

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{elle} BELGHIT Hafsa et M^{elle} BENHARRATS Khadidja

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Microbiologie fondamentale

THÈME

Effet des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* sur la
croissance de *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline

Soutenu publiquement le : 09-07-2019

DEVANT LE JURY

Président : Mr MEKHALDI A

Professeur

Université de Mostaganem

Examineur : Mr DJIBAOUI R

Professeur

Université de Mostaganem

Encadreur : Mr BAHRI F

Professeur

Université de Mostaganem

*Thème réalisé au Laboratoire de Biochimie et de Microbiologie de l'université Abdelhamid Ibn
Badis Mostaganem*

2018-2019

Dédicace

A Ceux qui me sont les plus chers au monde, mes parents que Dieu les protège.

Qu'ils sachent, en témoignage de ma profonde affection, que ce travail est en partie le fruit de leurs soutiens, je leur suis très reconnaissante. Leur fierté à mon égard aujourd'hui est pour moi la meilleure des récompenses.

A mon frère et ma sœur.

A toutes ma famille.

A ma très chère binôme « Belghit Hafsa ».

A tous ceux qui m'ont témoigné leur affection et leur soutien durant ces longues années.

Benharrat's Khadidja

Dédicace

Je dédie ce travail, tout d'abord à mes très chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur soutien moral, leurs encouragements permanents, leur abnégation, leur précieux conseils, et pour leur disponibilité tout au long de mon parcours d'étude. Je ne leur remercierais jamais assez pour tout ce qu'ils ont fait pour moi.

A mes sœurs et frères

A mon petit neveu Saleh qui est le plus jolie cadeau qu'une sœur puisse faire

A ma onéreuse binôme Benharrats Khadidja pour sa présence chaleureuse et sa compréhension.

A tous ceux qui me sont chers.

Belghit Hafsa

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force, la patience et la sérénité d'accomplir ce modeste travail.

Nous remercions très chaleureusement nos parents pour nous avoir encouragé et permis d'entreprendre cette formation. Sans eux, nous n'en serons pas là.

Il nous est agréable de présenter nos vifs remerciements à notre encadrant de mémoire de fin d'études, Mr **BAHRI F**, professeur à l'université de Mostaganem, pour ses précieux conseils et son orientation ficelée tout au long de notre recherche, on lui adresse nos plus profondes gratitudee.

Nous remercions les membres du jury, d'avoir accepté d'évaluer ce mémoire : Mr **MEKHALDI A** qui nous a fait l'honneur d'avoir accepté la présidence du jury de ce mémoire ainsi que, Mr **DJIBAOUI R** d'avoir accepté d'examiner ce travail, qu'ils trouvent ici toute l'expression de notre profonde reconnaissance et notre respect.

Nous souhaitons néanmoins remercier M^{lle} OUGI RTI N.

A cet effet, nous exprimons également nos sincères remerciements aux membres de jury pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail. Nous vous prions de trouver ici l'expression de notre très haute considération.

Ce mémoire n'aurait pas été possible sans l'intervention, consciente, l'orientation du membre universitaire compétent. Nous souhaitons ici les en remercier.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail qui compte tant pour nous.

ملخص

ركزت العديد من الدراسات على الزيوت الأساسية المستخرجة من النباتات العطرية. وتشير النتائج المختلفة إلى أنها تتمتع بعدة خصائص بيولوجية. وفي هذا السياق، قمنا بتقييم نشاط مضادات الميكروبات في المختبر للزيوت الأساسية لنبته الشيح من منطقة بشار (مريجة) على نمو المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميتيسيلين. أظهرت الزيوت الأساسية المستخرجة من نبتة الشيح بتقنية التقطير المائي مردود يقدر بحوالي 1,491% من ناحية أخرى، كشفت نتائج الفحص الكيميائي ثراء نبتة الشيح بمجموعات مختلفة من المواد الايضية الثانوية مثل الالكلويدات, التانين, الفلافونويدات, السابونوزيد, الهيثيروزيد, و الكومارين. أظهرت دراسة نشاط مضادات الميكروبات بواسطة تقنية الاروماتوغرام أن الزيت الأساسي لنبته الشيح يمارس نشاطا قويا ضد السلالات الثلاث التي تمت دراستها، كما قدرت مناطق التثبيط على التوالي ب: 14مم, 26مم و9مم. أعطت قيم الاقطار من مناطق التثبيط التي تم الحصول عليها من قبل اختبار ال MSR للسلالات الثلاث *S. aureus* (ECBU), *S. aureus* (plaie), *S. aureus* ATCC 6538. قيم قدرت على التوالي ب 15, 27 و30مم. وبالإضافة إلى ذلك، فإن طريقة الصفائح الدقيقة التي حصلت على CMI قدرت على التوالي ب 0,625% ; 0,625% و1,25% وقيم تتراوح من 5%; 5% و5% لـ CMB

الكلمات المفتاحية: نبتة الشيح، الزيوت الأساسية، المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمتسيلين، الفحص الفيتو كيميائي، النشاط المضاد للبكتيريا، مقاومة المتسيلين.

Résumé

Plusieurs recherches ont été concentrées sur les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques. Les différents résultats publiés indiquent qu'elles sont douées de plusieurs propriétés biologiques. Dans ce contexte, nous avons évalué in vitro l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* provenant de la région de Béchar (Meridja) sur la croissance de *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline.

Les huiles essentielles extraites d'*Artemisia herba alba* par la technique d'hydrodistillation ont montré un rendement voisin de 1,491%.

En revanche, les résultats du screening phytochimique de la plante ont révélés la richesse de la plante en différents groupes de métabolites secondaire tels que, les alcaloïdes, les tanins galliques, les flavonoïdes, les saponosides, les hétérosides et les coumarines.

L'étude de l'activité antimicrobienne par aromatogramme, a montré que l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* exerce une forte activité contre les trois souches étudiées (*S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* isolée d'une plaie cutanée, et *S. aureus* isolée d'un ECBU) dont les zones d'inhibition sont respectivement de 9mm, 26mm et de 14mm.

Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition obtenues par le test de la méticillinorésistance de *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* isolée d'une plaie cutanée, et *S. aureus* isolée d'un ECBU sont respectivement de 15mm, 27mm et 30mm.

De plus, la méthode de la microplaque a permis d'obtenir les CMI pour *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* isolée d'une plaie cutanée, et *S. aureus* isolée d'un ECBU a des valeurs allant respectivement de 0,625% ; 0,625% et 1,25% et à des valeurs allant respectivement de 5% ; 5% et 5% pour la CMB.

Mots clés : *Artemisia herba alba*, huiles essentielles, SARM, screening phytochimique, activité antimicrobienne, méticillinorésistance.

Abstract

Several investigations have focused on essential oils extracted from aromatic plants. The various published results indicate that they have several biological properties. In this context, we evaluated in vitro the antimicrobial activity of *Artemisia Herba alba* essential oils from the Bechar region (Meridja) on the growth of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

The essential oils extracted from *Artemisia Herba alba* by the hydrodistillation technique showed a yield close to 1,491%.

In contrast, plant phytochemical screening results revealed the plant's richness in different groups of secondary metabolites such as, alkaloids, gallic tannins, flavonoids, saponosides, the heterosides and the coumarines.

The study of antimicrobial activity by aromatogram showed that the essential oil of *Artemisia Herba alba* exerts a strong activity against the three strains studied: *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* isolated from a skin wound, and *S. aureus* isolated from an ECBU with inhibition zones of 9mm, 26mm and 14mm respectively.

The diameters of the inhibition zones obtained by the meticillin test for *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* isolated from a skin wound, and *S. aureus* isolated from an ECBU are 15mm, 27mm and 30mm, respectively.

In addition, the microplate method yielded the MICs for *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* isolated from a skin wound, and *S. aureus* isolated from an ECBU with values of 0,625%; 0.625% and 1.25% respectively and values ranging from 5%, 5% and 5% respectively for CMB.

Keywords: *Artemisia Herba alba*, essential oils, MRSA, phytochemical screening, antimicrobial activity, meticillino- resistance



Table des matières

Table Des Matières¹

	Pages
Remerciements.....	i
ملخص.....	ii
Résumé.....	iii
Abstract.....	iv
Liste des tableaux.....	v
Liste des figures.....	vi
Liste des abréviations.....	x
Introduction.....	1

Partie bibliographique

Généralités sur *Artemisia herba alba*

I- <i>Artemisia herba alba</i>.....	3
I-1- Généralités sur les plantes médicinales.....	3
I-2- Phytothérapie et aromathérapie.....	3
I-3- Présentation de la plante <i>Artemisia herba alba</i>	4
I-3-1-Description botanique	5
I-3-1-1-Partie aérienne.....	5
I-3-1-2-Partie souterraine ou racine.....	5
I-3-2-Noms vernaculaires.....	6
I-3-3-Systématique.....	6
I-3-4-Écologie.....	7
I-3-5-Répartition géographique	7
I-3-5-1-Au niveau mondial.....	7
I-3-5-2-Au niveau régional.....	8
I-3-5-3-Au niveau local.....	8
I-3-5-Composition chimique.....	9
I-3-5-1-Composés polyphénoliques et flavonoïdes.....	10
I-3-5-2- Les sesquiterpène lactones.....	10
I-3-5-3- Les Huiles essentielles.....	10

Table Des Matières²

I-3-6-Usage de la plante	11
I-3-6-3-1-Usage en phytothérapie.....	11
1-6-2-Usage alimentaire.....	11
1-6-3-Activité antimicrobienne.....	11

Généralités sur les huiles essentielles

II- Les huiles essentielles.....	12
II-1- Définition.....	12
II-2- Répartition botanique.....	12
II-3- Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	13
II-3-1-Propriétés physiques.....	13
II-3-2-Propriétés chimiques.....	13
II-4- Rôle physiologique.....	13
II-5- Techniques d'extraction des huiles essentielles.....	14
II-5-1-Distillation.....	14
II-5-1-1-Hydro-distillation.....	14
II-5-1-2- Entraînement à la vapeur d'eau.....	15
II-5-1-3-Hydro-diffusion.....	16
II-5-2- Extraction à froid.....	17
II-5-3- Extraction assistée par micro-ondes.....	17
II-5-4-Extraction par solvant organique.....	18
II-5-5-Extraction par CO2 supercritique.....	19
II-5-6-Enfleurage.....	20
II-6- Composition chimique des huiles essentielles.....	21
II-6-1-Les composés terpéniques.....	22
II-6-1-1-Monoterpènes.....	22
II-6-1-2-Sesquiterpènes.....	22
II-6-2-Composés aromatiques.....	22

Table Des Matières³

II-7- Mode d'action des huiles essentielles.....	23
II-8- Domaine d'application.....	23
II-8-1- Désinfection de l'air	23
II-8-2- Parfums et cosmétiques.....	24
II-8-3- En agroalimentaire.....	24
II-8-4- Pharmacie et aromathérapie.....	24
II-8-5- Traitement des infections	25
II-9- Toxicité.....	25

***Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline**

III-1- les infections nosocomiales.....	26
III-1-1- définition.....	26
III-1-2- Les principales infections nosocomiales.....	26
III-1-3- Mode de transmission des agents infectieux	27
III-1-3-1- Voie endogène.....	27
III-1-3-2- Voie exogène	28
III-1-4- Pathogènes impliqués dans les infections nosocomiales.....	29
III-2- Résistance bactérienne aux antibiotiques	30
III-2-1- Définition.....	30
III-2-2- Résistance naturelle ou intrinsèque.....	30
III-2-3- Résistance acquise.....	30
III-2-3-1- Mutation chromosomique spontané (évolution verticale).....	30
III-2-3-2- Acquisition d'un gène de résistance (évolution horizontale).....	31
III-2-3- Résistance à la méticilline.....	31
III-2-3-1- Mécanisme de résistance à la méticilline	31
III-2-3-1-1- Résistance à la méticilline par acquisition du gène <i>MECA</i>	31
III-2-3-1-2- Génétique.....	32
III-2-3-1-3- BORSA.....	32
III-2-3-1-4- MODSA.....	32

Table Des Matières⁴

III-3- <i>Staphylococcus aureus</i> résistante à la pénicilline.....	32
III-3-1- Taxonomie.....	33
III-3-2- Morphologie.....	33
III-3-3- Situation épidémiologique de SARM dans le monde.....	35
III-3-4- Situation épidémiologique en Algérie.....	36
III-3-5- Mécanismes de diffusion des souches de SARM	36
III-3-5-1- Source de contamination.....	36
III-3-5-2- Colonisation et infection.....	36
III-3-5-3- Mesures d'hygiène face au SARM.....	37

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

IV-1- Matériel végétal.....	38
IV-1-1- Récolte.....	38
IV-1-2- Séchage.....	39
IV-1-3- Détermination du taux d'humidité.....	40
IV-1-4- Recherche phytochimique	40
IV-1-4-1- Principe.....	40
IV-1-4-2- Préparation des extraits.....	41
IV-1-4-3- Analyses phytochimiques sur l'extrait aqueux.....	41
IV-1-4-4- Analyses phytochimiques sur l'extrait méthanolique.....	43
IV-1-4-5- Analyses phytochimiques sur l'extrait éthérique.....	44
IV-2- Huiles essentielles	45
IV-2-1- Procédé d'extraction.....	45
IV-2-2- Méthode d'extraction.....	46
IV-2-3- Calcul du rendement.....	46
IV-2-4- Mesure du pH.....	46
IV-3- Procédé d'étude microbiologique.....	47
IV-3-1- Souches bactériennes testées.....	47

Table Des Matières⁵

IV-3-2- Milieux de cultures utilisés.....	47
IV-3-3- Préparation de l'inoculum.....	48
IV-3-4- Identifications	48
IV-3-4-1- Examens macroscopique	48
IV-3-4-2- Examens microscopique.....	48
IV-3-4-3- Identification biochimique.....	49
IV-3-4-3-1- Mise en évidence du type respiratoire.....	49
IV-3-4-3-2- Test catalase.....	49
IV-3-4-4- Test de la Staphylocoagulase	50
IV-3-4-5- Test de la DNase (Désoxyribonucléase).....	50
IV-3-4-6- Antibiogramme.....	51
IV-3-4-7- Test à l'oxacilline.....	55
IV-3-4-8- Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d' <i>Artemisia herba alba</i> (Technique d'aromatogramme).....	55
IV-3-4-9- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	57
IV-3-4-10- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	57
IV-3-4-11- Préparation de la boîte A.....	61

Résultats et discussion

V-1- Matériel végétal.....	63
V-1-1- Taux d'humidité.....	63
V-1-2- Screening phytochimique.....	64
V-2- Huiles essentielles.....	65
V-2-1- Rendement en huile essentielle.....	65
V-2-2- Mesure du pH.....	67
V-3- Identification des bactéries.....	68
V-3-1- Examen macroscopique.....	68

Table Des Matières⁶

V-3-2- Examen microscopique.....	69
V-3-2-1- Etat frais.....	69
V-3-2-2- Coloration de gram.....	69
V-4- Identification biochimique	71
V-4-1- Mise en évidence du type respiratoire.....	71
V-4-2- Caractères biochimiques.....	71
V-5- Etude de l'activité antimicrobienne vis-à-vis des agents antimicrobiens.....	75
V-6- Détection de la méticillino-résistance.....	79
V-7- Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles par la méthode de Vincent (technique d'aromatogramme).....	79
V-8- Détermination des concentrations minimales inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB).....	82
Conclusion.....	85
Références bibliographiques.....	87
Annexes.....	109

Liste Des Figures¹

Pages

Figure n°1 : <i>Artemisia herba alba</i>	4
Figure n°2 : Morphologie générale de la plante d' <i>Artemisia herba alba</i>	5
Figure n°3 : Taxonomie de l'espèce <i>Artemisia herba alba</i>	6
Figure n°4 : Distribution géographique d' <i>Artemisia herba alba</i> dans le bassin Méditerranéen.....	8
Figure n°5 : Aire de distribution d' <i>Artemisia herba-alba</i> en Algérie.....	9
Figure n°6 : Schéma du principe de la technique d'extraction par hydro-distillation.....	15
Figure n°7 : Schéma du principe de la technique d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	16
Figure n°8 : Schéma du principe de la technique d'extraction par hydro-diffusion.....	16
Figure n°9 : Technique d'extraction à froid.....	17
Figure n°10 : Schéma du principe de la technique d'extraction assisté par micro-ondes.....	18
Figure n°11 : Schéma du principe de la technique d'extraction par solvant organique.....	19
Figure n°12 : Schéma du principe de la technique d'extraction par CO ₂ supercritique.....	20
Figure n°13 : Schéma du principe de la technique d'extraction par enfleurage.....	21
Figure n°14 : Les principales infections nosocomiales en pourcentage (%).....	27
Figure n°15 : Micrographie électronique à balayage colorisée de <i>S. aureus</i> résistante à la sur la surface d'un pansement de plaie.....	34
Figure n°16 : Pourcentage de SARM dans le monde.....	35

Liste Des Figures²

Pages

Figure n°17 : Pourcentage de SARM par pays.....	35
Figure n°18 : L'Armoise blanche de Meridja-Béchar.....	38
Figure n°19 : Situation géographique de la région de Béchar montrant la station de récolte d' <i>Artemisia herba alba</i>	39
Figure n°20 : Schéma du montage d'hydrodistillation (Clevenger).....	45
Figure n°21 : Mesure de la DO., de la suspension bactérienne.....	52
Figure n°22 : Schéma de l'antibiogramme.....	54
Figure n°23 : Schéma de l'aromatogramme.....	56
Figure n°24 : Schéma de la détermination de la CMI.....	59
Figure n°25 : Schéma de la détermination de la CMB.....	60
Figure n°26 : Schéma de la résolution de la CMB.....	62
Figure n°27 : Taux d'humidité de l'espèce <i>Artemisia herba alba</i>	63
Figure n°28 : Extraction de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i> par Hydrodistillation.....	66
Figure n°29 : Résultats du pH de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i>	67
Figure n°30 : Résultats de l'aspect macroscopique de <i>S.aureus</i> ATCC 6538.....	68
Figure n°31 : Résultats de l'aspect macroscopique de <i>S.aureus</i> (plaie cutanée).....	68
Figure n°32 : Résultats de l'aspect macroscopique de <i>S.aureus</i> (ECBU).....	69
Figure n°33 : Résultats de la coloration de Gram (G x1000) de <i>S.aureus</i> ATCC 6538.....	70
Figure n°34 : Résultats de la coloration de Gram (G x1000) de <i>S.aureus</i> isolée d'une plaie cutanée.....	70

Liste Des Figures³

Pages

Figure n°35 : Résultats de la coloration de Gram (G x1000) de <i>S.aureus</i> (ECBU).....	70
Figure n°36 : Résultats des tests respiratoires des bactéries étudiées.....	71
Figure n°37 : Résultats du test coagulase des bactéries étudiées (sang de l'homme).....	72
Figure n°38 : Résultats du test catalase de <i>S. aureus</i> (plaie cutanée).....	73
Figure n°39 : Résultats du test catalase de <i>S. aureus</i> (ATCC 6538).....	73
Figure n°40 : Résultats du test catalase de <i>S. aureus</i> (ECBU).....	73
Figure n°41 : Résultats de l'antibiogramme de <i>S.aureus</i> ATCC 6538.....	75
Figure n°42 : Résultats de l'antibiogramme de <i>S.aureus</i> (plaie cutanée).....	76
Figure n°43 : Résultats de l'antibiogramme de <i>S.aureus</i> (ECBU).....	76
Figure n°44 : Evaluation de la résistance de <i>S. aureus</i> ATCC 6538 aux antibiotiques étudiés.....	76
Figure n°45 : Evaluation de la résistance de <i>S. aureus</i> (plaie cutanée) aux antibiotiques étudiés.....	77
Figure n°46 : Evaluation de la résistance de <i>S. aureus</i> (ECBU) aux antibiotiques étudiés.....	77
Figure n°47 : Résultats du test à l'oxacilline de <i>S.aureus</i> (ECBU).....	79
Figure n°48 : Résultats du test à l'oxacilline de <i>S.aureus</i> isolée d'une plaie cutanée.....	79
Figure n°49 : Aromatogramme de <i>S.aureus</i> ATTC 6538 par l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i>	80
Figure n°50 : Aromatogramme de <i>S.aureus</i> (plaie) par l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i>	80

Liste Des Figures⁴

Pages

Figure n°51 : Aromatogramme de <i>S.aureus</i> (ECBU) par l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i>	81
Figure n°52 : Concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles d' <i>Artemisia herba alba</i> vis-à-vis les trois souches testées.....	82
Figure n°53 : Boîtes –A– des trois souches testées.....	84

LISTE DES Abréviations¹

µl	microlitre.
%	Pourcentage.
ADN	Acide désoxyribonucléique.
AFNOR	Association Française de Normalisation.
ATB	Antibiotique.
ATCC	American Type Culture Collection.
Av. J.-C	Avant Jésus Chris.
BORSA	Boderline <i>Staphylococcus aureus</i> .
CASFM	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
CCM	Chromatographie sur couche mince.
CLSI	Clinical Laboratory Standard Institute.
Cm	Centimètre.
CMB	Concentration Minimale Bactéricide.
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice.
CO₂	Dioxyde de Carbone.
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse.
DMSO	Dimethyle sulfooxide.
DNase	Désoxyribonucléase.
ECBU	Examen cytobactériologique des urines
ECDC	Centre européen de prévention et de contrôle des maladies
EHUO	Etablissement Hospitalier Universitaire d'Oran
FID	Détecteurs à ionisation de Flamme.
g	Gramme.
GC	Gas Chromatography.
GN	Gélose nutritive.

LISTE DES Abréviations²

HES	Huile Essentielle.
HPLC	High Performance Liquid Chromatography.
IE	Impact Electronique.
IN	Infection Nosocomiale.
IR	Indice de Réfraction.
ISO	International Standard Organization.
Kg	Kilogramme.
Km	Kilomètre.
LPS	Lipopolysaccharide.
m	Mètre.
mg	Milligramme.
MH	Mueller-Hinton.
mm	Millimètre.
MODSA	Modified <i>Staphylococcus aureus</i> .
NCCLS	National Comité for Clinical Laboratory Standards
nm	Nanomètre.
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
pH	Potentiel d'Hydrogène.
PLP	Protéine de Liaison à la Pénicilline.
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> Résistante à la Méricilline.
SFC	Supercritical Fluid Chromatography.
SM	Spectroscopie de Masse.
T	Température.
TCD	Détecteur à Conductivité Thermique.
UFC	Unité Formant des Colonies.

LISTE DES Abréviations³

UV Ultra-Violet.

VF Viande-foie.



Introduction

Dans le monde, les plantes ont toujours été utilisées comme médicaments. Les médicaments à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques (**Dibong et al., 2011**).

L'organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que la médecine traditionnelle couvre les besoins en soins de santé primaire de 80% de la population mondiale (**OMS, 2013**). Ainsi de nombreuses études *in vitro* ont été réalisées par des médecins et des pharmaciens biologistes avec des résultats concluants. Dans son livre *Antiseptiques essentiels* publié en 1938, René-Maurice Gattefossé, le père de l'aromathérapie, décrit déjà la considérable avancée de la recherche dans ce domaine.

Les infections acquises à l'hôpital sont une réalité préoccupante surtout dans des services à haut risque tels que le service de chirurgie, qui recrute des patients extrêmement vulnérables à la colonisation et par conséquent à l'infection. Parmi les micro-organismes les plus incriminés dans ces infections, *Staphylococcus aureus* qui occupe une place privilégiée par son pouvoir pathogène. En revanche, le bactériologiste britannique Alexander Fleming a lancé un avertissement dans un article intitulé « *Penicillin's finder Assay it's futur* » publié dans le *New York Times* en 1945. Il craignait qu'un mauvais usage de la pénicilline ne conduise à sélectionner et à propager des formes mutantes de bactéries résistantes aux médicaments. Selon l'organisation mondiale de la santé (**OMS, 2017**) le développement de la multi-résistantes chez les bactéries qui représentent une menace particulière dans les hôpitaux qui sont responsables des infections communautaires, sont un sujet d'inquiétude majeur pour les instances sanitaire, ces bactérie sont devenues résistantes à un grand nombre d'antibiotique, c'est pour cela qu'ils souhaitent prendre des mesures afin de lutter contre la résistance aux antibiotiques par des antibiotiques efficaces pour notre système de santé. Les pistes de recherche sont nombreuses mais l'exploration des ressources naturelles apparait comme des plus prometteuses car celles-ci constituent, de par leur biodiversité, la plus grande réserve de substances actives (**Guinoiseau, 2010**). Les huiles essentielles sont connues pour leur pouvoir inhibiteur contre les bactéries pathogènes et multirésistantes (**Tassou et Nychas, 1995**).

Les huiles essentielles constituent un complexe de molécules bioactives qui possèdent diverses propriétés biologiques intéressantes. Par ailleurs, L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est connue de façon empirique depuis l'Antiquité.

Cette étude est résumée en deux parties :

- ✚ Une étude phytochimique des huiles essentielles afin de vérifier la présence ou l'absence de certaines familles chimiques.

- ✚ Une étude qui s'intéresse à tester *in vitro* l'effet des huiles extraites sur l'activité microbienne de *Staphylococcus aureus*.

Pour cela nous nous sommes intéressées à étudier l'effet antimicrobien des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*.



Partie bibliographique



Généralités sur *Artemisia herba alba*

I- Artemisia herba alba

I-1- Généralités sur les plantes médicinales

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Certaines plantes contenant toute une gamme de matières efficaces peuvent avoir des actions très différentes suivant leur préparation (**Schauenberg et Paris, 2005**).

L'effet thérapeutique reconnu de ces plantes, dépend de la nature chimique des substances actives qu'elles contiennent ; c'est selon cet effet que les plantes médicinales sont réparties en groupes. Ainsi, et tenant compte de la possibilité qu'une plante médicinale peut souvent traiter à la fois plusieurs affections, une même plante peut faire partie de plusieurs groupes de plantes médicinales (**Rubin, 1988**). Mais les plantes médicinales ne deviennent utiles qu'après avoir subi un certain nombre de transformations qui visent à libérer leurs principes actifs et à les rendre assimilables par l'organisme. Pour cela, plusieurs techniques sont employées tel que les traitements mécaniques (émulsion, pulvérisation...), l'expression, la dissolution, la distillation...etc. (**Rubin, 1988 ; Duraffourd et al., 1990**). Une fois les principes actifs extraits et leurs effets étudiés, ils sont présentés sous de nombreuses formes qui dépendent surtout des voies d'administration justifiées par les maladies à traiter. On les appelle formes galéniques, parmi lesquelles on trouve les infusions, les sirops, les teintures mères, les huiles essentielles, les gélules faites de poudres...etc (**Abayomi, 2010**).

I-2- Phytothérapie et aromathérapie

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie. La phytothérapie utilise l'ensemble des éléments d'une plante, alors que l'aromathérapie utilise les extraits aromatiques de la plante. C'est une thérapeutique utilisant les essences, les huiles essentielles et les hydrolats aromatiques des plantes médicinales.

La différence majeure entre ces deux dernières repose sur le fait que l'aromathérapie a une action rapide mais courte et à l'inverse la phytothérapie a une action lente mais durable.

L'aromathérapie est classée parmi les médecines non-conventionnelles, naturelles ou alternatives mais n'est pas considérée comme une médecine douce, en effet mal utilisée, elle peut s'avérer toxique et dangereuse, elle s'apparente à la naturopathie. Elle peut être utilisée dans un but préventif, curatif pour des maladies physiques ou psychosomatiques ou dans un but de mieux être. On distingue deux types d'aromathérapie : L'aromathérapie de terrain, qui

considère l'homme dans sa globalité, et l'aromathérapie symptomatique qui traite les manifestations ou les causes d'une maladie.

Il faut souligner l'importance de la végétation dans notre monde, car sans elle, ni les hommes, ni les animaux ne pourraient vivre. En effet, un septième seulement des plantes médicinales existantes renferment des propriétés curatives, et encore à condition que ces plantes soient judicieusement choisies et soigneusement préparées (Feltz, 2018).

I-3- Présentation de la plante *Artemisia herba alba*

Connue depuis des millénaires, *Artemisia herba-alba* (l'armoise blanche) a été décrite par l'historien grec Xénophon, dès le début de l'IV^e siècle av. J.-C., dans les steppes de la Mésopotamie. Elle a été répertoriée en 1779 par le botaniste espagnol Ignacio Jordán Claudio de Assoy del Rio, c'est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail et surtout dans les steppes algériennes comme pâturage d'hiver (Messail, 2011). Sa croissance végétative a lieu à l'automne (feuilles de grande taille) puis dès la fin de l'hiver et au printemps (feuilles plus petites) (figure n°1), la floraison commence en Juin et se développe essentiellement en fin d'été (Gharbi *et al.*, 2008). Plus de 300 différentes espèces de ce genre se trouvent principalement dans les zones arides et semi-arides d'Europe, d'Amérique, de l'Afrique du nord, ainsi qu'en Asie (Proksch, 1992).



Figure n° 1: *Artemisia herba alba* (Mohamed *et al.*, 2010).

I-3-1-Description botanique

I-3-1-1-Partie aérienne

Artemisia herba alba est une plante vivace, la tige, ou partie ligneuse, ramifiée de 30 à 50 centimètres de long, très feuillée avec une couche épaisse. La touffe des tiges est plus importante selon la pluviométrie, les feuilles sont courtes, alternées, très divisées, laineuses, blanches, pubescentes et pennatipartites. Elles diminuent de taille au fur et à mesure que les rameaux s'allongent. Cette diminution de taille des feuilles entraîne une réduction considérable de la surface transparente, et par conséquent, permet à la plante de résister à la sécheresse, et les fleurs sont groupées en grappes, à capitules très petites (3/1.5mm) et ovoïdes. L'involucre est à bractées imbriquées, le réceptacle floral est nu avec 2 à 5 fleurs jaunâtres par capitule toutes hermaphrodites, sessiles et en bottes. Les fruits sont des akènes (Eloukili, 2013 ; Gharabi *et al.*, 2008).

I-3-1-2-Partie souterraine ou racine

L'armoise blanche possède des racines obliques nombreuses, ligneuse et épaisse, pénétrant le plus souvent à une profondeur de 20 à 30 cm dans le sol et s'étalant horizontalement jusqu'à 50 cm avec une rhizosphère peu profonde (Negre, 1962), (figure n°2). Cependant, ce système racinaire peut très bien se développer en profondeur dans les régions à sol plus épais (Yessef, 1985).

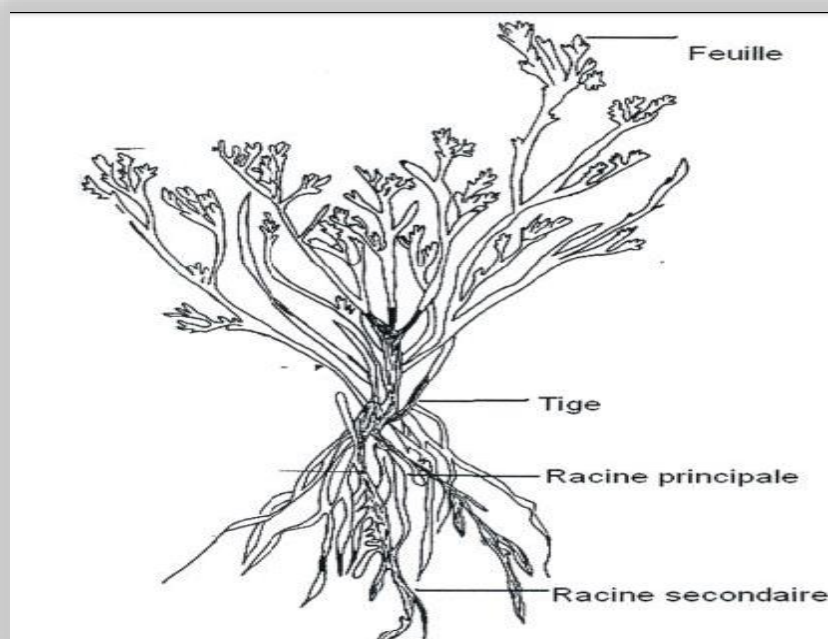


Figure n° 2 : Morphologie générale de la plante d'*Artemisia herba alba* (Eloukili, 2013).

I-3-2-Noms vernaculaires

Artemisia herba alba est baptisé sous plusieurs noms mentionné dans le **tableau n° 1** :

Tableau n° 1 : Noms vernaculaires d'*Artemisia herba alba*.

Nom scientifique	<i>Artemisia herba alba asso</i>	Référence	Quezel et santa	1963
Nom local	En arabe : Chih		Seddiek <i>et al.</i>	2011
	En tamazight : Ifsi		El Rhaffari	2008
Nom en français	Armoise blanche		El Rhaffari	2008
Nom en anglais	White wormwood		Abass	2012
Nom en Italie	Assenzio romano		Seddiek <i>et al.</i>	2011

I-3-3-Systématique

La classification de l'espèce *Artemisia herba alba* selon **Julve** en **2015** est comme suivit (Figure n°3).

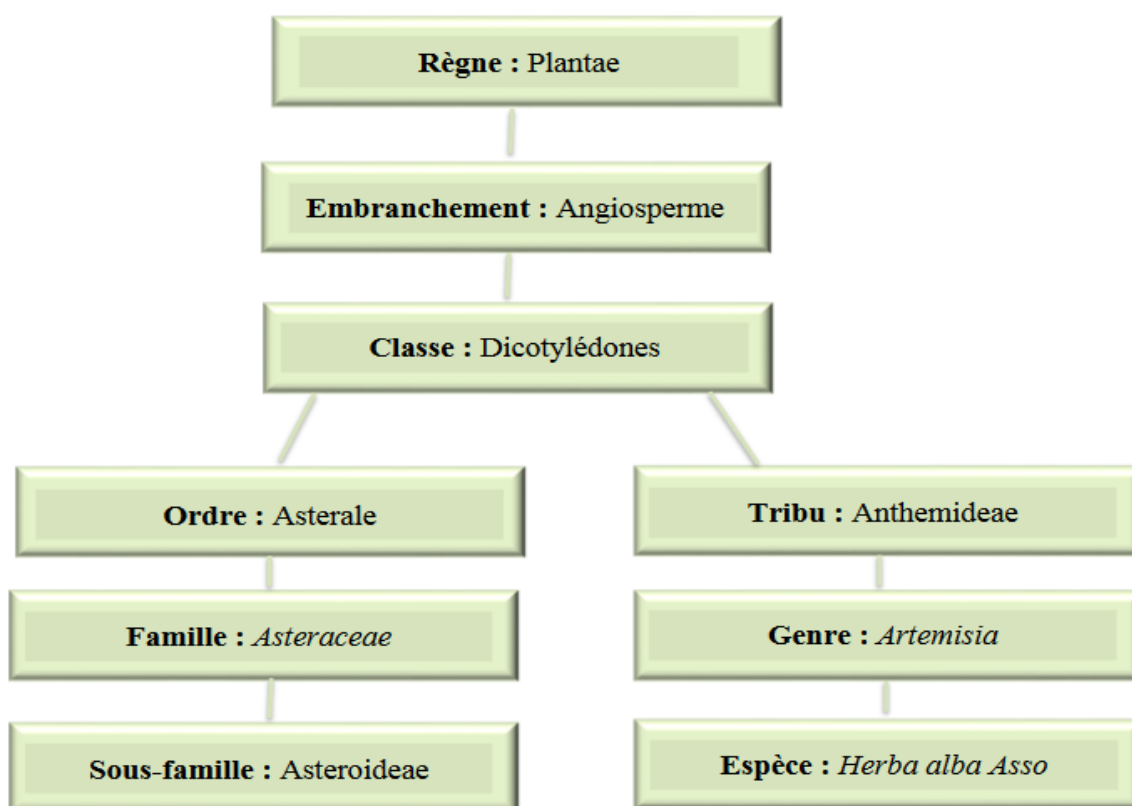


Figure n° 3 : Taxonomie de l'espèce *Artemisia herba alba* (Julve, 2015).

I-3-4-Écologie

Sur le plan écologique, *Artemisia herba-alba* présente une plasticité relativement grande. Elle se développe dans des bioclimats allant de l'étage semi-aride supérieur à l'étage saharien inférieur à pluviométrie moyenne annuelle entre 100 et 600 mm, sur des sols à texture fine, limoneux argileux et limoneux sableux bien drainés. Elle semble indifférente aux altitudes, et supporte le calcaire et des niveaux de salinité modérément élevés (**Aidoud, 1988; Ouyahya, 1995**). En Algérie, *Artemisia herba alba* trouve son optimum, en tant qu'espèce dominante, dans l'étage bioclimatique aride et aride frais parfois semi-aride frais avec une pluviosité moyenne de 100 à 300 mm (**Djebaili, 1984 ; Aidoud, 1988**). Elle se développe au fond des dayas sur des terres meubles, sablonneuses et limoneuses en association avec l'alfa (*Stipa tenacissima* L.), le sparte (*Lygeum spartum* L.) et *Noaea mucronata* Forssk. Selon le *Haut-Commissariat au Développement de la Steppe* (HCDS), la superficie totale du faciès à armoise blanche en 2001 a été estimée à environ 2 millions d'hectares (soit 10% de la superficie totale des parcours steppiques). Ce faciès a connu une importante régression par rapport à la statistique de 1970 qui enregistrait 3 millions d'hectares (soit une régression de 30%). Le surpâturage, le défrichement et la mise en culture de zones plutôt propices à son développement, accentuent de façon sensible et irrémédiable la régression de son aire de distribution, en provoquant son recul au profit d'autres espèces peu palatables (**Aidoud et al., 2006 ; HCDS, 2010**).

I-3-5-Répartition géographique

I-3-5-1-Au niveau mondial

L'espèce d'*Artemisia herba alba* pousse dans l'ensemble des pays du bassin méditerranéen (**Nabli, 1989**), (**figure n°4**). C'est une plante steppique des régions irano-touraniennes, prédominante dans les steppes d'Espagne ainsi que dans le désert de Sinaï (**Segal et al., 1987**). *Artemisia herba-alba* est absente des zones littorales nord et se raréfie dans l'extrême sud (**Nabli, 1989**).



Figure n° 4 : Distribution géographique d'*Artemisia herba alba* dans le bassin méditerranéen (Aidoud, 1988).

I-3-5-2-Au niveau régional

Artémisia herba alba est une plante spontanée très répandue en Afrique du nord et au moyen orient, elle affectionne les climats secs et chauds, et existe sous forme de peuplements importants dans les zones désertiques (Hurabielle *et al.*, 1981).

I-3-5-3-Au niveau local

En Algérie, *Artémisia herba alba*, connue sous le nom de « chih » ou encore appelé semen-contra barbarie, couvre près de six millions d'hectares dans les steppes, elle se présente sous forme de buissons blancs, laineux et espacés (Boutekjenet, 1990). Et se développe dans les zones bioclimatiques qui vont de la partie supérieure semi-arides à la partie inférieure Subsaharienne (Gharbi et Sand, 2008), (figure n° 5). *Artemisia herba-alba* est distribuée dans les zones steppiques sur une bande longue de 1200 km, allant de la frontière Tunisienne jusqu'à la frontière Marocaine, et constituée des hautes plaines steppiques de l'Ouest et du Centre, de la cuvette du Hodna et des hauts plateaux Constantinois. C'est dans le Sud Oranais où elle est la mieux représentée en formant un paysage végétal très monotone. Ses limites vers le Nord s'étendent jusqu'à la bordure Sud de l'Atlas tellien Orano-Algérois et le secteur de tell Constantinois, et au Sud jusqu'à la région steppique présaharienne (piémonts Sud de l'atlas saharien et plateau saharien Sud). Elle est présente aussi dans le Hoggar à l'extrême Sud

Algérien sur des altitudes allant jusqu'à 2000m. Des stations d'*Artemisia herba-alba* ont été signalées par Debeaux dans les sahels littoraux du secteur Oranais (**Bougoutaia, 2018**)

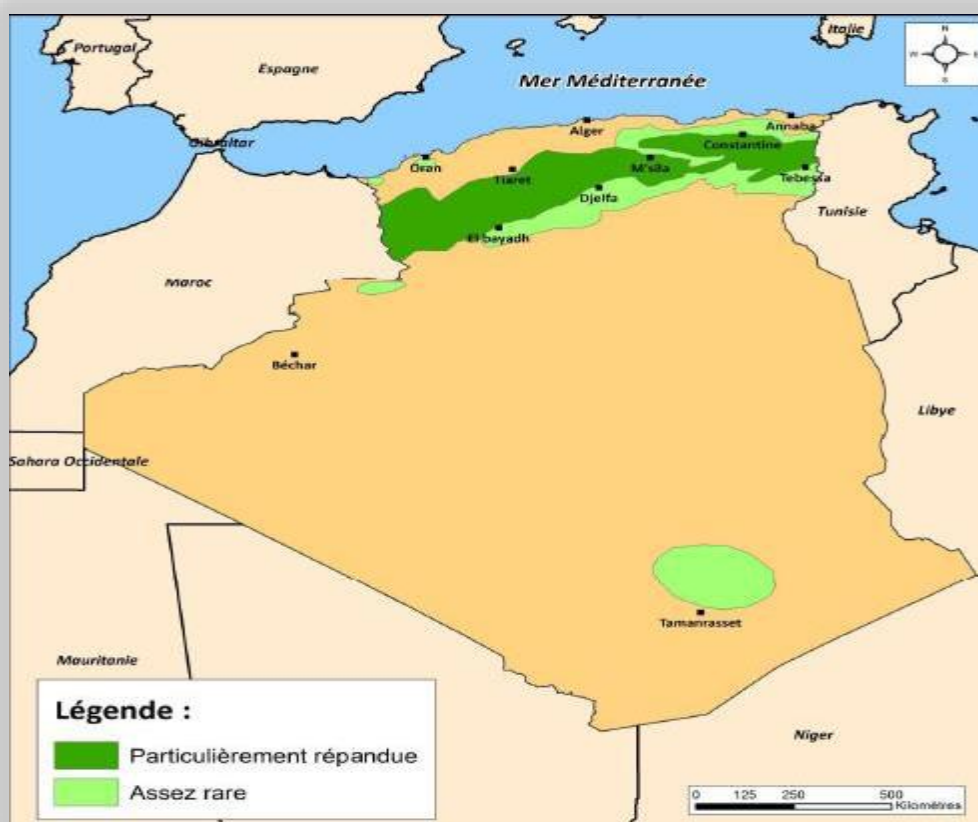


Figure n° 5 : Aire de distribution d'*Artemisia herba-alba* en Algérie (**Bougoutaia, 2018**).

I-3-6-Composition chimique

Artemisia herba alba constitue un fourrage particulièrement intéressant. En effet, la plante présente un taux de cellulose beaucoup moins élevé que ne laisse préjuger son aspect (17 à 33%). La matière sèche apporte entre 6 et 11 % de matière protéique brute dont 72% est constituée d'acides aminés. Le taux de β -carotène varie entre 1.3 et 7 mg/kg selon les saisons (**Da Silva, 2004**).

La valeur énergétique de l'armoise blanche, très faible en hiver (0.2 à 0.4 UF/kg MS), augmente rapidement au printemps (0.92 UF/kg MS) pour diminuer en été (0.6 UF/kg MS). En automne, les pluies de septembre provoquent une nouvelle période de croissance et la valeur énergétique augmente de nouveau (0.8 UF/kg MS) (**Eloukili, 2013**).

Artemisia herba Alba est une plante riche en métabolites secondaires, parmi ces métabolites on trouve des constituants volatiles, l'huile essentielle, des constituants non volatiles tel que les flavonoïdes et sesquiterpènes lactones qui offrent une vertu médicinale. En plus des

sesquiterpènes lactones et des flavonoïdes l'analyse phytochimique a montré que la composition des huiles essentielles de l'*Artemisia herba Alba* est riche en monoterpènes, triterpènespentacyc -liques, santonines, coumarines et tanins (**Mohamed et al., 2010**).

I-3-6-1-Composés polyphénoliques et flavonoïdes

La plante est riche en composés polyphénoliques, qui sont les meilleurs antioxydants, flavonoïdes et tanins. Le terme flavonoïde désigne une très large gamme des composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles.

À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétéroside (**Kheffach, 2015**). Les principaux flavonoïdes isolés à partir de l'armoise herbe blanche sont : la hispiduline, la cirsimaritrine. Des flavones glycosidiques comme la 3- rutinoside, quercétine et isovitexine sont aussi mis en évidence (**Aouadhi, 2010**). Il est noté aussi que la composition biochimique d'une espèce végétale est liée directement à la qualité du substrat c'est-à-dire le sol (**Bouzidi, 2016**).

I-3-6-2- Les sesquiterpène lactones

Les sesquiterpènes lactones sont l'un des produits naturels les plus répandus chez les espèces d'*Artemisia* et largement responsable de l'importance de ces plantes en médecine et en pharmacie. Plusieurs types de structure des sesquiterpènes lactones ont été trouvés dans les parties aériennes d'*A. herba alba*. Eudesmanolides suivi des germacranolides semblent être les types de lactones les plus abondants et présents chez cette espèce. Il a été prouvé qu'en Algérie l'espèce *Artemisia herba alba* est riche en sesquiterpènes lactones (**Mohamed et al., 2010**).

I-3-6-3- Les Huiles essentielles

Au cours des dernières décennies, l'huile d'*Artemisia herba-alba*, a été complètement étudiés et la diversité de la composition en huile provenant de plantes cultivées dans différents pays et même de différentes localités d'un même pays ont conduit aux nombreux chimiotypes. En règle générale, il a été signalé que l'huile était composée de monoterpénoïdes, principalement oxygénés, comme le 1,8-cinéole, la chrysanthénone, le chrysanthénol (et son acétate), les α/β -thujones et le camphre en tant que composants majeurs (**Mohamed et al., 2010**).

I-3-7-Usage de la plante

I-3-7-1-Usage en phytothérapie

En commun avec plusieurs d'autres espèces de ce genre, L'*Artemisia herba-alba* (Asso), plante caractéristique du moyen-orient et d'Afrique du Nord (**Feinbrun-Dothan, 1978**), est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies y compris l'entérite et les troubles intestinaux (**Yashphe et al., 1987**). Elle est aussi utilisée en tant que remède de l'inflammation du tractus gastro-intestinal (**Eidi et al., 2009**). Cette espèce a des vertus purgatives évidentes jouant un grand rôle dans le contrôle des vers intestinaux, en particulier des ovins, mais pouvant également entraîner la mort de jeunes agneaux. L'infusion des feuilles de cette espèce sont utilisées en médecine traditionnelle pour soigner le diabète, bronchite, abcès, diarrhée et comme vermifuge. Plusieurs études scientifiques ont également prouvé l'efficacité de l'armoise blanche en tant qu'agent antidiabétique (**Barham et Trinder, 1972**), antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, antimalarien, antipyrétique, antispasmodique et antihémorragique (**Deyama et al., 2006**).

1-3-7-2-Usage alimentaire

En alimentation, l'armoise blanche est considérée comme l'arôme de certaines boissons comme le thé ou le café. Néanmoins, son usage dans l'industrie alimentaire reste très limité à cause de la toxicité de la bêta thujone dont le taux ne doit pas dépasser 5mg/kg (**Eloukili, 2013**).

1-3-7-3-Activité antimicrobienne

Il a été prouvé par des chercheurs israéliens en 1979 que l'huile essentielle de l'*Artémisia herba alba* est active contre quatre souches bactériennes : deux Gram+ (*Staphylocoques* et *Streptocoques*) et deux Gram- (*E. coli* et *Salmonella typhosa*) et ceci en inhibant leur croissance par une activité bactériostatique (**Eloukili, 2013**).



Généralités sur les huiles essentielles

II- Les huiles essentielles

II-1- Définition

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante et contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, l'huile essentielle ne contient pas de corps gras comme l'huile végétale (**Anton et Lobstein, 2005 ; Bruneton, 1993**), et elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire (**Angus et al., 1976**), leurs synthèse et accumulation se font généralement au niveau des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur la surface de la plante (**Cherif, 1991**).

La définition des huiles essentielles a été reprise à peu de choses près par AFNOR et ISO qui ont donnés la définition suivante : « l'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe frais de certains agrumes, soit par distillation. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (**AFNOR, 2000 ; ISO, 1997**).

Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. René-Maurice Gattefosse a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie (**Besombes, 2008**). La petite histoire dit qu'il aurait découvert les propriétés de l'huile essentielle de lavande lors d'une explosion dans son laboratoire de parfumerie en 1940, ce qui le brûla gravement. Il aurait trempé sa main dans un vase plein d'huile essentielle de lavande et les brûlures régressèrent rapidement sans laisser de cicatrice, ni d'infection. Il continua par la suite les recherches et les expériences dans ce domaine puis publia en 1931 un ouvrage intitulé « Aromathérapie » (**Autard, 2017**).

II-2- Répartition botanique

Les HES., sont largement répartis dans le règne végétal : Conifères, Myrtacées, Ombellifères, Labiées. Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : sommités fleuries, grains, feuilles, écorces, racines, rhizomes, fruits, bois, etc... Dans une même plante, elles peuvent être présentes dans différents organes. La composition des HES., peut alors varier d'un organe à l'autre (**Rhayour, 2002**).

II-3- Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

II-3-1-Propriétés physiques

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante, volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes. Elles ne sont que très rarement colorées et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elles ont un indice de réfraction (IR) élevé. Elles sont liposoluble et solubles dans les solvants organiques usuels. (Bruneton, 2009). Elles sont entraînables à la vapeur d'eau, et très peu solubles dans l'eau et leur point d'ébullition varie de 160°C à 240°C (Pardini et Lucheroni, 1996).

Elles sont aussi très altérables, sensibles à l'oxydation, donc de conservation limitée, dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels (Legrand, 1978).

II-3-2-Propriétés chimiques

Les plantes vertes sont de véritables petites usines chimiques (Delaveau *et al.*, 1985). Les cellules végétales sont capables, en dehors de la synthèse des composés fondamentaux de la lumière vivante (les protéines, les lipides et les sucres), de coordonner les multiples réactions enzymatiques conduisant à l'élaboration des huiles essentielles (Garnero, 1991). Sur le plan chimique les huiles essentielles sont des mélanges de structure extrêmement complexe, pouvant contenir plus de 300 composés différents : les terpènes ; les composants aromatiques ; les composants d'origines diverses ; notion chémotype ; aldéhydes ; esters ; cétones ; lactones (Croteau *et al.*, 2000), et se caractérisent par différents indices, indice d'acide, indice d'ester, indice de saponification et indice de carbonyle (Charpentier *et al.*, 2008).

II-4- Rôle physiologique

Beaucoup de plantes produisent les HES., en tant que métabolites secondaires. Leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu, les HES., peuvent avoir plusieurs effets « utiles » pour la plante : repousser ou au contraire attirer les insectes pour favoriser la pollinisation, comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques, réduction de la compétition des autres espèces de plante par inhibition chimique de la germination des graines, par protection contre la flore microbienne infectieuse, action répulsive sur les prédateurs par goût et effets défavorables (Bakkali *et al.*, 2008).

II-5- Techniques d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en oeuvre pour l'extraction des essences végétales (**Sallé, 2004**), les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), de la nature des composés physico-chimiques (les flavonoïdes ou les tanins, par exemple), du rendement en huile et de la fragilité de certains constituants des huiles à des températures élevées (**Crespo et al., 1991 ; Hellal, 2011**).

II-5-1-Distillation

C'est une technique d'extraction des huiles essentielles utilisant l'entraînement des substances aromatiques grâce à la vapeur d'eau (**Mann, 1987**). La méthode est basée sur l'existence d'un azéotrope de température d'ébullition inférieure aux points d'ébullition des deux parties, l'huile et l'eau (**Franchomme et Pénéol, 1990**). Il existe précisément trois différents procédés utilisant ce principe : l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodiffusion (**Piochon, 2008**).

II-5-1-1-Hydro-distillation

L'hydro-distillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité (**Lucchesi, 2005**), c'est la méthode la plus simple et de ce fait, la plus anciennement utilisée (**Figure n°6**). Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique, les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. Cependant, l'hydro-distillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (**Lucchesi, 2005; Elhaib, 2011; Boukhalfa, 2014**). La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales.

Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. La durée d'une hydro-distillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter (**Lucchesi, 2005**).

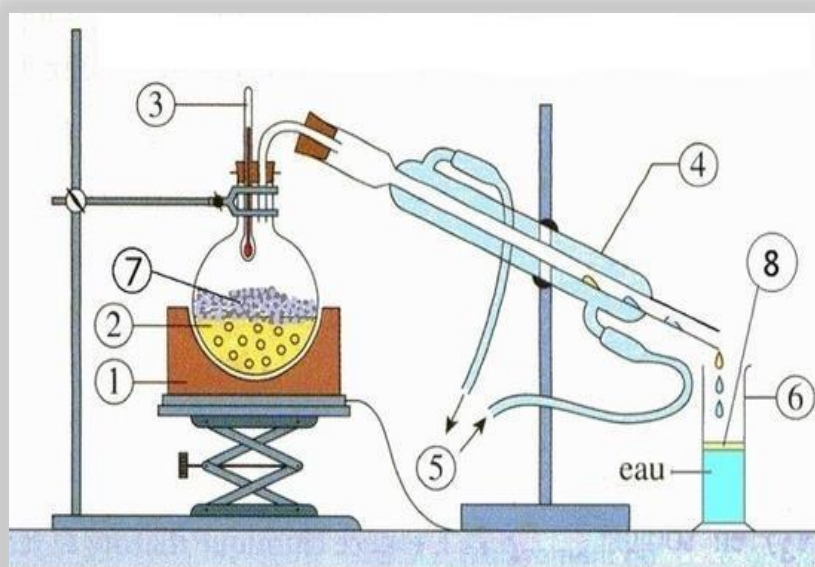


Figure n° 6 : Schéma du principe de la technique d'extraction par hydro-distillation (Lucchesi, 2005).

- 1-Chauffe ballon. 2-Ballon. 3-Thermomètre. 4-Réfrigérant. 5- Entrée et sortie d'eau.
6-Erlenmeyer. 7-Matière à extraire l'essence. 8- Couche d'huile essentielles mince.

II-5-1-2- Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles (Figure n° 7). A la différence de l'hydro-distillation, dans cette technique le matériel végétal à traiter ne macère pas directement dans l'eau, de la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules s'éclatent et libèrent l'huile essentielle (La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant) qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : "l'huile essentielle". Cette méthode apporte une amélioration de la qualité des huiles essentielles en minimisant les altérations hydrolytiques. (Franchomme et Pénéol, 1990).

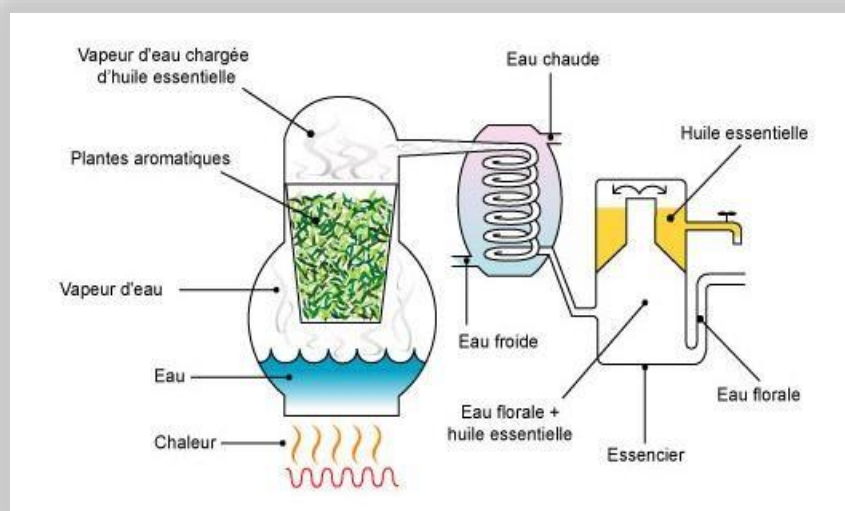


Figure n°7 : Schéma du principe de la technique d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (**Franchomme et Pénéol, 1990**).

II-5-1-3-Hydro-diffusion

Cette technique relativement récente, est une variante de l'entraînement à la vapeur. Elle consiste à faire passer du haut vers le bas et à pression réduite (0,02 – 0,15 bar), la vapeur d'eau à travers la masse végétale (**Figure n° 8**). L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc, moins dommageable pour les composés volatils. Cependant, l'huile essentielle obtenue contient des composés non volatils ce qui lui vaut une appellation spéciale « essence de percolation » (**Franchomme et al., 1990 ; Richard, 1992 ; Lucchesi, 2005**). La composition des produits obtenus est qualitativement différente de celle des produits obtenus par les méthodes précédentes. Ce procédé permet un gain de temps et d'énergie (**Bruneton, 1999**).

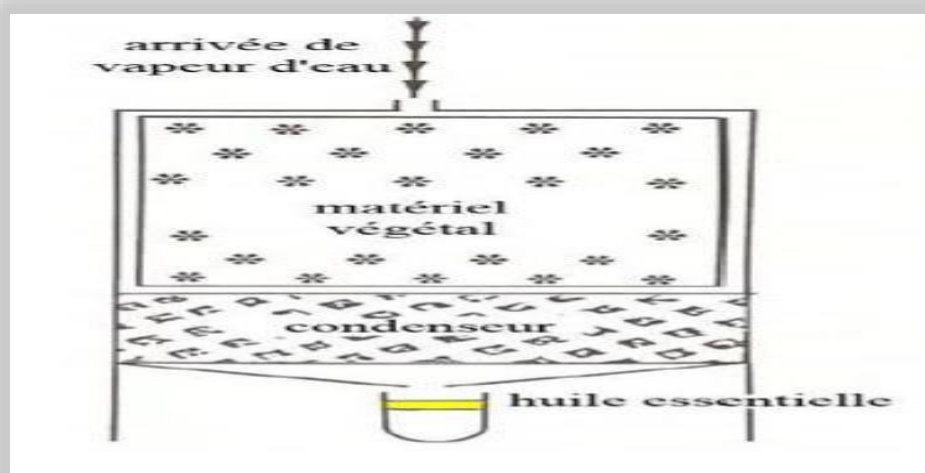


Figure n° 8 : Schéma du principe de la technique d'extraction par hydro-diffusion (**Lucchesi, 2005**).

II-5-2- Extraction à froid

Elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences (**Roux, 2008**). Les huiles essentielles des fruits d'agrumes sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes et aldéhydes. C'est pourquoi, spécifiquement pour cette catégorie de matière première, est utilisé un procédé totalement différent d'une distillation classique qui est l'expression à froid (**Lucchesi, 2005**). Le principe de cette technique est basé sur la rupture des parois des sacs oléifères contenues dans l'écorce des fruits (**figure n° 9**) ; le produit ainsi obtenu porte le nom essence, qui est ensuite entraînée par un courant d'eau froide. L'émulsion d'essence et d'eau isolée par décantation ou centrifugation (**Ferhat et al., 2007**).



Figure n°9 : Technique d'extraction à froid (**Lucchesi, 2005**).

II-5-3- Extraction assistée par micro-ondes

Le pouvoir énergétique des micro-ondes a été mis en évidence à la fin de la seconde guerre mondiale, d'une façon anecdotique par un physicien, le Dr., Spencer, suite à l'oubli de son sandwich sur un émetteur d'ondes, alors que jusqu'ici, les micro-ondes étaient uniquement utilisées comme vecteur d'information, elles investissent les laboratoires de chimie dans les années 80 (**Mengal et al., 1993**). Les premiers travaux utilisant les micro-ondes pour extraire des composés organiques ont été publiés par **Ganzler et coll. et Lane et Jenkins en 1986**. Depuis cette date, l'extraction végétale assistée par micro-ondes a été le fruit de nombreuses recherches et de brevets (**Chemat et al., 2006**). Cette technique combine

l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Au début des années 1990 est apparue une toute nouvelle technique appelée hydro-distillation par micro-onde sous vide (**Figure n°10**). Ce procédé est basé sur un principe relativement simple, la matrice végétale est chauffée par micro-onde dans une enceinte close et dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle, sans l'ajout d'un solvant organique ou d'eau. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante : Cette étape libère l'huile essentielle qui est ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite par le végétal. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, refroidissement et décantation pour la séparation. Ce procédé est économique que les méthodes classiques telles que l'hydro-distillation ou l'entraînement à vapeur, il permet aussi un gain de temps et d'énergie (**Mengal et al., 1993 ; Lucchesi et al., 2004**).

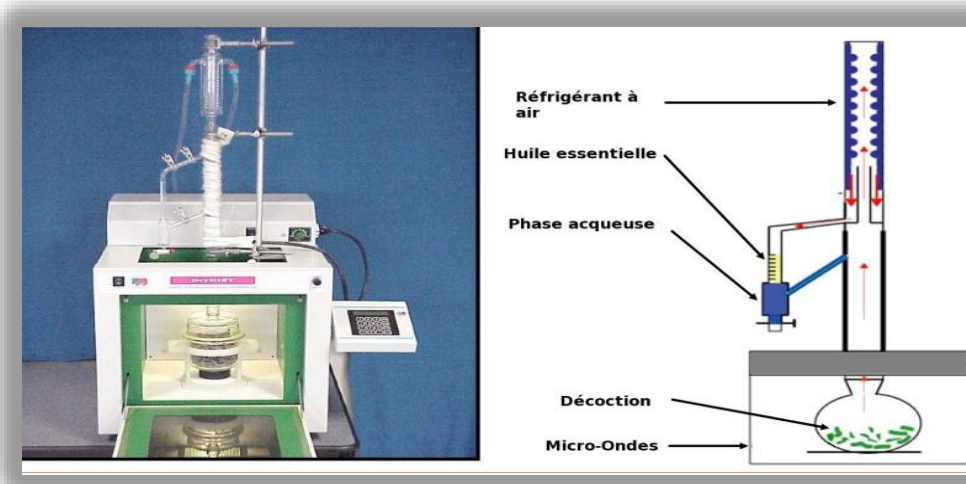


Figure n° 10 : Schéma du principe de la technique d'extraction assisté par micro-ondes (**Lucchesi et al., 2004**).

II-5-4-Extraction par solvant organique

Cette extraction est basée sur le fait que les huiles essentielles sont solubles dans la plupart des solvants organique, cette technique consiste à placés dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter (**Figure n° 11**). Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit obtenu est appelé : concrète, cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolue, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales. L'extraction par les solvants est très couteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants (**Shellie et al., 2004**).

Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, en tenant compte des paramètres techniques, économiques et des propriétés physico-chimiques du solvant, telles que : la constante diélectrique, la miscibilité avec d'autres solvants, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, (Nickerson et Lickens, 1966 ; Hernandez, 2005). Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le dichlorométhane et l'acétone (Legrand, 1993 ; Dapkevicius *et al.*, 1998 ; Kim et Lee, 2002).

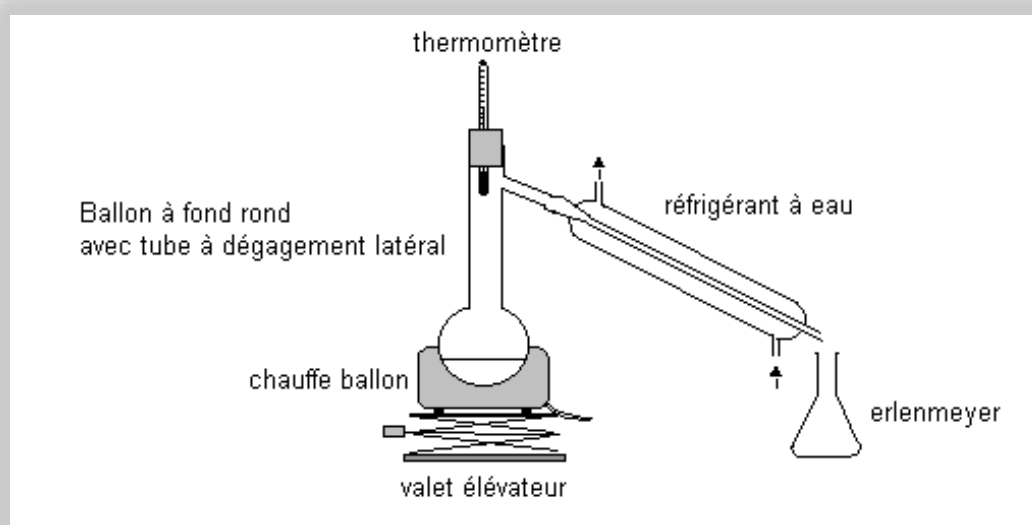


Figure n°11 : Schéma du principe de la technique d'extraction par solvant organique (Lucchesi *et al.*, 2004).

II-5-5-Extraction par CO₂ supercritique

L'originalité de cette technique d'extraction réside dans le type de solvant employé : le CO₂ supercritique. Au-delà du point critique (P=73,8 bars et T= 31,3°C), le CO₂ possède des propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz, ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction, et qui est plus facilement modulable en jouant sur les conditions de température et de pression. Le dioxyde de carbone est employé principalement comme un fluide supercritique parce que c'est un solvant sain, non-combustible, peu coûteux, inodore, sans couleur, insipide, non toxique, et aisément disponible. Sa viscosité basse lui permet de pénétrer la matrice pour atteindre le matériel à extraire, et sa basse chaleur latente d'évaporation est un moyen élevé de volatilité qui peut être facilement enlevé sans laisser un résidu de solvant (Pellerin, 1991).

Le CO₂ permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux (**Figure n°12**). Il est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie, ensuite il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal. Après le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (**Chemat, 2004**).

L'avantage de cette technique d'extraction est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus, elle permet d'éviter la dégradation des composés thermosensibles offrant ainsi une huile de qualité supérieure. A ces différents avantages, s'ajoutent ceux de l'innocuité, d'inertie et d'inflammabilité du CO₂ (**Carlson et al., 2001 ; Lagunez Rivera, 2006 ; Wood et al., 2006**). L'unique point faible de cette méthode est le coût très élevé des appareillages liés à l'application de pressions de plusieurs centaines de bars (**Pellerin, 1991 ; Lagunez Rivera, 2006**).

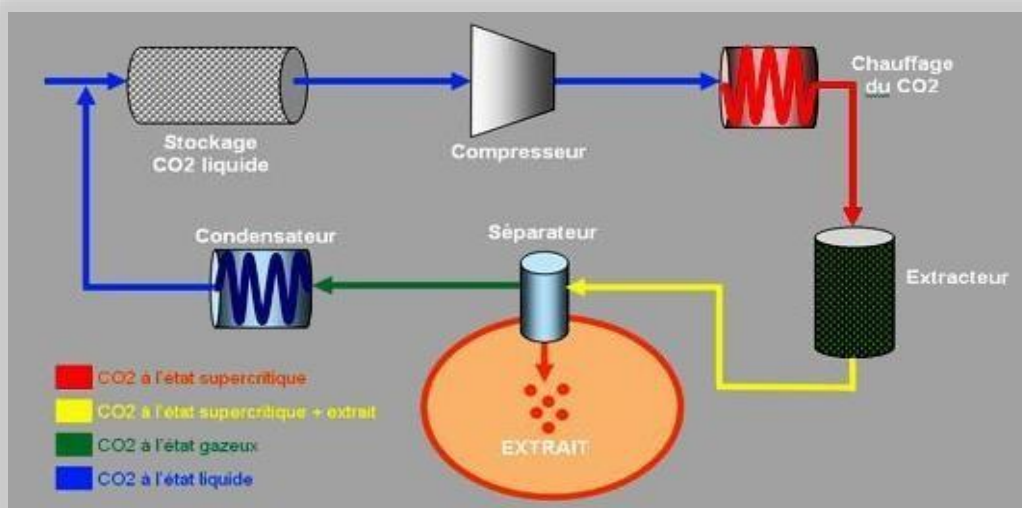


Figure n° 12 : Schéma du principe de la technique d'extraction par CO₂ supercritique (**Pourmortazavi et Hajimirsadeghi, 2007**).

II-5-6-Enfleurage

Cette technique est employée en parfumerie, elle est réservée aux fleurs ou aux organes les plus fragiles des plantes qui sont sensibles à l'action de la température, elle consiste à pratiquer une diffusion des composés odorants dans une masse de matière grasse c'est-à-dire une méthode d'extraction par le corps gras, elle met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite.

Dans cette technique on peut distinguer, un procédé qui se fait à froid par diffusion des arômes vers le corps gras, il s'agit d'une extraction par enfleurage ou la saturation (**Figure n°13**), si par contre, il se pratique à chaud par immersion des organes végétaux dans le corps gras, les graisses étant fondues au bain-marie (50°C – 70°C), il s'agit alors d'une digestion (**Besombes, 2008 ; Cordero et al., 2007**).



Figure n°13 : Schéma du principe de la technique d'extraction par enfleurage (**Lucchesi et al., 2004**).

II-6- Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents (**Vila et al., 2002**). Il en résulte que les huiles essentielles, constituées des mélanges complexes de composés organiques, possèdent des structures et des fonctions chimiques très diverses (**Lahlou, 2004**). Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les composés terpéniques (isopréniques, monoterpènes, les sesquiterpènes, les diterpènes et les triterpènes) (**Baser et Buchbauer, 2010**) d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (**Bruneton, 1999**).

II-6-1-Les composés terpéniques

Le terme terpénoïdes désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes qui sont des hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_8)_n$ avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone...etc.) (Ait Hellal et Khemissi, 2010).

Les terpènes sont subdivisés selon le nombre d'unités isopréniques en : hémiterpènes (1 unité: C₅), monoterpènes (2 unités : C₁₀), sesquiterpènes (3 unités : C₁₅), diterpènes (4 unités: C₂₀), sesterpènes (5 unités : C₂₅), triterpènes (6 unités : C₃₀), carotènes (8 unités : C₄₀) et les polyisoprènes (n unités : C_{5n}) (Hernandez-Ochoa, 2005 ; Fillatre, 2011).

Dans les huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils. C'est-à-dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : monoterpènes et sesquiterpènes (Bruneton, 1999).

II-6-1-1-Monoterpènes

Les monoterpènes sont volatils entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des HE, parfois plus de 90%. Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocymène), monocyclique (terpinène, p-cimène) ou bicyclique (pinène, sabinène). A ces terpènes se rattachent un certain nombre de substances à fonction chimique : Alcools, aldéhydes, cétones, et des esters (Bruneton, 1999 ; Hernandez-Ochoa, 2005).

II-6-1-2-Sesquiterpènes

Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Elle contient plus de 3000 molécules comme par exemple : β -caryophyllène, β -bisabolène, α -humulène, abisabolol, farnésol. Quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques d'HE : carbure mono ou polycyclique, alcools, cétones, aldéhydes, et esters (Helali, 2005).

II-6-3-Composés aromatiques

Les composés aromatiques des huiles essentielles sont principalement des dérivés du phénylpropane C₆-C₃, qui sont beaucoup moins fréquents que les monoterpènes et sesquiterpènes, ce sont très souvent des allylphénols, propénylphénols, anéthol, aldéhyde, Apiol, Eugénol, safrole, Asarones, Cinnamaldéhyde, cinnamyl, alcool. On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'authranilate de méthyle ; Les lactones dérivées des acides cinnamiques (les

coumarines), étant, au moins pour les plus simple d'entre, entraînés par la vapeur d'eau (**Bakkali et al., 2008**).

II-7- Mode d'action des huiles essentielles

Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémosmotique et une fuite d'ions (K⁺) (**Cox et al., 2000 ; Souza et al., 2006**). Certains composés phénoliques des huiles essentielles peuvent altérer des systèmes enzymatiques dont, ceux impliqués dans la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants structurels ou encore, perturber la fonctionnalité du matériel génétique (**Davidson, 2001 ; Pavel et al., 2009**). Le mode d'action des huiles essentielles dépend du type de microorganismes. En général, les bactéries Gram négatives sont plus résistantes que les bactéries Gram positives grâce à la structure de leur membrane externe. En effet, cette dernière est riche en lipo- polysaccharides (LPS), ce qui la rend plus hydrophile, empêchant ainsi les composés hydrophobes des huiles essentielles d'y adhérer (**Cristiani et al., 2007**).

II-8- Domaine d'application

Traditionnellement, les huiles essentielles sont présentes dans le processus de fabrication de nombreux produits finis destinés aux consommateurs. Les huiles essentielles peuvent avoir d'intéressantes applications dans différents secteurs : elles sont utilisées dans l'agroalimentaire pour aromatiser la nourriture, dans l'industrie de la parfumerie, cosmétique et de la savonnerie. On les utilise aussi dans la fabrication des adhésifs (colle, scotch ...), dans l'industrie automobile, dans la préparation des sprays insecticides. L'homéopathie et l'aromathérapie sont des exemples courants d'usage d'huiles essentielles en médecine douce (**Bakkali et al., 2008**).

II-8-1-Désinfection de l'air

Les huiles essentielles sont composées d'un grand nombre de molécules volatiles. En diffusion dans l'air ou diluées dans les produits de nettoyage, elles désinfectent, désodorisent et parfument agréablement et naturellement l'air. Cette pratique régulière prévient également des affections microbiennes en renforçant les défenses immunitaires (**Bakalli et al., 2008**).

II-8-2- Parfums et cosmétiques

Dans le domaine des parfums et cosmétiques, les huiles essentielles sont employées en tant qu'agents conservateurs grâce à leurs propriétés antimicrobiennes qui permettent d'augmenter la durée de conservation du produit. Cependant, c'est surtout pour leurs caractéristiques odorantes en raison de leur forte volatilité et du fait qu'elles ne laissent pas de trace grasse, qu'elles sont utilisées, notamment dans la formulation de parfums, de produits d'entretien personnels ou ménagers domestiques ou industriels (**Aburjai et Natsheh, 2003**).

II-8-3- En agroalimentaire

Les effets antimicrobiens de différentes espèces d'herbes et d'épices sont connus depuis longtemps et mis à profit pour augmenter la durée de vie des aliments. Ainsi les huiles essentielles et leurs composants, actuellement employés comme arômes alimentaires sont également connus pour posséder des activités antioxydants et antimicrobiennes sur plusieurs bactéries responsables de la pollution des aliments et pourraient servir d'agents de conservation alimentaires. Les huiles essentielles ont également des propriétés fongicides.

Elles sont utilisées en tant que pesticides car elles ne sont pas toxiques pour les plantes et sont facilement dégradables et efficace contre les moisissures responsables des denrées alimentaires lors de leurs stockages (**Fillatre, 2011**).

II-8-4-Pharmacie et aromathérapie

Les vertus thérapeutiques des huiles essentielles sont connues et utilisées depuis très longtemps, notamment en Asie où ces produits naturels constituent la base de la médecine traditionnelle. Il est donc logique de retrouver les huiles essentielles dans le domaine de la santé avec des applications pharmaceutiques et aromathérapiques. En pharmacie, les huiles essentielles sont majoritairement destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses administrées par voie orale (**Bruneton, 1999**). De même, elles peuvent être utilisées pour leur activité antiseptique, en particulier dans le milieu hospitalier (**Edris, 2007**).

De nombreux produits tels que les pommades, les crèmes et les gels à base d'huiles essentielles permettraient de faciliter l'administration des médicaments par voie transdermique étant donné la propriété de ces huiles à pénétrer aisément dans la peau (principalement due aux terpènes). Ces produits sont généralement destinés à soulager les entorses, les courbatures, les allergies articulaires ou musculaires (**Razafindrakoto, 1988 ; Dethier, 1996 ; Edris, 2007**).

II-8-5- Traitement des infections

Les huiles essentielles sont très efficaces sur les germes résistants aux antibiotiques, ce qui leur donne une place parmi les moyens thérapeutiques pour guérir, atténuer ou prévenir les maladies et les infections. Le traitement des affections bactériennes et fongiques de la cavité-buccale est un exemple parmi d'autres des domaines d'application de l'activité des huiles essentielles (**Fillatre, 2011**).

II-9- Toxicité

De nombreux ouvrages font référence à la toxicité de nombreux produits sur le marché, la plupart du temps, sous le terme de toxicité sont décrites des données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que présente leur emploi (**Bruneton, 1999**). Les huiles essentielles sont présentées généralement comme « sans danger » mais sont aussi des composés puissants (**Degryse et al., 2008**), par leur composition chimique complexe, les huiles essentielles doivent être utilisées avec une extrême prudence, du fait qu'elles peuvent présenter de très graves dangers lors d'une utilisation abusive ou aléatoire autonome qui est souvent favorisée par le fait que bon nombre de ces produits sont distribués en dehors du secteur pharmaceutique (**Bruneton, 1999**).

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (les huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) (**Smith et al., 2000**) ou photo-toxique (huiles riches en furocoumarines) (**Naganuma et al., 1985**). D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique (les cétones comme l' α -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux) (**Franchomme et Pénéol, 1990**). Il existe aussi quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancers (**Homburger et Boger, 1968**). En règle générale, les huiles essentielles ont une toxicité aiguë faible ou très faible par voie orale, tandis que la toxicité chronique est assez mal connue (**Bruneton, 1999**), reste à savoir si dans leur emploi externe, les risques de toxicité sont fortement réduits (**Bernadet, 2000**).

Staphylococcus aureus résistante à la métiline

III-1- Les infections nosocomiales

III-1-1- Définition

Définir une IN n'est pas toujours aisé, les critères de définition diffèrent selon qu'ils sont destinés au diagnostic et au traitement, ou alors qu'ils vont être utilisés dans le cadre de la surveillance épidémiologique (**Comité technique des infections nosocomiales, 1999**).

Il s'agit, d'une façon générale, d'une infection contractée à l'hôpital et se manifestant dans un délai supérieur à 48 heures après l'admission, à condition qu'aucune infection antérieure de même site n'ait été présente ou en incubation à l'admission (**Joly-Guillou et Régnier, 2005**). Pour les infections d'une plaie opératoire, on considère comme nosocomiales les infections survenues dans les trente jours suivant l'intervention, ou, en cas de mise en place d'une prothèse ou d'un implant, dans l'année qui suit l'intervention (**Comité technique des infections nosocomiales, 1999**), contrairement à une infection communautaire qui se définit comme une infection survenant en dehors d'un établissement de santé. Elle est associée à la présence de microbes (bactéries, virus, champignons, parasites) connus pour être à l'origine des symptômes observés (**Roger, 2015**).

Pour développer une infection nosocomiale, il faut que trois éléments soient réunis : un agent infectieux ; un mode de transmission ; un sujet réceptif (**Berche et al., 1988**).

Parmi les facteurs qui favorisent la survenue d'infections nosocomiales, les gestes invasifs qui créent des brèches dans le revêtement cutanéomuqueux, la mise en place de matériel étranger qui permet la formation de biofilms, la pathologie sous-jacente qui peut affaiblir les mécanismes de défense de l'hôte, la proximité d'autres malades infectés, le non-respect des mesures d'hygiène par le personnel en contact avec les malades (**Nauciel et Vildé, 2005**). Ou encore la mobilité des patients (fréquemment transférés entre d'un établissement ou service à l'autre) (**Berche et al., 1988**).

III-1-2- Les principales infections nosocomiales

Les infections nosocomiales les plus fréquemment rencontrées sont illustrées dans la **figure n°14**.

(**Al-Hajje et al., 2012 ; Le Loir et Gantier, 2009**).

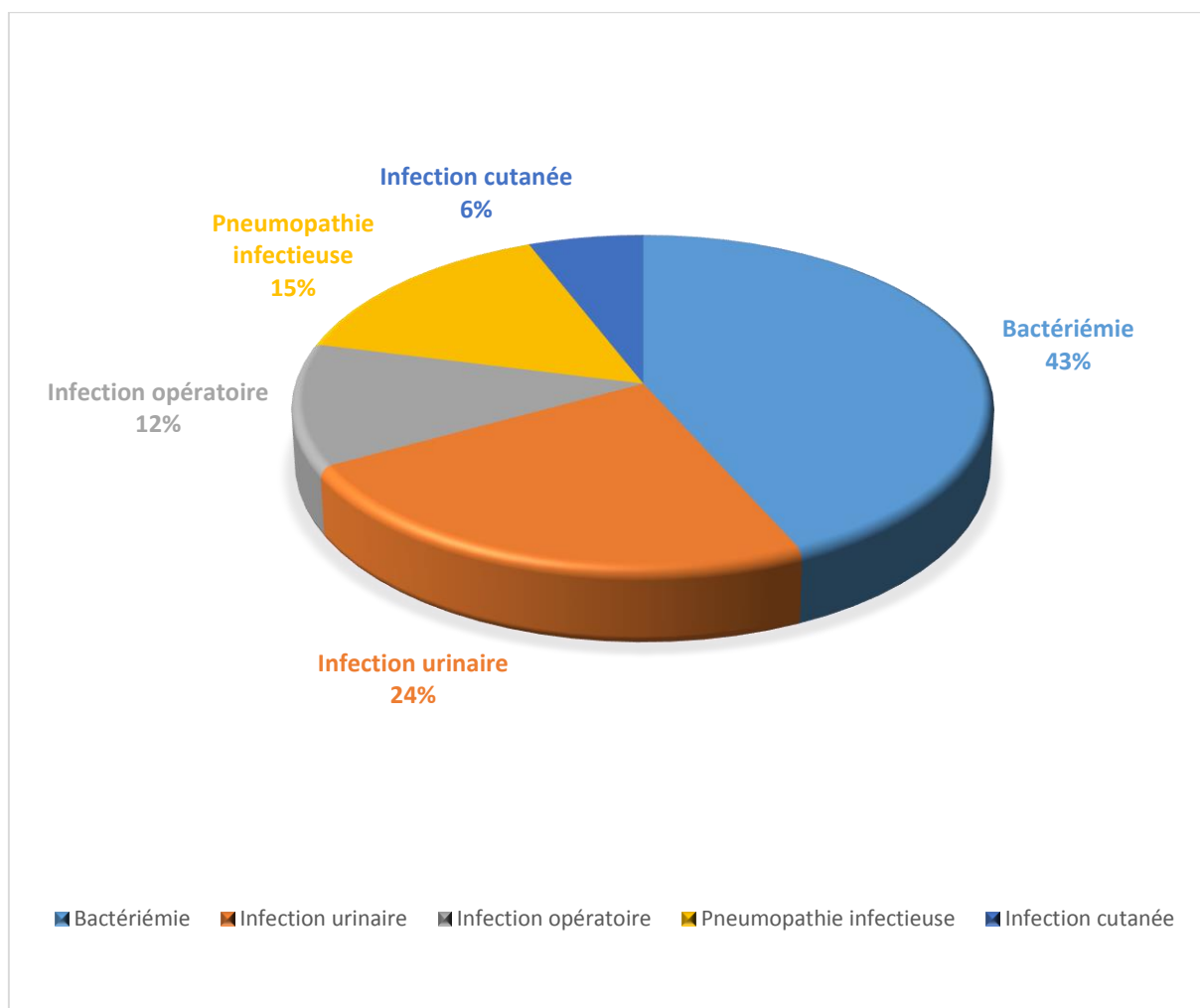


Figure n°14 : Les principales infections nosocomiales en pourcentage (%)
(Al-Hajje *et al.*, 2012 ; Le Loir et Gantier, 2009).

III-1-4- Mode de transmission des agents infectieux

III-1-4-1- Voie endogène

Les infections nosocomiales sont endogènes lorsque le malade s'infecte avec ses propres germes à la faveur de certains soins invasifs (actes chirurgicaux, sondage urinaire, pose et manipulation d'un cathéter, respiration artificielle...etc) et/ou en raison d'une fragilité particulière. On parle aussi d'auto-infections (Hocquet-Berg et Py, 2006 ; Hureau, 1999). Les portes d'entrée sont les lésions des muqueuses et les lésions cutanées. Les germes à potentiel infectieux sont les bactéries de la peau, de la surface des muqueuses et les germes intestinaux disséminés sur les téguments (Hygis, 1998).

III-1-4-2- Voie exogène

a) Hétéro-infection

L'agent infectieux est transmis d'un malade à l'autre provoquant une infection dite croisée ou hétéro-infection. Il est rarement transmis par contact direct ou par voie aérienne. Le plus souvent, l'infection est manuportée ou transmise par le matériel d'exploration ou de soins. C'est le mode de contamination majeur lors de nombreuses épidémies et probablement le plus sensible aux mesures prophylactiques traditionnelles (hygiène des mains, procédures de désinfection et de stérilisation, sécurité de l'environnement) (**Hygis, 1998**).

b) Xéno-infection

C'est une infection qui sévit sous forme endémique ou épidémique dans la population extrahospitalière. Les agents infectieux sont importés à l'hôpital par le malade, le personnel soignant, les visiteurs qui en sont atteints ou qui sont en phase d'incubation. Ils se transmettent par voie aérienne, par contact direct ou indirect et trouvent à l'hôpital des victimes particulièrement réceptives et des conditions de transmission facilitées (**Berche et al., 1991 ; Hygis, 1998**).

c) Exo-infection

Cette infection est liée à des avaries techniques (stérilisation inefficace, filtre à air non stérile, eau polluée). Les matériaux à usage paramédical ou domestique sont utilisés auprès des malades ils sont susceptibles d'être contaminés et peuvent ainsi provoquer des infections nosocomiales souvent épidémiques (**Berche et al., 1991**).

Le mode de transmission principal des SARM est très certainement le contact direct ou par l'intermédiaire de l'environnement, notamment d'objets divers. La transmission s'effectue de l'animal à l'homme et inversement, par simple contact. Plus récemment, en 2004, il a été démontrée une relation directe entre le portage de *Staphylococcus aureus* chez le porc, et le personnel qui était en contact, à savoir les éleveurs de porcs (**Aubry et al., 2004**). Quelques rares cas de SARM sont rapportés en Europe, dont un SARM ST398 récemment identifié en portage chez un chien allemand, probablement transmis par son propriétaire, (de profession vétérinaire), lui-même l'ayant acquis au contact de porcs (**Nienhoff et al., 2009**).

III-1-3- Pathogènes impliqués dans les infections nosocomiales

L'origine du germe peut être exogène (provenir d'un autre malade, du personnel, de l'environnement) ou endogène (provenir du malade lui-même). Les infections nosocomiales sont généralement dues à des bactéries commensales (c'est-à-dire des germes qui ne peuvent vivre qu'au contact de notre organisme) ces bactéries sont souvent utiles au bon fonctionnement du corps humain, ainsi la flore bactérienne résidant dans notre tube digestif (*staphylocoque doré*, *Pseudomonas aeruginosa*...) est indispensable à la digestion ; en revanche, si pour une raison ou pour une autre lors d'une intervention chirurgicale, ces germes sont déversés dans la cavité abdominale et ils deviennent dangereux voir pathogènes, ou des bactéries saprophytes, c'est-à-dire vivant dans l'environnement de l'homme (l'eau, l'air) et pouvant le coloniser dans certaines conditions. Les principaux micro-organismes responsables sont les bacilles Gram négatif (53%) et les Cocci Gram positif (33%) : *Escherichia Coli* (21%), *Staphylococcus Auréus* (16%), *Pseudomonas Aeruginosa* (11%), *Enterococcus spp* (8%). Ces quatre espèces représentent 56% des micro-organismes retrouvés dans les infections nosocomiales (**tableau n°2**) (Alfandari, 1997).

Tableau n°2 : principaux microorganismes impliqués dans les infections nosocomiales (Alfandari, 1997).

Microorganismes	Proportions (%)	Mode de transmission
Bacille Gram négatif	53	Contact dont manuportage
Cocci Gram positif	33	
<i>Esherichia coli</i>	21	
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	
<i>Enterococcus spp</i>	8	
<i>Candida albicans</i>	2.7	

<i>Morganelle spp</i>	1.1	
-----------------------	-----	--

III-2- Résistance bactérienne aux antibiotiques

III-2-1- Définition

La résistance d'une bactérie à un antibiotique est la faculté pour cette bactérie de supporter sans dommage une concentration de l'antibiotique supérieure à celle que l'on peut réaliser dans l'organisme (**Charpentier et al., 2008**).

III-2-2- Résistance naturelle ou intrinsèque

Les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées sur l'ATB afin de déterminer son activité et contribue à définir son spectre antibactérien. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible ou encore son absence pour l'ATB. Par exemple, la résistance des entérobactéries et du *Pseudomonas* aux macrolides ou des bactéries à gram négatif à la vancomycine est naturelle (**Lewis, 2009 ; Mandell et al., 2009**).

III-2-3- Résistance acquise

Les bactéries peuvent développer de la résistance à un ATB préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques. Cette résistance est souvent instable. Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes par un autre micro-organisme (**Mandell et al., 2009**).

III-2-3-1- Mutation chromosomique spontanée (évolution verticale)

La mutation chromosomique spontanée constitue un mécanisme de résistance aux ATB chez environ 10 à 20 % des bactéries. Les gènes de résistance se situent alors dans le chromosome de la bactérie. Une mutation n'affecte qu'un caractère, et la résistance ne concerne généralement qu'un ATB ou qu'une famille d'ATB ayant le même mécanisme d'action (**Mandell et al., 2009**).

III-2-3-2- Acquisition d'un gène de résistance (évolution horizontale)

La résistance bactérienne par acquisition d'information génétique exogène représente la majorité des cas isolés en clinique et s'observe aussi bien chez les bactéries à Gram positif qu'à Gram négatif. L'acquisition de nouveau matériel génétique peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'éléments mobiles. Dans ce dernier cas, les gènes de résistance se trouvent dans un fragment d'ADN bactérien situé à l'extérieur et sur certains éléments mobiles du chromosome, tels que les plasmides (**Lewis, 2009 ; Mandell et al., 2009**).

III-2-3- Résistance à la méticilline

Staphylococcus aureus est une des espèces bactériennes qui a su le plus s'adapter à la pression exercée par les substances antibiotiques en développant des mécanismes de résistance (**Yves et Gautier, 2009**). La méticilline ou pénicilline M sont des antibiotiques bactéricides de la famille des Bêta-Lactamines. Les bêta-lactamines sont les antibiotiques les plus couramment utilisés en clinique et leur nombre n'a cessé de croître depuis la découverte de la pénicilline G. Leur mode d'action est intimement lié à la structure de la paroi bactérienne car elles vont inhiber des enzymes indispensables pour sa synthèse, et entraîner par divers processus la destruction de cette paroi et la mort bactérienne. En contrepartie, les bactéries ont acquis des mécanismes de résistance de plus en plus complexes et variés mettant en jeu différentes structures de la paroi bactérienne, afin d'échapper à l'effet bactériostatique et bactéricide de ces antibiotiques (**Gutmann et Williamson, 1987**).

III-2-3-1- Mécanisme de résistance à la méticilline

III-2-3-1-1- Résistance à la méticilline par acquisition du gène *MECA*

Il s'agit d'une résistance acquise par modification de la PLP2 (protéine de liaison à la pénicilline), cible principale de nombreuses bêta lactamines : les souches résistantes expriment une PLP modifiée, la PLP2a, pour laquelle ces antibiotiques ont très peu d'affinité (**Tomasz et al., 1991**). Sa détection *in vitro* vis à vis des pénicilline M nécessite l'emploi de conditions particulières de culture : inoculum lourd, température d'incubation de 30°C, salinité du milieu de culture. L'utilisation des céphamycines permet de contourner ces difficultés (**Felten et al., 2002**).

III-2-3-1-2- Génétique

Le gène *mecA* est porté par un fragment d'ADN additionnel présent chez les SARM et absent chez les souches sensibles, appartenant à la famille des cassettes chromosomiques staphylococcique *mec* (SCC*mec*). Ce sont des éléments mobiles qui outre le gène *mecA* comprennent un ou deux gènes de recombinases permettant l'insertion ou l'excision du chromosome, ainsi que deux gènes de régulation *mecI* et *mecRI* analogue des gènes régulateurs de la pénicillinase *blaI* et *blaRI*. Les gènes *mecI*, *mecA* et *mecRI* forment le complexe *mec* qui peut être complet (complexe de type A) ou tronqué (avec délétion totale de *mecI* et délétion partielle de *mecRI*, complexe de type B) (Ito *et al.*, 2003), Huit types de SCC*mec*, ainsi que de nombreux sous-types et variants, sont actuellement décrits (Oliveira *et al.*, 2002). La régulation de l'expression de *mecA* est assurée essentiellement par *mecI* et *mecRI* quand ils sont présents. En l'absence de gènes fonctionnels, une régulation en trans peut s'établir avec les gènes analogues, régulateurs du gène de la pénicillinase. D'autres éléments accessoires sont également impliqués dans cette régulation (Lowry, 2003).

III-2-3-1-3- BORSA

Cette acronyme pour « Boderline *Staphylococcus aureus* » désigne des souches de sensibilité diminuée à la méticilline mais ne possédant le gène *mecA*. Les mécanismes impliqués peuvent être divers mais le plus fréquemment retrouvé est une hyperproduction de la pénicillinase staphylococcique (Barg *et al.*, 1991).

III-2-3-1-4- MODSA

Les MODSA ou « modified *Staphylococcus aureus* » constituent une sous-catégorie des précédentes. Ce sont des souches de sensibilité diminuée, non seulement à la méticilline, mais également à d'autres bêta-lactamines, par modification des PLP endogènes, en particulier la PLP4, ceci sans hyperproduction de la pénicillinase (Tomasz *et al.*, 1989).

III-3- *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline

A ce jour, cinquante espèces et sous-espèces ont été identifiées au sein du genre *Staphylococcus*. *Staphylococcus aureus* est le plus connu et est fréquemment impliqué dans l'étiologie d'infections et de toxi-infections variées chez l'homme. D'autres espèces de Staphylocoques peuvent cependant causer des infections opportunistes. Ces infections,

souvent nosocomiales, engagent parfois le pronostic vital et requièrent traitement adapté (Fasquelle, 1974).

Staphylococcus aureus résistante à la méticilline est un important agent pathogène nosocomial chez l'homme et est de plus en plus impliqué dans les infections communautaires associées à des personnes. Chez les animaux domestiques, les infections à SARM sont rares, mais sont à la hausse, probablement en raison de l'augmentation de la prévalence de SARM humaine dans la communauté (Weese *et al.*, 2005). La prévalence des SARM dans le monde est très hétérogène et variable : elle varie avec les pays et les régions, avec la période d'étude, les services et les conditions de vie des populations concernées (Touaitia, 2016).

III-3-1- Taxonomie

Du point de vue taxonomique le genre *Staphylococcus* appartient au phylum des Firmicutes (bactérie à Gram positif), à la classe des Bacilli et à l'ordre des Bacillales. Outre les *Staphylococcus* sp., la famille bactérienne des *Staphylococcaceae* comprend quatre genres moins connus, *Gemella*, *Jeotgalicoccus*, *Macrococcus* et *Salinicoccus*. Les espèces phylogénétiquement proches les plus connues sont les membres du genre *Bacillus* dans la famille des *Bacillaceae*, qui sont au même niveau que la famille des *Staphylococcaceae*. Les *Listeriaceae* composent aussi une famille proche. Jusqu'à récemment, le genre *Staphylococcus* était classé au sein du groupe des *Micococcaceae* avec notamment les genres *Micrococcus* et *Stomatococcus*.

Les membres du genre *Staphylococcus* diffèrent cependant de ceux du genre *Micrococcus* entre autres par leur métabolisme anaérobie facultative, par un contenu en G+C compris entre 30 et 39% (contre 63 à 73% pour *Micrococcus*), par leur paroi contenant un peptidoglycane et des acides teichoïques et par la présence de peptide oligoglycine dans les ponts peptidiques de la paroi. Les études génétiques ont permis de reclasser *Micrococcus* au sein du groupe des actinomycètes (Fasquelle, 1974).

III-3-2- Morphologie

S. aureus est de forme sphérique (coque) et se regroupe généralement en amas (Figure n°15). Ces petits amas, souvent qualifiés des grappes de raisin et c'est grâce à l'examen direct que la bactérie a été nommée par Ogston (1884). En effet, son nom dérive du grec « staphyle» qui signifie tout simplement grappe de raisin. Les staphylocoques ont été observés par Robert Koch (1878) en Allemagne, puis reconnus par Louis Pasteur (1880) en France et après une

coloration de Gram, ils se révèlent être des cocci Gram positif, d'environ 0,5 à 1 µm de diamètre. D'un point de vue macroscopique, cette bactérie se caractérise par la pigmentation dorée de ses colonies, justifiant le nom vernaculaire de « staphylocoque doré ». Ces cocci sont immobiles, non sporulés (Mayer-Schol, 2004 ; Robert, 2013).

Comme chez la majorité des bactéries Gram positives, l'enveloppe de *S. aureus* est composée d'une seule membrane plasmique recouverte d'une paroi épaisse riche en peptidoglycane et en acides téichoïques. La plupart des isolats infectieux possèdent également une capsule polysaccharidique externe contenant divers facteurs de virulence et permettant le sérotypage des souches (Accarias, 2014).

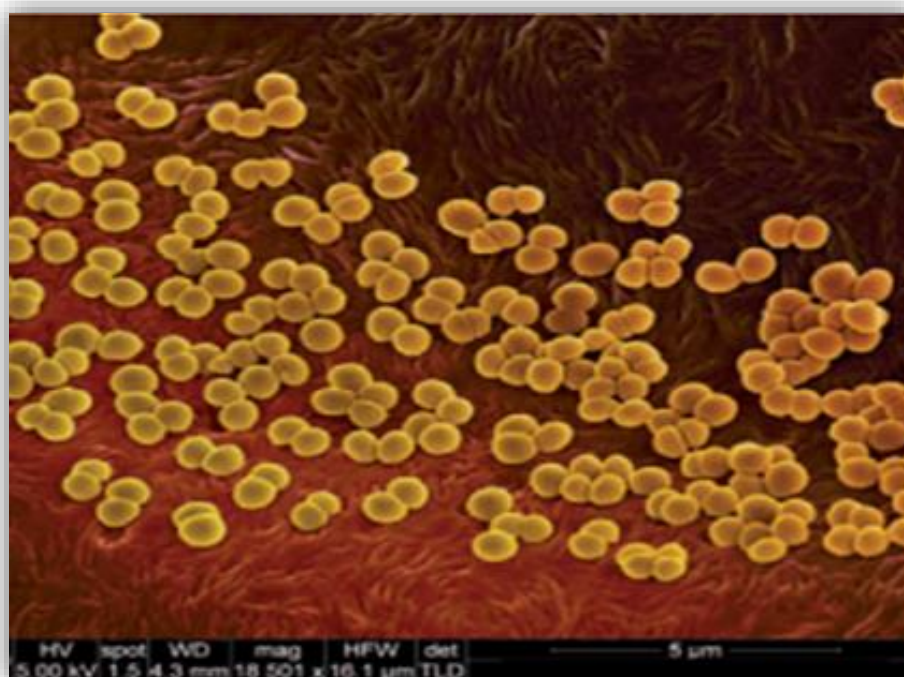


Figure n°15 : Micrographie électronique à balayage colorisée de *S. aureus* résistante à la métiline sur la surface d'un pansement de plaie.

(<http://cellimagelibrary.org/images/40593>).

III-3-3- Situation épidémiologique de SARM dans le monde

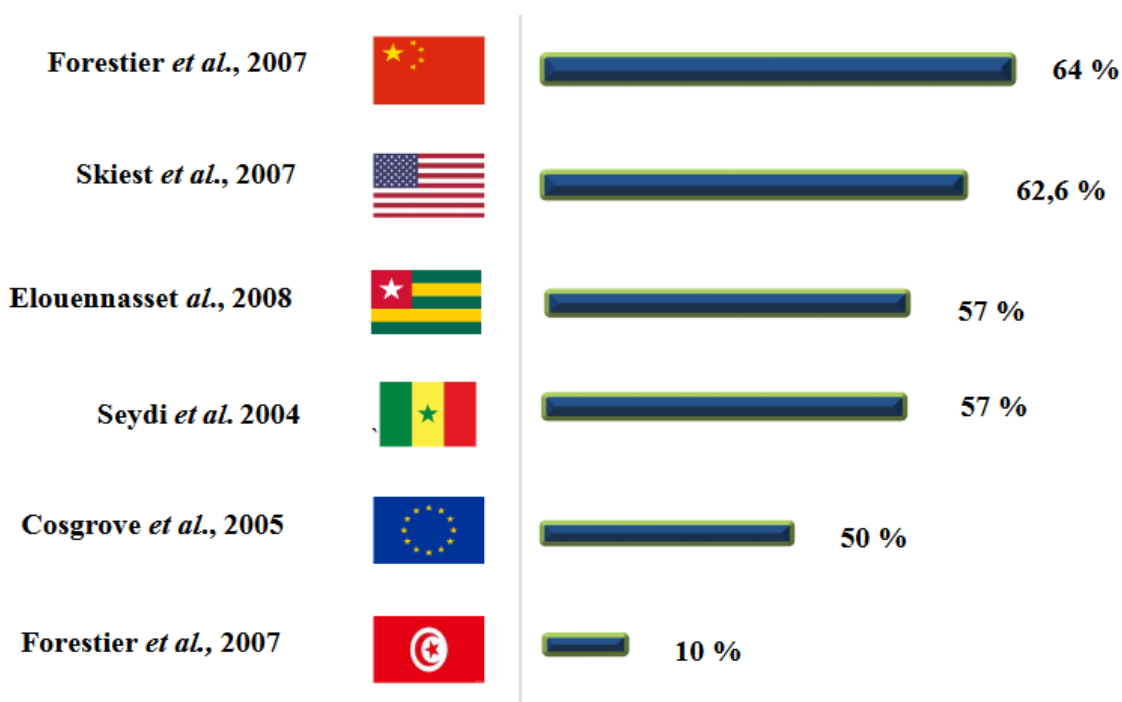


Figure n°16 : Pourcentage de SARM dans le monde.

La situation épidémiologique de SARM dans le monde est en évolution continue selon les données présentées auparavant (figure n°16), la figure n° 17 illustre la carte géographique de la situation mondiale de cette dernière.

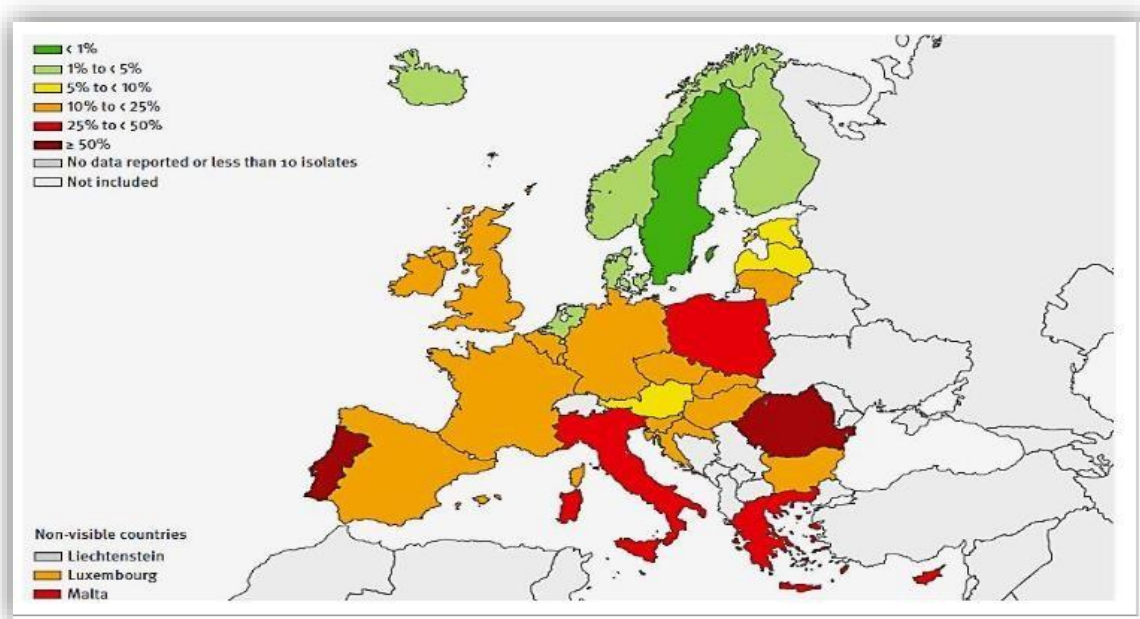


Figure n°17 : Pourcentage de SARM par pays (ECDC., 2012).

III-3-4- Situation épidémiologique en Algérie

Selon le 13^{ème} rapport d'évaluation du réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux ATB (année 2011), l'analyse globale des données concernant l'espèce *Staphylococcus aureus* aboutit à un pourcentage de résistance à l'oxacilline (pourcentage de SARM) de 35,37 % des isolats. Les souches de *S. aureus* isolées en réanimation ont enregistré les taux de résistances les plus élevés à la méticilline (45,74%) suivies des souches multi-résistantes isolées en chirurgie (34%) et en médecine (18,5%). A Oran, le taux de SARM représentait 54 % de l'ensemble des souches de *Staphylococcus aureus* identifiées, en 2010, au niveau des services de réanimation adulte de l'EHUO (**Dali-Yahia et al., 2010 ; AARN, 2011**).

III-3-5- Mécanismes de diffusion des souches de SARM

III-3-5-1- Source de contamination

S. aureus est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux qui semblent constituer le principal réservoir de ce germe (**Breche et al., 1988**). 30 à 50% des adultes sains sont colonisés, avec 10 à 20% de porteurs chroniques. Éliminé dans le milieu extérieur cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement. L'homme serait la principale source de SARM pour l'animal, mais ce dernier peut être ensuite une source de contamination pour l'homme (**Guardabassi et al., 2004**).

III-3-5-2- Colonisation et infection

Le caractère ubiquitaire des staphylocoques et leur virulence particulière expliquent la grande fréquence des staphylocoques tant en pathologie communautaire que nosocomiale. La porte d'entrée est surtout cutanée (plaie, excoriation, point de pénétration d'un cathéter), plus rarement muqueuse. L'infection peut toucher de nombreux sites. Les infections les plus fréquentes sont les infections de plaies et de cathéters, les bactériémies, les infections urinaires, de la peau et des tissus mous, ainsi que les pneumonies (**Gillet et al., 2001**). La présence de SARM ne signifie pas systématiquement qu'il y a infection (cela ne peut être qu'une simple colonisation). La colonisation touche avant tout le nez, plus rarement le périnée et le pharynx. Ces patients colonisés constituent un réservoir de SARM très important, ceci est d'autant plus que la quantité de bactéries dont ils sont porteurs est grande (**Loulergue et Tourret, 2003**).

III-3-5-4- Mesures d'hygiène face au SARM

Le tableau suivant indique les principales mesures d'hygiènes face au SARM (tableau n°3)

Tableau n°3 : mesures d'hygiène face aux SARM (Leonard *et al.*, 2006 ; Lloyd *et al.*, 2007).

Critères	Mesures de contrôle	Commentaires
Eviter l'introduction de l'infection	Détecter les animaux porteurs (portage nasal) ou infectés hospitalisés, et isoler l'animal en attente d'un résultat négatif.	
Eviter la transmission d'un animal à l'homme ou de l'homme à l'animal	Hygiène des mains: <ul style="list-style-type: none"> • Lavage des mains correct à base d'une solution alcoolique. • Couvrir les blessures et les lésions de la peau. • Utiliser des gants, des masques, des protections oculaires et un matériel de décontamination des plaies à usage unique. • Asepsie chirurgicale stricte. • Dépister les SARM sur le personnel soignant. 	Mesure les plus importantes car une mauvaise hygiène des mains est le vecteur principal de contamination
Eviter la transmission d'un animal à un autre	Isoler tous les animaux suspects : <ul style="list-style-type: none"> • Ne pas les faire transiter dans la salle d'attente. • Hospitalisation dans un local «contagieux » 	Limites imposées par les structures hospitalières
Eviter la transmission indirect	Mesures strictes de nettoyage et désinfection : <ul style="list-style-type: none"> • De toutes les surfaces de contacts, y compris les portes, les stylos, les stéthoscopes. 	La transmission à partir de l'environnement pourrait être de plus grande importance qu'en médecine humaine (plus précisément en médecine équine.



Partie expérimentale



Matériel et méthodes

IV-1- Matériel végétal

IV-1-1- Récolte

Artemisia herba alba a été récoltée à sa période de végétation en mois de décembre 2018 aux alentours d'une région, située à 10 Km loin de la commune Meridja, qui est située au nord-ouest de la wilaya de Béchar (**figure n°18**). Dans cette région caractérisée par un climat désertique, les populations d'*Artemisia herba alba* sont relativement abondantes. Les températures annuelles moyennes sont de 20.5 °C et les précipitations annuelles moyennes sont de 95 mm. Les coordonnées géographiques sont présentées ci-dessous (**tableau n°4**).

Tableau n°4 : Cordonnés géographiques de la récolte de la plante.

Nom scientifique	Région	Cordonnées géographiques	Date de récolte
<i>Artemisia herba alba</i>	Commune de Meridja (Béchar)	<p>Altitude : 31.521 m</p> <p>Longitude : 2°35'37".0"W</p> <p>Latitude : 31°30'43.8"N</p>	21 Décembre 2018



Figure n°18 : l'Armoise blanche de Meridja, Béchar.

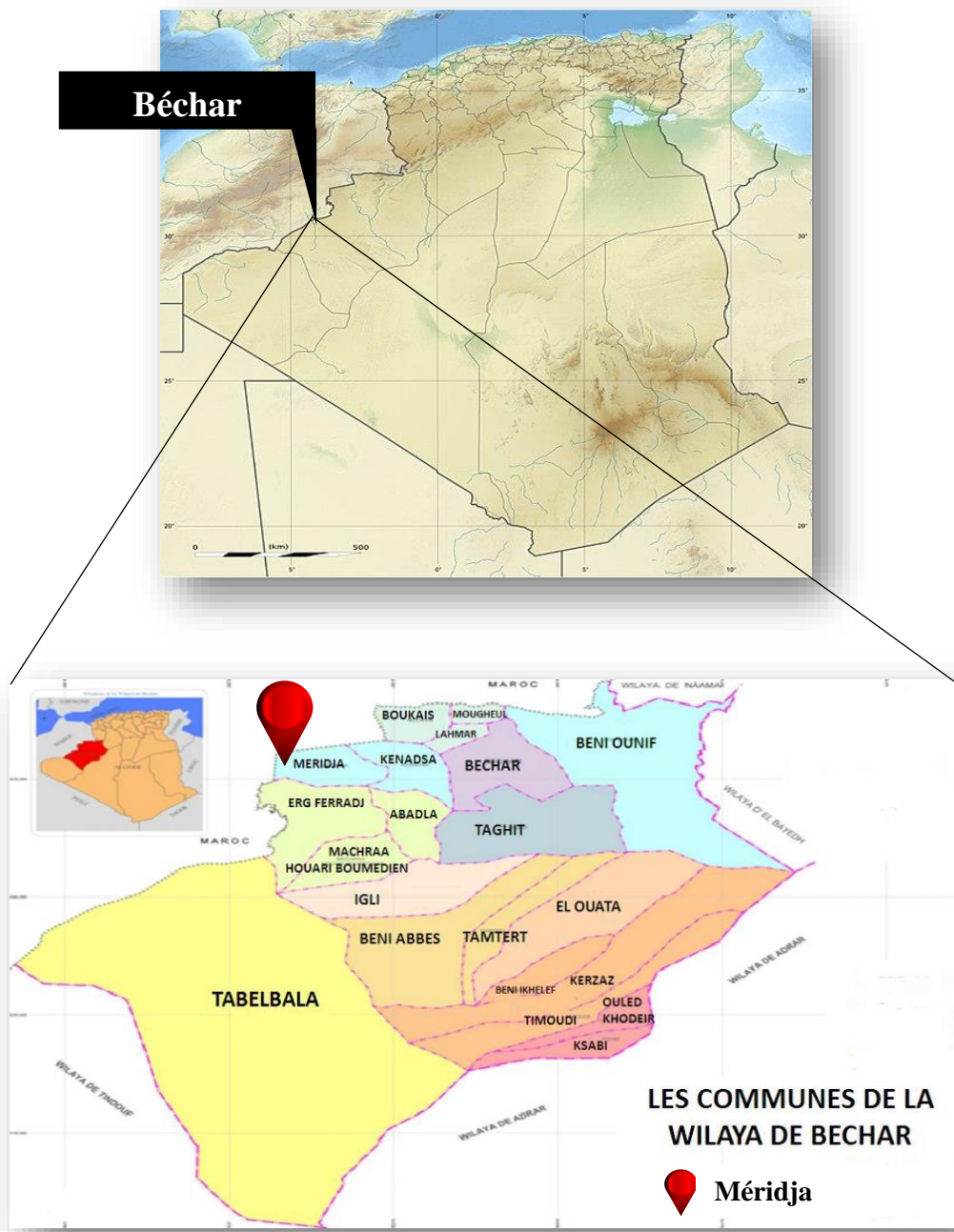


Figure n°19 : Situation géographique de la région de Béchar montrant la station de récolte d'*Artemisia herba alba*.

IV-1-2- Séchage

Le matériel végétal a été par la suite lavé et mis à sécher à l'ombre dans un endroit sec à l'abri du soleil, aéré et à une température ambiante qui ne dépassent pas 40°C pendant 2 semaines afin de ne pas altérer la teneur en huile essentielle, préserver au maximum

l'intégrité de sa composition chimique, et la couleur des feuilles pendant 15 jours (**Gseyra, 2006**). Et ensuite broyer et garder la poudre à sec pour effectuer les différents tests.

IV-1-3- Détermination du taux d'humidité

Le contenu en humidité de la plante a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve. Une quantité de feuilles fraîches d'une masse de 5g a été exposée à une température de 105°C dans une étuve jusqu'à l'obtention d'un poids constant (**Twidwell et al., 2002 ; Bourkhiss et al., 2009**). Le taux d'humidité est calculé par la formule suivante :

$$H\% = \frac{(\text{poids } \alpha - \text{poids } \beta)}{\text{poids } \alpha} \times 100$$

Considérons :

- ✚ α : Poids de l'échantillon (plante fraîche) en gramme ;
- ✚ β : Poids de l'échantillon (plante sèche) en gramme;
- ✚ $H\%$: Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

IV-1-4- Recherche phytochimique

IV-1-4-1- Principe

La recherche phytochimique est un ensemble des méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante. Il s'agira de caractériser les groupes chimiques qui permettront d'expliquer les effets thérapeutiques des plantes testées (**Guessan et al., 2009**). Le principe est soit basé sur la formation de complexes insolubles en utilisant les réactions de précipitation ou de coloration, soit sur la formation de complexes colorés (conjugaison ou insaturation dans une molécule). Les tests de caractérisations chimiques ont été réalisés sur la poudre préalablement préparées à partir des organes de la plante à l'aide des réactifs de caractérisation. Cependant, cette étude a pour objectif de déterminer les molécules bioactives existantes dans cette plante par le biais d'un screening phytochimique, en utilisant des réactions de coloration/précipitation. Ce travail permet donc de déterminer la richesse de cette espèce en métabolites secondaires, afin de la valoriser et de l'exploiter dans divers domaines en particulier médicaux et cosmétique (**El-Haoud et al.,**

2018), en se référant aux tests décrits dans les travaux de **Sofowora (1993)**, **Bruneton (1993)**, et **Trease et Evans (2002)**.

IV-1-4-2- Préparation des extraits

Les extraits utilisés au cours de notre étude sont préparés selon le mode d'extraction en macération, La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante (**Lagnika, 2005**). Les extraits préparés sont : l'extrait aqueux, l'extrait méthanolique et l'extrait éthérique.

✚ L'extrait aqueux

La préparation de l'extrait aqueux consiste à faire infuser 5g de poudre végétale dans 100ml d'eau distillée bouillante pendant 15 minutes, l'infusé est filtré et rincé avec de l'eau chaude de manière à obtenir 100ml d'extrait aqueux (**El-Haoud et al., 2018**).

✚ L'extrait éthérique

Il est préparé à partir d'une macération de 24H d'un gramme de poudre végétale dans 20 ml d'éther diéthylique, le mélange est ensuite filtré et complété avec de l'étherdiéthylique jusqu'à 20ml (**Daira et al., 2016**).

✚ L'extrait méthanolique

5g de la matière végétale sont macérées dans 60ml de méthanol pendant 24H à température ambiante, le mélange est ensuite filtré et complété avec du méthanol absolu à 60ml (**El-Haoud et al., 2018**).

IV-1-4-3- Analyses phytochimiques sur l'extrait aqueux :

i. Les Alcaloïdes

250ml de l'extrait aqueux sont traités avec 50ml d'acide sulfuriques (H_2SO_4) à 10%, une macération de 24H à température ambiante est ensuite effectuée, le mélange est filtré et lavé à l'eau distillée afin d'obtenir 50ml de filtrat. La solution aqueuse acide préparée auparavant est divisé en trois tubes, le premier tube est additionné avec quelques gouttes du réactif de Mayer, le deuxième avec le réactif de Wagner et le troisième est considéré comme témoin. La

présence d'alcaloïdes est distinguée par la formation d'un précipité de couleur blanc-jaunâtre pour la première réaction et brun pour la deuxième.

ii. Polyphénols

Caractérisation

a- Tanins

5ml de l'extrait aqueux sont prélevés et introduits dans un tube à essai auquel 1 ml d'une solution aqueuse diluée de chlorure de fer (III) (FeCl_3) à 1% est ajouté. Le résultat positif est distingué par l'apparition d'une coloration verdâtre ou bleu noirâtre. La différenciation des tanins consiste à introduire 30ml de la solution à analyser dans un erlenmeyer de 50ml auquel 15ml de réactif de Stiasny sont ajoutés. Le mélange est chauffé au bain marie à 90°C pendant 15 min, la formation d'un précipité rose révèle la présence de tanins catéchiques. Le mélange est ensuite filtré et saturé avec 5g de d'acétate de sodium, 1 ml d'une solution de chlorure de fer (III) (FeCl_3) à 1% est ajouté à ce dernier, l'apparition d'une coloration bleu-noire indique la présence de tanins galliques.

b- Flavonoïdes :

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux (**Middleton *et al.*, 1993**), plusieurs tests ont été réalisés pour la mise en évidence des différents types de flavonoïdes comme suit : La caractérisation des flavonoïdes est réalisée grâce à la réaction de cyanidine. Pour se faire 5ml d'infusé sont introduits dans un tube à essais, ensuite 5 ml d'alcool chlorhydrique (alcool à 95° , eau distillée, HCl concentré à parties égales en volume de 5 ml) et 1ml d'alcool isoamylique sont ajoutés, puis quelques copeaux de magnésium sont additionnés. La formation des colorations suivantes conclut les résultats suivants : Rose orangée (flavones), rose violacée (flavanones) ou rouge (flavonols, flavanolols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique (génines).

c- Anthocyanes

5ml de l'extrait aqueux sont prélevés et introduits dans un tube à essais auquel 5ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) à 10% et 5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) à 50% sont ajoutés. Le mélange est laissé au repos un instant, un test positif est révélé par une coloration bleu violacé en milieu basique.

d- Leucoanthocyanes

La mise en évidence des leucoanthocyanes est effectuée par la réaction de la cyanidine sans l'ajout de copeaux de magnésium, et avec une mise en chauffage au bain-marie pendant 15 minutes. La formation d'une coloration rouge cerise ou violacée révèle un résultat positif, la présence des catéchols est révélée par l'apparition d'une teinte brune-rouge.

iii. Composés réducteurs

5ml de l'extrait aqueux sont évaporés à sec dans un bécher au bain-marie, le résidu est traité avec 1ml de réactif de Fehling (0,5ml réactif A plus 0,5ml réactif B), un résultat positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique.

iv. Saponosides

La caractérisation des saponosides est faite par la préparation d'un décocté à 1%. Pour se faire 1 g de poudre végétale est introduite dans un erlenmeyer de 250 ml contenant 100 ml d'eau distillée bouillante. Le mélange est maintenu en ébullition modérée pendant 15 minutes, après un instant de refroidissement, la suspension est filtrée et complétée à 100ml. Ensuite, des volumes allant de 1 à 10 ml de décocté à 1% sont introduits successivement dans une série de 10 tubes à essais. 10ml d'eau distillée est introduite dans chaque tube à essais ; puis est agité pendant 15 minutes à raison de 2 agitations par seconde, la hauteur du mousse supérieur à 1cm indique la présence des saponosides, et permet également le calcul de l'indice de mousse comme suit :

$$\text{IDM} = \frac{1000}{N}$$

✚ IDM : Indice de mousse ;

✚ N : numéro de tube dont la hauteur de mousse est supérieure à 1cm.

IV- 1-4-4- Analyses phytochimiques sur l'extrait méthanolique

i. Hétérosides

10ml de l'extrait méthanolique sont introduits dans un bécher et évaporés au bain-marie jusqu'à sec, le résidu est repris avec 0,5ml d'anhydride acétique ($C_4H_6O_3$) et 0,5ml de

chloroforme (CHCl_3). La solution est partagée en deux tubes à essais, l'un des deux tubes sert de témoin et l'autre est traité avec 1 à 2ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4). La formation d'un anneau rouge-brun dans la zone de contact des deux liquides plus le changement de couleur de la couche surnageant indique la présence des hétérosides ;

- Couche surnageant verte : hétérosides stérolique.
- Couche surnageant violette : hétéroside tritérpenique.

ii. Terpénoïde (test de SLAKOWSKI)

1ml de l'extrait méthanolique est traité avec 0,5ml de chloroforme (CHCl_3) et 0,6ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4), il se développe en présence de terpénoïde un anneau marron à l'interphase.

IV- 1-4-5- Analyses phytochimiques sur l'extrait éthérique

i. Coumarine

Le test de la mise en évidence des coumarines consiste à faire évaporer 5ml de l'extrait éthérique à sec, le résidu est ensuite traité avec 2ml d'eau chaude. La solution est partagée en deux tubes à essais, dans le premier tube 0,5ml d'ammoniaque (NH_4OH) à 25% est ajouté, le deuxième tube sert de témoin. Une observation de la fluorescence du premier tube sous une lampe UV à 265 ou 365 nm est effectuée, la présence d'une fluorescence intense d'une couleur bleu verdâtre indique la présence des coumarines.

ii. Stérols et triterpènes

10ml de l'extrait éthérique sont introduits dans un bécher et évaporés à sec au bain-marie, le résidu est dissous dans 1ml d'anhydride acétique ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$), puis avec 1ml de chloroforme (CHCl_3), la solution est partagée dans deux tubes à essais ; l'un des deux tubes sert de témoin, l'autre est additionné avec 1 à 2ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4). La formation d'un anneau rouge brunâtre et la couche surnageante devenant verte ou violette indique la présence des stérols et triterpènes.

IV-2- Huiles essentielles

IV-2-1- Procédé d'extraction

L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a été isolée de toute la partie aérienne la plante par la méthode d'hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger.

➤ Description du dispositif d'extraction

L'appareil utilisé pour l'hydrodistillation est de type Clevenger, il est constitué d'un chauffe ballon qui permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon. Celui-ci est en général en verre pyrex dans lequel on place le matériel végétal sec et l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) qui vient de l'échauffement du ballon et un collecteur qui reçoit les produits de la distillation (Mengal et Mompon, 1994), (Figure n° 20).

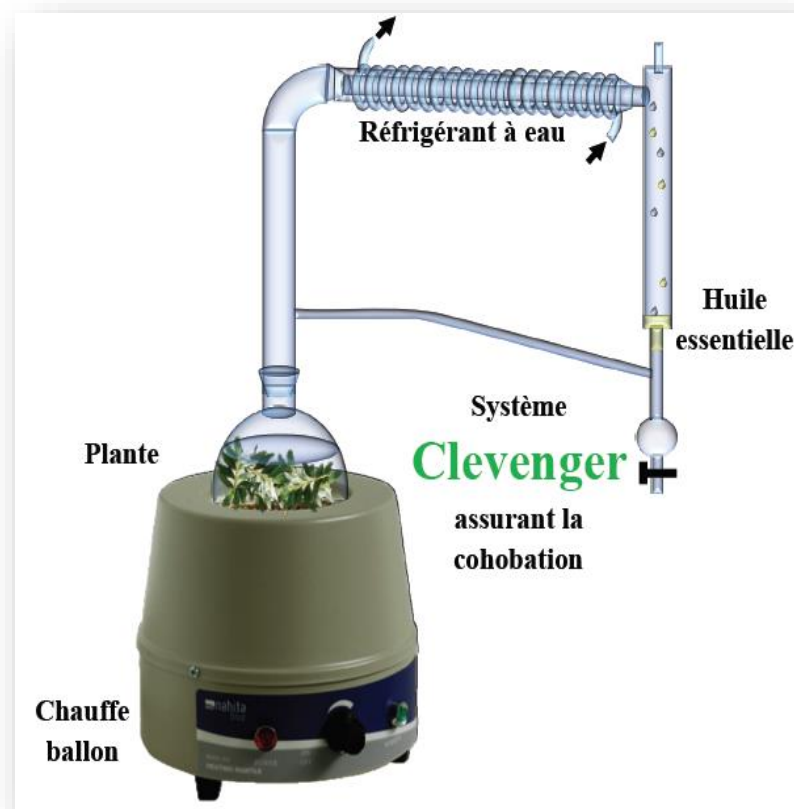


Figure n° 20 : Schéma du montage d'hydrodistillation (Clevenger)

(Mengal et Mompon, 1994)

IV-2-2- Méthode d'extraction

L'extraction de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* consiste à introduire 300g de matériel végétal sec (séché pendant 48 h à l'étuve à 60 °C) avec 1 litre d'eau distillée dans un ballon de 2 litres surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant.

L'ensemble est porté à ébullition pendant 3 heures à l'aide d'un chauffe ballon. L'huile essentielle est alors entraînée à la vapeur d'eau, cette dernière est chargée d'huile essentielle, traversent le réfrigérant et ensuite se condense en passant par le condensateur ainsi avant de chuter dans une ampoule de décantation, l'huile se sépare par la suite de l'eau par différence de densité. L'huile essentielle obtenue est ensuite conservée au réfrigérateur à une température de 4°C dans un tube en verre opaque et fermé hermétiquement à l'obscurité afin de le préserver de l'air et de la lumière jusqu'à son usage.

IV-2-3- Calcul du rendement

Le calcul du rendement en huiles essentielles est estimé par le rapport entre la masse d'huile essentielle recueillie après extraction et la masse de la matière végétale sèche, il est exprimé en pourcentage (%) (Carre, 1953). Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$R = (MHE / MVS) \times 100$$

- ✚ **R** : rendement de l'huile essentielle en % ;
- ✚ **MHE** : masse de l'huile essentielle en gramme ;
- ✚ **MVS** : masse de la matière végétale sèche en gramme.

IV-2-4- Mesure du pH

L'utilisation de la méthode de papier pH afin de déterminer le pH de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*, un morceau de papier pH d'environ 1cm de long est trempé dans l'HEs, ensuite attendre un moment, puis une comparaison de la couleur prise par le papier pH avec l'échelle de teinte.

IV-3- Procédé d'étude microbiologique :

IV-3-1- Souches bactériennes testées

Pour mettre en évidence la capacité antibactérienne d'huile essentielle, trois souches microbiennes ont été testés lors de cette étude, dont une souche référence de type ATCC 6538 (American Type Culture Collection) provient de l'institut Pasteur d'Alger, la deuxième est isolée d'une plaie superficielle cutanée, et la troisième provient d'un ECBU.

Tableau n° 5 : Liste des souches bactériennes testées

Famille	Souche	Gram	Source
Staphylococcaceae	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	Positive	Institut Pasteur d'Alger.
	<i>S. aureus</i> isolés de la plaie superficielle cutanée	Positive	Laboratoire vétérinaire de Mamèche, Mostaganem.
	<i>S. aureus</i> (ECBU)	Positive	Hôpital Boudiaf, Béchar.

IV-3-2- Milieux de cultures utilisés

Les différents milieux de cultures utilisés dans ce présent travail pour la réalisation des différentes analyses microbiologiques sont illustrés dans le **tableau n°6** :

Tableau n° 6 : Milieux de cultures utilisés.

Milieux de culture liquide	Milieux de culture solide
Bouillon nutritif (B.N)	Gélose nutritive (GN)
Bouillon Mueller Hinton (B. MH)	Gélose Chapman
	Gélose Mueller Hinton (MH)
	Gélose Viande-Foie (VF).

IV-3-3- Préparation de l'inoculum bactérien

Les souches bactériennes ont été conservées sur Gélose nutritive en tubes inclinés à 4°C. La préparation de l'inoculum consiste à prélever les souches conservées auparavant et les inoculer dans 5ml de Bouillon nutritif, ces dernières sont incubées par la suite à 37°C pendant 24h. Dans le but de purifier les *Staphylocoques*, chaque culture doit être ensemencée en stries sur une gélose (gélose nutritive et milieu Chapman), et incubée à 37°C pendant 24h, afin de déterminer la viabilité de chaque souche avant son utilisation. Après une incubation de 24h à une température de 37°C, 4 à 5 colonies bien isolées avec une anse ont été transférées dans un tube de solution salée stérile (eau physiologique à 0.9%) ou dans un bouillon non sélectif (bouillon de Mueller-Hinton). La culture obtenue doit être de densité optique 0.08-0.1 qui est l'équivalent de 10^8 UFC/ml à 625 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (**Haddouchi et al., 2009**).

IV-3-4- Identifications

IV-3-4-1- Examen macroscopique

L'observation macroscopique consiste à décrire l'aspect des colonies, obtenues sur milieu solide, ainsi que la taille, le contour, la pigmentation, la consistance. L'étude de l'aspect des colonies nécessite une observation à l'œil nu, en lumière naturelle ou artificielle.

IV-3-4-2- Examen microscopique

L'observation microscopique, permet d'étudier l'aspect morphologique des cellules d'une espèce microbienne au grossissement (Grossissement x1000). Elle comprend l'examen à l'état frais (examen entre lame et lamelle des bactéries vivantes) et l'examen après coloration, le plus souvent sur frottis séchés et fixés (coloration de Gram).

IV-3-4-2-1- Examen à l'état frais

L'examen à l'état frais permet l'observation des bactéries vivantes. Ceci permet de mettre en évidence leur mobilité, leur mode de groupement, et faire une approche de leur morphologie.

IV-3-4-2-2- Coloration de Gram

La coloration de Gram doit son nom au bactériologiste danois **Hans Christian Gram** qui a mis au point le protocole en 1884. C'est une coloration qui permet de mettre en évidence les

propriétés de la paroi bactérienne (forme bacille ou coque), et distinguer deux types de bactéries, les bactéries Gram négatifs (G-) et les bactéries Gram positives (G+). Celles-ci diffèrent par la composition de leur paroi, notamment par l'épaisseur du peptidoglycane, ou la présence d'une membrane externe (**Larpent, 1990**). Les bactéries à Gram + apparaissent en violet, et les bactéries à Gram – apparaissent en rose.

IV-3-4-3- Identification biochimique

IV-3-4-3-1- Mise en évidence du type respiratoire

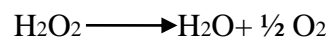
La détermination du type respiratoire (ou type énergétique) d'une bactérie consiste en la détermination du rapport qu'a cette bactérie avec l'oxygène. Les bactéries ont des besoins respiratoires spécifiques, elles sont soit :

- ✚ Des bactéries aérobies strictes : Bactéries ayant besoin d'oxygène pour leur respiration.
- ✚ Des bactéries anaérobies strictes : La présence de l'oxygène est toxique pour ces bactéries.
- ✚ Des bactéries aéro-anaérobies facultatives : La présence de l'oxygène est facultative, elles peuvent se développer en présence ou en absence d'oxygène.
- ✚ Des bactéries micro-aérophiles : Bactéries se développent sous une faible pression d'oxygène.
- ✚ Des bactéries anaérobies aéro-tolérantes : Bactéries se développent en absence d'oxygène mais elles tolèrent la présence de ce dernier dans le milieu (**Delarras, 2007 ; Joffin et Leyrol, 2006**).

La mise en évidence expérimentale de ces cinq types respiratoires est réalisée par l'ensemencement des souches sur la gélose viande-foie (gélose VF) par pique centrale jusqu'au fond puis on remonte en décrivant une spirale.

IV-3-4-3-2- Test catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, en H₂O et ½ O₂ (dégagement de gaz), selon la réaction suivante :



Ce test permet de différencier les *staphylocoques* des *streptocoques*. Pour se faire une petite quantité de culture bactérienne est prélevée du haut des colonies à l'aide d'une anse, puis placée sur une lame, et à l'aide d'une pipette Pasteur quelques gouttes de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) sont ajoutées. Une réaction positive se traduit par le dégagement de bulles de gaz (oxygène).

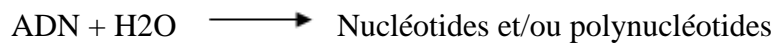
IV-3-4-4- Test de la Staphylocoagulase

Le plasma humain est utilisé pour la détection de la coagulase libre produite par *Staphylococcus aureus*. La coagulase est une protéine de 60kDa qui se fixe avec la prothrombine sur un site de liaison situé en N-terminal. Elle forme avec la prothrombine un complexe nommé staphylothrombine. Ce complexe va induire une polymérisation du fibrinogène en fibrine et ainsi la formation d'un thrombus (**Robert, 2013**). On utilise le test de la coagulase en tube comme marqueur de l'identification de *S. aureus* en routine dans les services de biologie. Ce test consiste à incuber à 37°C, un mélange de la souche à tester (0,5 ml) et du plasma de l'homme (0,5 ml) puis incuber à 37°C pendant 1h à 2h voire 24h. Un témoin négatif est préparé en mélangeant le bouillon nutritif au plasma de l'homme.

Si la bactérie détient une coagulase, alors on voit apparaître un caillot en inclinant le tube. Le plasma est resté pris en masse au fond du tube (**Verdier et al., 2007**).

IV-3-4-5- Test de la DNase (Désoxyribonucléase)

Certaines bactéries sont capables d'hydrolyser l'acide désoxyribonucléique grâce à une enzyme : la DNase. La mise en évidence chez *Staphylococcus* d'une DNase thermostable suffit à l'identification de l'espèce *aureus*. La réaction catalysée est la suivante :



Une enzyme coupe les acides désoxyribonucléiques (ADN) en nucléotides ou polynucléotides en hydrolysant les liaisons phosphodiester. La thermonucléase est caractéristique des souches de *S. aureus* (ainsi que deux autres staphylocoques à coagulase positive) et elle n'est pas détruite à des températures élevées (15 minutes à 100°) (**Delarasse, 2007**).

Les deux réactifs utilisés pour la recherche d'une DNase sont :

- L'acide chlorhydrique HCl 1mol/dm³, qui précipite les molécules d'ADN combinées à des protéines.

- Le bleu de toluidine qui se colore en rose en présence des composés d'hydrolyse de l'ADN.

✚ La première technique à l'acide chlorhydrique, est effectuée par l'ensemencement des bactéries en strie à la surface de la gélose, ensuite incubé à 37°C jusqu'à obtention d'une culture suffisante, en générale le temps est 24 h. Après l'incubation, on inonde la surface du milieu avec quelques millilitres d'HCl, on réaspire l'excès, et attendre 10 à 15 min.

La lecture se fait sur un fond noir. Lorsque l'ADN est hydrolysé, un halo clair est visible au pourtour de la strie, alors que l'ADN, sous l'action de l'acide, est à l'origine d'un précipité blanchâtre.

✚ La seconde Technique au bleu de toluidine, A partir d'une culture en bouillon cœur cerveau, on place un aliquote de la culture puis agitée de 24h au bain marie à 100°C, puis on perce le milieu de cupules à l'aide d'un emporte-pièce ou d'une pipette Pasteur, on prélève une goutte de bouillon bouilli et la mettre dans une cupule et faire de même avec une goutte de bouillon non chauffé. Ensuite on inncube durant 4h à 37°C et faire une première lecture puis une deuxième à 24h. Après incubation, l'apparition d'une couleur rose indique l'absence d'ADN donc DNase +, par contre, il se forme en présence d'ADN une couleur bleu ce qui révèle un résultat négatif (DNase-).

IV-3-4-6- Antibiogramme

L'antibiogramme a été réalisé par la technique de diffusion sur milieu gélosé selon les normes préconisées par le *Clinical Laboratory Standard institute (CLSI)*, et qui permet de déterminer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

A partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures développée sur milieu Chapman, une colonie est repiquée dans 10ml de bouillon MH. La densité optique de l'inoculum est mesurée et doit être entre 0,08 et 0,1 à 625 nm par l'utilisation d'un spectromètre (**figure n°21**) équivalente à 10⁸UFC /ml (0,5 Mc Farland).

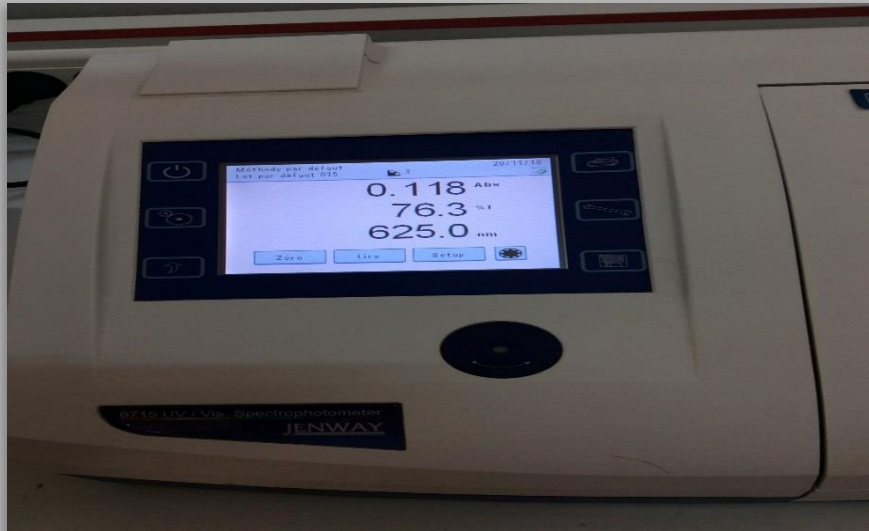


Figure n°21 : Mesure de la DO., de la suspension bactérienne.

Ensuite les boîtes de pétri sont coulés au préalable avec du milieu MH., auquel un ensemencement par écouvillonnage est effectué, laisser sécher de 10 à 15 minutes à une température ambiante (**Denis *et al.*, 2011**).

Des disques d'antibiotiques (**tableau n°7**) sont appliqués à l'aide d'une pince stérile en appuyant légèrement selon la standardisation nationale de l'antibiogramme en médecine humaine et vétérinaire de l'année 2011 et le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (2019) (**Amari *et al.*, 2012**). L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures (**figure n°22**).

La lecture se fait par la mesure du diamètre des zones d'inhibition, la détermination du diamètre est réalisée sur le fond de la boîte de pétri fermée. Les résultats obtenus sont comparés aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes, afin de classer la bactérie dans l'une des catégories suivantes ; sensible (S), résistante (R) ou intermédiaire (I).

Tableau n°7 : Antibiotiques utilisés pour la réalisation de l'antibiogramme (Amari *et al.*, 2012).

Famille	Antibiotiques	Abréviation	Charge de disque en µg
Pénicillines	Ampicilline	AM	10
	Oxacilline	OX	1
Aminosides	Amikacine	AK	30
	Tobramycine	TOB-TMN	10
	Gentamicine	CN	30
Céphalosporines	Céfazoline	KZ	30
Macrolides	Erythromycine	E	15

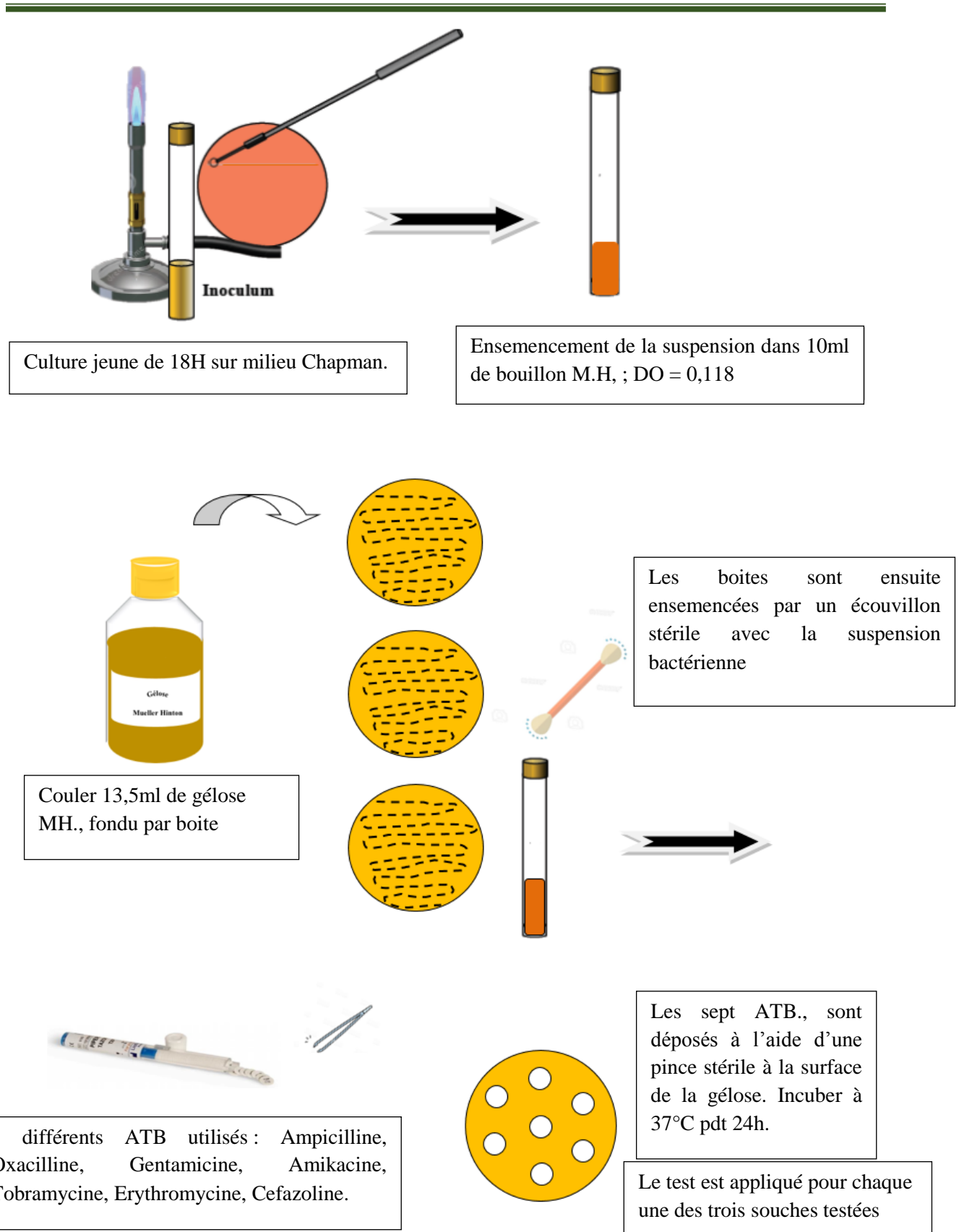


Figure n° 22 : Schéma de l'antibiogramme

IV-3-4-7- Test à l'oxacilline

Ce test permet de détecter la résistance des *staphylocoques* à l'oxacilline et se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme.

Pour se faire, repiqué à partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures développées sur milieu Chapman, une colonie dans 10ml de bouillon MH. La densité optique de l'inoculum est mesurée et doit être entre 0,08 et 0,1 à 625 nm. Après 15 minutes, tremper un écouvillon de dons, presser sur la paroi du tube pour enlever l'excès, puis étaler à trois reprises sur la surface entière de la gélose M.H préalablement coulé, en tournant la boîte après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum, après cela, des disques d'ATB d'oxacilline sont appliqué à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 18H. Les résultats positifs sont exprimés par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques d'ATB. La mesure de diamètre de la zone révèle la sensibilité ou la résistance de la souche testée.

IV-3-4-8- Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* (Technique d'aromatogramme)

L'aromatogramme est un test de laboratoire qui permet aux phytothérapeutes d'analyser in vitro l'activité antibactérienne des huiles essentielles capables de détruire les germes pathogènes (Belaiche, 1979), suivant la méthode de Vincent qui repose sur le principe de l'antibiogramme (NCCLS, 1997). Des disques stériles de papier Wattman de 6 mm de diamètre, contenant 15 µl d'huile essentielles d'*Artemisia herba alba*, sont déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface du milieu gélosé MH, préalablement ensemencé avec 100 µl de suspension microbienne dont la turbidité a été ajustée à 10⁸UFC/ml (Haddouchi *et al.*, 2009). Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 1H avant d'être incubées à 37°C pendant 24H. Les essais sont effectués en triple. Le diamètre de la zone d'inhibition formée autour de chaque disque détermine L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (figure n°23). L'importance des diamètres des zones reflète l'impact de l'huile essentielle sur la souche cible.

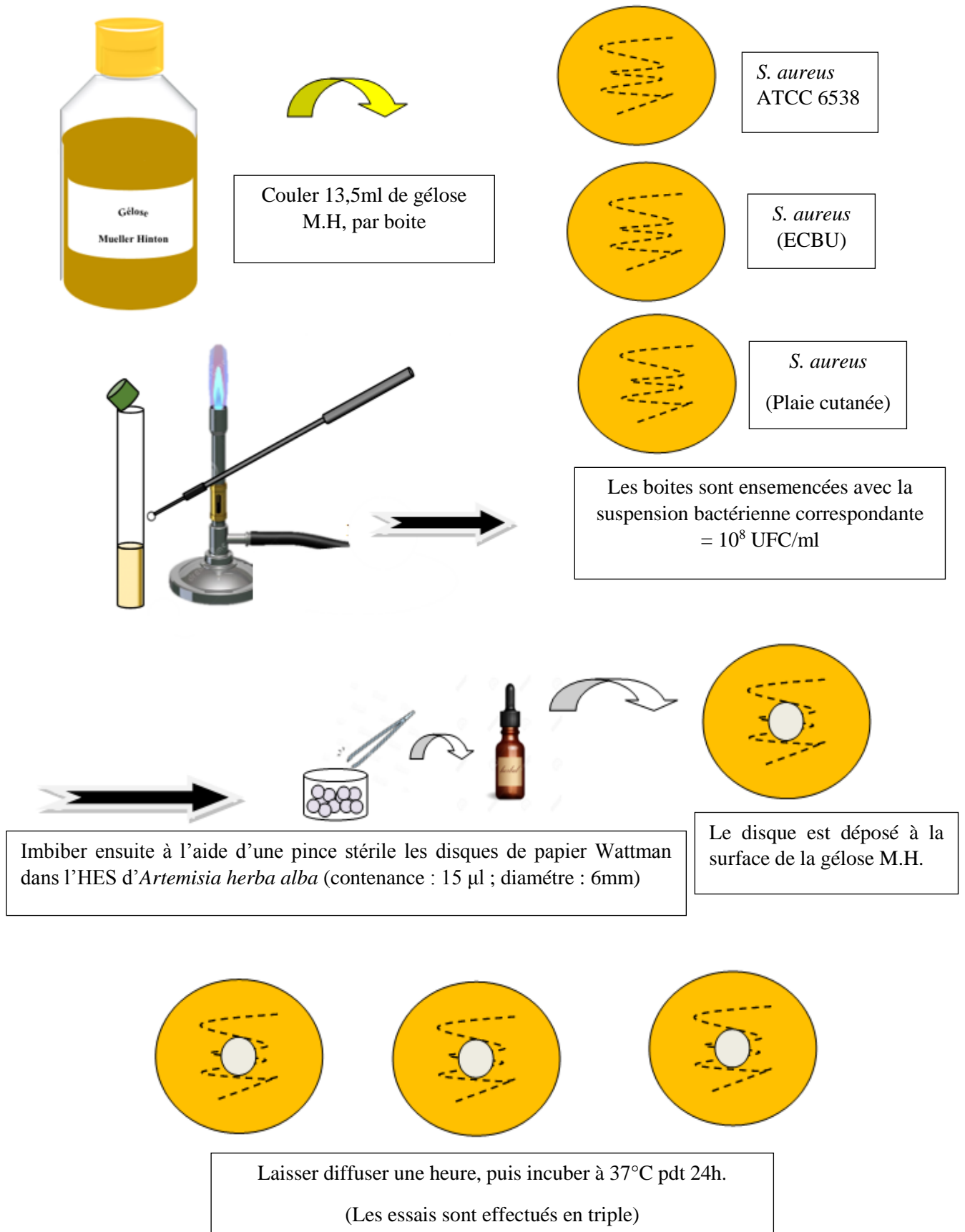


Figure n° 23: Schéma de l'aromatogramme

IV-3-4-9- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

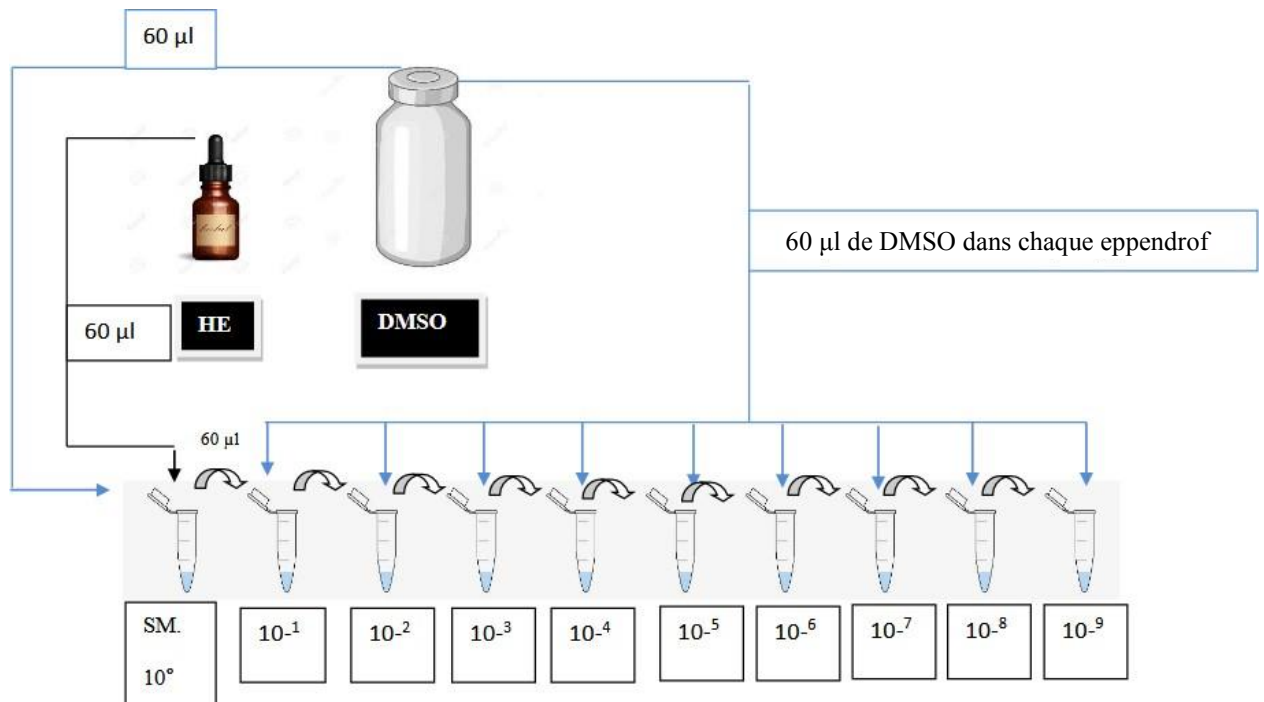
La CMI est définie comme étant la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance microbienne de 90% (Skandamis et Nychas, 2001), sa détermination a été réalisée sur microplaque à fond en U.

Pour se faire, 60 µl d'huile essentielle est émulsionné avec 60 µl de DMSO, afin de disperser les composés d'HES et d'améliorer leur contact avec les germes testés pour l'obtention de la solution mère. Réaliser à partir de la solution mère les dilutions décimales de raison de 2, sachant que le volume initiale est de 10 µl (5%), on obtient alors des concentrations intermédiaires allant de 5% à 0,013%, ensuite les dilutions d'HES sont répartis dans chaque puit à raison de 10 µl par cupule. Préparer à partir d'une culture pure de bactérie en phase exponentielle, une suspension de la souche a étudié dans 10ml de bouillon MH stérile, la suspension est ajustée à une densité équivalente à 0,1 à 625nm, ensuite inoculer les cupules de la microplaque avec 10 µl de la suspension bactérienne, ensuite 10 µl de bouillon MH sont répartis dans tous les cupules de la microplaque.

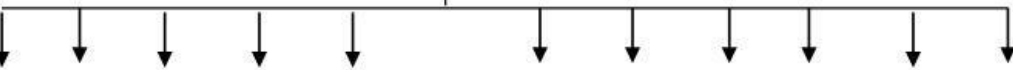
Les essais sont effectués en double, et pour chaque série un puit contenant 10 µl d'inoculum + 10 µl de bouillon MH sert de témoin positif et un autre puit inoculer avec 10 µl de DMSO + 10 µl de bouillon MH sert de témoin négatif. La microplaque est recouverte et est ensuite incubé à 37°C pendant 24H (**figure n°24**). La lecture des résultats se fait à l'œil nue par observation du changement de turbidité dans les cupules de la microplaque après incubation. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est représentée par les concentrations d'huile à laquelle aucune croissance microbienne n'est visible (CLSI, 2002).

IV-3-4-10- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

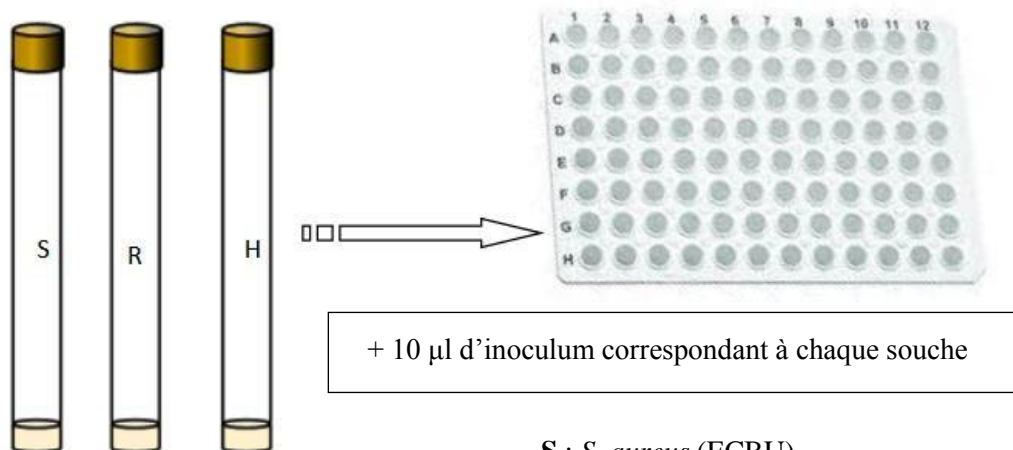
La concentration minimale bactéricide (CMB), est la concentration de l'agent antimicrobien qui laisse au plus 0.01% de germes survivants. Le contenu des cupules dans lesquels aucune croissance n'a été observé, a servi à ensemercer le milieu gélosé M.H et ceux, par des stries de 5 cm de long à l'aide d'une anse stérile en commençant par le tube correspondant à la CMI. La boîte de Pétri est ensuite incubée à 37°C pendant 24H (**Oussou et al., 2004**). Les essais sont effectués en triple (**figure n°25**). La CMB a été caractérisée en comparant la consistance des stries à celle d'une autre boîte de Pétri préalablement préparée appelée boîte A. La CMB est la plus faible concentration d'huile essentielle capable d'entraîner la mort d'au moins 99,99% des bactéries d'un inoculum. Cette valeur indique le pouvoir bactéricide d'huiles essentielles (**Konan Kouadio et al., 2013**).



Préparation de la série des dilutions



Transférer 10 µl de chaque dilution au cupule correspondant de la microplaque (les essais sont effectués en double pour chaque souche)

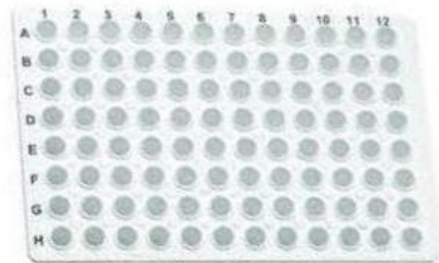


S : *S. aureus* (ECBU)

R : *S. aureus* ATCC 6538

H : *S. aureus* (Plaie cutanée)

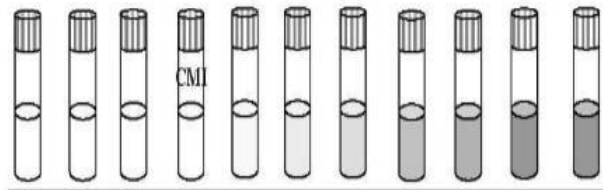
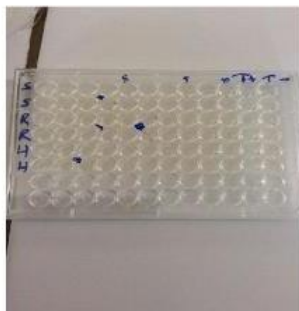
Ajouter 10 µl de bouillon M.H dans toutes les cupules de la microplaque



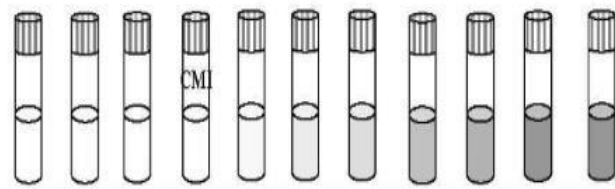
En incubation à 37°C pdt 24h.



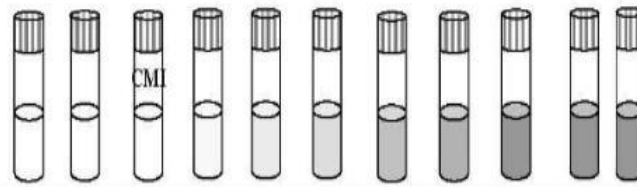
Détermination de la CMI



Souche S



Souche R



Souche H

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

Concentrations (%)	n° de tube
5	1
2,5	2
1,25	3
0,625	4
0,312	5
0,156	6
0,078	7
0,039	8
0,019	9
0,009	10
0,004	11

Figure n°24 : Schéma de la détermination de la CMI

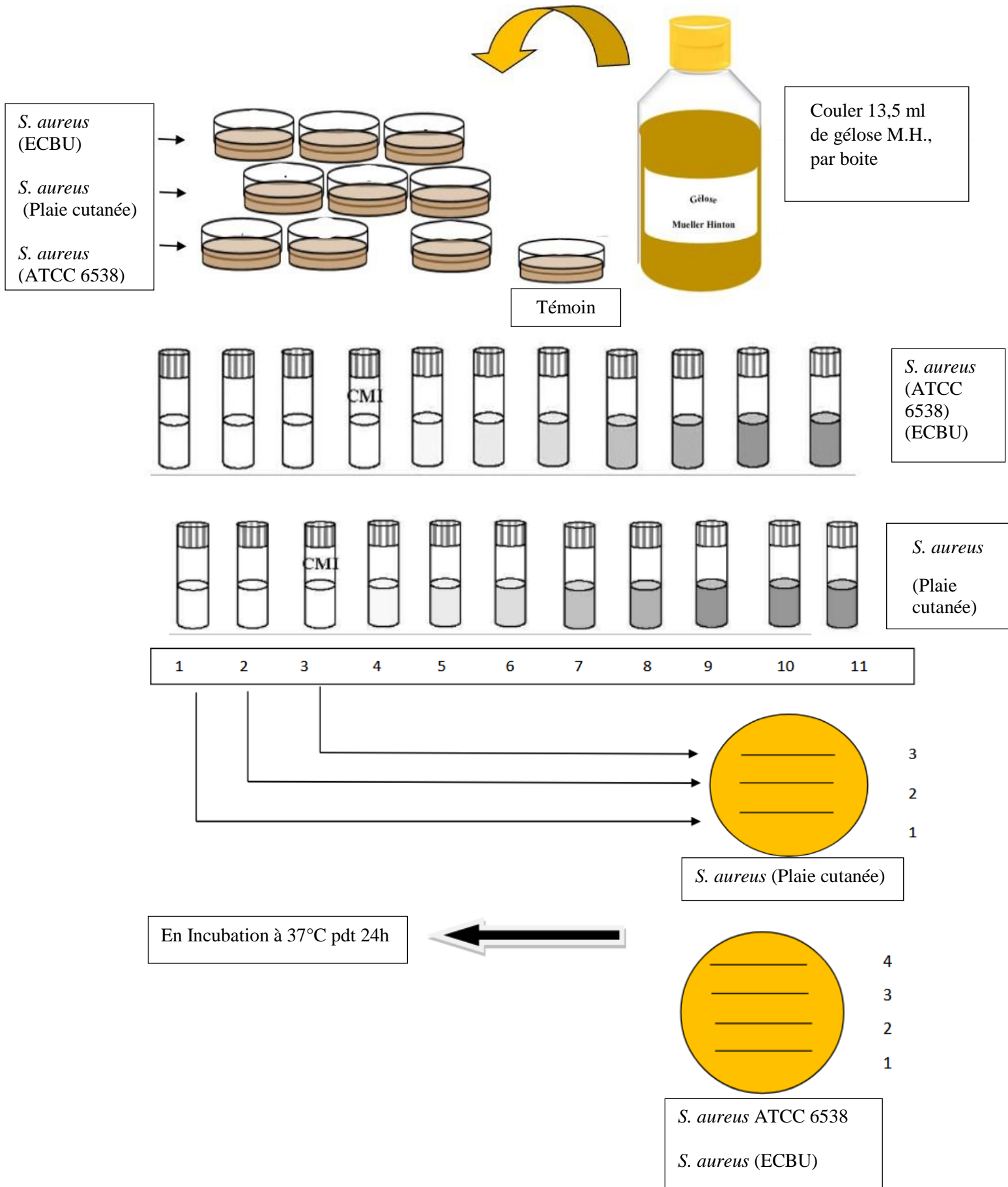


Figure n°25 : Schéma de la détermination de la CMB

IV-3-4-11- Préparation de la boîte A

La boîte A est préparée comme suit : des colonies de 18H isolées à partir d'une boîte gélosée avec milieu M.H., sont inoculées dans 5ml de bouillon M.H., et incubées à 37°C pendant 3H. Quatre dilutions successives sont effectuées en délayant 0,1ml de la préculture dans un tube à essais de 10ml de bouillon MH., ce qui donne l'inoculum initial de dilution de 10^0 ; les mêmes étapes sont effectuées de 10 en 10 jusqu'au 10^{-4} , après cela un ensemencement en strie de 5cm de long à partir des 5 dilutions préparés auparavant est effectué sur 3 boîtes de gélose M.H à l'aide d'une anse stérile, constituant ainsi les 3 boîtes A pour les 3 souches étudiées (**figure n°26**).



Résultats et discussion

V-1- Matériel végétal

V-1-1- Taux d'humidité

Dans le but d'évaluer l'efficacité du séchage en terme de perte en eau, la valeur du taux d'humidité d'*Artemisia herba alba* a été déterminée. Le résultat est représenté dans le **tableau n° 8** et la **Figure n° 27**.

Tableau n° 8 : Valeur du taux d'humidité de l'espèce *Artemisia herba alba*

Plante	Poids de la plante avant séchage (g)	Poids de la plante après séchage (g)	Taux d'humidité (H%)
<i>Artemisia herba alba</i>	5	3.12	41.6%

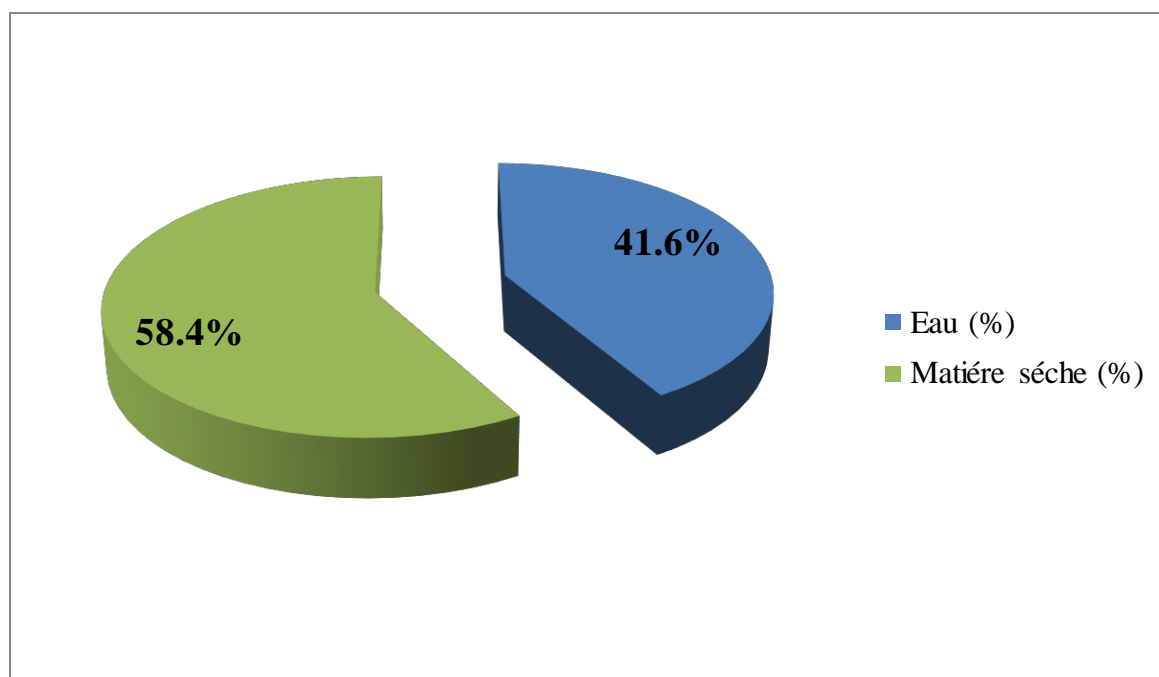


Figure n°27 : Taux d'humidité de l'espèce *Artemisia herba alba*

A la lumière de nos résultats nous avons constaté que la plante *Artemisia herba alba* a présenté une teneur en eau de 41.6% ce qui signifie que la teneur en matière sèche à partir de laquelle les huiles essentielles ont été extraites a été de 58.4%.

Des études réalisées par **Gseyra** en **2006** sur *Artemisia herba alba* récoltée à Oujda au Maroc, ont montré que le pourcentage d'humidité est de 9.23%. Par ailleurs, le taux d'humidité trouvé par **Fenardji et al.**, en **1974** pour *Artemisia herba alba* originaire de Djelfa (Algérie) est de 6.87% se trouvant être d'ailleurs légèrement semblable par rapport à

celui trouvé par **Gseyra** en **2006**. Nos résultats ont présenté un taux d'humidité nettement supérieur à celui obtenu par **Gseyra** en **2006** et **Fenardji et al.**, en **1974**.

Les variations rencontrées dans la teneur en eau de nos échantillons comparé aux travaux précités, peuvent être dues à des facteurs environnementaux tels que les conditions climatiques et la répartition géographique (**Besombes, 2008**).

V-1-2- Recherche phytochimique

Les tests de caractérisation phytochimique réalisés sur les substances naturelles de la plante, ont donné les résultats que nous présentons dans le **tableau n° 9**. Il révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolite secondaire.

Tableau n° 9 : Résultats du screening phytochimiques d'*Artemisia herba alba*

Composés chimiques			Remarque
Alcaloïdes	Réactif de Wagner	+	précipité de couleur brunâtre
	Réactif de Mayer	+++	précipité de couleur blanc-jaunâtre
Tanins	Réaction avec FeCl ₃	+++	coloration verdâtre
	Tanins catéchique	-	Néant
	Tanins galliques	++	Coloration bleu-noirâtre
Flavonoïdes	Anthocyane	++	coloration bleu violacé
	Leucoanthocyane	-	Teinte brune rouge
Saponosides		++	Présence de mousse
Composés réducteurs		-	Néant
Stérols et triterpènes	Trapénoïdes	++	Anneau marron à l'interface
Hétérosides	Hétérosides stérolique	++	Couche surnageant verte
	Hétérosides tritepénique	-	Néant
Coumarines		+	fluorescence intense de couleur bleu verdâtre

(+) : Présents ; (++) : abondants ; (+++) : très abondants ; (-) : absents.

Le tableau ci-dessus (**Tableau n° 9**) représente les résultats du screening phytochimique de la plante *Artemisia herba alba*. Nous apercevons que la partie aérienne de la plante contient dans une certaine mesure, la présence des alcaloïdes après les trois tests positifs de Mayer,

Wagner et Drangendroff. Le test des tanins a montré la présence d'une coloration brune verdâtre, ce qui signifie que la plante contient les tanins catéchiques. Les mêmes résultats ont été confirmés pour les flavonoïdes libres, les anthocyanes, les leucoanthocyanes, terpénoïdes, stérols et triterpènes, hétérosides stéroliques et triterpéniques, et coumarines par la présence d'une fluorescence. Quant aux saponosides, ils sont présents avec un indice de mousse de 125. En effet, ce criblage phytochimique a montré l'absence des composés réducteurs et des tanins galliques.

Une étude faite par **Riachi et al.**, en **2015**, et ont indiqués la présence des Flavonoïdes, tanins, stérols et triterpènes, et des coumarines de la plante *Artemisia herba alba*, d'autre part les saponines et les alcaloïdes étaient absents. Cependant, **Sellami et al.**, en **2010**, confirment la présence d'alcaloïdes. Dans des études antérieures, sur l'espèce d'*Artemisia herba alba* indiquent que tous classes de composés sont présents dans le genre avec référence particulière aux terpènes et aux flavonoïdes selon **Wright** en **2002**.

Des analyses faites par **Dif et al.**, en **2016** ont montré que la plante est riche en polyphénols tels que les phénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés. Une autre étude faite par **Mohamed et al.**, en **2010** a indiqué également la présence des stérols et tri terpènes.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par les travaux de **Dif et al.**, en **2016** et **Sellami et al.**, en **2010**. En effet, ces derniers ont signalé la présence des polyphénols tels que les phénols totaux, flavonoïdes totaux, tanins condensés et alcaloïdes. Tandis que, **Riachi et al.**, en **2015** ont rapporté respectivement, l'absence des alcaloïdes, et en dernier nos résultats crédibilisent ceux obtenus par **Mohamed et al.**, en **2010**.

V-2- Huiles essentielles

V-2-1- Rendement en huile essentielle

Après une durée de 3 heures d'extraction de l'huile essentielle par hydro-distillation à partir de 300g de matière végétale sèche, (**figure n°28**). On a obtenu une quantité d'huile essentielle dont le rendement de l'extraction de l'huile essentielle a été calculé en fonction de la masse du matériel végétal traité selon la formule ci-dessous (**Vagi et al.**, **2005**). Les résultats obtenus sont illustrés dans le **tableau n°10**.

$$R = (MHE / MVS) \times 100$$

Tableau n°10 : Les rendements en huile essentielle d'*Artemisia herba alba*.

Essai N°	Rendement
1	1.472 %
2	1.481%
3	1.52%
Moyenne	1,491%

Les résultats du tableau n°10 montrent que la partie aérienne d'*Artemisia herba alba* a donné un rendement en huile essentielle de 1,491%.

Une étude faite par **Akrout** en **2004** sur différentes plantes dont *Artemisia herba alba* récoltée de Matmata en Tunisie, a permis d'obtenir des rendements moyens en huiles essentielles de 0.65%.

Ces résultats sont relativement inférieurs du rendement d'*Artemisia herba alba* récolté de Béchar en Algérie.



Figure n°28 : Extraction de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* par hydrodistillation.

V-2-2- Mesure du pH

L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* est neutre avec un pH égale à 7 (**figure 29**). Il convient de souligner que le pH joue un rôle déterminant au cours des réactions chimiques et biochimiques et peut influencer les propriétés stabilisatrices d'une huile essentielle. Par conséquent, ce résultat peut amener à un bon caractère stabilisateur contre les microorganismes.



Figure n°29 : Résultats du pH de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*

V-3- Identification des bactéries

V-3-1- Examen macroscopique

Après une incubation de 24h à 37°C sur les deux milieux de cultures (Chapman, gélose nutritive), Le développement bactérien sur le milieu Chapman montre que les colonies sont de taille moyenne de 1 à 2 mm pigmentées qui donne une couleur jaune-orangé et entourées d'une aréole jaune dans c'est-à-dire il y a eu la fermentation du mannitol. Ces colonies sont arrondies à bords réguliers, ce qui présente l'aspect macroscopique caractéristique du genre *Staphylococcus aureus* (figures n° 30-31-32).

Le repiquage réalisé sur le Bouillon nutritive montre l'apparition d'un trouble après 24 heures d'incubation à 37°C.

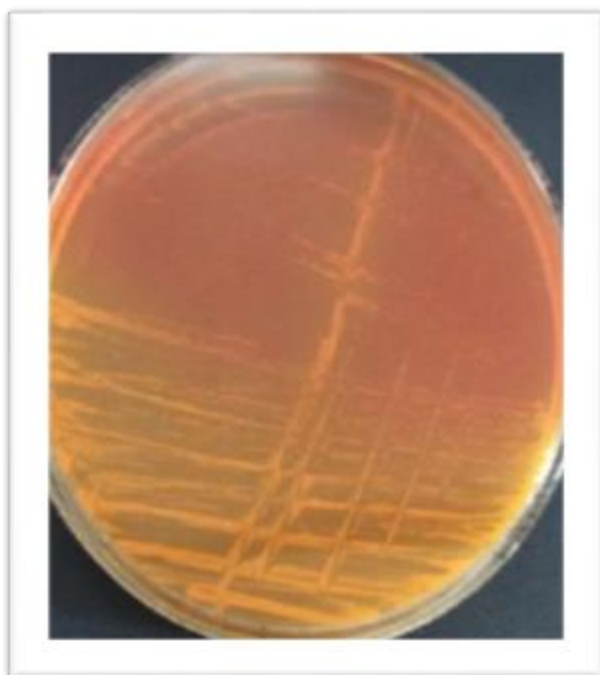


Figure n°30 : Résultats de l'aspect macroscopique de *S. aureus* ATCC 6538 (milieu Chapman)

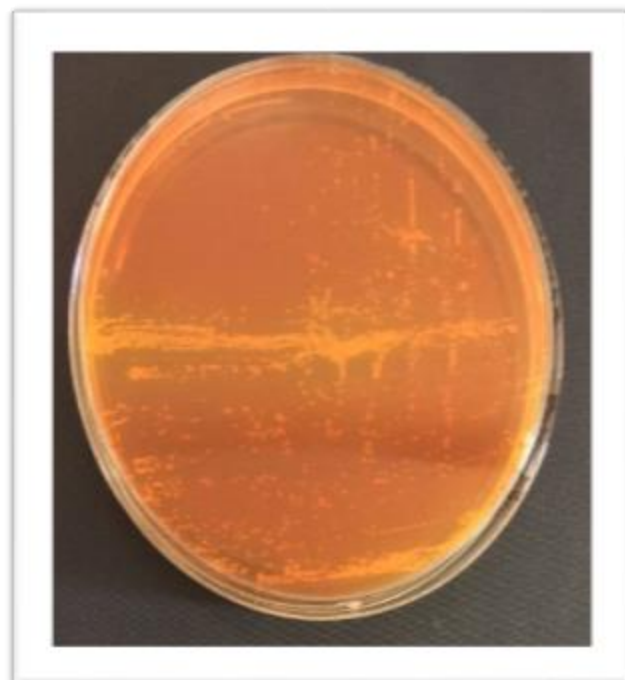


Figure n°31 : Résultats de l'aspect macroscopique de *S. aureus* isolée d'une plaie cutanée (milieu Chapman)

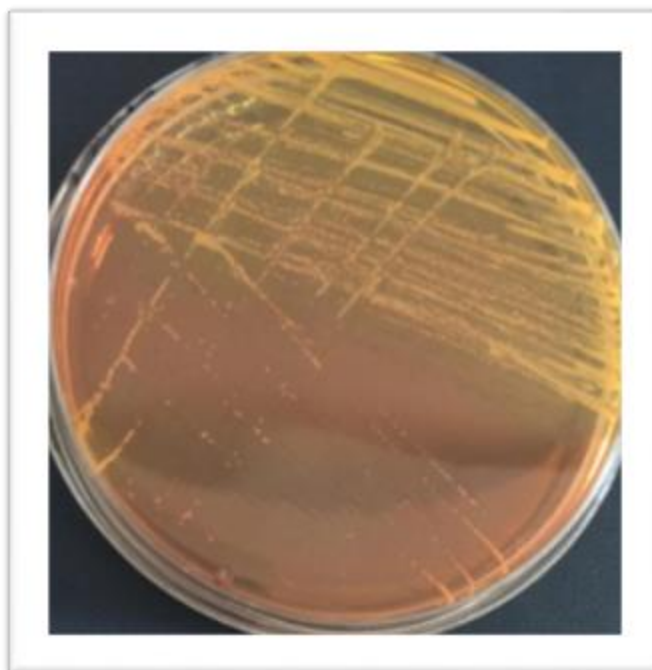


Figure n°32 : Résultats de l'aspect macroscopique de *S. aureus* (ECBU) (**milieu Chapman**)

V-3-2- Examen microscopique

V-3-2-1- Etat frais

Les bactéries examinées à l'état frais apparaissent fixées et immobiles (**Tableau n°11**)

Tableau n° 11 : Examens à l'état frais des bactéries.

Souches	Mobilité
<i>S. aureus</i> (ATCC 6538)	-
<i>S. aureus</i> (ECBU)	-
<i>S. aureus</i> (Plaie)	-

+ : Mobile ; - : Immobile

V-3-2-2- Coloration de gram

Sur microscope optique et à immersion au grossissement x1000, la coloration de Gram réalisée à partir des colonies distinctes, montre la présence des bactéries violettes donc à coloration de Gram-positive et de forme Cocci (**figures n° 33-34-35**), les résultats obtenus sont regroupés dans le **Tableau n° 12**

Tableau n°12 : Coloration de Gram des bactéries étudiées.

Bactéries	Coloration	Gram
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	Violet	Positif
<i>S. aureus</i> isolée de la plaie cutanée	Violet	Positif
<i>S. aureus</i> (ECBU)	Violet	Positif

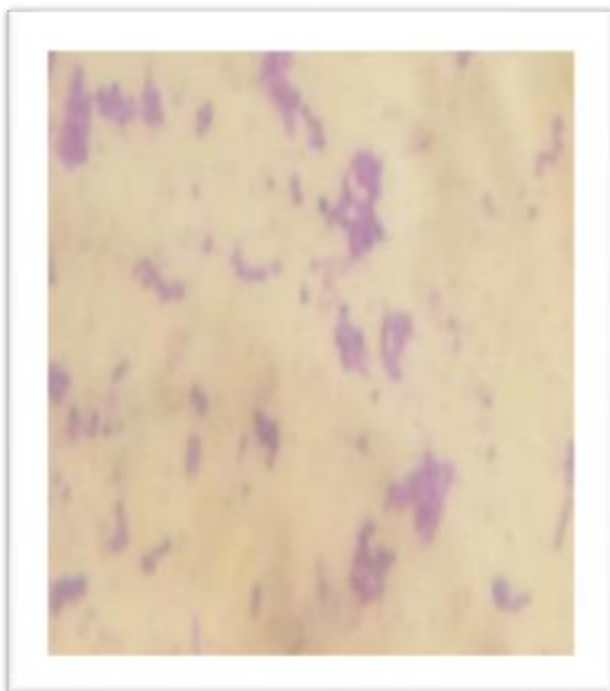


Figure n°33 : Résultats de la coloration de Gram (G x1000) de *S. aureus* ATCC 6538

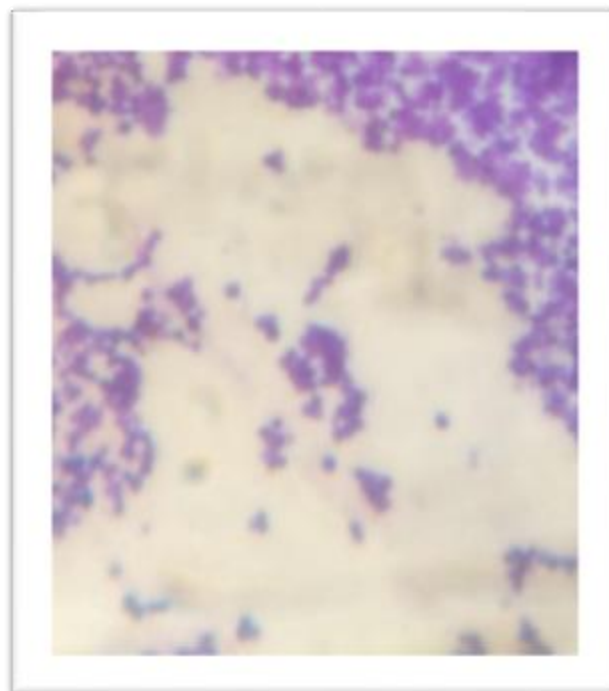


Figure n°34 : Résultats de la coloration de Gram (G x1000) de *S. aureus* isolée d'une plaie cutanée

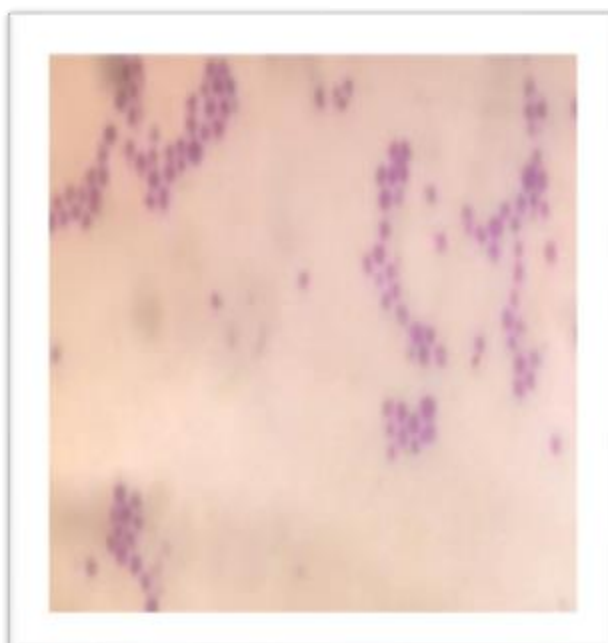


Figure n°35 : Résultats de la coloration de Gram (G x1000) de *S. aureus* (ECBU).

V-4- Identification biochimique

V-4-1- Mise en évidence du type respiratoire :

Les résultats ont montré une croissance des souches en surface et en profondeur c'est-à-dire que les souches ont un type respiratoire aéro-anaérobie facultatives ou anaérobie aérotolérantes. Ce qui signifie qu'en présence d'oxygène en petite quantité est préférable pour le développement de la bactérie mais elle peut s'en passer (**figure n°36**).



Figure n°36 : Résultats des tests respiratoires des bactéries étudiées.

V-4-2- Caractères biochimiques :

Les observations morphologiques réalisées, sont complétées par la recherche des caractères biochimiques ; catalase, coagulase, et test DNase. Pour toutes les bactéries étudiées.

Les résultats sont indiqués dans le **tableau n°13** et les **figures n°37, 38, 39, 40**.

Tableau n°13 : Résultats des caractères biochimiques des bactéries étudiées.

Bactéries	Catalase	Tests Coagulase	DNase
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	+	+	+
<i>S. aureus</i> isolée d'une plaie cutanée	+	+	+
<i>S. aureus</i> (ECBU)	+	+	+

+ : positive ; - : négative

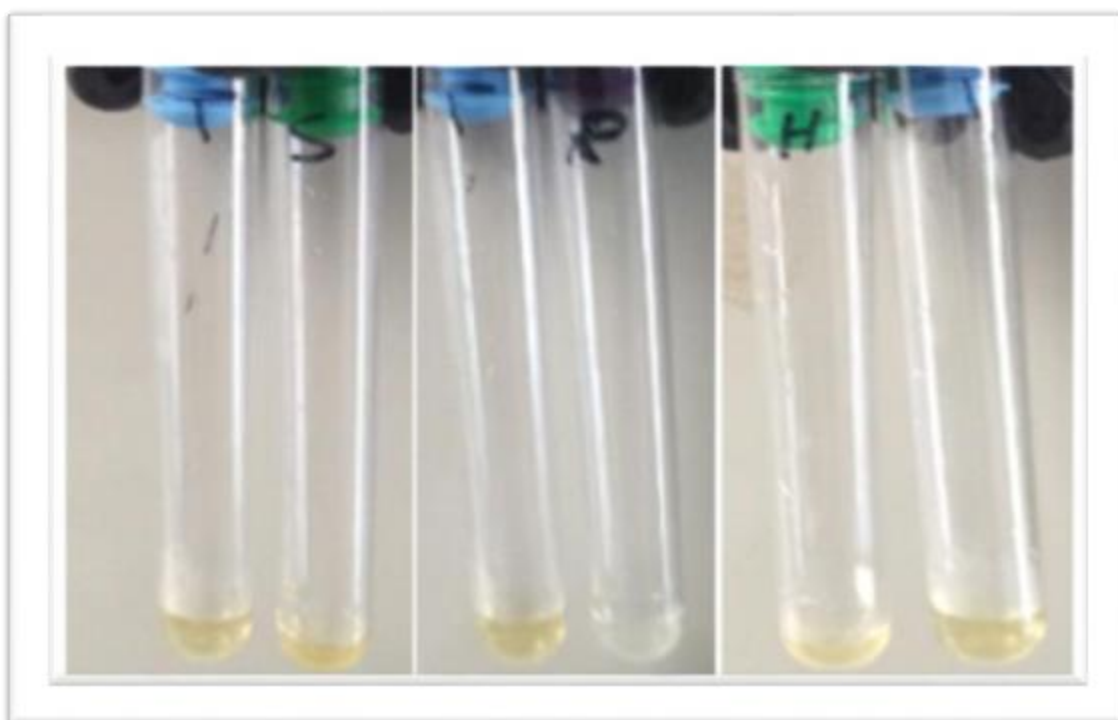


Figure n°37 : Résultats du test coagulase des bactéries étudiées (sang de l'homme).

Des chercheurs ont mis en évidence que la virulence n'était pas forcément liée au rôle de la coagulase néanmoins la recherche de coagulase permet de différencier les souches potentiellement pathogènes. Enfin on peut considérer que le rôle de la coagulase permet aux *S. aureus* de résister aux anticorps et à la phagocytose par les leucocytes lorsqu'ils sont localisés dans un caillot (Baddour *et al.*, 1994).

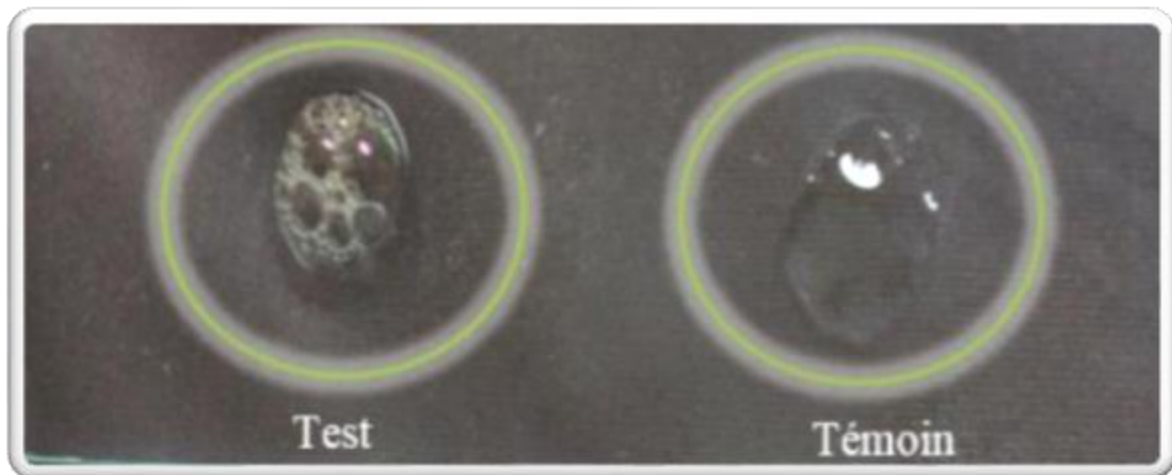


Figure n°38 : Résultats du test catalase de *S. aureus* (Plaie).

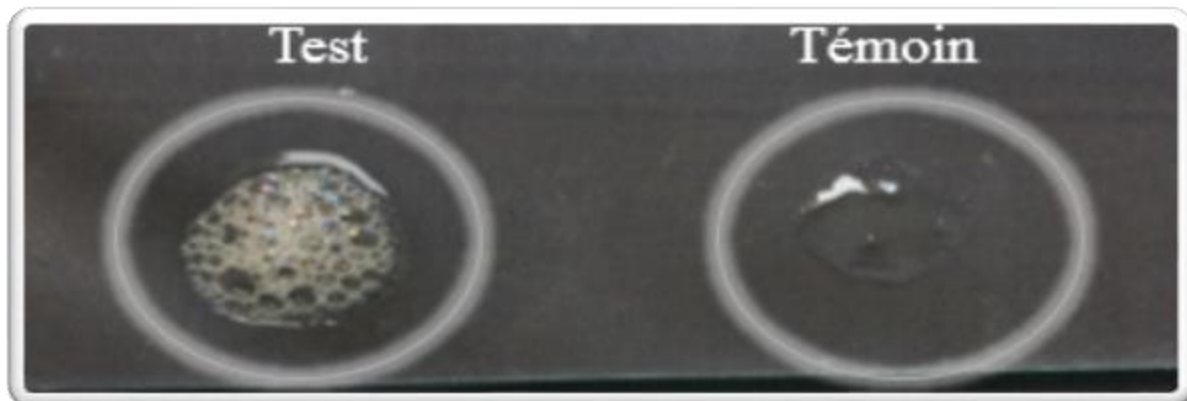


Figure n°39 : Résultats du test catalase de *S. aureus* (ATCC 6538).

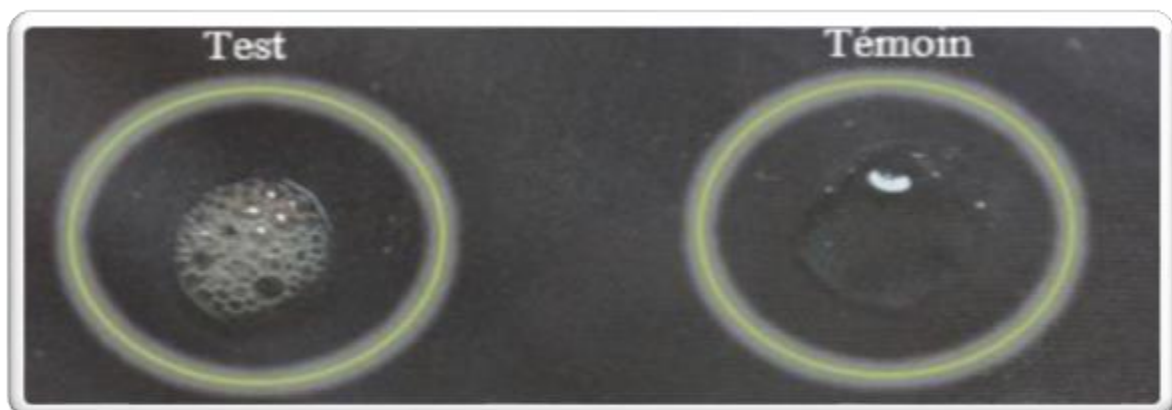


Figure n°40 : Résultats du test catalase de *S. aureus* (ECBU).

La *S. aureus* possède une activité catalase positive pour toutes les souches. Cette activité enzymatique permet la dégradation du peroxyde d'oxygène en eau et dioxygène qui se traduit par le dégagement de bulles de gaz (oxygène). Par ailleurs, toutes les souches coagulent le plasma. En effet, la production de la coagulase libre par *Staphylococcus aureus* provoque une coagulation du plasma qui se traduit par la formation d'un caillot de coagulation.

Les colonies de *Staphylocoques* sur milieu gélose à l'ADN sont des blanches, convexes, brillantes, de 1 à 2 mm de diamètre, sur le fond opaque du milieu et sont considérées staphylocoques à DNase positive, car après l'ajout de l'HCl elles s'entourent d'une auréole transparente révélatrice.

L'intégralité de nos résultats y compris l'identification microbienne et caractères biochimique sont en accords avec ceux obtenus par les travaux de **Rebiahi (2012)** et **Robert (2013)**. En effet, ces derniers ont signalé que *S. aureus* est une bactérie cocci à Gram positif, immobiles, aéro-anaérobies facultatives possédant une catalase, une coagulase et une thermonucléase.

V-5- Etude de l'activité antimicrobienne vis-à-vis des agents antimicrobiens

L'appréciation de la sensibilité de *Staphylococcus aureus* testée par antibiogramme par la méthode des disques, nous a permis d'obtenir les résultats ci-dessous (**tableau n° 14**), (**figures n° 41-42-43-44-45-46**).

Tableau n°14 : Résultats de l'activité antimicrobienne des antibiotiques exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm (**CASFM, 2019**)

Agents antimicrobien	Diamètres critiques (mm)			<i>S. aureus</i> ATCC 6538		<i>S. aureus</i> (plaie cutané)		<i>S. aureus</i> (ECBU)	
	R	I	S	Ø (mm)	Remarques	Ø (mm)	Remarques	Ø (mm)	Remarques
AK	≤14	15-16	≥17	20	S	20	S	25	S
KZ	-	-	-	>5	-	>5	-	5	-
E	< 18	-	> 21	24	S	27	S	20	R
TOB	< 18	-	>18	25	S	23	S	27	S
CN	< 18	-	> 18	19.5	R	28	S	30	S
OX	<20	-	> 20	15	R	27	S	9	R
AM	≤ 13	14-16	≥17	25	S	< 30	S	35	S

Toutes les valeurs des diamètres des zones d'inhibitions sont en moyenne de trois essais.

R : résistante ; **S** : sensible ; **I** : intermédiaire

AK : Amikacine , **KZ** : Céfazoline , **E** : Erythromycine , **TOB** : Tobramycine , **CN** : Gentamycine, **OX** : Oxaciline , **AM** : Ampicilline .

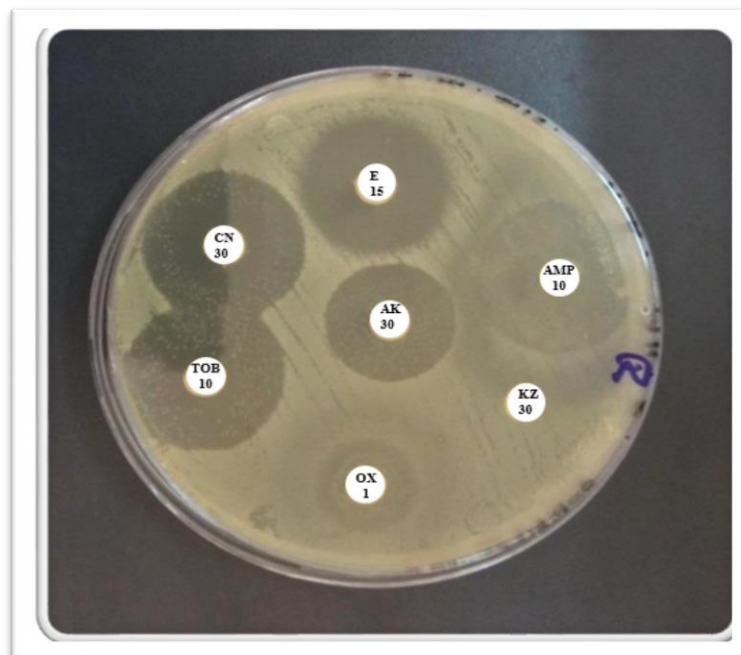


Figure n°41 : Résultats de l'antibiogramme de *S. aureus* ATCC 6538.

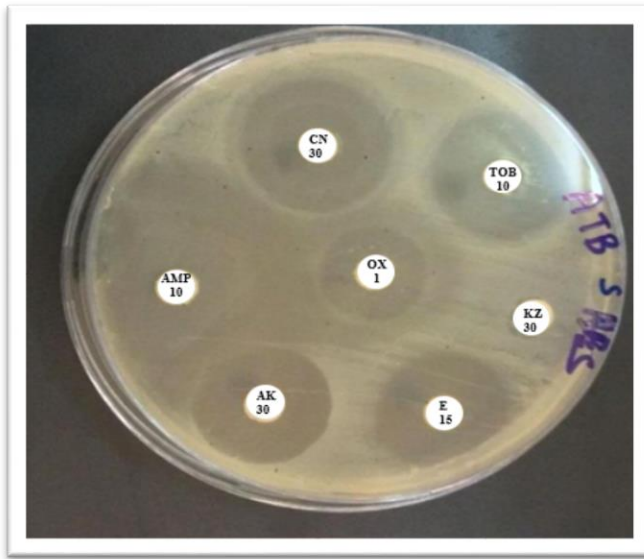


Figure n°42 : Résultats de l'antibiogramme de *S. aureus* (Plaie cutanée).

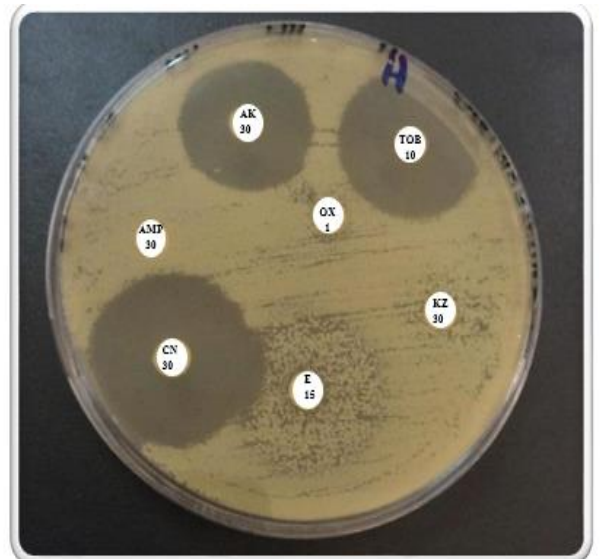


Figure n° 43 : Résultat de l'antibiogramme de *S. aureus* (ECBU).

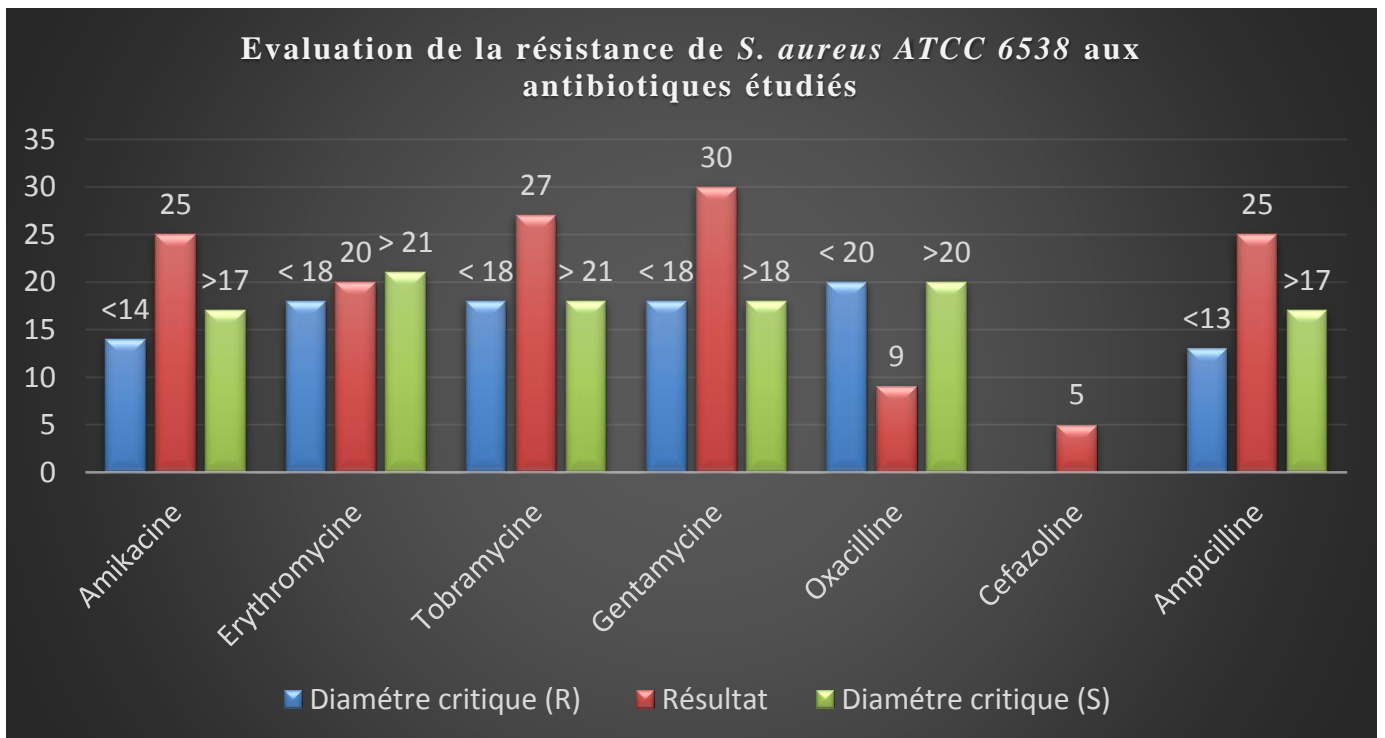


Figure n°44 : Evaluation de la résistance de *S. aureus* ATCC 6538 aux antibiotiques étudiés.

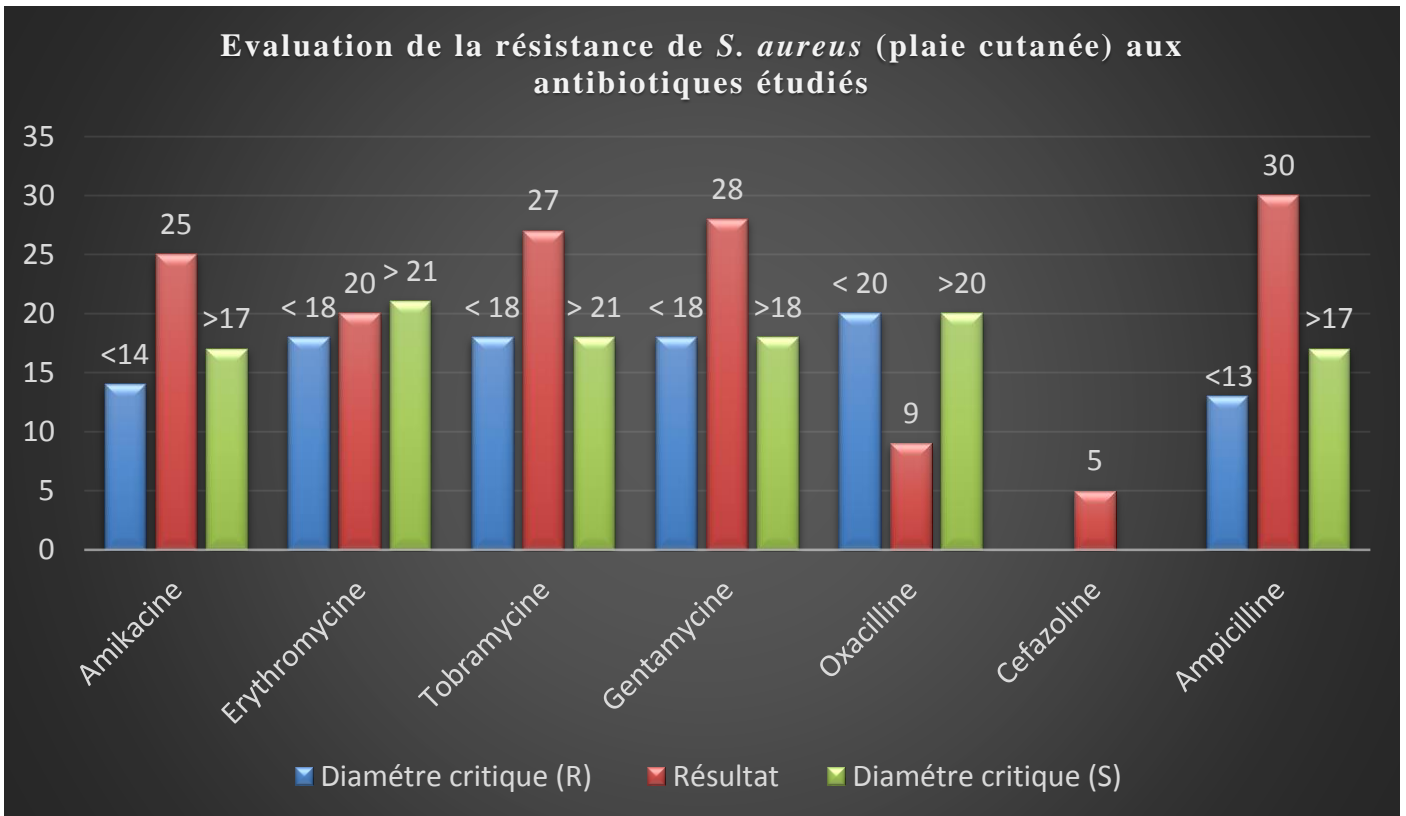


Figure n°45 : Evaluation de la résistance de *S. aureus* (plaie cutanée) aux antibiotiques étudiés.

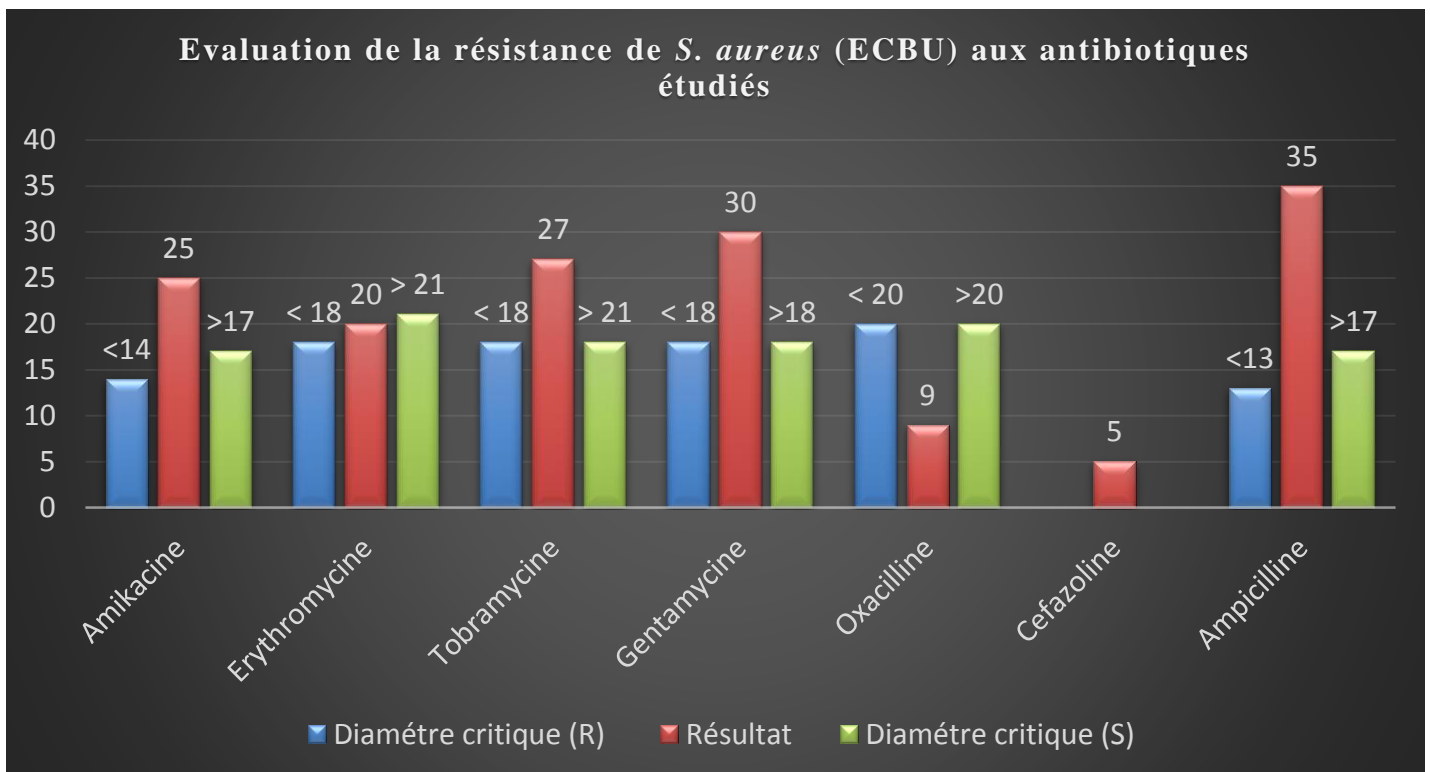


Figure n°46 : Evaluation de la résistance de *S. aureus* (ECBU) aux antibiotiques étudiés.

On a constaté d'après les résultats illustrés dans le tableau n° 14 que les trois souches testées ont montré différents degrés de sensibilité à la plupart des antibiotiques disposés, les diamètres des zones d'inhibition enregistrés varient entre 5 et 35mm.

En revanche, les résultats indiquent que *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 est sensible à l'Amikacine, Erythromycine, Tobramycine, et à l'Ampicilline, dont les diamètres d'inhibition sont respectivement 20, 24, 25, et 25mm, de même, elle a montré une résistance à l'oxacilline (15mm) et à la Gentamycine avec un diamètre de 19,5mm.

Par ailleurs, *Staphylococcus aureus* isolée d'une plaie superficielle cutané s'est avérée sensible vis-à-vis tous les antibiotiques testés.

En outre, les diamètres des zones d'inhibition de *Staphylococcus aureus* isolée du milieu hospitalier d'un ECBU indique sa résistance à l'oxacilline (9mm), et à l'Erythromycine (20mm), et sa sensibilité vis-à-vis l'Amikacine (25mm), Tobramycine (27mm), Gentamycine (30), et à l'Ampicilline (35mm).

Nos souches sont résistantes à l'oxacilline et en accord avec les résultats prouvés par **Mastouri et al.**, en 2006. Selon **Daurel et Leclercq** en 2008, la sensibilité des souches de *S. aureus* aux bêta-lactamines varie selon la molécule, 80 % à 95 % des souches produisent une pénicillinase qui inactive la pénicilline G et l'ampicilline, rendant leurs indications obsolètes dans le cadre d'une infection à *S. aureus*. Une hyperproduction de pénicillinase peut être responsable de l'hydrolyse des pénicillines M.

La résistance des souches aux antibiotiques qui touche tous les pays mais avec des niveaux variables peut être expliquée par la consommation fréquente de ces derniers, ainsi le risque d'acquisition des SARM dépend de nombreux facteurs dont certains de ces facteurs sont liés au patient (flore cutanée, portage de staphylocoque résistant à la méticilline (SARM), pathologie sous-jacente, infection préexistante,...), d'autres sont liés à l'environnement direct du patient (bloc opératoire, qualité de l'air et de l'eau, hygiène de l'équipe chirurgicale et des soignants, matériel...). Selon **Sadsad et al.** en 2013 *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) s'est disséminé progressivement dans la majorité des établissements de soins à l'échelle mondiale avec une récente diffusion communautaire (**Al-Ruaily et al.**, 2011 ; **Ben Saida et al.**, 2005 ; **Mehndiratta et al.**, 2012), du fait qu'en Algérie, le taux de SARM est en augmentation avec 4,5% en 2002 (**Kesah et al.**, 2003) 33,2% en 2004 (**Ramdani-Bouguessa et al.**, 2006), 45% en 2006 (**Bekhoucha et al.**, 2009) et de 52% en 2009 (**Rebiahi et al.**, 2011).

V-6- Détection de la méticillino-résistance

Les résultats du test à l'oxacilline nous ont permis par rapport aux diamètre des zones d'inhibition que *Staphylococcus aureus* (ECBU) été en mesure de résister à l'oxacilline ce qui explique sa résistance à tous les beta lactamines, et plus particulièrement à la méticilline (**figure n°47**), par contre la présence d'un halo claire autour le disque chez *S. aureus* isolée de la plaie cutanée confirme sa sensibilité vis-à-vis la méticilline (**figure n°48**), en outre nos résultats certifie que la souche *S. aureus* ATCC 6538 est résistante à la méticilline.



Figure n°47 : Résultat du test à l'oxacilline de *S. aureus* (ECBU).

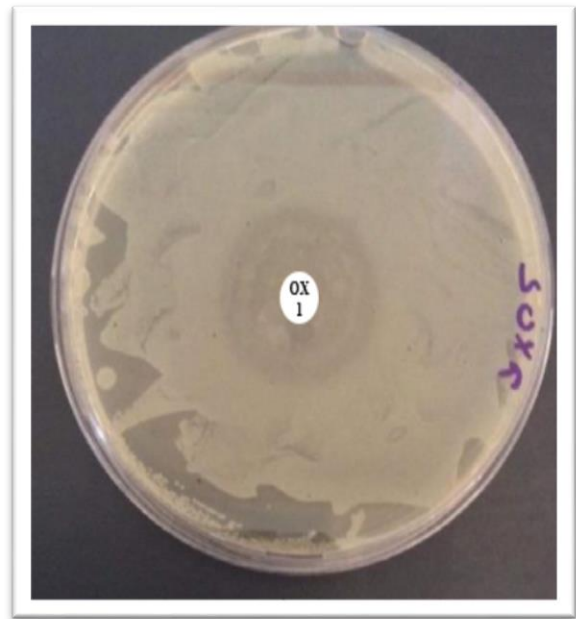


Figure n°48 : Résultat du test à l'oxacilline de *S. aureus* isolée d'une plaie cutanée.

Selon **Felten et al.** en **2002**, il a été démontré par une série de test a l'oxacilline suivant la méthode de diffusion de disque d'oxacilline que 96,4% de 83 souches de SARM étaient résistantes à la méticilline . Une autre étude aussi faite par **Velasco et al.**, en **2005** à constater la présence de 94,1% de 51 souches de SARM comme étant méticillino-résistantes

V-7- Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles par la méthode de Vincent (technique d'aromatogramme)

L'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du genre *Artemisia* qui a été déterminée qualitativement en utilisant la méthode de diffusion sur disques en milieu solide, a permis d'obtenir les résultats illustrés dans le tableau suivant (**tableau n° 15**) :

Tableau n°15 : Résultats de l'aromatogramme

Souches	Diamètre (mm)	Activité
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	9	+
<i>S. aureus</i> isolée d'une plaie Cutanée	26	+
<i>S. aureus</i> (ECBU)	14	+

Suite aux résultats obtenus dans le tableau précédent n°15, on peut déduire que l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a exercé une activité inhibitrice importante contre les trois souches testées, avec une échelle de diamètre de zone d'inhibition qui varie entre 9 et 26 mm.

Les diamètres des zones d'inhibition nous ont permis de catégoriser les souches bactériennes en fonction de leur sensibilité à l'huile essentielle testée. Nous remarquons que la plus large zone d'inhibition a été obtenu chez *Staphylococcus aureus* isolée d'une plaie superficielle cutanée, donc on la considère comme la souche l'extrasensible à l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* (26mm), en outre, *Staphylococcus aureus* (ECBU) a été considéré plus sensible (14mm) que *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 qui s'est avéré la plus résistante avec un diamètre d'inhibition de 9mm (**figures n° 49-50-51**).

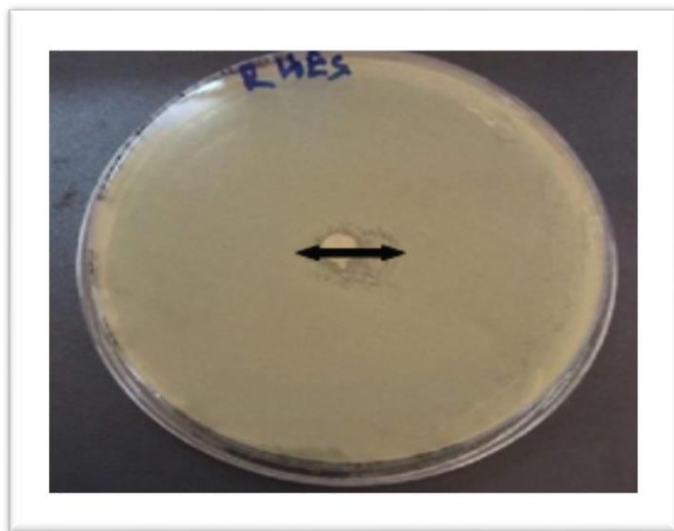


Figure n°49 : Aromatogramme de *S. aureus* ATCC 6538 par l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*.

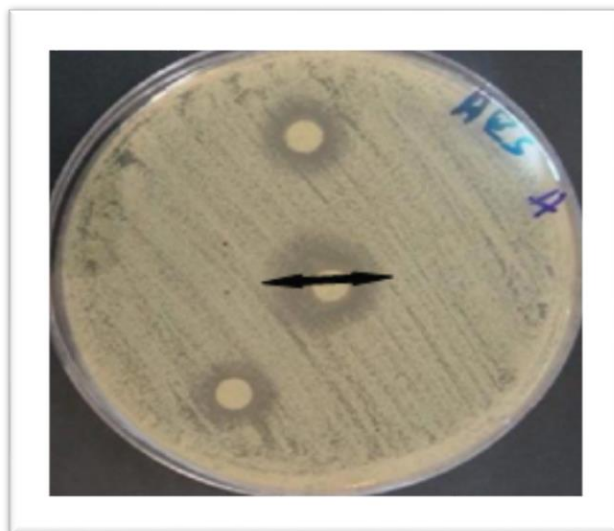


Figure n°50 : Aromatogramme de *S. aureus* (plaie) par l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*.

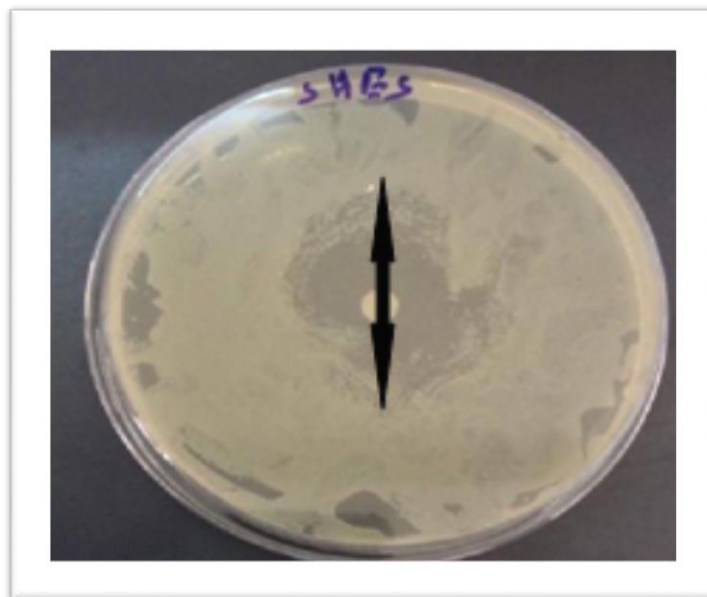


Figure n°51 : Aromatogramme de *S. aureus* (ECBU) par l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par les travaux de **Bouzi** en **2016**, qui a également signalé la sensibilité de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis les huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*.

Une autre étude faite par **Imelouane et al.**, en **2010** confirme la haute activité antimicrobienne de l'huile d'*Artemisia herba alba* contre les Gram positif (*Staphylococcus aureus*) avec une CMI de 0.16mg/ml et avec un diamètre de zone d'inhibition de 28.17 mm. **Boudjelal** en **2013** rapporte aussi que les huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* sont capables d'exercer une activité antimicrobienne sur *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de zone d'inhibition de 18 mm, ce qui confirme les résultats obtenus lors de cette étude.

Cette activité antibactérienne des HEs., pourrait être expliquée par l'interaction moléculaire des groupements fonctionnels des composants des HEs avec la paroi des bactéries, ce qui provoque de profondes lésions. On peut conclure donc que cette activité peut être le résultat d'un effet synergique entre plusieurs composés de cette HEs (**Felice et al.**, **2004**).

V-7- Détermination des concentrations minimales inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB)

Les concentrations minimales inhibitrice et bactéricide de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* ont été testés à des concentrations allant de 5% à 0,004%. Les résultats obtenus sont montrés dans le **tableau n°16**. Par ailleurs, nous apercevons que l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a exercé une activité importante sur les trois souches testées, bien que les microorganismes étudiés ne montrent pas la même sensibilité. Cependant, les valeurs indiquent que les trois souches sont inhibées à une concentration de 5% (**Figure n°52**).

Tableau n°16 : Valeurs des paramètres antimicrobiens des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* exprimées en %

Souches	<i>Artemisia herba alba</i>			
	CMI	CMB	CMB/CMI	Activité
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	0.625	5	8	Bactériostatique
<i>S. aureus</i> isolée de la plaie cutanée	0.625	5	8	Bactériostatique
<i>S. aureus</i> (ECBU)	1,25	5	4	Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

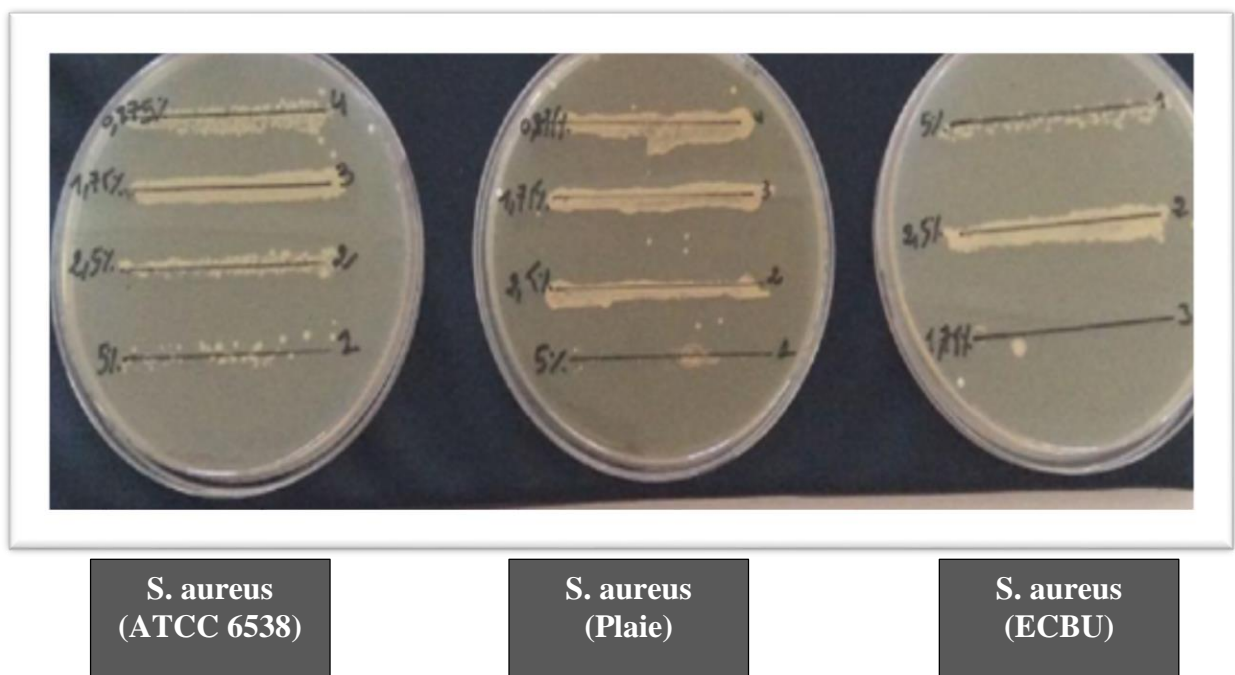


Figure n°52 : Concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* vis-à-vis les trois souches testées.

Selon **Marmonier** en **1990**, si le rapport d'activité CMB/CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égal à 4, cette dernière est qualifiée de substance bactéricide et si le rapport est entre 8 et 16, elle est alors dite bactériostatique. En se référant aux résultats obtenus dans le **tableau n° 16**, nous constatons d'une part, que l'huile d'*Artemisia herba alba* est d'une activité bactéricide dont le rapport CMB/CMI est d'une valeur de 4 envers la souche isolée du milieu hospitalier du test ECBU, néanmoins, le rapport CMB/CMI des deux autres souches est estimé à 8, elles sont alors considérées comme bactériostatiques.

Des travaux antérieurs confirment que l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* possède un effet antimicrobien puissant contre un large éventail de microorganismes. Notamment nos résultats sont très proches de ceux rapportés par **Bouzidi** en **2016**.

Inouye et al., en **2001** ont révélés que les bactéries à Gram+ sont généralement plus sensibles aux huiles essentielles que celles à Gram-. Selon **Friedman et al.** (**2002**), les principaux facteurs qui peuvent influencer les résultats d'un test de l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle sont : les constituants majeurs des feuilles et des tiges de la plante ainsi les composés présents en minorité pourraient avoir également une part de contribution à l'activité antimicrobienne, la solubilité de l'huile essentielle (**Burt, 2004**), le microorganisme et la vitesse de sa croissance.

Encore **Haloui et al.**, en **2015** ont signalé que l'huile essentielle présentait un effet antibactérien plus élevé avec des valeurs de CMI de 0.015, 0.5, 1 et 4% de moins que l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* avec des valeurs de CMI de 0,625% et 1,25% contre *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* isolée d'une plaie cutanée et *Staphylococcus aureus* (ECBU).

Effectivement, les résultats obtenus sont en général en accord avec ceux rapportés par la littérature. En outre, les résultats de la boîte A sont en accord direct avec ceux obtenus dans la détermination de la CMB qui s'est avéré a 5% équivalent a = 1/20 µl/ml (**figure n°53**).

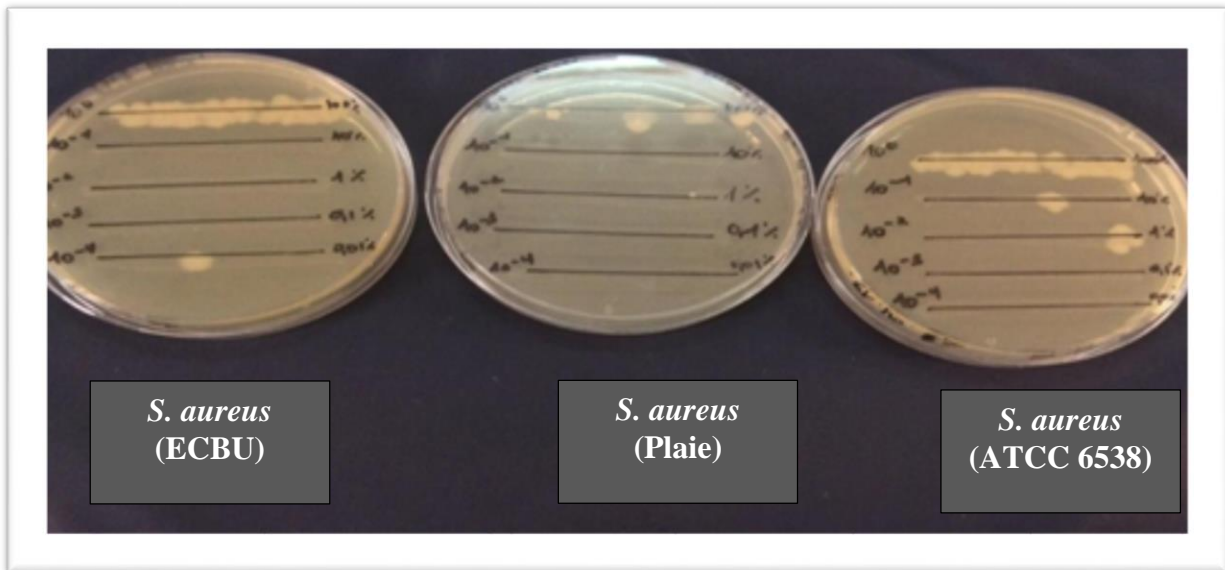


Figure n°53 : Boite -A- des trois souches testées.



Conclusion

Conclusion

Les infections bactériennes sont la cause majeure de la morbidité et de la mortalité en milieu hospitalier dont elle peut être due à *S.aureus* résistante à la méticilline (SARM).

L'importance médicale de cette espèce bactérienne est sa capacité à provoquer de nombreux types d'infections chez l'homme.

Ceci a conduit à réviser le traitement, du fait que le germe incriminé est résistant aux antibiotiques prescrits. Les traitements antibiothérapeutiques restent cependant impuissants devant une telle circonstance. Quoique la méthode traditionnelle de l'utilisation de plantes médicinales reste une issue pour traiter les pathologies d'origine microbienne.

Différentes plantes médicinales synthétisent des molécules odorantes, qui constituent les huiles essentielles et les extraits phénoliques, capable d'exercer un effet équivalent à celui des antibiotiques, et ce grâce à la nature chimique de ces constituants.

Ce travail a été réalisé pour étudier l'effet antimicrobien des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* sur la croissance de *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline (SARM).

D'une autre partie, l'extraction des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* par hydro-distillation a montré un rendement de 1,491%. En revanche, le criblage phytochimique d'*Artemisia herba alba* a révélé la présence de différentes familles de métabolites secondaires. Il s'agit essentiellement des alcaloïdes, des tanins galliques, des flavonoïdes, des saponosides, des hétérosides et des coumarines. Ces constituants sont connus de par leurs diverses propriétés biologiques pouvant être utilisés comme remèdes en médecine traditionnelle.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur trois souches bactériennes (*S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* isolée d'une plaie cutanée, et *S. aureus* isolée d'un ECBU), selon la méthode de diffusion des disques, ces souches présentent une sensibilité vis-à-vis l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*, avec un minimum d'inhibition sur les deux souches *S.aureus* ATCC 6538 et *S.aureus* isolée d'un ECBU, sont respectivement de 9mm et de 14mm, et un maximum d'inhibition sur *S.aureus* isolée d'une plaie cutanée qui est 26mm. Les résultats des tests d'activité antibactérienne indiquent que l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* présente un degré élevé d'activité inhibitrice contre les souches testées.

Les résultats de la métilino résistance, nous ont permis de constater que l'antibiotique agit d'une manière différente chez les souches testées. Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition obtenues de *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* isolée d'une plaie cutanée, et *S. aureus* isolée d'un ECBU sont respectivement de 15mm, 27mm et 9mm.

A propos de la méthode de la microplaque a permis d'obtenir les CMI pour *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* isolée d'une plaie cutanée, et *S. aureus* isolée d'un ECBU a des valeurs allant respectivement de 0,625% ; 0,625% et 1,25% et à des valeurs allant respectivement de 5% ; 5% et 5% pour la CMB.

L'ensemble des résultats obtenus au cours de notre étude, nous permet de dire que l'huile essentielle de *Artemisia herba alba a* exercé une forte activité antimicrobienne vis-à-vis les bactéries étudiées, *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* isolée d'une plaie cutanée, et *S. aureus* isolée d'un ECBU.

En perspectives de ce travail, il serait intéressant de pouvoir approfondir l'utilisation des huiles essentielles comme un remède naturel contre les infection d'origine microbienne afin d'optimiser la consommation abusive des antibiotiques, tout en explorant le risque de l'antibiorésistance et en sensibilisant la sagesse de prise des antibiotiques.



Liste des Références

LISTE DES RÉFÉRENCES

~A~

- ✚ **AARN (Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques), 2011**, *Edition et Publication, ANDS, 13^{ème} rapport*, 140p. Disponible en ligne : <http://www.sante.dz/aarn/documents/pdf/rapport13.pdf>
- ✚ **Abass O.A, 2012**, Therapeutic effect of Artemisia herba-alba aqueous extract added to classical therapy of acquired hyperlipidemia. *Iraqi Journal of community Medicine*, 4, 320-323p.
- ✚ **Abayomi S, 2010**, Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. I. Karthala. *Académie Suisse des sciences naturelles, Paris*, 22-24p.
- ✚ **Aburjai T., Natsheh F.M, 2003**, Plants Used in Cosmetics. *Phytotherapy Research*, 17(9), 987-1000p.
- ✚ **Accarias S, 2014**, Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par Staphylococcus aureus. *Thèse de doctorat, Université de Toulouse III, France*, 175p.
- ✚ **AFNOR, 2000**, Recueil de normes : les huiles essentielles. Echantillonnage et méthode d'analyse. *Monographies relatives aux huiles essentielles, Tome 1 et 2, Paris*, 661-663p.
- ✚ **Al-Hajje., Ezedine M., Hammoud H., Awada S., Rachidi S., Zein S., Salameh P, 2012**, Aspects actuels des infections nosocomiales au Centre Hospitalier Libanais de Beyrouth. *EMHJ*, 18(5), 6p.
- ✚ **Aidoud A, 1983**, Contribution à l'étude des écosystèmes steppiques du sud oranais : phytomasse, productivité primaire et applications pastorales. *Thèse de doctorat, Université des sciences et de la technologie Houari Boumediène, Alger*, 250p.
- ✚ **Aidoud A., Le Floc'h E., Le Houérou H.N, 2006**, Les steppes arides du nord de l'Afrique. *Science et changements planétaires*, 17(1), 19- 30p.
- ✚ **Ait Hellal A., Khemissi H, 2011**, Les techniques d'extraction des huiles essentielles par Micro-ondes. *Edition européenne universitaire, Berlin*, 57p.
- ✚ **Akrout A, 2004**, **Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie) : Artemisia herba alba, Juniperus phoenicea et Thymus capitatus.** *Cahiers Options Méditerranéennes*, 62, 289-292p

LISTE DES Références

- ✚ **Al-Khazraji S.M., Al-Shamaony L.A., Twaij H.A.A, 1993**, Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba alba*. I. Effect of different parts and influence of the solvent on hypoglycaemic activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 40, 163-166p.
- ✚ **Al-Ruaily M.A., Khalil M.O, 2011**, Detection of (mecA) gene in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) at Prince A / Rhman Sidery Hospital, Al-Jouf, Saudi Arabia. *Academic Journals*, 3(3), 41-45p.
- ✚ **Alfandari S, 1997**, Infections nosocomiales. Epidémiologie, critères du diagnostic, prévention et principe du traitement. *Institut de l'Information Scientifique et Technique*, 47(2), 201-209p.
- ✚ **Amari M., Arango L.F.G., Gabriel V., Robert H., Morel S., Moulis C., Gabriel B., Remaud-Siméon M., Fontagné-Faucher C, 2012**, Characterization of a novel dextransucrase from *Weissella confusa* isolated from sourdough. *Appl Microbiol Biotechnol*, 97, 5413–5422p.
- ✚ **Angus S., Armstrong B., Reuck K.M, 1976**, International thermodynamic table of the fluid stat: carbon dioxide. International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). *Pergamon Press, Oxford*, 3, 1522-2640p.
- ✚ **Antimicrobial resistance surveillance in Europe, 2012**, European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), European Antimicrobial Surveillance Network(EARSNET), 218p. Disponible en ligne : <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2012.pdf>
- ✚ **Anton R., Lobstein A, 2005**, Plantes aromatiques : Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. *Tec & Doc, Paris*, 522p.
- ✚ **Aouadhi S, 2010**, Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes ,15-166p.
- ✚ **Aubry-Damon H., Grenet K., Sall-Ndiaye P., Che D., Cordeiro E., Bougnoux M.E., Rigaud E., Le Strat Y., Lemanissier V., Armand-Lefevre L, 2004**, Antimicrobial resistance in commensal flora of pig farmers. *Emerg Infect Dis*, 10, 873–879p.

LISTE DES RÉFÉRENCES

- ✚ **Autard M, 2017**, Place et intérêt de l'aromathérapie en cancérologie. *Thèse de doctorat, Université de Marseille, France*, 133p.

~B~

- ✚ **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M, 2008**, *Biological effects of essential oils. Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475p.
- ✚ **Bang N., Chambers H.F., Kernodle D, 1991**, Bordeline susceptibility to antistaphylococcal penicillins is not conferred exclusively by the hyper production of lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*, 35, 1975-1979p.
- ✚ **Barham D., and Trinder P, 1972**, An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. *Analyst*, 97(151), 142-145p.
- ✚ **Baser K.H.C., Buchbauer G, 2010**, Handbook of essential oils: Science, technology, and applications. *CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC. Boca Raton. New York*, 994p.
- ✚ **Ben Saida N., Ben Abdallah H., Hannachi N., Boukadida J, 2005**, Multi-clonality of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital. *Med. Mal. Infect*, 35(6), 363-366p.
- ✚ **Bekhchi C, 2002**, analyse d'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* (Nunkha) de la région de Tlemcen et étude de son pouvoir antimicrobien. *Thèse de magister, Université Abou bekr Belkaid de Tlemcen*.
- ✚ **Bekkhoucha S.N., Cady A., Gautier P., Itim E., Donnio P.Y., 2009**, A portrait of *Staphylococcus aureus* from the other side of the Mediterranean Sea: molecular characteristics of isolates from Western Algeria. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect Dis*, 28(5), 553-555p.
- ✚ **Belaiche P, 1979**, Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. *Tome 1*, 10p.
- Berche P., Gallard J.L., Simonnet M, 1991**, Les infections nosocomiales d'origine bactérienne et leur prévention. *Bactériologie des infections humaines de la biologie à la clinique. Flammarion, Paris*, 64-71p.

LISTE DES RÉFÉRENCES

- ✚ **Berche P., Gallard J.L., Simonnet M, 1988**, Les infections nosocomiales d'origine bactérienne et leurs préventions. *In* : Les bactéries des infections humaine, *Flammarion, Paris*, 64,74p.

- ✚ **Bernadet M, 2000**, La Phyto-aromathérapie pratique : Usage thérapeutique des plantes médicinales et des huiles essentielles. *Dangles, Paris*, 384p.

- ✚ **Breche P., Gaillard J., Simonet M, 1988**, Collection de la biologie à la clinique. Bactériologie“ Bactéries des infections humaines”. *Flammarion Médecine-Sciences, Paris*, 267-277p.

- ✚ **Bruneton J, 1993**, Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} édition, *Tec & Doc. Lavoisier. Paris*, 915p.

- ✚ **Bruneton J, 1999**, Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition, *Tec & Doc. Lavoisier, Paris*, 1120p.**Besombes C, 2008**, Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. *Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, France*, 289p.

- ✚ **Brozning D.R, 1971**, Chromatographie, *Masson & Cie, Paris*, 164 p.

- ✚ **Boudjelal A, 2013**, Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva, Artemisia herba alba et Maribium vulgare*) de la région de M'sila, Algérie. *Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba*, 60p.

- ✚ **Bougoutaia Y, 2018**, Étude du complexe *Artemisia herba-alba* Asso d'Algérie par des approches pluridisciplinaires : cytogénétique classique, cytogénétique moléculaire, phylogénie et phylogéographie. *Thèse de doctorat, Université des sciences et de la technologie Mohamed Boudiaf, Oran*, 184p.

- ✚ **Boukhalfa M, 2014**, Etude de l'activité antioxydante (test d'ABTS) des huiles essentielles et pédologie haloxylon *Scoparium pomel* (remth) de la région de Naâma. *Mémoire de master, Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen*, 42p.

- ✚ **Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M., Chaouch A., Satrani B, 2009**, Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *AgroSolutions*, 20(1), 45-48p.

LISTE DES RÉFÉRENCES

- + **Boutekjenet C, 1990**, L'huile essentielle d'*Artemisia Herba-Alba Asso* d'Algérie approche des conditions optimales de son extraction par entraînement à la vapeur d'eau : contribution à son étude analytique. *Mémoire de Magister, Ecole nationale polytechnique, Alger*, 187p.
- + **Bouzidi N, 2016**, Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba Asso* ». *Thèse de Doctorat en Sciences de la Vie, Université Mustapha Stambouli, Mascara*, 462p.
- + **Burt S, 2004**, Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, **94(3)**, 223-253p.



- + **Carlson L.H.C., Machado R.A.F., Spricigo C.B., Pereira L.K., Bolzan A, 2001**, Extraction of lemongrass essential oil with dense carbon dioxide. *J. Supercrit. Fluids*, **21**, 33-39p.
- + **Carre P, 1953**, précis de technologie et de chimie industrielle, *Tome 3, Ballière J.B. et fils, Paris*.
- + **CAS-FM (Comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie), 2019**, *EUCAST*, 144p. Disponible en ligne : https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/02/CASFM2019_V1.0.pdf
- + **Charpentier B., Hamon-Lorleac'h F., Harlay A., Huard A., Ridoux L., Chanselle S, 2008**, Guide du préparateur en pharmacie. *3^{ème} édition, Elsevier Masson, Paris*, 1358p.
- + **Chemat F., Lucchesi M.E., Smadja J., 2004**, Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Elsevier Science*, **1043(2)**, 323-327p.
- + **Chemat F., Lucchesi M.E., Smadja J., Favretto L., Colnaghi G., Visioni F, 2006**, Microwave accelerated steam distillation of essential oil from lavender: A rapid, clean and environmentally friendly approach, *Analitica Chimica Acta. Elsevier*, **555(1)**, 157-160p.

LISTE DES Références

- ✚ **Cherif F.Y, 1991**, Etude comparative des huiles essentielles algériennes d'*Eucalyptus globulus labill* et *camaldulensis*. *Thèse de magister, Université U.S.T.H.B., Alger*, 159p.
- ✚ **CLSI (The Clinical and Laboratory Standards Institute), 2002**, Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi: approved standard. NCCLS document M38-A. *NCCLS, Wayne, Pa.*
- ✚ **Comité technique des infections nosocomiales, 1999**, 100 recommandations pour la surveillance et prévention des infections nosocomiales, Ministère de l'emploi et de la solidarité. Disponible en ligne :
https://solidarites.sante.gouv.fr/IMG/pdf/100_recommandations.pdf
- ✚ **Cordero C., Bicchi C., Joulain D., Rubiolo P, 2007**, Identification quantitation and method validation for the analysis of suspected allergens in fragrances by comprehensive two-dimensional GC coupled with quadrupole MS and with FID. *J chromatographie*, 1150, 37-49p.
- ✚ **Cosgrove S., Qi Y., Kaye K., Harbarth S., Karchmer A., Carmeli Y, 2005**, The impact of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* bacteremia on patient outcomes: mortality, length of stay, and hospital charges. *Infect Control Hosp Epidémié*, 26(2), 166-174p.
- ✚ **Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R., Wyllie S.G, 2000**, The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88(1), 170-175p.
- ✚ **Crespo M.E., Jiménez J., Navarro C, 1991**, Special methods for the essential oils of the genus *Thymus*. In: *Modern Methods of Plant Analysis* (Edited by H.F. Linskens and J.F. Jackson), New series, Essential oils and waxes, pp 41-46, Vol 12, *Springer-Verlag, Berlin*.
- ✚ **Cristiani M., D'arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M.G., Micieli D, 2007**, Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15), 6300-6308p.

LISTE DES Références

- ✚ **Croteau R., Kutchan T.M. et Levis N.G, 2000**, Natural products (Secondary metabolites). *Biochemistry and molecular biology of plants*, 24, 1250-1319p.

~D~

- ✚ **Da Silva J.A, 2004**, Mining the essential oils of the Anthemideae. *African Journal of Biotechnology*, 3 (12), 706-720p.
- ✚ **Dali-Yahia R., Boubekri I., Boumendil K, 2010**, Résistance des bactéries aux antibiotiques: rappels et situation à l'EHUO (rapport présenté au CLIN), Service de bactériologie de l'EHUO.
- ✚ **Dapkevicius A., Venskutonis R., Van Beek T.A., Linssen J.P.H, 1998**, Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of Science Food and Agriculture*, 77(1), 140-146p.
- ✚ **Daurel C., Leclercq, 2008**, L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. *Revue Francophone des laboratoires*, Laboratoire de microbiologie Centre hospitalier universitaire de Caen, 38(407), 81-90p.
- ✚ **Davidson P.M, 2001**, Chemical preservatives and naturally antimicrobial compounds. *In: Food Microbiology Fundamentals and Frontiers* (Edited by M.P Doyle., L.R Beuchat and T.J Montville), pp 593-628. *2nd edition, ASM Press, Washington*.
- ✚ **Degryse A.C., Delpla I., Voinier M.A, 2008**, Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement du génie sanitaire. Ecole des hautes études en santé publique (EHESP)*, 94p.
- ✚ **Delarras C, 2003**, Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux, *TEC & DOC, Lavoisier, Paris*, 269 p.
- ✚ **Delaveau P., Larrain M., Mortier F., Rivolier C., Sche Weltzer A.R, 1985**, Secrets et vertus des plantes médicinales. *Selection du reader's Digest, paris*.
- ✚ **Denis M., Tanguy M., Chidaine B., Laisney M. J., Mégraud F., Fravallo P, 2011**, Description et origines de contamination par *Campylobacter spp* d'eau de rivières destinée à la consommation humaine en Bretagne, France, *Pathologie biologique. Elsevier Masson*, 59, 256-263p.

LISTE DES Références

- + **Dethier M, 1996**, Contribution à l'étude des plantes aromatiques du Burundi. *Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, France*, 182p.
- + **Deyama Y., Matta M., Yoshimura, 2006**, Molecular characterization of the zinc finger transcription factor osterix, *International journal of Mol-Med*, 17, 425-430p.
- + **Dibong S.D., Mpondo M.E., Nigoye A., Kwin M.F., Betti J.L, 2011**, Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. Ethnobotany and phytomedicine of medicinal plants sold in Douala markets. *Journal of Applied Biosciences*, 37, 2496 – 2507p.
- + **Djebaili S, 1984**, Steppe algérienne : phytosociologie et écologie, *OPU, Alger*, 140p.
- + **Duraffourd C., D'hervicourt L., Lapraz J.C, 1990**, Cahiers de phytothérapie clinique. Examen de laboratoire galénique Eléments Thérapeutiques Synergiques. 2^{ème} édition, *Masson, Paris*, 87p.

~E~

- + **Edris A.E, 2007**, Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytother Research*, 21, 308-323p.
- + **Eidi A., Eidi M., Darzi R, 2009**, Antidiabetic effect of *Olea europaea* L. in normal and diabetic rats. *Phytother Research*, 23(3), 347-350p.
- + **El Haib A, 2011**, Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. *Thèse de doctorat, Université Toulouse III - Paul Sabatier*, 157p.
- + **El Rhaffari L, 2008**, Catalogue des plantes potentielles pour la conception de tisanes. *Faculté des Sciences et Techniques d'Errachidia, Equipe Environnement et Santé*.
- + **Elouennass M., Sahnoun I., Zrara A., Bajjou T., Elhamzaoui S, 2008**, Epidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002-2005). *Médecine et Maladie Infectieuse*, 38(1), 18-24p.
- + **Eloukili M.A, 2013**, Valeur nutritive de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*) comparée à l'unité fourragère de l'orge. *Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen*, 25 p.

~F~

LISTE DES RÉFÉRENCES

- ✚ **Fasquelle R, 1974**, *Eléments de bactériologie médicale. 9^{ème} édition, Flammarion, Paris, 27-36p.*
- ✚ **Feinbrun-Dothan N, 1978**, *Flora Palaestina. Part Three: Ericaceae to Compositae Jerusalem. Israel Academy of Sciences and Humanities, 3, 1298p.*
- ✚ **Felice S., Francesco N., Nelly A.A., Maurezio B., Werner H, 2004**, *Composition and antimicrobial activity of the essential oil of Achillea falcata L. Flav. Fragr. J., 20 (3), 291 – 294p.*
- ✚ **Felten A., Grandry B., Lagrange P.H., Casin I, 2002**, *Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): a disk diffusion method with cefoxitin and moxalactam, the Vitek 2 system, and the MRSA-Screen latex agglutination test. J Clin Microbiol; 40(8), 2766-2771p.*
- ✚ **Feltz F, 2018**, *L'aromathérapie : une alternative aux traitements allopathiques en chirurgie dentaire. Thèse de doctorat, Université de Lille, France, 66p.*
- ✚ **Ferhat M.A., Meklati B.Y., Chemat F, 2007**, *Comparaison of different isolation methods of essential oil from citrus fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave 'dry' distillation. Flavour and Fragrance Journal, 22(6), 494-504p.*
- ✚ **Fenardji F., Klur M., Furlon C., Ferrando R, 1974**, *Contribution à l'étude de l'armoise blanche, Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux, 27(2), 203-206p.*
- ✚ **Ferhat M.A, 2007**, *Extraction sans solvant assistée par micro-ondes des huiles essentielles des citrus d'Algérie. Compréhension, application et valorisation. Thèse de doctorat, Université des Sciences et Technologie Houari Boumediene, Alger, 150p.*
- ✚ **Fillatre Y, 2011**, *Produits phytosanitaires, Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat. Université d'Angers, France, 288p.*
- ✚ **Franchomme P., Pénoel D, 1990**, *L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Edition Roger Jallois, Limoges, France, 445p.*

LISTE DES RÉFÉRENCES

- ✚ **Friedman M., Henika P.R., and Mandrell R.E, 2002**, Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *J. Food Prot.*, 65(10), 1545–1560p.
- ✚ **Forestier E., Rémy V., Mohseni-Zadeh M., Lesens O., Jauhlac B., Christmann D., Hansmann Y, 2007**, Bactériémies à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, aspects épidémiologiques et thérapeutiques récents. *Rev Med interne*, 28(11), 746-755p.

~G~

- ✚ **Ganzler K., Salgó A., Valkó K, 1986**, Microwave extraction: A novel sample preparation method for chromatography. *Journal of Chromatography A*, 371, 299-306p.
- ✚ **Garnero J, 1991**, Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. *Encyclopedie des medecine naturelles, Paris, France*, 2-20p.
- ✚ **Ghrabi Z., Sand R.L, 2008**, Artemisia herba alba Asso. *A Guide to Medicinal Plants in North Africa*, 49p.
- ✚ **Gillet Y., Issartel B., Vanhems P., Lina F., Vandenesch J.E., Floret D, 2001**, Severe staphylococcal pneumonia in children. *Arch.Pediatr*, 8(4), 742-746p.
- ✚ **Guardabassi L., Schwarz S., Lloyd D.H, 2004**, Pet animal as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54(2), 321-332p.
- ✚ **Guessan K., Khadja B., Zirihi N., Traoré D., Aké-Assi L, 2009**, Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire), *Sciences & Nature*, 6(1), 15p.
- ✚ **Guinoiseau E, 2010**, Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. *Thèse de Doctorat, Université de Corse-Pasquale Paoli, France*, 114p.

LISTE DES Références

- + Gutmann L., Williamson R, 1987, Paroi bactérienne et bêta-lactamines. *Medecine Science, Paris*, 3(2), 75-81p.
- + Gseyra N, 2006, Etude phytochimique de deux espèces pastorales: *Artemisia herba alba* Asso et *Peganum harmala* L et l'évolution de la toxicité de *Peganum harmala* pendant son cycle phénologique. *Thèse de doctorat, Université Mohamed Premier Oujda, Maroc*, 127p.

~H~

- + Haddouchi F., Lazouni H.A., Meziane A., Benmansour A, 2009, Etude physico-chimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss&Reut. *Afrique science*, 05(2), 246-259p.
- + Haloui T., Farah A., Balouiri M., Chraïbi M., Fadil M., Benbrahim K.F, Alaoui A.B, 2015, Bacteriostatic and Bactericidal Profile of Leaves and Twigs Essential oils of Moroccan *Pistacia lentiscus* L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(6), 50-53p.
- + HCDS (Haut-Commissariat de Développement de la steppe), 2010, Les potentialités agro-pastorales de la steppe Algérienne : Requêtes cartographiques, analyse et interprétation de l'information géographique. *H.C.D.S. et B.N.E.D.E.R., Djelfa*, 80p.
- + Hellal Z, 2011, Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la Sardina pilchardus. *Mémoire de magister, Université de Tizi-Ouzou, Algérie*, 120p.
- + Helali A, 2005, Pharmacologie fondamentale et clinique. *ENAG*, 183p.
- + Hernandez-ochoa L., R, 2005, Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné « Solvant/Actif » d'origine végétale. *Thèse de Doctorat, Institut National Polytechniques de Toulouse, France*, 209p.
- + Hocquet-Berg S., Py B, 2006, La responsabilité du médecin. *Heure de France, Collection droit professionnelle, Paris*, 180p.
- + Homburger F., Boger E, 1968, The carcinogenicity of essential oils, flavors and spices: A review. *Cancer Res*, 28, 2372-2374p.

LISTE DES Références

- ✚ **Hurabielle M., Malsot M., Paris M., 1981**, Contribution à l'étude chimique de deux huiles d'Artemisia : *Artemisia herba alba asso* et *Artemisia vulgaris linnaeus*; intérêt chimiotaxonomique, rivista italiana. *E.P.P.O.S*, LXIII (6), 296- 299p.
- ✚ **Hureau J., 1999**, Les infections nosocomiales : Risques, préventions, responsabilités. *Experts*, 42, 20-24p.
- ✚ **Hygis N., 1998**, Hygiène hospitalière. *Presses Universitaires de Lyon, France*, 666p.

~I~

- ✚ **Imelouane B., Tahri M., Ankit M., Khdid K., Ahmandi H., Dubois J., Elbanchiri A., 2010**, The essential oil of eastern Moroccan *Rosmarinus officinalis*: chemical composition, in-vitro antimicrobial and antioxydant activities. *Rev. Microbiol. Ind. San et environn*, 4(2), 120-141p.
- ✚ **Inouye S.K., Foreman M.D., Mion L.C., Katz K.H., Cooney L.M.Jr, 2001**, Nurses' recognition of delirium and its symptoms: comparison of nurse and researcher ratings. *Arch Intern Med*, 161(20), 2467-2473p.
- ✚ **ISO, 1997**, Norme ISO 9235, Matières premières d'origine naturelle - Vocabulaire, 2p.
- ✚ **Ito K., Okada R., Tanaka N.K., Awasaki T., 2003**, Cautionary observations on preparing and interpreting brain images using molecular biology-based staining techniques. *Microscopy Research and Technique*, 62(2), 170-186p.

~J~

- ✚ **Joffin J.N., Leyrol G., 2006**, Microbiologie technique, *Tomel, Dictionnaire des techniques, Bordeaux : CRDP d'aquitaine*, 363 p.
- ✚ **Joy-Guillou M.L., Régnier B., 2005**, L'infection liée aux soins, stratégie de maîtrise des infections nosocomiales, épidémiologie bactérienne et clinique. *bioMérieux*. 26(4), 104p.
- ✚ **Julve P., 2015**, Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. *Baseflor, France*.

LISTE DES RÉFÉRENCES

~K~

- ✚ **Kahlouche-Riachi F., Djerrou Z., Ghoribi L., Djaalab I., Mansour-Djaalab H., Bensari C., Hamdi-Pacha Y, 2015**, Chemical Characterization and Antibacterial Activity of Phases Obtained from Extracts of *Artemisia herba alba*, *Marrubium vulgare* and *Pinus pinaster*, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7(2), 270-274p.
- ✚ **Kesah C., Ben Redjeb S., Odugbemi T.O., Boye C.S., Dosso M., Ndinya Achola J.O., Koulla-Shiro S., Benbachir M., Rahal K., Borg M, 2003**, Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in eight African hospitals and Malta. *Clin Microbiol Infect*, 9(2), 153-156p.
- ✚ **Kheffach A, 2015**, La Cytotoxicite de certaines huiles essentielles chez les lapins. *Memoire de Master, Université Echahid Hamma Lakhdar El-Oued*, 117 p.
- ✚ **Kim N.S., Lee D.S, 2002**, Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 982(1), 31-47p.
- ✚ **Konan Kouadio F., Guessennd N.K., Karamoko O., Bahi C., Adama C., Dosso M, 2013**, Action antibactérienne de l'extrait éthanolique 70% de *Clerodendrum splendens* (G. Don) (Verbenaceae) sur des souches bactériennes isolées de selles chez des enfants diarrhéiques. *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 7(3), 1332-1337p.

~L~

- ✚ **Lagnika L, 2005**, Étude Phytochimique et Activité Antipaludique de Substances Naturelles issues de Plantes Béninoises. *Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur de Strasbourg/Université d'Abomey-calavi, Bénin*.
- ✚ **Lagunez Rivera L, 2006**, Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe. *Thèse de doctorat, Université de Toulouse, France*, 335p.

LISTE DES RÉFÉRENCES

- + Lahlou M, 2004, Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18(6), 435-448p.
- + Lane D., Jenkins S, 1986, Microwave extraction, a novel sample preparation method for chromatography. Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. *Chemical Characterisation Carcinogenic 9th International Symposium*, 437-449p.
- + Le Loir Y., Gantier M, 2009, *Staphylococcus aureus*. Lavoisier, Tec et Doc, 283p.
- + Legrand G, 1978, Manuel préparatoire en pharmacie : a l'usage des élèves-préparateurs, préparateurs, étudiants en pharmacie et maitres de stage. 8^{ème} édition, Masson, Paris, 806p.
- + Leonard F., Abbott Y., Rossney A., Quinn P., O'Mahony et R., Markey B., 2006, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a veterinary surgeon and five dogs in one practice. *Veterinary Record*, 158(5), 155-159p.
- + Lloyd D., Boag A., Loeffler A, 2007, Dealing with MRSA in companion animal practice. *European Journal of Companion Animal Practice*, 17, 85-93p.
- + Longevialle P, 1981, Spectrométrie de masse des substances organiques. Edition Masson, Paris, 208p.
- + Loulergue P., Tourret S, 2003. Le *staphylocoque* doré résistant à la méticilline d'origine communautaire. *DES de Bactériologie, Virologie et Hygiène Hospitalière*, 27p.
- + Lucchesi M.E, 2005, Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. *Thèse de doctorat, Université de la Réunion, France*, 146p.
- + Lowy, F. D, 1998, *Staphylococcus aureus* infections. *N. Engl. J. Med*, 339(8), 520–532p.
- + Lowy, F. D, 2003, Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Invest.* 111(9), 1265–1273p.

LISTE DES RÉFÉRENCES

~ M ~

- ✚ **Mann J, 1987**, Secondary metabolism. *Second edition, Clarendon press, Oxford, 374p.*
- ✚ **Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R, 2009**, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Sixième édition.
- ✚ **Marmonier A.A, 1990**, Technique de diffusion en gélose : Méthode des disques. *Bactériologie Médicale, Techniques usuelles, 237-244p.*
- ✚ **Mastouri M., Nour M., Ben Nejma M., Bouallegue O., Hammami M., Khedher M, 2006**, Antibiotics resistance of meticilline-resistant Staphylococcus aureus: detection of the first glycopeptides low sensibility strains in Tunisia. *Pathol Biol, Paris, 54(1), 33-36p.*
- ✚ **Mayer-Scholl A., Averhoff P., Zychlinsky A, 2004**, How do neutrophils and pathogens interact? *Current Option in Microbiology, 7(1), 62-66p.*
- ✚ **Mehndiratta M., Nayak R, Garg H., Kumar M., Pandey S, 2012**, Appraisal of Kernig's and Brudzinski's sign in meningitis. *Clinical Sign, 5(4), 287-288p.*
- ✚ **Mengal P., Behn D., Bellido Gil M., Mompon B, 1993**, VMHD : Extraction d'huile essentielle par micro-ondes. *Parfums, cosmétiques, arômes, 66-67p.*
- ✚ **Mengal P., Monpon B, 1994**, Procédé et installation d'extraction sans solvant de produits naturels par micro-ondes. *Brevet international, WO 94/26853.*
- ✚ **Messai I, 2011**, Etude phytochimique d'une plante medicinale de l'est algerien (Artemisia herba alba). *Thèse de Doctorat, Universite Mentouri Constantine, 96p.*
- ✚ **Mohamed A., El-Sayed M., Hegazy M.E., Helaly S.E., Esmail, A.M., Magdi H., Mohamed N. S, 2010**, Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba-alba*. *Records of Natural Products, 4(1), 25p.*
- ✚ **Moufid A., Eddouks M, 2012**, *Artemisia herba alba* : a popular plant with potentiel medicinal properties. *Pakistan journal of biological sciences, 15(24), 1152-1159p.*
- ✚ **Middleton J., Ziderman A., Van Adams A, 1993**, Skills for Productivity: vocational education and training in developing countries. *Oxford University Press, New York, 12290(1), 384p.*

LISTE DES Références

~N~

- ✚ **Nabli M. A, 1989.** Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, Eléments de botanique et de phytoécologie. *Flore tunisienne, Faculté des sciences, Laboratoire de botanique fondamentale et appliquée, Tome I, Ed. MAB, Tunis, 247p.*
- ✚ **Naganuma M., Hirose S., Nakayama Y., Nakajima K., Someya T, 1985,** A study of the phototoxicity of lemon oil. *Arch. Dermatol. Res*, 278, 31-36p.
- ✚ **Nauciel C., Vilde JL, 2005,** Bactériologie médicale. *Elsevier Masson Ed., Paris, 257 p.*
- ✚ **Negre R, 1962,** Petite flore des régions arides du Maroc occidental. *Tome II, Edi. Centre national de la recherche scientifique, Paris, 566p.*
- ✚ **NCCLS (National Commite for Clinical Laboratory Standards), 1997,** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard M2-A7., *Wayne, PA, USA.*
- ✚ **Nickerson B, Lickens S.T, 1966,** Gas Chromatographic evidence for the occurence of hop oil components in beer. *Journal of Chromatography*, 21(1), 1-5p.
- ✚ **Nienhoff U., Kadlec K., Chaberny I., Verspohl J., Gerlach G., Schwarz S., Simon D., Nolte I., 2009.** Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains between humans and dogs: two case reports. *JAntimicrob Chemother*, 64, 602-660p.

~O~

- ✚ **Oliveira D.C., Tomasz A., de Lencastre H, 2002,** Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet Infect Dis*, 2(5), 180-189p.
- ✚ **OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 2013,** Stratégie de l’OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023, *Genève, Suisse, 72p.*
- ✚ **OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 2017,** Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research discovery, and development of new antibiotics. *Communiqué de press, Geneva, Switzerland, 7p.*

LISTE DES Références

- + Oussou K.R., Kanko C., Guessennd K.N., Yolou S., Koukoua G., Dosso M., N'guessan Y.T., Figueredo G., Chalchat J.-C, 2004, Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes de Côte d'Ivoire. *C. R. Chimie*, 7(10-11), 1081-1086p.
- + Ouyahya A, 1995, Systématique du Genre *Artemisia* au Maroc, *In : Advances*, in *Compositae Systematics. Royal Botanic Gardens*, 293-354p.

~P~

- + Pardini F., Lucheroni M.T, 1996, Le grand livre des Huiles essentielles. *Ed. de Vecchi*.
- + Pavel M., Ristic M., Stevic T, 2009, Essential oils of *Thymus pulegioides* and *Thymus glabrescens* from Romania: chemical composition and antimicrobial activity. *J. Serb. Chem. Soc*, 75(1), 27-34p
- + Pellerin P, 1991, Supercritical fluid extraction of natural raw materials for the flavour and perfume industry. *Perfum. Flavor*, 16(4), 37-39p.
- + Piochon M, 2008, Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. *Mémoire de Master, Université du Quebec à Chicoutimi, Canada*, 200p.
- + Proksch P, 1991, *Ageratina adenophora*, in vitro culture and the production of secondary metabolites, *In: Medicinal and aromatic plants III, Biotechnology in agriculture and forestry. Springer-verlag, Berlin Heidelberg*, 15, 24-37p.
- + Proksch P, 1992, *Artemisia*. *In: Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis. Springer-Verlag, Berlin*, 4, 357-377p.
- + Pourmortazavi S.M., Hajimirsadeghi S.S, 2007, Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *J. Chromatogr A*, 1163(1-2), 2-24p.

~Q~

- + Quezel P., Santa S, 1963, Nouvelles flores d'Algérie et des régions désertiques méridionales, *Tome I et II, CNRS, Paris*, 1170p.

LISTE DES RÉFÉRENCES

~R~

- ✚ **Ramdani-Bougoussa N., Bes M., Meugnier H., Forey F., Reverdy M.E., Lina G., Vandenesch F., Tazir M., Etienne J, 2006**, Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains resistant to multiple antibiotics and carrying the Panton-Valentine leukocidin genes in an Algiers hospital. *Antimicrob Agents Chemother*, 50(3), 1083-1085p.
- ✚ **Razafindrakoto B.S, 1988**, Huiles essentielles d'*Eucalyptus* de Madagascar ; Variabilité de la composition et du rendement en fonction de la période de récolte ; essais de classement chemotaxonomique et propriétés pharmacodynamiques. *Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, France*, 225p.
- ✚ **Rebiahi S.A., Abdelouahid D.E., Rahmounb M., Abdelali S., Azzaoui H, 2011**, Emergence of *vancomycin-resistant Staphylococcus aureus* identified in the Tlemcen university hospital (North-West Algeria). *Medecine et Maladie Infectieuse, Elsevier Masson*, 41(12), 646-651p.
- ✚ **Rebiahi S.A, 2012**, Caractérisation des souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibiorésistance au niveau du centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen. *Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen*, 118p.
- ✚ **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*. *Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maroc*, 160p.
- ✚ **Richard H, 1992**, Epices et aromates. *Edition Dec & Doc, Lavoisier, Collection science et technique alimentaire, Paris*, 339p.
- ✚ **Robert D, 2013**, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive. *Thèse de Doctorat. Université d'Angers, France*, 115p.

LISTE DES RÉFÉRENCES

- + Roger P M, 2015, Infection ou colonisation : une source importante du mésusage antibiotique, *DESC Maladie Infectieuse et Tropicales, Université Sophia Anrtipolis, Nice, France.104p.*
- + Roux D, 2008, Conseil en aromathérapie. 2^{ème} édition, Wolters Kluwer, France, 187p.
- + Rubin M, 1988, Que Sais-Je ? Phytothérapie. 1^{ère} édition, Presses universitaires de France, Paris, 125p.



- + Sadsad R., Sintchenko V., McDonnell G.D., Gilbert G.L, 2013, Effectiveness of Hospital-Wide Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Infection Control Policies Differs by Ward Specialty. *PLoS One*, 8(12).
- + Sallé J.-L, 2004, Les huiles essentielles, Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. 2^{ème} édition, Frison Roche, 168p.
- + Schauenberg P., Paris F, 2005, Guide des plantes médicinales : analyse, description et utilisation de 400 plantes. Editions Delachaux et Niestlé, Paris, 1, 396p.
- + Seddiek S.A., Ali M.M., Khater H.F., El-Shorbagy M.M, 2011, Anthelmintic activity of the white wormwood, *Artemisia herba-alba* against *Heterakis gallinarum* infecting turkey poults. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(16), 3946-3957p.
- + Segeal, I. Feurstein, A. Danin, 1987, Chemotypes of *Artemisia herba alba* in Israel based on their sesquiterpene lactone and essential oil constitution. *Biochemical systematics and Ecology*, 15(4), 411-416p.
- + Sellami S., Mezrket A., Dahmane T, 2010, Activité nématocide de quelques huiles essentielles contre *Meloidogyne incognita*. *Nematol. Medit*, 38(2), 195-201p.
- + Seydi M., Sow A., Soumaré M., Diallo H., Hatim B., Tinerck., 2004, Place des bactériémies à *Staphylococcus aureus* au CHU de Fann à Dakar. *Med Mal Infect*, 34, 210-215p.

LISTE DES RÉFÉRENCES

- # Shellie R., Marriott P., Chaintreau A, 2004, Quantitation of suspected allergens in fragrances (part 1): Evaluation of comprehensive two-dimensional gas chromatography for quality control. *Flavour and fragrance Journal*, 19, 91-98p.
- # Skandamis P.N., Nychas G.J.E, 2001, Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal of Applied Microbiology*, 91(6), 1011-1022p.
- # Skiest J., Brown K., Travis W.C., Holly H., Huda R., Elliott A, 2007, Prospective comparison of methicillin-susceptible and methicillin-resistant community-associated *Staphylococcus aureus* infections in hospitalized patients. *J Infect*, 54, 427-434p.
- # Smith C.K., Moore C.A., Alahi E.N., Smart A.T., Hotchkiss S.A, 2000, Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 168(3), 189-199p.
- # Souza E.L., Guerr N.B., Stamford T.L.M., Lima E.O, 2006, Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. *Rev. Bras. Farm*, 87(1), 22-25p.

~T~

- # Tassou C.C., Nychas G.-J.E, 1995, Antimicrobial activity of the essential oil of mastic gum (*Pistachia lentiscus var.chia*) on Gram-positive and Gram-negative bacteria in broth and in model food system. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 36, 411-420p.
- # Tomasz A., Nachman S., Leaf H, 1991, Stable classes of phenotypic expression in methicillin resistant clinical isolates of staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 35(1), 124-129p.
- # Touaitia R, 2016, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : Emergence et mécanismes de résistance. *Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba*, 106p.
- # Twidwell E.K., Wagner J.J., Thiex N.J, 2002, Use a microwave oven to determine moisture content of forages. *Extension Extra*, 282p.

LISTE DES Références

~V~

- ✚ **Velasco D, del Mar Tomas M, Cartelle M, Beceiro A, Perez A, Molina F, Moure R, Villanueva R, Bou G, 2005**, Evaluation of different methods for detecting methicillin (oxacillin) resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother*, 55(3), 379-382p.
- ✚ **Verdier I, Durand G., Bes M., Kimberly L.T., Gerard L., Vandenesch F., Fattom A.I., Etienne J, 2007**, Identification of the Capsular Polysaccharides in *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates by PCR and Agglutination Tests. *J Clin Microbiol*, 45(3), 725–729p.
- ✚ **Vila R., Mundina M., Tomi F., FurSan R., Zacchino S., Casanova J., Canigüeral S, 2002**, Composition and antifungal activity of the essential oil of *Solidago chilensis*. *Planta med*, 68, 164-167p.

~W~

- ✚ **Weese J.S., Archambault M., Willey B.M., Dick H., Hearn P., Kreiswirth B.N., Said-Salim B., McGeer A., Likhoshvay Y., Prescott J.E., Low D.E, 2005**, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel, 2000–2002. *Emerg. Infect. Dis*, 11(3), 430-435p
- ✚ **Wood J.A., Bernards M.A., Wan W., Charpentier P.A, 2006**, Extraction of ginsenosides from North American ginseng using modified supercritical carbon dioxide. *Elsevier Science*, 39, 40-47p.
- ✚ **Wright C.W, 2002**, *Artemisia*. Taylor & Francis Group, 1^{ère} edition, New York, London, 344p.
- ✚ **Yashphe J., Feuerstein I., Barel S., Segal R, 1987**, The antibacterial and antispasmodic activity of *Artemisia herba-alba* Asso. II. Examination of essential oils from various chemotypes. *International Journal of Crude Drug Research*, 25(2), 89-96p.

LISTE DES Références

~Y~

- + **Yessef M, 1985**, Contribution à l'étude de l'installation et de la survie de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba Asso*) : germination, développement des plantules et survies des différentes catégories d'individus. *Thèse de Doctorat, Université Hassan II, Rabat, Maroc.*



Annexe

Annexe

Annexe n°1 : Composition des réactifs utilisés pour le screening phytochimique des plantes

I- Caractérisation des alcaloïdes

a- Réactif de Mayer

Chlorure mercurique.....	6.7 g
Iodure de potassium.....	25 g
Eau distillée.....	200 ml

b- Réactif de Wagner

Iodure de potassium.....	2 g
Iode.....	1.27 g
Eau distillée.....	100 ml

II- Caractérisation des tanins

a- Réactif de Stiasny

Formol à 40%.....	10 ml
HCl concentré.....	5 ml

Annexe n°2 : les milieux de culture

a- Bouillon nutritif (BN) (g/l)

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH = 7,3

Annexe

b- 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

pH = 7,3

c- Bouillon Mueller Hinton (BMH) (g/l)

Hydrolysate acide de caséine	17,5 g
Infusion de viande	2 g
Amidon	1,5 g
Eau distillée.....	1000ml

pH = 7,4

d- Gélose Mueller Hinton (MH) (g/l)

Extrait de viande.....	3 g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5 g
Amidon.....	1.5 g
Agar.....	16 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH = 7,3

e- Gélose à l'ADN (g/l)

Tryptone Bacto.....	20g
Chlorure de sodium.....	5g
Acide désoxyribonucléique.....	2g
Agar.....	15g

Annexe

Eau distillée.....1000ml

pH= 7,3

f- Gélose Viande Foie (VF)

Base viande foie.....30g

Glucose.....2g

Agar.....6g

Eau distillée.....1000ml

pH= 7,4

Annexe n°3 : les étapes de coloration de Gram

1-On réalise un frottis sur une lame de microscope à partir d'une suspension bactérienne: on agite la suspension afin de l'homogénéiser et d'éviter d'avoir un culot au fond du tube. Avec l'aide d'une anse que l'on aura préalablement stérilisé (en la passant sous le bec benzène), on prélève un peu de la solution bactérienne en plongeant le fil de platine de la anse dans le tube à essai.

2-On dépose ensuite ce prélèvement au milieu de la lame en faisant des rotations jusqu'à séchage.

3-On procède à la fixation du frottis soit avec de l'éthanol à 90° (5 minutes) puis on enflamme la lame ou on passe directement 3 fois la lame dans la flamme du bec Bunsen.

4-La coloration au violet de Gentiane (colorant basique): la lame est plongée pendant 2 à 3 minutes (en fonction de la concentration) dans la coloration au violet de gentiane. Toutes les bactéries sont colorées en violet puis rincer à l'eau déminéralisée.


5-Mordantage au lugol (solution iodo-iodurée) : étaler le lugol et laisser agir 20 secondes ; Rincer à l'eau déminéralisée. Cette étape permet de stabiliser la coloration violette.

Annexe

6-Décoloration à l'alcool : verser goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée obliquement. Surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincer sous un filet d'eau déminéralisée. L'alcool pénètre dans la bactérie. La coloration au violet de Gentiane disparaît. Les bactéries décolorées sont des bactéries Gram-. Si l'alcool ne traverse pas la paroi, on est en présence de bactéries Gram+.

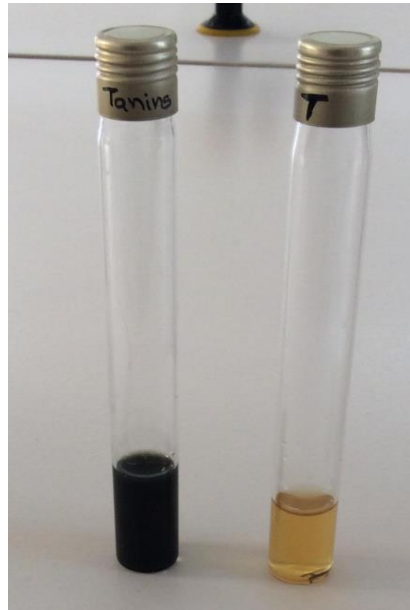
7-Contre coloration avec de la Fuchsine ou de la Safranine : laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée. Sécher la lame sur une platine chauffante à 40°C, 10 à 15 minutes. Les bactéries Gram- sont colorées en rose.

Annexe n°4 : Résultats du Screening phytochimique

Métabolites secondaires	Résultats
1- Alcaloïdes	

Annexe

2- Tanins



Annexe

3- Flavonoïdes



4- Leucoanthocyanes

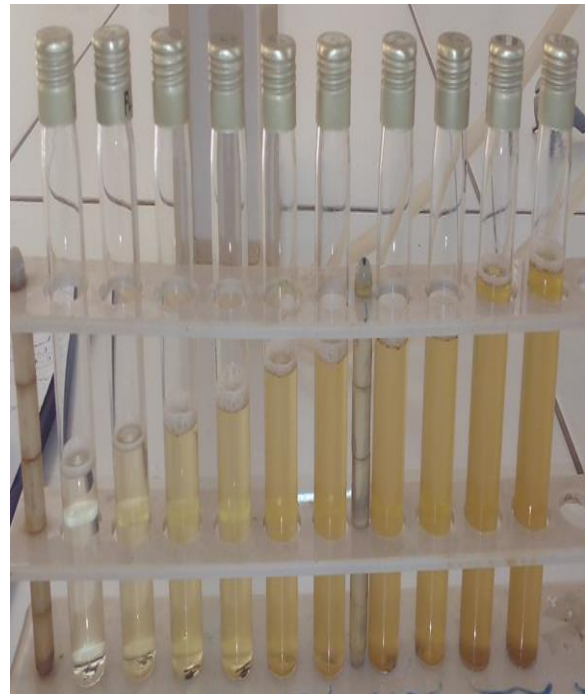


Annexe

5- Anthocyanes



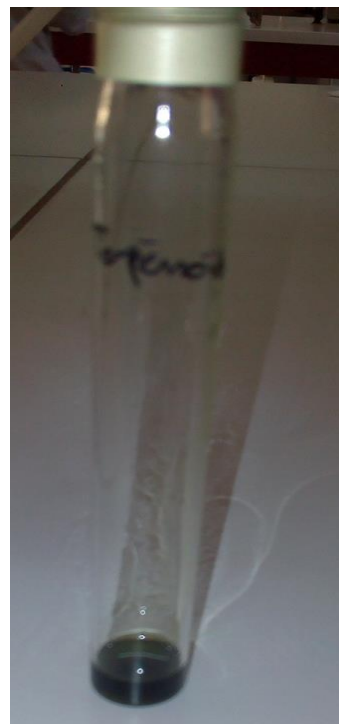
6- Saponosides



Annexe

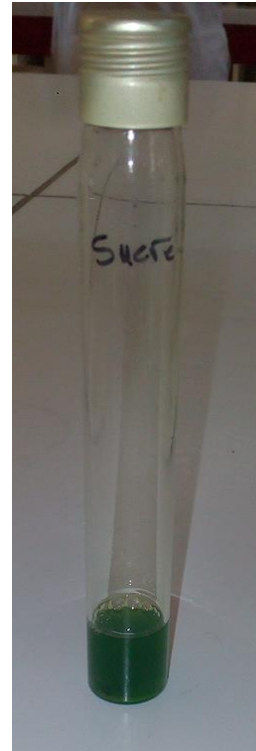


7- Terpénoïdes

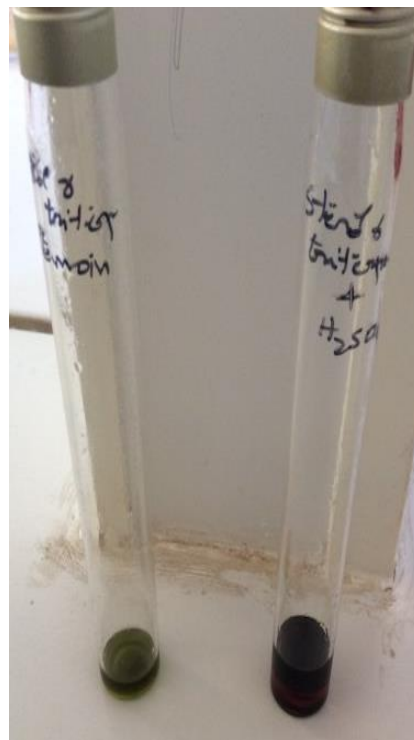


Annexe

8- Composés réducteurs



10- Stérols et tri terpènes



Annexe

9- Coumarines



11- Hétérosides stéroïde et triterpéniques

