



UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA. BEJAIA.

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Département de Biologie Physico-chimique.

MEMOIRE DE FIN DE CYCLE

En vue de l'obtention d'un diplôme de Master

Filière : Biologie

Option : Pharmacologie Moléculaire

Thème

*Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne
d'huile essentielle de cade
Détermination des CMI sur des bactéries pathogènes*

Réalisé par :

M^{elle}. OUAHRANI Khayra

M^{elle}. ZAKARIA Souad

Membres de jury :

Président :	M ^r HAMOUM M.	M.A.A.	U.A.M.B
Promoteur:	M ^r . HARFI T.	M .A.B.	U.A.M.B
Examinatrice:	M ^{me} BEDJOU F.	Professeur.	U.A.M.B
Examineur:	M ^r .BELKACEM Y.	M.A.B	U.A.M.B

Année : 2013/2014



Remerciements

Nous tenons à remercier le bon Dieu de nous avoir procuré la patience et la force d'accomplir ce travail et de nous avoir permis de réussir nos études.

Nous tenons à remercier, M^{me} Djama, chef de service du laboratoire du même nom, ainsi que son personnel, pour l'accueil qui nous a été réservé, pour leur disponibilité et leur coopération.

Nous exprimons nos remerciements les plus sincères à notre promoteur M^r HARFI T., pour son encadrement remarquable, sa disponibilité ainsi que pour l'intérêt et la confiance qu'il nous a témoignés.

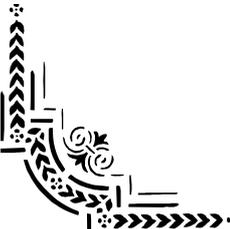
Nos remerciements s'adressent également à M^r HAMOUM M, M^{me} BEDJOU F et M^r BELKACEM Y d'avoir accepté de juger ce travail et de participer au jury.

Nous tenons à remercier tout le personnel du laboratoire Biophysique du département de Biologie Physico-chimique de l'Université Abderrahmane MIRA-Bejaia. M^{elle} TABTI N, M^r BOUCHENOVA F, AMROUCHE F et M^{me} MESSAOUDENE F.

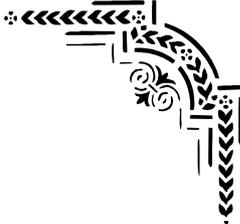
Nous tenons à remercier tout le personnel du laboratoire de Djama particulier ; Lila, Samira, Malika pour leur aide, disponibilité et gentillesse.

Nos remerciements vont plus particulièrement à nos familles qui ont su nous soutenir, nous encourager, nous aider et nous supporter tout au long des années.

Merci également à tous ceux qui, un jour ou l'autre, nous ont offert leur amitié et des moments inoubliables tout au long de notre cursus universitaire



Khayra et Sousou



Dédicaces

A :

*La mémoire de ma mère et ma grande mère, que j'aurais tant aimé voir.
présentes aujourd'hui.*

*Ma famille : ma grande mère, mon père, mes frères et sœurs en reconnaissance
de leurs efforts, leurs sacrifices et leurs encouragements durant toutes mes
études*

*Mes bien-aimés : Dai, Atikā, Biba, Zakīa, Sofiane signe d'amour et de
gratitude de m'avoir soutenue, sans eux, je ne saurais pu progresser et
arriver à l'achèvement de ce travail.*

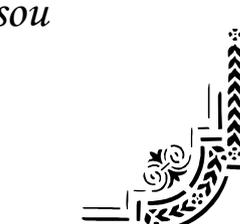
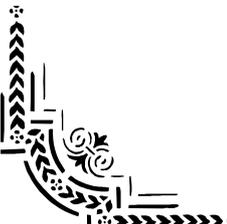
*Mes très chères amies : Hassiba, Mimi, Salo, Rābiaia, Wawa, Bila, Zamila,
Souad, Iman, Kahina, Chabha, Noria, Kamo, Yamina, Chachou, Sousou
qu'elles trouvent ici le témoignage de mon amour, ma reconnaissance et ma
tendresse.*

*Sans oublier Naima Tabti qui m'a permis de réaliser ce travail dans des
meilleures conditions possibles.*

*A tous les êtres chers à mes yeux que je n'ai pas évoqués et à toute la
promotion de Pharmacologie Moléculaire*

A ma binôme khayra et à toute sa famille.

Soussou





Dédicaces

Avec l'aide de Dieu, le tout puissant, ce travail est achevé.

Ce travail est dédié à toute personne qui a lutté pour que l'Algérie recouvre sa liberté, pour que la vérité ait sa clarté, à toute personne qui lutte pour la démocratie et le développement de ce pays

A ma famille immédiate dont les membres m'ont toujours encouragé et soutenu dans tout ce que j'ai entrepris dans le passé et que j'entreprendrais dans le futur .J'ai la chance d'avoir des parents exemplaires, des parents qui vous donnent le gout d'être parent à votre tour.

Papa et maman je vous remercie de l'éducation dont vous m'avez pourvue et de l'amour que vous m'avez toujours inconditionnellement témoigné. Merci de m'avoir donné la vie et ma vie, je vous aime énormément.

A mon grand frère Saad , à mes sœurs et à leurs enfants

A mon très cher petit frère Walid

A tous mes oncles paternels et maternels et leurs femmes, mes cousins et cousines célibataire et mariées.

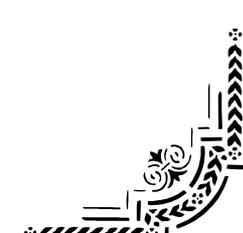
A mes voisins et voisines

A Mme DJAMA H. pour son accueil au sein de son laboratoire et qui nous a également aidé. Qu'elle trouve ici le témoignage de nos plus sincères remerciements.

A Naima Tabti et à toute sa famille

A toutes mes amies Rima, Merieme ,Rayhana, Soumaya, Mariya, Fatima, Saadiya, Malika, Amina ,Charihane ,Samira, Naima ,Kahina , Salima,Sara.dihia,nadia

A Souad et à toute sa famille



Khayra

Liste des abréviations

ADI : Acceptable Daily Intake(dose journalière admissible)

ATB : Antibiotique

CMI : concentration minimale inhibitrice

DMSO : Dimethylsulfoxyde

DO : Densité Optique

E.coli : *Escherichia coli*

FDA : Food and Drug administration

HE's : huiles essentielles

K. pneumoniae : *Klebsiella pneumoniae*

M-H : Mueller Hinton

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

TSI : Triple Sugar Iran

P. mirabilis : *Proteus mirabilis*

Ps. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

Liste des figures

Figure 1 : Aperçu général de certain des mécanismes de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et leurs constituants dans la cellule bactérienne.....	06
Figure 2 : Hydrodistillation directe.....	17
Figure 3: l'huile de cade à l'état brut.....	17
Figure 4 : l'huile essentielle de cade.....	17
Figure 5 : poudre d'origan.....	18
Figure 6 : illustration de la méthode d'aromatogramme sur boîte de pétri.	20
Figure 7: l'antibiogramme de quelque souche isolée.....	II
Figure 8 : exemple de résultat d'identification par la galerie AP10E.....	II
Figure 9 : les résultats de huile de cade /DMSO sur le milieu solide.....	III
Figure 10 : les résultats de DMSO sur le milieu solide.....	IV
Figure 11 : les résultats d'huile d'origan sur le milieu solide.....	IV
Figure 12: les résultats d'Acétone /Méthanol sur le milieu solide.....	V

Liste des tableaux

Tableau I : Toxicité des composants des huiles essentielles.....	08
Tableau II : Composants l'huile de cade.....	10
Tableau III : Milieux de cultures et réactifs utilisés.....	13
Tableau IV : Les antibiotiques testés.....	16
Tableau V : les différentes concentrations d'huile essentielle de cade.....	21
Tableau VI : Résultats des prélèvements effectués.....	22
Tableau VIIa: La répartition des souches selon les prélèvements urinaire chez les Femmes et les Enfants.....	23
Tableau VIIb: La répartition des souches selon les prélèvements urinaire chez les Hommes.....	24
Tableau VIII : La répartition des souches selon les prélèvements du sperme	24
Tableau IX: sensibilité des souches bactériennes d'origine spermatique.....	25
Tableau X : sensibilité des souches bactériennes d'origine urinaire.....	26
Tableau XI : Résultats des tests sur milieu solide.....	27
Tableau XII : diamètre de la zone d'inhibition (mm) de différents solvants utilisés.....	27
Tableau XIII : détermination des C.M.I pendant 24h.....	28
Tableau XIV : détermination des CMI pendant 24h.....	27
Tableau XV : détermination des C.M.I pendant 48h.....	29
Tableau XVI : CMI de l'huile essentielle d'origan.....	29

Introduction

Introduction

L'étude du potentiel thérapeutique des plantes, aromatiques ou non, est d'une actualité à cause d'une consommation "Bio" en pleine expansion mais aussi, et surtout à cause d'une industrie pharmaceutique trop orienté vers la synthèse chimique et qui montre de plus en plus ses limites. La situation actuelle des antibiotiques se passent de tout commentaire. En contrepartie le développement exponentiel des biotechnologies végétales, mettant en évidence de nouveaux principes actifs et de nouvelles propriétés pharmacologiques, ont permis de faire des plantes des candidats-médicaments très sérieux. **(Boukhatem, 2010).**

Les huiles essentielles sont des produits naturels utilisés comme matières crues ou comme additifs dans plusieurs domaines incluant la parfumerie, la cosmétique, la phytothérapie, la pharmacologie, l'agroalimentaire et la médecine vétérinaire. Leur utilisation est soutenue par leurs différentes propriétés biologiques parfois supposées mais souvent reconnues. **(Kanko, 2004). (Girard, 2010).**

Ce domaine attire l'attention de plus en plus de chercheurs scientifiques et il les a encouragé à filtrer les plantes pour étudier les activités biologiques de leurs huiles. Ces études concernent surtout les investigations chimiques et pharmacologiques. Rien ne parle d'études cliniques. C'est un domaine où les grands industries se livrent une guerre qui ne dit pas son nom **(Panizzi et al., 1993).**

Paradoxalement on constate aussi que des plantes à l'utilité confirmée se voient mise de côté ou complètement abandonnées et ne reçoivent pas tout l'intérêt qu'elles mériteraient. L'huile de cade en fait partie.

L'huile de cade est un remède végétal dont l'usage documenté remonte au moyen-âge. C'est une huile noirâtre et goudronneuse, à l'odeur prégnante utilisé contre les dermatoses humaines et animale. Il est, toujours fort prisée en médecine vétérinaire dans certains pays. Cette "huile" qui n'est pas une 'huile 'est un en réalité une oléorésine hétérogène contenant une petite fraction volatile (huile essentielle) et une fraction résiduelle résineuse dominante. **(Skalli, 2014).**

Malheureusement, cette huile les gens l'utilisent de moins en moins, peut-être à cause de son aspect visqueux et à l'odeur répulsive qu'elle dégage. Peu d'études scientifiques lui ont été consacrées.

Dans cette optique, nous nous sommes fixées comme objectifs, après une rapide synthèse documentaire :

- un stage d'initiation aux manipulations microbiologiques, dans un laboratoire d'analyse médicales, en vue de récolter des souches bactériennes pathogènes comme souches tests ;
- l'extraction et le test de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de cade.

Synthèse bibliographique

I. Généralité sur les huiles essentielles

I.1. Définition

Les huiles essentielles, encore appelées « essences » ou « essences aromatiques végétales » sont des substances odorantes, volatiles et de consistance huileuse, élaborées par de nombreuses plantes dites *plantes aromatiques*. Elles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs (Haberhorn et Lardry, 2007).

Selon l'association française de normalisation (AFNOR) l'huile essentielle (HE) est définie comme *un produit odorant, de composition généralement complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau soit par des procédés mécaniques, cas des agrumes, soit par distillation « sèche »* (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012).

Selon les plantes ces huiles peuvent être stockées dans les différents organes : fleurs, feuilles, écorces, bois, racines et rhizomes (Bruneton, 1999).

I.2. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Ce sont des substances, liquides, limpides, liposolubles, volatiles, parfois colorées (cade, origan, thym...) et très odorantes (Bakkali et al., 2008).

Elles ont une densité généralement inférieure à celle de l'eau à l'exception l'huile de girofle. Solubles dans les solvants organiques usuels et dans les matières grasses, leur solubilité dans l'eau est quasi-nulle (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).

I.3. Composition chimiques des huiles essentielles

Une huile essentielle renferme majoritairement des terpènes volatils, issus de la condensation d'unités isopréniques, et/ou des dérivés aromatiques dérivés du phénylpropane et parfois des composés d'origines diverses (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).

- **Terpènes** : ces sont les éléments les plus importants dans les huiles essentielles, les plus volatils et qui dérivent d'une structure isoprénoïde (C_5H_8). (Lee et al., 2004). Ils peuvent être subdivisés en : monoterpènes (acycliques ou bicyclique) et sesquiterpènes (les carbures, les alcools et les cétones sont les plus fréquents). (Bruneton, 2009).

- Composés aromatiques ou dérivés du phenylpropane : ce sont des dérivés d'un cycle aromatique à 6 carbones avec une chaîne latérale à trois carbones (C₆-C₃) (**Lee et al., 2004**). Ce sont très souvent des allyles- et des propénylphénols, parfois des aldéhydes. (Bruneton, 2009).
- Composés d'autres origines: ils sont généralement de faibles masses moléculaires, entraînés lors de l'hydrodistillation (alcools, aldéhydes, cétones, phénols, esters (**Bourrain, 2013**)).

I.4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Plusieurs procédés d'extraction des principes actifs végétaux sont utilisés: l'extraction par des solvants, l'extraction par expression à froid, l'extraction assistée par micro-ondes, l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydro distillation....etc. (**Abdelouahid et Bekhechi, 2010**). Ces deux derniers sont les deux procédés les plus utilisés, sauf pour les huiles essentielles des agrumes (expression à froid) :

- Entraînement à la vapeur d'eau

Le matériel végétal, dans ce cas se trouve supporté par une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, la partie inférieure de celui-ci est remplie d'eau. (**Abdelouahid et Bekhechi, 2010**).

La vapeur, générée à part, est injectée dans la matière végétale, circule et se charge en principe actifs puis, traverse un tube froid (système réfrigérant), ou elle se condense. Après distillation, le distillat est récupéré dans une fiole réceptrice. Les huiles s'en désolidarisent (elles flottent à la surface). On les récupère alors par décantation, avec ou sans relargage. (**Festy, 2011**).

- L'hydrodistillation

Cette méthode consiste immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans l'eau chauffée jusqu'à ébullition pendant 3h – 4h. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité, (**Bourkhiss et al., 2007**).

Le mode d'obtention des huiles essentielles intervient de façon déterminante sur la nature et la qualité du produit d'extraction (**Abdelouahid et Bekhechi, 2010**).

I.5. Les activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont des activités biologiques variées souvent exploitées, en médecines traditionnelles. On distingue :

- Les activités anti-inflammatoires :

Les huiles essentielles d'eucalyptus citronné, de gingembre, de giroflier sont très utilisées par voie interne ou locale, dans les troubles articulaires inflammatoires (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**).

- Les activités cicatrisantes :

Les huiles essentielles de palmarosa, romarin employées contre les affections de la peau ont des propriétés cicatrisantes dues à leur activités vasomotrices (**Géraldine, 2010**)

- Les activités anti-infectieuses et de défense de l'organisme :

- le pouvoir antiviral : Par exemple, les HE d'origan compact, de thym vulgaire, de romarin à cinéole, sont proposées par voie orale (2 gouttes sur un support, 3 fois par jour (**Séverine et al., 2013**)).

- le pouvoir antifongique. (**El Ajjouri et al., 2008**) a montré que les deux huiles de *T. capitatus* et *T. bleicherianus* s'opposent au développement des champignons et les détruisent.

- activité antibactérienne : c'est le pouvoir le plus reconnu et le plus étudié chez les huiles essentielles. Ceci s'explique surtout par le fait qu'il fait appel à des protocoles expérimentaux faciles à mettre en place et relativement bien fiables (**Séverine et al., 2013**).

I.5.1 L'activité antibactérienne des huiles essentielles

Plusieurs théories sont proposées pour expliquer le mécanisme par lequel les HE's exercent leur activité antibactérienne. La première mise en évidence, scientifique, de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (**Burt, 2004**).

Cette tendance à inhiber la prolifération microbienne peut être très forte et durable ou, parfois faible et réversible, selon les espèces et selon les huiles (**Nguyen, 1983**). Elle est due à la richesse des HE's en substances inhibitrices, souvent des phénols (qui sont doués d'une forte activité antimicrobienne) mais aussi par leur solubilité lipidique (**Benkherara et al., 2011**).

Une caractéristique importante des constituants des huiles essentielles est leur caractère hydrophobe, qui leur permet de s'insérer dans les couches lipidiques de la membrane cellulaire bactérienne et des mitochondries, perturbant les structures et les rendant plus perméables (**Burt, 2004**).

Plusieurs études ont ainsi rapportés des phénomènes de fuites d'ions potassium des cellules microbiennes en contact avec des huiles essentielles. Cette fuite de potassium peut déterminer des lésions irréversibles au niveau membranaire. Cette perméabilisations de la membrane des bactéries, est un effet précurseur de leur mort. Les huiles essentielles ont donc bien des propriétés bactéricides mais bien souvent l'action des huiles essentielles est assimilée à un effet bactériostatique, certainement dû à leur rapide volatilisation et disparition des milieux de cultures (**Benkherara, 2011**).

Un autre mécanisme d'action proposé implique le groupement hydroxyle des phénols, comme le carvacrol, qui agirait comme un transporteur transmembranaire des cations et des protons monovalents. Cet effet perturbe aussi le gradient ionique, les fonctions membranaires des cellules microbiennes et créent des perturbations enzymatiques. (**Ultee et al., 2002**). D'autres HE's inhibent la croissance microbienne par l'inactivation des acides nucléique (**Calsamiglia et al., 2007**).

L'action des huiles essentielles dépend aussi de la nature des microorganismes ciblés. Les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'action des huiles essentielles, par rapport aux bactéries à Gram négatif. Cela peut être expliqué par la présence de la membrane externe chez les bactéries à Gram négatif, qui représente en effet une barrière capable de diminuer la perméabilité des composés hydrophobes (**Calsamiglia et al, 2007**).

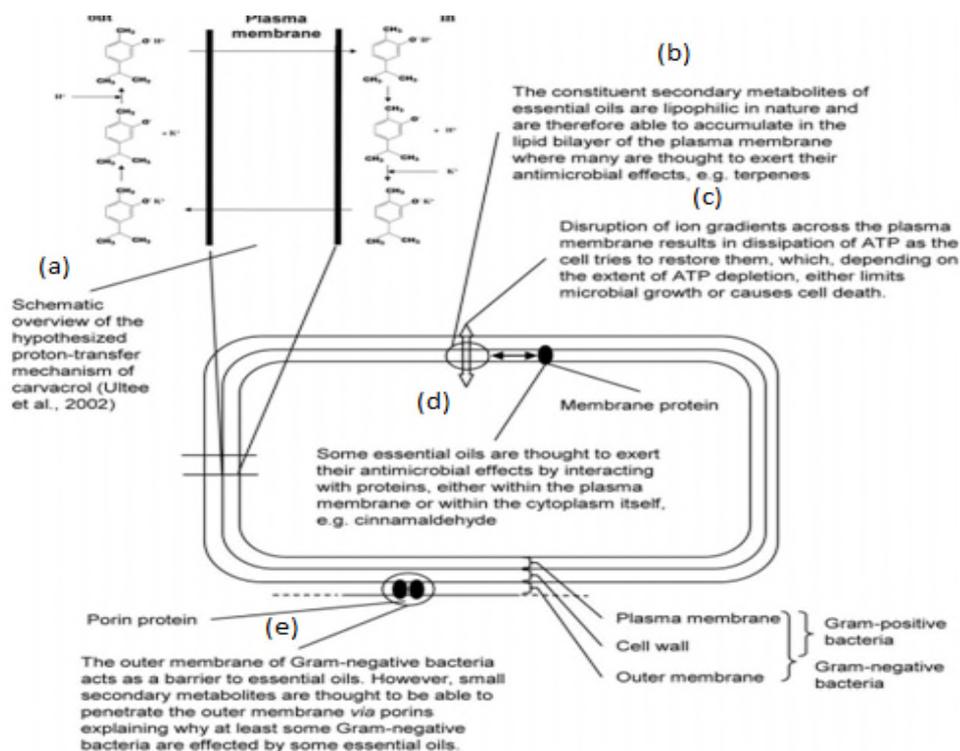


Figure 1: Aperçu général de certain des mécanismes de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et leurs constituants dans la cellule bactérienne (Benchaar et al., 2011)

(a) : aperçu schématique sur l'hypothétique mécanisme proton-transfert du carvacrol ;

(b) : les constituants des métabolites secondaires des HE's sont de natures lipophiles et peuvent donc s'accumuler dans l'espace inter-membranaire de la membrane plasmique où elles exerceraient leurs effets (terpènes) ;

(c) : rupture du gradient ionique à travers la membrane et donc baisse de la réserve en ATP ce qui limite la croissance cellulaire ou provoque la mort cellulaire ;

(d) : certaines huiles essentielles agissent par interaction avec les protéines (cannelle) dans la membrane plasmique ou dans le cytoplasme même

(e) : la membrane externe agit comme une barrière pour les HE's (bactéries à gram négatif) mais des métabolites secondaires de petites tailles peuvent traverser via des pores membranaires, ce qui explique la sensibilité de ces bactéries à certaines huiles ;

I.6. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles naturelles sont utilisés dans de multiples domaines : alimentaire surtout mais aussi comme fragrance, cosmétiques, formulations de médicaments, conservateurs, pesticides...). (**Service cantonaux des produits chimiques, 2009**). Mais selon **Bourrain (2013)**, à cause même de cette activité biologique toutes les huiles essentielles ou presque exercent des effets secondaires sur différentes espèces et à différents niveaux de l'organisme. (**Abdelouahid et Bekhechi, 2010**), (**Service cantonaux des produits chimiques, 2009**).

Un usage exagéré dans la parfumerie et les cosmétiques de certaines molécules est à l'origine de réactions cutanées allergiques (géraniol, eugénol, menthol ...etc.) (**Bourrain, 2013**).

Une ingestion accidentelle d'huile essentielle peut, selon la variété et la quantité, peut un coma et même la mort. Elles peuvent pénétrer dans les poumons et les endommager par lésions épithéliales (aspiration) (**Service cantonaux des produits chimiques, 2009**).

Les composants chimiques des huiles essentielles (phénols) sont toxiques pour le foie (clou de girofle, thym, origan, cade...). Les cétones et dans une moindre mesure les lactones sont neurotoxiques (armoise, romarin, sarriette, cèdre, camphre, thuya, aneth, hysope) et nécessitent certaines précautions d'emploi afin d'éviter des effets indésirables tableau I (**Hilan, 2009**).

Parmi les intoxications immédiates, selon **Brunteton (1999)**, on a :

- l'essence de sobine induits des hémorragies utérines chez la femme.
- l'essence de genévrier donne des hématuries chez l'homme
- une dose de 2 g de menthol peut induire un spasme de la glotte qui menant à une asphyxie ;
- l'essence de la menthe, la mélisse, le pin ou la mousse de chêne, provoquent des réactions cutanées allergiques.

L'essence de la cannelle aux doses usuelles ou l'utilisation de l'écorce comme épice ne présente aucun risque de toxicité. Cependant, absorbée en grande quantité, elle provoque des lésions graves des muqueuses, des vomissements et des réactions d'allergies (**Teuscher, 2005**).

L'eugénol est autorisé par la FDA comme ingrédient alimentaire, la valeur ADI (Acceptable Daily Intake) à été fixée 2.5mg/kg A faible dose il est utilisé comme anesthésiant et nécrosant dentaire, mais à forte dose il est hépatotoxique. Sur le long terme Il est réputée comme cardiotoxique (**Teuscher, 2005**).

Le carvacrol, comme le thymol, est très irritant, astringent et caustique. Ingéré à la dose de 2g, il provoque de la gastralgie avec nausées, à plus fortes doses, c'est un puissant irritant intestinal. Ainsi, le thymol qui est très riche en composés phénoliques, pris pur à des doses de 30 à 40 gouttes, peut être mortel ou au minimum entraîner des convulsions (neurotoxicité) (**Abdelouahid et Bekhechi, 2010**).

Les huiles essentielles de sauge officinale et de persil (*Petroselinum sativum*) sont interdites à la femme enceinte parce que neurotoxique et abortive (**Grosjean, 2004**).

L'huile essentielle de romarin (*camphre, verbénone*) contient des cétones et est neurotoxique et abortive à forte dose (**Festy, 2012**).

Eu égard à ces risques potentiels, les huiles essentielles entrent dans bien des cas dans la catégorie des produits chimiques dangereux et doivent, de ce fait, être classées, emballées et étiquetées conformément à certaines normes et législation (**Service cantonaux des produits chimiques, 2009**).

I.6.1. Origine des intoxications chez l'homme

- gestions accidentelles chez les jeunes enfants, selon la nature et la quantité En effet ces huiles essentielles sont incorporées à de nombreuses préparations pour des utilisations diverses. Et de nombreux cas d'ingestions orales sont rapportés (**Couderc, 2001**).
- Utilisation abusive et inconsidérée de certaines préparations issues de 'sorciers', de thérapeutes traditionnels et de croyances populaires (**Couderc, 2001**).

Tableau I : Toxicité des composants des huiles essentielles (Hilan, 2009).

Composants	Effets
Phénol	-dermatotoxiques et hépatotoxiques. - brûlent la peau et détruisent les cellules hépatiques.
Terpènes	- Irritantes pour la peau et néphrotoxiques.
Cétones	-neurotoxiques et épileptisantes.
Lactones	- neurotoxiques par voie orale. - irritantes par voie cutanée
Aldéhydes	- Irritantes pour la peau et les muqueuses

II. Huile de cade

II.1. Définition

C'est un liquide visqueux brun foncé presque noir, provenant de la distillation du bois (branches et troncs) de *Juniperusoxycedrus*, arbrisseau de la famille des Cupressacées (**Zerrour, 2010**).

L'huile de cade est insoluble dans l'eau et partiellement soluble dans l'alcool à 90%, il se dissout entièrement dans différents solvants organiques (l'éther, l'acide acétique cristalline, le benzène, le chloroforme...) (**Belliot, 2007**).

En médecine traditionnelle, (pays sud-méditerranéens et proche orient) l'huile de cade est utilisée à des fins thérapeutiques multiples (**Zerrour, 2010**) :

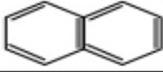
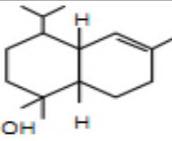
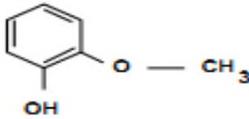
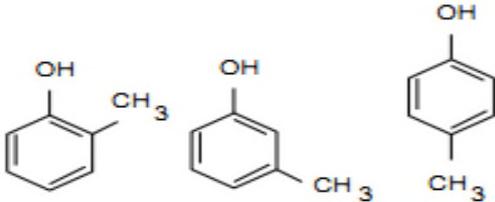
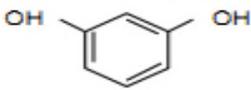
- par voie cutanée essentiellement: en cas de bronchite, eczémas, gale, plaies, infections cutanées diverses contre la chute des cheveux ...etc.
- en médecine vétérinaires, très efficaces contre diverses parasitoses ;
- par voie orale contre les céphalées et l'obésité....etc.
- les tradipraticiens «ferraga» l'appliquent sur le corps des bébés contre le mauvais sort.

II.2. Composition de l'huile de cade

Selon la durée et la température de la pyrogénéation, on obtient des mélanges de compositions différentes, refermant divers terpènes, principalement un sesquiterpène caractéristiques (cadinène) et des phénols (créosol, gaïacol) mais aussi des résidus de combustion incomplète ; à l'origine d'un potentiel effet cancérigène. (**Bardeau, 2009**).

Les principaux composants de l'huile de cade sont regroupés dans le tableau II

Tableau II : composants l'huile de cade. (Belliot, 2007).

Nom	Formule brute	Formule développée
Benzène	C_6H_6	
Toluène	$C_6H_5CH_3$	
Naphtalène	$C_{10}H_8$	
Cadinène	$C_{15}H_{24}$	Mélange de 3 isomères
Cadinol	$C_{15}H_{26}O$	
Gaïacol	$C_7H_8O_2$	
Crésol	C_7H_8O	
Résorcine	$C_6H_6O_2$	

II.3. Toxicité de l'huile de cade

L'huile de cade contient des substances toxiques avérées provoquant des intoxications dues au passage des phénols dans la circulation générale (Skalli *et al.*, 2014). Elles se manifestent le plus souvent par des troubles:

- cardio-vasculaires (hypotension, tachycardie...)
- neurologiques (céphalées, hypotonie, convulsions voire coma)
- respiratoires (œdème aiguë du poumon et détresse respiratoire). (Zerrou, 2010).

L'huile de cade contient, de plus des hydrocarbures aromatiques polycycliques tels que le benzopyrène, réputées cancérigènes (Belliot, 2007).

- **Cas clinique**

- l'application étendue sur le nez et la tête d'un nourrisson de 20 jours, d'huile de cade, pour le préserver du mauvais œil (!!!) a provoqué une dyspnée, une cyanose et de l'hypotonie (**Achour S, 2005**).

- un demi-verre d'huile de cade absorbé par une femme de 30 ans, pour traiter des céphalées, a provoqué une hypotension artérielle et une détresse respiratoire, suivies d'une insuffisance rénale oligo-anurique et d'une acidose métabolique (**Saviuc, 2008**).

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

I. Matériels et méthodes

La partie expérimentale a été effectuée en deux étapes :

a – un stage réalisé au laboratoire d'analyses médicales Djama de Bejaia (09 février au 28 février), en vue de récolter (isolement, purification et identification et antibiogramme) des espèces bactériennes utilisées ;

b – extraction des huiles essentielles et tests aromagrammes effectués au Laboratoire d'Analyses Instrumentales du département de biologie physico-chimique De la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Abderrahmane MIRA-Bejaia.

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel végétal

- L'huile de cade utilisée est de deux origines :
 - un premier échantillon d'origine artisanal (Ouled Boutaleb, Sétif)
 - et un deuxième échantillon, huile commercialisée par les herboristes de la ville de Sétif.
- Origan : l'espèce *Origanum Vulgare* (cueillie dans la région de Megrés, Sétif) a été obtenue chez un herboriste.

I.1.2. Microorganisme étudiés

Les germes testés obtenus sont:

- Des bactéries à Gram négatif :
 - ✓ *Klebsiella pneumoniae*: isolée d'urine
 - ✓ *Escherichia coli* : isolée d'urine
 - ✓ *Pseudomonas aeruginosa*: isolée d'urine
 - ✓ *Proteus mirabilis*: isolée d'urine
- Des bactéries à Gram positif :
 - ✓ *Staphylococcus aureus* : isolée du sperme

I.1.3. Les milieux de culture utilisés :

Les différents milieux de cultures et réactifs utilisés sont présentés dans le tableau III suivant :

Tableau III : Milieux de cultures et réactifs utilisés.

Milieux d'isolement	Gélose nutritive GN (isolement des germes totaux)
	Hektoen (isolement des entérobactéries)
	Gélose au sang GS (permet la lecture du caractère hémolytique)
Milieux sélectif	Chapman (permet la croissance des germes halophiles)
Milieux d'enrichissement	Bouillon SFB (Bouillon au sélénite « acide de sodium »)
Milieux pour l'antibiogramme	Mueller-Hinton (MH)
Milieux d'indentification	TSI (Thiol Sugar Iron)
	Urée indole
	Citrate de Simmons
	Galerie API 10 E
Réactif	Kovacks (révélation de la production d'indole)
	Eau physiologique
	Disques d'antibiogramme

Les milieux proviennent de l'Institut de Pasteur et de Liofilchem, composition des milieux décrite en (**annexe 1**).

I.2. Méthodes

I.2.1. Obtention des souches

Des prélèvements de différentes sources ont été effectués, selon la disponibilité des analyses demandées: urines, selles, pus, oreilles, gorges, sperme et vagin.

I.2.1.1. Isolement

- Isolement à partir des urines :

Ensemencement par inondation à l'aide d'un écouvillon d'une dilution de 10^{-3} de cette urine dans des boîtes de Pétri contenant la GN et incubation 37°C/24h.

- Isolement à partir de prélèvement de pus, de l'oreille, de sperme et de vagin :

Prélèvement d'un échantillon à l'aide d'un écouvillon, on ajoute un peu d'eau physiologique à l'écouvillon, puis on ensemence des boîtes de Pétri contenant : GN, GS, chapman et Hecktoen. L'incubation à 37°C/24h.

- Isolement à partir des selles

Une noix de selle est dissociée dans 10ml d'eau distillée et après décantation, une dilution à 10⁻¹ensemencée à l'aide d'anse de platine sur gélose Hecktoen. L'incubation est faite à 37°C/24h.

I.2.1.2. Purification et identification des souches d'entérobactéries

Après l'incubation à 37°C/24h, on examine des différentes colonies ayant poussé sur les différents milieux de cultures. Lorsque les boîtes de Pétri comprennent plusieurs colonies, on procède à la purification de la souche en réalisant des repiquages successifs.

I.2.1.3. Identification

Une fois la culture pure, l'identification des bactéries est réalisée sur la base de la morphologie, coloration, aspect des colonies, mobilité à l'état frais et la galerie biochimique. Cette dernière comprend deux types :

- **La galerie classique**

Premièrement, on prélève quelques colonies bactériennes dans la gélose nutritif avec anse de platine et les dissociées dans 05ml d'eau physiologique stérile, mélange bien la suspension dans vortex.

- ✓ Utilisation du citrate (comme seule source de carbone)

À partir d'une colonie, la pente du milieu citrate de Simmons est ensemencée par strie série longitudinale. L'incubation est effectuée à 37°C, la durée va de 24h jusqu'à 7 jours pour certaines bactéries

Un virage du milieu du vert au bleu et croissance des colonies sur la pente indique un test positif

- ✓ Fermentation des sucres et production de gaz et d'H₂S sur gélose TSI

On ensemence la surface de la gélose TSI par stries série, puis le culot par piqure centrale. On incube à 37°C pendant 24 h.

La lecture se fait comme suit :

- Fermentation du lactose + : virage au jaune de la pente.
- Fermentation du glucose + : virage au jaune au fond du tube.
- Fermentation du saccharose + : virage au jaune au centre du tube.
- Production de gaz : apparition de bulles.
- Production d'H₂S : noircissement du milieu.

✓ Recherche d'uréase et production d'indole

Ces deux tests sont recherchés simultanément sur milieu Urée indole. A partir de la suspension on ajoute 1ml du milieu Urée indole et on incube à 37°C/24h.

La présence d'uréase se traduit par le virage du milieu vers le rose/rouge. La production d'indole est révélée par addition de quelques gouttes du réactif de Kovacs. Un test positif est indiqué par l'apparition d'un anneau rouge en surface.

• **Réalisation de la galerie AP10E**

✓ présentation de la galerie

Galerie de 10 micro-tubes contenant des substrats déshydratés prêts à l'emploi permettant de réaliser 10 tests biochimique miniaturisés, ainsi qu'une base de données, pour l'identification des *entérobacteriaceae* et autre bacilles à gram négatif (Gros, 2009).

✓ préparation l'inoculum :

Prélevé colonies isolé à l'aide anse de platine et dissocier dans 05ml d'eau physiologique. (Gros, 2009).

✓ ensemencement galerie :

Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette de pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieure et sur le côté pour éviter la formation des bulles d'air. Remplir de suspension le tube à la cupule pour Cit et pour les autres juste le tube et recouvrir d'huile de paraffine les tubes contenant un traits en dessous. Ensuite incubation à 37°C/24h. (Gros, 2009).

I.2.1.4. Antibiogramme

Nous avons testé la sensibilité des souches identifiées vis-à-vis de plusieurs antibiotiques (tableau XIV) par la méthode l'antibiogramme par diffusion sur gélose Mueller-Hinton (MH).

✓ Préparation de l'inoculum :

A partir milieu d'isolement, on prélève quelques colonies avec anse de platine et les dissocie dans 05ml d'eau physiologique stérile (**Lomba, 2010**).

✓ Ensemencement et dépôt des disques :

La suspension est ensemencée sur Les boîtes de Pétri contenant gélose MH par écouvillonnage, frotté ensuite la totalité de la surface de la gélose du haut en bas en stries serrées. Cette opération est répétée trois fois en tournant la boîte sans oublier de faire pivoter l'écouvillon à la périphérie de la gélose, laissé sécher pour quelque minute. Ensuite déposer les disques d'antibiotiques à tester. Incubation à 37°C/24h. (**Adam J.M, 2005**).

✓ Lecture :

L'interprétation en résistance (R), intermédiaires (I) ou sensible (S) est faite en mesurant les différents diamètres des zones d'inhibitions et en comparant avec les diamètres critiques édités par le comité français de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**Lomba, 2010**).

Tableau IV : les antibiotiques testés

Antibiotiques	Abréviations	Charge de disque (µg)	Famille
Ampicilline	AM	10	Aminopénème
Amoxicilline	AMX	25	
Augmentin	AMC/AUG	30	
Bactrim	COT/SXT	25	Sulfamide
Céfazoline(céfacida)	CZ	30	B-lactamines (céphalosporine)
Céfotaxime(claforan)	CTX	30	
Céfixime(oroquen)	CFM	5	
Chloramphénicol	C	30	
Colistine	C ₃₀ /CL	10	Polymyximes
Amikacine	AK	30	Aminoside
Gentamicine	GEN	10	
Doxycilline	DXT	30	
Négram	NA	30	Quinolone
Nitroxoline	NO/NI	30	Divers
Ciprofloxacine	CIP	5	Fluoroquinolones
Ofloxacine	OFX	5	
Oxacilline	OX		
Erythromycine	ERY		macrolides
Spiramycine			

I.2.2. Extraction des huiles essentielle

I.2.2.1. Protocole d'extraction

L'extraction des huiles essentielle a été effectuée par hydrodistillation (Amarti et al., 2008). (figure 2)



Figure 2 : Hydrodistillation directe.

- **Première extraction**

- l'huile de cade soumise à hydrodistillation directe, libère un extrait totalement non-miscible à l'eau qui est directement récupéré dans une ampoule à décanter. L'ensemble est laissé à décanter 24h puis on récupère l'huile essentielle.

- on élimine l'eau résiduelle par filtration sur cristaux de sulfate de sodium. L'huile de cade est conservée au réfrigérateur à 4°C et à l'abri de la lumière. (Kheyar et al., 2014)



Figure 3: l'huile de cade à l'état brut



Figure 4 : l'huile essentielle de cade

- **Deuxième extraction**

- peser 100g d'Origan.
- broyer pour obtenir une poudre (figure 5).
- introduire la poudre dans un ballon de 1000ml.
- imprégner le contenu du ballon avec 500ml d'eau distillé.
- un chauffage doux est apporté par une chauffe ballon, pendant 3heures.
- la vapeur condensée coule dans une fiole.
- transférer le contenu de la fiole dans une ampoule à décanter
- récupérer le surnageant
- ajouter de bicarbonate de sodium pour le relargage de l'huile résiduelle
- laisser reposer pendant 24 heures à l'abri de la lumière.
- le surnageant et l'huile résiduelle sont filtrés sur sulfate du sodium pour déshydratation.
- conservation de l'huile d'origan au réfrigérateur à 4°C et à l'abri de la lumière. (**Kheyar et al., 20 14**)



Figure 5 : poudre d'origan

I.2.2.2. Etude de l'activité antibactérienne

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles, on a procédé à la détermination de :

- **Aromatogramme**

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisés en bactériologie médicale appelée antibiogramme ou encore méthode des disques. (**Pibiri, 2005**). Il s'agit d'une méthode par diffusion en milieu gélosé qui permet d'étudier la sensibilité des micro-organismes aux huiles essentielles et de mesurer leur pouvoir antimicrobien de manière fiable

et reproductible pour les antibiotiques. Pour l'aromatogramme il y'a souvent des problèmes en rapport avec les phénomènes de volatilisation et de diffusion. Il reste quand même un bon outil d'estimation de cette sensibilité (**Derbré, 2013**).

But : déterminer la sensibilité bactérienne, à l'huile essentielle testée, par mesure des zones d'inhibition apparentes.

Principe : le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance des bactéries est proportionnel à sa sensibilité au principe actif (**Billerbeck, 2007**).

✓ Mode opératoire

- Préparation du milieu de culture MH :

Le milieu de culture pour les aromagramme, gélose et bouillon MH, est sous forme lyophilisée, reconstitué selon les besoins.

- Standardisation des souches

Les préparations de l'inoculum sont faites selon les méthodes traditionnelles. L'inoculum de chaque type bactérien est préparé à partir d'une culture en bouillon 18 à 24 heures avant la manipulation. Les concentrations bactériennes de l'inoculum sont évaluées par turbidité, exprimée en Densité Optique 650 nm sur un spectrophotomètre. Les dilutions nécessaires sont effectuées de façon à avoir pour les différentes souches des concentrations cellulaires aussi proches que possibles (**Haddouchi et al., 2008**).

- Application des disques

- préparer des disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre.
- mettre les disques dans un tube, et les stériliser dans un four pasteur à 150 C pendant 60mn
- prendre les disques par une pince stérile, et les saturer (10µl) d'huile essentielle ;
- déposer quatre disques de façon aseptique sur la surface de la géloseensemencée
- incubation 33°C/24h – 48h ;
- après incubation des boîtes, mesurer les diamètres des zones d'inhibition à l'aide de pied à coulisse.

- La lecture

L'activité antibactérienne est estimée en mesurant les diamètres des zones d'inhibitions en mm à l'aide d'un pied à coulisse, qui correspond à la distance autour du disque où on constate une absence d'une culture bactérienne. **(Bilerbeck, 2007)** (figure 6)

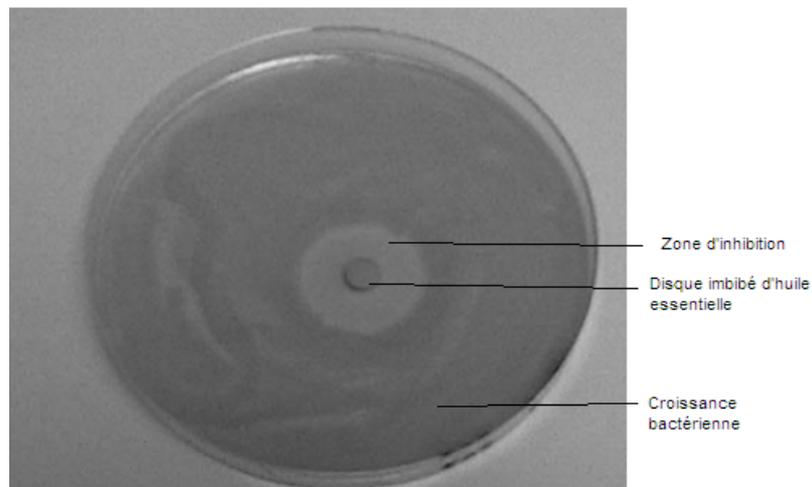


Figure 6 : illustration de la méthode d'aromatogramme sur boîte de pétri.
(Bilerbeck, 2007)

- **Détermination des C.M.I**

Elle consiste à préparer une série de tubes de bouillon Mueller-Hinton contenant des concentrations variables d'huile essentielle, en suspension dans de l'eau gélosée 0,2 %, et à les inoculer avec une population du micro-organisme à tester. **(Bassole, 2001)**.

La concentration la plus faible de l'huile essentielle inhibant toute croissance visible à l'œil nu après 16 à 24 heures d'incubation à 37°C, (33°C) est la concentration minimale inhibitrice notée CMI. **(Benjlali, 1986)**.

- ✓ **Mode opératoire**

Le protocole suivi est celui décrit par (Satraniet *al.*, 2007), avec une modification, (tubes à essais à la place des boîtes de Pétri)

- une solution d'agar à 0.2 % dans l'eau est stérilisée à 120 °C pendant 30 min
- ajouter aseptiquement à cette solution, la quantité d'HE de telle façon à obtenir la concentration voulue ;

- agiter pendant 2 à 3 min pour disperser l'HE dans la solution ; on obtient ainsi la solution mère « S »
- verser aseptiquement 1 ml de la solution « S » dans des tubes essais contenant chacun 9 ml de milieu gélosé MH stérilisé
- agiter les tubes pendant 2 à 3 min
- solidifier les tubes sous forme inclinée et laisser reposer ;
- ensemercer par strie à l'aide d'une anse de platine afin de prélever le même volume de la suspension bactérienne
- incuber pendant 24 à 48 heures à 33°C
- en parallèle préparer des tubes (témoins négatifs), contenant 9ml de milieu de culture MH avec la solution « S » et des tubes ensemencés (témoins positifs) sans « S »

- La lecture

Pour chaque souche on note :

- la présence ou l'absence de croissance bactérienne après 24 /48H;
- les cultures sans croissances sont suivies sur 48h pour détecter une possible reprise de la croissance ;
- la dilution correspondante à la concentration minimale inhibitrice.

Les dilutions utilisées sont les suivantes :

Tableau V : les différentes concentrations de l'huile de cade

Quantité d'huile de cade de chaque tube (µl)	10	50	70	90	100
Concentration finale dans chaque tube	01ml/l	05ml/l	07ml/l	09ml/l	10ml/l

Résultats et discussion

II. Résultats et discussions

II.1 Résultats

II.1.1. Isolement des bactéries

Les prélèvements effectués pendant le stage sont résumés dans le tableau VI

On remarque que les analyses les plus demandées sont surtout des analyses urinaires, mais seul 21% s'est montré positif, les autres se sont avérées des cultures stériles.

Le même constat s'impose pour les prélèvements spermatiques, avec presque le même pourcentage de résultats positifs.

Tableau VI: Résultats des prélèvements effectués

Origines	Prélèvements		
	Totaux	Positive	Négative
Urinaire	224	52	172
Pus	4	0	4
oreille	1	0	1
vaginal	5	0	5
sperme	36	7	29

II.1.2. Répartition et identification des prélèvements :

Sur tous les prélèvements effectués, deux groupes méritent notre attention :

- **Les contaminants urinaires :**

Dans les prélèvements urinaires, on constate que l'espèce bactérienne largement dominante dans ces contaminants est *E.coli*, et de manière indépendante de l'âge et du sexe des patients tableaux VIIa et VIIb

Tableau VIIa: La répartition des souches selon les prélèvements urinaire chez les Femmes et les Enfants

Code	Age	Sexe	Germe poussée
13523	Adulte	Femme	<i>E. coli</i>
13633	Adulte	Femme	<i>E.coli</i>
13377	Adulte	Femme	<i>E.coli</i>
13498	Adulte	Femme	<i>E. coli</i>
13921	adulte	Femme	<i>E.coli</i>
13927	adulte	Femme	<i>E. coli</i>
14004	74 ans	Femme	<i>E. coli</i>
14036	adulte	Femme	<i>E.coli</i>
14065	Adulte	Femme	<i>E. coli</i>
14146	78 ans	Femme	<i>E. coli</i>
14180	Adulte	Femme	<i>K.pneumoniae</i>
14216	Adulte	Femme	<i>E. coli</i>
14248	Adulte	Femme	<i>P.mirabilis</i>
14482	Adulte	Femme	<i>P. mirabilis</i>
14560	Adulte	Femme	<i>E.coli</i>
14903	Adulte	Femme	<i>K. pneumoniae</i>
14925	Adulte	Femme	<i>E. coli</i>
14937	Adulte	Femme	<i>E. coli</i>
14939	Adulte	Femme	<i>E. coli</i>
14960	Adulte	Femme	<i>E.coli</i>
14983	63 ans	Femme	<i>E. coli</i>
15146	Adulte	Femme	<i>E. coli</i>
15217	Adulte	Femme	<i>E.coli</i>
15294	Adulte	Femme	<i>E.coli</i>
15359	Adulte	Femme	<i>E. coli</i>
15387	Adulte	Femme	<i>E.coli</i>
15425	Adulte	Femme	<i>E.coli</i>
14836	Adulte	Femme	<i>E.coli</i>
13591	Adulte	Féminin	<i>E coli</i>
15359	Adulte	Femme	<i>E. coli</i>
15425	Adulte	Femme	<i>E.coli</i>
15387	Adulte	Femme	<i>E.coli</i>
14056	5 mois	Féminin	<i>E.coli</i>
13834	20 mois	Masculin	<i>E.coli</i>
15154	21 mois	Masculin	<i>P.mirabilis</i>
13655	2 ans	Féminin	<i>E. coli</i>
14823	5 ans	Féminin	<i>P.aeruginosa</i>
14346	6 ans	Féminin	<i>E. coli</i>
14340	11 ans	Féminin	<i>E. coli</i>

Tableau VIIIb: La répartition des souches selon les prélèvements urinaire chez les Hommes

Code	Age	Germe poussée
13586	Adulte	<i>E. coli</i>
13435	85 ans	<i>E. coli</i>
14031	adulte	<i>P.aeruginosa</i>
14037	Adulte	<i>E.coli</i>
14413	Adulte	<i>P. mirabilis</i>
14579	Adulte	<i>E. coli</i>
14914	80 ans	<i>E.coli</i>
15001	Adulte	<i>P.aeruginosa</i>

- **Les contaminants spermatiques :**

Les prélèvements spermatiques se caractérisent par la présence d'un seul contaminant : *S.aureus* tableau VIII

Tableau VIII : La répartition des souches selon les prélèvements du sperme

Code	Age	Germe poussée
13750	Adulte	<i>S.aureus</i>
14112	Adulte	<i>S. aureus</i>
14391	Adulte	<i>S. aureus</i>
15245	Adulte	<i>S. aureus</i>

II.1.3. L'antibiogramme

- L'antibiogramme des contaminants spermatiques :

Le profil antibactérien des ATB les plus utilisés en laboratoires d'analyses médicales présenté dans le tableau IX. On remarque que :

- *S.aureus* (13750) est poly-résistant, même à des ATB binaire comme l'AMC (Augmentin) ;
- *S.aureus* (14391) présente une sensibilité variable ;
- les deux souches *S.aureus* (14112 et 15245) sont sensibles à presque tous les ATB utilisés, ce qui est positif pour le malade.

Tableau IX: sensibilité des souches bactériennes d'origine spermatique

code	germe	A	AM	AMX	AMC	COT	CFM	C	DXT	GEN	OFX	OX	RIF	SPI	ERY	Ak
13750	<i>S.aureus</i>	R	R	R	R	R	S	S	I	R	I	R	R	R	R	S
14112	<i>S.aureus</i>	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
14391	<i>S.aureus</i>	R	I	R	S	R	S	S	I	I	S	R	S	R	R	S
15245	<i>S.aureus</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S

- L'antibiogramme des contaminants urinaires :

Le profil antibactérien des ATB les plus utilisés en laboratoires d'analyses médicales. Montré dans Le tableau X

- On remarque qu'il n'y a aucune logique d'inhibition ni en fonction des souches ni en fonction antibiotiques. Le plus grave c'est que les ATB les plus courants (AM, AMX et AMC) semblent les plus inefficaces et comme par hasard ils sont, les trois, à base de pénicilline.

Tableau X: sensibilité des souches bactériennes d'origine urinaire

Code	Germe	A	AMX	AMC	COT	Cz	CTX	CFM	C	C _s	AK	DXT	NA	NO	GEN	CIP	OFX	OX
13435	<i>E coli</i>	S	R	I	R	R	S		I	R		S	R	I	S			
13586	<i>E coli</i>	I	R	I	S	S	S	S	S	I	S	R	S	S	S			
13633	<i>E coli</i>	S	I	I	I		S			R	S	S	R	R	S	S	S	
13655	<i>E coli</i>	R	R	R	R	S	S	S	S	I	R	S	I	S	I	S		
13834	<i>E coli</i>	R	R	R	R	R	S	I	S	R	I	I	I	S	S	S	S	
14004	<i>E coli</i>	R	R	R	R		S	S	I	S	S	R	I	I	R	I	S	
14031	<i>P.aeruginosa</i>	R	R	R	I		S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	
14056	<i>E coli</i>	R	R	I	S		R	R	S	I	S	R	S	S	R	S	S	
14180	<i>K. pneumoniae</i>	S	S	S	R		S	R	I	I	S	S	R	R	S	S	S	
14248	<i>P. mirabilis</i>	S	I	S	R		S	R	R	R	R	R	R	R	S	I	I	
14340	<i>E coli</i>	R	R		R		S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	
14346	<i>E coli</i>	I	R		S		S	S	S	I	S	I	S	S	S	S	S	
14413	<i>P. mirabilis</i>	R	R		S		S	S	S	I	S	S	R	S	S	I	I	
14482	<i>P.mirabilis</i>	R	R	I	S		S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	
14823	<i>P.aeruginosa</i>	R	R	R	R		S	I	S	S	S	I	S	S	S	S	S	
14903	<i>K.pneumoniae</i>	R	R	S	R		S	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	
14925	<i>E coli</i>	R	R	S	S		S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	
14983	<i>E coli</i>	R	R	R	R		S	S	R	R	S	R	R	R	S	S	S	
15001	<i>P.aeruginosa</i>	R	R	R	R		I	R	S	I	S	R	R	I	I	S	S	
15154	<i>P. mirabilis</i>	R	R	I	S		S	I	S	I	I	I	I	S	I	S	S	
15387	<i>E coli</i>	R	R	R	R		S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	

On note que

- la majeure partie des contaminants rencontrés sont des germes indicateurs de mauvaise hygiène corporelle (*E.coli* et *S.aureus*) ;
- les ATB les moins efficaces sont les dérivés de la pénicilline, l'ATB le plus connu et le utilisé ;
- les ATB qui présentent le meilleur profil d'inhibition sont les moins courants (CIP, OFX, C,...), ce qui confirme que la résistance aux antibiotiques est le résultat de leur usage incontrôlé et exagéré ;
- les prélèvements génitaux les plus fréquentes sont les prélèvements masculins.

II.1.4. Evaluation de l'activité antibactérienne sur milieu solide

L'aromatogramme comparé, avec l'origan pur comme référence et l'huile essentielle de cade dans différents solvants a donné les résultats du tableau XI

La concentration 10 μ l (1ml/l) a été retenue parce que c'est la quantité minimale qui puisse être prélevée avec précision.

Tableau XI : Résultats des tests sur milieu solide

souche bactérienne	Origan (10 μ l)	Cade/DMSO (10 μ l)	Cade/Acétone (10 μ l)	Cade/Méthanol (10 μ l)
<i>P.aeruginosa</i> (14031)	11.75	12.25	-	-
<i>P.aeruginosa</i> (14823)	14	12.3	-	-
<i>P.aeruginosa</i> (15001)	16.5	13.31	-	-
<i>E.coli</i> (14216)	16.75	10.25	-	-
<i>E.coli</i> (14579)	22.5	7.21	-	-
<i>E.coli</i> (14983)	15.75	10.75	-	-
<i>P.mirabilis</i> (14248)	19	11.10	-	-
<i>P.mirabilis</i> (14482)	18	10.75	-	-
<i>P.mirabilis</i> (15154)	16.5	13.31	-	-
<i>S. aureus</i> (14112)	19.25	12	-	-
<i>S.aureus</i> (14391)	23.5	9.35	-	-
<i>K.pneumoniae</i> (14903)	13	11.25	-	-

Le test de toxicité des solvants, représenté dans le tableau XII, montre que les solvants ne présentent aucune zone d'inhibition sur les germes testés.

Tableau XII : diamètre de la zone d'inhibition (mm) de différents solvants utilisés.

Souches bactériennes	DMSO (10 μ l)	Acétone (10 μ l)	Méthanol (10 μ l)
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-
<i>E. coli</i>	-	-	-
<i>P.mirabilis</i>	-	-	-
<i>S.aureus</i>	-	-	-
<i>K.pneumoniae</i>	-	-	-

II.1.5. Résultats de la détermination des CMI :

La détermination des CMI s'est faite en deux étapes :

- un pré-test avec trois concentrations pour définir la fourchette d'inhibition ;
- trois tests par souche pour mieux définir les CMI.

Tableau XIII : détermination des C.M.I pendant 24h

<i>souche bacterienne</i>	1ml/l	5ml/l	10ml/l
<i>P.aeruginosa (14031)</i>	+	-	-
<i>P.aeruginosa (14823)</i>	+	+	-
<i>P.aeruginosa (15001)</i>	+	-	-
<i>E.coli (14216)</i>	+	+	-
<i>E.coli (14579)</i>	+	+	-
<i>E.coli (14983)</i>	+	-	-
<i>P.mirabilis (14248)</i>	+	-	-
<i>P.mirabilis (14482)</i>	+	+	-
<i>P.mirabilis (15154)</i>	+	-	-
<i>S. aureus (14112)</i>	+	-	-
<i>S.aureus (14391)</i>	+	-	-
<i>K.pneumoniae (14903)</i>	+	-	-

Tableau XIV: détermination des CMI pendant 24h

<i>souche bacterienne</i>	5ml/l	7ml/l	9ml/l
<i>P.aeruginosa (14031)</i>	+++	+++	+++
<i>P.aeruginosa (14823)</i>	+++	---	---
<i>P.aeruginosa (15001)</i>	+++	--+	---
<i>E.coli (14216)</i>	-++	---	---
<i>E.coli (14579)</i>	+++	+++	---
<i>E.coli (14983)</i>	+ - +	---	---
<i>P.mirabilis (14248)</i>	++ -	--+	---
<i>P.mirabilis (14482)</i>	-++	---	---
<i>P.mirabilis (15154)</i>	-++	--+	--+
<i>S.aureus (14112)</i>	-++	--+	---
<i>S. aureus (14391)</i>	+++	--+	---
<i>K.pneumoniae (14903)</i>	+++	---	---

Tableau XV : détermination des C.M.I pendant 48h

<i>souche bacterienne</i>	5ml/l	7ml/l	9ml/l
<i>P. aeruginosa</i> (14031)	/	/	/
<i>P.aeruginosa</i> (14823)	/	---	---
<i>P.aeruginosa</i> (15001)	/	--	--+
<i>E.coli</i> (14216)	+	---	---
<i>E.coli</i> (14579)	/	/	---
<i>E.coli</i> (14983)	+	---	--+
<i>P.mirabilis</i> (14248)	-	--	---
<i>P.mirabilis</i> (14482)	+	---	---
<i>P.mirabilis</i> (15154)	-	--	--
<i>S.aureus</i> (14112)	-	--	---
<i>S.aureus</i> (14391)	/	--+	---
<i>K.pneumoniae</i> (14903)	/	---	---

/ : Croissance déjà positive.

Tableau XVI : CMI de l'huile essentielle d'origan. (Zhiri A et al., 2010)

souches	CMI (ml/l)
<i>E.coli</i>	0.625
<i>S.aureus</i>	0.078
<i>P.mirabilis</i>	0.625
<i>P.aeruginosa</i>	2.5

II.2. Discussion

Aromatogramme comparé avec l'origan pur comme référence et l'huile essentielle de cade dans différents solvants :

La concentration 10 μ l a été retenue parce que c'est la quantité minimale qui puisse être prélevée avec précision.

L'origan a été pris comme référence parce qu'il est considéré comme la plus efficace des huiles essentielle antibactérienne. (Valnet, 1984).

Ce test laisse voir :

- l'absence de toute inhibition en présence de l'acétone et du méthanol, ce qui prouve d'une part que l'huile essentielle n'est pas inhibitrice, du moins pas à cette concentration et d'autre part que ces solvants ne sont pas toxiques ;
- avec le DMSO comme solvant, l'huile essentielle de cade exerce un effet antibactérien sur les différentes espèces malgré sa concentration moitié moindre que celle de l'origan. Cet effet est surtout visible chez deux espèces de *P.aeruginosa* (15001) et *P.mirabilis* (15154).

Détermination des CMI :

Il a été constaté que l'huile essentielle de cade est très hydrophobe, surnageant facilement sur l'eau. Ce caractère empêche sa diffusion de façon homogène sur la gélose et rend l'utilisation de la *méthode des disques* difficile à maîtriser.

Elle a été remplacée par la technique de mise en suspension de l'huile essentielle dans l'eau gélosée à 0,2 % stérile (El Ajjouri *etal.*, 2008)

L'utilisation d'une première gamme de dilution (10, 50, et 100 μ l) pour des concentrations finales dans les tubes de 01 ml/ l; 05ml/l et 10 ml/l a donné les résultats suivants tableau XIII

- pour la première concentration les 12 souches ont poussées ;
- pour la deuxième concentration seule 04 souche ont résistées soit 01 *E.coli*/3 ; 01 *P.mirabilis*/3 ; 01 *P.aeruginosa* /3, les 02 *S. aureus* et *K.pneumoniae* ayant disparus.

- pour la troisième concentration on n'observe aucune croissance même après 48h et au-delà.

Ceci permet de déduire que pour les souches des espèces utilisées, la CMI est atteinte à la concentration de 5ml/l pour certaines d'entre elles. Pour les autres un deuxième test est nécessaire pour la préciser.

Un test à des concentrations intermédiaires (05ml/l ; 07ml/l et 09ml/l) de celles utilisées a été mené tableau (XIV, XV) :

- on remarque que pour la concentration 05ml/l la croissance est totale pour toutes les souches ;
- pour la concentration 07ml/l on remarque une croissance confirmée de deux souches : *P.aeruginosa* (14031) et *E.coli* (14579)
- pour la concentration 09 ml/l, seule une souche, le même *P.aeruginosa* (14031) a poussé.

Ainsi la détermination des CMI montre que :

- celles-ci varient avec les souches et non pas seulement avec l'espèce ;
- il est possible de déterminer une CMI commune à un groupe d'espèce, comme c'est le cas pour l'huile essentielle de cade : de légères variations dans les concentrations induisent de grandes variations dans l'inhibition.

La comparaison des deux tableaux (XIV, XV) montrent des contradictions des résultats, essentiellement pour la concentration 05ml/l : contrairement au premier test toutes les souches ont donné une croissance à cette concentration.

Les raisons sont multiples :

- cette concentration est une concentration intermédiaire et donc elle reste variable et peut nécessiter un peu plus de précision ;
- les paramètres quantitatifs ne sont pas bien maîtrisés: homogénéité des solutions des huiles utilisées ; manipulations...etc.

- les huiles de cade utilisées pour l'extraction de l'huile essentielle ne sont pas de même origine, l'une d'origine artisanale, et l'autre d'origine inconnue (grande distribution). Et ça c'est très important. En effet, tout comme pour les chemotypes des plantes, l'huile de cade est un produit qui dépend des caractéristiques géo-botaniques et aussi, ou surtout, des procédés d'extraction (maîtrise, techniques...). (**Minguel et al., 2004**).

Pour les autres concentrations, on constate une certaine logique dans les résultats :

- les souches les plus résistantes "résistent toujours" ;
- on ne constate aucune inversion de la sensibilité : c'est-à-dire qu'aucune souche sensible à une concentration n'a donné de résistance à une concentration supérieure.

L'utilisation de témoins positifs et de témoins négatifs nous a permis d'encadrer ces résultats même si la fiabilité statistique reste encore à faire. On peut d

Pour terminer qu'il n'y a aucun doute sur l'activité antiseptique des huiles essentielles. Il est vrai qu'elle varie avec les espèces et les huiles. Elles peuvent supporter avantageusement la comparaison avec les antibiotiques :

- elles agissent à des doses comparables à celles des antibiotiques ;
- à ce jour aucune résistance acquise n'a été rapportée pour les huiles essentielles ;
- elles présentent un Index Chimio-thérapeutique très bas ;
- elles sont biologiques et donc renouvelables;

D'autre part elles présentent certaines limites qu'il convient de souligner :

- elles sont de composition souvent complexe, avec des molécules indésirables, parfois toxiques (thuyone) ;
- elles ne sont pas encore adaptées pour un usage médical. Sur le plan galénique tout reste à faire.
- leurs faibles concentrations dans les plantes fait qu'elles présentent un prix de revient souvent élevé par rapport aux antibiotiques.

Conclusion

Conclusion

Les souches isolées au laboratoire appartiennent toutes à des espèces courantes, souvent impliquées dans les toxi-infections alimentaires et dans les contaminations fécales, c'est-à-dire qu'elles signalent plus un problème d'hygiène qu'un risque épidémiologique sérieux.

Les antibiogrammes effectués, et les poly-résistances observées, montrent que ce sont des souches habituées au contact des antibiotiques. Ce sont donc soit des souches nosocomiales, soit des souches impliquées dans des infections répétées. Ce qui fait d'elles de bonnes souches pour les essais d'aromatogrammes.

La détermination de CMI nécessite de disposer de solvants de dilutions qui ne soient toxiques pour les germes-tests tout en étant un bon diluant. Les diluants testés (DMSO, Méthanol, Acétone) n'ont pas été convaincant. Pour les faibles doses, (10µl/disque), seul le DMSO a donné des zones d'inhibition significatives, mais il avait l'inconvénient de former des suspensions hétérogènes avec l'HE de cade et ne convient donc pas pour les CMI. La mise en suspension de L'HE dans une solution visqueuse comme l'eau gélosée a résolu le problème

Les analyses effectuées montrent que l'huile essentielle distillée à partir de l'huile de cade présente un très bon potentiel antiseptique.

Les CMI déterminées sont assez faibles et à une certaine dose on constate un effet inhibiteur sur l'ensemble des souches testées. L'écart entre la dose maximale tolérée et la dose minimale inhibitrice pour toutes les souches est de seulement 1/10. Ainsi la CMI déterminée pour l'ensemble des souches utilisées semble correspondre.

L'huile de cade a été utilisée dans tous les pays où le cadier (*juniperus oxycedrus*) existe, surtout par voie cutanée, donc contre les infections et parasitoses. Les toxicités rapportées ont été provoquées par de fortes doses et pour l'huile brute et non pas pour l'huile essentielle.

Nous ne disposons d'aucune donnée sur la toxicité de l'huile essentielle de cade, ni sur son utilité non plus. Seules des données cosmétologiques (pour la plupart commerciales et non scientifiques) sont accessibles.

Tout ça pour souligner que l'huile essentielle de cade est une huile inconnue ou mal-connue.

Des études pharmaco-toxicologiques et pharmacodynamiques nous apprendraient sûrement beaucoup de choses intéressantes à son sujet.

*Références
bibliographiques*

- ✚ **Adam J.M. (2005).** Le point sur l'antibiogramme au laboratoire de bactériologie médicale.
Revue Francophone des laboratoires. Paris. N°375 : 52-54.
- ✚ **Amari A et al. (2008).** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus*
Pharmacognosie. **6** : 342-347.
- ✚ **Athamene S; Chalghem I; Kassah-Laouar A; Khebri S. (2010).** Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum Cyminum L.*
Lebanese Science Journal. **11.** N°1.
- ✚ **Bardeau F. (2009).** Les huiles essentielles. Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale.
Edition Lanore.Paris. pp : 95-97.ISBN : 978-2-85157-566-1.
- ✚ **Bekhechi C ; Abdelouahid D. (2010).** Les huiles essentielles.
Office des publications universitaires. Alger. pp 38-49.
- ✚ **Bekkali F; Averbeck S; Averbeck D; Idaomar M. (2008).** Biological effects of essential oils.
Food and Chemical Toxicology. **46** : 446-475.
- ✚ **Belliot A. (2007).** Huile de cade, goudron de houille, ichthyol : utilisation dermatologiques et cosmétologiques.
Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Nantes. 98p.
- ✚ **Benchaara C; Henry G. (2011).** Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants.
Animal feed Science and Technology. pp96-100.
- ✚ **Benjilal B; Tantaoui-Elara A ; Ismaïli-Alaou M et Avadi A.(1986).** Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé.
Plantes médicinales et phytothérapie N°2 :155-167.
- ✚ **Benkherara S; Bordjiba O; Ali Boutlelis D. (2011).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale : *Salvia officinalis L.* sur quelques entérobactéries pathogènes .
Revue des Sciences et de la Technologie. pp 76

- ✚ **Bilerbeck V.G. (2007).** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques
Pharmacognosie. 5 : 249-253.
- ✚ **Boukhatem M.N ;Hamaidi M.S ;Saidi F ;Hakim Y. (2010).** Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie).
Revue Naturel et Technologie. 3 : 37-45.
- ✚ **Bourkhiss B ; Ouhssine M; Hnach M; Bourkhiss M; Satrani B ; Farah A .(2007).** Composition Chimique Et Bioactivité De L'huile Essentielle Des Rameaux De *Tetraclinis articulata*.
Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 146. 75-84
- ✚ **Bourrain. J.L. (2013).** Allergies aux huiles essentielles : aspects pratiques
Revue français d'allergologie 53 : 30-32
- ✚ **Burt S. (2004).** Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods.
*International Journal of Food Microbiology.94:*223-253.
- ✚ **Bruneton J. (1999).** Huiles essentielles. *Pharmacognosie. phytochimie, plantes médicinales*
Lavoisier, 3^{ème} Edition : Tec & Doc., Paris. pp 507-509, ISBN : 2-7430-0315-4.
- ✚ **Bruneton J. (2009).** *Pharmacognosie. phytochimie, plantes médicinales.*
Lavoisier, 4^{ème} Edition : Tec & Doc., Paris. pp 567-683. ISBN : 978-2-7430-1188-8
- ✚ **Couderc L. (2001).** Toxicité des huiles essentielles.
Thèse de doctorat en vétérinaire. Ecole Nationale Toulouse. 59p.
- ✚ **Couic-Marinier F ; Lobstein A. (2013).** Composition chimique des huiles essentielles.
Actualité pharmaceutiques. Elsevier.N^o525.
- ✚ **El Ajjouri M et al., (2008).** Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'œuvre.
Base [En ligne] 12 : 345-351.
- ✚ **Festy D. (2011).** Les huiles essentielles ça marche !
Edition. Leduc.s.303p.ISBN: 978-2-84899-316-4.

- ✚ **Festy D. (2012).** Je ne sais pas utiliser les huiles essentielles.
Edition. Leduc.S. pp 101-119. ISBN: 978-2-84899-558-8

- ✚ **Galsamiglia S; Busquet S. M; Cardoz P.W; Castillejos L; Ferret A. (2007).**Invited review:Essential oils as modifiers of rumen microbe fermentation.
*J.Dairy Sci.***90**: 2580-2595.

- ✚ **Girard G. (2010).**Les propriétés des huiles essentielles dans les soins buccodentaires d'hier à aujourd'hui.
Thèse de *doctorat. Université Henri Poincaré.*86p.

- ✚ **Gros R. (2009).** Techniques microbiologique : application en écologie et biotechnologie.
Laboratoire d'Ecologie Microbienne. pp : 43-62.

- ✚ **Grosjean N. (2004).** Les huiles essentielles.
Edition Eyrolles. Paris. pp115.ISBN : 978-2-212-54598-2.

- ✚ **Haberkorn V ; LardryJ.M. (2007).** L'aromathérapie et les huiles essentielles.
*Kinesther Rev.***61** : 14-17

- ✚ **Haddouchi F., Benmansour A. (2008).** Les Huiles Essentielles, Utilisation Et Activités Biologiques, Application de Deux Plantes Aromatiques.
Les technologies de laboratoire. **8**: 20-27.

- ✚ **Hilan.C; Bouaoun. D; Aoun. J; Sfeir. R; Garabeth. F. (2009).**Propriété antimicrobiennes et toxicité par détermination de la DL₅₀ de l'huile essentielle de *Prangos asperula* boissier.
*Pharmacognosie.***7**: 8-14.

- ✚ **Kaloustian. J; Hadji-Minaglou .F. (2012).** La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie. Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée.
Phytothérapie pratique. 4^{eme} Edition. Paris. pp. 2. ISBN : 978-2-8178-0308-1.

- ✚ **Kanko C; Sawaliho B.E; Kone S; Koukoua G; Guessan Y.T. (2004).**Etude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippiamultiflora*, *Cymbopogon citrates*, *Cymbopogonnardus*, *Cymbopogongiganteus*.
C.R.Chimie. **7** : 1039-1042

- ✚ **Kheyar N; Meridja D; Belhamel K. (2014).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscose*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia.
Algerian journal of Natural Products. **2**: 18-26.
- ✚ **Lee K.W; Everts H; Beynen A.C. (2004).** Essential oils in broiler nutrition.
International Journal of Science. **3(12)** : 738-752.
- ✚ **Lomba M. (2010).** Antibiogrammes-
Rapport d'activité et résultats de l'ARSIA. 3^{ème} Edition. pp :6-7.
- ✚ **Miguel G et al.,(2004).** Composition and antioxidant activities of the essential oils of *Thymus caespitosus*, *Thymus camphoratus* and *Thymus mastichina*.
Food Chemistry **86**:183–188
- ✚ **Nguyen D.M (1983).** *des plantes médicinales à propriétés antibactériennes*.
La Revue française de Médecine traditionnelle Chinoise. pp303-312.
- ✚ **Panizzi L ; Flamini G ; Cionl P.L ; Morelli. I. (1993).** Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae.
Journal Ethnopharmacol **39**: 167-170.
- ✚ **Pibiri M.C. (2005).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles.
Thèse de doctorat en science. Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne. Suisse. 161p.
- ✚ **Satrani B et al.,(2007).** Composition Chimique et Activité Antimicrobienne de L'huile Essentielle de *Cladanthus Mixtus*
Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. **146**:85-96
- ✚ **Savius P. (2008).** Bulletin de la société de toxicologie clinique.
Grenoble : Infotox international. pp2.
- ✚ **Séverine D ; Patricia L.F ; Julien S. (2013).** Intérêt des huiles essentielles dans les angines à *Streptococcus pyogenes*.
Actualités pharmaceutiques n° 530: 46-50.
- ✚ **Service cantonaux des produits chimiques. (2009).** Classification, étiquetage et emballage des huiles essentielles selon la législation chimique.
Chemsuisse. **3** : 1-19.

- ✚ **SkalliS;Chebat A; Badrane N; SoulaymaniBencheikh R. (2014).** Side effects of Cade oil Morocco: An analysis of reports in the Moroccan herbal products database from 2004 to 2012.
Food and Chemical Toxicology.**64**: 81-85.

- ✚ **Teuscher E ; Anton R ; Lobstein A. (2005).** Plantes aromatiques.
Edition Tec&Doc, Lavoisier. Paris : 19pp, 154pp. ISBN : 2-7430-0720-6.

- ✚ **Ultee A; BennikMH;Moezelaar R. (2002).**The phenol hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*.
Appl. Environ.Microbiol. **68**: 1561-1568.

- ✚ **Valnet J. (1984).** Aromathérapie. Edition. Maloine. Paris. ISBN : 2224009526, 9752224009526.

- ✚ **Zhiri A. (2006).** Les huiles essentielles à pouvoir antibactérien avéré.
Nutra News. (édité par la fondation pour le libre choix). 16p.

- ✚ **Zhiri A et al., (2010).** Evaluation de l'activité bactéricide et bactériostatique des huiles essentielles vis-à-vis des souches d'origine clinique résistantes aux antibiotiques. Congrès Francophone de Phytothérapie au Liban, 20-25 juin.

Annexes

Annexe1**Composition des milieux de culture et réactifs**

Bouillon nutritif (g/l d'eau distillée)

Macération de viande.....	01
Peptone de viande.....	15
NaCl	05

Ph=7,7

Gélose nutritive (g/l)

Bio- Gelytone.....	05
Extrait de viande de bœuf.....	03
Chlorure de sodium.....	08
Agar.....	15

Ph=7,3

Milieu de Muller-Hinton (g/l)

Infusion de viande de bœuf.....	300
Hydrolysate de caséine.....	17,5
Amidon.....	1,5
Gélose.....	17

Ph=7,3

Héktoen (g/l)

Protéase peptone.....	12
Extrait de levure.....	03

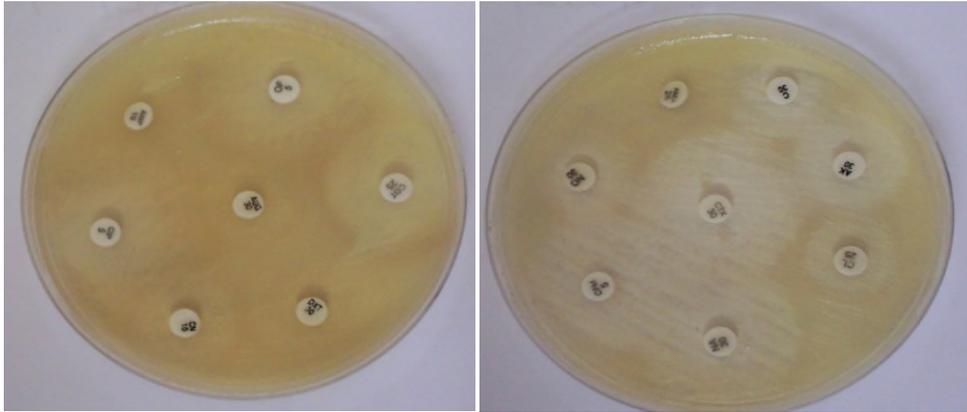
Chlorure de sodium.....	05ml
Thiosulfate de sodium.....	05ml
Sels biliaires.....	09
Citrate de fer ammoniacal.....	1,5
Salicine.....	02
Lactose.....	12
Saccharose.....	12
Fuchsine acide.....	0,1
Bleu de bromothymol.....	0,065
Agar.....	14

Ph=7,5

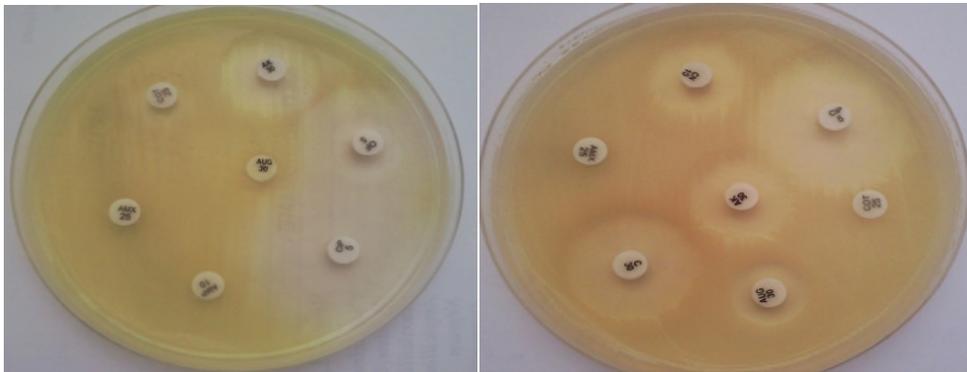
Réactif de Kovacs

Alcool amylique isoamylique.....	150ml
Pradiméthylaminobenzaldehyde.....	10
Acide chlorhydrique concentré.....	50ml

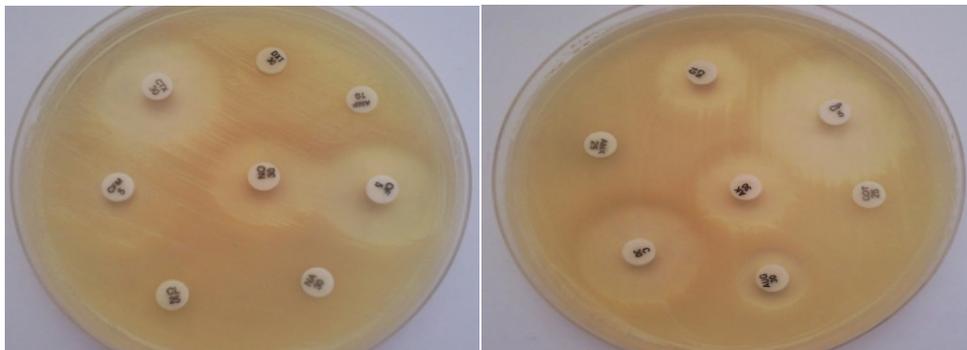
Annexe 2



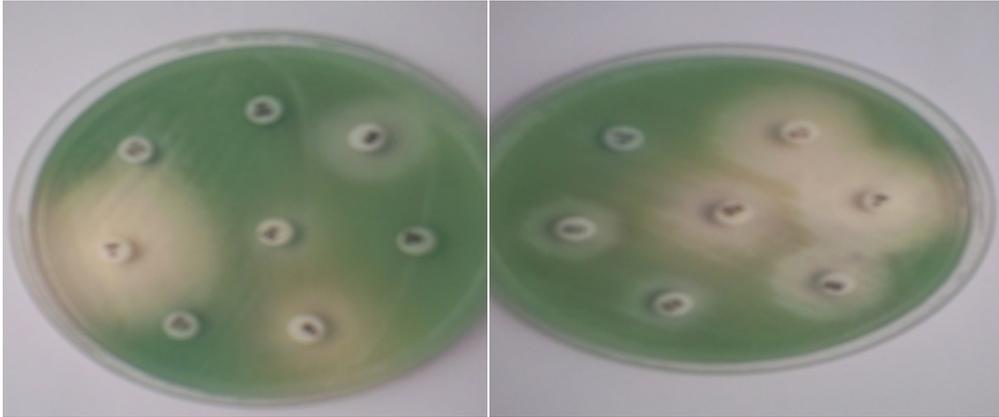
P.mirabilis (code 14482)



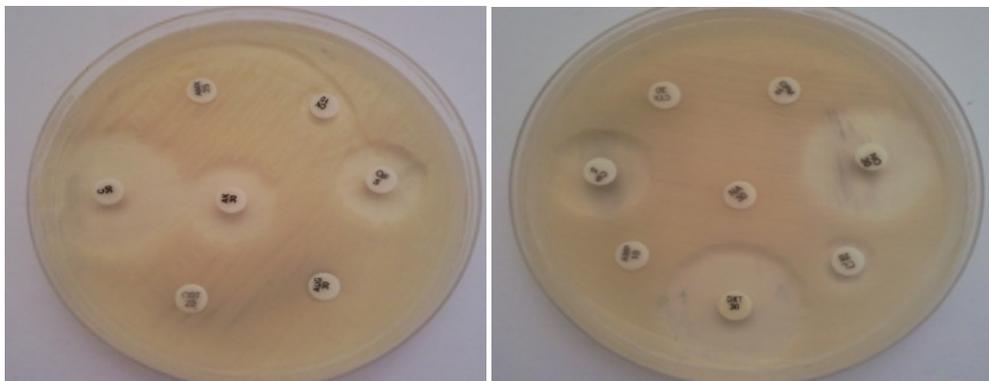
P.aeruginosa (code 15001)



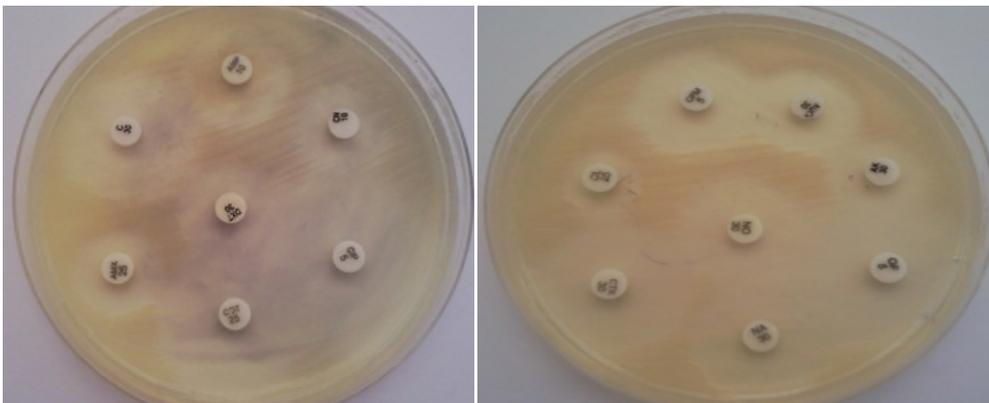
K.pneumoniae(code14903)



P. aeruginosa (code 14823)



E. Coli (code 14914)



E. Coli (code 14939)



S. aureus (code 14112)

Figure 7: l'antibiogramme de quelque souche isolée

Galerie AP10E



E coli (code 14914)

	H ₂ S	Uréase	Indole	Citrate
<i>E.coli</i> (14914)	-	-	+	-



P. mirabilis (14482)

	H ₂ S	Uréase	Indole	Citrate
<i>P.mirabilis</i> (14482)	+	+	+	+

Figure 8 : exemple de résultat d'indentification par la galerie AP10E

Annexe 3

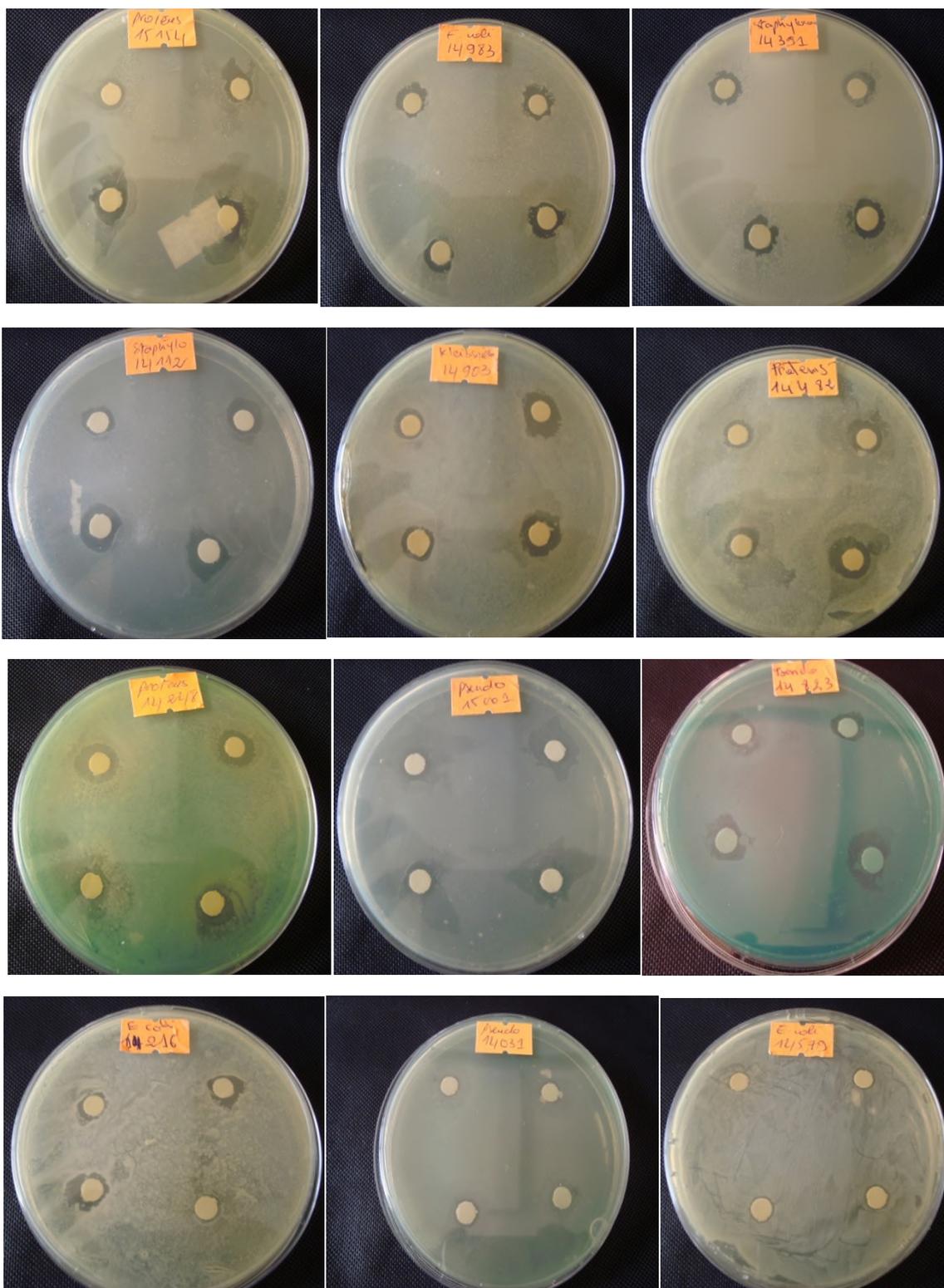


Figure 9 :les résultats de huile de cade /DMSO sur le milieu solide

Annexe 4

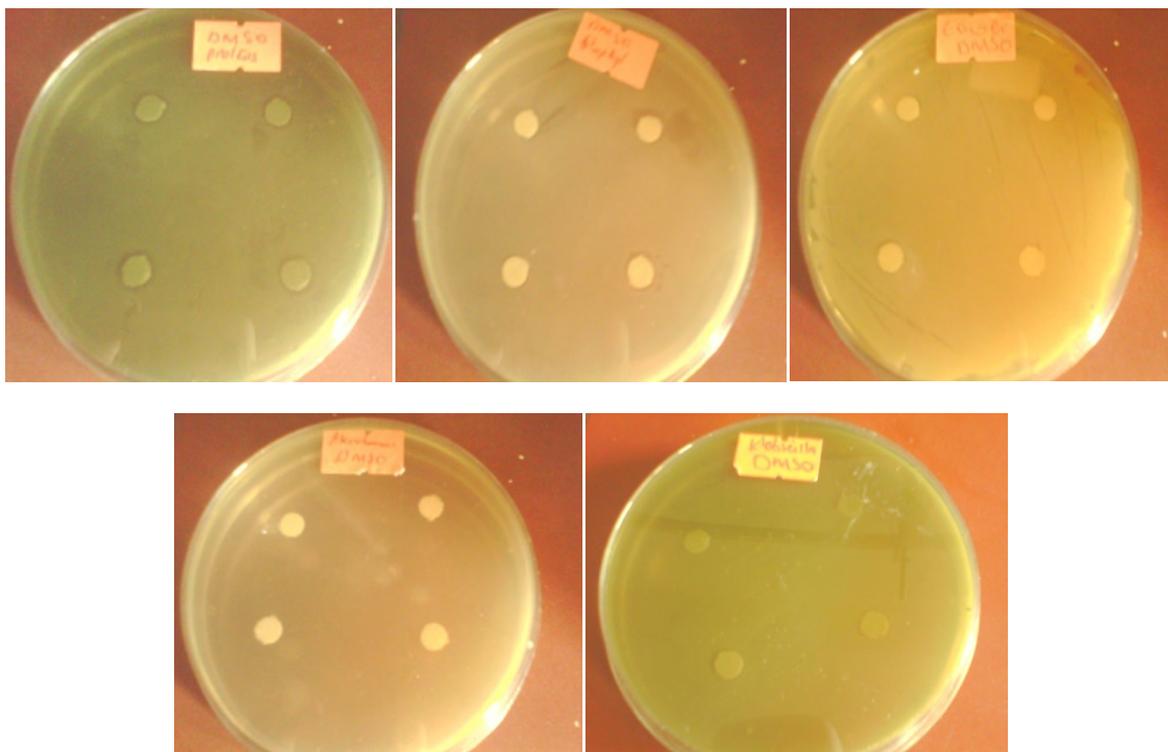


Figure10 : les résultats de DMSO sur le milieu solide

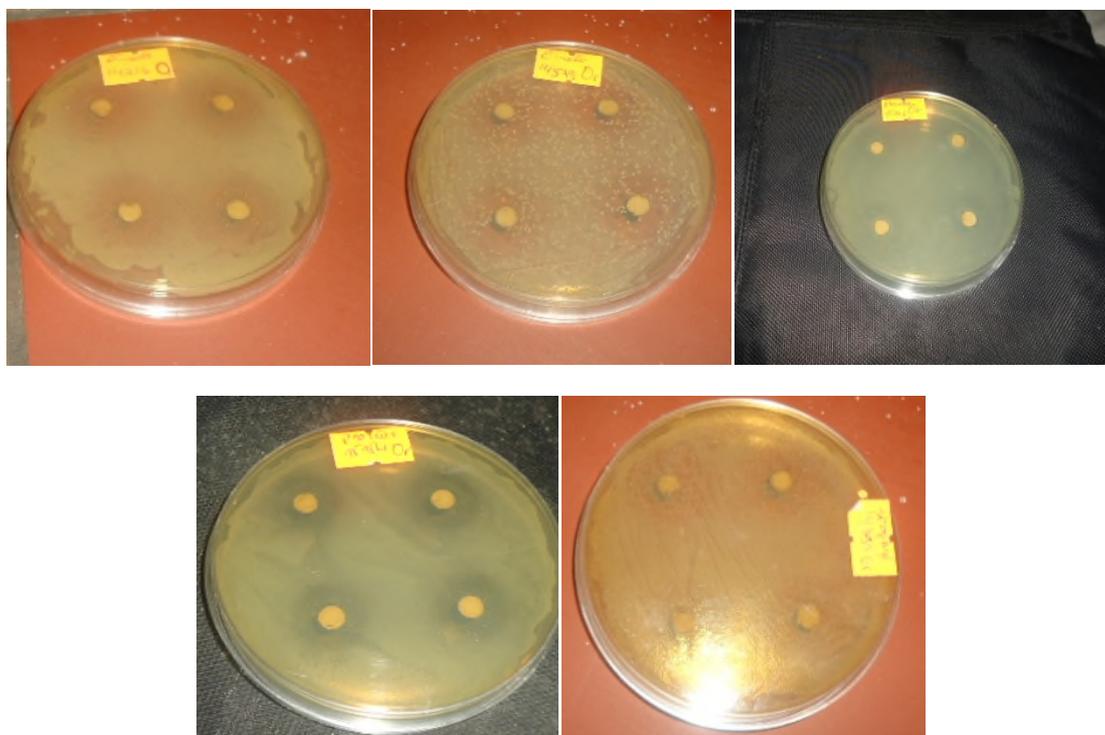


Figure 11 : les résultats d'huile d'origan sur le milieu solide de quelque souche

Annexe 5

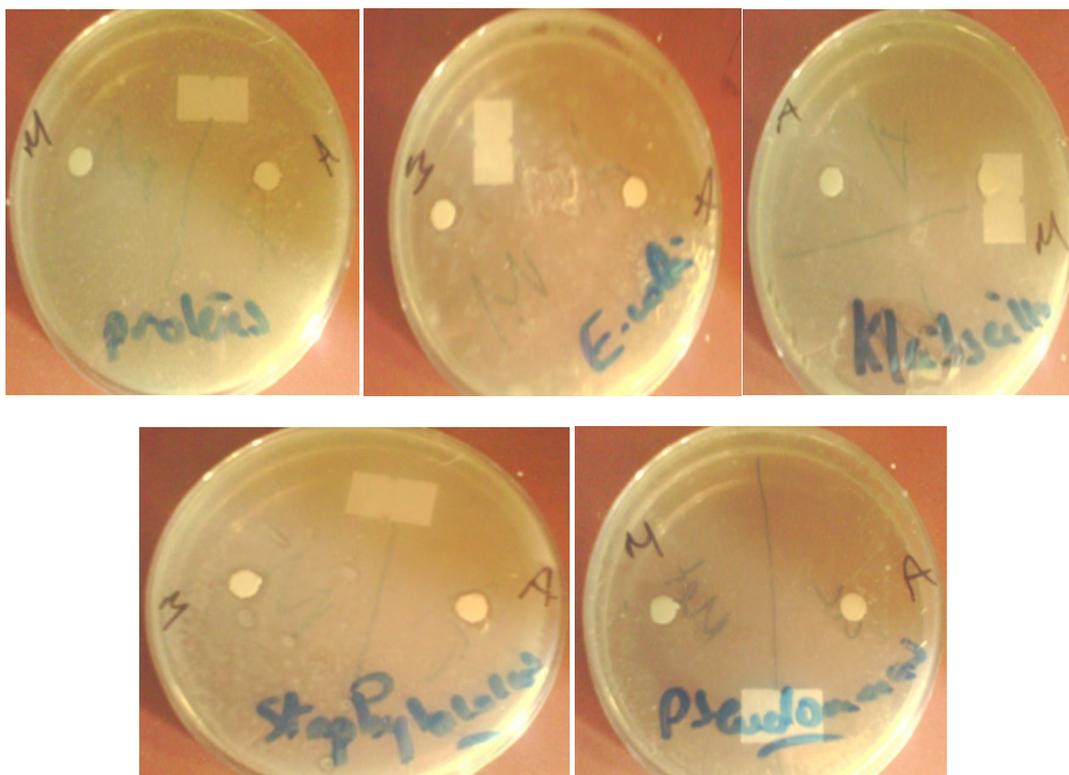


Figure 12: les résultats d'Acétone /Méthanol sur le milieu solide

Résumé

Une très mauvaise gestion de l'antibiothérapie a amené chez les microbes une antibio-résistance généralisée, qui nous a ramené presque à la période d'avant la pénicilline. Dans la recherche de nouvelles molécules pharmaceutiques, les végétaux occupent une place de choix mais certaines plantes sont toujours laissées de côté, comme l'huile de cade et son essence, malgré un potentiel digne d'intérêt.

Des microorganismes pathogènes, isolés en laboratoire médical, ont été soumis à un antibiogramme classique et à un aromatogramme de l'huile essentielle de cade, extrait largement utilisé il n'y a pas encore longtemps. Un essai de détermination des CMI a montré que cette huile essentielle possède un réel pouvoir antiseptique, comparable, dans certains cas, à celui d'huiles de référence comme celle du thym ou de l'origan.

Mots clé : Microorganismes pathogènes, antibiogramme classique, aromatogramme, l'huile essentielle de cade, CMI, antiseptique.

Abstract

Very poor management of antibiotics has led to widespread microbial antibiotic resistance, which has brought us almost to the period before penicillin. In the search for new pharmaceutical molecules, plants occupy a prominent place but certain plants are always left out, as cade oil and its essential oil, despite the potential of interest.

Pathogenic microorganisms, isolated from medical laboratory, were subjected to conventional antibiotic susceptibility and cade essential oil aromatogramme; extract widely used there is not much longer. A test to determine MICs showed that the essential oil has antiseptic real power, comparable in some cases to that of the reference essential oils such as thyme or oregano.

Keywords: Pathogenic microorganisms, antibiotic susceptibility, aromatogramme, cade essential oil, MIC, antiseptic.

Résumé

Une très mauvaise gestion de l'antibiothérapie a amené chez les microbes une antibio-résistance généralisée, qui nous a ramené presque à la période d'avant la pénicilline. Dans la recherche de nouvelles molécules pharmaceutiques, les végétaux occupent une place de choix mais certaines plantes sont toujours laissées de côté, comme l'huile de cade et son essence, malgré un potentiel digne d'intérêt.

Des microorganismes pathogènes, isolés en laboratoire médical, ont été soumis à un antibiogramme classique et à un aromatoigramme de l'huile essentielle de cade, extrait largement utilisé il n'y a pas encore longtemps. Un essai de détermination des CMI a montré que cette huile essentielle possède un réel pouvoir antiseptique, comparable, dans certains cas, à celui d'huiles de référence comme celle du thym ou de l'origan.

Mots clé : Microorganismes pathogènes, antibiogramme classique, aromatoigramme, l'huile essentielle de cade, CMI, antiseptique.

Abstract

Very poor management of antibiotics has led to widespread microbial antibiotic resistance, which has brought us almost to the period before penicillin. In the search for new pharmaceutical molecules, plants occupy a prominent place but certain plants are always left out, as cade oil and its essential oil, despite the potential of interest.

Pathogenic microorganisms, isolated from medical laboratory, were subjected to conventional antibiotic susceptibility and cade essential oil aromatoigramme; extract widely used there is not much longer. A test to determine MICs showed that the essential oil has antiseptic real power, comparable in some cases to that of the reference essential oils such as thyme or oregano.

Keywords: Pathogenic microorganisms, antibiotic susceptibility, aromatoigramme, cade essential oil, MIC, antiseptic.