



## Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testées.

Jalila El amri, Khalid Elbadaoui<sup>1</sup>, Touria Zair<sup>2</sup>, Hayate bouharb<sup>1</sup>, Saïd chakir<sup>1</sup>, Taj Imolk Alaoui<sup>1</sup>

<sup>1</sup> : laboratoire de l'Environnement et santé, Faculté des Sciences, Université Moulay Ismail, BP 11201 Zitoune, Meknès, Maroc.

<sup>2</sup> : laboratoire de Chimie des Molécules Bioactives et l'Environnement, Faculté des Sciences, Université Moulay Ismail, BP 11201 Zitoune, Meknès, Maroc

Email : [jalilaelamri@yahoo.fr](mailto:jalilaelamri@yahoo.fr) [khalidelbadaoui@gmail.com](mailto:khalidelbadaoui@gmail.com)

Original submitted in on 31<sup>st</sup> July 2014. Published online at [www.m.elewa.org](http://www.m.elewa.org) on 3rd November 2014. <http://dx.doi.org/10.4314/jab.v82i1.16>

### RÉSUMÉ

**Objectif :** Évaluer in vitro l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et l'extrait de *Teucrium capitatum* L (Tighircht) et de l'extrait de la plante *Silène vulgaris* (Ikhiyata) de la région d'elhajeb (Maroc central) sur les différentes souches testées : *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aereginosa*. Le choix de ces souches bactériennes c'était pour deux raisons :

\_ Leur large impact pathologique dû à leur pouvoir pathogène en relation avec des problèmes plus généraux de résistance aux antibiotiques habituels

\_ Une étude ethnobotanique qui a montré l'utilisation de deux plantes par la population d'el hajeb (Maroc central)-dans le cadre de la médecine traditionnelle - comme remède pour plusieurs pathologies causé par ces souches.

**Méthodologies et Résultats :** La méthode de diffusion en milieu solide et la macrométhode de dilution en milieu liquide de l'extrait actif ont été utilisées pour les tests antibactériens. Nos résultats ont montrés un effet inhibiteur très important contre *Staphylococcus aureus méti Set méti R (gram+)*, tandis que les autres n'ont pas des activités microbiennes (gram-). La plus forte activité a été obtenue vis-à-vis de *staphylocoque aureus méti S* avec une concentration minimale inhibitrice de 15,87 ul/ml. Des tests comparatifs de l'activité ont été réalisés avec des différents disques d'antibiotiques.

**Conclusion et Application :** Les activités antibactériennes sont confirmées. En effet, elle est bactéricide contre les staphylocoques méti S et bactériostatique contre les staphylocoques méti R. Les résultats des tests de comparaison des diamètres d'inhibition de l'huile essentielle des feuilles de *Tencrium capitatum* L à ceux des disques de pénicilline et de gentamicine a provoqué une inhibition supérieure. Les valeurs de la CMI, de la CMB et des diamètres d'inhibition des tests de comparaison montrent que les souches de *Staphylococcus* testées sont très sensibles à l'essence de *Teucrium capitatum* L. Cette étude permet, encore une fois, la mise en valeur de l'exploitation des huiles essentielles dans les domaines, pharmaceutique et médicales.

**Mots clé :** plante médicinale, huile essentiel, extrait, *Staphylococcus aureus*, *Tencruim capitatum* L, activité antimicrobienne

## Study the antibacterial activity of essential oils *Teucrium capitatum* L and *Silene vulgaris* extract on different strains tested

### Abstract:

**Objective:** To assess the *in vitro* antibacterial activity of the essential oil and extracted of the *Teucrium capitatum* L (Ikhiyata) and extracted from the *Silene vulgaris* (tirighcht) plant from Elhajeb region (central Morocco) on different tested roots: *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, and *Pseudomonas aureginosa*.

**Methodologies and Results:** The method of diffusion in solid and macro method of dilution in liquid medium from active extract were used for antibacterial testing. This study results have shown an inhibiting effect which is very important against *Staphylococcus aureus* meti S et meti R (gram +), while the others do not have a microbial activity (gram-). The strongest activity was obtained vis-à-vis the *Staphylococcus aureus* meti S with a minimal inhibiting concentration of 15.87 ul / ml. Comparative tests of activity were carried out with different antibiotic disks.



**Conclusion and Application:** the Antibacterial activities are confirmed. In fact, it is bactericidal against the meti S staphylococcus and bacteriostatic against meti R staphylococcus. Test results of comparison tests of inhibiting diameter of the essential oil of plants of the *Tencrium capitatum* L with those of penicillin disks and gentamicin has caused a superior inhibition. The CMI and the CMB values and inhibiting diameters of the comparison tests show that the roots of the tested of *Staphylococcus* are very sensitive to the essence of *teucrium capitatum* L. This study allows, again the development of the exploitation of the extracted oil in the pharmacologic and medical domains.

**Keywords:** Medicinal plant, Essential oil, extracted, *Staphylococcus aureus*, *Teucrium capitatum* L, antimicrobial activity

## INTRODUCTION

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine. On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (Schauenberg et Paris, 2006). Les plantes aromatiques sont utilisées comme tous les végétaux en médecine, en parfumerie, en cosmétique et pour l'aromatization culinaire. Elles font partie de notre quotidien sans que nous le sachions. Il reste difficile de définir les molécules responsables de l'action, bien que certains effets pharmacologiques prouvés sur l'animal aient été attribués à des composés tels que les alcaloïdes des

terpènes, stéroïdes et des composés polyphénoliques (Potterat et Hostettmann, 1995). D'après l'analyse statistique d'une étude ethnobotanique dans la région d'el hajeb, nous sommes réussies à identifier les différentes manières d'utilisation et de bien comprendre la relation étroite qui existe entre les espèces végétales décrites dans ladite région et les différents types de maladies affectant l'être humain. Cette étude a révélé que les dermatoses présentent la pathologie la plus fréquente et que deux plantes -*Teucrium capitatum* L et la silène vulgaris parmi 8 espèces- ont été choisis pour déterminer leur pouvoir pathogène. Le tableau 1 : plantes étudiées et leur utilisation par la population locale du Maroc central de la région d'el hajeb lors d'une étude ethnobotanique

Nom scientifique	Taxonomie	Nom vernaculaire	Utilisation traditionnelle	photo
<b><i>Silene vulgaris</i></b>	Ordre : Caryophyllales Famille : Caryophyllaceae Genre : <i>Silene</i>  Sous-espèce : <i>Silene vulgaris</i>	Tighircht	lessive, mycoses- antalgiques, antiinflammatoire	
<b><i>Teucrium capitatum</i> L</b>	Ordre : Lamiales Famille : Lamiaceae Genre : <i>Teucrium</i> Sous-espèce : <i>Teucrium capitatum</i> subsp. <i>capitatum</i>	Lkhiyata	Furoncle, cicatrisant- antalgiques, maladies du tube digestif, gastro entérites, antiinflammatoire	

**La résistance des microorganismes aux antibiotiques :** Depuis leur découverte au début du XXème siècle, les antibiotiques ont permis de grandes avancées en thérapeutique et contribué à l'essor de la médecine moderne. L'introduction et l'utilisation en clinique des premières classes d'antibiotiques ont considérablement réduit la mortalité imputable à des maladies autrefois incurables. L'efficacité de l'antibiothérapie dans le contrôle et la limitation de la dissémination des agents pathogènes a ainsi fait naître l'espoir de pouvoir éradiquer l'ensemble des maladies infectieuses. Malheureusement, l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques a mis un terme à cette vague d'optimisme. La montée des résistances est due à la prescription immodérée et souvent inappropriée des antibiotiques. Administrés à titre curatif ou préventif, les antibiotiques favorisent l'élimination des bactéries sensibles et la sélection des plus résistantes. Ce phénomène de résistance aux antibiotiques est général et concerne toutes les espèces bactériennes. Des bactéries résistantes aux diverses classes d'antibiotiques disponibles sur le marché ont, en effet, été identifiées. Certains pneumocoques (*Streptococcus pneumoniae*), responsables de pneumopathies, de méningites et

d'otites, sont devenus résistants à la pénicilline. De même, de nombreuses souches de staphylocoques dorés (*Staphylococcus aureus*), à l'origine d'abcès ou de septicémies, sont devenues multi-résistantes. Elles sont insensibles à plusieurs antibiotiques, y compris à la vancomycine, qui était, encore très récemment, utilisée comme le médicament du dernier recours. La situation est identique pour les entérocoques (*Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*), des bactéries présentes normalement dans l'intestin, qui peuvent aussi causer de graves endocardites et septicémies. La prolifération de bactéries résistantes est devenue une préoccupation majeure dans le domaine de la santé. En devenant insensibles à tout traitement, ces bactéries limitent la gamme d'antibiotiques disponibles en thérapeutique médicale. La situation est d'autant plus alarmante que les infections causées par les bactéries résistantes entraînent souvent une prolongation de l'état pathologique et un accroissement du taux de mortalité. L'acquisition de ces multiples résistances a engendré une perte d'efficacité de l'antibiothérapie pour, finalement, conduire à une impasse thérapeutique. Aussi, au vu de la propagation du phénomène de résistance et du nombre limité d'antibiotiques en cours de développement, la

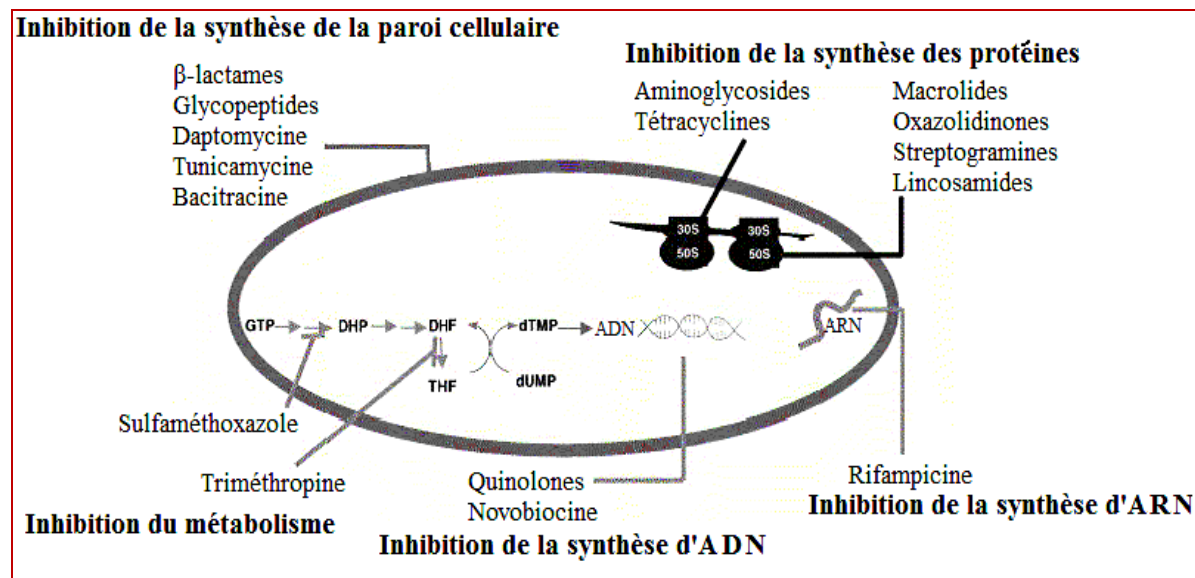
découverte de nouveaux agents antibactériens, est devenue plus qu'indispensable. Pour être innovants et contourner les mécanismes de résistance bactériens, les antibiotiques de demain devront viser de nouvelles « cibles » d'action chez les bactéries. Les pistes de recherche sont nombreuses mais l'exploration des ressources naturelles apparaît comme des plus prometteuses car celles-ci constituent, de par leur biodiversité, la plus grande réserve de substances actives.

### 1. Les cibles bactériennes des antibiotiques :

a. **Le mode d'action antimicrobienne des huiles essentielles :** Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut

induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K<sup>+</sup>) : ce mécanisme a été observé avec l'huile de l'arbre à thé sur les bactéries Gram+ (*Staphylococcus aureus*) et Gram - (*E. coli*) et levure (*Candida albicans*) in vitro. Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP. Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée. Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides.

**Le mode d'action des huiles essentielles dépend aussi du type de microorganismes :** En général, les bactéries Gram - sont plus résistantes que les Gram + grâce à la structure de leur membrane externe. Les cibles des antibiotiques sont impliquées dans les fonctions physiologiques ou métaboliques de la bactérie (fig. 1).



**Figure 1 :** Mode d'action des antibiotiques (Singh et Barrett, 2006)  
Avec DHP : dihydroptéroate ; DHF : dihydrofolate ; THF : tétrahydrofolate

**Choix des plantes :** Après une enquête ethnobotanique dans la région d'El hajeb, on a

trouvés comme résultat, que Les dermatoses présentent la pathologie la plus fréquente, et qui on

a ressorti 8 espèces qui les traitent, on trouve, en premier lieu, l'espèce *plantago psyllium* avec un pourcentage de 25.17%, suivie de l'espèce *Corrigiol telephifolia* 14.42%, *Euphorbia helioscopia* 13.13%, *Rosmarinus officinalis* 13.10%, *Nerium oleander* 12.15%, *Solanum sodomeum*.L 8%, *Tencrium capitatum*.L 7.33%, et *Silène vulgaris* 6.7%. On a choisi les plantes *Tencrium capitatum* L et *Silène*

*vulgaris* pour étudier leur activité microbienne car elles sont très abondantes dans les régions et qui sont les moins connus par la population, tandis que les autres plantes ne sont pas abondantes mais très connues que ces derniers. Malgré leur utilisation par la population, cela n'a pas pu diminuer la maladie de dermatose qui est la plus fréquente dans la région.

**Tableau 1** : les plantes étudiées et leurs utilisations par la population locale de la région d'el hajeb lors d'une enquête ethnobotanique

Famille	Nom scientifique	Nom vernaculaire	Utilisation par la population	Abondance
Caryophyllacées	<i>Silene vulgaris</i>	Tighircht	-lessive, mycoses.- dermatoses	Oui
lamiacées	<i>Tencrium capitatum</i> L	Lkhiyata	Furuncle, cicatrisant	Oui

**Choix des germes** : Le staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) est la souche de staphylocoque la plus fréquemment rencontrée en pathologie humaine et vétérinaire et la majorité des souches sont aujourd'hui multirésistantes aux antibiotiques, ainsi que notre enquête a donné comme résultat que les dermatoses présentent la maladie la plus fréquente et que les infections cutanées provoquées par le staphylocoque doré peuvent prendre de multiples formes : furoncles, folliculites, panaris, impétigo, abcès mammaires chez les femmes qui allaitent. Les infections des muqueuses sont également fréquentes et peuvent atteindre les yeux (conjonctivites), les oreilles (otites), la sphère génitale (endométrite, salpingite) ou les voies respiratoires (pneumonies, pleurésies). Toutes ces infections cutanéomuqueuses sont susceptibles de se compliquer et d'aboutir à des septicémies. L'évolution peut, alors, être fulminante, aiguë et associée à des localisations secondaires multiples et variées (valves cardiaques, os, articulations, rein, cerveau). Les autres souches sont utilisées, aussi, pour tester s'il s'agit d'une activité microbienne ou non. Les souches testées sont données par le laboratoire de l'hôpital Mohammed V à Meknès. Le *Staphylococcus aureus* est une

bactérie pyogène. Son caractère ubiquitaire, sa virulence et sa remarquable capacité de survie dans un environnement défavorable ou même hostile expliquent sa grande fréquence en pathologie communautaire et nosocomiale. *S. aureus* est responsable d'une grande variété d'affections de gravité variable parfois bénignes comme les infections cutanées et muqueuses ou sévères comme l'endocardite et la septicémie. Bien qu'il soit virulent, *S. aureus* n'infecte pas forcément son hôte mais le colonise (Duval J. 1988). La prévalence des infections staphylococciques, nosocomiales et communautaires augmente de façon régulière. Le traitement de ces infections est devenu de plus en plus difficile à cause de l'émergence des souches multirésistantes, phénomène observé aussi bien à l'hôpital qu'en ville. Les souches de *S. aureus* de phénotype sauvage sont sensibles aux pénicillines (pénicilline G, pénicillines M, pénicillines A), à la céfalotine, à la céfoxitine, au latamoxef, au céfotaxime, aux macrolides, lincosamides et streptogramines, aux aminosides, aux tétracyclines, aux fluoroquinolones, au chloramphénicol, aux rifamycines, aux sulfamides et au triméthoprime, à l'acide fusidique, à la fosfomycine et aux glycopeptides. *S. aureus* a une résistance naturelle à

l'acide nalidixique, aux polymyxines, à l'aztréonam et aux 5-nitro-imidazolés (Berche P1988) ; Duval *et al.* 2002, Fleurette J, 1989, Mougeot *et al.* ,2001 ; Philippon *et al.* 1993, Quentin *et al.* 2001; Simonet M 1988; Soussy C-J 1985). Dès 1950, après la découverte de la pénicilline, les *S. aureus* deviennent un problème thérapeutique majeur par l'acquisition de la résistance plasmidique à la pénicilline. Peu après l'introduction d'un nouvel antibiotique, la méticilline (découverte en 1959), apparaissent des souches de *S. aureus* résistantes

appelées *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM). En fait les SARM, sont non seulement résistants à la méticilline mais également à tous les autres antibiotiques de la même classe. *S. aureus* est devenu l'une des premières causes des infections nosocomiales dans les hôpitaux du monde entier. Fauchere *et al.* ont rapporté que 10 à 50 % de souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans les hôpitaux résistent à la méticilline. (Fauchère *et al.* 2001).

#### MATERIEL ET MÉTHODES :

**Préparation de l'huile essentiel de teucrium capitatum L et l'extrait aqueux et ethanoliqes de Silène vulgaris**

##### EXTRACTION

**Pour la plante teucrium capitatum L :** L'extraction de l'huile essentiel a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger, 100g de poudre du matériel végétal avec 500ml d'eau a été distillé pendant 3 heures. Les huiles essentielles moins denses que l'eau surnagent à la surface. Le rendement a été déterminé pour chaque plante. Elles ont été recueillies et conservées au réfrigérateur à 4 °C dans des bouteilles sombres afin de les préserver de la lumière et de la chaleur.

**Pour les extraits de deux plantes : Teucrium capitatum et Silène vulgaris :**

➤ **Extraction ethanolique :** 100g de poudre est macérée 24 heures dans l'éthanol absolu à l'ombre, sous agitation magnétique. Après filtration, le solvant est évaporé à sec et sous vide au Rotavapor à 60°C. Les résidus obtenus sont conservés au froid jusqu'à la réalisation des tests antibactériens.

➤ **Extraction aqueuse :** 100g de poudre est extraite par chaleur à reflet pendant 2heures dans l'eau, après filtration et évaporation au Rotavapor à 60°C, le résidu obtenu est conservé jusqu'à l'utilisation

**Préparation de l'inoculum :** On a prélevé, à l'aide d'une oese, une colonie des souches testées. Puis, on a traversé le contenu de l'oese dans un tube contenant 2.5ml d'eau physiologique stérile : les colonies sont émulsionnées sur le bord du tube en dehors de l'eau puis peu à peu dans le liquide. Ensuite on a agité vigoureusement, une culture bactérienne fraîche est préparée et incubé pendant 18H-24H à 37°C.

**Milieu de culture :** Milieu de Muller Hinton pour les entérobactéries, pseudomonas et le milieu Chapman pour les staphylocoques.

#### Méthodes de détermination de l'activité microbienne

##### ➤ Critères de sélection des souches

Le choix des souches est basé sur plusieurs paramètres :

- Les souches sont d'origine hospitalière,
- pour leurs fréquences élevées à contaminer les gens au sein de l'hôpital V à Meknès
- les souches sont choisies pour leur résistance naturelle à divers types d'agents antimicrobiens surtout staphylocoques aureus (*S. aureus* est souvent retenu comme bactérie-test)

##### ➤ Souches bactérienne

Six souches bactériennes ont été utilisées dans notre travail. Des bactéries Gram-positif (G+): *S. aureus* et des bactéries Gram-négatif (G-): *Escherichia. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

*Proteus mirabilis*, *Pseudomonas putida*. Ces souches bactériennes ont été isolées cliniquement au laboratoire de l'hôpital med V

##### ➤ Confirmation des souches

Pour chacune des souches un pré-enrichissement a été effectué sur le milieu d'isolement sélectif puis une coloration de Gram a été réalisée selon le modèle suivant :

- Préparer un frotti ;
- recouvrir le frotti avec de violet de Gentiane ; laisser agir 1mn ; rincer à l'eau distillée ;
- verser du Lugol et le laisser agir pendant 1 mn ;
- décolorer à l'alcool à 95°, entre 15 et 30 secondes ; rincer à l'eau distillée ;
- fixation avec de la fuchsine pendant 10 à 30 secondes ; rincer à l'eau distillée ; - sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen ;
- observation au microscope optique à l'objectif x 100 à immersion, les Gram+ se colorent en violet tandis que les Gram- apparaissent colorés en rose.



**Aromatogramme** : C'est une méthode de mesure in vitro du pouvoir antibactérien des huiles essentielles chémotypées. Différents types d'aromatogrammes, en milieu solide, liquide, sont exploitables. Cependant, en pratique quotidienne, c'est le milieu solide qui est le plus simple et le plus facilement reproductible (PIBIRI ; 2005). Placés dans une étuve à 37,5 °C, dans des conditions optimales de culture, les germes pathogènes se développent rapidement sur le milieu nutritif. Sur ces colonies microbiennes, plusieurs séries (6 à 8 par boîte) de petits disques de papier buvard imprégné de différentes huiles essentielles à tester sont ensuite disposées. Après un temps de latence à 37,5 °C, le diamètre du halo d'inhibition entourant les disques est alors mesuré. Chaque halo, une zone claire montre la destruction des germes pathogènes et donne une indication précise de l'activité antibactérienne des huiles utilisées. L'aromatogramme représente cependant un point de repère essentiel puisque sa technique est identique à celle utilisée pour mesurer l'activité bactéricide des antibiotiques (ZHIRI ; 2006).

○ **Préparation de la suspension bactérienne** : Une colonie bien isolée issue d'une culture de 18-24 H a été introduite dans 5 ml d'eau physiologique contenue dans un tube à essai.

○ **Ensemencement** : Ensemencement avec la coton tige l'inoculum

○ **Imprégnation des disques** : Les disques blancs de 6 mm de diamètre ont été imprégnés de 5, 10 et 15 ul de la solution d'essai préparé. Les disques ont été placés dans des boîtes de pétri sur lesquelles ont été séchés.

➤ **La méthode de dilutions ou méthode de Kirby-Bauer 1960/**

## RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

**Teneur et propriétés organoleptiques** : L'huile essentielle de couleur jaune rougeâtre, d'odeur aromatique âcre et de saveur fortement piquante, a un rendement de 2 %. Ce rendement en huile obtenue à partir des feuilles, est considéré comme important par rapport à celui donné par Dob et al. (2006), obtenu à partir des tiges et des feuilles (0.9%).

La méthode de dilution consiste à préparer une série de tubes de bouillon Mueller-Hinton contenant des concentrations d'huile essentielle variant de 0,25!g/ml à 20!g/ml et on inocule avec une population de l'organisme à tester.

**Mesure de l'activité** : La macrométhode de dilution en milieu liquide est utilisée pour déterminer les paramètres de l'inhibition de la croissance bactérienne (**CMI, CMB**), des extraits actifs.

**Concentration minimale inhibitrice (CMI)** : On procède à une dilution successive par progression les dilutions suivantes 1/2, 1/4 1/8, 1/16, 1/32, 1/50, 1/64, 1/80, 1/128, (Oussou et al/2004),. Du fait de la non miscibilité des H.E. à l'eau et donc au milieu de culture, la mise en émulsion a été réalisée grâce à une solution d'agar à 0,2 % afin de favoriser le contact germe/composé.

**Concentration minimale bactéricide(CMB)** : La gélose nutritive coulée dans des boîtes de pétri est ensemencée en stries par 100ul des contenus des tubes ayant une concentration  $\geq$  CMI dans la série de dilution précédente. La CMB est déterminée après une incubation de 24 heures à 37°C. C'est la plus petite concentration qui inhibe totalement la croissance. L'effet antibactérien a été jugé bactéricide ou bactériostatique en fonction du rapport : CMB/CMI .En effet, si CMB/CMI = 1 à 2, l'effet est bactéricide et si CMB/CMI = 4 à 16, l'effet est bactériostatique (Berche et al, 1991).

**Etude comparée de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des feuilles de *Teucrium capitatum* L avec celle des antibiotiques contre les staphylocoques aureus** : -La méthode utilisée est celle de l'antibiogramme par diffusion.

- l'huile essentielle des feuilles de *Teucrium capitatum* L. Nous avons comparé les diamètres des zones d'inhibition

**Choix des germes** :

➤ La coloration de gram et observation électronique :

Les résultats microscopiques de la coloration du gram nous données le tableau suivant :

**Tableau1** : La coloration de gram et observation microscopiques

Souches	Milieu de culture	Gram	Morphologie microscopique
<b>S. aureus</b>	Gélose Chapman	+	coccies
<b>Pseudomonas aureginosa</b>	CLED	-	Bacilles
<b>Pseudomonas putida</b>	CLED	-	Bacilles
<b>Proteus mirabilis</b>	CLED	-	Bacilles
<b>Escherichia. coli</b>	CLED	-	Bacilles

L'identification bactérienne : La confirmation des souches bactériennes ont été effectués par la galerie d'identification.

Tableau 2 : galerie d'identification de différentes souches testées :

Souches à testés	Galerie d'identification									
	lactose	Glucose	H2S	GAZ	Mannitol	urée	indol	mobilité	app	cs
<i>Pseudomonas putida</i>	-	+	OXYDAE +	-	+	+	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-
<i>Pseudomonasa aeruginosa</i>		+	OXYDAE+	-	+	+	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

**Pouvoir antimicrobien :** Il s'agit de déterminer le diamètre d'inhibition selon la méthode de Vincent, pour les bactéries, et la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) selon la méthode de contact direct par dilution en milieu gélose.

➤ **Etude de l'effet antimicrobien par la Méthode de Vincent :** Nous avons testé l'effet antimicrobien, sur

toutes les souches bactériennes. Les résultats expérimentaux présentés dans le **Tableau 2** montrent que l'huile essentielle de *Teucrium* est très active pour les souches staphylocoque aureus méti S et staphylocoques aureus méti R et pour les autres souches aucune activité

Tableau 3 : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *teucrium capitatum*

LES SOUCHES		Huile essentiel (H . E					
		Test 1	Test 2	Test 3	Diamètres d'inhibition (mm)	Surface d'inhibition (cm <sup>2</sup> )	Coefficient d'activité (cm <sup>2</sup> /µl) A
20ul H.E	Staphylocoque aureus méti S	45mm	40mm	42mm	42.33mm	14.07	0.73
25 ul H.E	Staphylocoque aureus méti R	14mm	11mm	13mm	12.67mm	1.26	0.05

Le coefficient d'activité A pour les souches bactériennes dont les zones d'inhibition sont importantes est estimé (7) :

$$A = z' / q \text{ avec}$$

$$z' = \pi (z^2 / 4)$$

z' : la surface d'inhibition ; q : la quantité de l'huile essentielle (en µl) ; z : le diamètre d'inhibition (cm), diamètre du disque imbibé inclus

Tableau 4: Nature de l'activité antibactérienne

Les souches	Diamètre d'inhibition	Effet
staphylocoques aureus méti S	-	bactéricide
Staphylocoque aureus méti R	++ 19mm	bactériostatique
<i>Pseudomonas putida</i> (gram-)	0mm	Pas d'inhibition
<i>Escherichia coli</i>	0mm	Pas d'inhibition
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (gram-)	0mm	Pas d'inhibition
<i>Proteus mirabilis</i>	0mm	Pas d'inhibition

Le diamètre du disque de la gélose inclus (6mm),

- : Pas de croissance bactérienne, + : faible croissance bactérienne, ++ : Croissance bactérienne moyenne.



➤ **Effet antimicrobienne selon la méthode de contact direct** : Les résultats de pouvoir antimicrobien sont donnés dans le tableau suivant :

**Tableau 5** : Pouvoir antimicrobien selon la méthode de contact direct

Dilutions	0	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/50	1/64	1/80	1/100
UI/ml (HE/Eau)	SM	1000	333.3	142.86	66.66	32.26	20.41	15.87	12.66	10.10
Staphylocoques meti S	-	-	-	-	-	-	-	-+	+	++
Staphylocoques meti R	-	--	-	-+	-+	-+	++	++	++	++

D'après les résultats du tableau, la plus grande surface d'inhibition est observée dans le cas de staphylocoque aureus méti S. Ces espèces sont donc les plus sensibles à cette huile. Pour les autres souches testées de gram - n'ont pas données des zones d'inhibition, nos résultats sont en accord avec ceux de Zaika L.L. en 1988 est communément reconnu que les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes aux huiles essentielles ce qui justement apparaît dans notre étude. Pour le coefficient d'activité, on constate que la souche méti S se rapproche de 1 d'une valeur 0.73 tandis que la valeur de la souche méti R ne présente que 0.05. Pour la méthode de dilution afin de déterminer la valeur de la CMI et CMB, on constate l'absence de la croissance de toutes les souches au niveau de la solution mère et dans la dilution entre 1/2 et 1/50 pour la souche méti S alors que La souche staphylocoque aureus meti R est résistante avec une CMI de 333,3 ul/ml. Les CMI des souches de Staphylococcus aureus méti S sont comprises entre 20,41 et 333,3 µl/ml. La nature de l'activité de l'huile est faite sur les bactéries gram positif. Elle est bactéricide contre les souches staphylocoques aureus méti S et bactériostatique pour les souches staphylocoques aureus méti R. L'huile essentielle de *Teucrium capitatum* L est donc très active sur l'ensemble des souches testées. Comparativement parlant, l'activité de l'huile essentielle du *Teucrium capitatum* L testée par les deux méthodes

(Aromatogramme et contact direct), est proche de celle de l'huile essentielle du *Thymus vulgaris* à thymol vis-à-vis des souches de *Staphylococcus aureus*.

**Tests comparatifs des activités antibactériennes** : Les résultats des tests de comparaison des diamètres d'inhibition de l'huile essentielle des feuilles de *Teucrium capitatum* L à ceux de différents disques d'antibiotiques surtout de pénicilline avec une dose 2.5 fois inférieure à celle de la pénicilline et de la gentamicine, l'huile essentielle des feuilles de *teucrium capitatum* L a provoqué une inhibition supérieure à celle des antibiotiques testées. Les valeurs de la CMI, de la CMB et des diamètres d'inhibition des tests de comparaison montrent que les souches de *Staphylococcus méti S* testées sont très sensibles à l'essence de *teucrium capitatum* L. Les staphylocoques sont connus pour leur implication dans les maladies de dermatoses et comme agents causaux de nombreuses pathologies. Leur antibio-résistance est également connue. Il apparaît donc de plus en plus urgent de trouver des antibiotiques alternatifs que l'on pourrait non seulement utiliser de traitement de ces pathologies. Cette utilisation des huiles essentielles locales à cet effet ne pourrait se faire sans les preuves scientifiques de leur activité d'une part et la connaissance de leurs propriétés physicochimiques d'autre part ce qui est faite pour le teste de leurs activités.

## CONCLUSION

Le rendement en huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L (2%) est appréciable et peut être rentable à l'échelle industrielle. Les activités antibactériennes sont confirmées. Pour les autres souches testées de gram - n'ont pas données des zones d'inhibition, nos résultats sont en accord avec ceux de Zaika L.L. en 1988 est communément reconnu que les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes aux huiles essentielles ce qui justement apparaît dans notre étude. L'activité

antimicrobienne est très importante vis-à-vis de la souche staphylocoque méti S et sensible pour la souche méti R étudiées, En effet, elle est bactéricide contre les staphylocoques méti S et bactériostatique contre les staphylocoques méti R. Les résultats des tests de comparaison des diamètres d'inhibition de l'huile essentielle des feuilles de *Teucrium capitatum* L à ceux des disques de pénicilline et de gentamicine a provoqué une inhibition supérieure. Les valeurs de la CMI, de la

CMB et des diamètres d'inhibition des tests de comparaison montrent que les souches de *Staphylococcus* testées sont très sensibles à l'essence de *teucrium capitatum* L. Cette étude permet, encore une fois, la mise en valeur de l'exploitation des huiles

essentielles dans les domaines, pharmaceutique et cosmétique. Par la même occasion, elle confirme leur utilisation comme conservateur dans le domaine médicale

## RÉFÉRENCES

- Bactériologie médicale. Paris : Simep, 1985 ; 9-28.
- Bengualid V et Berger J. Commity acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis , 2003 ; 37 : 466.
- Berche P., Gaillard J. L., Simonet M., 1991. Les bactéries des infections humaines. Éditeur : Flammarion, Médecine & Sciences. 660 p.
- Berche P. Les staphylocoques. In : BERCHE P, GAILLARD L, SIMONET M, eds. Bactériologie : les bactéries des infections humaines. Paris : Flammarion, 1988 ; 267-77.
- Bismuth R. Cocci à Gram positif et aminosides. In : COURVALIN P, GOLDSTEIN F, PHILIPPON A et SIROT J, eds. L'antibiogramme. Paris : MPC-Vidéom, 1985 ; 29-39.
- Boukadida J, ben abdallah H et Boukadida N. Profil et sensibilité aux antibiotiques de 115 *Staphylococcus* impliqués dans des septicémies dans un hôpital général tunisien. Bull Soc Pathol Exot 2003 ; 4 : 283-5
- Brun Y, Bes M. *Staphylococcus*. In : FRENEY J, HANSEN W et BOLLET C, eds. Précis de bactériologie clinique. Paris : Eska, 2000 ; 781-819.
- Buu-Hoi A. Cocci à gram positif et macrolides-lincosamides-streptogramines. In Courvalin P, Goldstein F, Philippon A Et Sirot J, eds. L'antibiogramme. Paris : MPC-Vidéom, 1985 ; 41-8.
- Cavallo Jd, Chardon H, Chidiac C, Choutet P, Courvalin P, Dabernat H et al. Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative pour *Staphylococcus ssp*. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie 2006 ; 119 (1) : 33-5. Disponible sur [www.sfm.asso.fr](http://www.sfm.asso.fr)
- Carbonnelle B Et Kouyoumdjian S. Les techniques et les étapes de l'analyse. In : CARBONNELLE B, DENIS F, MARMONIER A, PINON G ET VARGUES R, eds.
- Carson C.F., Hammer K.A. and Riley T.V. (1995). Broth microdilution method for determining the susceptibility of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Microbios*, 82, 181-185.
- Diallo AB. Portage nasal de *Staphylococcus aureus* en milieu chirurgical à l'hôpital du Point G. Thèse Pharm, Bamako, 2006.
- Duval J. Classification et mécanisme d'action des agents antibactériens. In : LE MINOR L et VÉRON M, eds. Bactériologie médicale. Paris : Flammarion, 1989 ; 273-96.
- Duval J. Évolution des résistances. In : LE MINOR L et VÉRON M, eds. Bactériologie médicale. Paris : Flammarion, 1989 ; 355-69.
- Fauchère JL et Avril JL. Bactériologie générale et médicale. Paris : Ellipses, 2002 ; 365 p.
- Fleurette J. Staphylocoques et microcoques. In : LE MINOR L ET VÉRON M, eds. Bactériologie médicale. Paris : Flammarion, 1989 ; 774-94
- Gerbaud G et Goldstein F. Triméthoprime et Sulfamides. In : COURVALIN P, Goldstein F, Philippon A et Sirot J, eds. L'antibiogramme. Paris : MPC-Vidéom, 1985 ; 65-71.
- Lis-Balchin M. and Deans S.G. (1997). Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. 1. Appl. Microbiol., 82 , 759-762
- Mougeot C, Guillaumat-Taillet J et Libert JM. *Staphylococcus aureus* : nouvelle détection de la résistance intrinsèque par la méthode de diffusion. Pathol Biol 2001 ;49 : 199-204.
- Philippon A, Arlet G et Schlemmer B. Bêtalactamines (I). *Encycl Med Chir, Maladies Infectieuses*, 1993.
- Potterat O., Hostettmann K., Plant sources of natural drugs and compounds, [In] *Encyclopedia of Environmental Biology*, vol. 3, Editor. London: Academic Press Inc., 1995. p. 139-153
- Quentin C, Grobost F, Fischer I, Dutilh B, Brochet Jp, Jullin J et al. Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* en pratique de ville : étude sur six mois en Aquitaine. Pathol Biol 2001 ; 49 : 33-40
- Simonet M. Structure, mode d'action des antibiotiques et mécanismes de la résistance bactérienne. In : BERCHE P, GAILLARD L et SIMONET M.

**El amri et al.. J. Appl. Biosci. 2014. Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testées**

Bactériologie : les bactéries des infections humaines. Paris : Flammarion, 1988 ; 575-92.  
Soussy C-J. Quinolones. In : COURVALIN P, GOLDSTEIN F, PHILIPPON A et SIROT J, eds.

L'antibiogramme. Paris : MPC-Vidéom, 1985 ; 57-63.

**Annexe 1 : photo des plantes étudiées**



**Photos 1 : *Silène vulgaris***

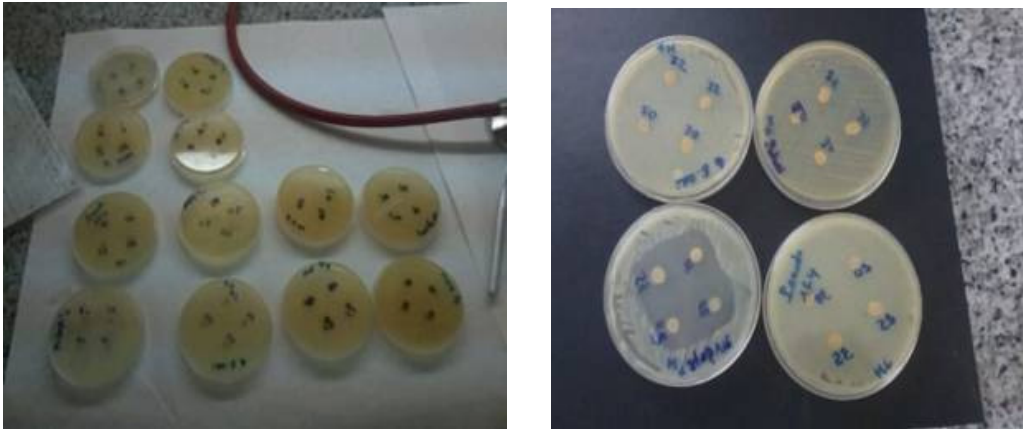


**Photos 2 : *Teucrium capitatum* L**

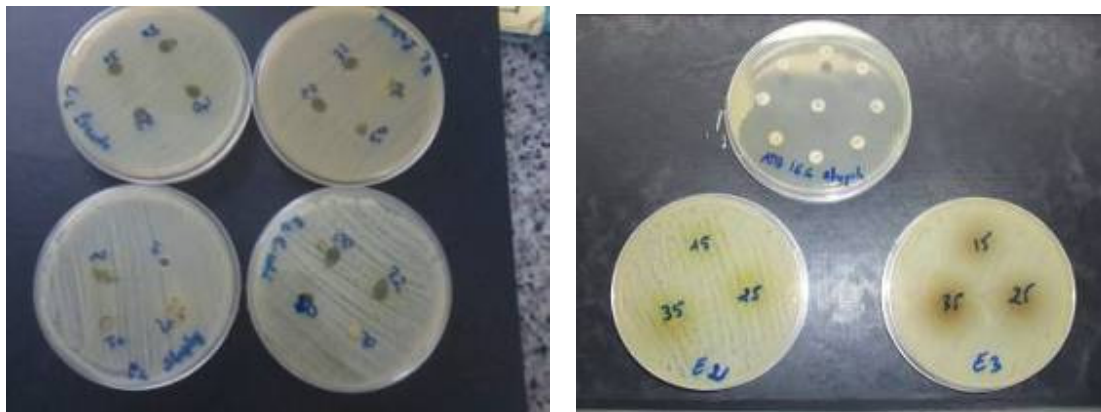
**Annexe 2 : photo de l'étude antimicrobienne**



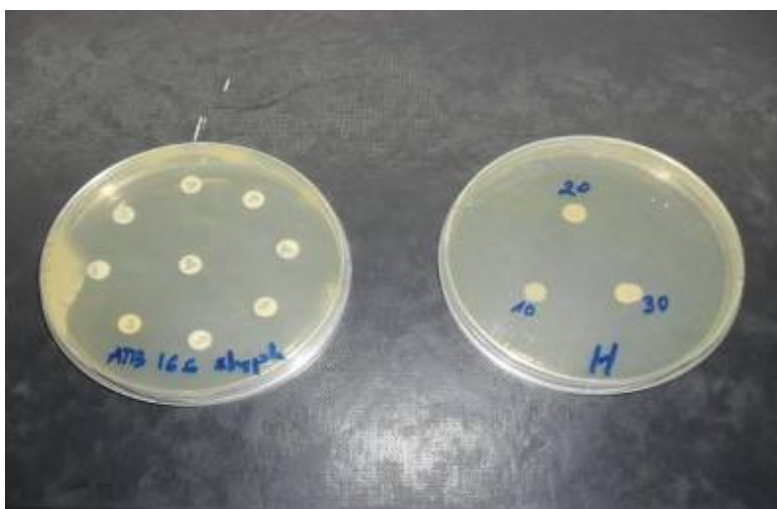
**Photos 1 : préparation de l'inoculum et différentes souches sélectionnées**



**Photo2 :** Test de pouvoir antimicrobien sur différentes souches étudiées



**Photos 3 :** Test de pouvoir antimicrobien de l'extrait de *teucrium capitatum* L sur différentes souches étudiées



**PHOTO 4 :** test comparatifs d'activité antimicrobienne d'huile *teucrium capitatum* L à celle des antibiotiques étudiées pour staphylocoques