phénotypiques de différenciation

5.1.1. Caractéristique macroscopique des agents infectieux

Après une incubation des isolats à 37°C pendant 18 à 24h pour les bactéries (*E. coli, S.aureus et Strptococcus.sp)* et pendant 48 h pour les levures notamment *C albicans.* Les cultures ont montré un développement satisfaisant, caractérisé par une croissance homogène et typique de chaque isolat. Les colonies obtenues présentaient des morphologies distinctes, permettant une première étape de purification et facilitant leur identification préliminaire **(figure 13, 14, 15,16).**

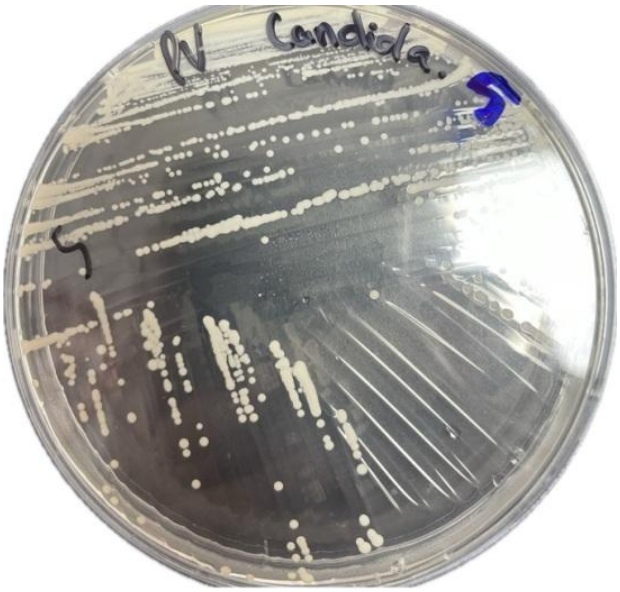

Figure 13. Aspect macroscopique d'isolat de *C.albicans* sur milieu Sabouraud.

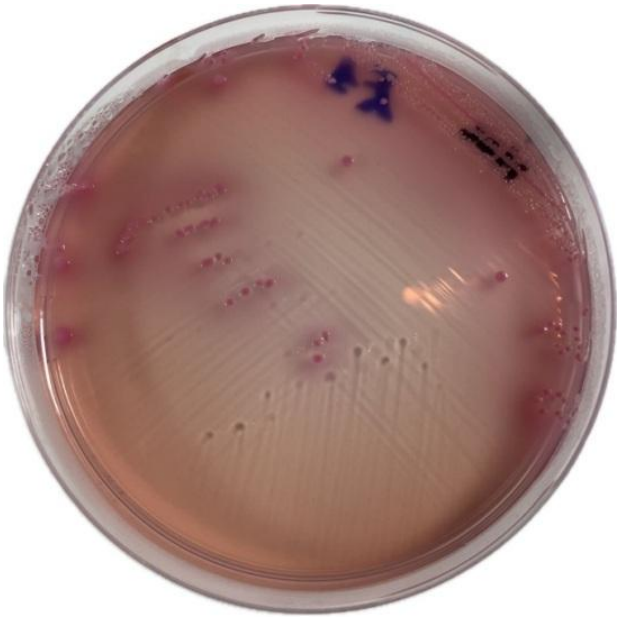

Figure 14. Aspect macroscopique d'isolat *d'E.coli* sur milieu MacConkey.

Figure 15. Aspect macroscopique d'isolat de *Streptococcus.spp* sur milieu gélose au sang.

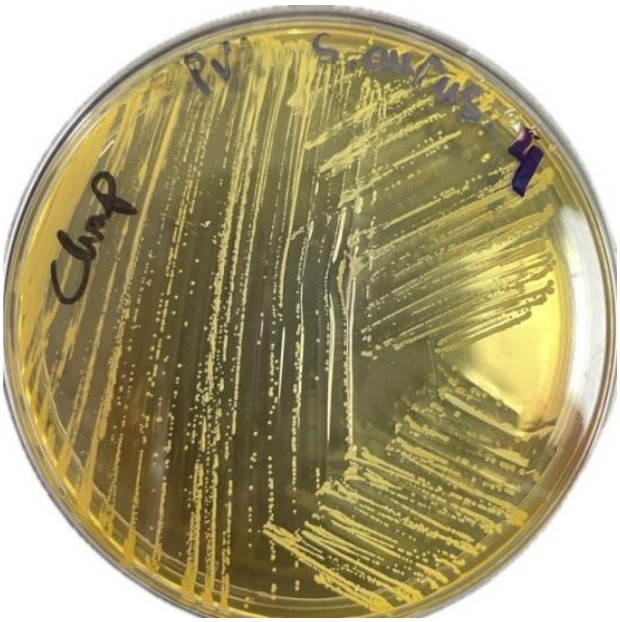

Figure 16. Aspect macroscopique d'isolat de *S.aureus* sur milieu Chapman.

L'examen macroscopique des colonies obtenues après incubation sur milieu spécifique a permis de mettre en évidence les caractéristiques présentées dans le **tableau 7** ci-dessous.

Tableau 7.Évaluation macroscopique des agents infectieux.

Isolat	Taille	forme	Bords	Relief	Couleur	texture	Surface	opacité
« C1 »	2mm	Circulaire	Régulier	Plat	beige	crémeuse	Lisse	Opaque
« C2 »	1mm	Circulaire	Régulier	Convexe	blanche	crémeuse	Lisse	Opaque
« S1 »	1mm	Circulaire	Régulier	Légèrement convexe	doré	crémeuse	Lisse et brillante	Opaque
« S2»	1mm	Circulaire	Régulier	Plat	Doré	Crémeuse	Lisse et brillante	Opaque
« ST1 »	0,5 mm	Circulaire	Régulier	Légèrement convexe	Blanche	Fine	Lisse	Translucide
« ST2 »	0,5 mm	Circulaire	Régulier	Convexe	Blanche	Fine	Lisse	Translucide
« E »	2mm	Circulaire	Régulier	Convexe	Rose	Crémeuse	Lisse	Opaque

5.1.2. Caractéristique microscopique des agents infectieux

Les observations microscopiques ont été réalisées afin de confirmer la morphologie et l'identité des souches microbiennes après repiquage, en utilisant trois techniques complémentaires : l'examen à l'état frais, la coloration de Gram pour les bactéries, et la coloration au bleu de méthylène pour les levures **(Figure 17-23).**

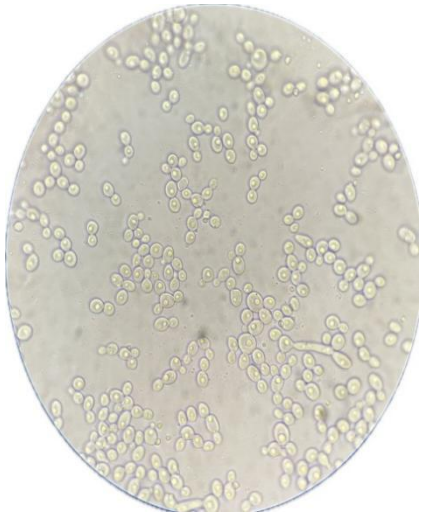

Figure 17. Observation microscopique de *C.albicans* à l'état frais (G10 x 100).

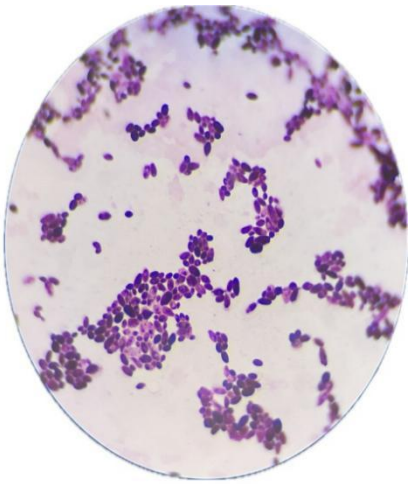

Figure 18. Observation microscopique de *C.albicans* après coloration de Gram (G10 x 100).

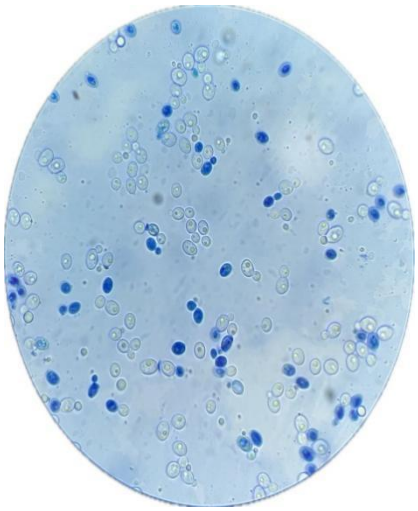

Figure 19.Observation microscopique de *C.albicans* après coloration par bleu de méthylène (G10 x 100).

- **Test de germination**

Après incubation dans le sérum à 37 °C pendant 2 à 3 heures, la levure produit des tubes germinatifs visibles au microscope **(figure 20)**. La présence de ces structures filamenteuses sans constriction à leur point d'origine indique un test positif. Ce test permet de différencier *C. albicans* des autres espèces de *Candida* généralement négatives.

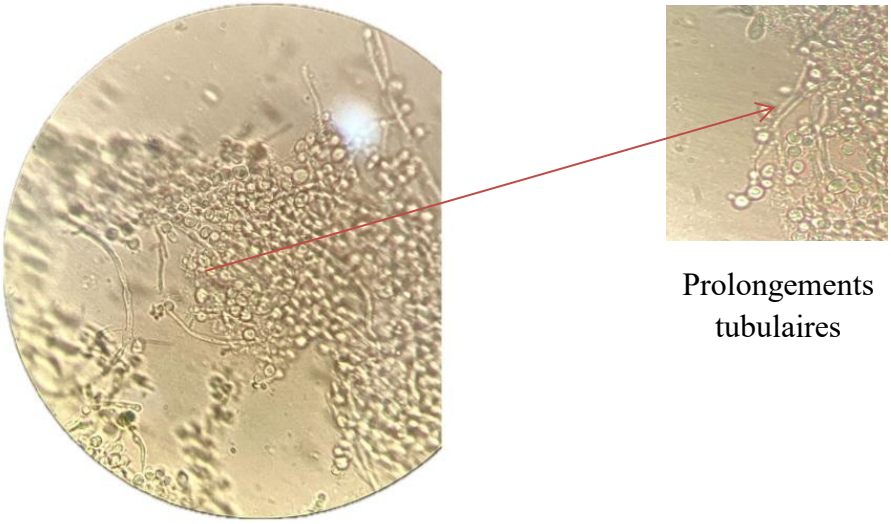

Figure 20. Test de germination de *C.albicans* dans le sérum (G10 x 100)

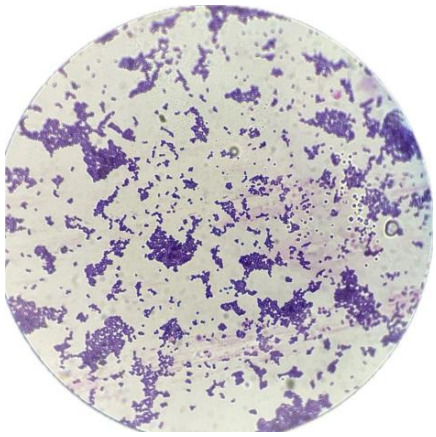

Figure 21. Observation microscopique de *S.aureus* après coloration de Gram (G10 x 100).

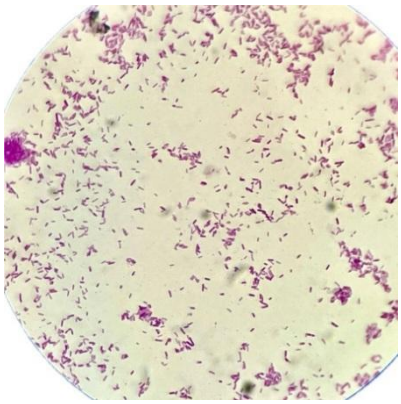

Figure 22. Observation microscopique d'*E.coli* après coloration de Gram (G10 x 100).

Figure 23. Observation microscopique de *Streptococcus.spp* après coloration de Gram (G10 x 100).

6. Approches biochimiques

6.1. Catalase

Le test de la catalase a montré une réaction positive pour *S. aureus*, mise en évidence par la formation immédiate de bulles d'oxygène, indiquant la présence de l'enzyme catalase **(figure 24)**. En revanche, *Streptococcus. Spp* a présenté une réaction négative, sans dégagement de bulles, traduisant l'absence de cette enzyme. Ces résultats permettent de différencier clairement les deux genres bactériens.

Figure 24.Réaction catalase pour *S.aureus.*

6.2. Test coagulase

Le test de la coagulase réalisé sur les isolats de *S. aureus* a révélé une réaction positive, mise en évidence par la formation d'un caillot ou d'une coagulation du plasma **(figure 25)**. Ce résultat indique la présence de l'enzyme coagulase, un facteur de virulence caractéristique de *S. aureus*, permettant de le distinguer des staphylocoques à coagulase négative.

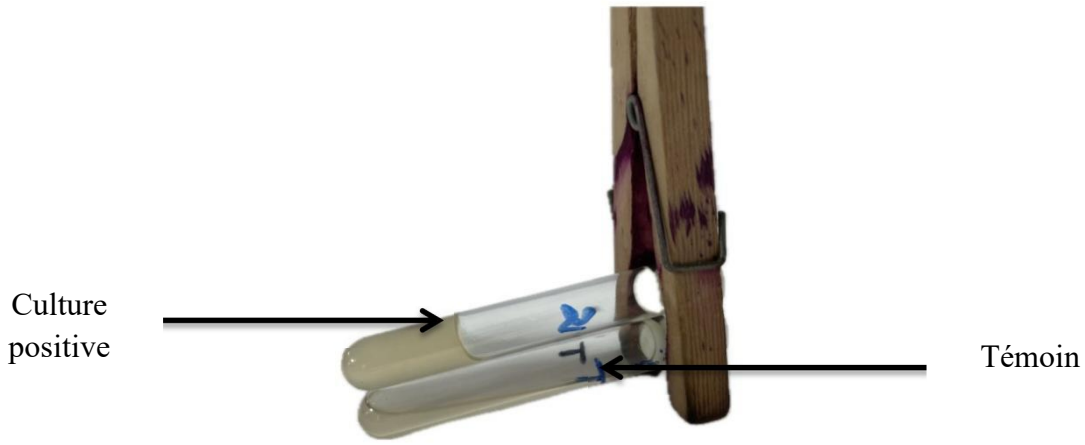

Figure 25. Test coagulase pour *S.aureus*.

6.3. Test indole

Le test de l'indole est utilisé pour mettre en évidence la capacité des bactéries à produire l'indole à partir du tryptophane. Ce caractère biochimique constitue un critère important pour l'identification d'*E. coli* et sa différenciation des autres entérobactéries indole négatif. Après incubation dans un milieu contenant du tryptophane, l'ajout du réactif de Kovac provoque l'apparition d'un anneau rouge à la surface, indiquant la production d'indole par la bactérie grâce à l'enzyme tryptophanase **(figure 26)**.

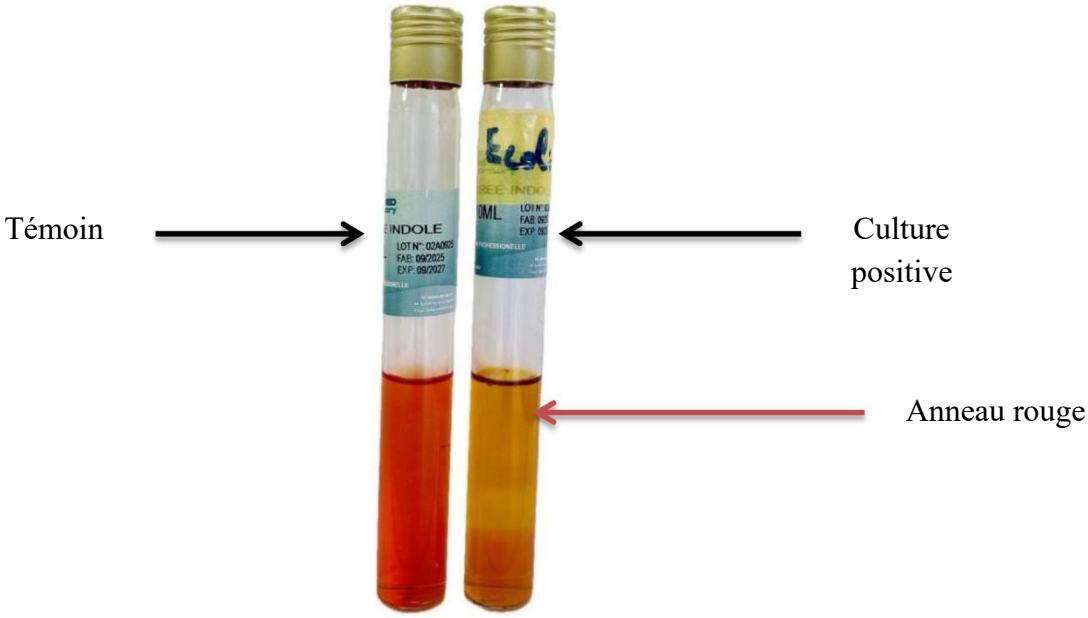

Figure 26.Test indole pour *E.coli* sur milieu Urée-indole.

7. Test d'activités antimicrobiennes

7.1. Aromatogramme

L'activité antimicrobienne des trois huiles essentielles étudiées a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose (aromatogramme) à l'encontre des différentes isolats microbiens testés. Les résultats obtenus sont exprimés en diamètre des zones d'inhibition (mm) autour des disques imprégnés des huiles essentielles.

Les diamètres des zones d'inhibition enregistrés pour les différentes huiles essentielles sont présentés dans le **tableau 8** suivant:

Tableau 8. Résultats de l'aromatogramme des huiles essentielles sur les isolats étudiés.

Groupes microbiens	**Isolats**	***L. nobilis***	***S. officinalis***	***T. vulgaris***
		Zone d'inhibition (mm)	**Zone d'inhibition (mm)**	**Zone d'inhibition (mm)**
Gram positive	ST1	7	6	32
	ST2	6,91	7,55	31,36
	S1	7,77	9,32	35,39

Groupes microbiens	Isolats	*L. nobilis*	*S. officinalis*	*T. vulgaris*
		Zone d'inhibition (mm)	**Zone d'inhibition (mm)**	**Zone d'inhibition (mm)**
	S2	12,25	16,14	39,77
Gram negative	E	5,4	7,19	33,67
Levure	C1	10,84	14,96	65
	C2	12	9	49

- Diamètre des zones d'inhibition incluent le disque de 6 mm.

L'analyse des résultats révèle une variabilité importante de l'activité antimicrobienne selon la nature de l'huile essentielle ainsi que selon la souche microbienne testée. Cette différence d'efficacité peut être attribuée à la composition chimique spécifique de chaque huile essentielle ainsi qu'à la sensibilité intrinsèque des microorganismes étudiés.

Parmi les huiles essentielles testées, *T.vulgaris* a présenté l'activité antimicrobienne la plus importante contre la majorité des souches microbiennes, avec des diamètres d'inhibition particulièrement élevés **(figure 27)**. Cette forte activité pourrait être liée à la richesse de cette huile essentielle en composés phénoliques tels que le thymol et le carvacrol, reconnus pour leurs puissantes propriétés antibactériennes et antifongiques. Selon **Burt** (**2004**), ces composés agissent principalement par altération de la membrane cytoplasmique des microorganismes, entraînant une perturbation de la perméabilité membranaire et une fuite des constituants cellulaires.

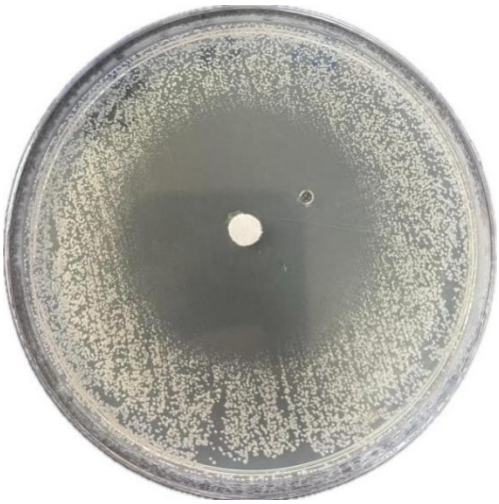

Figure 27. Halo d'inhibition obtenue avec HE de *T.vulgaris* sur *C. albicans*.

L'huile essentielle de *L.nobilis* a montré une activité antimicrobienne modérée à importante selon les souches testées **(figure 28).** Cette activité pourrait être associée à la présence de composés terpéniques tels que le 1,8-cinéole, l'eugénol et le linalol, connus pour leurs effets antimicrobiens **(Caputo *et al*, 2017).**

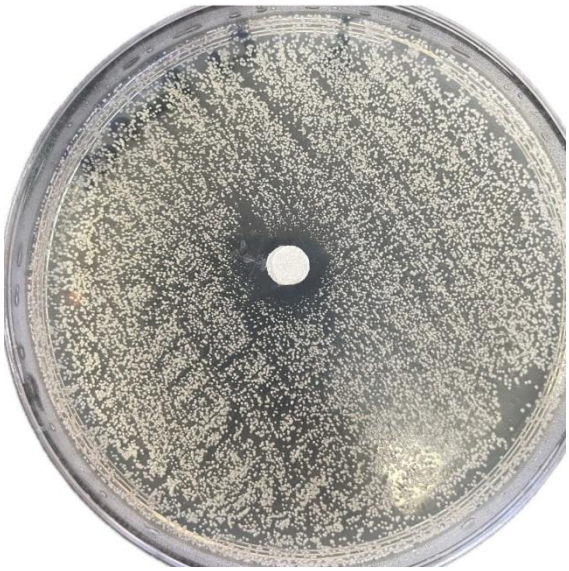

Figure 28. Halo d'inhibition obtenue avec HE de *L.nobilis* sur *C. albicans.*

Concernant *S.officinalis*, les résultats ont révélé une activité inhibitrice plus faible comparativement aux deux autres huiles essentielles **(figure 29)**. Toutefois, certaines souches ont montré une sensibilité notable à cette huile essentielle. Cette activité pourrait être attribuée à des composés bioactifs comme le camphre, l'α-thujone et le 1,8-cinéole, dont l'efficacité

antimicrobienne dépend fortement de leur concentration et de leur synergie chimique **(Jažo *et al.*, 2023)**.

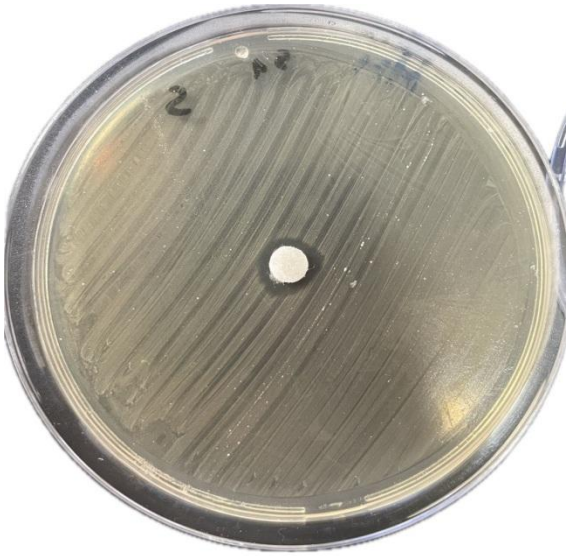

Figure 29. Halo d'inhibition obtenue avec HE de *S.officinalis* sur *S.aureus.*

Par ailleurs, les bactéries à Gram positif se sont révélées globalement plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries à Gram négatif. Cette différence de sensibilité est fréquemment rapportée dans la littérature et peut être expliquée par la structure complexe de la paroi des bactéries Gram négatif, caractérisée par la présence d'une membrane externe riche en lipopolysaccharides limitant la pénétration des composés hydrophobes des huiles essentielles **(Nazzaro *et al*, 2013).**

Les levures du genre *Candida* ont également présenté des degrés de sensibilité variables vis-à-vis des huiles essentielles étudiées, traduisant une activité antifongique dépendante de la composition biochimique des huiles essentielles et de la nature de la souche fongique.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus mettent en évidence le potentiel antimicrobien des huiles essentielles étudiées, avec une efficacité particulièrement marquée pour l'huile essentielle de *T.vulgaris*. Ces observations confirment l'intérêt croissant des huiles essentielles comme source naturelle d'agents antimicrobiens dans les domaines pharmaceutique, médical et agroalimentaire.

7.2.Antibiogramme

Après l'examen de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles par aromatogramme, l'étude a été complétée par un antibiogramme afin de comparer la sensibilité des isolats microbiens aux antibiotiques de référence.

L'évaluation de la sensibilité des isolats microbiens aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose. Les résultats obtenus sont exprimés en diamètre des zones d'inhibition (mm) autour des disques d'antibiotiques **(tableau 9)**.

Tableau 9 . Résultats de l'antibiogramme.

Isolats microbiens	Antibiotiques	Diamètre d'inhibition (mm)	Interpretation
***S*1**	E15	8,05	Résistante
	OX5	19,96	Sensible
***S* 2**	OX5	22,71	Sensible
	E15	23,63	Sensible
St	E15	10,77	Résistante
	AMC 10	17,51	Activité modérée
E	AMC 10	25	Sensible
***C*1**	Éconazole	22	Sensible
***C*2**	Éconazole	15	Sensibilité réduite

Les résultats de l'antibiogramme montrent des profils de sensibilité variables selon les isolats microbiens étudiés.

Concernant les souches de *S. aureus*, la première souche a présenté une résistance à l'érythromycine (E15) avec un diamètre d'inhibition de 8,05 mm, tandis qu'elle s'est révélée sensible à l'oxacilline (OX5) avec une zone d'inhibition de 19,96 mm. La deuxième souche de *S. aureus* a montré une bonne sensibilité à l'érythromycine et à l'oxacilline, avec des diamètres respectifs de 23,63 mm et 22,71 mm.

La souche de *Streptococcus* sp. a présenté une résistance vis-à-vis de l'érythromycine avec une zone d'inhibition de 10,77 mm. En revanche, le disque AMC 10 a montré une activité inhibitrice modérée avec un diamètre de 17,51 mm.

Pour *E.coli*, le disque amoxicilline (AMC 10) a produit une zone d'inhibition importante de 25 mm, traduisant une bonne sensibilité de la souche à cet antibiotique.

Concernant les levures du genre *Candida*, la première souche a montré une forte sensibilité à l'éconazole avec une zone d'inhibition de 22 mm. La seconde souche a présenté une sensibilité plus faible avec un diamètre de 15 mm, indiquant une diminution de la susceptibilité antifongique.

Globalement, les résultats obtenus mettent en évidence des différences de sensibilité entre les souches étudiées, pouvant être liées à la nature des microorganismes ainsi qu'aux mécanismes de résistance développés contre certains antibiotiques.

La comparaison des résultats de l'aromatogramme et de l'antibiogramme montre que certaines huiles essentielles présentent une activité antimicrobienne notable pouvant, dans certains cas, se rapprocher de celle des antibiotiques conventionnels.

Ces résultats confirment ainsi l'intérêt des huiles essentielles comme source potentielle d'agents antimicrobiens naturels.

Les résultats obtenus dans cette étude mettent en évidence un potentiel antimicrobien notable des huiles essentielles testées, suggérant leur intérêt dans le développement d'approches thérapeutiques alternatives ou complémentaires aux agents antimicrobiens conventionnels. Ce potentiel est particulièrement pertinent dans un contexte mondial marqué par l'augmentation des résistances bactériennes et fongiques aux antibiotiques **(Burt, 2004 ; Bakkali *et al*, 2008).**

En effet, de nombreuses études ont montré que les huiles essentielles riches en composés phénoliques, notamment le thymol et le carvacrol, présentent une activité antimicrobienne élevée grâce à leur capacité à perturber l'intégrité des membranes cellulaires microbiennes **(Burt, 2004 ; Hyldgaard *et al.*, 2012)**. Dans ce cadre, *T. vulgaris* apparaît comme une espèce particulièrement prometteuse pour des applications antiseptiques et antimicrobiennes.

Les huiles essentielles sont actuellement étudiées pour diverses applications potentielles, notamment en phytothérapie, en cosmétique (produits antiseptiques, soins dermatologiques), ainsi qu'en agroalimentaire pour la conservation naturelle des aliments **(Bakkali *et al.*, 2008 ; Hyldgaard *et al.*, 2012)**. Leur utilisation pourrait ainsi contribuer à réduire le recours aux conservateurs synthétiques et aux antibiotiques.

Cependant, malgré ces perspectives encourageantes, plusieurs limites doivent être prises en considération. Les activités observées *in vitro* ne reflètent pas toujours les effets *in vivo*, en raison de la volatilité des composés, de leur faible solubilité dans les milieux biologiques et des possibles effets cytotoxiques à fortes concentrations **(Burt, 2004).** Par conséquent, des études complémentaires, notamment *in vivo* et cliniques, sont indispensables afin de valider leur sécurité et leur efficacité thérapeutique.

Enfin, l'utilisation des huiles essentielles pourrait s'inscrire dans une stratégie thérapeutique intégrée visant à limiter l'émergence des résistances microbiennes, en particulier dans le cadre d'approches combinées avec les antibiotiques classiques, comme cela a été suggéré dans plusieurs travaux récents **(Bakkali *et al.*, 2008).**

7.3.Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration Minimale Bactéricide/Fongicide (CMB)/(CMF)

Afin de compléter l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles étudiées, la CMI **(figure 30)**, la CMB **(figure 31)** et CMF des huiles essentielles de *L.nobilis, S.officinalis* et *T.vulgaris* vis-à-vis des différents agents microbiens étudiés sont présentées dans le **tableau 10** suivant :

Tableau 10. Résultats de CMI et (CMB)/(CMF)

Huiles essentielles	Isolats	CMI (µl)	CMB et CMF (µl)	Rapport CMB/CMI ou CMF/CMI
L.nobilis	S1	1	2	2
	S2	1	1	1
	ST1	2	2	1
	ST2	2	2	1
	C1	2,5	5	2
	C2	1	1	1
	E	0,5	2	4

Huiles essentielles	Isolats	CMI (µl)	CMB et CMF (µl)	Rapport CMB/CMI ou CMF/CMI
S.officinalis	S1	1	2	2
	S2	1	2	2
	ST1	1	2	2
	ST2	1	2	2
	C1	2	2	1
	C2	1	1	1
	E	2,5	5	2
T.vulgaris	S1	0,3125	5	16
	S2	0,3125	0,625	2
	ST1	1	1	1
	ST2	1	2	2
	C1	0,625	2,5	4
	C2	0,125	1	8
	E	0,3125	1,25	4

Les résultats mettent en évidence une variation notable des valeurs de CMI ainsi que des CMB/CMF en fonction de l'huile essentielle testée et les isolats étudiés.

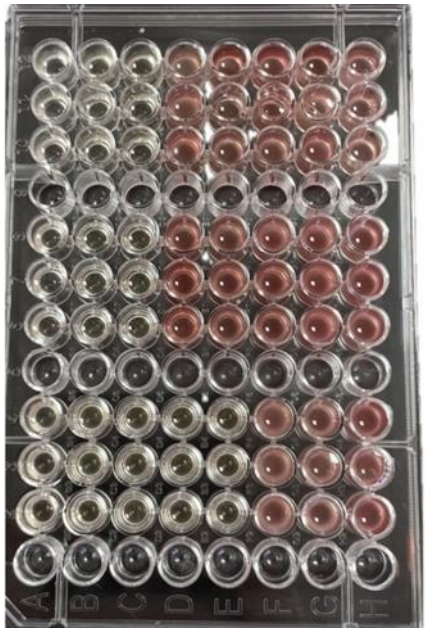

Figure 30. Résultat de la CMI des huiles essentielles de laurier, sauge et thym contre *C.albicans* et *E.coli*.

De manière générale, *T.vulgaris* se distingue par les valeurs de CMI les plus faibles, comprises entre 0,125 et 1 µl, traduisant une activité antimicrobienne particulièrement élevée.

Les valeurs de CMB/CMF y sont également faibles à modérées, suggérant une action à la fois bactéricide et fongicide marquée.

Figure 31. Résultat de la CMB de l'HEs sur les isolats.

En comparaison, *L. nobilis* et *S. officinalis* présentent des CMI globalement plus élevées, variant entre 1 et 2,5 µl, ce qui reflète une activité antimicrobienne plus modérée par rapport à *T.vulgaris*.

Par ailleurs, l'analyse des rapports CMB/CMI (ou CMF) constitue un indicateur pertinent pour préciser la nature de l'effet antimicrobien exercé. En effet, un rapport proche de 1 est généralement associé à un effet bactéricide ou fongicide prononcé, tandis qu'un rapport élevé est plutôt indicatif d'une activité bactériostatique ou fongistatique (**Pankey & Sabath, 2004).** Dans la présente étude, l'HE de *L. nobilis* a présenté une activité bactéricide et fongicide sur l'ensemble des agents infectieux testés. Les rapports CMB/CMI ou CMF/CMI variaient de 1 à 4, valeurs caractéristiques d'un effet létal selon les critères admis dans la littérature. Les meilleures activités ont été enregistrées contre les isolats S2, ST1 et ST2 ainsi que *C. albicans* C2 (rapport = 1), tandis que l'activité la moins prononcée a été observée contre *E. coli* (rapport = 4). L'HE de *S. officinalis* a présenté une activité bactéricide et fongicide sur l'ensemble des souches testées, avec des rapports CMB/CMI ou CMF/CMI compris entre 1 et 2. Les activités les plus marquées ont été observées contre les ioslats de *C. albicans* (rapport = 1), tandis que les isolats bactériens ont présenté des rapports de 2, confirmant le caractère bactéricide de cette HE. L'HE de *T. vulgaris* se caractérise par le rapport entre sa concentration létale et sa concentration inhibitrice. On observe une activité

purement bactériostatique vis-à-vis de l'isolat de S1, pour laquelle le rapport est particulièrement élevé et atteint 16. De la même manière, le produit manifeste une action fongistatique contre l'isolat C2, avec un rapport égal à 8. À l'inverse, pour l'ensemble des autres isolats étudiés, l'huile essentielle développe une activité bactéricide ou fongicide franche, puisque leurs rapports respectifs restent inférieurs ou égaux à 4, confirmant ainsi une efficacité létale à des concentrations proches de la concentration minimale inhibitrice. Ces résultats indiquent une forte efficacité antimicrobienne des huiles essentielles étudiées, particulièrement celles de *L. nobilis* et *S. officinalis*.

Cette activité peut être attribuée à la composition chimique spécifique des huiles essentielles, dont l'efficacité dépend de la nature et de la proportion de leurs constituants majoritaires. Grâce à leur caractère lipophile, les composés bioactifs des huiles essentielles interagissent avec la membrane cellulaire des microorganismes, entraînant une altération de sa structure et de sa perméabilité, une perturbation du transport des nutriments et de l'équilibre ionique, ainsi qu'une désorganisation du métabolisme cellulaire. Ils peuvent également inhiber la production d'ATP en affectant la chaîne respiratoire, interférer avec certaines protéines essentielles impliquées dans la division cellulaire et limiter la formation de biofilms, réduisant ainsi la virulence des agents pathogènes **(Rhayour, 2002 ; Bouyahya *et al.*, 2017)**. Ces mécanismes expliquent en grande partie le potentiel remarquable de *T. vulgaris* dans la lutte contre les microorganismes responsables des infections vaginales.

Conclusion.

Conclusion.

Les infections vaginales chez la femme constituent un problème de santé publique fréquent, touchant une large proportion de la population féminine et pouvant entraîner des complications importantes en l'absence de prise en charge adéquate. Elles sont généralement causées par divers agents pathogènes bactériens et fongiques, dont la prise en charge repose principalement sur l'utilisation d'antimicrobiens. Cependant, l'augmentation progressive des résistances microbiennes ainsi que les effets secondaires associés à certains traitements conventionnels rendent nécessaire la recherche de nouvelles alternatives thérapeutiques plus sûres et efficaces.

Dans ce contexte, la présente étude s'est intéressée à l'évaluation des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de *T. vulgaris*, *S. officinalis* et *L. nobilis*. Les rendements d'extraction obtenus ont été respectivement de 3,1524 %, 1,888 % et 0,42 %, mettant en évidence une variabilité liée aux caractéristiques propres de chaque espèce végétale. L'évaluation de l'activité antimicrobienne vis-à-vis de *S. aureus*, *Streptococcus* sp., *E. coli* et *C. albicans* a révélé une sensibilité variable selon les isolats et les huiles essentielles testées.

Les résultats ont montré que l'HE de *T. vulgaris* possède l'activité antimicrobienne la plus importante, avec des diamètres d'inhibition compris entre 32 et 65 mm, associés à de faibles valeurs de CMI ainsi qu'à un effet majoritairement bactéricide et fongicide. En revanche, les huiles essentielles de *S. officinalis* et de *L. nobilis* ont présenté des activités plus modérées, avec des zones d'inhibition variant respectivement de 6 à 16 mm et de 5 à 12 mm.

Par ailleurs, l'étude de l'activité antioxydante par le test du DPPH a mis en évidence un pouvoir antioxydant variable entre les huiles essentielles étudiées. L'huile essentielle de *L. nobilis* a présenté la meilleure activité avec une valeur d'IC50 de 82,26 µg/ml, suivie de *T. vulgaris* (161,25 µg/ml), tandis que *S. officinalis* a montré l'activité la plus faible (IC50=1504,41 µg/ml). Ces résultats témoignent de la richesse de ces huiles en composés bioactifs capables de neutraliser les radicaux libres et de contribuer à la protection des tissus contre le stress oxydatif associé aux processus infectieux et inflammatoires.

Globalement, cette étude met en évidence le potentiel thérapeutique des huiles essentielles étudiées, particulièrement celui de *T. vulgaris* pour son importante activité antimicrobienne et celui de *L. nobilis* pour son pouvoir antioxydant élevé. Ces huiles essentielles pourraient ainsi constituer des alternatives naturelles ou des compléments aux

traitements conventionnels des infections vaginales. Toutefois, malgré ces résultats encourageants, des études complémentaires *in vivo* ainsi que des essais cliniques demeurent indispensables afin de confirmer leur efficacité, leur innocuité et leur applicabilité en pratique médicale.

Ainsi, les huiles essentielles étudiées représentent une piste prometteuse pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques naturelles et contribuent à la valorisation des ressources végétales dans le domaine de la santé féminine.

Références Bibliographiques

A

Abdel Samad, R., El Darra, N., Al Khatib, A., Abou Chacra, H., Jammoul, A., & Raafat, K. (2023). Novel dual-function GC/MS aided ultrasound-assisted hydrodistillation for the valorization of Citrus sinensis by-products: Phytochemical analysis and antibacterial activities. Scientific Reports, 13, 12547.

Akrout, A. (2004). Étude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). In A. Ferchichi (Ed.), Réhabilitation des pâturages et des parcours en milieux méditerranéens (pp. 289–292). CIHEAM.

Al kassaa, I. (2014). Recherche et caractérisation du potentiel antiviral et probiotique de nouvelles souches de bactéries lactiques d'origine vaginale. Université Lille Nord de France.

Amabebe, E., & Anumba, D. O. C. (2018). The vaginal microenvironment: The physiologic role of Lactobacilli. *Frontiers in Medicine, 5*, 181.

Arraiza, M. P., Arrabal, C., & López, J. V. (2012). Seasonal Variation of Essential Oil Yield and Composition of Sage (*S. officinalis L.*) Grown in Castilla—La Mancha (Central Spain). *Not Bot Horti Agrobo*.

Avitabile, E., Menotti, L., Croatti, V., Giordani, B., Parolin, C., & Vitali, B. (2024). Protective mechanisms of vaginal lactobacilli against sexually transmitted viral infections. International Journal of Molecular Sciences, 25(17), 9168.

Azmir, J.; Zaidul, I.S.M.; Rahman, M.M.; Sharif, K.M.; Mohamed, A.; Sahena, F.; Jahurul, M.H.A.; Ghafoor, K.; Norulaini, N.A.N.; Omar, A.K.M. . (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. Journal of Food Engineering, 117(4), 426–436.

B

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

Balakrishnan, S. N., Yamang, H., Lorenz, M. C., Chew, S. Y., & Than, L. T. L. (2022). Role of Vaginal Mucosa, Host Immunity and Microbiota in Vulvovaginal Candidiasis. *Pathogens*, *11*(6), 618.

Barbot, V. (2023). Le microbiote vaginal : Dysbioses et conseils associés du pharmacien d'officine. Université de POITIERS.

Bassolé, I. H. N., & Juliani, H. R. (2012). Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties. *Molecules*, *17*(4), 3989‑4006.

Ben Farhat, M., Jordán, M. J., Chaouch-Hamada, R., Landoulsi, A., & Sotomayor, J. A. (2016). Phenophase effects on sage (Salvia officinalis L.) yield and composition of essential oil. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, *3*(3), 87-93.

Benkherara, S., Bordjiba, O., & Boutelilis Djahra, A. (2011). *Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale : Salvia officinalis L. sur quelques entérobactéries pathogènes*. Synthèse, 17(2), 72-80.

Benmedour, T. (2016). *Etude de l'activité biologique de quelques espéces végétale dans la région des Aures et au nord des SAHARA algérienne*. FERHAT ABBAS SETIF 1.

Bensaadi, N. (2025). *Extraction, détermination et valorisation des huiles essentielles de Thuya de Maghreb « Tetraclinis articulata (Vahl) Masters »*. Université IBN Khaldoun – Tiaret.

Benzaid, C. (2019). *Screening de molécules a activité antimicrobienne* . UNIVERSITE BADJI MOKHTAR.

Bohbot, J.-M. (2021). *La vaginose bactérienne*. Gedeon Richter France.

Bonnal, V. (2023). Dysbioses du microbiote vaginal : causes, conséquences et prise en charge. Université de Limoges.

Boris, S., & Barbés, C. (2000). Role played by lactobacilli in controlling the population of vaginal pathogens. Microbes and Infection, 2(5), 543–546.

Borugă, O., Jianu, C., Mişcă, C., Goleţ, L., Gruia, A., & Horhat, F. (2014). *Thymus vulgaris* essential oil : Chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Medicine and Life*, *7*(3).

Bouchenak, fatima, Degaichia, H., Lamgharbi, A., & Benrebhia, F. (2018). Évaluation in vitro du potentiel antifongique de l'huile essentielle et des extraits méthanoïques d'une *Asteraceae artemisia absinthium L*. 8(1), 886‑895.

Bougacha, J. (2023). *Au pays des minuscules : le microbiote vaginal*. Fondation Santé Sexuelle Suisse.

Boughendjioua, H., & Djeddi, S. (2018). *Quality Attributes of the Thyme (Thymus numidicus Poiret.) Essential Oil*. *6*(1), 12‑15.

Bouguerra, N. (2019). *Efficacité comparée des extraits de deux plantes, Thymus vulgariset Origanum vulgareà l'égard d'une espèce de moustique, Culex pipiens : Composition chimique, Toxicité, Biochimie et Biomarqueurs*. Larbi Tébessi -Tébessa.

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

Boulanger, R. (2023). *Le microbiote vaginal au cours de la vie d'une femme, Conseils à l'officine et usage des probiotiques*. Université de Lille.

Boussadia, A (2021). *Impact de l'exposition chronique à l'aluminium sur le développement du cerveau des rongeurs et pouvoir neuroprotecteur d'extrait de plantes : Etude neurobiochimique et neuroinflammatoire*.

Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Abrini, J., & Dakka, N. .Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie(2017).*

Bouzid, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. *Lebanese Science Journal, 12* (1).

Brotman, R. M. (2011). *Vaginal microbiome and sexually transmitted infections: An epidemiologic perspective*. *The Journal of Clinical Investigation, 121* (12), 4610–4617.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.

C

Caputo, L., Nazzaro, F., Souza, L. F., Aliberti, L., De Martino, L., Fratianni, F., Coppola, R., & De Feo, V. (2017). *Laurus nobilis*: Composition of essential oil and its biological activities. *Molecules, 22*(6), 930.

Cavalli, J.-F. (2002). *Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar*.

Cazanave, C., & de Barbeyrac, B. (2019). *Les infections génitales hautes : diagnostic microbiologique. Recommandations pour la pratique clinique* (*Pelvic inflammatory diseases: Microbiologic diagnosis – CNGOF and SPILF*). *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie, 47*(5), 409–417.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2024). *About sexually transmitted infections (STIs)*.

Chahal, 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 Phytochemistr*y*, *6*(4), 1153‑1161.

Chaib, A. (2021). Encapsulation d'une huile essentielle extraite de *Thymus vulgaris* : Effet sur ses propriétés physicochimiques et biologiqu*es*. LARBI BEN M'HIDI.

Chirane, M. S., Benchabanne, O., Bousbia, N., & Zenia, S. (2019). Antioxydant and antimicrobial activities of essential oil and ethanol extract of *Santolina chamaecyparissus L*. 9(2).

D

Delalande, A. (2017). La vaginose bactérienne : facteurs de risques endogènes/exogènes et infection au papillome virus associée.

Di Leo Lira, P., Retta, D., Tkacik, E., Ringuelet, J., Coussio, J. D., Van Baren, C., & Bandoni, A. L. (2009). Essential oil and by-products of distillation of bay leaves (*Laurus nobilis L*.) from Argentina. Industrial Crops and Products, 30(2), 259-264.

Djousse, B. M. K., Ngoune, N. F., Djoukeng, H. G., Nono, L. W., & 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. 30*(2), 121-133.

Donders, G. G. G., Vereecken, A., Bosmans, E., Dekeersmaecker, A., Salembier, G., & Spitz, B. (2002). Definition of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis: Aerobic vaginitis. BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology, 109(1), 34–43.

Donelian, A., Carlson, L. H. C., Lopes, T. J., & Machado, R. A. F. (2009). Comparison of extraction of patchouli (*Pogostemon cablin*) essential oil with supercritical CO2 and by steam distillation. The Journal of Supercritical Fluids, 48(1), 15‑20.

E

El-Akhal, F., Greche, H., Chahdi, F. O., Guemmouh, R., & Lalami, A. E. O. (2015). Composition chimique et activité larvicide sur Culex pipiens d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* cultivées au Maroc Chemical composition and larvicidal activity of Culex pipiens essential oil of *Thymus vulgaris* grown in Morocco. *6*, 214‑219.

Emmanuel, A., & Dilly OC, A. (2018). The Vaginal Microenvironment : The Physiologic Role of Lactobacilli. Volume 5.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (2024). *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters.*

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (2025). EUCAST disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing: Version 13.0 (January 2025). Consulté sur le site officiel de l'EUCAST.

F

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. *6*(8), 2346‑2357.

Ferhat, Z., Houacine, S., & Yessad, M. (2018). Huiles essentielles de Laurus nobilis L. et de Foeniculum vulgare Mill : Composition chimique et activités antimicrobienne et antioxydante. Algerian Annals of Agronomy – ex. Annales de l'Institut National Agronomique El-Harrach, 30(1 & 2), 19‑30.

Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2007). Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology (12th ed.). Mosby Elsevier.

Fraile, M. R., Vega Aleman, D., & Fernández Gutiérrez, C. (1980). Evaluation of Urea–motility–indole medium for recognition and differentiation of *Salmonella* and *Shigella* species in stool cultures. Journal of Clinical Microbiology, 12(3), 310–313.

Frydrysiak, E., Kunicka-Styczyńska, A., Śmigielski, K., & Frydrysiak, M. (2021). The Impact of Selected Essential Oils Applied to Non-Woven Viscose on Bacteria That Cause Lower Urinary Tract Infections—Preliminary Studies. *Molecules*, *26*(22), 6854.

G

Gajer, P., Brotman, R. M., Bai, G., Sakamoto, J., Schütte, U. M. E., Zhong, X., Koenig, S. S. K., Fu, L., Ma, Z. S., Zhou, X., Abdo, Z., Forney, L. J., & Ravel, J. (2012). *Temporal dynamics of the human vaginal microbiota*. *Science Translational Medicine, 4*(132), 132ra52.

Goudjil, M. B. (2016). *Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques.* Universit Kasdi Merbah.

Guinoiseau, E. (2010). *Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : Séparation, identification et mode d'action*. Université de corse-Pasquale paoli.

H

Hamidpour, M., Hamidpour, R., Hamidpour, 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. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 4(2), 82‑88.

Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. Frontiers in Microbiology, 3, 12.

I

Iqbal A., Owais M., feroukh A. et Shahid M. S. 2010. Combating Fungal and Remedy. London. edition Springer science and busnies mdia. P : 539.

Ismaili, R., Houbairi, S., Sanâa, L., Moustaid, K., & Lamiri, A. (2017). *Étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales marocaines.* European Scientific Journal, 13*(12), 323–338.*

J

Jakovljević, M., Jokić, S., Molnar, M., Jašić, M., Babić, J., Jukić, H., & Banjari, I. (2019). Bioactive Profile of Various Salvia officinalis L. Preparations. Plants, *8*(3), 55.

Jažo, Z., Glumac, M., Paštar, V., Bektić, S., Radan, M., & Carev, I. (2023). Chemical composition and biological activity of *Salvia officinalis* L. essential oil. *Plants, 12*(9), 1794.

Jehl, F., Chabaud, A., & Grillon, A. (2015). L'antibiogramme : Diamètres ou CMI ? *Journal des Anti-infectieux*, *17*(4), 125‑139.

K

Kant, R., Blom, J., Palva, A., Siezen, R. J., & de Vos, W. M. (2011). Comparative genomics of Lactobacillus. Microbial Biotechnology, 4(3), 323–332.

Khatoon, H., Anokhe, A., & Kalia, V. (2022). Catalase test: A biochemical protocol for bacterial identification. AgriCos e-Newsletter, 3(1), Article 18.

Kheyar, N., Meridja, D., & Belhamel, K. (2014). Etude De L'Activité Antibactérienne Des Huiles Essentielles D'Inula Viscosa, Salvia Officinalis Et Laurus Nobilis De La Région De Bejaia.

Khodja Kh , Y., BachiR-Bey, M., Belmouhoub, M., Ladjouzi, R., Dahmoune, F., & Khettal, 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.

Kuete, V. (2017). *Medicinal Spices and Vegetables from Africa- Thymus vulgaris*. 599‑609

L

Ladjel 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.

Lagha benamrouche, S., Addar, L., Bouderhem, H., Tani, S., & Madani, K. (2017). Caractérisation chimiques des écorces d'oranges, identification par GC-MS et évaluation du pouvoir antioxydant de leurs huiles essentielles. Nature & Technology, 112‑119.

Lefebvre, E. (2025). *La place des probiotiques dans le conseil officinal*. Université de Lille.

Lesimple, L. (2024). *Étude du microbiote vaginal et identification des signatures microbiennes associées au risque de naissance prématurée : application à la mise en place d'un outil de diagnostic moléculaire*

Lloyd-Price, J., Abu-Ali, G., & Huttenhower, C. (2016). The healthy human microbiome. *Genome Medicine*, 8(1), 51.

Lorot, M. (2016). Microbiote vaginal et santé gynécologique. Université de Lorraine, France.

Lot, F. (2008). *Épidémiologie du VIH/sida et des autres infections sexuellement transmissibles chez les femmes*. *Médecine/Sciences*, 24(HS2), 7–12.

Lounis Khodja, D., & Shahidi, A. (2024). *Vagin : localisation, anatomie, parties et fonction*. Kenhub.

Louzi, L., Charkioui, A., & Jana, M. (2005). Vaginal infections due to non- fastidious germs : Place of gardnerella vaginalis. *Maroc Médical*, *27*(1).

M

Ma, B., Forney, L. J., & Ravel, J. (2012). Vaginal microbiome: Rethinking health and disease. Annual Review of Microbiology, 66, 371–389.

Madjeda, B., Fatiha, S., Sondes, M., Bassem, J., & Mohamed, E. H. (2021). Isolation and characterization of actinobacteria from two marine algae *Asparagopsis armata* and *Zonaria tournefortii* with biotechnological interest.

Madouni, N. (2023). Etude ethnobotanique et évaluation des activités anti-oxydante et biologiques des extraits et des huiles essentielles de Thymus vulgaris et Thymus serpyllum de la région de Mascara. 193.

Mancini, E., Senatore, F., Del Monte, D., De Martino, L., Grulova, D., Scognamiglio, M., Snoussi, M., & De Feo, V. (2015). Studies on chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of five *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Molecules, 20*(7), 12016–12028.

Martín Rebeca, R., Soberón, N., Vaneechoutte, M., Flórez, A. B., Vázquez, F., & Suárez, J. E. (2008). Characterization of indigenous vaginal lactobacilli from healthy women as probiotic candidates. International Microbiology, 11(4), 261–266.

Mark Welch, J. L., Rossetti, B. J., Rieken, C. W., Dewhirst, F. E., & Borisy, G. G. (2016). Biogeography of a human oral microbiome at the micron scale. Proceedings of the National Academy of Sciences, 113(6).

Maximilien ,C (2021) . Effet de l'hormone stéroidienne 17∩-estradiol sur deux souches de Lactobacillus crispatus, marqueur de l'homéostasie vaginale. Université de Rouen Normandie .

Mellouk, H. (2007). Extraction des volatils à partir du bois par détente instantanée contrôlée : Valorisation industrielle des extraits et des résidus soli*des*.

Menad, S. (2024). *Extraction et caractérisation des huiles essentielles des* feuilles et tiges de *la juniperus oxycedrus (GENEVRIER OXYCEDRE)* local. Etude de l'activite antifongique et antioxydante. Université Hassiba Benbouali de Chlef.

Miliani, A., Boukhatem, M. N., & SAIDI Fairouz. (2017). Chemical Composition And Antimicrobial Activity Of The Algerian *Laurus Nobilis* Essential Oil. Algerian Journal of Natural Products, 5(2), 507‑514.

Miliani, A., Saadi, L., Chaouia, C., Saidi, F., Snoussi, S. a, Cherif, H. s, Rouibi, A., Hamaidi, M. s, & Hamaidi, F. (2013). Effet antioxydant *de laurus nobilis*. (4), 72‑76.

Ministère de l'Économie, des Finances et de la Souveraineté industrielle et numérique. (2019). Recommandations sanitaires pour l'emploi des huiles essentielles dans les compléments alimentaires. *DGCCRF*.

Mirmonsef, P., Hotton, A. L., Gilbert, D., Gioia, C. J., Maric, D., Hope, T. J., Landay, A. L., & Spear, G. T. (2016). Glycogen levels in undiluted genital fluid and their relationship to vaginal pH, estrogen, and progesterone. PLoS ONE, 11(4)

Mitra, A., MacIntyre, D. A., Marchesi, J. R., Lee, Y. S., Bennett, P. R., & Kyrgiou, M. (2016). The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: What do we know and where are we going next? Microbiome, 4*(58).*

Moussa, K. (2024*)*. Extraction et Caractérisation des huiles essentielles et des extraits des *trois plantes Curcuma, Absinthe, la corète potagère : Etude comparative de leurs éléments minéraux.* Université Mustapha Stambouli - Mascara.

Muzny, C. A., & Schwebke, J. R. (2016). Pathogenesis of bacterial vaginosis: Discussion of current hypotheses. The Journal of Infectious Diseases, 214*(Suppl. 1), S1–S5.*

N

Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. Pharmaceuticals, *6*(12), 1451-1474.

Nguyen, T.-T.-M., Phan, T. T. T., Pham, T. P. T., & Ha, H. A. (2024, June). *Chemical composition and antioxidant potential of sage (Salvia officinalis L.) cultivated in Dalat, Vietnam*.

O

Okkacha, H., Houari, A. D. E., Nouredine, H., & Khaled, K. (2014). Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de Chamaerops humilis L. sur des souches isolées des silos de stockage. PhytoChem & BioSub Journal, 8(4).

Onderdonk, A. B., Delaney, M. L., & Fichorova, R. N. (2016). The human microbiome during bacterial vaginosis. Clinical Microbiology Reviews, *29*(2), 223–238.

Ouibrahim, A. (2015). Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques *(Laurus nobilis L., Ocimum basilicum L. et Rosmarinus officinalis L.) d*e l'Est Algérien. Badji Mokhtar - Annaba.

Ouibrahim, A., Tlili-Ait Kaki, Y., Bennadja, S., Mansouri, R., Ait Kaki, S., Khbizi, S., & Djeba, 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), 209–216.

Ould El Hadj-Khelil, A., Mahcene, Z., Ahmed Chaouch, C., & Benzoukh, A. (2020). *Étude rétrospective sur l'activité hémolytique et anti-hémolytique des huiles essentielles de quelques plantes médicinales*. Université Kasdi Merbah Ouargla.

P

Pankey, G. A.; Sabath, L. D. . (2004). Clinical Relevance of Bacteriostatic versus Bactericidal Mechanisms of Action in the Treatment of Gram-Positive Bacterial Infections. Clinical Infectious Diseases, 38(6), 864–870.

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), 1209.

Patil, S. M., Ramu, R., Shirahatti, P. S., Shivamallu, C., & Amachawadi, R. G. (2021). A systematic review on ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacological aspects of *Thymus vulgaris* Linn. *Heliyon*, *7*(5), e07054.

Patrakar, R., Mansuriya, M., & Patil, P. (2012). Phytochemical and Pharmacological Review on *Laurus Nobilis*. International journal of pharmaceutical and chemical sciences, *1*(2), 595-602.

Pavela, R., Žabka, M., Vrchotová, N., & Tříska, J. (2018). Effect of foliar nutrition on the essential oil yield of Thyme (*Thymus vulgaris L.*). *Industrial Crops and Products*, *112*, 762-765.

Paweł Łaniewski, & Melissa M. Herbst-Kralovetz. (2022). Connecting microbiome and menopause for healthy ageing. Nature Microbiology, 7(3), 354–358.

Popa, M.-D., & Balogh de Manko-Bük, A. (2019). Manuel de microbiologie : Travaux pratiques – Partie générale (Médecine générale, section française). Editura Victor Babeș.

Poutrel, B., & Ducelliez, M. (1979). Evaluation of three rapid tests for identification of *Staphylococcus aureus* isolated in bovine milk. Annales de Recherches Vétérinaires, 10*(1), 125–129.*

Prasanth, R. V., Ravi Vital, kandissa, Varsha, P., & Satyam, S. (2014). Review on *Thymus vulgaris* Traditional Uses and Pharmacological Properties. *Medicinal & Aromatic Plants*, *03*(03).

Petrova MI, Lievens E, Malik S, Imeholz N and Lebeer S (2015) Lactobacillus species as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health. Front. Physiol. 6:81.

R

Ravel, J., Gajer, P., Abdo, Z., Schneider, G. M., Koenig, S. S. K., McCulle, S. L., Karlebach, S., Gorle, R., Russell, J., Tacket, C. O., Brotman, R. M., Davis, C. C., Ault, K., Peralta, L., & Forney, L. J. (2011). *Vaginal microbiome of reproductive-age women*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 108(1), 4680–4687.

Řebíčková, K., Tomáš, B., Šilha, D., ventura, K., & Bajerová, P. (2020). Comparison of Chemical Composition and Biological Properties of Essential Oils Obtained by Hydrodistillation and Steam Distillation of *Laurus nobilis L.* Plant Foods for Human Nutrition, 10.

Reddy V, P. (2014). Review on Thymus vulgaris Traditional Uses and Pharmacological Properties. *Medicinal & Aromatic Plants*, *03*(03).

Rezagui, M., & Chiahi, N. (2024). Evaluate the beneficial effects of *Salvia officinalis L.* extracts by assessing their activity.

Rhayour, K. (2002). Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur Esherichia coli, Bacillus subtilis et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Université de Fès.

Romero, R., Hassan, S. S., Gajer, P., Tarca, A. L., Fadrosh, D. W., Nikita, L., Galuppi, M., Lamont, R. F., Chaemsaithong, P., Miranda, J., Chaiworapongsa, T., & Ravel, J. (2014). The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women.

S

Saab, A. M., Tundis, R., Loizzo, M. R., Lampronti, I., Borgatti, M., Gambari, R., Menichini, F., Esseily, F., & Menichini, F. (2012). Antioxidant and antiproliferative activity of *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) leaves and seeds essential oils against K562 human chronic myelogenous leukaemia cells. *Natural Product Research, 26*(18), 1741–1745.

Salemkour, N., Chaib, W., Absi, K., Bettiche, F., Mancer, H., Bengouga, K., & Fadlaoui, H. (2026). Etude des caractères organoleptiques, physico-chimiques et de l'activité antioxydante de l'huile essentielle du Romarin (Rosmarinus officinalis L.). Algerian journal of Arid regions, 13.

Sdoudi, K., El Hamoumi, R., Chaïb, N., El Mdaghri, N., & Razki, A. (2014). Candidoses vaginales à Casablanca : implication des espèces non albicans et particularités étiologiques. European Scientific Journa*l, ESJ, 10*(18).

Sebti, M. (2020). Etude des Effets Toxiques de Plantes Aromatiques Spontanées de la Région de Jijel, en vue d'une meilleure valorisation Pharmaceutique et phytopharmaceutique. Mohamed Seddik Benyahia - Jijel.

Shmygareva, A. A., Kurkin, V. A., San'kov, A. N., & Nikandrova, M. A. (2016). Comparative morphological and anatomical studies of *Salvia officinalis* and *salvia tesquicola*. *2*(5).

Sidali, L., Brada, M., Fauconnier, M.-L., & Lognay, G. (2014). Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances. *PhytoChem & BioSub Journal*, *8*(3), 9.

Sııken, B., Yavuz, C., & Güler, A. (2018). Antibacterial Activity of Laurus nobilis : A review of literature. Medical Science and Discovery, 5(11).

Smith, S. B., & Ravel, J. (2017). The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology. The Journal of Physiology, 595(2), 451-463.

Solunke, A. B. (2019). Agar slant. Shri Govindrao Munghate Arts and Science College.

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

T

Taarabt, K. O., Koussa, T., & ALFEDDY, M. N. (2017). *Caractéristiques physicochimiques et activité antimicrobienne de l'huile essentielle du LaurusnobilisL.au Maroc*. *13*(1), 349-359.

Tutrina, A., & Zhurilov, P. (2024). Efficacy assessment of different cryoprotectants for preserving the viability of Enterobacterales strains at −20 °C. *Scientific Reports*, 14, 20843.

V

Van Loc, V., Thi Nhan, T., Manh Ha, N., Minh Quynh, T., Thuy Linh, N., & Thi Dung, N. (2026). Investigation of oxidation resistance of ascorbic acid in gamma-ray-induced solid *samples.* Salud, Ciencia y Tecnología, 6*, 2606*

Vásquez, A., Jakobsson, T., Ahrné, S., Forsum, U., & Molin, G. (2002). Vaginal *Lactobacillus* Flora of Healthy Swedish Women. Journal of Clinical Microbiology, *40*(8), 2746‑2749.

Vinciane, B. (2023). *Le microbiote vaginal : Dysbioses et conseils associés du pharmacien d'officine*. Université de POITIERS.

W

World Health Organization. (2014). Antimicrobial resistance: Global report on surveillance 2014. World Health Organization.

World Health Organization. (2025, 10 septembre). *Sexually transmitted infections (STIs)*.

Annexe.

Annexe . Composition de milieu de cultures utilisées

- **Miller-Hinton MH (g /l)**

-.....Extrait de viande.....3 g

-.....Hydrolysat acide de caséine..... 17,5 g

-.....Amidon.....1.5 g

-.....Agar..... 16 g

-.....Eau distillée.....1000 ml

- pH = 7,3

- **Gélose nutritive GN (g /l)**

-.....Peptone..... ……..10 g

- Extrait de viande…….3 g
- Extrait de levure……..3 g
- Chlorure de sodium…….……...5 g
- Agar……18 g
- Eau distillée…….....1000 ml

- **MacConkey** (g /l)

- Peptones ……17 g
- Lactose …… 10 g
- Sels biliaires ……..1,5 g
- NaCl ……. 5 g
- Rouge neutre …… 0,03 g
- Cristal violet …… 0,001 g
- Agar ……...13,5–15 g
- pH : **7,1 ± 0,2**

- **Mueller-Hinton** (g /l)

- Hydrolysat de caséine……,5 g
- Infusion de viande de bœuf ……2 g
- Amidon ……..1,5 g
- Agar…….17 g
- pH : **7,3 ± 0,1**

- **Sabouraud** (g /l)

- Peptones…… 10 g
- Dextrose …….. 40 g
- Agar……15 g
- pH : **5,6 ± 0,2**

- **Chapman** (g /l)

- Peptones……10 g
- Extrait de viande ……...1 g
- Mannitol……10 g
- NaCl ……..……75 g
- Rouge de phénol……0,025 g
- Agar……..15 g .
- pH : **7,4 ± 0,2**

- **Gélose au sang** (g /l)

- Base Columbia ou TSA : selon le fabricant …… (≈ 40–42 g/L)
- Sang défibriné de mouton …… ……**5 % (v/v)**
- pH : **7,3 ± 0,2**