

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
**Université A. MIRA - Béjaia**

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*  
*Département des Sciences Alimentaires*  
*Spécialité Production et Transformation Laitière*



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Interaction entre la flore lactique et les  
bactéries pathogènes en présence de  
clou de girofle et du thym**

Présenté par :

**BENAMARA Massinissa & BENYAHIA Halim**

Soutenu le : **01 Juillet 2019**

Devant le jury composé de :

Mme. BOUALI Nora.

Mme. OUKIL Naima.

Mme. HASSISSENE Nadia.

MAA

MCA

MAA

Président

Encadreur

Examineur

**Année universitaire : 2018 / 2019**

## Remerciements

*Avant tout nous tenons à remercier Dieu le tout puissant qui nous a accordé santé et courage pour mener ce travail jusqu'au bout.*

*On tient à remercier notre promotrice Mme OUKIL N pour son encadrement, ses conseils, ses compétences scientifiques, qui nous ont permis d'élargir nos connaissances.*

*On remercie Mme BOUALI N. de nous avoir fait l'honneur de présider, et Mme HASSISSENE N. d'avoir examiné notre travail.*

*On n'oublie pas de remercier l'ingénieur du laboratoire de microbiologie alimentaire Mme OUAER, pour son encadrement au sein du laboratoire et sans oublier Mr CHIKHOUNE et Mr BAVHIR BEY du département des Sciences Alimentaire.*

*Toute notre gratitude à tous nos enseignants qui nous ont formés spécialement Mme MERZOUK et Mlle TOUATI.*

## *Dédicaces*

*En cette mémorable occasion de notre soutenance, Je tiens à dédier ce travail :*

*A mes parents qui m'ont soutenu dans les petites et grandes choses*

*A mes adorables frères Yacine et Abdelghani qui sont mes deux piliers de vie*

*A mes adorables sœurs qui n'ont pas cessé de me conseiller et consoler avec  
toutes formes de tendresse.*

*A mes beaux frères Md Ameziane, et Smail pour leur encouragement*

*A mes charmants neveux Houssam ,Ayoub et Abderraouf*

*A ma jolie nièce Youssra*

*A mes amis qui n'ont pas arrêté de me faire sourire Saliha, Rahim, Dalila et  
Ouarda.*

*A mon binôme Massi et à sa famille*

*A toute la promo PTL 2018/2019*

*A toute la famille BENYAHIA et à tous ceux qui me connaissent*

***Halim***

## ***Dédicaces***

*En cette mémorable occasion de notre soutenance, Je tiens à dédier ce travail :*

*A dieu pour m'avoir donné la force de persévérer et garder l'espoir pour mon  
avenir*

*A mes très chers parents qui m'ont soutenu durant toute ma vie et qui m'ont  
encouragé*

*A mes sœurs*

*A toute la famille benamara*

*A mes Frères non amis*

*A mes amis Zouzou, Sonia, Hamza, Walid, Rahim*

*A mon binôme Halim et sa famille*

*A toute la promo PTL 2018/2019*

***Massinissa***

# Table de matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction .....1

## Synthèse bibliographique

I. Clou de girofle.....2

I.1. Production mondial de clou de girofle.....2

I.2. Description botanique .....2

I.3. Composition chimique de l'H.E. des clous de girofle.....3

II. Thym .....5

II.1. Caractéristiques botaniques .....5

II.2. Classification et taxonomie .....5

II.3. Répartition géographique.....6

II.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles du thym.....6

III. Huiles essentielles.....7

III.1. Définition.....7

III.2. Localisation et biosynthèse.....8

III.3. Composition.....8

III.4. Activité antibactérienne.....8

III.5. Production et extraction .....9

III.6. Domaines d'application .....10

IV. Ferments lactiques.....10

IV.1. Définition.....10

IV.2. Utilisation des bactéries lactiques.....11

V. Antibiotiques.....11

V.1. Historique.....11

V.2. Définition.....11

V.3. Classification des antibiotiques.....12

## **Matériel et méthodes**

<b>I. Matériel.....</b>	<b>14</b>
<b>I.1. Matériel végétal.....</b>	<b>14</b>
<b>I.2. Souches bactériennes.....</b>	<b>14</b>
<b>I.3. Antibiotiques.....</b>	<b>15</b>
<b>II. Méthodes.....</b>	<b>16</b>
<b>II.1. Extraction de l'huile essentielle de clou de girofle.....</b>	<b>16</b>
<b>II.2. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles.....</b>	<b>17</b>
<b>II.3. Effet prébiotique des deux huiles essentielles (clou de girofle et thym) .....</b>	<b>19</b>
<b>II.4. Combinaison entre les huiles essentielles.....</b>	<b>19</b>
<b>II.5. Antibiogramme.....</b>	<b>19</b>

## **Résultats et discussions**

<b>I. Rendement en huile essentielle de clou de girofle.....</b>	<b>22</b>
<b>II. Evaluation de l'activité antibactérienne et l'effet probiotique des huiles essentielles de clous de girofle et du Thym.....</b>	<b>22</b>
<b>III. Activité antibactériennes de l'huile essentielle du clou de girofle.....</b>	<b>24</b>
<b>IV. Activité antibactérienne de l'huile essentielle du Thym .....</b>	<b>25</b>
<b>V. Effet prébiotique de l'huile essentielle du clou de girofle.....</b>	<b>26</b>
<b>VI. Activité antibactérienne de l'association des deux huiles essentielles.....</b>	<b>30</b>
<b>VII. Sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme) .....</b>	<b>32</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>36</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Résumé</b>	



## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Production de clou de girofle en tonnes Données de FAOSTAT (FAO) chiffres 2003-2004. ....	2
<b>Tableau II</b> : Situation botanique de l'espèce <i>Syzygium aromaticum</i> . ....	3
<b>Tableau III</b> : Les constituants principaux de l'huile essentielle du girofle .....	4
<b>Tableau IV</b> : Classification botanique du thym. ....	5
<b>Tableau V</b> : Composition biochimique de l'huile essentielle du thym.....	7
<b>Tableau VI</b> : Les principales familles chimiques des antibiotiques.....	12
<b>Tableau VII</b> : Souches pathogènes utilisées.....	15
<b>Tableau VIII</b> : Bactéries lactiques utilisées.....	15
<b>Tableau IX</b> : Sensibilité des bactéries aux huiles essentielles.....	18
<b>Tableau X</b> : Expression de l'effet prébiotique.....	19
<b>Tableau XI</b> : Concentrations de l'huile essentielle du clou de girofle.....	23
<b>Tableau XII</b> : Concentrations de l'huile essentielle du thym.....	23
<b>Tableau XIII</b> : Effet de l'huile essentielle de <i>Syzygium Aromaticum</i> sur les deux bactéries...24	
<b>Tableau XIV</b> : Effet de l'huile essentielle du <i>Tymus zygis</i> sur les deux bactéries.....	25
<b>Tableau XV</b> : Effet prébiotique de l'huile essentielle de <i>Syzygium Aromaticum</i> .....	27
<b>Tableau XVI</b> : Effet prébiotique de l'huile essentielle du <i>Tymus zygis</i> .....	28
<b>Tableau XVII</b> : Effet d'HE de <i>Syzygium Aromaticum</i> sur les bactéries lactiques et les bactéries pathogènes en association.....	29
<b>Tableau XVIII</b> : Effet d'HE du <i>Tymus zygis</i> sur les bactéries lactiques et les bactéries pathogènes en association .....	30
<b>Tableau XIX</b> : Effet des deux HEs en présence des bactéries pathogènes et bactéries lactiques en association .....	31
<b>Tableau XX</b> : Sensibilité des bactéries lactiques aux antibiotiques.....	33
<b>Tableau XXI</b> : Sensibilité des bactéries pathogènes aux antibiotiques.....	34
<b>Tableau XXII</b> Effet des antibiotiques en présence des bactéries pathogènes et les bactéries lactiques en association.....	34



# **Introduction**

## Introduction

Le lait et les produits laitiers constituent des éléments de base de notre alimentation, ils sont indispensables à la couverture des besoins nutritionnelles à tout âge de la vie.

Ces produits sont les plus consommables dans le monde en raison de leurs caractéristiques physico-chimique et leurs valeurs nutritionnelle, énergétique et organoleptique.

Le lait fermenté est considéré comme une forme de conservation du lait qui est très périssable, il convient à toutes les tranches d'âge et de population et même chez les sujets intolérants aux laits ; les ferments lactiques assurent la transformation du lait en lait fermentés.

En raison de la consommation des laits fermentés par des patients sous antibiotiques et l'ajout des huiles essentielles comme agents conservateurs et exhausteurs de goûts la communauté scientifique s'interroge sur les effets et interactions qui pourraient avoir lieu.

Les métabolites secondaires des plantes à savoir : les huiles essentielles, les alcaloïdes et autres composés phénoliques, représentent des molécules de fortes valeurs, utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires. Les activités antibactériennes de ces produits ont été rapportées dans de très nombreux travaux. (**Bouzouita et al, 2008**).

Dans notre étude, on s'est fixé pour objectif de déterminer l'effet prébiotique des huiles essentielles du clou de girofle et de thym, en présence de ferments lactiques (culture mixte et *Lactobacillus bulgaricus*).

De même on s'est intéressé à l'effet des huiles essentielles vis-à-vis des souches pathogènes à savoir *Escherichia coli* et *Enterococcus faecalis*, ainsi que leurs sensibilités à deux antibiotiques.

L'effet recherché est en fait une interaction entre les ferments lactiques en présence des huiles essentielles seules ou en association.

# **Synthèse Bibliographique**

## I. Clou de girofle

### I.1. Histoire et présentation

Ce que l'on a coutume de rencontrer sous le nom du clou de girofle sont les Bourgeons séchés d'un arbre tropical : le giroflier ou *Eugenia Caryophyllata* de la famille Des Myrtacées et un arbuste cultivé à Madagascar, en Indonésie et en Afrique. C'est un bel arbre de 12 à 15 m de haut, exigeant un climat doux et humide. Le bouton floral (clou de Girofle) à odeur caractéristique et à saveur chaude et piquante. Le clou de girofle est une Épice utilisée en cuisine (Schroder et al., 1991).

### I.2. Production mondial du clou de girofle

Le clou de girofle représente les boutons floraux du giroflier, cet arbre tropical est cultivé dans de vastes régions des pays tropicaux. Le tableau I représente la production mondiale du clou de girofle en tonnes.

**Tableau I** : Production en tonnes du clou de girofle (FAO, 2004).

<b>Indonésie</b>	<b>87909</b>	<b>68,2 %</b>
Madagascar	<b>20 000</b>	<b>15,5 %</b>
<b>Tanzanie</b>	<b>1250</b>	<b>9,7 %</b>
<b>Sri Lanka</b>	<b>4100</b>	<b>3,2 %</b>
<b>Comores</b>	<b>3013</b>	<b>2,3 %</b>
<b>Autres pays</b>	<b>1370</b>	<b>1,1 %</b>
<b>Total</b>	<b>128892</b>	<b>100 %</b>

### I.3. Description botanique:

Le giroflier ou girofle (*Syzygium aromaticum*) est un arbre de la famille des *Myrtaceae* originaire d'Indonésie (Tableau II).

**Tableau II** : Situation botanique de l'espèce *Syzygium aromaticum*.

Règne	<i>Plantae</i>
Sous règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Myrtales</i>
Famille	<i>Myrtaceae</i>
Genre	<i>Syzygium</i>

Comme beaucoup d'espèces, le giroflier a porté plusieurs noms scientifiques avant d'être nommé *Syzygium aromaticum* (**Amshoff, 1996 ; Faucon, 2012**).

- *Caryophyllus aromaticus* L. (1753)

- *Eugenia caryophyllata* Thunb. (1788)

- *Eugenia caryophyllus* Spreng. (1825)

- *Eugenia aromatica* (L.) Baill. (1876)- *Jambosa caryophyllus* (Thunb.) Nied. (1893) -

*Syzygium aromaticum* (**Merr & Perry, 1939**) Actuellement, les noms *Syzygium aromaticum* et *Eugenia caryophyllus* sont tous les deux employés.



**Figure 1** : Photographie des boutons floraux du giroflier.

#### **I.4. Composition chimique de l'H.E. du clou de girofle**

La composition chimique de l'H.E. du girofle est caractérisée par la présence d'un propénylphénol largement prépondérant, l'eugénol. Majoritairement libre et en partie sous

forme d'acétate d'eugényle, sa teneur oscille entre 70 et 85 %. L'eugénol est accompagné de plusieurs dizaines de composés terpéniques (**Bruneton, 1999**):

- **des sesquiterpènes** :  $\alpha$  et  $\beta$  caryophyllènes (de 7 à 10%),  $\alpha$  et  $\beta$  humulènes,  $\alpha$  amorphène  $\alpha$  murolène, calaménène, calacorène.

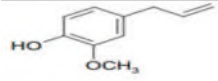
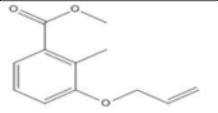
- **des esters** : hexanoates d'éthyle, acétates de 2-heptanyle, de 2-nonanyle, de styrallyle, de benzyle, de terpényle et d'éthylphényle.

- **des oxydes** : oxydant de caryophyllène, époxyde d'humulène.

L'H.E. des clous de girofle, extraite par hydrodistillation, contient principalement deux composés : l'eugénol et l'acétyl-eugényle (**Treiner, 1999**).

D'après (**Treiner, 1999**), l'une des caractéristiques fondamentales de l'H.E. des clous de girofle est sa densité élevée ( $d = 1,066 > d \text{ eaux} = 1,00$ ), ce qui nous permet de les séparer par simple décantation : même caractéristique partagée avec les huiles de cannelle et de saffras.

**Tableau III** : Les constituants principaux de l'huile essentielle du girofle (**Vercauteren, 2006**).

	Densité (g/ml)	PM (g/mol)	Solubilité	Structure chimique
<b>Eugénol</b>	1.06	164.2	Insoluble dans l'eau et soluble dans les solvants apolaires.	 (4-allyl- 2méthoxy- phénol)
<b>L'acétate d'eugényle</b>	1,075 à 1,085	206,24	/	

**H.E:** Huile essentielle.

## II. Thym

### II.1. Caractéristiques botaniques

La famille des *Lamiaceae* (*Labiatae*) est l'une des familles botaniques les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antioxydant et antibactérien (**Bouhdid et al., 2006**). Elle regroupe entre 200 et 250 genres et entre 3200 et 6500 espèces (**Anon, 2003 ; Dorman et al., 2004**).

Le Thym est l'un des huit genres les plus importants en ce qui concerne le nombre d'espèces chez la famille des Labiatae, bien que le nombre d'espèces de ce genre change selon le point de vue taxonomique ; si nous adoptons un caractère synthétique, il comporte plus de 200 espèces (**Morales, 1997**).

### II.2. Classification et taxonomie

Le tableau suivant montre la classification du genre *Thymus*

**Tableau IV** : classification botanique du thym. (**Mebarki, 2010 ; Madi, 2010**)

Règne	Plantae (végétal)
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Embranchement	Spermaphytes (phanérogames)
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Astériidae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae (labiées)
Genre	<i>Thymus</i>

### II.3. Répartition géographique

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales en regard de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le *Thymus* comprend plusieurs espèces réparties sur tout le littoral et même dans les régions interne jusqu'au zones arides. (Saidj, 2006). Il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée (Dob et al., 2006). C'est un genre très répandu dans le nord-ouest africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye), il pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut le trouver également en Sibérie et même en Himalaya (Mebarki, 2010). On peut les rencontrer aussi, en plaine ou en montagne, dans les rocailles, les garrigues, les pelouses ou les broussailles. (Bellakhdar, 1997).






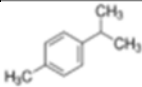
Figure 2 : Photographie de thym.

### II.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles du thym

Le thymol est le constituant le plus connu des molécules composant l'huile essentielle de thym mais il existe bien trois (03) autres composées, Le tableau V représente la Composition biochimique de l'huile essentielle du thym.



**Tableau V :** Composition biochimique de l'huile essentielle du thym.

	Densité (g/ml)	PM g/mol	Solubilité	Structure chimique
Thymol ou acide thymique ( <b>C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O</b> )	0.9 à 0.95	150.2	Très peu soluble dans l'eau (1/1000), très soluble dans l'alcoole	
Carvacrol ( <b>C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O</b> )	0.9 à 0.95	150.2	/	
γ-terpinène ( <b>C<sub>10</sub>H<sub>16</sub></b> )	0.85	136	/	
Cymène ( <b>C<sub>10</sub>H<sub>14</sub></b> )	0.85	134	Insoluble dans l'eau soluble dans l'alcool et l'éther	

### III. Huiles essentielles

#### III.1. Définition

Une huile essentielle appelée aussi essence est un mélange de substances aromatiques volatiles peu complexe issue et produit par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytopathogènes (**Lahlou, 2004**).

C'est un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques, soit par distillation sèche (**ISO 9235**).

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

Elles sont généralement concentrées dans une région particulière de la plante, soit la feuille, l'écorce la fleur ou le fruit. Lorsqu'elles se trouvent dans plusieurs organes d'une même plante, elles ont fréquemment une composition différente (**Gagnon, 2007**).

## **III.3. Composition**

Les huiles essentielles (HEs) sont classées usuellement selon la nature chimique des principes actifs majeurs, plus rarement sur le mode d'extraction ou les effets biologiques. On retient huit classes principales (les carbures sesquiterpéniques et terpéniques, les alcools, les esters et alcools, les aldéhydes, les cétones, les phénols, les éthers et les peroxydes) (**Georges, 1979**).

## **III.4. Activité antibactérienne des huiles essentielles**

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 (**Carson et al., 2002**).

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques 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 ; Laib, 2011**).

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 (**Wendakoon et al., 1995**).

Les HES peuvent aussi inhiber la synthèse de DNA, ARN, des protéines et des polysaccharides (**Cox et al., 1991**).

Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (**Dorman 2000 ; Laib 2011**).

### **III.5. Extraction**

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des extraits naturels complexes, mais la plus utilisée est l'entraînement par la vapeur ou l'hydrodistillation de la plante fraîche ou sèche qui produit des huiles essentielles (**Georges, 1979**).

#### **➤ Extraction par distillation**

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par distillation et entraînement par la vapeur d'eau (**Michel, 2011**).

Ce procédé est de loin le plus répandu, car il convient à la majorité des plantes. Comme les huiles essentielles sont insolubles dans l'eau (ce sont des huiles) mais soluble dans la vapeur, lorsqu'on envoie de la vapeur sur la plante, elle se charge au passage des huiles. Dans un appareil spécial, la vapeur d'eau ainsi lestée de ces essences est envoyée dans un compartiment pour y refroidir. Là, la vapeur redevient donc liquide et les huiles s'en désolidarisent (elles flottent à la surface). On les récupère alors par décantation. Le temps complet de distillation doit être respecté pour l'obtention de l'huile essentielle de bonne qualité qui dévoilera « toute son activité » (**Danièle, 2008**).

#### **➤ Distillation et entraînement à la vapeur**

C'est le procédé le mieux adapté à l'extraction des essences (**Bego, 2001**). Le matériel végétale n'est pas en contact avec l'eau, son principe réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « Vapeur d'eau- huile essentielle » dispersé dans la matière végétale (**Lucchesi, 2005**). Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par

condensation, le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat (**Belaiche, 1979 ; Benjlali, 2004**).

### **III.6. Domaines d'application**

#### **➤ Usage médical**

##### Traitement buccodentaire

L'eugénate composé d'eugénol ; présent dans les huiles essentielles du clou de girofle, et d'oxyde de zinc, est utilisé comme pâte pour la reconstitution des dents. L'eugénol est aussi utilisé, comme anesthésiant et cautérisant pulpaire en cas d'alvéolite après extraction dentaire (**Lamendin et al., 2004**)

##### Antispasmodique

Les clous de girofle soulagent les troubles digestifs, tels que flatulences et coliques, Ils apaisent aussi la toux, les spasmes musculaires lors de leur application locale (**Iserin et al., 2001**).

##### Stimulant physique et intellectuel

Le clou de girofle a une action stimulante, aussi bien dans les cas d'asthénie intellectuelle (perte de mémoire) que corporelle, considéré comme aphrodisiaque, il stimule et augmente également les contractions de l'utérus lors de l'accouchement (**Iserin et al., 2001**).

## **IV. Ferments lactiques**

### **IV.1. Définition**

Les bactéries lactiques constituent l'un des groupes incontournables de la microbiologie alimentaire (**Dridier et Prevost, 2009**), a été défini pour la 1ere fois par (**Orla, 1919**).réunit plusieurs genres caractérisés par leur capacités à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique (**Novel, 1993**).

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes ubiquitaires qui se retrouvent dans différents types d'habitat (**Dellaglio et al., 1994; Matamoros, 2008**) sont des cellules Procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (**Roissart, 1986**). Elles jouent un rôle important dans de nombreux procédés laitiers (Raynaud, 2006) produisant de l'acide lactique

comme produit principal et vaginale humaine ou animale. Elles colonisent de nombreux produits alimentaires comme les produits laitiers, la viande, les végétaux et les céréales et font partie de la flore dans un grand nombre de fermentations spontanées de produits alimentaires (Stiles et al., 1997), ce qui a conduit à la reconnaissance de leur statut GRAS (Generally Recognized As Safe).

## **IV.2. Utilisation des bactéries lactiques**

Dans l'industrie alimentaire, les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation et bioconservation des différents aliments, les souches *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés (Yateem et al. 2008).

## **V. Antibiotiques**

### **V.1. Historique**

Alexander Fleming (1881-1955), un médecin bactériologiste, découvre les antibiotiques en 1928 ; Une découverte due au hasard : parti en vacances, Fleming laisse des cultures de la bactérie *Staphylococcus aureus* dans son laboratoire. À son retour, il observe que certaines de ces cultures ont été accidentellement contaminées par une moisissure appelée *Penicillium* (champignons), ce qui a tué les bactéries, la pénicilline est donc le premier antibiotique découvert.

### **V.2. Définition**

En 1944 Waksman définit les antibiotiques comme "toute substance chimique produite par un micro-organisme, champignon ou bactérie pouvant inhiber la croissance ou détruire d'autres micro-organismes". Cette définition est aujourd'hui trop restrictive et doit être abandonnée car des antibiotiques peuvent être obtenus par synthèse ou par héli-synthèse. Un antibiotique est donc actuellement défini comme une substance, d'origine biologique ou synthétique agissant spécifiquement sur une étape essentielle du métabolisme des bactéries (Leclere et al., 1995).

Par opposition au phénomène de symbiose, le mot antibiotique dérive du terme "*antibiose*" créé en 1889 par Vuillemin pour désigner les phénomènes d'antagonisme entre les micro-organismes vivants (**Asselineau et Zalta, 1973**).

### V.3. Classification des antibiotiques

Il existe plusieurs classifications des antibiotiques, elles sont basées sur le spectre d'action, la cible, ou la famille chimique. Cette dernière est la plus fréquemment rencontrée (**Bruneton, 1993**).

**Tableau VI** : Les principales familles chimiques des antibiotiques (**Bruneton, 1993**).

Famille	
$\beta$ -lactamines	Pénicilline, céphalosporines.
Aminosides	streptomycine, gentamycine, Chloramphénicol et thiamphénicol.
Cyclines	tétracyclines, doxycycline.
Macrolides et apparentés	Érythromycine, oléandomycine

#### ➤ Les Macrolides

##### Définition:

Les macrolides sont des molécules antimicrobiennes qui tiennent leur nom à leur structure chimique. Ce sont des composés qui possèdent un macrocycle de 14, 15 ou 16 atomes associés à un ou plusieurs sucres (**Gaynor et Mankin, 2003**).

Les macrolides sont des antibiotiques composés d'au moins deux sucres aminés ou neutres attachés à un grand noyau lactonique de taille différente selon le produit. En effet, il existe à l'heure actuelle plusieurs classes de macrolides en fonction du nombre d'atomes qui composent ce noyau lactonique (**Bryskier et al. 1993**). On distingue donc, les macrolides à 14 atomes (ex. érythromycine, clarithromycine), les macrolides à 15 atomes (ex. azithromycine) et ceux à 16 atomes (ex. josamycine, spiramycine). Enfin, un sous-groupe a fait son apparition à la fin du siècle dernier, il s'agit des kétolides, molécules dérivées de la clarithromycine (ex. télithromycine).

### **Mode d'action des macrolides**

Ces antibiotiques ont un mode d'action qui est relativement similaire à celui des aminoglycosides par le fait qu'ils inhibent la synthèse protéique en se liant au ribosome. Toutefois, contrairement à ces derniers, ils ont un effet bactériostatique (**Gaynor et Mankin ; 2003, Kohanski et al., 2010**).

Peu d'information est connue à propos du fonctionnement des macrolides, ceux-ci se liant à l'ARNr 23S de la grande sous-unité ribosomale 50S. Leur site de liaison est situé dans le tunnel de sortie du peptide nouvellement synthétisé, près du centre peptidyl transférase, ce qui bloque de façon réversible la synthèse protéique (**Gaynor et Mankin, 2003, Kohanski et al., 2010**).

-Bien qu'ils soient plus fréquemment utilisés pour le contrôle des infections par des bactéries à Gram positif, des concentrations sous-inhibitrices de macrolides peuvent empêcher la formation de biofilm et la synthèse flagellaire chez *P. aeruginosa* et *P. mirabilis*, deux espèces bactériennes à Gram négatif (**Yim et al., 2006**).

## **Matériel et Méthodes**



## **Matériel et Méthodes**

Dans notre travail on s'est intéressé à l'effet prébiotique de deux (02) huiles essentielles à savoir l'huile essentielle de clou de girofle et l'huile essentielle de thym seuls ou en association en présence de *Lactobacillus bulgaricus* et d'une culture mixte de ferments lactiques représenté dans le tableau VII.

De même nous avons testé l'effet antibactérien de l'huile essentielle de clou de girofle et l'huile essentielle de thym vis-à-vis de souches pathogènes à savoir *Escherichia coli* et *Enterococcus faecalis* représentés dans le tableau VI.

### **I. Matériel**

#### **I.1. Matériel végétal**

##### **Clou de girofle**

Dans le cadre de notre étude le clou de girofle utilisé a été acheté dans la région de Béjaïa au mois d'Avril 2019, La variété utilisée est : *Syzygium aromaticum*.

##### **L'huile essentielle du thym**

L'huile essentielle du thym (*Thymus zygis*) est une huile de référence : **E0BBG**.

#### **I.2. Souches bactériennes**

Pour étudier les interactions entre les bactéries lactiques et les huiles essentielles du clou de girofle et du thym ainsi que la flore pathogène, des souches bactériennes ont été choisies.

##### **•Souches pathogènes**

Deux souches pathogènes nous ont été fournies par le laboratoire d'écologie microbienne de l'université de Béjaïa. Les souches utilisées sont à l'origine de maladies infectieuses.

**Tableau VII :** souches pathogènes utilisées.

<b>Souches</b>	<b>Gram</b>	<b>Référence</b>	<b>Famille</b>
<i>Enterococcus fecalis</i>	+	Isolée d'une eau usée	Streptococaceae
<i>Escherichia coli</i>	-	ATCC A404	Enterobacteriaceae

•**Ferments lactiques**

**Tableau VIII :** Bactéries lactiques utilisées.

<b>Souches</b>	<b>Référence</b>
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Isolée d'un lait de vache acidifié
<b>Culture mixte lyophilisées de :</b> <i>Lactococcus lactis subsp. Lactis.</i> <i>Lactococcus lactis subsp. Cremoris.</i> <i>Lactococcus lactis subsp. Lactis biovar diacetylactis.</i> <i>Leuconostoc mesenteroides subsp. Cremoris.</i>	Flora Danica N°3360223

### **I.3. Antibiotiques**

Les disques d'antibiotiques utilisés pour les tests de diffusion par disque, à savoir l'érythromycine (S9024) à 15 µg et l'Azithromycine (SD212-1CT) à 30 µg qui nous ont été fournis par le laboratoire d'analyse médicale EPH AKELOUL Ali d'Akbou .

## II. Méthodes

### II.1. Extraction de l'huile essentielle de clou de girofle

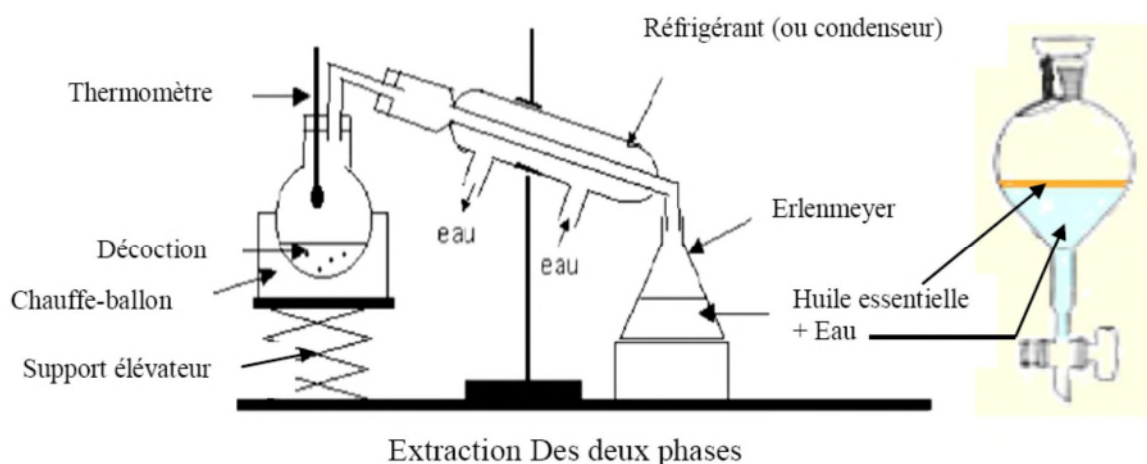
Il existe plusieurs méthodes d'extraction des extraits naturels complexes, mais la plus utilisée est l'entraînement par la vapeur ou l'hydro distillation de la plante fraîche ou sèche qui produit des huiles essentielles. (Georges, 1979).

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie alimentaire de l'université de Béjaia à l'aide d'un hydrodistillateur de type (Clevenger, 1928).

#### •Mode opératoire

Une quantité de 50 g de clous de girofle a été introduite dans un ballon à monocolle de 2 litres rempli d'eau de source jusqu'à ce que la matière végétale soit émergée.

Le mélange a été macéré une nuit, puis mis à chauffer pendant deux heures. Le mélange chauffé, produit de la vapeur chargée de produits volatils qui se condensent au contact d'un réfrigérant. Le condensat a été recueilli dans une ampoule à décanter ou s'effectue la séparation des deux phases non miscibles : phase aqueuse et phase organique, cette dernière constitue l'huile essentielle (Chanthaphon et al, 2008).



**Figure 3** : Schéma d'un appareil pour l'hydrodistillation (Clevenger, 1928).

## Rendement en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile essentielle extraite et le poids du matériel végétal utilisé. Il est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante (Mrabkt et al, 1999).

$$Rd = Mi * \frac{100}{Mo}$$

Où :

Rd : rendement en huile essentielle.

Mi : Masse de l'huile essentielle extraite (g).

Mo : Masse du matériel végétal utilisé (g).

## II.2. Evaluation de l'effet antibactérien des huiles essentielles

L'aromatogramme est une méthode qui se réalise *in vitro*, basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Le contact se fait par l'intermédiaire du disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée des extraits de plante. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (Fauchère et Avril, 2002). L'aromatogramme se réalise aussi sur un milieu liquide par la méthode des disques (Belaiche, 1979).

### • Standardisation des inocula bactériens

A partir d'une culture jeune de 18 h, nous avons prélevé un volume qu'on a introduit dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile (0,9% de Na Cl) pour obtenir l'inoculum bactérien (Hazzit, 2008). L'inoculum a été ajusté à une densité optique comprise entre 0,08 et 0,13 à l'aide d'un spectrophotomètre, à une longueur d'onde de 625 nm, qui correspond à une concentration de  $10^7$  à  $10^8$  UFC/ml. Avant usage, la suspension est mélangée vigoureusement à l'aide d'un Vortex. L'inoculum bactérien doit être employé dans les 15 min qui suivent sa préparation (Oukil, 2013 ; CA-SFM, 2018).

### • Mode opératoire

La méthode de diffusion sur disques, appelée aussi méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore aromatogramme. C'est une méthode inspirée de l'antibiogramme, qui se réalise in vitro (**Baser et Buchbauer, 2009**). Elle est utilisée pour la détermination des activités antimicrobiennes des huiles essentielles. A l'aide d'un écouvillon, 0,1 ml de la suspension bactérienne standardisée a été étalé sur la gélose Mueller Hinton. Les boîtes ainsiensemencées ont été mise à sécher 15 min à 37 °C.

Des disques stériles en papier filtre (6 mm de diamètre) ont été imprégnés de 15 µl d'huile essentielle, puis déposés sur les boîtes, qui ont été ensuite mises au réfrigérateur à 4 °C pendant 2 heures, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètres, et tous les tests ont été réalisés en triple (**Garrabé et al, 1998 ; Gachkar et al, 2007**).

#### • Expression des résultats

Après 24h d'incubation, les zones d'inhibitions ont été examinées d'une manière où la boîte, étant à 30 cm de l'œil, ne doit pas être placée face à une lampe (lumière transmise). Les zones d'inhibition sont mesurées au millimètre le plus proche avec une règle ou un pied à coulisse (**CA-SFM, 2018**).

Selon Ponce et al. (2003), la sensibilité des bactéries à l'huile essentielle a été classée selon le diamètre des halos d'inhibition, comme le résume les Tableaux suivant : Degré de sensibilité des bactéries aux huiles essentielle selon le diamètre des zones d'inhibition (**Ponce et al, 2003**).

**Tableau VIII** : sensibilité des bactéries aux huiles essentielles

Diamètres (mm)	Degré de sensibilité
$D < 8$	Non sensible (-)
$8 < D < 14$	Sensible (+)
$15 < D < 19$	Très sensible (++)
$D > 20$	Extrêmement sensible (+++)

NB : Le diamètre du disque est inclus

### II.3. Effet prébiotique des deux huiles essentielles (clou de girofle et thym)

Afin d'évaluer l'effet probiotique des deux huiles essentielles sur la culture mixte et la souche *Lactobacillus bulgaricus*, nous avons eu recours à la méthode des disques, encore

appelée aromatoگرامme, qui est réalisée sur gélose Mueller Hinton avec le même mode opératoire que celui des souches pathogènes.

### Expression des résultats

**Tableau IX :** Expression de l'effet prébiotique.

<b>Zone</b>	<b>Effet probiotique</b>
Présence de zone	Absence d'effet prébiotique
Absence de zone	Présence d'effet prébiotique

## II.4. Combinaison entre les huiles essentielles

Certaines études ont montré que l'activité biologique des HEs est supérieure à celle de ses composés majoritaires testés séparément. Les composés purs, le thymol et le carvacrol ont un net effet synergique, ce qui expliquerait les différentes activités des chémotypes de Thymus. L'aldéhyde cinnamique est généralement indifférent aux deux phénols (LAHLOU, 2004).

Les effets antimicrobiens des associations d'H.E., comme pour les associations d'antibiotiques, sont définis selon quatre interactions possibles:

- **Indifférence:** l'activité d'une H.E. n'est pas affectée par l'autre:  $(A + B) = \text{effet A ou effet B}$ .
- **Addition:** l'effet de l'association est égal à la somme des effets de chaque H.E. étudiée isolément, à la même concentration que dans l'association:  $(A + B) = \text{effet A} + \text{effet B}$ .
- **Synergie:** l'effet est significativement supérieur à la somme de chaque H.E. étudiée isolément, à la même concentration:  $(A + B) > \text{effet A} + \text{effet B}$ .
- **Antagonisme:** l'association diminue l'activité de l'une ou l'autre des H.E. Elle est inférieure à la somme des effets de chaque H.E. prise séparément:  $(A + B) < \text{effet A ou effet B}$ .

Cependant, une étude réalisée par SKANDAMI et ses collaborateurs (2001) ne corrobore pas les effets de synergie mentionnés. Une combinaison de concentrations comparables en thymol et en carvacrol reproduit bien l'inhibition de l'H.E. mais les autres composés minoritaires ont pour effet de diminuer l'effet des principaux composés actifs phénolés.

## **II.4. Antibiogramme**

### **Définition :**

L'antibiogramme est un examen bactériologique de référence qui consiste à cultiver des bactéries présentes dans un prélèvement pour les identifier et ensuite tester sur les colonies obtenues divers antibiotiques. Il permet, d'une part, de prédire la sensibilité d'une bactérie à un ou plusieurs antibiotiques dans un but essentiellement thérapeutique mais également de surveiller l'épidémiologie des résistances. Il faut néanmoins avoir à l'esprit que cet examen étudie l'effet des antibiotiques *in vitro* le plus souvent et dans des conditions de culture normalisées. Il faut donc déterminer des corrélations afin d'apprécier l'efficacité *in vivo* de l'antibiotique et donc la réussite (ou l'échec) du traitement sur la base de données *in vitro* (Elsevier Masson; 2012).

### **Mode opératoire**

L'antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion des disques sur gélose Muller Hinton. Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface de la gélose préalablement ensemencée avec une dilution calibrée de la bactérie à tester. Un gradient de concentration s'établit dans la gélose et après 18 à 24 heures d'incubation la croissance de la bactérie dessine des halos d'inhibition ou de non inhibition autour du disque d'antibiotique qui seront mesurés avec une règle.

Les antibiotiques utilisés sont : l'Erythromycine, et l'Azithromycine.

### **Expression des résultats**

Les résultats sont obtenus après la mesure des diamètres d'inhibition selon les recommandations du - Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie CA-SFM 2014.

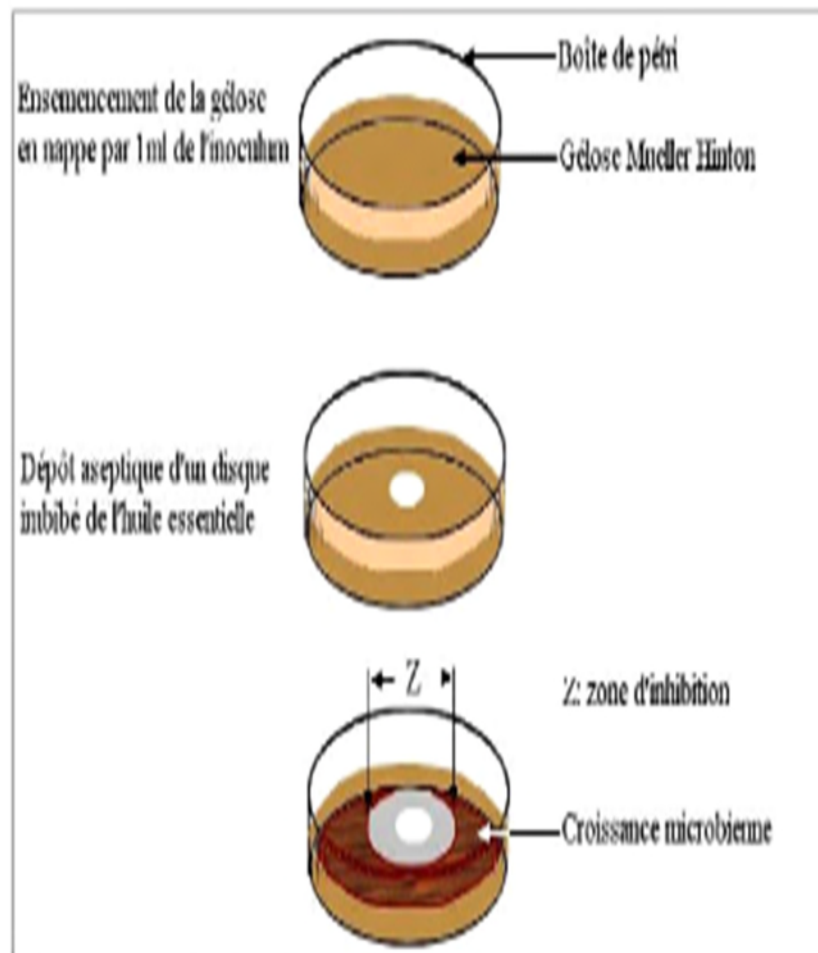
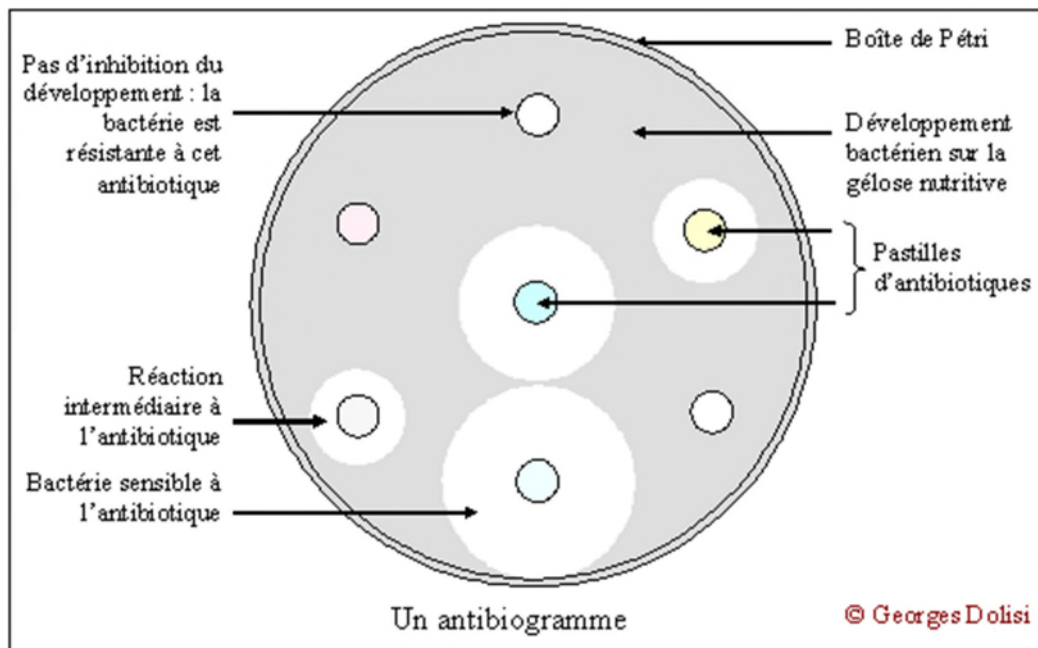


Figure 4 : Schéma explicatif de l'antibiogramme.



## **Résultats et Discussions**

# Résultats et Discussion

## I. Rendement en huile essentielle du clou de girofle

Le rendement en H.E. extraite par hydrodistillation du Clou de girofle est de 3,2 %.

Le résultat obtenu lors de notre étude ne coïncide pas avec celui établi par (AFNOR, 1992) qui est supérieur trois fois par rapport à notre résultat (9,3 %).

Le degré de maturation du fruit influe sur le rendement de l'huile essentielle. Le rapport des divers constituants de l'huile essentielle varie tout au long du cycle végétatif, dans des proportions souvent importantes. (Bourgou et al., 2012).

Cette différence de composition est due probablement à diverses conditions notamment l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le lieu de séchage, la température et la durée de séchage, les parasites et la méthode d'extraction.

## II. Evaluation de l'activité antibactérienne et l'effet prébiotique des huiles essentielles du clou de girofle et du Thym

La méthode des aromagrammes consiste à déposer un disque stérile en cellulose, de 6 mm de diamètre et imprégné de l'HE à tester, à la surface d'une gélose préalablement coulée dans une boîte de Pétri etensemencée avec le micro-organisme à tester. Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre (mm ou cm) de la zone claire autour du disque (halo translucide), appelée zone d'inhibition.

Nous avons utilisé les huiles essentielles de clous de girofle et du Thym pure et diluée dans l'agar à (0,2%) à différentes concentrations qui sont illustré dans les tableaux XI et XII. Les activités antibactérienne des deux huiles essentielles ont été testées sur deux souches pathogènes et leur effets prébiotiques également ont été testé sur une culture mixte de ferments et une bactérie lactique purifiée, ainsi que diverses associations entre les souches.

**Tableau XI** : Concentrations de l'huile essentielle du clou de girofle

<b>Dilutions</b>	<b>Concentrations (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>
Huile essentielle pure	$C_0 = 940 * 10^3$
Dilution $10^{-1}$	$C_1 = 94 * 10^3$
Dilution $10^{-1} * 1/2$	$C_2 = 47 * 10^3$
Dilution $10^{-1} * 1/4$	$C_3 = 23,5 * 10^3$
Dilution $10^{-1} * 1/8$	$C_4 = 11,8 * 10^3$
Dilution $10^{-1} * 1/16$	$C_5 = 5,8 * 10^3$

**Tableau XII** : Concentrations de l'huile essentielle du thym

<b>Dilutions</b>	<b>Concentrations (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>
Huile essentielle pure	$C_0 = 870 * 10^3$
Dilution $10^{-1}$	$C_1 = 87 * 10^3$
Dilution $10^{-1} * 1/2$	$C_2 = 43,5 * 10^3$
Dilution $10^{-1} * 1/4$	$C_3 = 21,3 * 10^3$
Dilution $10^{-1} * 1/8$	$C_4 = 10,7 * 10^3$
Dilution $10^{-1} * 1/16$	$C_5 = 5,4 * 10^3$

### III. Activité antibactériennes de l'huile essentielle du clou de girofle

En milieu solide l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile de *Syzygium Aromaticum* est déterminée par les mesures des diamètres d'inhibition de la croissance en millimètre autour des disques. Les résultats des différents germes sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau XIII :** Effet de l'huile essentielle de *Syzygium Aromaticum* sur les deux bactéries

Souche bactérienne	Diamètre de la zone d'inhibition en fonction des différents Concentration d'HE
<i>Enterococcus faecalis</i>	C <sub>1</sub> : D <sub>=</sub> 14 C <sub>2</sub> : D <sub>=</sub> 15 C <sub>3</sub> : D <sub>=</sub> 10 C <sub>4</sub> : D <sub>=</sub> 11 C <sub>5</sub> : D <sub>=</sub> 9
<i>Escherichia coli</i>	C <sub>1</sub> : D <sub>=</sub> 16 C <sub>2</sub> : D <sub>=</sub> 14 C <sub>3</sub> : D <sub>=</sub> 11 C <sub>4</sub> : D <sub>=</sub> 13 C <sub>5</sub> : D <sub>=</sub> 9

Pour l'huile essentielle du clou de girofle, la plus grande zone d'inhibition a été observée chez *E. coli* avec 16 mm de diamètre.

D'après les résultats obtenus on remarque que *E. coli* est plus sensible, malgré qu'elle soit Gram négatif. Il est postulé que les différents composants des huiles essentielles montrent différents degrés d'activité contre des bactéries (Gram<sub>-</sub>) et (Gram<sub>+</sub>) (**Dorman et Deans, 2000**).

**Rhayour et al (2002)** ont démontré que l'huile essentielle du Clou de Girofle est fortement antibactérienne. Cette activité pourrait être attribuée à son composé majoritaire qui est "l'eugénol". Les travaux de (**Valero et Giner, 2006**) ont prouvé que l'eugénol parmi d'autres composés a provoqué l'inhibition de la croissance de la bactérie *Escherichia coli*.

#### IV. Activité antibactérienne de l'huile essentielle du Thym

**Tableau XIV** : Effet de l'huile essentielle du *Tymus zygis* sur les deux bactéries

Souche bactérienne	Diamètre de la zone d'inhibition en fonction des différents Concentration d'HE
<i>Enterococcus faecalis</i>	C <sub>1</sub> : D <sub>=</sub> 30 C <sub>2</sub> : D <sub>=</sub> 39 C <sub>3</sub> : D <sub>=</sub> 14 C <sub>4</sub> : D <sub>=</sub> 21 C <sub>5</sub> : D <sub>=</sub> 29
<i>Escherichia coli</i>	pas de zone d'inhibition pour C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> : D <sub>=</sub> 31 pas de zone d'inhibition pour C <sub>3</sub> C <sub>4</sub> : D <sub>=</sub> 11 C <sub>5</sub> : D <sub>=</sub> 22

D'après les résultats obtenus, on constate que sur les deux souches testées, la sensibilité de la bactérie *Enterococcus faecalis* (Gram<sub>+</sub>) à l'huile essentielle du thym à différentes concentrations est plus important que celle d'E. Coli. (Gram<sub>-</sub>) contrairement aux résultats obtenu avec l'huile essentielle du clou de girofle.

En effet (Conner, 1993), a montré que les HEs de thym révèlent une forte capacité inhibitrice contre divers microorganismes pathogènes et d'altération. L'activité inhibitrice des extraits est attribué fondamentalement à sa richesse en composés phénoliques, le genre *Thymus* possède une grande importance pharmacologique, son huile essentielle est dotée d'activité antibactérienne et antifongique.

D'après (Oussalah *et al.*, 2006), l'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires et les effets synergiques entre ces derniers et les composés mineurs. Ceci pourrait expliquer les

différences constatées dans les résultats obtenus par la présente étude ainsi que par les travaux antérieurs.

Les travaux de (**Sandri et al., 2006 ; Sadou, 2015**), ont rapporté que les bactéries à (Gram<sub>-</sub>) sont plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries à (Gram<sub>+</sub>). Cette résistance est attribuée à la présence d'une membrane externe, imperméable aux composés hydrophobes grâce à son revêtement lipopolysaccharide.

L'absence de cette barrière, chez les bactéries à Gram positif permet le contact direct des constituants hydrophobes de l'huile essentielle avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire, provoquant ainsi soit, une augmentation de la perméabilité des ions et la fuite des constituants intracellulaires vitaux, soit une déficience au niveau du système enzymatique (**Sandri et al, 2006**) et (**Oussalah et al, 2007**).

## **V. Effet prébiotique de l'huile essentielle du clou de girofle**

Les prébiotiques sont généralement définis comme des « ingrédients alimentaires non digestibles qui exercent un effet bénéfique sur l'hôte en stimulant de façon sélective la croissance et/ou l'activité d'une ou de plusieurs espèces bactériennes déjà établies dans le colon, et ainsi améliorent la santé de l'hôte » (**Gibson et Roberfroid, 1995**).

Dans cette partie notre objectif était d'évaluer l'effet prébiotique des huiles essentielles du clou de girofle et du thym sur la flore lactique composée de : culture mixte et *Lactobacillus bulgaricus*. Le Tableau XV résume les résultats obtenus.

**Tableau XV:** Effet prébiotique de l'huile essentielle de *Syzygium Aromaticum*

Souche bactérienne	Diamètre de la zone d'inhibition en fonction des différents Concentration d'HE
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	C <sub>1</sub> : D <sub>=</sub> 15 C <sub>2</sub> : D <sub>=</sub> 12 C <sub>3</sub> : D <sub>=</sub> 11 C <sub>4</sub> : D <sub>=</sub> 15 C <sub>5</sub> : D <sub>=</sub> 9
Culture mixte	pas de zone d'inhibition pour les différentes concentrations

D'après les résultats obtenus, on constate que :

Les ferments lactiques de la culture mixte lyophilisée composé de : *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *Cremoris*, ne présentent pas une sensibilité à l'huile essentielle du clou de girofle. Celle-ci n'a pas inhibé leurs croissances, dans ce cas l'effet prébiotique de l'HE du clou de girofle sur la culture mixte a été prouvé.

L'Huile essentielle de *Syzygium Aromaticum* (clou de girofle) présente un effet négatif (sensible) sur *Lactobacillus bulgaricus*, donc absence d'effet prébiotique.

**Tableau XVI :** Effet prébiotique de l'huile essentielle du *Thymus zygis*

Souche bactérienne	Diamètre de la zone d'inhibition en fonction des différents Concentration d'HE
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	C <sub>1</sub> : D <sub>=</sub> 31 C <sub>2</sub> : D <sub>=</sub> 32 C <sub>3</sub> : D <sub>=</sub> 21 C <sub>4</sub> : D <sub>=</sub> 19 C <sub>5</sub> : D <sub>=</sub> 20
Culture mixte	C <sub>1</sub> : D <sub>=</sub> 38 C <sub>2</sub> : D <sub>=</sub> 31 C <sub>3</sub> : D <sub>=</sub> 26 C <sub>4</sub> : D <sub>=</sub> 21 C <sub>5</sub> : D <sub>=</sub> 19

Cette grande activité peut être reliée à la présence du carvacrol et du thymol qui sont deux composés phénoliques, connus par leurs propriétés antimicrobiennes (**Bouhdid et al., 2006**). En effet, les huiles essentielles possédant ces composés phénoliques, sont hautement actifs contre les bactéries en raison de leur hydrophobicité (**Oussou et al., 2004 ; Abderrahim et al., 2010 ; Belhamel et al., 2008**).

**Dorman et Dreans (2000)** ont démontré que le thymol est le composé qui possède le plus large spectre d'activité antibactérienne contre 25 genres de bactéries testées. Aussi, des études réalisées par l'organisation mondiale de la santé (**OMS, 1999**) ont également montré que ce constituant possède une forte activité antifongique et antibactérienne contre de Nombreuses espèces y compris les bactéries étudiées à savoir : *Lactobacillus bulgaricus*, la culture mixte, *Enterococcus faecalis* et *Escherichia coli*.

On note que la concentration des huiles essentielle influence l'activité inhibitrice, Plus la concentration de l'extrait augmente plus les diamètres d'inhibitions sont importants, et cela a été constaté par (**Karagoz et al., 2010**).



**Tableau XVII** : Effet d'HE du *Syzygium Aromaticum zygis* sur les bactéries lactiques et les bactéries pathogènes en association

<b>Souche bactérienne</b>	<b>Diamètre de la zone d'inhibition en fonction des différents Concentration d'HE</b>
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> + culture mixte	pas de zone d'inhibition pour les différentes concentrations
<i>E. coli</i> + <i>Enterococcus faecalis</i>	pas de zone d'inhibition pour C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> : D = 8 pas de zone d'inhibition pour C <sub>3</sub> pas de zone d'inhibition pour C <sub>4</sub> pas de zone d'inhibition pour C <sub>5</sub>

Les résultats illustrés par le tableau XVII indiquent que :

L'association des bactéries pathogènes constituées d'*E.coli* et *Enterococcus faecalis* présente une légère sensibilité à l'huile essentielle du clou de girofle avec une zone d'inhibition de 8 mm de diamètre.

Contrairement à l'association des bactéries lactiques, dont aucune zone d'inhibition n'a été observée, la croissance bactérienne autour des disques a été très importante, ce qui nous amène à dire que l'HE du clou de girofle a stimulé leur croissance, donc on peut conclure qu'un effet prébiotique a été exercé.

**Tableau XVIII** : Effet d'HE du *Tymus zygis* sur les bactéries lactiques et les bactéries pathogènes en association

Souche bactérienne	Diamètre de la zone d'inhibition en fonction des différents Concentration d'HE
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> + culture mixte	C <sub>1</sub> : D <sub>=</sub> 21
	C <sub>2</sub> : D <sub>=</sub> 30
	C <sub>3</sub> : D <sub>=</sub> 33
	C <sub>4</sub> : D <sub>=</sub> 22
	C <sub>5</sub> : D <sub>=</sub> 16
<i>E. coli</i> + <i>Enterococcus faecalis</i>	C <sub>1</sub> : D <sub>=</sub> 31
	C <sub>2</sub> : D <sub>=</sub> 36
	C <sub>3</sub> : D <sub>=</sub> 21
	C <sub>4</sub> : D <sub>=</sub> 28
	C <sub>5</sub> : D <sub>=</sub> 19

Plusieurs études ont eu pour objet la détermination du pouvoir antimicrobien de certaines extraits de Thymus, on cite celles de (Tabak et al., 1996; Bouhdid et al., 2006) et plusieurs autres qui ont tous révélé une importante activité de ces extraits sur tous les huiles essentielles.

Nos résultats confirment ces travaux car les extraits du thym sont les plus actifs sur presque toutes les souches testées.

## **VI. Activité antibactérienne de l'association des deux huiles essentielles**

Dans cette partie On se propose à présent d'étudier l'efficacité du mélange de l'huile essentielle du clou de girofle et du thym sur la flores lactique composé de (culture mixte et *Lactobacillus bulgaricus*), et des bactéries pathogènes composé de ( *E.coli* et *Enterococcus fécaelis*) afin de déterminer si le mélange des deux huiles essentielles est actives sur les bactéries.

**Tableau XIX:** Effet des deux HE associé en présence des bactéries pathogènes et bactéries lactiques en association

<b>Souche bactérienne</b>	<b>Diamètre de la zone d'inhibition en fonction des différents Concentration d'HE</b>
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> + culture mixte	C <sub>1</sub> : D <sub>=</sub> 31 C <sub>2</sub> : D <sub>=</sub> 29 C <sub>3</sub> : D <sub>=</sub> 20 C <sub>4</sub> : D <sub>=</sub> 16 C <sub>5</sub> : D <sub>=</sub> 19
<i>E. coli</i> + <i>Enterococcus faecalis</i>	C <sub>1</sub> : D <sub>=</sub> 62 C <sub>2</sub> : D <sub>=</sub> 16 C <sub>3</sub> : D <sub>=</sub> 24 C <sub>4</sub> : D <sub>=</sub> 32 C <sub>5</sub> : D <sub>=</sub> 42

Certaines études ont démontré que l'activité (antimicrobienne, antivirale, insecticide, larvicide et ovicide) des huiles essentielles est supérieure à celle de ses composés majoritaires testés séparément (**Lahlou, 2004**). Les composés purs, comme le thymol et le carvacrol ont un net effet synergique.

D'autres travaux récemment publiés mettent également en évidence l'intérêt des mélanges des HE dans l'optimisation de leurs effets et la synergie de leurs composés (**Kaloustian et al., 2008** ; **Sakhanokho et al., 2013**). L'efficacité de ces mélanges d'HE semble reposer sur des mécanismes tels que la fragilisation de la membrane microbienne, la rendant ainsi très perméable et entraînant une forte fuite du potassium ayant pour conséquence irréversible la mort microbienne (**Aouni et al., 2013**).

La présence de thymol et de l'eugénol confèrent aux huiles essentielles des activités fongicides (**Bennis et Chami, 2004**) et bactéricides (**Cox et al. 2000** ; **Walsh et Maillard, 2003**)

D'autre part, des composés présents en minorité dans chacune de nos huiles essentielles, pourraient également avoir une part de contribution à l'activité antimicrobienne par Synergie avec les composés Majeurs (**Burt, 2004 ; Borugă et al. 2014**).

La propriété hydrophobe qui caractérise les molécules présentes dans les huiles essentielles et extraits de plantes, permettent leur solubilisation dans les membranes, ce qui provoque une déstabilisation de la structure et une augmentation de la perméabilité membranaire (**Sikkema et al. 1994**). Ces modifications entraînent une fuite d'ions, de composés intracellulaires et l'inhibition des enzymes membranaires intégrées (**Skandamis et al. 2001 ; Souza et al. 2013**).

Dans le cas où les éléments cytoplasmiques relargués sont indispensables à la survie de la bactérie ou si la perte de matériel est trop importante, cela entraîne la mort cellulaire (**Burt, 2004**).

## **VII. Sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme)**

L'antibiogramme consiste à chercher la sensibilité des souches vis-à-vis des Antibiotiques. Deux antibiotiques standards ont été testés sur 02 souches pathogène à Gram (+) et Gram (-), et la flore lactique constitué de la culture mixte et *Lactobacillus bulgaricus*. Nous observons que les différents types de souches réagissent différemment aux antibiotiques étudiés. Le tableau XX rapporte les valeurs en mm des zones d'inhibitions manifestées par les antibiotiques sur les différentes souches étudiées.

**Tableau XX** : Sensibilité des bactéries lactiques aux antibiotiques

Souche bactérienne	antibiotique	Diamètre de la zone d'inhibition
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Erythromycine	D = 12
	Azithromycine	pas de zone d'inhibition
Culture mixte	Erythromycine	pas de zone d'inhibition
	Azithromycine	pas de zone d'inhibition

La souche *lactobacillus* a été sensible à l'Erythromycine. En accord avec nos résultats, des études ont rapporté que les *lactobacilles* sont généralement sensibles aux antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines, comme le chloramphénicol, l'érythromycine, la clindamycine et les tétracyclines (Temmerman et al. 2002; D'Aimmo et al. 2007).

D'une autre part on constate une résistance de la culture mixte aux antibiotiques et ces résultats coïncident avec les travaux réalisés par (Salminen et al. 1998) qui ont noté une résistance aux antibiotiques parmi certaines bactéries lactiques, y compris des microorganismes probiotiques.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques c'est un critère important pour sélectionner les probiotiques (Zhou et al., 2005). La résistance reste une condition controversée, d'un côté elle est recherchée chez les probiotiques pour qu'ils soient actifs même après un traitement aux antibiotiques et d'un autre côté elle est redoutée qu'elle soit transmise à d'autres bactéries indésirables dans l'intestin pourrait mener au développement de nouvelles bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques (Salminen et al., 1998; Saarela et al., 2000).

La majorité des bactéries lactiques ont une résistance contre les antibiotiques. Cette résistance est intrinsèque et non transmissible (Klein et al., 1998; Salminen et al., 1998).

**Tableau XXI** : Résistance des bactéries pathogènes aux antibiotiques

<b>Souche bactérienne</b>	<b>antibiotique</b>	<b>Diamètre de la zone d'inhibition</b>
<i>E. coli</i>	Erythromycine	pas de zone d'inhibition
	Azithromycine	27
<i>Enterococcus faecalis</i>	Erythromycine	pas de zone d'inhibition
	Azithromycine	29

Les souches d'entérocoques sont résistantes a plusieurs agents antimicrobiens et elles peuvent facilement acquérir des résistances par exemple aux glycopeptides (vacomycine, triméthoprine) sulfaméthoxazole ; ciprofloxacine, bacitracine réfampicine, **érythromycine**, céfotaxime quinolones et autre antibiotiques (Mathur et al, 2005)

**Tableau XXII** : Effet des antibiotiques en présence des bactéries pathogènes et les bactéries lactiques en association

<b>Souche bactérienne</b>	<b>antibiotique</b>	<b>Diamètre de la zone d'inhibition</b>
<i>E. coli</i> + <i>Enterococcus faecalis</i>	Erythromycine	pas de zone d'inhibition
	Azithromycine	31
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> + culture mixte	Erythromycine	pas de zone d'inhibition
	Azithromycine	28

Après l'association des bactéries pathogènes constituées d'*E.coli* et *Entirococcus faecalis* on a remarqué une augmentation de la sensibilité des deux souches à l'Azthromycine et une résistance vis-à-vis de l'Erythromycine .donc on peut conclure qu'il y a eu une interaction négative entre la culture mixte et *lactobacillus bulgaricus*.

Deux catégories d'interactions peuvent se produire entre les bactéries lactiques associées (**Cholet, 2006 ; Monnet et al., 2008**).

-Les interactions positives qui se caractérisent par la stimulation d'un ou de plusieurs micro-organismes.

-Les interactions négatives qui correspondent à une inhibition de la croissance et de l'activité métabolique.

## **Conclusion**



## Conclusion

Nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tymus zygis*, et de *Syzygium Aromaticum*, vis-à-vis des souches bactériennes pathogènes (*E. faecalis* Gram+ et *E. coli* Gram-), et l'effet prébiotique sur des bactéries lactiques (culture mixte et *Lactobacillus bulgaricus*), ainsi que leur sensibilité aux antibiotiques (Erythromycine, et Azithromycine), pour les bactéries utilisées dans notre étude, l'huile essentielle de *Tymus zygis*, et de *Syzygium Aromaticum* ont été testé séparément et en association.

Le rendement en huile essentielle de clou de girofle extraite par hydrodistillation de type Clevenger, à été de 3,2 %.

L'évaluation de l'activité antibactérienne et l'effet prébiotique de l'huile essentielle de clou de girofle par la méthode d'aromatogramme a montré une sensibilité d'*E. faecalis* avec une importante zone d'inhibition qui est 15 mm, et une sensibilité d'*E. Coli* avec une zone d'inhibition de 16 mm de diamètre, toutefois l'HE de clou de girofle a marqué un effet prébiotique sur la culture mixte, Contrairement à *Lactobacillus bulgaricus* dont aucun effet prébiotique n'a été observé.

De même L'évaluation de l'activité antibactérienne et l'effet prébiotique de l'huile essentielle du *Tymus zygis* a abouti à une sensibilité d'*E. faecalis* et d'*E. Coli* avec des zones d'inhibition plus important que ceux obtenus avec l'HE de clou de girofle, et une absence d'effet prébiotique sur les bactéries lactiques testés ( la culture mixte et *Lactobacillus bulgaricus* ).

Lors de l'association des bactéries pathogènes on a obtenu une légère activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Syzygium Aromaticum*. D'autre part l'effet prébiotique sur les bactéries lactiques a été prouvé.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle du thym n'a pas été affecté par l'association des bactéries pathogènes, de même pour l'effet prébiotique.

Quant à l'association des deux huiles essentielles utilisées lors de notre étude, on a obtenu une augmentation significative de l'activité antibactérienne, et une absence de l'effet prébiotique chez *Lactobacillus bulgaricus* et la culture mixte.

Le test d'antibiogramme a révélé une sensibilité des souches pathogènes utilisées à l'Azithromycine, et une sensibilité de *Lactobacillus bulgaricus* à l'Erythromycine, par contre les deux antibiotiques utilisés ont montré un effet prébiotique sur culture mixte.

Ces résultats restent préliminaires ;

-Il serait donc intéressant de poursuivre les investigations sur diverses interactions entre la flore lactique et les bactéries pathogènes.

- Pour mieux évaluer l'activité Antibactérienne et l'effet prébiotique, d'autres études in Vitro et in Vivo seraient intéressantes, et il serait Souhaitable de faire d'autres études afin de dévoiler les autres activités biologiques de *Syzygium aromaticum* et *Tymus zygis*.

## **Références Bibliographiques**

## A

**American pharmaceutical association, 1928.** vol. 17, n°4, p. 345-349.

**Amshoff ; GJH. MNHN, 1966,** Myrtacées. Paris: p. 3-4; 16.

**Anon, 2003,** major group, families and genera: lamiaceae (Labiatae). Science and horticulture, royal botanic Kew UK

**Aouni M., Pelen F. et Soulimani R. 2013,** Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. *Phytothérapie*, 11, 225 – 236.

**Asselineau J ; Zalta J.P. 1973,** *Les antibiotiques structure et exemples de mode d'action*, Hermann, Paris, P 1-6.

## B

**Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R., 2005** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de Chèvre de deux populations caprines locales "Arabie et kabyle". *Sciences et Technologie C* : 23 : pp 30-37.

**Baser K.H.C., et Buchbauer G. 2009.** *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications*. Edition: CRC Press. Boca Raton: 991p.

**Baudoux D.** Antiviral and antimicrobial properties of essential oils.

**Bellakhdar J. 1997.** *La pharmacopée marocaine traditionnelle*. Paris: Ibis Press. p.358.

Papageorgio V., 1980. GLC-MS computer analysis of the essential oil of *Thymus capitatus*. *Planta Medica Suppl.*, 29-33.

**Bego Ph. 2001** - *Connaître l'essentiel sur les huiles essentielles*. Collection aromathérapie pratique et familiale, Ed. MDB Paris, pp.2-3.

**Bellaiche P. 1979.** Aromatogramme. *In Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. Edition Maloine-S-A, tome I. pp. 9-20.

**Belhamel, K., Abderrahim, A., Ludwig, R. 2008.** « Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Schinus molle* L. grown in Algeria, *International Journal of Essential Oil Therapeutics* 2 (4), 175-177».

**Bennis S., Chami F. 2004.** Surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae* induced by thymol and eugenol. *Letters in Applied Microbiology*. 38, 454-458

**Benjlali B. 2004** – Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. 17-59.

**Blanc MC, Muselli A, Bradesi P, Casanova J 2004** Chemical composition and Variability of the essential oil of *Inulagraveolens* from Corsica. *Flavour Fragr. J.* 19: 314-319

**Bourgou S., Rahali F. Z., Ourghemmi I., SaidaniTounsi M. 2012.**Changes of Peel essential Oil Composition of Four Tunisian Citrus During Fruit Maturation. *The Scientific World Journal*

**Bouhdid S., Idomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N.S., Abrini J., 2006.** Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities; *Congrès international de biochimie*, Agadir, Maroc; P: 9-12.

**Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M., Chaabouni MM. 2008,** Composition Chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle De *Juniperusphoenicea*, Société Chimique de Tunisie, p. 119 - 125.

**Bruneton, J. 1999** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. Pp: 227-310-312-313-314.494.

**Burt S. 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94: 223 - 253.

## C

**Carson C.F, Rilley, T.V. Bosque. F. 2002.** Antimicrobial activity of the major components of Essential oil of *Malaleucaalternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*. 78, 264-269.

**Chanthapon et al., 2008.** Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical citrus spp. against food-related microorganisms. *Songkarin Journal of science and Technology*. vol. 30, p.125-131.

**Cholet O., 2006.** Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIES. UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.16

**Clevenger, J. F, 1928** Apparatus for the determination of volatile oil. Journal of the American pharmaceutical Association, vol. 17, n°4, p. 345-349.

**Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie Recommandations, 2018** (Edition de Février 2018).

**Conner D. E., 1993.** Naturally occurring compounds .441-468. In Davidson P.M and Branen A. L Antimicrobials in foods, 2 nd. Marcel DeKKer. Inc. New York N.Y

**Cox S.D. Mann C.M. Markham J.L. Bell H.C. Gustafson J.F. Warmington J.R. Wyllie S.G 2000.** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca alternifolia* (tee tree oil). Journal of Applied Microbiology, 88, 170-175.

## D

**Danièle Festy, 2008** *Ma Bible des huiles essentielles*, édition Leduc.S, p. 20.

**D'Aimmo MR, Modesto M, Biavati B 2007.** Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and *bifidobacterium* spp. isolated from dairy and pharmaceutical products. Int. J. Food. Microbiol. 115: 35-42.

**Davidson. PM.** Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. *Food Technology*. 1997, 43, 148-155.

**Dellaglio F., Roissart H., Torriani S., Curk M C. and Janssens D., 1994 -** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In Bactéries Lactiques. Ed. H Roissart et F M. Luquet. Paris: Lavoisier : pp 25-116.

**Demoré B, Grare M, Duval R. 2012** Pharmacie clinique et thérapeutique 4ème édition. Chapitre 40 : Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. . Elsevier Masson.

**Dob T, Dahmane D, Benabdelkader T, Chelghoum C 2006** Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. Int J Aromather 16: 95–100.

**Dorman, H.J.D. et S.G. Deans. 2000.** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* Vol. 88, p. 308- 316

**Drider D., Prevost H. 2009** - Bactéries lactique Physiologie, Métabolisme, Génomique et Application industrielle. Ed, Economica 49 rue Harica 75015 Paris : pp 381- 427.

**Dupont F, Guignard JL 2012-** Botanique : les familles des plantes. 15e éd. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson ; p. 16.

## F

**FAO/OMS 2001.** Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization (Organisation Mondiale pour la Santé OMS) .*Working Group Report.* Cordoba, Argentina.

**FAO/OMS 2002.** Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization (Organisation Mondiale pour la Santé OMS).*Working Group Report.* London, Ontario, Canada.

**Faucon M, 2012.** Traité d'aromathérapie scientifique et médicale : fondements & aide à la prescription : monographies : huiles essentielles, huiles végétales, hydrolats aromatiques. Paris : Ed. Sang de la Terre ; 879 p

**Fauchère, J.-L. et J.-L. Avril 2002.** "Bactériologie générale et médicale" Ellipses Editions Paris. P 365

**Federighi M., 2005** - Bactériologie alimentaire compendium d'hygiène des aliments. 2 ed. Economica. Paris: pp 224-233

**Firmin-Didot et Cie 1953** Flore de Madagascar et des Comores, 152ème famille, Myrtacées. PERRIER DE LA BÂTHIE H Paris; p. 1-2.

**Fuller, R. 1989,** Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 66, n° 5, p. 365-378

## G

**Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A., et Rasooli, I. 2007** Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem*, vol. 102, n°3, p. 898-904.

**Gaynor M & Mankin AS 2003** Macrolide antibiotics- binding site, mechanism of action, resistance. *Curr Top Med Chem* 3: 949-961.

**Gagnon M, Jean J, Darveau A, Fliss I. 2007.** Inhibitory effect of human bifidobacteria on the attachment of enteric viruses to intestinal cell lines. Submitted for publication.

**Garrabé, L., Cavallo, J.D., Fabre, R., et Hernandez, E. 1998** Antibiogramme par diffusion en gélose: essai de standardisation de l'inoculum par la méthode Presto ABG. *Revue française des laboratoires*, n° 307, p. 65-69.

**Georges Sens-Olive**, « Les huiles essentielles - généralités et définitions », dans *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*, éd. Maloine, 1979, p. 143-144

**Gibson GR, Roberfroid MB 1995:** Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*, 125: 1401-1412.

**Gill A.O ET Holley R.A. 2006** Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics. *International Journal of Food Microbiology*. 111 :170 - 174.

## H

**Hazzit M. 2008.** Etude de la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces de thym et d'origan poussant en Algérie. Thèse de Doctorat. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, Faculté de Chimie, Algérie, 204p.

## I



**Iserin P, Masson M et Restellini J. 2001** LAROUSSE. *Encyclopédie des plantes médicinales. Identification, préparations, soins.* 2<sup>ème</sup> édition. Hong Kong. P: 99-143

## K

**Kaloustain J, Chevalier J, Mikail C, Martino M, Abou L et Vergnes M F. 2008** Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytotherapie* 6,160–164

**Karagoz, Jemis, Coskum. 2010** Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oil on fresh growd beef patties. *Meat science*, 86:283-286.

**Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C., Reuter, G., 1998.** Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria International. *Journal of Food Microbiology*, 41: 103-125

**Kohanski MA, Dwyer DJ, Hayete B, Lawrence CA & Collins JJ 2007** a common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell* 130: 797-810.

## L

**Lahlou M., 2004.** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research* 18: pp. 435-448.

**Laib. I.** Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs Sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs. *Mémoire de magister en Sciences Alimentaires.* Université Mentouri Constantine.2011.

**Lamendin H. Toscano G et Requirand P. 2004.** Phytothérapie et aromathérapie buccodentaires. *EMC-Dentisterie*, 1 : 179–192

**Leclere H., Gaillard J.L et Simonet M., 1995,** *Microbiologie générale. La bactérie et le monde bactérien*, Doin, Paris, P 505 et 507

**Lucchesi M.E. 2005.** Extraction sans solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat de Chimie. Université de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologies, France, p142.

## M

**Madi Aicha, 2010**, caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Saugé) et la mise en évidence de leurs activités biologiques thèse de magister, Université Mentouri Constantine.

**Marteau P. et Seksik P. Probiotiques et alicaments. 2005.** In : Luquet F. M. et Corrieu G. Bactéries lactiques et probiotiques. Paris: Lavoisier Tec&Doc ; p : 255-289

**Matamoros S., 2008** - Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments. Étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au. Thèse de doctorat. Université de Nantes: 17p.

**Mathur S, Singh R 2005.** Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria - a review. *Int. J. Food. Microbiol.* 105: 281–295.

**Mebarki noudjoub, 2010**, extraction de l'huile essentielle de *thymus fontanisii* et application à la formulation à une forme médicamenteuse-antimicrobienne thèse de magister en technologie des hydrocarbures, département génie des procédés chimiques et pharmaceutiques, université M'Hamed Bougara-Boumerdes

**Michel Ragot (dir.), Produire du lait biologique : conversion et témoignages**, Dijon, Educagri éditions, 2011 (1<sup>re</sup> éd. 2001), 351 p. (ISBN 9782844448521 et 28444448526, OCLC 779725585, notice BnF n° FRBNF42571731), p. 196.

**Monnet V., Latrille E., Béal C. et Corrieu G., 2008.** Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. In: Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 512-592.

**Morales R., 1997.** Synopsis of the genus *Thymus* L. in the mediterranean area. *Lagascalia*, 19, 249- 262

**Mrabkt, N., Lahlou, H. et Benjilali, B. 1999** Effect of marocan *Cistus ladaniferus* L. (rochrose) extracts on the growth of four fungi- *J. Cryptogamie mycologie*. Maroc, vol. 20, n° 1, p. 23-33p

## N

**Normes AFNOR RECEUIL DES NORMES FRANCAISES 1992.** Huiles essentielles. AFNOR, Paris.

**Novel G., 1993** - Les bacteries lactiques in: Microbiologie industrielle : les Microorganismes d'intérêt industriel. Ed. Technique et Documentation Lavoisier : 614p.

## O

**Orla-jansen, S. H 1919** the lactic acid bacteria in biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. Konig H. ET Frohlich J. (2009) Springer Ed, Allemagne, p3-29.

**Ouali S., 2003** - Qualité du fromage à pâte molle type Camembert fabriqué à la laiterie de Draa Ben Khedda : nature de la matière première et évaluation de l'activité Protéolytique au cours de l'affinage et de l'entreposage réfrigéré du fromage .Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires. Université Frères Mentouri. Constantine.

**Oukil. N, 2013.** Activités biologiques des huiles essentielles, des polyphénols extraits de quelques espèces de Labiaceae et étude du mécanisme de l'action bactéricide de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*. Thèse de doctorat en sciences alimentaires. Université Abderrahmane Mira, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Bejaia, p120

**Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, and M. 2007.** "Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* *Thyphimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*". Food Control, 18, 414-420.

**Oussou K.R., Yolou S., Boti J.B., Guessennnd K.N., Kanko C., Ahibo C. & Casanovad J., 2008.** Etude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne. European Journal of Scientific Research. Vol. 24, №1, pp. 94-103 Algérie : 296p.

## P

**Ponce, A.G., Fritz, R., Valle, C. Del., et Roura, S.I. 2003.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, vol. 36, n°7, p. 679-684

## R

**Raynaud S., 2006** - Regulation métabolique et transcriptionnelle de l'auto acidification Chez *Lactococcus lactis*. Thèse de doctorat. L'institut national des sciences appliquées De Toulouse : 21p.

**Rhayour K, 2002.** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat en biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Fès .12-13p.

**Reighard T. S. and S. V. Olesik. 2006** Bridging the Gap between Supercritical Fluids Extraction and Liquid Extraction Techniques: Alternative Approaches of the Extraction of Solid and Liquid Environmental Matrices, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 26, 1-39.

**Roissart De, 1986** - Bactéries Lactique dans le lait et produits laitiers. Ed. Technique et Documentation. Lavoisier. Paris : 445 p.

## S

**Saarela M, Mogensen G, Fonden R, Matto J, Mattila-Sandholm T, 2000.** Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.* 84: 197–215.

**Sadou, N., Seridi, R., Djahoudi, A., et Hafed, Y, 2015.** Composition chimique et activité antibactérienne des Huiles Essentielles des aiguilles de *Pinus halepensis* Mill. du Nord est Algérien. *Rev. Sci. Technol*, vol. 30, p. 33-39.

**Saidj F, 2006,** extraction de l'huile essentielle de thym : *thymus numidicus kabylic* thèse de magister en technologie des hydrocarbures, département génie des procédés chimiques et pharmaceutiques, université M'Hamed Bougara-Boumerdes.

**Sakhanokho H.F., Sampson B.J., Tabanca N., et al., 2013.** Chemical composition, antifungal and insecticidal activities of hedychium essential oils. *Molecules*, 18(4): 4308–27.

**Salminen S, von Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, de Vos WM, Fonden R, Saxelin M, Collins K, Mogensen G, Birkeland SE, Mattila-Sandholm T, 1998.** Demonstration of safety of probiotics - A review. *Int. J. Food. Microbiol.* 44(1-2): 93-106.

**Sandri, I.G., Zacaria, J., Fracaro, F., Delamare, A.P.L. et Echeverrigaray, S, 2007.** Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against food borne pathogens and spoiling bacteria. *Food Chemistry*, vol. 103, p. 823-828

**Schroder R. Kaffee, Tee Kardamom Tropische, Gewurze.Geschichte, Vebreitung, Anbau, Ernte, Aufbereitung, Struttgart .1991**

**Sikkema et al. 1994 , Sikkema J., de Bont J.A.M. & Poolman B. 1994.** Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem.*, 269: 8022- 8028

**Souza E.L., Oliveira C.E.V., Stamford T.L.M., Conceição M.L. & Gomes Neto N.J. 2013.** Influence of carvacrol and thymol on the physiological attributes, entérotoxine production and surface characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. *Braz. J. Microbiol.*, 44 (1), 29-35.

**Skandamis Lambert R.J.W., P.N., Coote P. & Nychas G.J.E., 2001.** « A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.*, 91, 453-462 ».

**Stiles M E. and Holzapfel W H., 1997-** Lactic acid bacteria of foods and their current. *Taxonomy. International. Journal of Food. Microbiology*: 36: pp1-29.

## T

**Tabak et ses assistants, 1996. Ettayebi et ses collaborateurs, 2000. Thuille et autres, 2003. Bouhdid et collègues, 2006.**

**Temmerman R, Pot B, Huys G, Swings J, 2002.** Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *Int. J. Food. Microbiol.* 81:1-10.

**Treiner J. 2000.** Extrait du Bulletin officiel n° 6 du 12 août 1999, France. 39-143

## V

**Valero M. et Giner M.J. 2006** Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of *Bacillus cereus* INRA L2104 and the sensory qualities of carrot broth. *International Journal of Food Microbiology*. 106, 90 - 94.

**Vercauteren J. 2006.** Schémas, formules du cours de pharmacognosie. Université Montpellier, laboratoire de pharmacognosie. P: 113 - 122.

## W

**Wendakoon. K., N.A. Saguchi 1995.** Methods of assess quality and stability of oils and fatcontaining foods. *AOCS*. press, champaign..

## Y

**Yateem A., Balba M T., AL-Surrayai T., Al-Mutairi B. and Al-Daher R., 2008 -** Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *International Journal of Dairy. Science*: 3(4): pp 194-199.

**Yim G, Wang HH & Davies J, 2006.** The truth about antibiotics. *Int J Med Microbiol* 296: 163-170.

## Z

**Zhou J. S., pillidge C.J., Gopal P.K and G.H H.S 2005.** Antibiotic susceptibility profiles of New probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* *Int J. Food Microbial*, 98: 211- 217







## Résumé

Une huile essentielle appelée aussi essence est un mélange de substances aromatiques volatiles peu complexe issue et produit par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytopathogènes.

Lors de notre étude, le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) a été valorisé par l'extraction de son huile essentielle par hydrodistillation. Le rendement a été de 3,2 %.

L'évaluation de l'activité antibactérienne et l'effet prébiotique des huiles essentielles de clou de girofle et du thym a montré une sensibilité des bactéries pathogènes aux deux huiles, et un effet prébiotique de l'huile essentiel de clou de girofle sur la culture mixte.

L'association entre les deux huiles essentielles utilisées lors de notre étude a abouti à une augmentation significative de l'activité antibactériennes et une absence de l'effet prébiotique.

Les antibiotiques utilisés dans la présente étude ont marqué un effet prébiotique sur la culture mixte, une sensibilité de *Lactobacillus bulgaricus* à l'Erythromycine, et une sensibilité des bactéries pathogène à l'Azithromycine.

**Mots clefs :** Huiles essentielles, *Syzygium aromaticum*, *Thymus zygis*, flore lactique, bactéries pathogènes, interaction, effet prébiotique, activité antibactérienne, Azithromycine, Erythromycine.

## Abstract

An essential oil also known as essence is a mixture of volatile aromatic substances little complex issued and produced by plants as a defense against phytopathogenic pests.

In our study, clove was valorized by the extraction of its essential oil by hydrodistillation. The yield was 3.2%.

The evaluation of antibacterial activity and the prebiotic effect of clove essential oils and thyme showed a sensitivity of pathogenic bacteria to both oils, and a prebiotic effect of clove essential oil on culture mixed.

The association between the two essential oils used in our study resulted in a significant increase in antibacterial activity and an absence of the prebiotic effect.

The antibiotics used in the present study showed a prebiotic effect on the mixed culture, a sensitivity of *Lactobacillus bulgaricus* to Erythromycin, and a susceptibility of pathogenic bacteria to Azithromycin.

**Key words:** Essential oils, *Syzygium aromaticum*, *Thymus zygis*, lactic flora, pathogenic bacteria, interaction, prebiotic effect, antibacterial activity, Azithromycin, Erythromycin.

