

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique



Faculté : Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre

Département : Biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Master

**Thème :**

**Effet antibactérien des huiles essentielles d'*Ammi visnaga* sur quelques espèces bactériennes**

**Présenté par:**

- ✓ DJELLAB Nour El Houda
- ✓ FELLAH Fatma Zohra
- ✓ MERZOUG Djahida

**Devant le jury :**

Présidente	M <sup>elle</sup> ABDELLI W.	MCB	UDBKM
Promotrice	M <sup>elle</sup> LATTAB A.	MAB	UDBKM
Examinatrice	M <sup>me</sup> Sari F.	MCB	UDBKM

Année universitaire: 2019/2020

## **Remerciement**

*On tient à remercier, Dieu le tout puissant pour nous avoir donnée de la force et de la patience.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements à notre promotrice M<sup>elle</sup> LATTAB Aicha pour son encadrement, pour son aide précieuse et surtout pour tous ses conseils et ses remarques qui nous ont permis de réaliser ce modeste travail*

*On exprime nos profonds remerciements pour*

*M<sup>elle</sup> ABDELLI Wafae pour l'honneur qu'elle nous a fait pour assurer la présidence du jury.*

*M<sup>me</sup> SARI Fouzia d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.*

*Nous remercions toute la promo de Microbiologie Appliquée 2019-2020*

*Nos remerciements vont également à tous nos Enseignants de graduation qui ont participé à notre formation, qu'ils veuillent bien trouver ici l'expression de notre gratitude, et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à accomplir ce travail.*

## *Dédicaces*

*D'un grand cœur plein d'affection et de tendresse,*

*Je dédie ce travail :*

*A mes très chers parents pour leurs soutiens au long de mes études, je ne les remercierai  
jamais assez, pour tout ce qu'ils m'ont fait.*

*Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à MES CHERS PARENTS que je le dois, que Dieu  
vous garde.*

*A mes chères sœurs : ma tendre et chère belle-sœur "Houria" pour sa bonté, sa générosité de  
cœur et son aide ,Karima et Djamila.*

*A mes très chers frères : Mihob et Mohamed.*

*A mon compagnon, qui était ma soeur avant la petite amie "Fati".*

*A mes chères trinôme: Djahida et Fatma Zohra.*

*A mes proches et toute ma famille, et tous les gens qui j'aime.*

*A tous les autres que je n'ai pas cités mais à qui je pense aussi.*

*A tous mes collègues de la promotion 2019-2020.*

*Merci!*

Nour el Houda

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail*

*A mes chers parents,*

*Symbole de reconnaissance et de remerciements pour tout ce qu'ils  
m'ont donné dans ma vie, leur encouragement et leur soutien tout au long de  
mes études.*

*A mon chère fiancée Yacine*

*La personne la plus adorable et la plus plus gentille, celui qui  
m'a encouragé pour terminer mes études, et ma donnée l'espoir de la réussite.*

*A mon chère et seule frère AYOUB*

*A mon très chère amis NOURA*

*Symbol d'amitié*

*A mon très chère trinôme Nour el Houda et Djahida*

*A tout la famille fellah, mes proches et à ceux qui me donne de l'amour et de la vivacité*

*A tous mes amis et mes collègues qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de  
succès. A tous ceux que j'aime.*

*Merci !*

*FATMA ZOHRRA*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail*

*A mes très chers parents*

*Qui m'ont soutenu et encouragé durant ces années d'études*

*A mes très chers frères et mes très chères sœurs*

*A mon marié*

*A mon très chère trinôme fatma Zohra et Nour el Houda*

*A mes meilleurs amis : Hadjer, Sara et Hanaa*

*A tous mes amis et mes collègues qui m'ont toujours encouragé*

*Merci !*

*Djahida*

# Sommaire

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1

## Chapitre I : Infections nosocomiales et anti-biorésistance

I.1. Infections nosocomiales	
I.1.1. Présentation des infections nosocomiales	
I.1.1.1. Définition	3
I.1.1.2. Historique	3
I.1.3. Epidémiologie	4
I.1.4. L'origine des germes	4
I.1.5. Mode de transmission	5
I.2. Les principales bactéries responsables des infections nosocomiales	7
I.2.1. <i>Escherichia coli</i>	7
I.2.1.1. Historique	7
I.2.1.2. Description	7
I.2.1.3. Classification	8
I.2.1.4. Les pathologies de la bactérie <i>Escherichia coli</i>	8
1. <i>Escherichia coli</i> à l'origine des infections extra-intestinales (ExPEC)	9
2. <i>Escherichia coli</i> à l'origine des infections intestinales :	10
I.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	10
I.2.2.1. Historique	10
I.2.2.2. Description	11
I.2.2.3. Classification	12
I.2.2.4. Les infections et la pathogénicité à <i>Staphylococcus aureus</i>	12
I.2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
I.2.3.1. Historique	13
I.2.3.2. Description	13

<b>I.2.3.3. Pathogénicité de <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>	14
<b>I.2.3.4. Infections à <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>	15
<b>A. Infections aigüe</b>	15
<b>B. Infections chronique</b>	16
<b>I.3. Antibiorésistance</b>	16
<b>I.3.1. Les antibiotiques</b>	16
<b>I.3.1.1. Les antibiotiques naturels</b>	16
<b>I.3.1.2. Les antibiotiques synthétiques</b>	16
<b>I.3.2. Mécanisme d'action des antibiotiques :</b>	17
<b>I.3.3. Types de résistance aux antibiotiques</b>	18
<b>I.3.3.1. Résistance naturelle</b>	18
<b>I.3.3.2. Résistance acquise</b>	18
<b>1. La résistance chromosomique</b>	19
<b>2. La résistance extra-chromosomique</b>	19
<b>I.3.4. Mécanismes de résistance</b>	19
<b>I.3.4.1. Modification de la perméabilité membranaire</b>	19
<b>I.3.4.2. Les Systèmes d'efflux bactériens</b>	20
<b>I.3.4.3. Dégradation et modification enzymatique des antibiotiques</b>	20
<b>I.3.4.4. Altération des cibles cellulaires des antibiotiques</b>	21

## **Chapitre II : *Ammi visnaga***

<b>II.1. Phytothérapie</b>	22
<b>II.2. Propriétés des Apiacées</b>	22
<b>II.3. L'espèce <i>Ammi visnaga</i></b>	23
<b>II.4. Description botanique d'<i>Ammi visnaga</i></b>	23
<b>II.5. Position taxonomique d'<i>Ammi visnaga</i></b>	24
<b>II.6. Distribution Géographique</b>	24
<b>II.7. Principaux constituants phytochimique</b>	25
<b>II.8. Utilisations médicinales traditionnelles</b>	28
<b>II.9. Activités biologiques</b>	28
<b>II.9.1. Intérêt thérapeutique</b>	28
<b>II.9.2. Activité antimicrobienne</b>	29
<b>II.9.3. Activité antibiofilm</b>	29

## **Chapitre III : les huiles essentielles**

<b>III. Les huiles essentielles</b>	30
<b>III.1.Définition</b>	30
<b>III.2.Localisation des huiles essentielles</b>	30
<b>III.3. Rôle des huiles essentielles</b>	30
<b>III.4. Composition chimique</b>	30
<b>III.4.1. Les composés terpéniques</b>	31
<b>A. Les monoterpènes</b>	
<b>B. Les sesquiterpènes</b>	32
<b>III.4.2. Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane</b>	32
<b>III.4.3. Des composés d'origines diverses</b>	32
<b>III.5. Facteurs de variabilité</b>	35
<b>III.5.1. Origine botanique</b>	35
<b>III.5.2. L'organe producteur</b>	35
<b>III.5.3. Origine géographique</b>	35
<b>III.6. Les procédés d'extraction des huiles essentielles</b>	35
<b>III.6.1. L'hydrodistillation</b>	36
<b>III.6.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau</b>	37
<b>III.6.3. L'hydrodiffusion</b>	37
<b>III.6.4. L'expression à froid</b>	38
<b>III.6.5. Extraction par solvants</b>	39
<b>III.6.6. Extraction par les corps gras</b>	40
<b>III.6.7. Extraction par micro-ondes</b>	40
<b>III.7.Activités biologiques des huiles essentielles</b>	41
<b>III.8.Toxicité des huiles essentielles</b>	42
<b>III.8.1. Toxicité par voie orale</b>	42
<b>III.8.2.Toxicité dermique</b>	42
<b>III.8.3.Cytotoxicité</b>	43
<b>III.8.4. Neurotoxicité</b>	43
<b>III.9. La conservation des huiles essentielles</b>	43



## **Chapitre IV : Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles**

<b>IV.1. Activité antibactérienne</b>	44
<b>IV.1.1. Généralités</b>	44
<b>IV.1.2. Agents antimicrobiens</b>	44
<b>IV.2. Facteurs déterminants le degré d'activité des huiles essentielles</b>	45
<b>IV.2. 1. Activité liée à la composition chimique</b>	45
<b>IV.2. 2. Le type des microorganismes cible</b>	46
<b>IV.2.3. Mode d'action des huiles essentielles</b>	46
<b>IV.3. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne</b>	47
<b>IV.3.1. Evaluation de l'activité antibactérienne</b>	47
<b>IV.3.1.1.Méthode de diffusion en milieu solide</b>	47
<b>A. Par la méthode de diffusion en disque (aromatogrammes)</b>	48
<b>B. Par la méthode de diffusion en puits</b>	49
<b>IV.3.1.2. Méthode en phase vapeur (ou Micro-atmosphère)</b>	49
<b>IV.3.2. Méthode de dilution (Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI))</b>	50
<b>IV.3.2.1. Technique de micro-dilution en milieu liquide</b>	50
<b>IV.3.2.2. Technique de macro-dilution en milieu liquide</b>	51
<b>IV.3.2.3. Technique de macro-dilution en milieu solide</b>	52
<b>IV.3.2.4. La méthode de E-test (Méthode de diffusion et de dilution)</b>	54
<b>IV.3.2.5. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) en milieu solide</b>	54

## Liste des abréviations

<b>ATP :</b>	Antibiotique
<b>ATPase :</b>	Adénosine Triphosphatase
<b>BGN :</b>	Bactérie gram négative
<b>°C :</b>	Degré Celsius
<b>cm :</b>	<i>Centimètre</i>
<b>CMB :</b>	<i>Concentration minimale bactéricide</i>
<b>CMI :</b>	Concentration minimale inhibitrice
<b>DAEC :</b>	Escherichia coli à adhésion diffuse
<b>DL :</b>	Dose létale
<b>DMSO :</b>	Diméthyl sulfoxyde
<b>E :</b>	<i>Escherichia</i>
<b>EaggEC :</b>	<i>Escherichia coli Entéroaggrégative</i>
<b>EHEC :</b>	<i>Escherichia coli</i> Entérohémorragiques
<b>EIEC :</b>	<i>Escherichia coli</i> Entéroinvasives
<b>EPEC :</b>	<i>Escherichia coli</i> Entéropathogènes
<b>ETEC :</b>	<i>Escherichia coli</i> Entérotoxinogènes
<b>ExPEC :</b>	<i>Escherichia coli</i> à l'origine des infections extra-intestinales
<b>FK :</b>	Fibrose kystique
<b>G :</b>	gramme
<b>HEs :</b>	Huiles Essentielles.
<b>IN :</b>	Infection nosocomial
<b>Kg :</b>	Kilogramme
<b>L :</b>	Linné
<b>MDR :</b>	Multi- résistance aux drogues
<b>MFP :</b>	Membrane Fusion Protein
<b>Mg :</b>	milligramme
<b>ml :</b>	millilitre
<b>mm :</b>	Millimètre
<b>NMEC :</b>	méningites néonatales
<b>OMS :</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>P :</b>	<i>Pseudomonas</i>
<b>PBPs :</b>	Penicilin-binding protein

**TTC :** Triphényl tétrazolium chloride  
**VMHD :** Vacuum Microwave Hydrodistillation  
**% :** Pourcentage

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b>	Transmission de l'infection hospitalière	6
<b>Figure 2 :</b>	Observation microscopique d' <i>Escherichia coli</i> dans le microscope électronique	8
<b>Figure 3 :</b>	Micrographie électronique à balayage colorisée de <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Grossissement x 18,501</i>	11
<b>Figure 4 :</b>	Observation au microscope électronique d'une souche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
<b>Figure 5 :</b>	Mécanisme d'action des antibiotiques sur les cellules bactériennes	18
<b>Figure 6 :</b>	<i>Ammi visnaga</i> L	24
<b>Figure 7 :</b>	Structure chimique de quelques composés des huiles essentielles	34
<b>Figure 8 :</b>	Montage d'extraction par Hydrodistillation	36
<b>Figure 9 :</b>	Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau	37
<b>Figure 10 :</b>	Montage d'extraction par hydrodiffusion	38
<b>Figure 11 :</b>	Montage d'extraction par l'expression à froid	39
<b>Figure 12 :</b>	Montage d'extraction par micro-ondes	40
<b>Figure 13 :</b>	Principe de la méthode de diffusion par disque.	48
<b>Figure 14 :</b>	Principe de la méthode de diffusion en puits.	49
<b>Figure 15 :</b>	Principe de la méthode de micro-atmosphère.	50
<b>Figure 16 :</b>	La détermination de CMI par micro-dilution en microplaque de 96 puits par l'utilisation un indicateur de croissance en solution.	51
<b>Figure 17 :</b>	Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).	52
<b>Figure 18 :</b>	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de macro-dilution en milieu solide	53
<b>Figure 19 :</b>	La méthode E-test (Méthode de diffusion et de dilution).	54
<b>Figure 20 :</b>	Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB).	55

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b>	La classification d' <i>Escherichia coli</i> selon le Bergey's manual	8
<b>Tableau 2 :</b>	Classification de <i>Sataphylococcus aureus</i> selon le Bergey's manual	12
<b>Tableau 3 :</b>	Le mécanisme d'action des antibiotiques sur les cellules bactériennes	17
<b>Tableau 4 :</b>	La classification d' <i>Ammi visnaga</i> selon Bokbenit	24
<b>Tableau 5</b>	Composition chimique de l' <i>Ammi visnaga</i>	27

## Résumé

La prolifération de bactéries résistantes est devenue une préoccupation majeure dans le domaine de la santé, d'où l'importance d'orienter les recherches vers des nouvelles molécules. La science moderne et les progrès technologiques accélèrent la découverte et le développement des substances naturelles à base des plantes avec une activité thérapeutique améliorée et des effets secondaires réduits.

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Ammi visnaga* sur quelques espèces bactériennes «*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*», mais à cause la situation exceptionnelle de cette année (la pandémie de Corona Virus (Covid 19), ce travail ne pote que la partie bibliographique.

On a commencé par la présentation des principales bactéries responsables des infections nosocomiales et leurs mécanismes de résistance aux antibiotiques. Puis on a fait une recherche sur la plante *Ammi visnaga*, dont on a cité des travaux sur l'activité antibactérienne de cette plante où plusieurs études montrent leur propriété antibactérienne. Ensuite on a ajouté une étude sur les huiles essentielles et on a déterminé par les méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne pour prendre quelque connaissance sur les différentes techniques d'extraction et les techniques qu'on peut utiliser pour l'étude de l'effet antibactérien d'un composé ou d'un extrait biologique.

**Mots clés :** *Ammi visnaga*, Huiles essentielles, activité antibactérienne, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

## **Abstract**

The proliferation of resistant bacteria has become a major concern in the health field, hence the importance of directing research towards new molecules. Modern science and technological advancements are accelerating the discovery and development of natural herbal substances with improved therapeutic activity and reduced side effects.

In this study we were interested in the antibacterial activity of essential oils of *Ammi visnaga* on some bacterial species "*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*", but because of the exceptional situation of this year (the pandemic of Corona Virus (Covid 19)), this work only reviews the bibliographic part.

We started with a presentation of the main bacteria responsible for nosocomial infections and their mechanisms of resistance to antibiotics. Then we did a research on the plant *Ammi visnaga*, where we cited works on the antibacterial activity of this plant where several studies show their antibacterial property. Then we added a study on essential oils and we determined by the evaluation methods of antibacterial activity to gain some knowledge of the different extraction techniques and techniques that can be used for the study of the antibacterial effect of a compound or a biological extract.

**Key words :** *Ammi visnaga*, Essential oils, antibacterial activity, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

## الملخص

أصبح انتشار البكتيريا المقاومة مصدر قلق كبير في المجال الصحي، ومن هنا تأتي أهمية توجيه البحث نحو جزيئات جديدة. يعمل العلم الحديث والتقدم التكنولوجي على تسريع اكتشاف وتطوير المواد الطبيعية العشبية مع تحسين النشاط العلاجي وتقليل الآثار الجانبية.

اهتمينا في هذا العمل بدراسة النشاط المضاد للبكتيريا لزيت الاساس لنبات *Ammi visnaga* على بعض الأنواع البكتيرية (*Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Staphylococcus aureus*) ولكن بسبب الوضع الاستثنائي لهذا العام (وباء فيروس كورونا (كوفيد 19) ، هذا العمل يحتوي على الجزء البيليوغرافي فقط.

بدأنا بعرض للبكتيريا الرئيسية المسؤولة عن التهابات المستشفيات وآليات مقاومتها للمضادات الحيوية. ثم قمنا بإجراء بحث على نبات *Ammi visnaga* حيث تم الاستشهاد بالأعمال المتعلقة بالنشاط المضاد للبكتيريا لهذا النبات حيث أظهرت عدة دراسات خصائصها المضادة للبكتيريا ثم أضفنا دراسة على الزيوت الأساسية وطرق تقييم النشاط المضاد على البكتيريا لاكتساب بعض المعرفة حول تقنيات الاستخراج المختلفة وطرق التي يمكن استخدامها لدراسة التأثير المضاد على البكتيريا لمركب أو مستخلص بيولوجي.

**الكلمات المفتاحية:** *Ammi visnaga*، زيت الاساس، نشاط مضاد للجراثيم، *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa*.



# Introduction

## Introduction

L'efficacité de l'antibiothérapie dans le contrôle et la limitation de la dissémination des agents pathogènes a ainsi fait naître l'espoir de pouvoir éradiquer l'ensemble des maladies infectieuses. Malheureusement, l'émergence des bactéries résistantes aux antibiotiques a mis un terme à cette vague d'optimisme.

La montée des résistances est due à la prescription immodérée et souvent inappropriée des antibiotiques. Administrés à titre curatif ou préventif, les antibiotiques favorisent l'élimination des bactéries sensibles et la sélection des plus résistantes. Ce phénomène de résistance aux antibiotiques est général et concerne toutes les espèces bactériennes.

La prolifération de bactéries résistantes est devenue une préoccupation majeure dans le domaine de la santé. En devenant insensibles à tout traitement, ces bactéries limitent la gamme d'antibiotiques disponibles en thérapeutique médicale. La situation est d'autant plus alarmante que les infections causées par les bactéries résistantes entraînent souvent une prolongation de l'état pathologique et un accroissement du taux de mortalité. L'acquisition de ces multiples résistances a engendré une perte d'efficacité de l'antibiothérapie pour, finalement, conduire à une impasse thérapeutique.

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes de la résistance bactérienne. Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien et antioxydant. Ainsi les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives (Bruneton, 1999 ; Teuscher *et al.*, 2005). Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses (Chalchat *et al.*, 1997; Baser *et al.*, 2001).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire (O.M.S, 2002). Des avantages économiques considérables dans le développement de cette médecine et dans l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des diverses maladies ont été constatés (Muthu *et al.*, 2006). Par conséquent, la recherche des principes actifs potentiels de la plante est plus que jamais d'actualité.

Les huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. La connaissance des huiles essentielles remonte à fort longtemps puisque l'homme préhistorique pratiquait déjà, à sa manière, l'extraction des principes odorants des plantes. Il plongeait, dans un même récipient rempli d'eau, des plantes odorantes et des pierres brûlantes. La vapeur dégagée entraînait les molécules volatiles, puis le tout était recueilli à s'aide d'une peau d'animal dont l'essorage donnait quelques gouttes d'huile essentielle (Robert, 2000).

*Ammi visnaga* (L.) Lam. (khella) est une plante médicinale commerciale d'origine méditerranéenne. Les extraits des semences de cette plante sont employés dans la médecine pour le traitement des maladies coronariennes et de l'asthme bronchiale. La khelline, la visnagine et la visnadine sont des principes actifs des fruits d'*Ammi visnaga* qui sont très utilisés dans l'industrie pharmaceutique (Sittig, 1988 ; Grayna *et al.*, 1998 ; Kleeman *et al.*, 1999).

Ce travail a pour objectif, l'extraction et l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Ammi visnaga*.

Mais à cause la situation exceptionnelle de cette année (la pandémie de Corona Virus (Covid 19), ce mémoire ne porte que la partie bibliographique qui englobe quatre chapitres.

Dans le premier chapitre, nous aborderons la présentation des infections nosocomiales et l'antibiorésistance.

Le deuxième chapitre présente une connaissance des différentes caractéristiques de la plante choisi (*Ammi visnaga*), leur description, classification, composition chimique, utilisation et leurs propriétés antibactériennes.

Pour le troisième chapitre, on a présenté les huiles essentielles (origine, rôle, localisation), composition chimique et les différentes techniques d'extraction.

Alors que le quatrième chapitre (Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles) développe les différentes techniques qu'on peut utiliser pour l'étude de l'effet antibactérien d'un composé ou d'un extrait biologique.

# **Chapitre I : Infections nosocomiales et antibiorésistance**

## I. Infections nosocomiales

### I.1. Présentation des infections nosocomiales

#### I.1.1. Définition

On appelle infection nosocomiale une maladie infectieuse (bactérienne, fongique, parasitaire, virale) identifiable par la clinique ou le laboratoire et acquise dans une structure de soins. Elle peut concerner soit un patient qui a été hospitalisé ou qui a subi des soins en ambulatoire dans la structure de soins, soit un personnel soignant dans le cadre de son activité professionnelle. Le délai d'acquisition est variable selon le type d'infection mais il est habituellement admis qu'un minimum de 48h entre l'admission et les premiers symptômes est nécessaire pour parler d'infection nosocomiale (Éric, 2002). Une infection est dite nosocomiale dans les sites d'une opération si elle survient dans les 30 jours après l'acte opératoire (ou 1 an en cas de prothèse ou d'implant), même si le patient n'est plus hospitalisé (François *et al.*, 2007).

#### I.1.2. Historique

Les infections dites nosocomiales (du grec *nosos*, maladie, et *komein*, soigner, et par extension, du latin *nosocomial*, hôpital). Dès le milieu du 19<sup>ème</sup> siècle, des progrès majeurs ont été réalisés pour limiter le développement d'infections hospitalières. En 1846, le Docteur Ignaz Semmelweis observe que les fièvres puerpérales sont quatre fois moins fréquentes si les accouchements sont effectués par des sages-femmes que des carabines qui pratiquent également des autopsies, en leur imposant une désinfection des mains avant l'accouchement, la mortalité par fièvre puerpérale est passée de 11,4 à 1% (Astragneau, 1998).

Les travaux de Louis Pasteur et de Robert Koch ont permis de comprendre la nature et les modes de transmission des maladies infectieuses, ceci aura pour conséquence le développement des techniques d'isolement visant à interférer avec les divers modes de transmission des agents infectieux. En 1942, Alexander Fleming découvrait la pénicilline, depuis cette date, les antibiotiques ont amené un vent d'optimisme et d'euphorie qui laissa croire que la pathologie infectieuse, hospitalière ou non, pourra aisément être maîtrisée (Jean Paul, 2002).

Dès la fin des années cinquante, on a vu l'apparition des épidémies dévastatrices d'infections hospitalières à *Staphylocoques dorés* résistants à la pénicilline. Ceci va susciter un regain d'intérêt pour les infections hospitalières. En effet, si le renforcement des mesures d'hygiène et la découverte de la pénicilline résistante aux pénicillinases vont permettre de mieux contrôler les infections à *Staphylocoques dorés*, d'autres agents, avant tous les bacilles Gram négatif (BGN)

mais aussi toutes sortes de bactéries ou de champignons jugés jusqu'alors non pathogènes vont prendre le relais et être à l'origine des infections hospitalières observées aujourd'hui. Ces infections sont difficiles à contrôler car ces agents appartiennent le plus souvent à la flore normale du patient et leur résistance ne fait que s'élargir parallèlement au développement des nouveaux antibiotiques (Paul et Robert, 1998).

### I.1.3. Epidémiologie

- Les infections nosocomiales sont un problème de santé publique préoccupant. Leur prévalence en France est estimée à 6-7% atteignant 20% dans les services de réanimation. Les services les plus touchés sont ceux de réanimation, d'hématologie, de chirurgie et brûlés.
- Les principaux micro-organismes responsables sont les bacilles gram négatif (53%) et les Cocci gram positif (33%) : *Escherichia coli* (21%), *Staphylococcus aureus* (16%), *Pseudomonas aeruginosa* (11%), *Enterococcus spp* (8%). Ces quatre espèces représentent 56% des microorganismes retrouvés dans les infections nosocomiales (Francois *et al.*, 2007).
- La mortalité due aux infections nosocomiales est mal documentée, mais représente certainement plusieurs milliers de décès par an, notamment par pneumonie nosocomiale (Francois *et al.*, 2007).
- Les 5 principaux sites des infections nosocomiales représentent 70% de l'ensemble des infections nosocomiales avec par ordre d'importance : les infections urinaires (35%), les infections respiratoires basses (12%), les infections du site opératoire (11%), les bactériémies (6%) et les infections par cathéter (4%) (Francois *et al.*, 2007).

### I.1.4. L'origine des germes

- **La flore saprophyte du malade lui-même**

Elle subit au cours des premiers jours de l'hospitalisation des modifications qualitatives. Les bacilles à coloration de Gram négative et plus accessoirement les levures (*Candida*) remplacent les Cocci à coloration de Gram positive ou les anaérobies. Ces flores saprophytes modifiées colonisent les sites préférentiels chez le malade entraînant une infection de l'appareil urinaire, des plaies opératoires, ou du parenchyme pulmonaire (Bouvet et Crimont, 1989).

- **Le personnel soignant (médical et paramédical)**

La contamination peut se faire par le biais du personnel soignant qui transmet les germes d'un patient à l'autre avec ses instruments ou ses mains souillées (Fagon, 1998).

- **L'environnement**

Il est moins déterminant dans le cadre de programme de prophylaxie que les deux précédentes origines. Il peut être contaminé par le personnel ou par le patient. Il comprend les divers appareillages d'assistance respiratoire et de monitoring par voie intra vasculaire, les lavabos, les instruments (stéthoscope, tensiomètre ...), les liquides et les tubulures, la nourriture et l'air ambiant (Tasseau et Baron, 1989).

### **I.1.5. Mode de transmission**

#### **a) Auto-infection**

C'est lorsque le malade s'infecte soit par ses propres germes in situ soit à partir de l'environnement immédiat (surface de la peau, vêtement, lit). Ces infections sont dues généralement aux germes saprophytes qui deviennent pathogènes à la suite d'une antibiothérapie itérative ou d'un traitement immunosuppresseur. Les complications infectieuses respiratoires liées au décubitus et ses conséquences sur le drainage des voies aériennes peuvent être des auto-infections. Enfin certains malades immunodéprimés (aplasie médullaire, SIDA) peuvent avoir des bactériémies dues aux germes intestinaux qu'ils hébergent. Ces infections rigoureusement endogènes sont aussi des auto-infections (Berche *et al.*, 1991).

#### **b) Hétéro infection**

On parle d'hétéro-infection lorsqu'un agent infectieux est transporté d'un malade à un autre provoquant une infection dite croisée ou hétéro-infection.

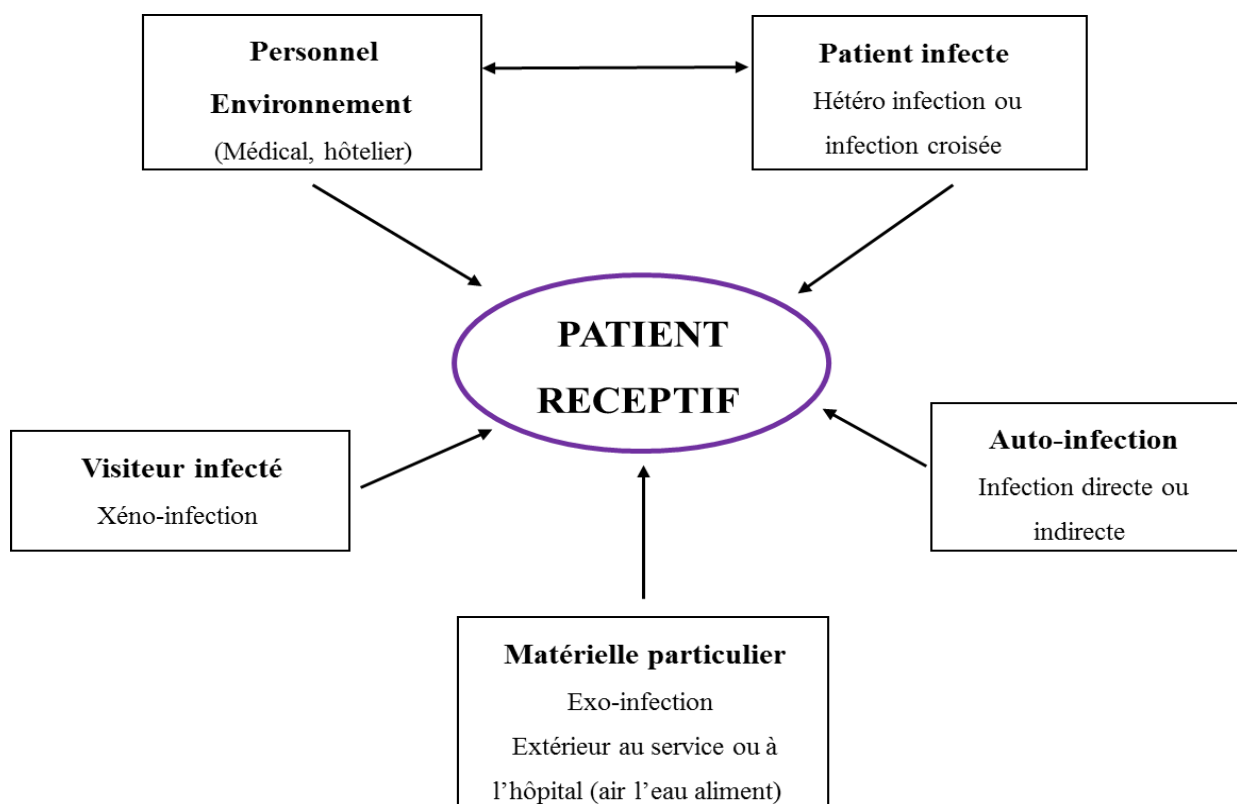
L'agent infectieux est rarement transmis par contact direct ou par voie aérienne. Le plus souvent le vecteur est le personnel soignant par ses mains, et ou ses instruments de travail. On parle d'infection manu portée ou d'infection transmise par le matériel d'exploration ou de soin. C'est le mode de contamination majeure lors de nombreuses épidémies et probablement le plus sensible aux mesures prophylactiques (Tasseau et Baron, 1989).

### c) Xéno-infection

Ce sont des infections qui sévissent sous forme endémique ou épidémique dans la population extrahospitalière. Les agents infectieux sont importés à l'hôpital par les malades, le personnel soignant, ou 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. Lorsque la maladie infectieuse est le seul motif d'hospitalisation, les mesures immédiates d'isolement peuvent être prises. Mais dans certains cas l'infection est indépendante du motif d'hospitalisation (Tasseau et Baron, 1989).

### d) 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 (Ouhibi, 2015).



**Figure 01 :** Transmission de l'infection hospitalière (APPIT,1999).



## I.2. Les principales bactéries responsables des infections nosocomiales

### I.2.1. *Escherichia coli*

#### I.2.1.1. Historique

En 1885, Theodor Echerich (1857-1911) découvre un bacille qu'il dénomma Bactérium coli commun dans des selles de nourrissons (Leminor *et al.*, 1954). Médecin allemand, il fit une partie de ses études de médecine à Strasbourg Thèse de doctorat en pédiatrie en 1881 à Munich « A propos des bactéries intestinales des nourrissons et de leur rapport avec la physiologie de la digestion ». En 1904, cette même bactérie a été isolée dans un cas d'infection urinaire et en 1919, Castellani et Challmers donnent le nom d'*Escherichia* à cette bactérie (Buttiaux *et al.*, 1956).

#### I.2.1.2. Description

*Escherichia coli* est un bacille à coloration de Gram négative (**Figure 2**) de la famille des *Enterobacteriaceae*, de 2-3 microns de long et de 0,6 micron de large, et aux extrémités arrondies. L'organisme peut être variable en taille et en forme. Les souches sont en général mobiles et possèdent une couronne flagellaire. Certaines souches sont capsulées et donnent des cultures mucoïdes sur milieu solide. Les *E. coli* forment des amas entourés de longs cils péritriches (Payne, 1988).

*E. coli* possède une catalase mais elle est dépourvue d'oxydase. L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries. Ces dernières permettent l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille. (Avril *et al.*, 2000).

*E. coli* est un type de coliforme fécal faisant partie des bactéries trouvées dans les intestins d'humains et d'animaux à sang chaud. La plupart des *E. coli* sont inoffensifs et ont une fonction utile dans le corps en arrêtant la croissance des espèces bactériennes nuisibles et en synthétisant des vitamines nécessaires (vitamines K), qui aide à la coagulation sanguine (Aril *et al.*, 1988). Cependant, elles peuvent être des pathogènes opportunistes, tandis que d'autres peuvent causer des maladies gastro-intestinales chez des individus sains quand elles sont ingérées. *E. coli* est présent dans le gros intestin, donc elle est aussi présente dans la matière fécale des humains et des animaux. Si la contamination récente de sources d'eau avec des vidanges ou des déchets animaux a lieu, *E. coli* sera présente (Chalmers, 2000).



**Figure 02 :** Observation microscopique d'*Escherichia coli* dans le microscope électronique (Thorene, 1994).

### I.2.1.3. Classification

La classification de la souche *Escherichia coli* figuré dans le tableau suivant :

**Tableau 01 :** La classification d'*Escherichia coli* selon le Bergey's manual (2012).

Règne	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gamma Proteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli (E. coli)</i>

### I.2.1.4. Les pathologies de la bactérie *Escherichia coli*

*E. coli* peut devenir pathogène lors de l'affaiblissement des défenses de l'hôte et/ou suite à l'acquisition d'attributs de virulence. Les souches d'*E. coli* pathogènes sont responsables d'atteintes et d'infections intestinales ou extra-intestinales et sont classées en pathotypes selon les manifestations cliniques engendrées, les facteurs de virulence hébergés et les interactions cellulaires. Il existe deux catégories de pathovars, en se basant sur leur pathogénicité :

- ✓ Les *Escherichia coli* à l'origine de pathologies extra- intestinales
- ✓ Les *Escherichia coli* à l'origine de pathologies intestinales (Molbak et Scheutz, 2006).

### 1. *Escherichia coli* à l'origine des infections extra-intestinales (ExPEC)

Ils peuvent impliquer chez leurs hôtes, lors d'infections du tractus urinaire (ITU) des méningites néonatales (NMEC) ; ou des septicémies. Ils posent problème autant en médecine humaine, notamment à cause des multiples résistances acquises portées le plus souvent par des plasmides. Les ExPEC forment un groupe hétérogène d'*Escherichia coli*, pouvant se disséminer partout dans l'organisme. Parmi ces facteurs de virulence comme les adhésines jouent un rôle central, permettant la colonisation de milieux extra-digestifs, l'internalisation des souches et l'échappement aux réactions immunitaires de leurs hôtes (Mokady, 2005).

### 2. Les *Escherichia coli* à l'origine des infections intestinales :

Les souches pathogènes d'*Escherichia coli* sont reconnues comme des agents responsables de syndromes diarrhéiques d'origine alimentaire ou hydrique. Six principaux pathotypes ou pathovar intestinaux sont décrits en fonction des signes cliniques (Anderade *et al.*, 1989).

#### A. Les *Escherichia coli* Entérotoxigènes (ETEC)

Les ETEC sont à l'origine d'épisodes de diarrhée aqueuse, modérée à sévère, peu fébriles, associés à des nausées et à des crampes abdominales. Dans les pays en voie de développement, les ETEC sont la cause majeure de cas de diarrhée aqueuse aiguë chez les enfants de moins de 5 ans et de « diarrhée du voyageur » ou « turista » (Gillespie et Hawkey 2006).

#### B. Les *Escherichia coli* Entéroinvasives (EIEC)

Les EIEC sont responsables de syndrome dysentérique caractérisé par une forte fièvre, des crampes abdominales et des nausées, accompagnées d'une diarrhée aqueuse évoluant rapidement vers une dysenterie (diarrhée contenant du sang et du mucus) (Saidi, 2018).

#### C. Les *Escherichia coli* à adhésion diffuse (DAEC)

Les DAEC sont un groupe hétérogène qui produit une adhérence diffuse sur les cellules HeLa et Hep-2. Ils peuvent coloniser le tractus urinaire et être à l'origine d'infection urinaire récurrente chez l'adulte (Gillespie et Hawkey, 2006).

**D. Les *Escherichia coli* Entéroaggrégatives (EaggEC, ou EAEC)**

Considérées comme des pathogènes émergents, les EAEC sont la deuxième cause de diarrhée des voyageurs après ETEC dans les pays développés et les pays en voie de développement. Les EAEC sont également reconnues comme une cause de diarrhée endémique et épidémique dans le monde entier. La diarrhée provoquée par les EAEC est souvent aqueuse, mais elle peut être accompagnée de mucus ou de sang (Gillespie et Hawkey, 2006).

**E. Les *Escherichia coli* entéropathogènes (EPEC)**

Les EPEC sont responsables de cas de diarrhée sévère chez les enfants dans les pays en voie de développement. Par contre, dans les pays industrialisés, l'incidence des infections dues aux EPEC a fortement diminué (Gillespie et Hawkey, 2006).

**F. Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC)**

Les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) sont des bactéries pathogènes et zoonotiques qui se retrouvent dans l'eau et parfois dans les aliments. Elles sont responsables de diarrhée, de colite hémorragique et de syndrome urémique hémolytique chez l'homme mais peu ou pas de maladie perceptible chez les animaux considérés comme des réservoirs (Gillespie et Hawkey, 2006).

**I.2.2. *Staphylococcus aureus*****I.2.2.1. Historique**

*Staphylococcus aureus* fut découverte dans les années 1870 lors de l'étude microscopique d'échantillons de pus (Orenstein, 2011). Ces bactéries de forme sphérique furent initialement nommées « micrococci » du grec kokkos pour grain. En 1880, Alexander Ogston, chirurgien écossais disciple de Lister, fut le premier à identifier formellement les micrococci comme la cause des abcès suppurés. La poursuite de ses travaux aboutit, en 1882, à la description des *Staphylocoques* (du grec « staphyle » pour grappe de raisin), par opposition aux *Streptocoques* (coques en chaîne) précédemment décrits par Billroth en 1874. En 1884, Anton J. Rosenbach, chirurgien allemand, isola deux souches différentes de *Staphylocoques* qu'il baptisa en fonction de la couleur des colonies obtenues : *S. aureus* (dorées) et *S. albus* (blanches).

### I.2.2.2. Description

Initialement, les *Staphylocoques* furent classés au sein du genre *Micrococcus*. Dans les années 1900, les premières classifications bactériennes officielles distinguèrent les genres *Staphylococcus* et *Micrococcus* tout en les regroupant au sein de la famille des *Micrococcaceae* (Hill, 1959). Récemment, les données de phylogénie moléculaire associées à des analyses chimiques de ces deux genres ont conduit à la création de la famille des *Staphylococcaceae* à laquelle appartient *S. aureus* (Whitman, 2009).

*S. aureus* est de forme sphérique (coque) et se regroupe généralement en amas, souvent qualifiés de grappes de raisin (**Figure 03**). 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 mesurent de 0,5 à 1,5 $\mu$ m de diamètre, sont immobiles, non sporulés et à la coloration de Gram positive (Tille, 2014). Comme chez la majorité des bactéries à coloration de Gram positive, 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.

*S. aureus* a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif. Bactéries possèdent une activité catalase, coagulase, phosphatase, ainsi que des nucléases thermostables mais pas d'oxydase (Behem, 1996). Elles sont hémolytiques, ont la capacité de liquéfier la gélatine et de fermenter de nombreux sucres comme le glucose, le saccharose, le lactose et le mannitol. Le diagnostic permettant de distinguer *S. aureus* des autres espèces est basé sur des tests réalisés sur colonies tels que l'identification du facteur agglomérant, de la coagulase, des hémolysines et de la désoxiribonucléase thermostable ou thermonucléase (Brown, 2005).



**Figure 03 :** Micrographie électronique à balayage colorisée de *Staphylococcus aureus*  
Grossissement x 18,501. (Diab Bruxelles, 2012)

## I.2.2.3. Classification

**Tableau 02** : classification de *Staphylococcus aureus* selon le Bergey's manual (2012).

Règne	Bactéria
<b>Phylum</b>	Firmicute
<b>Classe</b>	Bacilli
<b>L'ordre</b>	Bacillale
<b>Famille</b>	<i>Staphylococcaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Staphylococcus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>

I.2.2.4. Les infections et la pathogénicité à *Staphylococcus aureus*

Les infections à *Staphylocoque* se présentent souvent sous la forme des infections suppuratives superficielles cutanéomuqueuses pouvant se compliquer par diffusion à distance du foyer infectieux initial. Il peut parfois s'agir d'infections non suppuratives via un phénomène toxinique.

Plusieurs facteurs expliquent la fréquence et la gravité des infections à *S. aureus*, le caractère ubiquitaire de la bactérie, la multi résistance de certaines souches aux antibiotiques, les facteurs de virulence où *S. aureus* a en effet des capacités de sécrétion de facteurs d'adhésion, d'enzymes de résistance ou encore de toxines.

*S. aureus* est une bactérie pyogène pouvant être responsables de différents types d'infections, selon la nature de la souche et la qualité de la réponse immunitaire de l'hôte.

Les toxémies : la sécrétion de toxines in vivo lors d'une infection par *S. aureus* peut entraîner des pathologies sévères telles que le syndrome du choc toxique, rare mais fatal (Del Solar *et al.*, 1987). La sécrétion d'entérotoxines, quant à elle, peut entraîner une intoxication alimentaire suite à l'ingestion d'aliments contaminés (Soares *et al.*, 1997).

Les infections suppuratives : *S. aureus* est responsable d'infections cutanéomuqueuses suite à sa pénétration au travers de l'épithélium, notamment à la faveur d'une brèche. Ces infections peuvent rester locales, mais peuvent aussi être le point de départ de suppurations

profondes ou d'infections généralisées et conduire à une septicémie éventuellement accompagnée d'un purpura fulminans (Soares *et al.*, 1997).

Les infections communautaires : Au sein d'une communauté (e.g internats, maisons de retraite, casernes militaires) la majorité des infections à *S. aureus* sont des infections de la peau ou des tissus mous. Néanmoins des cas mortels ont aussi été rapportés, comme des pneumonies nécrosantes ou des septicémies (Maltezou *et al.*, 2005). Les infections communautaires sont plus fréquentes chez les enfants en bonne santé que chez les adultes (Herold *et al.*, 1998).

Les infections nosocomiales : Le Staphylocoque doré est la bactérie responsable du plus grand nombre d'infections nosocomiales. Environ 16 % des infections nosocomiales sont causées par *Staphylococcus aureus*.

Ces infections nosocomiales sont à l'origine de nombreuses idées reçues : le Staphylocoque que l'on pense "attraper" à l'hôpital par défaut d'hygiène est en général celui que l'on porte soi-même. Le mécanisme est le suivant : la personne est porteuse de la bactérie au niveau de la muqueuse nasale par exemple. Suite à une intervention chirurgicale, la bactérie va pénétrer la barrière cutanée à l'endroit où il y a eu une rupture (zone de l'intervention, endroit où a été posé un cathéter, etc.). Lorsqu'on est hospitalisé et alité toute la journée, les défenses immunitaires s'affaiblissent. La combinaison de ces deux facteurs favorise les infections nosocomiales.

### **I.2.3. *Pseudomonas aeruginosa***

#### **I.2.3.1. Historique**

*Pseudomonas aeruginosa* a été découverte pour la première fois en 1872 par le chercheur allemand Schroeter sous l'appellation *Bacterium aeruginosum*, après une observation d'un aspect bleuté du pus en présence de la bactérie. Cette coloration est à l'origine de son nom, *aerugo* signifiant vert-de-gris en latin. En 1882, le pharmacien militaire Charles Gessard isola le bacille et en fit la première description dans sa thèse de doctorat et lui donna le nom de bacille pyocyanique (Pitt, 1998).

#### **I.2.3.2. Description**

*P. aeruginosa* est un pathogène opportuniste responsable d'infections nosocomiales graves, d'infections potentiellement mortelles chez les personnes immunodéprimées et d'infections chroniques chez les patients atteints de mucoviscidose.

*P. aeruginosa* (ou bacille pyocyanique) est une bactérie à coloration de Gram négative, dépourvue de capsule, bâtonnets ( $0,5-1 \times 1,5-5 \mu\text{m}$ ), aérobie stricte. Habituellement chimioorganohétérotrophes, très variés dans leur nutrition. Croissent souvent sur sels inorganiques, additionnés d'une source de carbone organique, certaines souches sont chimio litho autotrophes. Catalase-positifs. Habituellement oxydase-positifs.

Comme la plupart des espèces appartenant au genre *Pseudomonas*, l'espèce *P. aeruginosa* n'exige aucun facteur de croissance. C'est une bactérie hautement versatile dotée d'une grande adaptabilité nutritionnelle et métabolique. Par conséquent, elle peut être isolée en culture sur des milieux ordinaires ou sur des milieux rendus sélectifs par addition d'inhibiteur, tel que le cétrimide. Sa température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37°C. Les cultures de *P. aeruginosa* dégagent une odeur caractéristique, et produisent le plus souvent des pigments de pyocyanine et de pyoverdine (Christiane, 2013).



**Figure 04 :** Observation au microscope électronique une souche de *Pseudomonas aeruginosa* (Campanac *et al.*, 2002)

### I.2.3.3. Pathogénicité de *Pseudomonas aeruginosa*

La virulence de *P. aeruginosa* dépend des facteurs dits cellulaires, c'est-à-dire associés à la bactérie et principalement impliqués dans l'adhérence et la motilité et ceux dits extracellulaires, correspondant aux toxines et protéases sécrétées.

*P. aeruginosa* utilise ainsi plusieurs systèmes de sécrétion pour mettre en contact les toxines produites et les cellules. Les quatre systèmes de sécrétion, ubiquitaires chez les bactéries à Gram négatif, ont été décrits chez *P. aeruginosa*. Deux de ces systèmes sont particulièrement impliqués dans la pathogénicité de la bactérie.



Le système de sécrétion de type II secrète des exo-produits (toxines et enzymes) dans l'environnement proche des cellules. Les protéines concernées sont des ATPases, des protéines chaperones et des peptidases. Parmi celles-ci, l'élastase, la phosphatase alcaline, l'exotoxine A et la phospholipase C participent à la cytotoxicité et à l'invasion tissulaire par destruction du mucus protecteur recouvrant l'épithélium bronchique.

Le système de sécrétion de type III, activé lors du contact cellulaire, permet une injection des toxines directement dans le cytoplasme de la cellule hôte (Kipnis *et al.*, 2006). La translocation des toxines depuis la bactérie s'effectue par le biais d'un appendice traversant la membrane bactérienne et capable de percer la membrane de la cellule eucaryote.

#### **I.2.3.4. Infections à *Pseudomonas aeruginosa***

*P. aeruginosa* est l'un des agents pathogènes humains les plus difficiles à traiter qui pose un grave problème clinique en raison de la prévalence étendue d'isolats cliniques multi résistants. Armé de mécanismes de virulence abondante et de résistance aux antibiotiques, il constitue un agent étiologique majeur dans de nombreuses infections aiguës et chroniques (Deepak *et al.*, 2015).

*P. aeruginosa* ne provoque une maladie chez l'homme que lorsqu'il existe une défaillance locale ou systémique du système immunitaire. Le type de l'infection dépend aussi de l'efficacité du système immunitaire de l'hôte (Hichem, 2006). *P. aeruginosa* peut être responsable de nombreux processus néfastes liés à sa capacité à coloniser les surfaces sous forme de biofilm (Khalilzadeh, 2009).

##### **A. Infections aiguë**

*P. aeruginosa* est capable de provoquer des infections aiguës des poumons, du système digestif, des voies urinaires et de la cornée (Lyczak *et al.*, 2002 ; Berthelot *et al.*, 2005).

Des facteurs de virulence sont impliqués dans les différentes étapes du processus d'infection et permettent ainsi à *P. aeruginosa* de coloniser son hôte. Dans les infections aiguës, l'invasion, la dissémination et les lésions tissulaires vastes prédominent (Ben Haj Khalifa *et al.*, 2011). *P. aeruginosa* passe d'un agent pathogène virulent aigu d'infection précoce à un agent pathogène virulent chronique adapté à l'hôte de l'infection en phase terminale comme dans le cas de la Fibrose kystique (FK) du poumon (Hogardt et Heesemann, 2013).

## B. Infections chronique

*P. aeruginosa* est le principal agent pathogène causant une infection chronique chez les personnes atteintes de FK (Tim *et al.*, 2003) à l'âge adulte, 80% des patients sont infectés et l'infection chronique à *P. aeruginosa* est la principale cause d'augmentation de la morbidité et de la mortalité des patients FK (Pressler *et al.*, 2011). Infections chroniques à *P. aeruginosa* ont particulièrement fréquentes, et constituent la première des pneumonies communautaires dues à *P. aeruginosa*. Elles font suite à une colonisation précoce qui survient dès l'enfance et sont émaillées de poussées d'infections aiguës respiratoires. Une fois que les voies respiratoires du patient sont colonisées, *P. aeruginosa* met en jeu plusieurs mécanismes adaptatifs : formation du biofilm, échappement au système immunitaire de l'hôte puis production d'alginate (Nyaledome, 2016).

## I.3. Antibiorésistance

### I.3.1. Les antibiotiques

Il existe des antibiotiques d'origine naturelle ou synthétique.

#### I.3.1.1. Les antibiotiques naturels

Parmi les 10000 antibiotiques d'origine naturelle recensés dans le monde, 20% proviennent de champignons : *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Aspergillus*, 70% proviennent d'actinomycètes microfilaments dont le genre *Streptomyces* est un producteur majeur d'antibiotique : tétracyclines, aminoglycosides et 10% proviennent des bactéries (non actinomycètes), en particulier des genres *Bacillus* et *Pseudomonas*. La bacitracine utilisée pour certains traitements locaux en est un exemple (Mehdi, 2008).

#### I.3.1.2. Les antibiotiques synthétiques

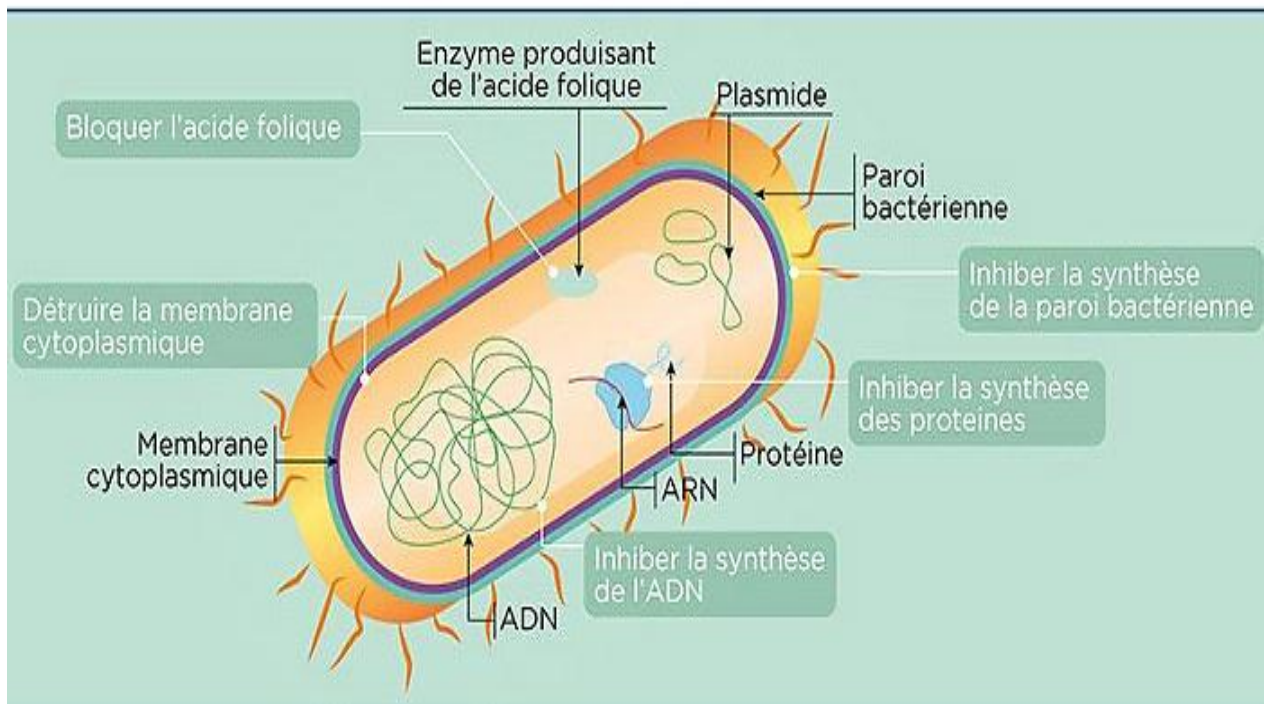
Les antibiotiques synthétiques sont obtenus soit à partir de dérivés artificiels, soit en recréant des substances primitivement extraites de micro-organismes. Parmi les antibiotiques d'origine synthétique on distingue : sulfamides, métronidazole, isoniazide, acide nalidixique et les fluoroquinolones, pénèmes. On distingue aussi des antibiotiques d'origine semi-synthétique, sont obtenus en modifiant en laboratoire une substance produite par un micro-organisme (Mehdi, 2008).

### I.3.2. Mécanisme d'action des antibiotiques :

La plupart des antibiotiques inhibent des voies métaboliques de la bactérie. Chaque famille d'antibiotique possède son mode et son site d'action propre (Tableau 03, Figure 04).

**Tableau 03** : le mécanisme d'action des antibiotiques sur les cellules bactériennes

Le mécanisme d'action		La famille des ATB
-Action Sur la paroi bactérienne	Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire	-B-lactamines -Glycopeptides -Fosfomycine
-Action Sur la membrane cytoplasmique	Ils agissent sur les membranes lipidiques la membrane externe d'abord, puis la membrane cytoplasmique	-Polymyxines -Lipopeptides
-Action Sur l'ARN des ribosomes	Inhibition de la synthèse des protéines	-Aminosides -Macrolides - Ketolides - Lincosamides - Synergistines -Tétracyclines - Acide fusidique
-Action Sur l'ADN bactérien	Inhibition de la synthèse de l'ADN	-Quinolones -Rifamycines -Nitroimidazolés - Sulfamides



**Figure 05** : Mécanisme d'action des antibiotiques sur les cellules bactériennes

(Mainardi, 2013).

### I.3.3. Types de résistance aux antibiotiques

#### I.3.3.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle, ou résistance intrinsèque, est celle que développe un agent infectieux contre un médicament donné sans jamais avoir été en contact avec celui-ci. Elle concerne toutes les souches d'une même espèce et constitue une caractéristique génétique de cette espèce (Wainsten, 2012).

#### I.3.3.2. Résistance acquise

La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce (Lozniewski *et al.*, 2010). C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare soit par transfert d'ADN de plasmides conjugatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent) (Yala *et al.*, 2001).

## 1. La résistance chromosomique

L'acquisition de la résistance peut survenir par mutation spontanée sur des gènes chromosomiques (Boerlin et Reid-Smith, 2008). Elle résulte d'une mutation, c'est un phénomène rare, due au hasard. Il n'est pas provoqué par la présence de l'antibiotique. Mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistante (en détruisant les autres bactéries de l'espèce, celles restées résistantes à l'action de l'antibiotique) (Lozniewski *et al.*, 2010).

## 2. La résistance extra-chromosomique

### A. Plasmides

Cette forme de résistance est transférable d'une bactérie à l'autre et même à des bactéries d'espèces différentes. Le transfert d'un seul plasmide augmente aussi le risque d'une résistance à plusieurs médicaments (Sylvie, 2009).

### B. Les transposons

Ce sont des fragments d'ADN, capable de changer leur localisation dans le génome sans jamais apparaître à l'état libre. Ils codent pour les déterminants de la transposition et ceux d'autres fonctions telles que la résistance aux antibiotiques en s'intégrant soit dans le chromosome soit dans le plasmide, en allant de l'un à l'autre (Saadaoui, 2008).

## I.3.4. Mécanismes de résistance

La résistance aux antibiotiques peut résulter de plusieurs mécanismes : production d'un enzyme modifiant ou détruisant l'antibiotique, modification de la cible de l'antibiotique, imperméabilisation de la membrane bactérie.... Tous ces mécanismes peuvent être isolés ou associés.

### I.3.4.1. Modification de la perméabilité membranaire

La bactérie empêche la pénétration de l'antibiotique dans la cellule dans laquelle celui-ci doit entrer pour atteindre sa cible. La « porte d'entrée » est représentée par des pores sont normalement constitués de protéines qui forment des canaux et que l'on appelle des porines. Les bactéries résistantes réduisent leur nombre de porines et déstabilisent ainsi ces canaux.

### I.3.4.2. Les Systèmes d'efflux bactériens

Les premiers cas de résistance par efflux ont été mis en évidence pour des agents chimiothérapeutiques, efflués par la glycoprotéine P des cellules cancéreuses de mammifères (Juliano et Ling, 1976). L'efflux des antibiotiques a été observé pour la première fois avec la tétracycline à la fin des années 1970 (Levy et Mc Murry, 1978). Les pompes d'efflux sont des transporteurs membranaires, impliqués dans la résistance aux antibiotiques par exportation active des drogues dans le milieu extracellulaire. Ces pompes peuvent être des transporteurs « drogues spécifiques » et conférer une résistance vis-à-vis d'une seule classe d'antibiotiques. Tel est le cas des pompes Tet, qui effluent exclusivement les tétracyclines ou des pompes Mef, qui sont spécifiques des macrolides (Markham et Neyfakh, 2001). Cependant, la plupart de ces transporteurs peut prendre en charge des composés de structures très différentes et contribuer ainsi, de manière significative, à la multi-résistance (MDR : multi-résistance aux drogues) des bactéries vis-à-vis des antibiotiques (Poole, 2004). Les gènes, codant pour les pompes «drogue-spécifiques», sont souvent situés sur des éléments génétiques mobiles (plasmides ou transposons) alors que ceux qui codent pour les pompes MDR sont, pour la plupart, chromosomiques (Butaye *et al.*, 2003).

Chez les bactéries Gram négatif, les systèmes d'efflux sont des complexes protéiques tripartites constitués d'une pompe transmembranaire, d'une protéine périplasmique de jonction (MFP : Membrane Fusion Protein) et d'une porine, enchâssée dans la membrane externe (OMP : Outer Membrane Protein). Les pompes les plus fréquemment rencontrées sont les pompes AcrB chez *Escherichia coli* ou MexB chez *P. aeruginosa*. Chez les bactéries Gram positif, les systèmes d'efflux ne sont constitués que de la pompe. Les plus étudiés sont les pompes NorA ou QacA, chez *S. aureus*, et PmrA chez *Streptococcus pneumoniae*.

Pour fonctionner, les pompes d'efflux utilisent l'énergie fournie par la dissipation d'un gradient de protons (familles MFS, SMR et RND) ou d'ions sodium (famille MATE) ou encore par l'hydrolyse de l'ATP (famille ABC).

### I.3.4.3. Dégradation et modification enzymatique des antibiotiques

La bactérie va synthétiser une enzyme qui va modifier l'antibiotique et le rendant inefficace. Souvent il s'agit de modification entraînant un changement de conformation du médicament qui ne reconnaît plus ou ne peut alors plus se fixer sur son site d'action.

Parmi les exemples de littérature, l'exemple le plus connu est celui du couple b-lactamase et pénicilline. D'ailleurs, il existe plus de 350 b-lactamases recensées dans la littérature, celle-ci peut être incluse dans un plasmide ou directement sur le chromosome bactérien selon les espèces.

On retrouve ce phénomène pour une autre famille, les céphalosporines cousines des pénicillines (Butaye *et al.*, 2003).

#### **I.3.4.4. Altération des cibles cellulaires des antibiotiques**

Comme l'interaction entre l'antibiotique et la molécule cible est assez spécifique, de faibles altérations de la cible peuvent avoir des effets importants sur la liaison de l'antibiotique. Un exemple de ce mode de résistance est la modification des PBPs qui peut affecter l'affinité de ces molécules pour les -lactames. Alors que la modification des PBPs semble être le mécanisme principal de résistance aux -lactames chez les bactéries Gram positif, la production de lactamases est surtout impliquée chez les Gram négatif (Walsh, 2003).

D'autres exemples de modification de cibles concernent l'altération des précurseurs de la paroi cellulaire conférant la résistance aux glycopeptides, la mutation de l'ADN gyrase et de la topoisomérase IV conférant la résistance aux fluoroquinolones, les mécanismes de protection ribosomale conférant la résistance aux tétracyclines, les mutations de l'ARN polymérase conférant la résistance à la rifampicine. Le degré de résistance conférée par les modifications de cible est variable et dépend de la capacité de la cible mutée à accomplir ses fonctions (Rice *et al.*, 2003; Murray *et al.*, 2009).



**Chapitre II :**  
*Ammi visnaga*



## II. *Ammi visnaga*

### II.1. Phytothérapie

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes, car elles renferment une part importante des composés utilisés pour prévenir, soigner ou soulager divers maux (par la consommation ou l'utilisation en voie externe de produits à base de plante) s'appelle phytothérapie.

Le recours à la phytothérapie s'est répandu partout dans le monde et a gagné en popularité, non seulement les populations des pays en développement y ont accès mais aussi ceux des pays développés où la biomédecine occupe une grande place dans le système de santé. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% de la population mondiale compte toujours sur l'utilisation des plantes médicinales comme un premier traitement (Khalil *et al.*, 2007).

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. C'est pour cela que l'industrie pharmaceutique se tourne vers la nature et a entrepris une vaste étude sur le terrain pour répertorier les plantes les plus prometteuses parce qu'il est nécessaire aujourd'hui, de valider l'usage traditionnel de ces plantes et d'évaluer scientifiquement leurs activités pharmacologiques retenues (Baharun, 1997).

### II.2. Propriétés des *Apiacées*

La famille des *Apiacées* (*Apiaceae*) est constituée de plantes dicotylédones caractérisées notamment par leur inflorescence typique, l'ombelle, d'où leur appellation d'Ombellifères (*Umbelliferae*, nom alternatif). Cette famille comprend environ 300 – 455 genres et 3000 – 3750 espèces (Tabanca *et al.*, 2006).

En Algérie, selon Quezel et Santa (1962), elle est représentée par 55 genres et 130 espèces. Les espèces présentent une distribution bipolaire (dans toutes les régions tempérées), mais la majorité habitant l'hémisphère Nord tempéré, d'autres comme la carotte sont cosmopolites.

La majorité des *Apiacées* sont des plantes aromatiques grâce à leurs sécrétions d'huile essentielle (Paloma, 2012). Le genre *Ammi* comprend 3 espèces parmi la flore Algérienne.

### II.3. L'espèce *Ammi visnaga*

*Ammi visnaga* L. est connu sous plusieurs noms communs, y compris bisnaga, curedents et khella. C'est un membre de la famille des *Apiaceae* (Ombelliferae), largement distribués en Europe, en Asie et en Afrique du Nord et également dans le monde entier (Hashim *et al.*, 2014). Khella ou bien « Noukha » en Algérie (Belkacem *et al.*, 2016). *A. visnaga* est une plante herbacée bisannuelle ou annuelle, qui pousse généralement au printemps (Jaradat *et al.*, 2015).

*Ammi visnaga* (L.) Lam. (khella) est une plante médicinale aromatique et commerciale au goût amer principalement connue au Maghreb alors qu'elle pousse spontanément dans tout le bassin méditerranéen. C'est une plante spontanée très abondante, principalement dans la région du nord. Elle est utilisée dans la médecine traditionnelle (Badr *et al.*, 2004).

### II.4. Description botanique d'*Ammi visnaga*

L'*Ammi visnaga* est une plante ombellifère annuelle robuste de 30 à 90 cm de haut, selon la fraîcheur du terrain, entièrement glabre et verte, à odeur aromatique généralisée dans tous les tissus rappelant nettement celle de la Carotte cultivée.

L'inflorescence est une ombelle composée des fleurs blanches très gonflées à la base, qui se combinent pour former un large parapluie (Keddad *et al.*, 2016). Ces fleurs ont aussi leur propre parfum différent de la partie feuillu (Bishr *et al.*, 2014). En outre, *Ammi visnaga* porte des fruits ovoïdes, contracté par deux méricarpes (d'environ 3 mm de longueur), ces derniers privilégiés par une couleur brun-vert avec une nuance violette et portent des graines ovales (Bishr *et al.*, 2014 ; Hashim *et al.*, 2014; Meepagala *et al.*, 2016).

Cette plante possède des feuilles alternes et basales, sessiles (dans les pousses supérieures) et courtes en pétioles (vers le bas) (Bishr *et al.*, 2014). Elles sont variables, fréquentes généralement en forme ovale à triangulaire, à une teinte vert grisâtre (Bishr *et al.*, 2014 ; Hashim *et al.*, 2014). Ses tiges sont rameuses, robustes, au sommet, entièrement couvertes d'un feuillage (Bishr *et al.*, 2014).



**Figure 06 :** *Ammi visnaga* L

## II.5. Position taxonomique d'*Ammi visnaga*

**Tableau 04 :** La classification d'*Ammi visnaga* selon Bokbenit (2011)

<b>Règne :</b>	<b>Plantae</b>
<b>Embranchement :</b>	Magnoliophyta
<b>Classe :</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre :</b>	Apiales
<b>Famille :</b>	<i>Apiaceae</i>
<b>Genre :</b>	<i>Ammi</i>
<b>espèce</b>	<i>Visnaga</i>

## II.6. Distribution Géographique

*Ammi visnaga* est une plante native du bassin Méditerranéen (Ullah *et al.*, 2012) indigène du Nord l'Afrique, l'Asie occidentale, qui pousse généralement dans les climats chauds (Hashim *et al.*, 2014).

Cette plante est également acclimatée en Australie et en Chili, Argentine, Mexique, Etats Unis, Russie, et en Atlantique (Kenner et Requena, 2001 ; Al –Sanfi, 2013 ; Bishr *et al.*, 2014). En outre, elle est fréquente aussi en République islamique d'Iran (Iserin, 2001). Par ailleurs, cette espèce est distribués abondamment en Pakistan comme plante médicinale sauvage (Ullah *et al.*, 2012). De même *Ammi visnaga* constitue des peuplements denses plus isolés dans les cultures et les landes incultes sur argile de Nord d'Afrique ou elle occupe surtout les jachères en terrain argileux (Gattefossé, 2016).

## II.7. Principaux constituants phytochimique

Les études phytochimiques d'*Ammi visnaga* ont révélé sa richesse en différentes composants comme les flavonoïdes, les anthocyanes, les terpénoides, les coumarines et les huiles essentielles (Ghareeb *et al.*, 2011). Les différences dans les constituants chimiques essentiels d'*Ammi visnaga* et leurs quantités respectives en pourcentage peuvent être expliquée par les différences de biotypes et des origines géographiques (Hashim *et al.*, 2014).

Parmi les composés phytochimiques qui ont été isolé, on peut citer :

La Khelline, la Visnagine (Vanachayangkul *et al.*, 2007), et la visnadine sont les principaux composés actifs des fruits d'*Ammi visnaga*, elles sont utilisées dans l'industrie pharmaceutique. La teneur en composés dans les fruits secs varie considérablement en fonction des facteurs génétiques et des conditions environnementales (Ammor *et al.*, 2017).

La cimifugine et la  $\beta$ -sitostérol (Ashour *et al.*, 2013).

Le 2-méthyl-5: 8-diméthoxy-6-7-furano-chromone, la Khellinine, le glucoside et le Khellol (Gattefossé, 1952).

Les coumarines qui présentent un groupe important de constituants majeurs (0,2–0,5%) comme la visnadine pyranocoumarine (0,3%), l'ammoïdine, les visnagans, la samidine, la dihydrosamidine et la xanthotoxine (Al-Snafi, 2013 ; Jaradat *et al.*, 2015).

Les flavonoïdes : Le dépistage phytochimique de l'extrait aqueux d'*Ammi visnaga* a révélé la présence de deux flavonoïdes à savoir la quercétine et le kaempférol (Dirar *et al.*, 2014). Ces deux produits sont connus de leurs activités antiinflammatoires et antioxydantes élevées (Abduljalil *et al.*, 2010), le rhamnétine-3-O-glucosides,

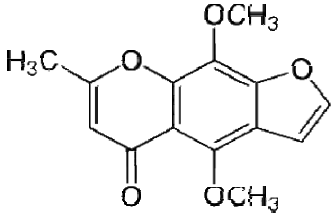
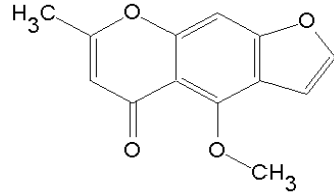
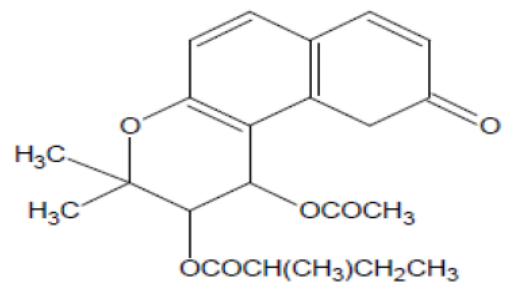
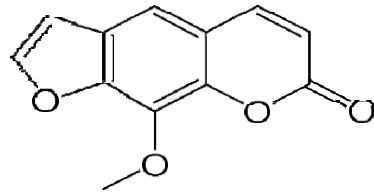
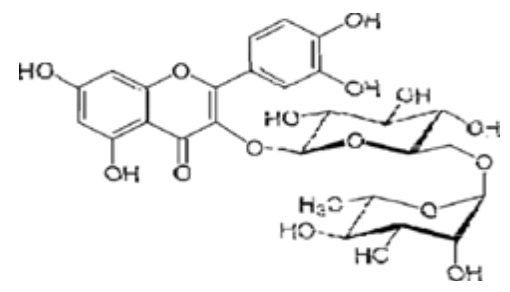
rhamnazine-3-O-glucosides, isorhamnétine-7-O-glucoside, quercétine 3-O-rutinoside, quercétine 7,3,3-O-triglucoside connus pour avoir des activités antioxydantes, et antibactérienne (Ghareeb *et al.*, 2011 ; Bencheraiet *et al.*, 2011 ; Semyari *et al.*, 2011).

Les flavonoles comme : les dérivés de l'isorhamnétine (3-glucoside ; 3 Rut, 3-rutinoside) (Saleh *et al.*, 1983).

Aussi l'*Ammi visnaga* est connue par sa propriété principale autant qu'un antispasmodique causée par la présence du produit majoritaire (furanochromone) de quantité maximale de 0,14 mg/g poids sèche (Kursinszki *et al.*, 1998 ; Kursinszki *et al.*, 2000).

Les huiles essentielles : Selon l'étude qui réalisé par Badr et autre au Maroc (2004), Des échantillons d'*Ammi visnaga* fournissent une teneur de 0.27% en huiles essentielles. L'isobutyrate d'amyle (environ 16%), le linalol (22,7%), le methyl-2-butyrate d'isoamyle (environ 27,7%) et le valérate d'amyle (environ 10%), sont les constituants majoritaires de ces huiles essentielles. Ensemble ces constituants représentent plus des trois quarts des produits détectés dans les huiles essentielles (Badr *et al.*, 2004). Les huiles essentiels de l'*Ammi visnaga* sont reconnues pour son efficacité contre les maladies coronariennes et asthme bronchique (Hashim *et al.*, 2014). Une meilleure activité antibactérienne a été montré aussi chez les huiles essentiels de l'*Ammi visnaga* contre *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *P. aeruginosa* (Hashim *et al.*, 2014).

Tableau 05 : Composition chimique de l'Ammi visnaga

La famille chimique	Definition	Type de compose (Les molecule)
<b>Fruranochromones (Coumarine)</b>	La coumarine est une substance naturelle organique aromatique connue dans la nomenclature internationale comme 2H-1-benz pyrane-2-one	1) Khelline  2) Visnagine 
<b>Pyranocoumarines</b>	Ils sont le résultat de la fusion du coumarine et d'un noyau de pyrane	3) Visnadine 
<b>Furanocoumarines</b>	Sont des agents <u>toxiques</u> photosensibles. Ils sont le résultat de la fusion d'une coumarine et d'un noyau de furane.	4) Xanthotoxine ou ammoidine 
<b>Flavonoïdes sulfates</b>	Dérivés de flavonoïdes	4) Quercitrine3-rutinosides 

## II.8. Utilisations médicinales traditionnelles

L'*Ammi visnaga* a été utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement de diverses pathologies dont on cite :

Traitement des symptômes angineux légers, comme traitement de soutien de l'obstruction légère des voies respiratoires dans l'asthme bronchique ou bronchite spastique. Dans le traitement des crampes gastro-intestinales et menstruation douloureuse. En interne en tant que emménagogue pour réguler la menstruation et pour le traitement des vertiges, du diabète et calculs rénaux (Al-Snafi, 2013).

La décoction de graines d'*Ammi visnaga* est réputée avoir plusieurs propriétés curatives. Les graines décoctées sont fréquemment prescrits par les médecins locaux comme diurétiques et antispasmodiques aux patients atteints de pierres urétriques (Dirar *et al.*, 2014).

## II.9. Activités biologiques

*Ammi visnaga* possèdent plusieurs propriétés biologiques (diurétique, antispasmodique, antilithiastique, antioxydant, antibactérien et fongicide). En outre, les huiles essentielles et les extraits d'*A. visnagas* ont décrits comme de puissants pesticides contre *Mayetiola destructor* et *Culex quinquefasciatus* (Brahmi *et al.*, 2016).

### II.9.1. Intérêt thérapeutique

*Ammi visnaga* a fait l'objet de plusieurs études grâce à des principes actifs : la khelline, la visnadine et la visnagine dont les vertus thérapeutiques ont été prouvées (Badr *et al.*, 2004), ces constituants ayant des activités pharmacologique connue (Akshaya *et al.*, 2015). *Ammi visnaga* est utilisé comme traitement d'appoint dans les affections respiratoires telles que la toux, la bronchite, l'asthme et la coqueluche, et il est utilisé dans le traitement des maladies cardiovasculaires, l'insuffisance cardiaque congestive, l'hypertension, arythmies cardiaques, hypercholestérolémie et athérosclérose (Jaradat *et al.*, 2015). Les graines de l'*Ammi visnaga* contiennent de la khelline, le constituant chimique considéré comme un vasodilatateur coronaire sélectif et aussi utilisé dans le traitement de l'asthme. En outre, à la fois l'extrait et les constituants d'*Ammi visnaga* ont une action antispasmodique et dilate les vaisseaux bronchiques, urinaires et sanguins sans affecter la pression artérielle (Hashim *et al.*, 2014). L'*Ammi visnaga* est utilisé sur la peau pour traiter le vitiligo, le psoriasis, la perte de cheveux

par endroits, dans la cicatrisation des plaies, les états inflammatoires et les morsures empoisonnées (Akshaya *et al.*, 2015).

### **II.9.2. Activité antimicrobienne**

Selon des études réalisées sur la plante *Ammi visnaga*, elle est considérée comme une espèce ayant des activités antimicrobiennes.

L'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques et aqueux des fruits de plantes couramment utilisées en Irak, a été montrée contre certains microorganismes pathogènes (Ghareeb *et al.*, 2011).

Les travaux de Ghareeb et autres (2011) sur l'activité antibactérienne et antifongique d'*A. visnaga* ont montré son efficacité contre *K. pneumoniae* et *E. coli* et *S. aureus* ainsi que sur des espèces fongiques.

En outre, d'après Jaradat *et autres* (2015), des extraits de la plantes d'*A. visnaga* (L) obtenus par des solvants organiques ont une forte activité antimicrobienne que l'extrait aqueux.

Généralement, ses activités ont été associées à la composition chimique de la plante, précisément à la khelline et à la visnagine, deux constituants considérés comme des agents antifongiques, antibactériens et antiviraux (Hashim *et al.*, 2014).

### **II.9.3. Activité antibiofilm**

L'extrait méthanolique d'*Ammi visnaga* (L) collecté au printemps dans la région de Sidi Lakhdar (Mostaganem, Algérie), a un effet puissant contre la formation de biofilms de *Bacillus cereus* en raison de leur teneur en composés phénoliques totaux (Belkacem *et al.*, 2016) .





# **Chapitre III : Les huiles essentielles**

### **III. Les huiles essentielles**

#### **III.1. Définition**

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydrodistillation ou par expression mécanique (Kalemba, 2003). Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits (Burt, 2004), mais également à partir de gommages qui s'écoulent du tronc des arbres. Les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation, expression à froid, comme les agrumes (Burt, 2004). De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression (Santoyo *et al.*, 2005) ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (Kimbaris *et al.*, 2006).

#### **III.2. Localisation des huiles essentielles**

Les huiles essentielles se rencontrent dans tout le règne végétal. Cependant elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles (Mann, 1987) Conifères, Rutacées, Ombellifères, Myrtacées, Lamiacées, Poacées. Tous les organes peuvent en renfermer, surtout les sommités fleuries (lavande, menthe...), mais on en trouve dans les racines ou rhizomes (Vétiver, Gingembre), dans les écorces (Cannelles), le bois (Camphrier), les fruits (Poivres), les graines (Muscade).....etc.

#### **III.3. Rôle des huiles essentielles**

Les plantes les utilisent pour se protéger contre les virus et tous pensent qu'il s'agit d'hormones végétales. D'autres considèrent que les huiles sont des messagers entre sorte de parasites et de microbes (Willem, 2009). Des travaux ont montré que les monoterpènes et les sesquiterpènes peuvent jouer des rôles importants dans la relation des plantes avec leur environnement. Par exemple, le 1,8cinéole et le camphre inhibent la germination des organes infectés ou la croissance des agents pathogènes issus de ces organes (Nicholas, 1973 ; Holley, 1999).

#### **III.4. Composition chimique**

Comme toute substance, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable. Le nombre de composants isolés est d'environ des milliers et

il en reste beaucoup à découvrir (BACIS, 1999). Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) (Figure 07) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Figure 07) beaucoup moins fréquents. Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (Bruneton, 1999).

### III.4.1. Les composés terpéniques

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone ( $C_5H_8$ ) reconnue par Lamarti et autre (1994). Cet isoprène est à la base du concept de la «règle isoprénique» énoncée en 1953 par Ruzicka (Lamarti *et al.*, 1994). Cette règle considère le diphosphate d'isopentényle (IPP), désigné sous le nom d'isoprène actif comme le véritable précurseur de la molécule terpénique. Les systèmes enzymatiques responsables de cette conversion (IPP en composés terpéniques dans les trois compartiments : cytoplasmes, mitochondries et plastes) sont hydrosolubles ou membranaires. Ces derniers permettent l'élongation de la chaîne isoprénique conduisant à tout l'éventail des composés terpéniques à 10, 15, 20 et 30 atomes de carbones (Lamarti *et al.*, 1994). Seuls les terpènes dont la masse moléculaire est relativement faible (mono – et sesquiterpènes) sont rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999) et leur confère un caractère volatil et est à la base de leurs propriétés olfactives (Pibiri, 2006).

Les terpènes sont constitués d'un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. Dans certaines huiles essentielles, les hydrocarbures prédominent (ex. l'essence de Térébenthine) dans d'autres, la majeure partie de l'essence est constituée de composés oxygénés. Il est à noter que l'odeur et le goût des huiles essentielles sont donnés par ces composés oxygénés. Parmi ces composés oxygénés, on note d'alcools (géraniol, linalol), d'esters (acétate de linalyle), d'aldéhydes (menthone, camphre, thuyone), les cétones, les éthers, les phénols et les peroxydes (Paris et Hurabielle, 1981 ; Svoboda et Hampson, 1999).

#### A. Les monoterpènes

Les composés monoterpéniques sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est  $C_{10}H_{16}$  (Rahal, 2004). Ces composés peuvent être : monoterpènes acycliques (myrcène, ocimènes), monoterpènes monocycliques ( $\alpha$ - et  $\gamma$ -terpinène, p-cymène) et aux

monoterpènes bicycliques (pinènes,  $\Delta^3$ -carène, camphène, sabinène). Selon Bruneton (1999), la réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions : alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes, phénols.

### **B. Les sesquiterpènes**

Ils comportent trois unités d'isoprène, leur formule est  $C_{15}H_{24}$  soit une fois et demie (sesqui) la molécule des terpènes (Belaiche, 1979). Ils présentent une grande variété dans les structures conduisant à un nombre élevé de possibilités, ce qui a retardé l'élucidation de leurs structures (Rahal, 2004). Les sesquiterpènes peuvent être également, comme les monoterpènes, acycliques (farnésol), monocycliques (humulène,  $\alpha$ -zingibèrene) ou polycycliques (matricine, artéannuine,  $\beta$ ,artémisinine). Ils renferment aussi des fonctions comme alcools (farnésol, carotol,  $\beta$ -santalol, patchoulol), cétones (nootkatone, cis-longipinane-2.7-dione,  $\beta$ -vétivone), aldéhydes (sinensals), esters (acétate de cédryle) (Bruneton, 1999 ; Laouer, 2004).

#### **III.4.2. Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane**

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques dérivés du phénylpropane ( $C_6-C_3$ ), mais qui sont beaucoup moins fréquents que les terpènes et dont la biogenèse est totalement différente (Paris et Hurabielle, 1981). Bruneton (1999) considère que ces composés sont très souvent des allyl- et propenyl phénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'*Apiacées* (Anis, Fenouil : anéthole, anisaldehyde, méthylchavicol=estragole. Persil : apiole) mais aussi de celles du Girofle (eugénol), de la Muscade (safrol, eugénol), de l'Estragon (eugénol), du Basilic (eugénol), de l'Acore (asarones) ou des Cannelles (cinnamaldéhyde eugénol safrol). On peut également selon le même auteur, rencontrer dans les huiles essentielles des composés en  $C_6-C_1$  comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'anthranilate de méthyle. Les lactones dérivées des cinnamiques (par exemple les coumarines) étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînaibles par la vapeur d'eau, elles seront également présentes dans certaines huiles essentielles.

#### **III.4.3. Des composés d'origines diverses**

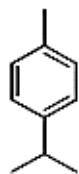
Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînaibles par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras, de terpènes. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares.

Enfin, il n'est pas rare de trouver dans les concrètes des produits de masses moléculaires plus importantes non entraînés à la vapeur d'eau, mais extractibles par les solvants : homologues des phénylpropanes, diterpènes, etc... (Bruneton, 1999). Abou Zeid (1988) signale que le composé soufré le plus rencontré est l'allylthiocyanate issu de la dégradation d'un glucoside sinigrósíde qui se trouve dans les graines de moutarde noire. Ce composé est incolore, fluide et de saveur piquante. Certaines plantes aromatiques produisent des huiles essentielles dont les composés terpéniques renfermant l'élément nitrogène. Parmi ces composés on cite l'indole, qui se trouve dans l'huile essentielle de citron et des fleurs de jasmin.

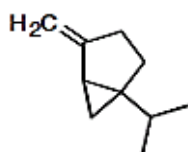
**1. Terpenes**

**-Monoterpenes**

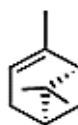
**Carbure monocyclic**  
Cymene ("y") or p.cymene



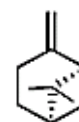
Sabinene



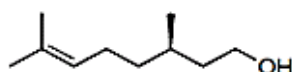
**Carbure bicyclic**  
Alpha-pinene



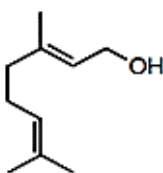
Betapinene



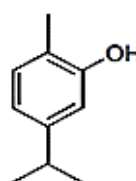
**Alcohol acyclic**  
Citronellol



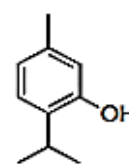
Geraniol



**Phenol**  
Carvacrol

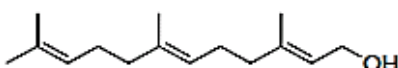


Thymol

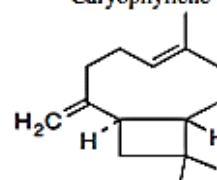


**-Sesquiterpenes**

**Carbure**  
Farnesol

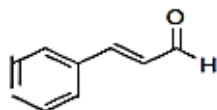


**Alcohol**  
Caryophyllene

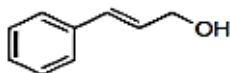


**2. Aromatic compounds**

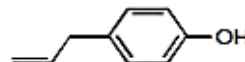
**Aldehyde**  
Cinnamaldehyde



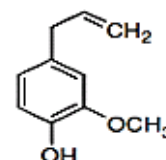
**Alcohol**  
Cinnamyl alcohol



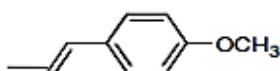
**Phenol**  
Chavicol



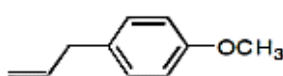
**Phenol**  
Eugenol



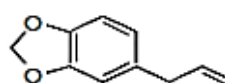
**Methoxy derivative**  
Anethole



**Methoxy derivative**  
Estragole

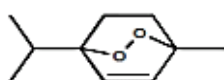


**Methylene dioxy compound**  
Safrole

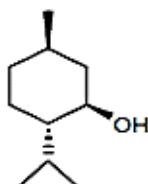


**3. Terpenoides (Isoprenoides)**

Ascaridole



Menthol



**Figure 07 :** Structure chimique de quelques composés des huiles essentielles (Bakkali *et al.*, 2008)

### **III.5. Facteurs de variabilité**

Des travaux de recherche ont prouvé que la composition chimique des huiles essentielles est très fluctuante. En effet, elle dépend de deux grands axes : ordre naturel (génétique, localisation, maturité, sol, climat, etc...) ou technologiques (mode de culture ou d'extraction d'huile essentielle de la plante), dont nous citons les plus importants :

#### **III.5.1. Origine botanique**

La composition d'une H.E varie en fonction de l'espèce productrice. En effet, l'extraction de l'H.E d'un même organe de deux plantes différentes ne donne pas la même composition chimique (Padrini, 1997 ; Martinetti, 2013), par exemple deux espèces de sauge : la sauge officinale (*Salvia officinalis*) et la sauge sclarée (*Salvia sclarea*), et cela peut être vendu à la fois sous le nom de l'huile de sauge. La première, riche en cétones neurotoxiques, peut provoquer des crises d'épilepsie, alors que la seconde possède des esters aromatiques anti-épileptisants (Franchomme, 2001).

#### **III.5.2. L'organe producteur**

La composition et le rendement d'une huile essentielle varient selon la partie de la plante à partir de laquelle est extraite (Roulier, 2000).

#### **III.5.3. Origine géographique**

Cela permet de connaître l'environnement dans lequel grandit la plante et de caractériser ainsi l'huile essentielle obtenue. Il y a des différences de composition chimique selon le pays d'origine. La composition chimique des huiles essentielles d'une même plante grandissant dans des lieux différents avec changement de situation géographique (altitude et latitude), avec variation de la nature du sol peut être différente (Bowes, 2003). Par exemple, le thym vulgaire à géraniol ne produit cette molécule de géraniol qu'en hiver alors que l'acétate de géranyl la remplacera en été (Viaed, 1993).

### **III.6. Les procédés d'extraction des huiles essentielles**

La quantité d'huile essentielle contenue dans les plantes est toujours faible, parfois très faible, voire infime. Il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle.

L'extraction des huiles essentielles est certainement la phase la plus délicate. Elle a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborés par le végétal. Il existe différents procédés d'extraction, mais le choix de la méthode utilisée définit obligatoirement la nature de l'essence ainsi que son éventuelle utilisation.

Il existe plusieurs méthodes d'extraction dont voici les principales :

### III.6.1. L'hydrodistillation

Le principe de l'hydrodistillation (La méthode de Moritz) est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, libère les molécules contenues et entraîne les plus volatiles en les séparant du substrat cellulosique. La vapeur, chargée de l'essence de la matière première distillée, se condense dans le serpentin de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles). Les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées pour donner l'huile essentielle surnageant. La partie contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation (ou hydrolat).

Cependant, l'inconvénient majeur de cette méthode est la non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de la couleur, de l'odeur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation (Chalchat *et al.*, 1997).

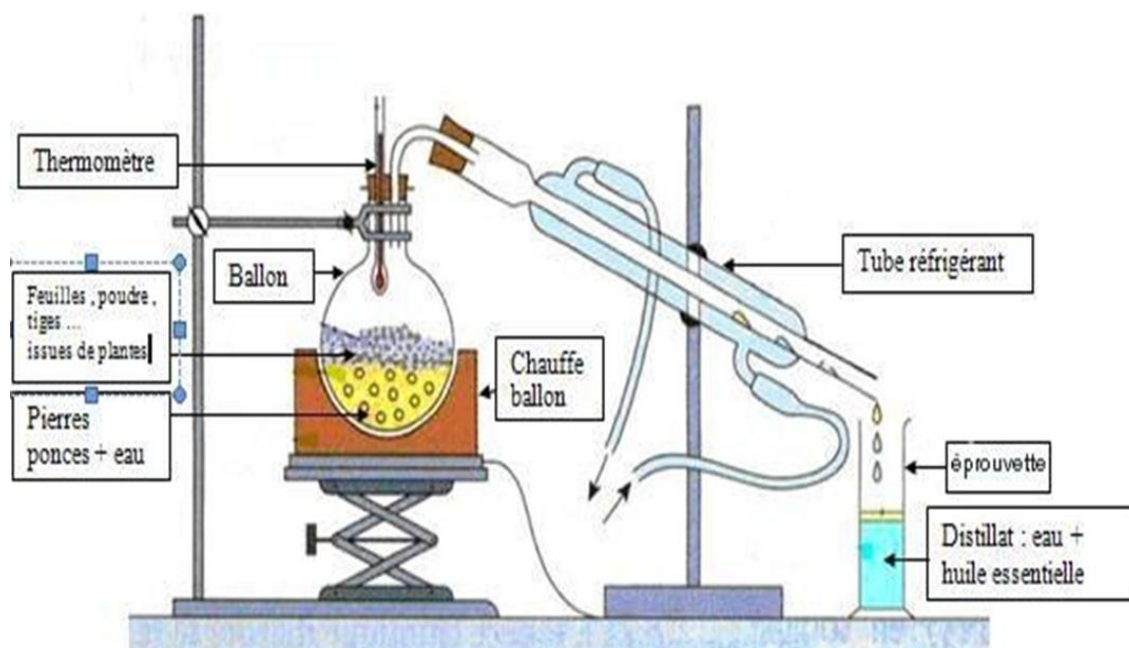
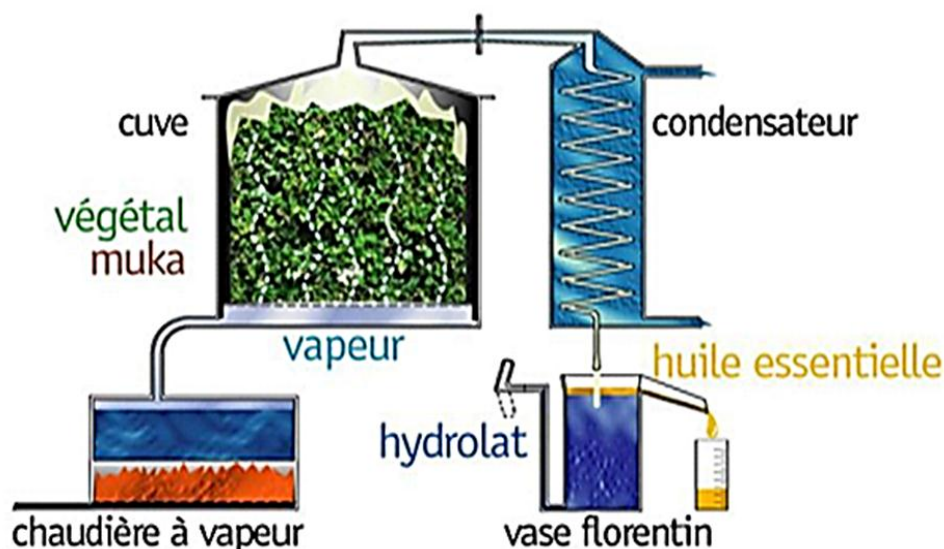


Figure 08 : Montage d'extraction par Hydrodistillation (Bardeau *et al.*, 1976).



### III.6.2.Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

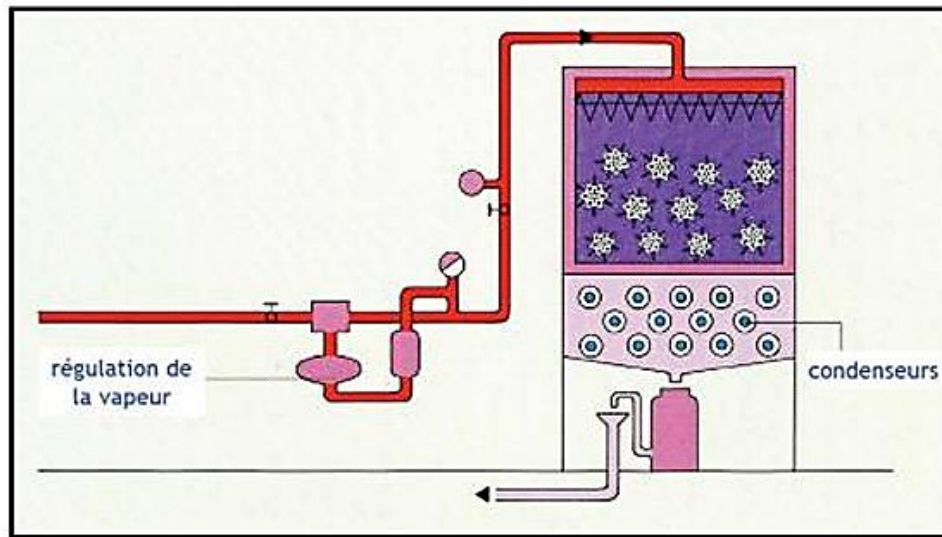
L'entraînement à la vapeur d'eau (Figure 09) est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques ou médicinales. Dans cette méthode, la matière végétale n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau est injectée à travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle 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. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Fabrocini, 2007 ; Buronzo, 2008).



**Figure 09** : Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (Bardeau *et al.*, 1976).

### III.6.3. L'hydrodiffusion

Elle a été développée par la firme Suisse Schmidt (Schmidt, 1981) qui consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (0,02-0,15 bar) à travers la masse végétale, du haut vers le bas. La méthode permet d'extraire des produits avec de composition sensiblement identique à celle des produits obtenus par les méthodes classiques. Le procédé permet aussi un gain de temps et d'énergie, et évite un grand nombre d'artéfacts liés à une température excessive. En fait, ce procédé correspond à la percolation en phase vapeur.



**Figure 10** : Montage d'extraction par hydrodiffusion (Ntezurubanza, 2000).

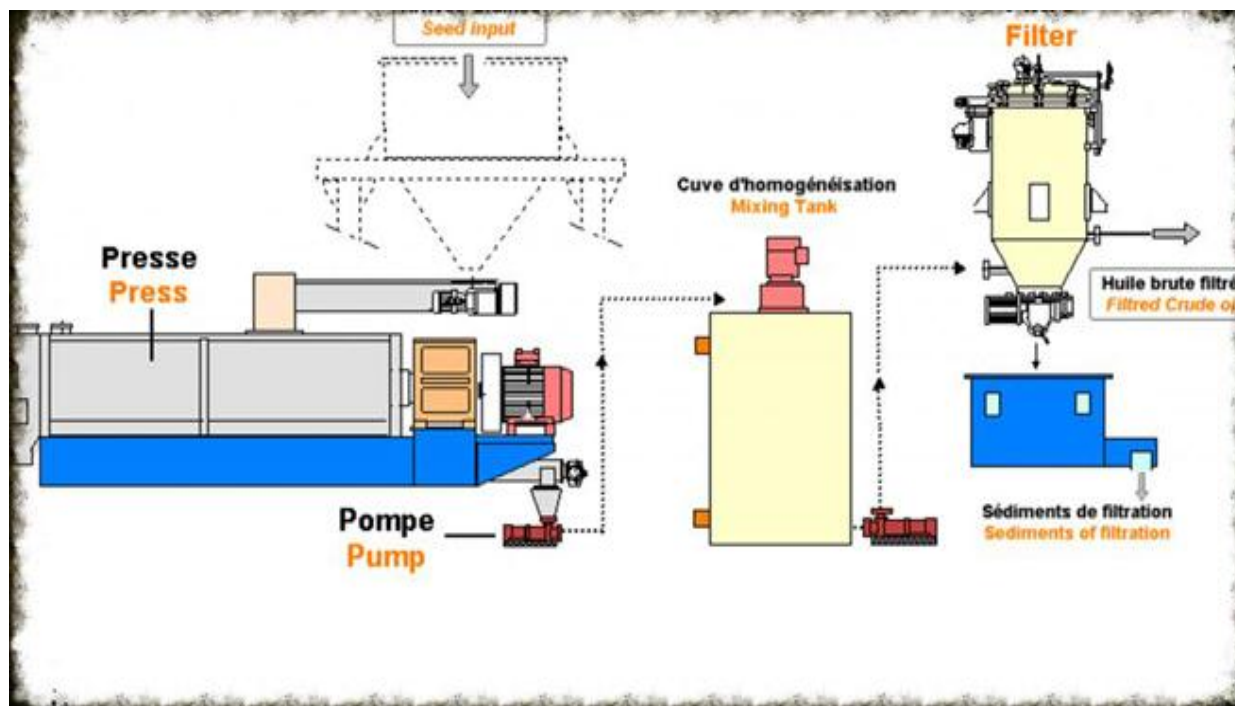
#### III.6.4. L'expression à froid

L'extraction par expression est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes comme le citron, l'orange, la mandarine, etc. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation. D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau.

La rupture de la paroi des poches oléifères fait intervenir trois procédés :

1. Une technique qui agit sur le fruit entier, elle utilise des machines exerçant une action abrasive.
2. Une technique qui agit sur le fruit sans endocarpe. Elle utilise des machines exerçant une pression suffisante pour libérer l'essence.
3. Un troisième procédé permet d'extraire en une seule opération l'essence et le jus sans mélanger les deux produits (Garnero, 1991).

Le produit obtenu se nomme « essence » et non huile essentielle, car aucune modification chimique liée à des solvants ou à la vapeur d'eau n'a lieu (Lamendin, 2004 ; Couic *et al.*, 2013).



**Figure 11** : Montage d'extraction par l'expression à froid (Franchomme et Penoel, 1990).

### III.6.5. Extraction par solvants

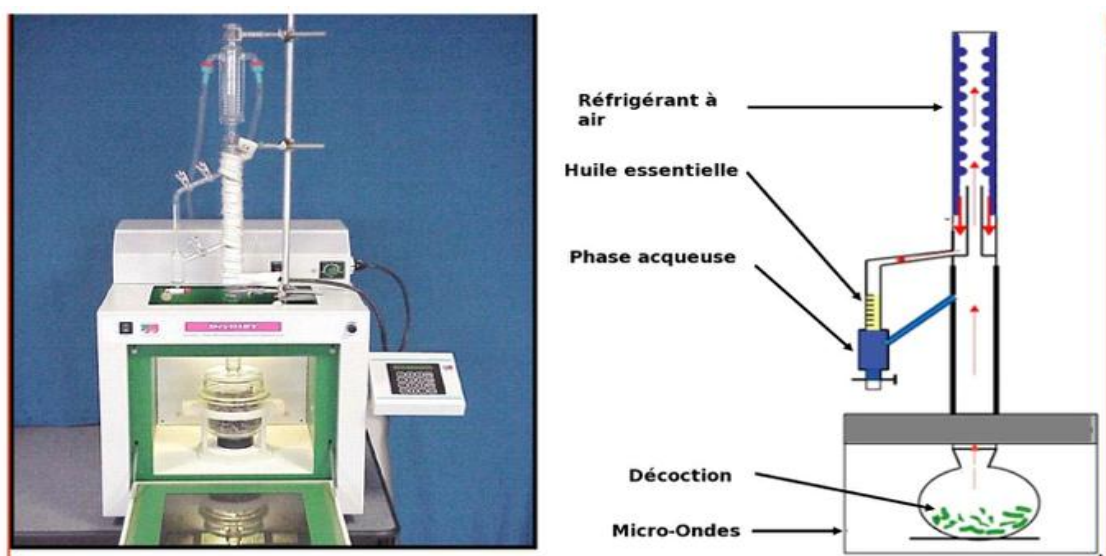
Cette méthode est utilisée pour les organes végétaux présentant une faible concentration en essence ou pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation. Les essences étant de nature huileuse, ils sont solubles dans les solvants organiques. Un épuisement des plantes est effectué à l'aide d'un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé «concrète» (Belaiche, 1979 ; Duraffourd *et al.*, 1990). On utilise comme solvant organique volatil l'hexane, qui est le plus utilisé actuellement; le benzène très utilisé dans le passé mais interdit pour des raisons de toxicité ; le propane ; le toluène, etc... (Peronet Richard, 1992 ; Stagliano, 1992). L'extraction passe par plusieurs étapes, on lave la matière avec le solvant deux à trois fois. Il semble que la presque totalité des produits odorants passe en solution dès la première extraction. Mais, il est nécessaire de pratiquer des dilutions successives avec de nouvelles charges de solvant (lavages) car la matière traitée retient une forte proportion de la solution. La matière épuisée retient une proportion importante de solvant. Il faut donc concentrer la solution en évaporant le solvant qui est recyclé pour d'autres lavages. La récupération du solvant atteint couramment 94 à 96 % de la quantité retenue (Sens-Olive, 1979). De ce fait une proportion résiduelle de solvants reste dans les concrètes d'où un risque de toxicité non négligeable (Bruneton, 1999). Pour cette raison, cette technique est limitée à l'industrie des parfums.

### III.6.6. Extraction par les corps gras

La méthode d'extraction par les corps gras est utilisée en fleurage dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. 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 l'enfleurage où la saturation se fait par diffusion à la température ambiante des arômes vers le corps gras et la digestion qui se pratique à chaud, par immersion des organes végétaux dans le corps gras (Brian, 1995).

### III.6.7. Extraction par micro-ondes

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée Vacuum Microwave Hydrodistillation (VMHD). Consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences. Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de la matière végétale fraîche entre brutalement en ébullition. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en œuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivants : rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel (Mompon, 1994 ; Brian, 1995).



**Figure 12** : Montage d'extraction par micro-ondes (Mann, 2009).

### III.7. Activités biologiques des huiles essentielles

Le rôle physiologique des huiles pour le rôle végétal est encore inconnu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et propriétés biologiques.

Un effet anti-inflammatoire a été décrit pour les huiles essentielles de *Protium strumosum*, *Protium lewellyni*, *Protium grandifolium* (Siani *et al.*, 1999). Des études ont montré que les huiles essentielles de *Chromolea naodorata* et de *Mikania cordata*, donnaient des tests d'inhibition positifs sur la lipoxigénase L-1 de soja, modèle de la lipoxigénase humaine (5-LO) impliquée dans les processus de l'inflammation (Bedi *et al.*, 2004). Ensuite, dans une autre étude, il a été montré que celles de *Chromolea naodorata* présentaient des actions positives sur la fonction Cyclooxygénase de la Prostaglandine H-synthétase (Bedi *et al.*, 2010). Les mêmes auteurs ont montré que les huiles essentielles de *Cymbopogon giganteus*, *Ocimum gratissimum*, *Eucalyptus citriodora* avaient des activités inhibitrices sur la cyclooxygénase (Bedi *et al.*, 2003).

Certaines huiles essentielles présentent des activités anti-tumorales et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers. L'huile essentielle isolée des graines de *Nigella sativa* L., démontre une activité cytotoxique *in vitro* contre différents lignées tumorales. *In vivo*, elle limite la prolifération des métastases hépatiques et retarde la mort des souris ayant développé la tumeur P815 (Mbarek *et al.*, 2007). L'huile essentielle de *Melissa officinalis* s'est, quant à elle, révélée efficace contre des cellules de lignées cancéreuses humaines, incluant des cellules leucémiques HL-60 et K562 (De Sousa *et al.*, 2004).

Un antioxydant est toute substance capable de retarder ou d'inhiber l'oxydation des substrats biologiques (Boyd *et al.*, 2003 ; Karou *et al.*, 2005). Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (Vansant, 2004). De nombreuses molécules d'origine naturelle dont les huiles essentielles sont étudiées pour leurs propriétés antioxydantes et leur contribution dans la lutte contre les espèces oxydantes de l'organisme (Benalia, 2008).

Les activités antifongiques de nombreuses huiles essentielles incluant les huiles de thym, de citronnelle, de cannelle et de *Melaleuca alternifolia* (Burt, 2004) ont été décrites. L'efficacité des huiles extraites des achillées, *Achillea fragrantissima* (Barel *et al.*, 1991), *A. terrefolia* (Unlu *et al.*, 2002) et *A. millefolium* (Candan *et al.*, 2003), contre la levure pathogène *Candida albicans*, a également été mis en évidence.

Outre l'activité antibactérienne des huiles essentielles a été étudiée. On distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur les microorganismes :

- Effet bactéricide (bactéricidie) : exerçant une activité létale.
- Effet bactériostatique (bactériostase) : entraînant une inhibition de la croissance.

L'activité bactériostatique est souvent plus assimilable aux huiles essentielles que l'activité bactéricide. Cependant il a été démontré que certains constituants chimiques des huiles essentielles ont des propriétés bactéricides (Kunle *et al.*, 2003 ;Walsh *et al.*, 2003). En effet, des dommages au niveau des cellules de différents microorganismes ont été rapportés, illustrés par microscopie électronique. Citons l'effet bactéricide des huiles essentielles riches en monoterpénols et en phénols sur *Staphylococcus aureus* (Desjobert *et al.*, 1997), ou encore celui de l'*Origanum compactum* sur *Escherichia coli* (Burt et Reinders, 2003).

### **III.8.Toxicité des huiles essentielles**

Bien que les huiles essentielles sont des substances naturelles, mais cela ne signifie pas qu'il est sans danger pour la santé humaine. Il est ainsi important de connaître le produit, le choisir selon des critères qualitatifs rigoureux, de respecter avec précision les doses et de choisir le mode d'administration adéquat, et pour éviter la survenue d'effets indésirables, et les interactions avec d'autres médicaments. Ainsi, les huiles essentielles peuvent s'avérer allergisants, photosensibilisants, cytotoxiques, irritants, néphrotoxiques, hépatotoxiques, neurotoxiques... On distingue les toxicités suivantes :

#### **III.8.1. Toxicité par voie orale**

La majorité des huiles essentielles couramment utilisées présentent une toxicité par voie orale faible avec des doses létales à 50% (DL50) supérieures à 5 g/kg. Cependant, la Sarriette et l'Origan présentent une toxicité élevée autour des 1.4 g/kg (données observées chez l'animal), tandis que les plus toxiques sont les huiles essentielles de Boldo (0,13 g/kg), de Chénopode (0,25g/kg), de Thuya (0,83 g/kg), ainsi que l'essence de moutarde (0,34 g/kg) (Bruneton, 1999). L'eugénol, l'un des constituants du Thym, peut s'avérer hépatotoxique et même entraîner une insuffisance rénale chez l'enfant à doses élevées (10 ml) (Eisenhut, 2007).

#### **III.8.2.Toxicité dermique**

L'usage des huiles essentielles en parfumerie ou en cosmétique, Elle nous oblige à utiliser en application locale sur la peau, peut générer des irritations, allergies voire photosensibilisation.

C'est le cas de l'huile essentielle de Thym, d'Origan, de la Sarriette qui sont connues pour leur pouvoir irritant et agressif, les essences d'agrumes (pamplemousse, citron...) qui sont photosensibilisantes par des réactions épidermiques après exposition au soleil (Couic *et al.*, 2013).

### **III.8.3. Cytotoxicité**

Quelques huiles essentielles peuvent être cytotoxiques sur les cellules animales et humaines. En effet, il a été démontré que les huiles essentielles d'Origan, de différentes variétés, présentent une forte cytotoxicité sur des cellules humaines cancéreuses (Sivropoulou *et al.*, 1996 ; Chaouki *et al.*, 2010). Egalement, il a été démontré que les huiles essentielles de Thym et de Lavande, selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact (phase liquide ou gazeuse), sont cytotoxiques sur des cellules animales (hamster) (Inouye, 2003).

### **III.8.4. Neurotoxicité**

Certaines huiles essentielles peuvent être convulsivantes et abortives suite à une utilisation prolongée. C'est le cas des huiles essentielles à thuyones (Thuya, Absinthe, Sauge officinale) qui sont neurotoxiques (Franchomme et Penoel, 1990 ; Couic *et al.*, 1996).

### **III.9. La conservation des huiles essentielles**

A cause de leur évaporation rapide, leur sensibilité à l'air et à la lumière, les huiles essentielles doivent être conservées dans des flacons opaques et fermés hermétiquement (Valnet, 1984 ; Salle et Pelletier, 1991).



**Chapitre IV : Méthodes  
d'évaluation de l'activité  
antibactérienne des HEs**



## IV. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

### IV.1. Activité antibactérienne

#### IV.1.1. Généralités

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire.

De façon générale, il a été observé une diversité d'action toxique des HEs sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (Davidson, 1997).

Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne cela peut induire un changement de conformation de la membrane (Cox *et al.*, 2000, Carson *et al.*, 2002).

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes a* aussi été rapportée (Wendackoon et Sakaguchi 1995). Les HEs peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides.

#### IV.1.2. Agents antimicrobiens

Les termes « antimicrobiens » ou « agents antimicrobiens » désigne toutes substances naturelles et/ou synthétiques susceptibles de diminuer la multiplication des microorganismes ou de les détruire sans endommager les tissus de l'organisme.

Les moyens de lutte sont variés. L'utilisation de tel ou tel moyen dépend des microorganismes visés, de son environnement et de l'intensité de l'action souhaitée. Parmi eux, on retrouve notamment les agents physiques comme : la température, les radiations, la filtration et la centrifugation, les agents chimiques comme : les antibiotiques, les antiseptiques et les sulfamides, et aussi les agents biologique tel que les agents antimicrobiens d'origine végétale comme les composés phénoliques, les alcaloïdes ainsi que

les huiles essentielles font partie du groupe de métabolites secondaires des végétaux (Haddouchi et Benmansour, 2008).

Les agents antimicrobiens sont couramment utilisés pour le traitement et la prévention des maladies chez l'humain et les animaux ainsi que dans l'industrie agricole pour stimuler la croissance.

## **IV.2. Facteurs déterminants le degré d'activité des huiles essentielles**

Plusieurs facteurs influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles ou de leurs composants actifs, tels que la méthode d'évaluation antimicrobienne, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type de microorganisme ciblés et leur éventuelle adaptation aux huiles essentielles.

### **IV.2. 1. Activité liée à la composition chimique**

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et les possibles effets synergiques entre les composants. Ainsi, la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant.

L'activité d'une huile essentielle est souvent réduite à l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs. Evalués séparément sous la forme de composés synthétiques, ils confirment ou infirment l'activité de l'huile essentielle de composition semblable. Il est cependant probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique. De cette manière, la valeur d'une huile essentielle tient à son «totum», c'est à dire dans l'intégralité de ses composants et non seulement à ses composés majoritaires (Lahlou, 2004).

Il est connu que ce sont les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes qui confèrent aux huiles essentielles leurs propriétés antibactériennes. L'activité de ces molécules dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarbonée et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les hydrocarbonées.

#### IV.2. 2. Le type des microorganismes cible

Un autre paramètre important déterminant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est le type des microorganismes ciblés. En général, les différents microorganismes n'ont pas une sensibilité similaire vis à vis des huiles essentielles. Parmi les microorganismes, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* (Gram positif), *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Gram négatif), *Candida albicans* (Levures) et *Aspergillus niger* (Champignons) ont été les plus étudiés. Les champignons montrent généralement une sensibilité supérieure par rapport aux bactéries et parmi les bactéries, les Gram négatif apparaissent plus résistants que les Gram positif vis-à-vis des huiles essentielles (Amaral *et al.*, 1998 ; Cox *et al.*, 2000). Inversement, *Escherichia coli* est plus sensible vis à vis de l'huile de *Melaleuca alternifolia* que *Staphylococcus aureus* (Hayes *et al.*, 1997). De même, certains champignons sont plus résistants vis-à-vis de l'huile de genévrier que les bactéries (Chao *et al.*, 2000). Enfin, une sensibilité supérieure des bactéries anaérobies a été observée quel que soit les huiles essentielles par rapport à celles vivant en aérobiose (Juven *et al.*, 1994 ; Amaral *et al.*, 1998).

#### IV.2.3. 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 chémo-osmotique et une fuite d'ions ( $K^+$ ) : ce mécanisme a été observé avec l'huile de *Melaleuca alternifolia* sur les bactéries à coloration de Gram positive (*Staphylococcus aureus*) et les bactéries à coloration de Gram à négative (*Escherichia coli*) et levure (*Candida albicans*) *in vitro* (Cox *et al.*, 2000 ; Carson *et al.*, 2002).

Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP (Knobloch *et al.*, 1989; Sikkema *et al.*, 1995). Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée (Wendakoon et Sakaguchi, 1995). Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides (Zani *et al.*, 1991). Le mode d'action des huiles essentielles dépend aussi du type de microorganismes :

en général, les bactéries à coloration de Gram négative sont plus résistantes que les Gram positifs grâce à la structure de leur membrane externe. Où, la membrane extérieure des Gram négatifs est plus riche en lipo-polysaccharides et en protéines que ceux des Gram négatifs qui la rendent plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer. Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaires comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides membranaires grâce à leurs groupements fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (Dorman, 2000).

### **IV.3. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne**

#### **IV.3.1. Evaluation de l'activité antibactérienne**

L'examen des données bibliographiques fait apparaître d'emblée la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des huiles essentielles. Les techniques utilisées ont une grande influence sur les résultats. Ces méthodes utilisées donnent parfois des résultats différents selon les conditions opératoires expérimentales pour chaque manipulateur. L'insolubilité des huiles essentielles dans l'eau et d'une manière générale dans les milieux aqueux largement utilisés en microbiologie, est une des explications de la variété des techniques d'évaluation. Selon la souche microbienne, l'huile essentielle et l'application choisie, divers milieux de culture peuvent être mis en œuvre.

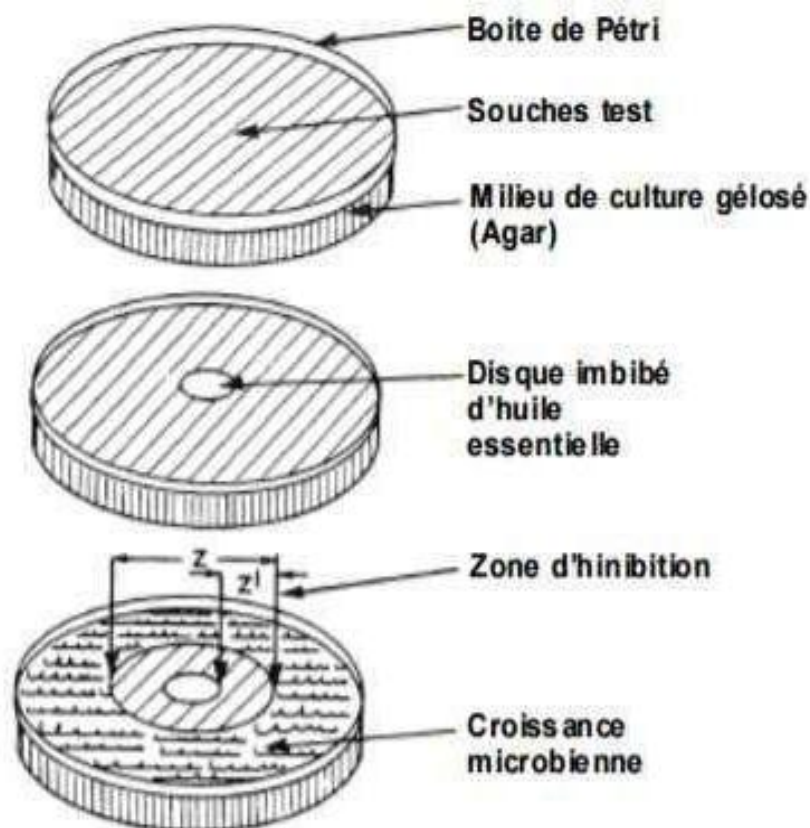
##### **IV.3.1.1.Méthode de diffusion en milieu solide**

Cette méthode est aussi appelée méthode de l'aromatogramme, ou technique de l'antibioaromatogramme ou encore méthode de Vincent (Pibri, 2006). La diffusion de l'agent antimicrobien dans le milieuensemencé résulte d'un gradient de l'antimicrobien. Quand la concentration de l'antimicrobien devient très diluée, il ne peut plus inhiber la croissance de la bactérie testée, la zone d'inhibition est démarquée. Le diamètre de cette zone d'inhibition est corrélée avec la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) pour la combinaison particulière bactérie/antimicrobien, la zone d'inhibition correspond inversement à la CMI de l'essai. Généralement, plus la zone d'inhibition est grande, plus la concentration d'antimicrobien nécessaire pour inhiber la croissance des microorganismes est faible.

**A. Par la méthode de diffusion en disque (aromatogrammes)**

C'est une méthode ancienne mais toujours d'actualité. Elle permet l'estimation qualitative de l'effet des huiles essentielles (ou d'un agent antimicrobien). Ce test est réalisé par dépôt de l'huile essentielle, à l'aide des disques de cellulose imprégnés d'une quantité connue de l'huile essentielle (aromatogramme) sur la gélose ensemencé préalablement par la souche testée. Après l'incubation, la lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenues sur gélose ensemencée. Cette méthode sert en général à la présélection de l'activité antimicrobienne des HEs car :

- Le diamètre d'inhibition n'est pas une mesure directe de l'activité antimicrobienne des HEs, les différents constituants ne diffusent pas tous de la même manière dans le milieu gélosé.
- Le diamètre d'inhibition varie en fonction de la densité de l'inoculum et de l'épaisseur du milieu de culture. Il est donc nécessaire de standardiser ces conditions pour pouvoir comparer les résultats (Belaiche, 1979 ; Hulin *et al.*, 1998).

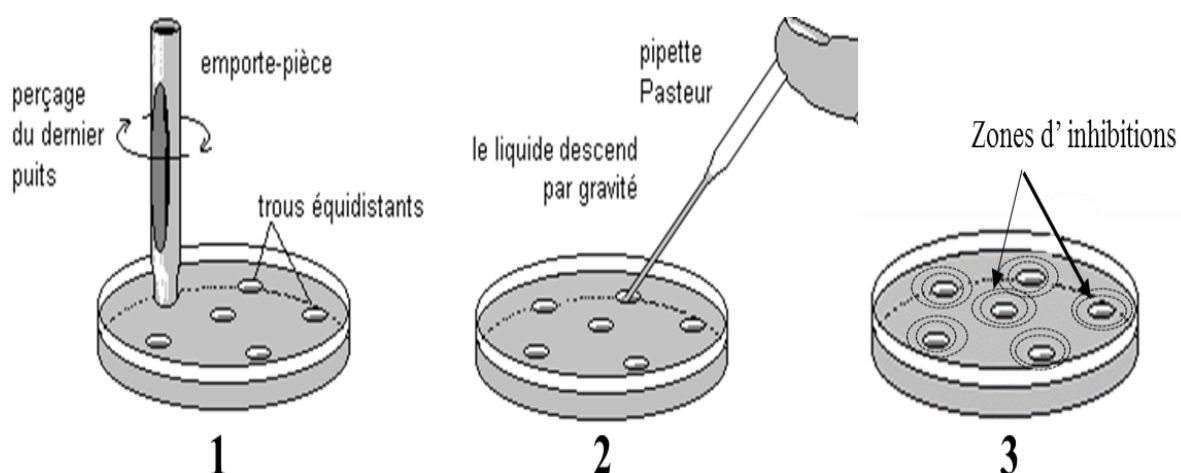


**Figure 13** : Principe de la méthode de diffusion par disque.

### B. Par la méthode de diffusion en puits

Des puits (d'environ 6 mm) sont creusés à la gélose ensemencée préalablement par la souche testée dans lequel sera coulée une quantité d'huile essentielle pure ou diluée. Après incubation, des zones d'inhibition de croissance bactérienne sont obtenues (pour les huiles actives) et mesurées (Dorman *et al.*, 2000).

Pour ces 2 techniques, la sensibilité du germe testé peut être évaluée selon le diamètre d'inhibition obtenu. En effet, la sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 8 mm. Elle est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm, et moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égale à 20 mm le germe est très sensible (Duraffourd *et al.*, 1990).



**Figure 14 :** Principe de la méthode de diffusion en puits.

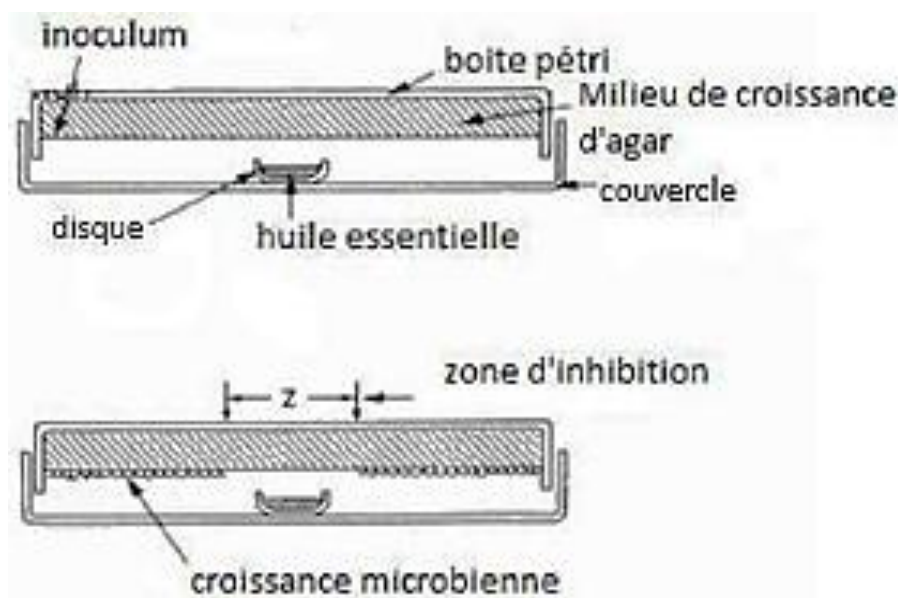
#### IV.3.1.2. Méthode en phase vapeur (ou Micro-atmosphère)

Cette méthode consiste à déposer un disque de papier filtre imprégné de l'huile essentielle au centre du couvercle d'une boîte de pétri, sans que l'huile essentielle entre en contact avec la gélose ensemencée par les micro-organismes. La boîte est hermétiquement fermée et le couvercle placé en bas à l'étuve à 37°C (Bactéries).

Il se produit une évaporation des substances volatiles dans l'enceinte de la boîte et les cellules sensibles de l'inoculum sont inhibées, donc l'essence n'agit qu'à l'état des

vapeurs qu'elle développe à 37°C. La lecture du test porte donc sur la croissance ou non de l'inoculum (Benjilali *et al.*, 1986).

Cette méthode ne quantifie pas l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, elle montre seulement l'activité des constituants volatils à température d'incubation (Hulin *et al.*, 1998).



**Figure 15** : Principe de la méthode de micro-atmosphère.

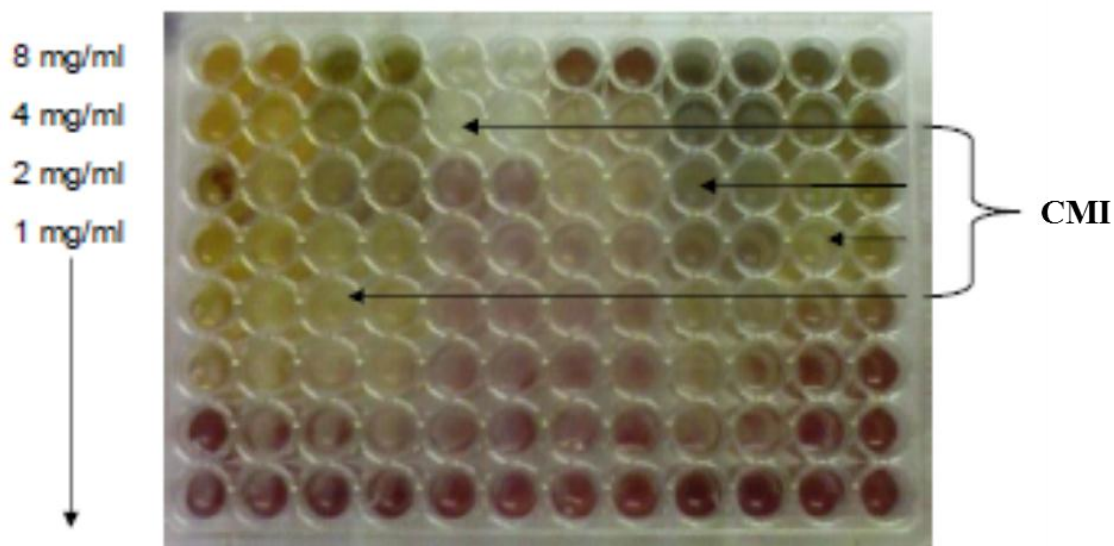
#### IV.3.2. Méthode de dilution (Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI))

La CMI est définie comme la plus faible concentration d'un antibiotique (ou d'un agent antimicrobien) donné qui inhibe toute croissance visible d'une souche bactérienne donnée, après 18 heures d'incubation à 37°C (Kahlmer et Turnidge, 2012). C'est un paramètre essentiel en clinique, puisque relié à la pharmacocinétique de l'antibiotique (concentration au niveau du foyer infectieux demi-vie et donc temps de contact avec la bactérie), il permet de prédire l'efficacité ou non du traitement, ainsi il sera possible de classer chaque souche bactérienne entre trois catégories pour chaque antibiotique : sensible, intermédiaire et résistante.

##### IV.3.2.1. Technique de micro-dilution en milieu liquide

L'incorporation de l'huile essentielle dans le milieu de culture liquide se fait en utilisant un émulsifiant (Tween 80, DMSO.....) pour préparer les solutions de l'huile essentielle à la concentration désirée. La détermination de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle se fait au

moyen d'une microplaque de 96 puits. Parmi les techniques utilisées pour la lecture de résultat, la détermination de la CMI est réalisée en faisant appel à un indicateur de croissance en solution (Triphényl tétrazolium chlorure) (TTC). La croissance bactérienne est indiquée par l'apparition d'une couleur rouge de la solution témoignant de la réduction ou précipitation du TTC. La CMI est ainsi déterminée par le dernier puits de la microplaque, par ordre décroissant de la concentration, qui ne montre aucun changement de couleur (Carson *et al.*, 1995).

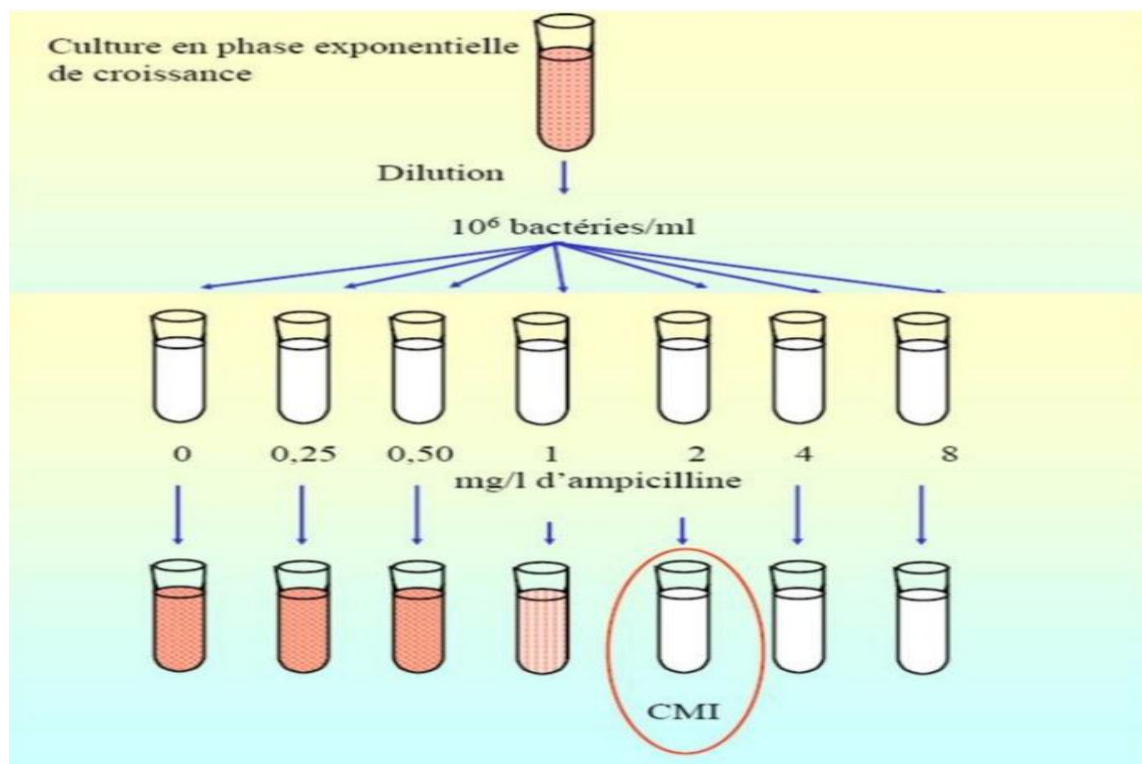


**Figure 16 :** La détermination de CMI par micro-dilution en microplaque de 96 puits par l'utilisation un indicateur de croissance en solution.

#### IV.3.2.2. Technique de macro-dilution en milieu liquide

Le principe est le même que celui du test de micro-dilution, sauf qu'il est effectué dans des tubes contenant l'huile essentielle, à différentes concentrations incorporée dans un bouillon de culture liquide. Après l'incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne (Onawunmi, 1989).





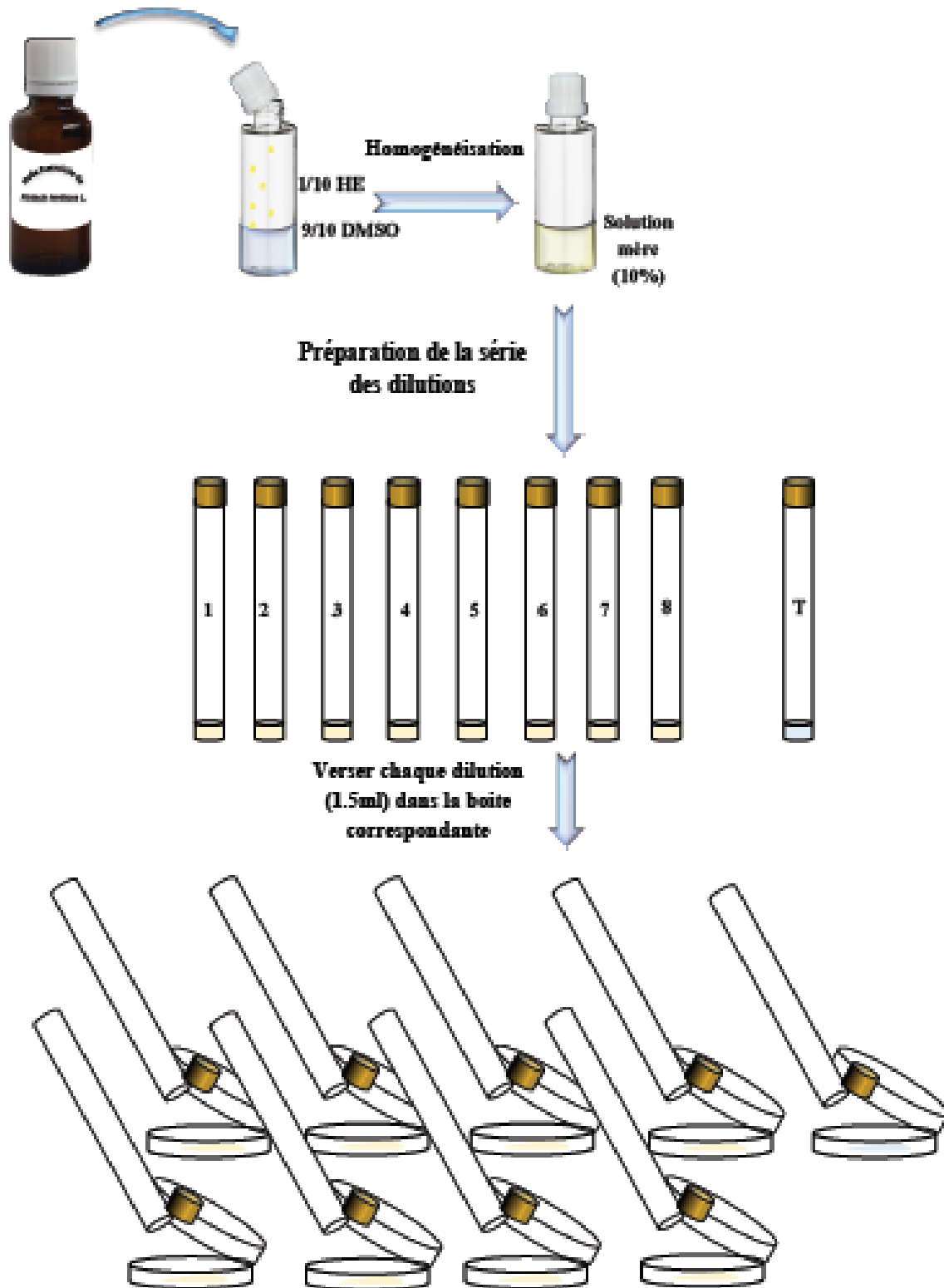
**Figure 17 :** Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).

#### IV.3.2.3. Technique de macro-dilution en milieu solide

La technique de dilution en milieu solide est recommandée par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2007) pour évaluer la sensibilité des bactéries micro-aérophiles aux agents antibactériens.

Une gamme de dilution de base 2 est réalisée, dans du DMSO, à partir de l'huile essentielle à tester. Un volume de chacune des dilutions de la gamme est ajouté dans des tubes stériles contenant un milieu gélosé, maintenu en surfusion dans un bain thermostaté à  $55^{\circ}\text{C}$ . Le contenu de chaque tube est immédiatement versé dans une boîte de Pétri stérile après une agitation de 15 secondes. Des contrôles négatifs (témoins), ne contenant que le milieu de culture et le DMSO ont été également préparés.

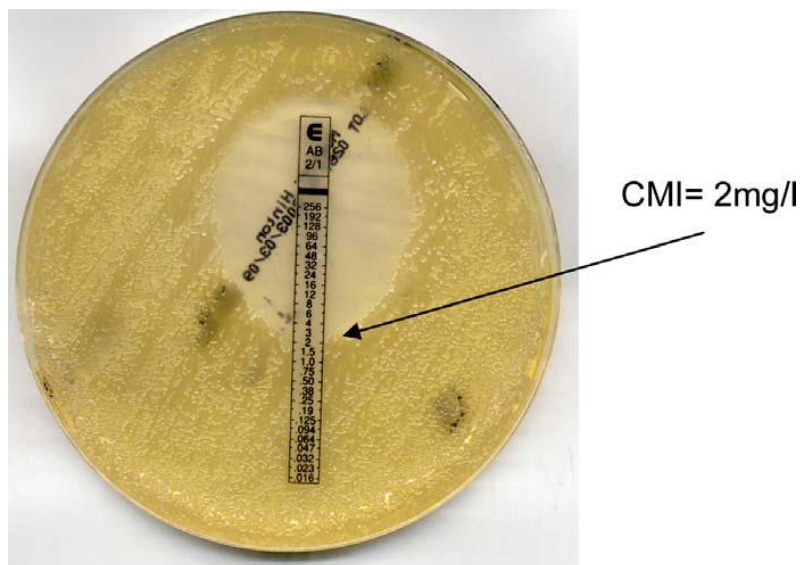
Les boîtes préparées font l'objet d'un ensemencement des bactéries testées à l'aide d'une anse calibrée de  $1\mu\text{l}$  (dont la densité des suspensions est ajustée de la même manière). Après l'incubation. La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle est définie à partir de la première boîte de la gamme dépourvue de croissance bactérienne.



**Figure 18 :** Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de macro-dilution en milieu solide (Abed, 2018)

#### IV.3.2.4. La méthode de E-test (Méthode de diffusion et de dilution)

Il s'agit d'une technique de diffusion en milieu gélosé permettant de donner une mesure précise de la concentration minimale inhibitrice d'un antibiotique (CMI). Cette technique introduite dans les années 1990 s'est révélée rapidement très utile en pratique de routine de laboratoire. Techniquement, l'antibiotique est contenu dans un espace limité à une extrémité de la bandelette. Lorsque celle-ci est déposée sur une gélose Müller-Hinton (milieu spécifique pour la mesure de l'activité des antibiotiques), préalablementensemencée à l'aide d'un inoculum bactérien, l'antibiotique se répartit selon un gradient de concentration très précis. Après l'incubation, une ellipse d'inhibition de culture se dessine autour de la bandelette et la CMI correspond à la valeur lue à l'intersection de la culture bactérienne et de la bandelette (Joly-Guillou, 2006).



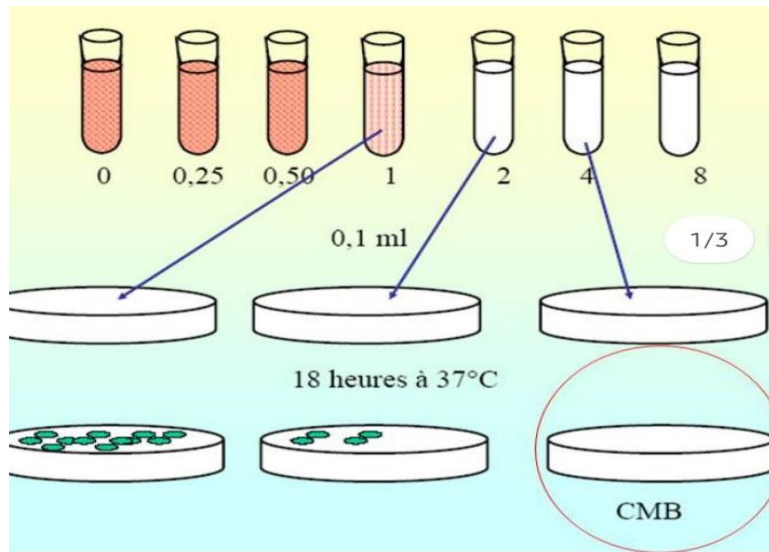
**Figure 19** : La méthode E-test (Méthode de diffusion et de dilution).

#### IV.3.2.5. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) en milieu solide

Elle correspond à la plus faible concentration d'antibiotique qui ne laisse que 0.01% au moins de survivants de l'inoculum initial après 18 heures de culture à 37°C (Li, 2000).

La CMB est une valeur indicative de l'activité bactéricide de l'antibiotique. Ainsi, un antibiotique sera considéré comme bactéricide lorsque la CMB est au moins égale à 4 fois

la CMI ; les antibiotique bactéricides seront donc préférés en cas d'infection grave, d'inoculum important ou chez le patient immunodéprimé.



**Figure 20 :** Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB).

# Conclusion

## ***Conclusion***

L'efficacité de l'antibiothérapie dans le contrôle et la limitation de la dissémination des agents pathogènes a ainsi fait naître l'espoir de pouvoir éradiquer l'ensemble des maladies infectieuses. Malheureusement, l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques a mis un terme à cette vague d'optimisme.

La montée des résistances est due à la prescription immodérée et souvent inappropriée des antibiotiques. Administrés à titre curatif ou préventif, les antibiotiques favorisent l'élimination des bactéries sensibles et la sélection des plus résistantes. Ce phénomène de résistance aux antibiotiques est général et concerne toutes les espèces bactériennes.

Pendant de nombreuses années, il est bien connu que les plantes ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pour prévenir ou guérir les maladies infectieuses. Cependant, au cours des dernières années, de nombreuses études de recherche ont signalé les propriétés d'utilisation des extraits de plantes pour lutter contre les agents pathogènes en les éradiquant ou en inhibant les mécanismes de virulence.

L'objectif de cette étude consiste à démontrer le pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'*Ammi visnaga* contre quelque souche bactérienne responsable à des infections nosocomial (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*). Mais en raison de la situation du pays représentée par la pandémie covid 19 on n'a pas pu faire la partie expérimentale.

Selon la recherche bibliographique, on a conclure que les huiles essentielles d'*Ammi visnaga* ont des propriétés antibactériennes contre des différentes souches bactériennes.

On a conclure aussi que le degré d'activité des huiles essentielles influe par plusieurs facteurs, tels que la méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type de microorganisme ciblés et leur éventuelle adaptation aux huiles essentielles.

En perspectives, les recommandations suivantes sont suggérées :

Etablir la partie pratique de cette étude pour pouvoir déterminer l'effet antibactérien d'*Ammi visnaga* et déterminer la composition chimique des huiles essentielles de la plante pour pouvoir connaître leur composition et comprendre leur mode d'action.

# Références bibliographiques

## *Références bibliographiques*

---

- **Abed ARABI. 2018.** Effet antimicrobien des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L. sur quelques espèces bactériennes multirésistantes de la microflore digestive humaine. Thèse de Doctorat es sciences, Université de Mostaganem, Algérie. 181 p.
  
- **Abduljalil, T.Z., Saour, K., Nasser, A.M. 2010 :** Phytochemical study of some flavonoids present in the fruits of Two Ammi L. Species wildy grown in Iraq. Iraqi Journal of Pharmaceutical Sciences 19(1), 48-57.
  
- **Akshaya S.B., Ahed J.M., Al-Khatib A .A.E., Naama M.S. Al K. et Abdulla S. 2015.** Ammi visnaga in treatment of urolithiasis and hypertriglyceridemia. Phamacognosy Res ,7(4) ,397-400.
  
- **Al-Snafi, A. E. 2013.** Chemical constituents and pharmacological activities of *Ammi majus* and *Ammi visnaga*. A review. International Journal of Pharmacy and Industrial Research, 3(3), 257-265.
  
- **Amaral J.A., Ekins A., Richards S.R. & Knowles R., 1998.** - Effect of Selected Monoterpenes on Methane Oxidation, Denitrification, and Aerobic Metabolism by Bacteria in Pure Culture. Applied and Environmental Microbiology, 64 : 520-525.
  
- **Amira, B., & Doha, B. 2015.** Chemical composition of Ammi visnaga L. and new cytotoxic activity of its constituents khellin and visnagin. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 7(6), 285-291.
  
- **Anderade et al 1989** JR , DA VEIGA VF ? DE SANTA MR ET SUASSUNAL. An endocytic process in hep -2 cells induced by enteropathogenic e.coli med microbiol 1989 28 : 49-57
  
- **Aril JL et al. 1988.** ARIL JL, DABERNAT H, DENIS F, MONTEIL H. La Bactériologie clinique 2éme édition section IV 1988 ; P : 149
  
- **Ashour, A., El-Sharkawy, S., Amer, M., Abdel-Bar, F., Kondo, R., Shimizu, K. 2013 :** Melanin Biosynthesis Inhibitory Activity of Compounds Isolated from Unused Parts of Ammi visnaga. Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications 3, 40-43.
  
- **Astragneau, 1998** .épidémiologique des infections nosocomiales .Revprat . 48P



## *Références bibliographiques*

---

- **A.Y. El-Etre, Khillah 2005** .extract as inhibitor for acid corrosion of SX 316 steel,elsevier.
- **Badr, S., Abdellah, F., Mohammed, F., Mohammed, T et Mouna, L. B. 2004.** Composition chimique et activite antibacterienne et antifongique de l'huile essentielle d'Ammi visnaga (L.) Lam. du Maroc. Acta Bot. Gallica, 151 (1), 65-71.
- **Bahorun T. 1997** - Substances Naturelles Actives : La Flore Mauricienne, Une Source D'approvisionnement Potentielle. AMAS. Food and Agricultural Research Council. Réduit. Mauritius.
- **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. et Idaomar M. 2008** – Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology, 46: 446-475.
- **Bardeau, F., M. Fesneau, and A. Canavaté 1976,** La Médecine aromatique : propriétés et utilisations des huiles essentielles végétales. : R. Laffont.
- **Barel S., Segal R. & Yashphe J., 1991.** - The antimicrobial activity of the essential oil from Achillea fragrantissima. Journal of Ethnopharmacology. 33: 187-191.
- **Baser K. H., Tümen G., Tabanca N. and Demirci F. 2001** – Composition and antibacterial activity of the essential oils from Satureja wiedemanniana (Lallem.). Velen. Z. Naturforsch, 56c : 731-738.
- **Bedi G., Tonzibo Z.F., Chopard C. & N'Guessan Y.T., 2004.-** Etude des effets antidouleurs des huiles essentielles de Chromolaena odorata et de Mikania cordata, par action sur la Lipoxygenase L-1 de soja. Physical Chemical News. 15: 124-127.
- **Belaiche P. 1979** - Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme .éd. Maloine. Paris.
- **Belkacem, I., Rebai, O., Djibaoui, R. 2016.** Antimicrobial and antioxidant activity of Ammi visnaga (L) phenolic extracts and their effects on planktonic and biofilm growth of food spoilage Bacillus cereus,9 (4),32-47.
- **Behem1996 et al RJ, shuttleworth R MCNABB.** identification of staphylococcus witha self-education système using fatty acid analysis and biochemical tests j clin microbiol. 1996 ;34 :3075-3084

## *Références bibliographiques*

---

- **Benalia Y. 2008** – Valorisation des ressources végétales steppiques par l'étude des huiles essentielles. Cas : Marrubium deserti DeNoé. Mémoire de Magistère, Département de biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.
- **Bencheraiet, R., Kherrab, H., Kabouche, A., Kabouche, Z., Jay, M. 2011:** Flavonols and Antioxidant Activity of Ammi visnaga L. (Apiaceae). Records of Natural Products 5(1), 52-55.
- **Ben Haj Khalifa et al., 2011, A., Moissenet, D., Thien, H.V., Khedher, M. 2011.** Les facteurs de virulence de Pseudomonas aeruginosa: mécanismes et modes de régulations. Ann Biol Clin; 69 (4) : 393-403.
- **Benjilali B., Tantaoui-elara A., Ismaïli-alaou M. et Avadi A.** Plantes médicinales et phytothérapie 1986, Tome XX,(2) :155-67.
- **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. Paris : Flammarion. Pp 64-71.
- **Bergey's Manual** of systematic bacteriology 2001 2ème édition vol 1
- **Berthelot et al., P., Grattard, F., Mallaval, F.O., Ros, A., Lucht, F. & Pozzetto, B. (2005).** Epidemiology of nosocomial infections due to Pseudomonas aeruginosa, Burkholderia cepacia and Stenotrophomonas maltophilia. Pathol Biol (Paris), 53, 341-348
- **Bishr, M. M., Desoukey, S. Y., & Magdy, M. 2014.** The effect of soil on Ammi visnaga (L) Lam. plant grown in several localities of Egypt and Sudan.
- **Brahmi F, Chahbar N, Kebbouche G. S.2016.** Insecticidal effect of Ammi visnaga L. (Apiaceae: Apial) methanolic extract against a citrus pest, Toxoptera aurantii (Aphididae: Homoptera) under controlled conditions. PP 230-235. 28 .
- **BRIAN, M.L 1995.,** The isolation of aromatic materials from plant products, R.J. Reynolds Tobacco Company, Winston- Salem( USA). , p.57-148.
- **Bruneton J. 1999** - Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris.

## *Références bibliographiques*

---

- **Bouvet et Crimont., .** Acinetobacter. In : Le MINOR L et VERON M, eds. Bactériologie Médicale. Paris : Flammarion .Pp 599-604.
- **Bowes, E.J 2003.,** The chemistry of Aromatherapeutic Oils, 3rd Edition. , p. 56.
- **Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Horn E., McAnalley S. et McAnalley B. (2003)** – Etude pilote ouverte de l’effet antioxydant d’Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. Glyco. Science & Nutrition. 4(6):7p.
- **Burt, S. A. et Reinders R. D 2003.** Antibacterial activity of selected plant essential oils against Escherichia coli O157:H7. Lett Appl Microbiol.; 36(3):162-7.
- **Buronzo, A.M. 2008-.** Grand guide des huiles essentielles : Santé, Beauté, Bien- Etre, HACHETTE pratique. , p.14.
- **Butaye P., Cloeckert A., Schwarz S., 2003.-** Mobile genes coding for efflux mediated antimicrobial resistance in Gram-positive and Gram-negative bacteria. International Journal of Antimicrobial Agents. 22: 205-210
- **Buttiaux R et al., 1956 , GAUDIER B, LE MINOR S, ET NICOLLE P.** « Epidemiologie research on gastroenteritis due to Escherichia coli in a Hospital in Northern France ». Dans Arch Mal Appar Dig Mal Nutr 1956 ; 45 : 225-247
- **Campanac et al 2002;** Biofilms bactériens, intérêt dans l’évaluation de l’activité.
- **Candan F., Unlu M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sokemen A. & Akpulat H.A., 2003.-** Antioxydant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of Achilla millefolium subsp. millefolium Afan. (Asteraceae). Journal of Ethnopharmacology. 87: 215-220.
- **Carson et al., 1995., Hammer KA., Riley TV.** Broth micro-dilution method for determining the susceptibility of Escherichia coli and Staphylococcus aureus to the essential oil
- **Carson C.F., Mee B.J. & Riley T.V., 2002.-** Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on Staphylococcus aureus determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 46 :1914-1920.

## *Références bibliographiques*

---

- **Chait A., Kamal M., Dalal A., Ziad A., 2007.-** Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. *Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research*. 40: 839-847.
- **Chalchat J.K., Carry L. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. and Chopineau J.** Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. *J. Essent. Oil Res.* 1997; 9: 67-75.
- **Chalmers RM., 2000. , AIRD HOLTON, ET BOLTON FJ.** Waterborne *Escherichia coli* O157. *Journal of applied Microbiology* ; 88(supplement):124S-132S
- **Chaouki, W., et al. 2010,** Antiproliferative effect of extracts from *Aristolochia baetica* and *Origanum compactum* on human breast cancer cell line MCF-7. *Pharmaceutical biology*. 2010, 483, 269-274.
- **Chao S.C., Young D.G. & Oberg C.J., 2000. -** Screening for Inhibitory Activity of Essential Oils on Selected Bacteria, Fungi and Viruses. *Journal of Essential Oil Research* 12: 639-649.
- **Christiane Y.E. 2013.** Etude épidémiologique de souche de *Pseudomonas aeruginosa* Responsable d'infections et leur bactériophage pour une approche thérapeutique. Thèse. Université paris-sud.
- **CLSI. 2007.** Clinical and Laboratory Standards Institute-Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests methods for antimicrobial susceptibility testing for bacteria isolated from animals-Approved standard- Third edition – CLSI document M11-A7- Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.
- **Couic-Marinier, F. and A. Lobstein 2013,** Mode d'utilisation des huiles essentielles. *Actual pharm* ; 52 (525) : 26-30.
- **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: 170-175.
- **Davidson P.M., 1997.-** Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: M. P. Doyle, L. R. Beuchat and T. J. Montville (eds.) ASM, Washington. *Food Microbiology*. 520-556 p.

## *Références bibliographiques*

---

- **Davidson P.M., 1997**, Methods for testing the efficacy of food antimicrobial, Food Technology, p:148-155.
- **Deans G.C., Noble C.R., Mac Pherson A., Penzes L., Imre G.S. and Hofecker G. 1994** - Skalicky Ageing Series, vol 4, Facultas Press, Vienna, , p. 173.
- **Deepak, B. , Hansi, K. , et Kalai, M. 2015**. Pseudomonas aeruginosa AmpR: un régulateur de commutation aigu – chronique. pathogens and disease ; 73 (2), 1–14
- **Del solar et al 1987 Gomez Rogers C, Garrido J Rayes J ; toxic shock staphylococcus aureus toxemia Rav Méica chill 1987 115-236-238**
- **Desjobert J. M., Bianchini A., Tommy P., Costa J. et Bernardini A. F 1997**. Etude d’huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. Analysis 1997; 25 (6) : 13- 16.
- **De Sousa A.C, Alviano D.S, Blank AF, Alves P.B, Aliano C.S, Gattass C.R., 2004.-** Melissa officinalis L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 56: 677-681.
- **Dirar, A. I., Mohamed, M. A., Osman, W. J., Abdalgadir, H., & Khalid, H. S. (2014)**. A Phytopharmacological review on four antitumor medicinal plants grown in sudan. Am. J. PharmTech Res, 4(5), 28-41.
- **Dorman H.J.& Deans S.G., 2000.-** Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatils oils. Journal of Applied Microbiology. 88: 308-316.
- **Duraffourd, C., L. D’Hervicourt, and J.C. Lapraz 1990**, Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques, 2ème éd. Masson, Paris.
- **Eisenhut, M 2007**. The toxicity of essential oils. Int J Infect Dis. ; 11(4) : 365-6.
- **Fagon, 1998**. Pneumopathies nosocomiales à Pseudomonas aéruginosa. Med Mal Inf. Pp 66-159
- **F. M. Hammouda, et al 2005**. A Guide to Medicinal Plants in North Africa .

## *Références bibliographiques*

---

- **Franchomme, P. and D. Penoel 1990**, L'aromathérapie exactement. Limoges. . 132, 95-107.
- **Franchomme P., J.R. 2001**, L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles, Ed. Jollois.
- **François et al., 2007** ., Edouard B., Christian M ., Maric C et Renald. .Bactériologie médical : technique usuelles .2 end édition .Elsevier Masson .274P
- **Garnero J 1991**. Phytothérapie-aromathérapie. Encycl. Méd. Nat , p :20.
- **Gattefossé, J. 1952:** L'Amivisnagaet la Khelline, Revue internationale de botaniqueappliquée et d'agriculture tropicale 32(353), 116-123.
- **Gattefossé, J. 2016.** L'Ammi visnaga et la Khelline. Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale, 32(353), 116-123.
- **Ghareeb, A. M., Zedan, T. H., & Gharb, L. A. (2011).** Antibacterial and antifungal activities of Ammi visnaga extracts against pathogenic microorganisms. Iraqi J Sci, 52(1), 30-6.
- **Gillespie S, Hawkey PM 2006.** Principles and Practice of Clinical Bacteriology. London: John Wiley & Sons; . 621 p
- **Grazyna Zgorka et al 1998.** Determination of furanochromones and pyranocoumarins in drugs and Ammi visnaga fruits by combined solid-phase extraction–high- performance liquid chromatography and thin-layer chromatography–high-performance liquid chromatography, journal of chromatography.
- **GOEB,p 1999** ., Aromathérapie pratique et familiale. Ed. MDB.
- **HADDOUCHI F.A ESSAWI A. 2008.** Les Huiles Essentielles, Utilisation Et Activités Biologiques, Application de Deux Aromatiques Plantes. Les technologies de laboratoire, 8, 20-27.
- **Hashim, S., Jan, A., Marwat, K. B., & Khan, M. A. 2014.** Phytochemistry and medicinal properties of Ammi visnaga (Apiaceae). Pakistan Journal of Botany, 46 (3), 861- 86.
- **Hayes A.J., Leach D.N., Markham J.L., & Markovic B.J., 1997.-** In vitro cytotoxicity of Australian tea tree oil using human cell lines. Essential Oil Research. 9: 575-582.

## *Références bibliographiques*

---

- **Herold et al immergulock LC Marnan MC , lauderdal DS gaskin RE boyl -vavra S 1998**, community acquired mehticillin -resistant staphylococcus aureus in childern with no identified predisposing risk jama j AM Med Assoc. ;279 :593\_598.
- **Hichem, 2006**. Régulation de l'adaptation de la bactérie Pseudomonas aeruginosa à son hôte : implication des métabolites du tryptophane. Thèse de doctorat. Université de Grenoble. La Médecine et l'Environnement, 15-16.
- **Hill 1959 LR** . the Adansonian classification of the staphylococci.j Gen Microbiol . ;20 :277-283.
- **Hogardt et Heesemann, 2013**. Microevolution of Pseudomonas aeruginosa to a chronic pathogen of the cystic fibrosis lung, 358: 91-11
- **Holley, A 1999.**, Eloge de l'odorat. : Odile Jacob.
- **Hulin et ., Mathot A.G., Mafart P. et Dufossé L. 1998** - Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'aromes. Sciences des aliments, 18: 563-582.
- **Inouye, S 2003.**, Laboratory evaluation of gaseous essential oils (part 1). International Journal of Aromatherapy.,
- **Jaradat, N. A., Abualhasan, M., Al-Masri, M., Speih, R. I., Johari, M. A., Awad, M. A. 2015**. Phytochemical Screening and In-vitro Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Entire Khella Plant (Ammi visnaga. L.) A member of Palestinian Flora. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical, 7(1), 137-143.
- **Jean paul, 2002** . « Entre biologiste militaire et industriel : l'introduction de la pénicilline en France à la libération » la revue pour l'histoire. 7P.
- **Joly-Guillou M.L. 2006**.Intérêt du E-test dans le suivi de l'antibiothérapie **E-test method for guiding antibiotic therapy. Réanimation 15 : 237–240.**
- **Juliano R.L & Ling V.A., 1976**.- Surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. Biochimica Biophysica Acta. 455: 152-162

## *Références bibliographiques*

---

- **Juven B.J., Kanner J., Schved F., & Weisslowicz H., 1994.-** Factors That Interact with the Antibacterial Action of Thyme Essential Oil and Its Active Constituents. *Journal of Applied Bacteriology*, 76: 626-631.
- **Kahlmer et Turnidge, 2012** technique phénotypiques : couvalin p Leclercq R Antibiogramme 3ème édition Eska 2012
- **Kalembe D. & Kunicka A., 2003.-** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*. 10: 813-829.
- **Karousou R., Koureas D.N. & Kokkini S., 2005.-** Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Saturejathymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. *Photochemistry*, 66: 2668-2673.
- **Keddad, A., Baaliouamer, A., & Hazzit, M. (2016).** Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from Umbels of Algerian *Ammi visnaga* (L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(5), 1243-1250.
- **Kenner, D., & Requena, Y. (2001).** Botanical medicine: a European professional perspective. Paradigm Publications.
- **Kipnis et al. 2006).** ., Sawa, T., Wiener-Kronish, J.; 2006; Targeting mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. *Med Mal Infect.* 36: 78-91.
- **Khalil E.A., Afifi F.U. and Al-Hussaini M. 2007 –** Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (*Mus musculus*). *Journal of Ethnopharmacology*.109 :104-112.
- **Khalilzadeh,2009.** Formation de biofilm à *Pseudomonas aeruginosa* : Evaluation d'inhibiteurs potentiel du quorum Sensing .Thèse. Université Paul Sabatier, Toulouse
- **Kimbaris A.C., Siatis N.G., Daferera D.J., Tarantilis P.A., Pappas C.S., Polissiou M.G., 2006.-** Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Alliumsativum*). *Ultrason Sonochem.* 13: 54-60.
- **Kleman A., J. Engel, B. Kutcher & D. Reichert 1999.-** Pharmaceutical Substances, Syntheses, Patents, Applications. AM, 4th ed., Thieme, New York, 1 380 p.



## *Références bibliographiques*

---

- **Knobloch K., Pauli A., Iberl B., Weigand H. & Weis N., 1989.-** Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research* 1: 119-128.
- **Kunle O., Okogun J., et al 2003.** Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomedicine* 10: 59-61.
- **Kursinszki, L., Troilina, J., Szoke, E. 1998 :** Determination of visnagin in *Ammi visnagahairyroot* cultures using solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *Microchemical Journal* 59, 392-398.
- **Kursinszki, L., Troilina, J., Szoke, E. 2000 :** Quantitative TLC of visnagin in genetically transformed root culture of *Ammi visnaga*. *Journal of planar Chromatography-Modern TLC* 13(6), 463-467.
- **Lahlou M., 2004.-** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*. 18 : 435-448.
- **Lamarti A., Badoc A., Deffileux G., et Carde J.P. 1994 -** Biogénèse des monoterpènes I- localisation et sécrétion. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 133 :69-78.
- **Lamendin H 2004.** Huiles essentielles en diffusion atmosphérique. *Chir. Dent.Fr* ;1185 :78-80.
- **Laouer H. 2004 -**Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*. Thèse de Doctorat d'état, Département de Biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.
- **Le minor L et al., 1954 , NICOLLE P, BUTTIAUX R, GAUDIER B, CHABBERT Y, ET LE MINOR S** « Studies on *Escherichia coli* isolated in infantile gastroenteritis ». *Ann Inst Pasteur* 1954; 86: 204-187.
- **Levy S.B & Mc Murry L., 1978.-** Plasmid-determined tetracycline resistance involves new transport systems for tetracycline. *Nature*. 276: 90-92.

## *Références bibliographiques*

---

- **Lozniewski A., Rabaud C., Nancy 2010** . RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Infections associées aux soins. 1-4.
- **Lyczak et , J.B., Cannon, C.L., Pier, G.B. 2002.** Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist. *Microbes and Infection*, 2(9), 1051-1060
- **Mahdi S 2008** la fréquence des bactérie multi résistance à lhpital hassan ii settat thèse en ligne pour l' optention du doctorat en phermacie RaBat universite Mohamed facult de médcine et de phermacie 48-51p
- **Maltezou et al HC Giamarellou H 2005** Community-acquired methicillin-resistant staphylococcus aureus infection antimicrob agent ;27 :87-96 doi 10.1016 / j.ijantimicag..11.004
- **Mann, J.1987**, Secondary metabolism.
- **Markham P.N. & Neyfakh A.A., 2001.**-Efflux-mediated drug resistance in Gram-positive bacteria, *Current Opinion Microbiology*, 5:509-514.
- **Martinetti, P 2013.**, Mon guide des huiles essentielles, Ed. Lanore. , p.5-6, ISBN : 978285157733.
- **Mbarek L.A., Mouse H.A., Elabbadi N., Bensalah M., Gamouh A., Aboufatima R0., Benharref A., Siani A.C., Ramos M.F, Menezes-de-Lima O.J.R., Ribeiro-dos-Santos R., Fernadez-Ferreira E., Soares R.O., Rosas E.C., Susunaga G.S., Guimarae A.C., Zoghbi M.G. & Henriques M.G.C., 1999.**- Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from leaves and resin of *Protium*. *Journal of Ethnopharmacology*. 66: 57-69.
- **Meepagala, K. M., Estep, A. S., & Becnel, J. J. 2016.** Mosquitocidal Activity of Extracts from *Ammi visnaga* (Apiaceae) Seeds. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 5(04), 170.
- **Melaleuca alternifolia (tea tree oil).** *Microbios*. 1995; 82 (332):181-5.

## *Références bibliographiques*

---

- **Miguel M.G., Figueiredo C., Costa M.M., Martins D., Duarte J., Barroso J. G. and Pedro L.G. 2003** – Effect of the volatile constituents isolated from *Thymus albicans*, *T. mastichina*, *T. carnosus* and *T. capiata* in sunflower oil. *Nahrung Food*, 47 (6): 397-402.
- **Mokaday et al GOPHA U, RON EZ,2005**, Extensive gene diversity in septicemic *E coli* strains *J clin Microbiol* jan 43 (1) : 66-73.
- **Molbak et Scheutz 2006**. Verocytotoxin-producing *e.coli* and other diarrhoeagenic *E.coli* in World Health organisation Waterborne zoonoses *J.A COTRUVO, A , DUFOUR , G. REES et al* Londre IWA publishing 2006 page 213-237.
- **MOMPON, B.1994**, Quel avenir commercial pour les produits obtenus par les nouvelles technologies d'extraction : CO<sub>2</sub>, Micro-ondes, ultrasons, nouveaux solvants, 4 ième rencontre internationale de Nyons. , p. 149-166.
- **Murray P.R., Rosenthal, K.S. Pfaller M.A., 2009.-** Medical Microbiology Elsevier edn., Philadelphia, pp. 960.
- **Muthu C., Ayyanar M. Raja, N. & Ignacimuthu S., 2006.-** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2:43 doi:10.1186/1746-4269-2-43.
- **Nicholas, H.J., 2000** Phytochemistry Organic Metabolites, Yonkers, , New York. Vol. 2. 1973 Ntezurubanza, L., Essential oils of Rwanda. LASEVE, University of Québec, Chicoutimi, Canada., 247.
- **Nyaledome, A. I. 2016.** *pseudomonas aeruginosa* : epidemiologie et etat actuel des resistances à l'hôpital militaire d'instruction mohammed v. universite mohammed v–rabat– faculte de medecine et de pharmacie. P. 39.
- **O.M.S, 2002.-** Organisation Mondiale de la santé (OMS) Rapport sur la médecine traditionnelle : Besoins et potentiel. N° 4. 6 p.
- **Onawunmi, 1989, G. O.** Evaluation of the antimicrobial activity of citral. *Lett Appl Microbiol.* 1989; 9: 105–108.
- **Orenstien 2011** the Discovery and Naming of *staphylococcus aureus*. Gervonden OP .

## *Références bibliographiques*

---

- **Ouhibi ,2015** . Epidémiologie des infection nosocomial en milieu de réanimation. .thèse de doctorat en médecine . Université de Cadi Ayyad .Jerrada.50P.
- **Padrini F., L.M 1997.**, La nature des huiles essentielles, Ed. Dexechi. , p.124.
- **Paloma, F. 2012.** Les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs. Thèse de doctorat en pharmaceutiques, p, 15.
- **Paris M.et Hurabielle M. 1981** – Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed. Masson p.339.
- **Paul et robert., 1998.** .antibiotic .use in the int .car unit .Int.Care, clin .28P
- **Pavela, R., Vrchotová, N., & Tříška, J. 2016.** Larvicidal activity of extracts from *Ammi visnaga* Linn.(Apiaceae) seeds against *Culex quinquefasciatus* Say.(Diptera: Culicidae). *Experimental parasitology*, 165, 51-57.
- **Payne1988** . Iron and virulence in the family enterobacteriaceae. *Critical revue in microbiology* , 16, 81 – 111.
- **Peron, L. and H0. Richard 1992**, Epices et aromates, techniques et documentations Lavoisier.
- **Pibiri M. C. 2006** - Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doctorat, EPFL Lausanne, p.161.
- **Poole K., 2004.-** Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clinical Microbiology and Infection*. 10: 12-26.
- **Pressler, T., Bohmova, C., Conway, S., Dumcius, S., Hjelte, L., Høiby, N., Kollberg, H., Tümmler, B., Vavrova, V. (2011).** Chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection definition: EuroCareCF Working Group report. *Suppl 2: S75-8*.
- **Quezel P. et Santa S. 1962** - Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1, Edition CNRS, Paris.
- **Rahal S. 2004** - Chimie des produits naturels et des êtres vivants. O.P.U. Edition. p.162.

## *Références bibliographiques*

---

- **Rice-Evans C.A., Miller N.J., Bolwell P.G., Bramley P.M. & Pridham J.B., 1995.-** The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavoids
- **Rice L.D., Sahm D. Bonomo, R.A., 2003. -** Mechanisms of resistance to antimicrobial agents. In: Murray, P.R. (Ed.), Manual of Clinical Microbiology, 1, eighth ed. ASM Press, Washington, p. 1074.
- **Rober t, G. 2000.** Les Sens du Parfum. Osman Eroylls Multimedia. Paris. 224 p.
- **Roulier, G.2000,** Les huiles essentielles pour votre santé, Ed. Dangles., p.336.
- **Saadaoui. Mehdi, 2008 .** La fréquence des bactéries multi résistante a l'hôpital Hassan ii de Settat. (Thèse de doctorat inédit ). UNIVERSITE MOHAMMED V FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE RABAT.
- **Saidi O 2018.** Les diarrhées aigües communautaires infantiles [Internet] [Thèse]. Rabat : Université Mohammed V; [consulté 16 Juin 2018]. Disponible sur: <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/handle/123456789/16362>
- **Saleh, N.A.M., El-Negoumy, S.I., El-Hadidi, M.N., Hosni, H.A. 1983.** Comparative study of the flavonoids of some local members of the Umbelliferae. Phytochemistry22(6), 1417-1420.
- **Santoyo S., Cavero S., Jaime L., Ibanez E., Senorans F.J. & Reglero G., 2005.-** Chemical composition activity of Rosmarius officinalis L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. Journal of Food Protection. 68: 790-795.
- **SCHMIDT, Hydrodiffusion SA, brevet suisse n° 2473058. 1981. Semyari, H., Owlia, P., Farhadi, S., Tabrizi, S.M. 2011.** Evaluation of antimicrobialeffect of “Ammi visnaga” against oral streptococci. Journal of Microbiology and Antimicrobials3(5), 126-129.
- **Sens-Olive, G., 1979** « Les huiles essentielles - généralités et définitions », dans Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, éd. Maloine.
- **Sikkema J., De Bont J.A.M. & Poolman B., 1995.-** Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. Microbiological Reviews 59: 201-222.

## *Références bibliographiques*

---

- **Sittig M., 1988.-** Pharmaceutical Manufacturing Encyclopedia. Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens. Noyes Publications. 2nd ed., 707 p.
- **Sivropoulou, A., et al 1996.,** Antimicrobial and cytotoxic activities of Origanum essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 44, 1202-1205.
- **Soares et al 1997 MJ , Tokumaru-Miyazaki NH, Noletto AI , Figueiredo AM ,** Enterotoxin production by staphylococcus aureus clones and detection of Brazilian epidemic MRSA clone (iii ;B :A) among isolates from food handlers J med MICROBIOL 1997.46/2146221.
- **Stagliano, M 1992.,** Actifs et additifs en cosmétologie, techniques et documentations Lavoisier.
- **SURK 2003** Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against yeast bread spoilage fungi journal Applied Microbiology ; 99 :665-674
- **Svoboda K. P. and Hampson J. B. 1999 –** Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. <http://www.csl.gov.uv/ienica/seminars/>
- **Sylvie Carle 2009.** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. Pharmactuel , Vol 42 , 6-21.
- **Tabanca N., Demirci B., Ozek T., Kirimer N., Baser K.H.C., Bedir E., Khan I.A. and Wedge D.E. 2006 -** Gas chromatographic–mass spectrometric analysis of essential oils from Pimpinella species gathered from Central and Northern Turkey. Journal of Chromatography. A, 1117: 194–205.
- **Tasseau et Baron, 1989 .** Infections nosocomiales. In : BRUKER Get FASSIN D, eds. Santé publique. Paris : Ellipses; 478-79.
- **Teuscher E., Anton R. et Lobstein A. 2005 –** plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc éditions, Paris
- **Thorene 1994 .** Humoral immune responses to shiga-like toxins and Escherichia coli ; p43 .
- **Till 2014 PM** Bailey Scott's diagnostic microbiology 2014

## *Références bibliographiques*

---

- **Tim, W.R., Leea, K.G., Brownleea, S.P., Conwaya, M. D., James, M. L. 2003.** Evaluation of a new definition for chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis patients. *Journal of Cystic Fibrosis*, 2, 29-34
- **Tonzibo Z.F., Oussou K.R., Chopard C., Mahy J.P. & N'Guessan Y.T. 2010.-** Effect of essential oil of *Chromolaena odorata* (Asteracea) from Ivory coast, on cyclooxygenase function of prostaglandine-H synthase activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 4(8): 535-538.
- **Ullah, R., Hussain, I., Khader, J. A., AbdEIslam, N. M., & Samreen, T. 2012.** Investigation of fatty acid composition of *Ammi visnaga* seed oil by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(47), 3265-3267.
- **Unlu M., Daferera D., Donmez E., Polissiou M., Tepe B. & Sokmen A., 2002.-** Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achilla setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae). *Journal of Ethnopharmacology*. 83: 117-121
- **Valnet J. 1984 -** Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes. Maloine S.A. éditeur. Paris p 544.
- **Vanachayangkul, P., Byer, K., Khan, S., Butterweck, V. 2007:** An extract of *Ammi visnaga* L. prevents cell damage caused by oxalate. *Planta Medica* 73(9), 240
- **Vansant G. 2004 –** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone. VIAED, H., Les huiles essentielles et leur distillation. *Thérapeutique naturelle*. 1993, p.924.
- **VIAUD, H 1993.,** Thérapeutiques naturelles - GNOMA Ed
- **Vogel A., 2013.** Encyclopédie des plantes. L'univers des plantes médicinales; Act as potent inhibitors of phorbol ester-induced nitric oxide generation in rat hepatocytes independent of their antioxidant properties. *Cancer Lett*. 2000, 153 (1- 2): 1-5.
- **Wainsten, Jean-Pierre 2012 .** résistance naturelle .Larousse médical . (1113 p ) Larousse
- **Walsh S. E., Maillard J-Y., et al 2003.** Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and -negative bacteria. *J Appl Microbiol*; 94(2): 240-7.
- **Walsh, C., 2003.-** Antibiotics: actions, origins, resistance. Washington, D.C., ASM Press

## *Références bibliographiques*

---

- **Wendakoon C.N. & Sakaguchi M., 1995.-** Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal of Food Protection* 58: 280-283.
- **Whitman 2009 Wb** ,editor.systematique *Bacteriology new york*
- **Willem, J.P. 2009,** 60 maux soignés par les huiles essentielles : l'aromathérapie au quotidien pour toute la famille, Les minipockets de santé.
- **Yalad A.S. MeradD. Mohamedi M.N. Ouar Korich (2001 .** resistance bacterienne aux antibiotiques. *Médecine du Maghreb* n°91 , 13-14.
- **Zani F., Massimo G., Benvenuti S., Bianchi A., Albasini A., Melegari M., Vampa G., Bellotti A. & Mazza, P ,1991.-** Studies on the Genotoxic Properties of Essential Oils with *Bacillus subtilis* rec-Assay and *Salmonella*/Microsome Reversion Assay. *Planta Medica* 57: 237-241.