

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie  
Microbiologie Appliquée



Réf :.....

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

**MASTER**

*Thème*

**Activité antibactérienne de quelques huiles  
essentielles *vis-à-vis* les pathogènes responsables  
de la mammite bovine**

Présenté par :

**M<sup>lle</sup> NAIT SMAIL Rosa et M<sup>lle</sup> OUAHCHI Fatima**

Soutenu le : **16 Juillet 2022**

Devant le jury composé de :

M<sup>me</sup> YANAT B.

MCA

Président

M<sup>me</sup> SAIDANI K.

MCB

Promoteur

M<sup>me</sup> KERAMANE B.

MCB

Examineur

**Année universitaire : 2021/2022**

# Remerciements

*Nos vifs remerciements vont d'emblée à Dieu, le tout puissant de nous avoir accordé santé et courage, de nous avoir doté d'une grande volonté et d'un savoir adéquat pour achever ce modeste travail.*

*Merci Dieu de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

## *A notre chère promotrice*

*Nous tenons à remercier profondément notre promotrice **M<sup>me</sup> SAIDANI Karima** pour l'intérêt constant qu'elle a porté à ce travail en acceptant de diriger cette étude avec compétence ; pour ses encouragements, ses orientations scientifiques et ses conseils judicieux qui nous ont permis de mener à bien ce passionnant travail ; pour sa constante disponibilité, son aide, sa patience et sa gentillesse dont elle a fait preuve à notre égard ainsi que pour le privilège et la confiance qu'elle nous a accordé durant l'étude pratique. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde gratitude.*

## *Aux membres de jury*

*Nous exprimons nos sincères gratitudees à **M<sup>me</sup> YANAT Betitra** pour l'honneur qu'elle nous a fait de présider le jury et d'évaluer ce travail.*

*Nous adressons nos respectueux remerciements à l'égard de **M<sup>me</sup> KERAMANE Badria** qui nous a fait l'honneur d'examiner et de valoriser ce mémoire.*

*Merci à **Hassiba, Massilia, Lydia et Dilia** pour leurs aides et les bons moments passés ensemble.*

*Enfin, il nous est agréable de remercier toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de notre travail.*

*Un grand merci à tous !*

# **Dédicaces**

*Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, de m'avoir donné le courage, la force et la patience d'accomplir ce modeste travail que je dédie à tous ceux qui me sont chers :*

## ***A la prunelle de mes yeux***

*Ma mère Houria qui a souffert sans me laisser souffrir, qui m'a donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Aucune dédicace ne serait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien ma vie et mes études, tu as toujours été le père et la mère, rien au monde ne vaut les efforts fournis jours et nuits pour mon éducation et mon bien être, toute cette abnégation dont tu as fait preuve afin que je devienne ce que je suis, je t'en serai éternellement reconnaissante. Puisse Dieu, le tout puissant te préserver et t'accorder la bonne santé, longue vie et bonheur.*

## ***A la mémoire de mon grand-père maternel Houcine***

*Puisse Dieu vous avoir en sa sainte miséricorde et que ce travail soit une prière pour votre âme.*

## ***A ma grand-mère maternelle Louiza***

*Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous préserve santé et longue vie.*

## ***A ma très chère sœur Narimane et son époux M'hend***

*A tous les moments passés avec vous, en gage de ma profonde estime pour l'aide que vous m'avez apporté. Vous m'avez soutenu, réconforté et encouragé. Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Je vous souhaite beaucoup de réussite dans votre vie, et que Dieu vous garde et illumine votre chemin.*

## ***A mes chers oncles maternels Rachid, Yazid et Nacer***

*Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Aujourd'hui, je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le tout puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.*

*A mon très cher ami Massinissa*

*A toi qui a cru en moi, qui m'a épaulé et encouragé tout au long de mon parcours universitaire. Grâce à toi je suis parvenue à savoir que dans les nuits les plus noires il y a toujours un espoir qui brille quelque part. Je te souhaite bonheur, réussite et prospérité ; et je remercie le bon Dieu d'avoir croisé nos chemins.*

*A ma chère binôme Mima*

*Merci pour tout ce qu'on a partagé ensemble : les beaux ou les tristes moments, merci pour ton écoute, ta patience et ta compréhension tout au long de ce travail. Sans toi ce mémoire n'aurait pu être réalisé. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.*

*Rosa*

# *Dédicaces*

*Avec un grand honneur que je dédie ce modeste travail à des personnes chères à mon cœur, qui m'ont soutenu tout au long de mon parcours universitaire pour mener à une bonne fin ce mémoire.*

*Avec joie je tiens à dédié particulièrement ce travail à mon frère jumeau mon double et ma moitié que malgré la distance nous a séparé mais notre cœur est unique.*

*A mes chères parents, source de vie, d'amour et d'affection que je remercie d'être toujours à mes cotés se sont mes deux piliers, ils ont su m'accompagner avec leur tendresse et bienveillance.*

*A mes sœurs et gendres, qui ont été toujours au près de moi et guidé pour aller plus loin.*

*A mon frère et sa femme, qui m'ont encouragé et soutenu.*

*A tous mes neveux et nièces qui ont illuminé notre quotidien avec leur sourire et bonne humeur.*

*A mes chères copines, tout particulièrement Lynda, Hanane et Bina qui m'ont soutenu et épaulé pour achever ce travail.*

*A mon binôme, que je remercie pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

***Fatima***

## **Table des matières**

Liste des abréviations  
Liste des tableaux  
Liste des figures

**Introduction**..... 1

### **Synthèse bibliographique**

**I. Mammites bovines** ..... 3

I.1. Anatomie et physiologie de la glande mammaire ..... 3

I.1.1. Description de la mamelle ..... 3

I.1.2. Développement de la mamelle ..... 4

I.2. Mammites ..... 4

I.2.1. Définition ..... 4

I.2.2. Classification des mammites ..... 4

I.2.2.1. Mammites cliniques ..... 4

I.2.2.2. Mammites subcliniques ..... 5

I.2.3. Bactéries impliquées dans les mammites ..... 5

I.2.3.1. Agents pathogènes majeurs ..... 5

I.2.3.2. Agents pathogènes mineurs ..... 6

I.2.4. Traitement des mammites ..... 6

**II. Huiles essentielles**..... 8

II.1. Définition ..... 8

II.2. Composition chimique des huiles essentielles ..... 8

II.2.1. Groupes des terpènes et terpénoïdes ..... 9

II.2.2. Groupe des composés aromatiques ..... 10

II.2.3. Composés d'origines diverses ..... 10

I.3. Rôle des huiles essentielles chez les plantes ..... 10

I.4. Mécanismes d'action des huiles essentielles ..... 10

II.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles ..... 11

I.5.1. Hydrodistillation ..... 12

I.5.2. Entraînement à la vapeur d'eau ..... 12

I.5.3. Hydrodiffusion ..... 12

I.5.4. Extraction par solvant ..... 12

II.5.5. Macération ..... 12

II.5.6. Extraction assistée par micro-ondes ..... 13

II.5.7. Extraction assistée par ultrasons ..... 13

II.6. Conservation des huiles essentielles .....	13
II.7. Domaines d'utilisation des huiles essentielles .....	14
II.7.1. Industrie agroalimentaire .....	14
II.7.2. Pharmacie .....	14
II.7.3. Agriculture.....	15
II.7.4. Cosmétologie et parfumerie .....	15
II.8. Composition en huiles essentielles des plantes testées .....	15
<b>Matériel et méthodes</b>	
I. Matériel.....	19
I.1. Matériel végétal.....	19
I.2. Souches bactériennes .....	21
II. Méthodes .....	22
II.1. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	22
II.1.1. Evaluation qualitative (Aromatogramme) .....	22
II.1.2. Evaluation quantitative .....	23
II.2. Etude statistique.....	24
<b>Résultats et discussion</b>	
I. Evaluation qualitative (Aromatogramme).....	25
II. Evaluation quantitative .....	32
II.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides (CMI/CMB).....	32
<b>Conclusion</b> .....	38
<b>Références bibliographiques</b> .....	41

## **Liste des abréviations**

**ADN:** Acide Désoxyribonucléique

**AFNOR:** Association Française de Normalisation

**AHL:** Acyl-Homomésérine Lactones

**ATB:** Antibiotique

**ATP:** Adénosine Triphosphate

**CA-SFM:** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

**CMB:** Concentration Minimale Bactéricide

**CMI:** Concentration Minimale Inhibitrice

**DMSO:** Diméthylsulfoxyde

**HA:** Hydrolat Aromatique

**HE:** Huile Essentielle

**MH:** Mueller Hinton

**PCA:** Plate Count Agar

**pH:** Potentiel Hydrogène

**Qs:** Quorum sensing

**UFC:** Unité Formant Colonie

**UV:** Ultraviolet



## Liste des tableaux

Tableau I : Agents pathogènes majeurs impliqués dans les mammites. ....	6
Tableau II : Composés bioactifs et propriétés des huiles essentielles étudiées.....	17
Tableau III : Caractéristiques botaniques des plantes aromatiques étudiées.....	20
Tableau IV: Tableau représentatif des différentes souches testées. ....	22
Tableau V: Résultats de l'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées <i>vis-à-vis</i> les souches testées. ....	25
Tableau VI : Résultats de l'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne des témoins positifs <i>vis-à-vis</i> les souches testées.....	28
Tableau VII : Résultats de l'évaluation quantitative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées <i>vis-à-vis</i> les souches testées. ....	32

## Liste des figures

Figure 1 : Anatomie de la glande mammaire .....	3
Figure 2 : Structures des terpènes (a) ; terpénoïdes (b) et phénylpropanoïdes (c) .....	9
Figure 3 : Photographie de plantes des huiles essentielles étudiées.....	16
Figure 4 : Photographies des huiles essentielles étudiées. ....	19
Figure 5 : Photographies de quelques zones d'inhibitions obtenues par les huiles essentielles étudiées contre les souches cibles: <i>E. coli</i> (A), <i>E. coli</i> 1 (B), <i>E. coli</i> 2 (C), <i>E. coli</i> 3 (D), <i>E. coli</i> 4 (E), <i>K. pneumoniae</i> (F), SARM (G) et <i>S. aureus</i> (H). ....	27
Figure 6 : Photographies des zones d'inhibitions des témoins positifs (spiramycine, eugénol, thymol) et du témoin négatif (DMSO) testés contre les souches cibles.....	29
Figure 7 : Photographies des résultats des concentrations minimales inhibitrices des HEs de thym (T), d'origan (O) et de clou de girofle (G) <i>vis-à-vis</i> les souches cibles.....	34
Figure 8 : Photographies des résultats des concentrations minimales bactéricides des HEs de thym (T), d'origan (O) et de clou de girofle (G) <i>vis-à-vis</i> les souches testées.....	35

# *Introduction*

## **Introduction**

La mammite bovine est l'une des maladies les plus dévastatrices et les plus coûteuses affectant la santé et le bien-être des troupeaux laitiers à travers le monde, causée par des agents pathogènes bactériens dont les plus courants sont *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* et *Streptococcus uberis*. Cette maladie joue un rôle décisif dans l'industrie laitière, causant des pertes économiques considérables en raison de la diminution de rendement et de la qualité du lait, ainsi l'augmentation des taux d'abattage de vaches chroniquement infectées (**Neculai-Valeanu et al., 2021 ; Sharun et al., 2021**).

Le traitement antibiotique est considéré comme un élément fondamental des programmes de lutte contre la mammite (**Ceroli et al., 2018**). Cependant, l'utilisation extensive et incontrôlée d'antibiotiques a entraîné une diminution de la réponse à l'antibiothérapie (**Park et al., 2012 ; Babra et al., 2013**), qui fait que le degré de guérison des infections intramammaires est à un niveau très bas. De plus comme conséquences négatives, l'entrée de résidus d'antibiotiques dans la chaîne alimentaire humaine, avec la possibilité de transmission de souches bactériennes résistantes menaçant la santé publique (**Kovačević et al., 2021a**).

Compte tenu des faits évoqués ci-dessus, beaucoup d'anxiété a été soulevée concernant l'échec du traitement. Par conséquent, une attention continue a été accordée par les chercheurs pour découvrir des méthodes de contrôle alternatives afin de traiter la mammite (**Algharib et al., 2020**). En revanche, ces recherches ont mis en évidence un intérêt scientifique élevé selon lequel les huiles essentielles qui sont définies comme des produits odorants ayant des composition complexe et obtenues à partir d'une matière végétale, méritent une attention particulière car elles sont reconnues comme sûres (**Haro-González et al., 2021 ; Kovačević et al., 2021a**).

Les huiles essentielles se sont avérées être des sources de composés bioactifs, avec un large éventail d'effets thérapeutiques, activités antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires et antioxydants pour le traitement de la mammite. Ces essences végétales sont caractérisées par une faible toxicité pour les mammifères, de faible effets environnementaux et une large acceptation par le publique (**Mushtaq et al., 2018 ; Blejan et al., 2021**).

L'Algérie, par sa localisation géographique, offre une végétation riche et variée. Un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales y poussent spontanément (**Fenghour *et al.*, 2021**), dont la première utilisation de ces dernières comme remèdes en médecine vétérinaire était liée au savoir traditionnelle, dépendant de l'expérience pratique et de l'observation transmise de génération en génération. Pour cette raison, nous nous sommes intéressés à étudier l'activité antibactérienne des huiles essentielles de quelques plantes médicinales traditionnellement utilisées en Algérie, *vis-à-vis* de quelques bactéries pathogènes responsables de la mammité bovine.

Notre étude sera donc subdivisée en deux parties:

- ✓ La première partie de ce document est consacrée à une synthèse bibliographique dont le premier chapitre aborde les mammites bovines et le deuxième sur les huiles essentielles.
- ✓ La seconde partie de ce document est consacrée à la partie expérimentale basée sur la mise en évidence de l'activité antibactérienne des huiles essentielles des plantes étudiées contre quelques souches mammites cibles.
- ✓ Enfin, la troisième partie présente les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

*Synthèse  
bibliographique*

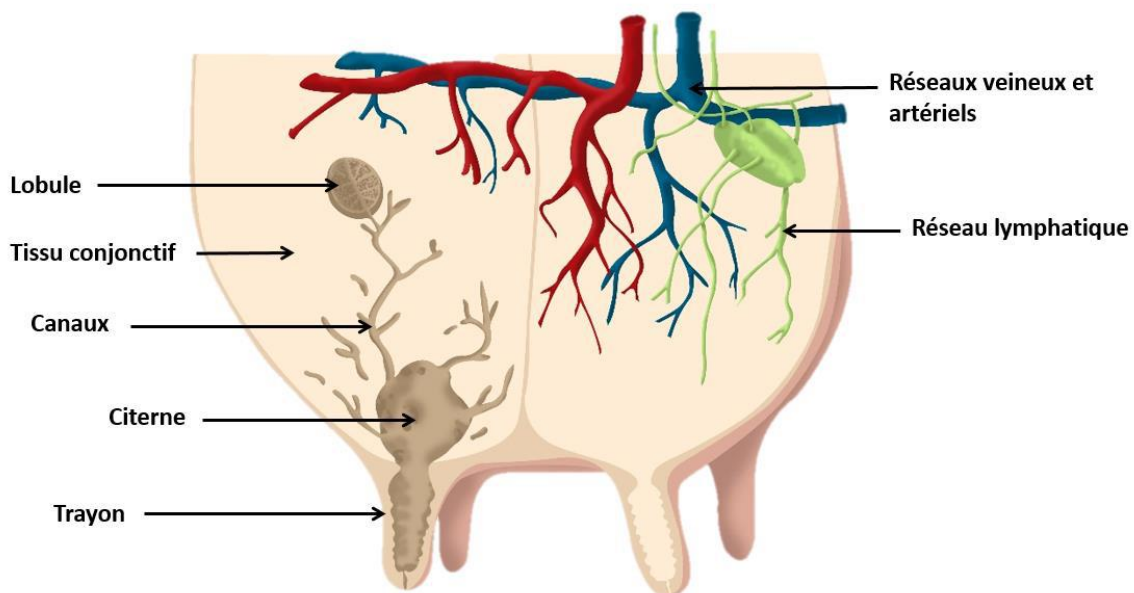
## I. Mammites bovines

### I.1. Anatomie et physiologie de la glande mammaire

#### I.1.1. Description de la mamelle

La mamelle des vaches appelée aussi le pis, est une glande lourde et volumineuse, 50 Kg en moyenne chez une vache en lactation, pouvant atteindre les 100 Kg. Le pis de la vache est composé de quatre quartiers qui sont physiquement séparés par un ligament suspenseur du pis (élastique et très puissant) et par deux sillons transverses (**Remy, 2010**).

Chaque quartier est composé du parenchyme mammaire, des voies d'excrétion du lait et du trayon, comme le montre la figure 1.



**Figure 1** : Anatomie de la glande mammaire (**Charton, 2017**).

- ❖ **Parenchyme mammaire** : c'est le constituant principal du corps de la mamelle. Il est formé d'un parenchyme conjonctif de soutien et du parenchyme glandulaire constitué d'acini entourés de quelques cellules myoépithéliales, c'est au sein de ces acini que le lait est sécrété par les lactocytes (**Remy, 2010**).
- ❖ **Citerne**: La citerne mammaire reçoit le lait provenant des conduits lactifères du parenchyme mammaire. Elle est séparée du sinus du trayon par un repli annulaire, aussi appelé anneau veineux de Fürstenberg (**Remy, 2010**).

- ❖ **Trayon:** constitue la dernière partie de la glande mammaire avec une citerne et un canal. Le canal du trayon bouché par la kératine pour éviter les mammites. A la période de tarissement, la morphologie et l'histologie du canal du trayon se modifient, avec diminution de la longueur sous l'effet de la pression du lait (**Sérieys, 1997**).

### **I.1.2. Développement de la mamelle**

Le développement de la glande mammaire est progressif et commence au niveau du fœtus. Chez les vaches laitières, la formation des trayons commence au deuxième mois de gestation et le développement se poursuit jusqu'au sixième mois de gestation. Au moment où le fœtus a six mois, la mamelle est presque complètement développée (**Jammes et Djiane, 1988**).

De la naissance au début de la première gestation, ce processus se déroule doucement, il concerne le tissu adipeux et le tissu conjonctif ce qui permet à la mamelle d'atteindre sa forme définitive à l'approche de la puberté, puis connaît une phase explosive au cours du dernier tiers de la gestation (**Cauty et Perreau, 2003**).

## **I.2. Mammites**

### **I.2.1. Définition**

Parmi les maladies les plus courantes chez les bovins laitiers, la mammite qu'est une inflammation de la glande mammaire, causée par des agents pathogènes bactériens, dans la plus part des cas. La mammite est une maladie qui a un impact significatif sur le bien-être des animaux ainsi que sur l'économie en entraînant des pertes importantes pour l'industrie laitière en raison de la réduction de la production et de l'augmentation des taux d'abattage (**Cobirka et al., 2020 ; Sharun et al., 2021**).

### **I.2.2. Classification des mammites**

Les mammites peuvent être scindées en deux catégories ; cliniques ou subcliniques, selon l'apparition ou non de symptômes locaux inflammatoires de la mamelle (chaleur, douleur, rougeur et gonflement) ainsi les modifications macroscopiquement visibles de la quantité, de la qualité et de l'aspect du lait (grumeaux et couleur) (**Moureu, 2015**).

#### **I.2.2.1. Mammites cliniques**

La mammite clinique se manifeste par la présence d'un lait visiblement anormal. Le lait d'un quartier atteint de mammite clinique peut être liquide ou épaissi et décoloré avec du sang, du pus, des flocons ou des caillots. Les vaches atteintes de cette mammite peuvent



également ressentir un gonflement, une rougeur ou une douleur dans le quartier affecté, et dans certains cas, elles peuvent devenir systématiquement malades avec des symptômes tels que la fièvre, la déshydratation, la faiblesse et l'inappétence. Les cas cliniques sont désignés comme légers, modérés ou sévères, correspondant à la présence ou à l'absence de signes locaux et systématiques (Royster et Wagner, 2015).

### **I.2.2.2. Mammites subcliniques**

Dans le cas d'une mammite subclinique, aucune modification n'est entraînée au niveau de l'état général de la vache. Elle est caractérisée par une absence d'inflammation macroscopique évidente au niveau de la glande mammaire (Bhutto *et al.*, 2012), mais une diminution de la production laitière est observée. L'infection subclinique est mise en évidence au laboratoire grâce aux analyses biochimiques du lait du quartier atteint qui révèlent une altération de ses propriétés chimiques et cytologiques, qui déterminent une élévation de sa numération cellulaire avec prédominance des leucocytes et principalement des polynucléaires neutrophiles (Constance, 2017).

Il est important de noter que la mammite subclinique peut évoluer vers une mammite clinique si l'immunité bovine n'est pas en mesure d'assurer la stagnation bactérienne. De même, la mammite clinique peut devenir subclinique si le traitement administré n'élimine pas tous les pathogènes impliqués (Remy, 2010).

### **I.2.3. Bactéries impliquées dans les mammites**

Les microorganismes causant des mammites peuvent être subdivisés en deux catégories : les pathogènes majeurs et les pathogènes mineurs (Durel *et al.*, 2011).

#### **I.2.3.1. Agents pathogènes majeurs**

Les agents pathogènes majeurs sont scindés à leur tour en deux groupes distincts : contagieux et environnementaux. Les agents pathogènes contagieux vivent généralement dans la peau du pis et sont transférés au trayon pendant les processus de la traite via l'équipement de traite ou les mains des trayeurs, puis, ils se développent et se propagent à travers la glande mammaire et les principaux représentants sont *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Mycoplasma sp.* Tandis que les agents pathogènes environnementaux survivent dans l'habitat de la vache (dans la litière, sol, matériel végétal, source d'eau contaminée) et pénètrent dans le pis par propulsion par le canal du trayon (par exemple pendant la traite, insertion de tubes antibiotiques ou de canules de trayons) ou par pénétration passive du canal du trayon immédiatement après la traite. Les germes les plus

rencontrés sont *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis* et *Klebsiella sp.* (Motaung *et al.*, 2017 ; Lopes *et al.*, 2020) (tableau I).

**Tableau I** : Agents pathogènes majeurs impliqués dans les mammites (Motaung *et al.*, 2017 ; Lopes *et al.*, 2020).

Agent pathogène majeur	Germe	Transmission	Source de contamination
<b>Contagieux</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus dysgalactiae</i> <i>Mycoplasma sp.</i>	Pendant la traite	Equipement de la traite Mains des trayeurs
<b>Environnementaux</b>	<i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus uberis</i> <i>Klebsiella sp.</i>	Lors des traitements intra-mammaires	Litière, sol, matériel végétal, source d'eau contaminée

### I.2.3.2. Agents pathogènes mineurs

Ils se différencient des pathogènes majeurs par la prévalence et par l'incidence des mammites qu'ils provoquent, ceux-ci sont majoritairement des bactéries commensales de la peau et des poils et entraînent une réaction modérée de la mamelle. Les agents pathogènes mineurs regroupent l'ensemble des Staphylocoques à Coagulase Négative (SCN) et plus fréquemment *Staphylococcus chromogenes* et *Staphylococcus simulans* (Pyörälä et Taponen, 2009 ; Almeida et Oliver, 2001) ainsi que *Corynebacterium bovis* (Khan et Khan, 2006).

### I.2.4. Traitement des mammites

Divers agents contribuent à la réduction des infections de la glande mammaire, en particulier la mammite chez les vaches, ils contribuent également à l'amélioration de la qualité du lait (Skowron *et al.*, 2019). Parmi celle-ci, l'antibiothérapie et la vaccination sont les fréquemment utilisées (Sharun *et al.*, 2021). Selon Neculai-Valeanu (2021), la pénicilline, l'ampicilline, la tétracycline et la gentamycine sont les antibiotiques les plus actifs sur les pathogènes responsables de la mammite. Ainsi que le vaccin STARTVAC® contenant une

souche inactivée de *Staphylococcus aureus* et une souche inactivée d'*Escherichia coli* J5 avec un adjuvant huileux constitué de paraffine est utilisé contre cette maladie (**Fontaine, 2018**).

En revanche, l'utilisation extensive et incontrôlée d'antibiotiques pour le traitement ainsi que l'induction et la persistance de la résistance aux antibiotiques (ATB) associée au biofilm dans la mammite ont entraîné une diminution de la réponse à l'antibiothérapie (**Park et al., 2012 ; Babra et al., 2013**), ainsi la plupart des vaccins commerciaux n'ont pas démontré une protection suffisante et sont en même temps très coûteux (**Côté-Gravel et Malouin, 2019**).

En raison de ces lacunes des ATB et des vaccins, plusieurs autres thérapies sont apparues et qui peuvent être une alternative à ces deux méthodes, dont on cite la technologie de nanoparticules, les bactériocines et les probiotiques (**Castelani et al., 2019 ; Godoy-Santos et al., 2019 ; Pinheiro et al., 2019**), aussi les plantes aromatiques et médicinales constituent une source importante de molécules antimicrobiennes et anti-inflammatoires pour le traitement de la mammite (**Mushtaq et al., 2018**).

## II. Huiles essentielles

### II.1. Définition

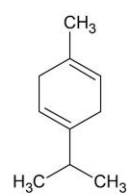
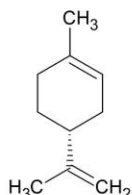
Les huiles essentielles (HEs) sont des composés complexes, naturels et volatiles, caractérisés par une odeur forte. Elles sont synthétisées par des plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires (**Bakkali *et al.*, 2008**). Ces essences végétales sont principalement extraites des feuilles, des fleurs, des graines, des écorces, des rhizomes et des fruits des plantes (**Zhang et Yao, 2019**), elles sont issues et produites par celles-ci pour se défendre contre les ravageurs phytopathogènes (**Leyva-López *et al.*, 2017**).

L'association française de normalisation (AFNOR) définit l'huile essentielle comme un produit naturel obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation (**AFNOR, 2000**). Cette définition est restrictive, car elle exclut aussi bien les produits extraits à l'aide de solvants que ceux obtenus par tout autre procédé (gaz sous pression et enfleurage) (**Bruneton, 1999**).

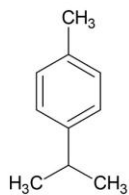
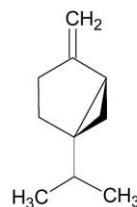
### II.2. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles dépend de différents facteurs tels que le climat, l'altitude, les conditions du sol [nature, potentiel hydrogène (pH)...], la période de récolte ainsi la technique de séchage et d'extraction (**Atailia et Djahoudi, 2015**). Elles sont constituées de mélanges très complexes et variables de différents composés bioactifs à différentes concentrations. Les terpènes, les terpénoïdes et les composés aromatiques sont les principaux constituants (figure 2) (**Haro-González *et al.*, 2021 ; Chaudhari *et al.*, 2021**).

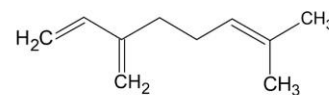
## a. Monoterpenes

 $\gamma$ -Terpinene

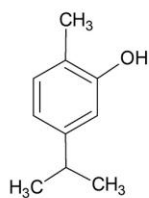
Limonene

*p*-Cymene

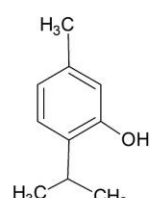
Sabinene

 $\beta$ -Myrcene

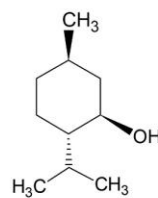
## b. Terpenoids



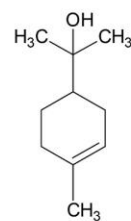
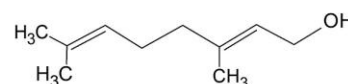
Carvacrol



Thymol

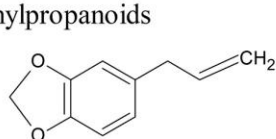


Menthol

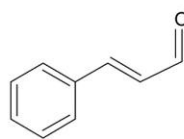
 $\alpha$ -Terpineol

Geraniol

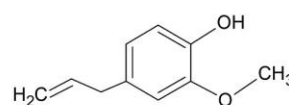
## c. Phenylpropanoids



Safrole



Cinnamaldehyde



Eugenol

**Figure 2 :** Structures des terpènes (a) ; terpénoïdes (b) et phénylpropanoïdes (c)(da Silva *et al.*, 2021).**II.2.1. Groupes des terpènes et terpénoïdes**

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par des combinaisons d'isoprènes à cinq carbones ( $C_5H_{18}$ ). Selon la quantité d'unité qui forme la molécule, ils sont classés en monoterpènes ( $C_{10}H_{16}$ ) qui contiennent deux unités d'isoprène (linéaires ou cycliques), sesquiterpènes ( $C_{15}H_{24}$ ) qui se composent de trois unités d'isoprène (ces deux composés chimiques sont principalement présents dans les HEs et qui sont responsables de la production de l'odeur distincte de celles-ci), ainsi en d'autres molécules à longues chaîne comme les diterpènes ( $C_{20}H_{32}$ ), triterpènes ( $C_{30}H_{48}$ ) et tetraterpènes ( $C_{40}H_{64}$ ) qui se trouvent dans les essences en faibles quantités (Sharma *et al.*, 2017 ; Ramsey *et al.*, 2020 ; Alonso-Gato *et al.*, 2021 ; Angane *et al.*, 2022).

Les terpénoïdes sont des hydrocarbures présents sous la forme de divers dérivés oxygénés, notamment des alcools, des esters, des aldéhydes, des cétones, etc (Yang *et al.*, 2020). Ils sont issus par les modifications enzymatiques des terpènes et les groupes hydroxyles des terpénoïdes sont responsables de l'activité antimicrobienne. Certains exemples incluent : le carvacrol, le thymol, le menthol, etc (Gyawali et Ibrahim, 2014).

### I.2.2. Groupe des composés aromatiques

Les phénylpropanoïdes sont une famille de plusieurs groupes de composés organiques produits dans les plantes à partir de la phénylalanine et constituent une petite fraction des huiles essentielles, mais certains de leurs constituants comme l'eugénol, l'isoeugénol, le safrole et le cinnamaldéhyde ont une excellente activité antimicrobienne (**da Silva et al., 2021**).

### I.2.3. Composés d'origines diverses

Divers composés aliphatiques de faibles poids moléculaires, entraînés lors de l'hydrodistillation peuvent être contenus dans les huiles essentielles. Ces produits peuvent être soufrés, azotés, des acides gras ou des carotènes (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**).

### I.3. Rôle des huiles essentielles chez les plantes

Dans les plantes, les huiles essentielles jouent plusieurs rôles fonctionnels. Cependant, les terpènes participent dans la stabilisation et la protection des membranes de la plante contre les hautes températures (**Djeddi, 2012**). Les HEs contribuent à la répulsion des insectes et de certains herbivores par la diminution de leur appétit en induisant des goûts désagréables à la plante, mais également exercent une action attractive *vis-à-vis* de certains insectes pour favoriser la dispersion des pollens et des graines (**Nazzaro et al., 2017**). Par les propriétés toxiques et inappétentes des substances qu'elles contiennent, les HEs peuvent paralyser les muscles masticateurs des agresseurs. Leur pouvoir antimicrobien leur permet d'inhiber la croissance des bactéries et des champignons phytopathogènes. Ces essences végétales protègent la plante contre la lumière soit par diminution ou concentration et empêchent sa dessiccation en la protégeant des pertes excessives d'eau par évaporation (**Ouis, 2015**).

### I.4. Mécanismes d'action des huiles essentielles

Le mécanisme d'action antibactérien est favorisé par une série de réactions biochimiques au sein de la bactérie qui dépendent du type de constituants chimiques de l'huile essentielle (**Ramsey et al., 2020**).

En raison de leur hydrophobicité, les HEs pénètrent dans la double couche phospholipidique de la membrane bactérienne et s'accumule entre les phospholipides. Cela peut laisser fuir le contenu des cellules bactériennes (**Nazzaro et al., 2013**), qui contient non seulement des ions tels que l'ion potassium ( $K^+$ ) et l'ion hydrogène ( $H^+$ ), mais également des protéines et du matériel génétique tel que l'ADN (**Hyldgaard et al., 2012 ; Bouyahya et al.,**

2019). Les HEs abaissent significativement les niveaux d'adénosine triphosphate (ATP) intracellulaire en perturbant la chaîne respiratoire au niveau membranaire. Ainsi, elles sont considérées comme de véritables candidats qui pourraient affecter la biosynthèse des lipides y compris les acides gras insaturés qui sont impliqués dans la fluidité membranaire tout en diminuant leur taux ou en affectant les enzymes responsables de leur synthèse, cela conduit à de légères perturbations au niveau de l'enveloppe cellulaire externe, traduisant ainsi des modifications structurales de la membrane (Bouyahya *et al.*, 2017). De plus, des récentes études ont montré que les HEs sont capables d'inhiber la pompe à efflux des bactéries, cette protéine joue un rôle majeur dans la résistance antibactérienne en empêchant l'entrée des composés toxiques dans le cytoplasme (Aljaafari *et al.*, 2021), ainsi que d'inhiber le quorum sensing (QS) qu'est aussi associé au développement de la résistance aux antibiotiques via l'induction de la formation des biofilms (Luís *et al.*, 2016 ; Luciardì *et al.*, 2016), en réduisant l'activité de la protéine réceptrice de l'actones d'acyl-homomésérine (AHL) et/ou de l'actones d'acyl-homomésérine synthase ou en inhibant la production de molécules de signal (QS) (Truchado *et al.*, 2015). Ce phénomène est le processus par lequel les cellules bactériennes communiquent entre elles, en détectant et en répondant à de petites molécules signal diffusibles, cette communication garantit de nombreuses fonctions cellulaires telles que l'expression des facteurs de virulence, la bioluminescence et la sporulation (Cai *et al.*, 2010 ; Trosko, 2016).

Il convient de noter que les HEs réagissent différemment avec les bactéries Gram positives et celles à Gram négatif, en raison de leurs structures de paroi cellulaire dissemblables; la couche de lipopolysaccharides (LPS) des bactéries Gram négatives agit comme une barrière pour les macromolécules et les composés hydrophobes tels que ceux présents dans les HEs (Pandey *et al.*, 2017).

## II.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont extraites de diverses sources botaniques, soit par des méthodes classiques, soit par des techniques modernes. Leur extraction dépend généralement de l'état et de la morphologie du matériel végétal utilisé pour déterminer sa qualité. Parmi les méthodes traditionnelles utilisées: hydrodistillation, entraînement à la vapeur d'eau, hydrodiffusion, extraction par solvant et macération (Basavegowda *et al.*, 2021).

### I.5.1. Hydrodistillation

C'est la technique d'extraction d'huile la plus utilisée et la plus ancienne qui inclut une source de chauffage, un contenant, un condenseur et un décanteur pour recueillir le condensat. Dans ce processus, le matériau est complètement immergé directement dans de l'eau bouillante. L'huile libérée par les glandes sébacées dans le tissu végétal en raison de l'effet de l'eau chaude et de la vapeur, et grâce au système de refroidissement par le courant d'eau, le mélange de vapeur d'eau et d'huile sera condensé. Le principe avantage de cette technique est que le matériau requis est distillé à une température inférieure à 100 °C (Tongnuanchan *et al.*, 2014).

### I.5.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Ce processus est réalisé en faisant passer de la vapeur sèche à travers le matériau et en lui donnant un temps de contact suffisant. Ensuite, un mélange de vapeur chaude est collecté et condensé (Séquin, 2017). Puis décanté dans l'essencier, avant d'être divisé en deux phases: une phase organique (HE) et une phase aqueuse [Hydrolat aromatique (HA)] (Raaman, 2006).

### I.5.3. Hydrodiffusion

Elle s'agit d'une variante de l'entraînement à la vapeur, qui consiste à pulser de la vapeur d'eau à de très basses pressions à travers la masse végétale du haut vers le bas (Boukhatem *et al.*, 2019).

### I.5.4. Extraction par solvant

Dans cette méthode, des solvants sont utilisés pour extraire les HEs des matériaux floraux tendres ou délicats qui ne peuvent pas être extraits par distillation à la chaleur ou à la vapeur. Dans ce processus, les matériaux sont traités avec un solvant et le mélange est chauffé doucement puis filtrer, suivie d'une évaporation des solvants. Le filtrat contient de la résine (rétinoïde) ou du béton (mélange de cire, parfum et HE). Ce dernier est mélangé avec de l'alcool pur et distillé à basse température pour dissoudre l'HE. Pendant le processus de distillation, l'alcool absorbe le parfum et s'évapore, laissant le résidu d'huile aromatique (Tongnuanchan *et al.*, 2014).

### II.5.5. Macération

Dans ce procédé, le matériau en poudre (grossièrement broyé) est placé dans un récipient contenant un solvant approprié (tels que de l'eau, de l'alcool ou de l'huile), et laissé



sous agitation fréquente jusqu'à ce que la matière soluble soit dissoute. La macération est utilisée pour l'extraction des composés thermolabiles. Cependant, ces méthodes traditionnelles présentent quelques inconvénients tels qu'une faible efficacité, un temps d'extraction prolongé, une perte de composés volatils et une dégradation des composés insaturés, d'où des méthodes alternatives et avancées ont été développées pour surmonter les problèmes ci-dessus (**Basavegowda et al., 2021**). Parmi ces techniques, on cite : l'extraction assistée par micro-ondes et l'extraction assistée par ultrasons.

#### **II.5.6. Extraction assistée par micro-ondes**

Dans cette méthode, les matériaux sont immergés dans un solvant et exposés à l'énergie des micro-ondes et lorsqu'ils sont chauffés, une haute pression est générée dans les parois cellulaires des matériaux (**Lucchesi et al., 2004**). L'échauffement interne de l'eau contenue dans la plante fait gonfler ses cellules et rompre les glandes oléifères. L'HE sera libérée et évaporée avec l'eau de la plante (**Boukhatem et al., 2019**). Un système de réfrigération installé à l'extérieur du four à micro-ondes permet une condensation en continue du distillat, puis le mélange est envoyé vers un appareil Clevenger où les composés aromatiques sont récupérés par simple séparation de phase (**Destandau, 2013**).

#### **II.5.7. Extraction assistée par ultrasons**

C'est une méthode simple, efficace et peu coûteuse qui utilise l'énergie des ondes ultrasonores pour l'extraction. C'est un procédé efficace et propre car il permet l'amélioration et la sélectivité des HEs en stimulant les émissions à partir des matières végétales (**Chemat et al., 2017**).

### **II.6. Conservation des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont généralement volatiles à température normale et doivent être conservées dans certains environnements (**Aljaafari et al., 2021**). Toute exposition à la chaleur, aux rayons ultraviolets (UV) et à l'humidité élevée peut entraîner leur détérioration par le processus d'oxydation et donc leur efficacité en tant qu'agent antimicrobien (**Turek et Stintzing, 2013 ; Aljaafari, 2021**). Ainsi la stabilité et la bioactivité des HEs peuvent être comprises en termes des métaux et la disponibilité de l'oxygène (**Turek et Stintzing, 2013**).

Afin d'éviter toute dégradation, les huiles essentielles doivent être conservées dans des flacons propres et secs en aluminium vernissé, en acier inoxydable ou en verre teinté anti-actinique, presque entièrement remplis et fermés de façon étanche, ainsi à l'abri de la chaleur

et de la lumière. Dans certains cas, les huiles essentielles peuvent être complétées par des antioxydants appropriés et dans ce cas, cet ajout doit être mentionné lors de la vente ou de l'utilisation de l'huile (**Valnet, 2000**).

Il a été rapporté que les outils d'encapsulation amélioreraient largement les problèmes de stabilité et réduisaient l'oxydation excessive, la perte de quantité, le changement d'arôme et les interactions avec d'autres produits chimiques (**Oroojalian et al., 2010 ; Donsi et al., 2011**).

## **II.7. Domaines d'utilisation des huiles essentielles**

Au cours de la dernière décennie, l'industrie des huiles essentielles est devenue un marché très actif et prospère (**Ramsey et al., 2020**). Les HEs sont des sources naturelles bien tolérées pour l'Homme (**Jansi et al., 2021 ; Tagde et al., 2021**). Elles sont connues pour de nombreux effets sur la santé, tels que leurs propriétés antibactériennes et antivirales (**Jimbo et al., 2009 ; Smith et al., 2011 ; Ali et al., 2015**).

Les huiles essentielles ont une grande variété d'utilisation et dépendent fortement des sources végétales (**Sandner et al., 2020**).

### **II.7.1. Industrie agroalimentaire**

Les consommateurs d'aujourd'hui recherchent des additifs alimentaires alternatifs, respectueux de l'environnement et plus naturels pour allonger la durée de conservation de leurs aliments (**Tongnuanchan et al., 2014**). Parmi les antimicrobiens naturels, l'HE est largement utilisée comme arôme alimentaire (**Stevanović et al., 2018**), ainsi comme une alternance durable dans les industries de la conservation et de l'emballage des aliments (**Artiga-Artigas et al., 2017 ; Muhammad et al., 2017 ; Oh, Yoon Ah et al., 2017**). En utilisant soit l'HE pure, soit des formulations de l'HE dans des divers contenants de stockage, tels que l'étain, le verre, le carton et le polyéthylène (**Pandey et al., 2014**). L'HE garantit une meilleure durée de conservation car elle peut maintenir plus longtemps son effet sur la production de spores fongiques (**Alviano et al., 2005 ; Silva et al., 2008 ; Masniyom et al., 2012**), tout en prolongeant la comestibilité et le maintient des qualités physico-chimiques, y compris les goûts et les odeurs des produits (**Tchinda et al., 2009 ; Belewu et al., 2012**).

### **II.7.2. Pharmacie**

Les huiles essentielles sont considérées comme une alternative sûre aux formes plus invasives de traitement pharmacologique en raison du concept d'être plus naturelles

(Ramsey *et al.*, 2020). Selon Sandner *et al.* (2020), les HEs sont connues pour exercer différentes effets tels que des effets antiallergiques, anticancéreux, anti-inflammatoires et immunomodulateurs. Ainsi, elles ont été considérées comme une alternative prometteuse pour faire face à la diminution du pipeline d'antibiotiques (Aljaafari, 2021).

### II.7.3. Agriculture

Les huiles essentielles végétales sont connues pour leurs propriétés insecticides et ont été utilisées dans des activités agricoles, y compris la lutte contre les ravageurs des produits agricoles stockés (Mendesil *et al.*, 2012). Ainsi, son utilisation comme larvicides, nématocides, pesticides, phytotoxiques et insectifuges sont également bien documentées (Nahar *et al.*, 2021).

La sécurité environnementale des huiles essentielles est la principale raison pour laquelle elles sont produites en masse et largement utilisées dans l'agriculture (Ebadollah *et al.*, 2020). Elles sont biodégradables et généralement sans danger pour les mammifères et les agents disponibles (Pavela *et al.*, 2016).

### II.7.4. Cosmétologie et parfumerie

Les industries des cosmétiques, des parfums et des savons sont les plus gros consommateurs des huiles essentielles, qui sont utilisées comme matière première de base dans la fabrication de ces produits cosmétiques en raison de leurs propriétés odoriférantes (Bessah et Benyoussef, 2015).

## II.8. Composition en huiles essentielles des plantes testées

Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressées à étudier les huiles essentielles des plantes suivantes : *Thymus vulgaris L.*, *Lavandula stoechas L.*, *Origanum vulgare L. ssp. Glandulosum*, *Melaleuca alternifolia*, *Rosmarinus officinalis L.*, *Syzygium aromaticum L.*, *Mentha piperita L.*, *Pistacia lentiscus L.* et *Eucalyptus globulus* qui sont illustrées dans la figure 3. Celles-ci, sont composées de diverses molécules bioactives tels que le thymol, l'eugénol, le p-cymène, le  $\alpha$ -pinène, le carvacrol, le menthol, le 1,8-cinéole, etc. Ces composés bioactifs sont reconnus d'avoir de nombreuses activités thérapeutiques (antibactériennes, anti-inflammatoires, antifongiques, anti-oxydants, etc) (tableau II).



*Rosmarinus officinalis L.*



*Thymus vulgaris L.*



*Eucalyptus globulus*



*Lavandula stoechas L.*



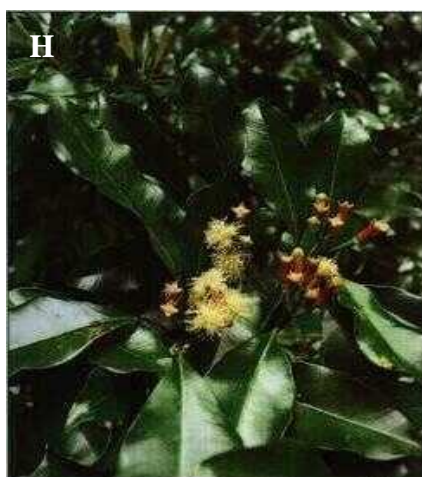
*Origanum glandulosum*



*Melaleuca alternifolia*



*Pistacia lentiscus L.*



*Syzygium aromaticum L.*



*Mentha piperita L.*

**Figure 3 :** Photographie de plantes des huiles essentielles étudiées. (A), (B), (C) (Goetz et Ghédira, 2012), (D) (Siddiqui et al., 2016), (E) (Mechergui et al., 2016), (F) (Anonyme 1), (G) (Milia et al., 2021), (H) (Iserin, 2001), (I) (Mahendran et Rahman, 2020).

Tableau II : Composés bioactifs et propriétés des huiles essentielles étudiées.

Huile essentielle	Composé bioactif	Propriété	Référence
<b>Huile de Thym</b> ( <i>Thymus vulgaris L.</i> )	thymol carvacrol $\gamma$ -terpinène $\alpha$ -pinène p-cymène	anti-inflammatoire, antibactérienne, antiseptique, antifongique, antibiofilm et expectorant	(Oliveira <i>et al.</i> , 2019 ; Kowalczyk <i>et al.</i> , 2020 ; Liu <i>et al.</i> , 2021)
<b>Huile de Lavande</b> ( <i>Lavandula stoechas L.</i> )	eucalyptol (1,8- cinéole) $\beta$ -pinène $\alpha$ -pinène	anti-inflammatoire et anticancéreuse	(Boukhatem <i>et al.</i> , 2020)
<b>Huile d'origan</b> ( <i>Origanum vulgare L.</i> <i>ssp. Glandulosum</i> )	thymol carvacrol $\gamma$ -terpinène p-cymène	antibactérienne, antifongique, antioxydant et insecticide	(Leyva-López <i>et al.</i> , 2017 ; Ali <i>et al.</i> , 2020)
<b>Huile d'arbre à thé</b> ( <i>Melaleuca alternifolia</i> )	terpinène-4-ol $\gamma$ -terpinène 1,8-cinéole	antibactérienne, antifongique, anti-inflammatoire et immunomodulateur	(Mucha et Witkowska, 2021)
<b>Huile de Romarin</b> ( <i>Rosmarinus officinalis L.</i> )	$\alpha$ -pinène 1,8-cinéole camphre	antiseptique, anti-inflammatoire, antimicrobienne, antioxydants, antidiabétique et hépatoprotecteur	(Jiang <i>et al.</i> , 2011 ; Agatonovic-Kustrin <i>et al.</i> , 2019 ; Sadeh <i>et al.</i> , 2019)
<b>Huile de clou de girofle</b> ( <i>Syzygium aromaticum L.</i> )	eugénol acétate d'eugényle $\beta$ -caryophyllène $\alpha$ -humulène	antimicrobienne et antioxydants	(Batiha <i>et al.</i> , 2020 ; Haro-González <i>et al.</i> , 2021)
<b>Huile de menthe poivrée</b> ( <i>Mentha piperita L.</i> )	menthol p-menthone	antibactérienne, antiviral, antioxydants, anti-inflammatoire, antiallergique et cicatrisant	(Witkowska et Sowińska, 2013 ; Falleh <i>et al.</i> , 2020 ; Łyczko <i>et al.</i> , 2020)
<b>Huile de lentisque</b> ( <i>Pistacia lentiscus L.</i> )	$\alpha$ -pinène myrcène linalol camphène	antioxydants, antimicrobienne et anti-inflammatoire	(Papageorgiou <i>et al.</i> , 1991 ; Cherbal <i>et al.</i> , 2012 ; Rodríguez- Pérez <i>et al.</i> , 2013 ; Vogiatzoglou <i>et al.</i> , 2015)
<b>Huile d'eucalyptus</b> ( <i>Eucalyptus globulus</i> )	1,8-cinéole spatulénol $\alpha$ -terpinéol	antibactérienne, anti-inflammatoire, antioxydants, antiviral insecticide, cicatrisant, analgésique et traite les maladies respiratoires	(Barbosa <i>et al.</i> , 2016; Dhakad <i>et al.</i> , 2018)

# *Matériel et méthodes*

## Matériel et méthodes

### I. Matériel

#### I.1. Matériel végétal

Dans ce travail, des huiles essentielles de neuf plantes aromatiques sont étudiées. Il s'agit de *Thymus vulgaris L.*, *Lavandula stoechas L.*, *Rosmarinus officinalis L.*, *Syzygium aromaticum L.*, *Mentha piperita L.*, *Pistacia lentiscus L.*, *Eucalyptus globulus* (achetées chez l'entreprise EAZY LIFE MED: Fabrication du matériel et produits pharmaceutiques de Boudjellil-Bejaia). L'*Origanum vulgare L. ssp. Glandulosum* et *Melaleuca alternifolia* sont achetées à la pharmacie. Les photographies de ces HEs sont présentées dans la figure 4. La description botanique des plantes étudiées est présentée dans le tableau III.



Figure 4 : Photographies des huiles essentielles étudiées.

**Tableau III** : Caractéristiques botaniques des plantes aromatiques étudiées.

Classification botanique	Description botanique des feuilles
<p>Règne : Plantae            Division : Magnoliophyta            Classe: Magnoliopsida            Ordre: Lamiales            Famille: Lamiaceae            Genre: <i>Lavandula</i>            Espèce : <i>Lavandula stoechas</i> L.  <b>(Siddiqui et al., 2016).</b></p>	<p>La lavande papillon se présente sous forme d'un arbrisseau pouvant atteindre un mètre de hauteur. Ses feuilles sont persistantes, étroites, opposées de couleur grisâtres <b>(Mohammedi et Atik, 2012).</b></p>
<p>Règne : Plantae            Sous-règne : Tracheobionta            Embranchement : Magnoliophyta            Sous-embranchement : Magnoliophytina            Classe : Magnoliopsida            Sous-classe : Asteridae            Ordre : Lamiales            Famille : Lamiaceae            Genre : <i>Thymus</i>            Espèce : <i>Thymus vulgaris</i> L.  <b>(Goetz et Ghédira, 2012).</b></p>	<p>Le thym est un sous-arbrisseau touffu, vivace et aromatique pouvant atteindre de 20 à 30 cm de hauteur. Ses feuilles persistantes de couleur vert grisâtre, subsessiles, opposées, oblongues-lancéolées à linéaires, mesurant de 3 à 12 mm de long et de 0.5 à 3 mm de large et ayant une forme générale d'aiguille <b>(Prasanth et al., 2014).</b></p>
<p>Règne : Végétal            Embranchement : Spermaphytes            Sous-embranchement: Angiospermes            Classe : Dicotylédonae            Sous classe : Astéridae            Ordre : Lamiales            Famille : Lamiaceae            Genre : <i>Origanum</i>            Espèce : <i>Origanum glandulosum</i> Desf.  <b>(Quezel et Santa, 1963; Gausson et al., 1982).</b></p>	<p>L'origan est une plante herbacée. Ses feuilles sont opposées, ovales à elliptiques, courtement pétioolées, de petites taille (0,5 à 2,5 cm de long sur 0,5 à 1 cm de large) entières, de couleur grise feutrée car recouvertes de poils sur les deux faces <b>(Boullard, 2001).</b></p>
<p>Règne : Plantae            Sous-règne : Tracheobionta            Division : Magnoliophyta            Classe : Magnoliopsida            Ordre : Myrtales            Famille : Myrtaceae            Genre : <i>Melaleuca</i>            Espèce : <i>Melaleuca alternifolia</i>  <b>(Maiden et Betche Cheel, 1924).</b></p>	<p>L'arbre à thé est un arbuste ou arbrisseau d'aspect délicat, à petites feuilles linéaires persistantes et épineuses <b>(Tocaven, 2011).</b></p>
<p>Règne : Plantae            Sous règne : Tracheobionta            Embranchement : Spermatophyta            Sous embranchement : Magnoliophyta            Classe : Magnoliopsida            Sous classe : Asteridae            Famille: Lamiaceae            Ordre: Lamiales            Genre: <i>Rosmarinus</i>            Espèce: <i>Rosmarinus officinalis</i> L.  <b>(Begum et al., 2013).</b></p>	<p>Le Romarin est un arbuste de 50 cm à 1 m de haut et plus, rameux, sempervirent et aromatique. Ses feuilles opposées, linéaires, entières et oblongues, mesurant 3 à 5 cm, persistantes et coriaces, enroulées par les bords, brillantes, vertes et chagrinées à la face supérieure, gris feutré et tomenteuses au revers du limbe <b>(Jullien, 2016).</b></p>



<p>Règne : Plantae  Sous-règne : Tracheobionta  Embranchement : Magnoliophyta  Sous-embranchement : Magnoliophytina  Classe : Magnoliopsida  Sous-classe : Rosidae  Ordre : Myrtales  Famille : Myrtaceae  Genre : <i>Syzygium</i>  Espèce : <i>Syzygium aromaticum</i> L.  <b>(Goetz et Ghédira, 2012).</b></p>	<p>Les clous de girofle sont des arbres de 15 m de haut avec une couronne pyramidale dense. Leurs feuilles sont placées face à face et ont une forme elliptique-lancéolée <b>(Wińska et al., 2019).</b></p>
<p>Règne : végétal  Embranchement : Spermaphytes  Sous-embranchement: Angiospermes  Classe : Eudicotylédones  Sous-classe : Rosidées  Ordre : Sapindales  Famille : Anacardiaceae  Genre : <i>Pistacia</i>  Espèce : <i>Pistacia lentiscus</i> L.  <b>(Guignard, 2001; Spichiger et al., 2019).</b></p>	<p>Le lentisque est un arbrisseau dioïque de 1 à 3 mètres de hauteur <b>(Rameau et al., 2008)</b>. Ses feuilles sont persistantes, paripennées <b>(Boullard, 2001)</b>, composées, alternes, à pétioles étroitement ailés, à 4-10 folioles, petites disposées en deux rangées <b>(Rameau et al., 2008)</b>.</p>
<p>Règne : Plantae  Division : Magnoliophyta  Classe : Magnoliopsida  Ordre : Lamiales  Famille : Lamiaceae  Genre : <i>Mentha</i>  Espèce : <i>Mentha piperita</i> L.  <b>(Quezel et Santa, 1963).</b></p>	<p>La Menthe poivrée est une plante herbacée vivace. Ses feuilles sont de 4 à 5 cm de long, sombres ou vert clair, ovales, opposées, dentelées, à court pétiole avec des bords dentés <b>(Singh et al., 2015)</b>.</p>
<p>Règne : Plantae  Sous-règne : Tracheobionta  Division : Magnoliophyta  Classe : Magnoliopsida  Sous-classe : Rosidae  Ordre : Myrtales  Famille : Myrtaceae  Genre : <i>Eucalyptus</i>  Espèce : <i>Eucalyptus globulus</i>  <b>(Ghedira et al., 2008).</b></p>	<p>Les eucalyptus sont de grands arbres de 40 à 50 m de hauteur <b>(Traore et al., 2013)</b>. Leurs feuilles sont persistantes, coriaces, glabres mais différentes en fonction de l'âge des rameaux: les jeunes rameaux possèdent des feuilles larges, courtes, opposées, sessiles, ovales, bleu-blanc et cireuses, avec un vrai limbe nervuré. Les rameaux plus âgés possèdent des feuilles aromatiques, falciformes, longues de 12 à 30 cm, étroites, pointues, épaisses, vert foncé, courtement pétiolées, alternes et pendantes verticalement <b>(Goetz et Ghedira, 2012)</b>.</p>

## I.2. Souches bactériennes

Dans cette étude, nous avons utilisé huit souches bactériennes, responsables des mammites, afin d'évaluer l'effet antibactérien des neuf huiles essentielles étudiées. Parmi ces souches cibles, cinq sont isolées à partir des mammites et les trois autres sont des souches de référence (tableau IV) fournis par le Laboratoire de Microbiologie Appliquée (LMA) de l'université de Bejaia.

**Tableau IV** : Tableau représentatif des différentes souches testées.

Souche	Référence
<i>E. coli</i>	ATCC 25922
<i>E. coli 1</i>	Souches isolées à partir des mammites bovines
<i>E. coli 2</i>	
<i>E. coli 3</i>	
<i>E. coli 4</i>	
<i>K. pneumoniae</i>	*E47
SARM	ATCC 43300
<i>S. aureus</i>	Souches isolées à partir des mammites bovines

ATCC : American Type Culture Collection ;

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline;

\*Résistant aux quinolones.

## II. Méthodes

### II.1. Evaluation de l'activité antibactérienne

Les souches cibles sont d'abord repiquées par la méthode de stries sur des boîtes de Pétri contenant la gélose Plat Count Agar (PCA) (Annexe I), puis incubées à 37 °C pendant 24 heures dans le but d'obtenir une culture jeune. Une ou plusieurs colonies bien isolées de chaque culture pure sont prélevées et transférées dans l'eau physiologique (NaCl 0,9 %) afin de préparer une suspension bactérienne de  $10^8$  unités formant colonie (UFC)/mL qui correspond aux normes de McFarland équivalentes à une densité optique de 0,08 à 0,1 à une longueur d'onde de 600 nm.

#### II.1.1. Evaluation qualitative (Aromatogramme)

L'activité antibactérienne des HEs étudiées est évaluée par la technique de diffusion sur disque selon la méthode décrite par (Celiktas *et al.*, 2007).

Des disques de papier Wattman (D = 6 mm) stériles imprégnés de 10 µL d'HE diluée dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) à une concentration de 25 mg/mL sont déposés à la surface d'une gélose Mueller Hinton (MH) préalablement ensemencée par écouvillonnage à raison de  $10^7$  UFC/mL. Les boîtes de Pétri sont mises au réfrigérateur à 4 °C pendant 2 heures pour une pré-diffusion (Bansemir *et al.*, 2006). Après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, des zones d'inhibition autour des disques sont mesurées en millimètres (Karabay-Yavasoglu *et al.* 2007).

Afin de valider les résultats, des témoins sont utilisés :

- **Témoin négatif** : dépôt des disques de papier Wattman imprégnés de 10  $\mu$ L de DMSO.
- **Témoin positif** : dépôt des disques d'antibiotique (spiramycine) et des standards d'HE (l'eugénol et le thymol), à 25 mg/mL.

## II.1.2. Evaluation quantitative

### II.1.2.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la plus faible concentration en composé bioactif qui inhibe toute croissance visible d'un microorganisme (Chebaibi *et al.*, 2016). La CMI des huiles essentielles *vis-à-vis* les souches cibles est déterminée par la méthode de dilution en milieu solide décrite par Tuncel et Nergiz (1993).

Une série de boîtes de Pétri est coulée par la gélose Mueller Hinton avec des concentrations finales des huiles essentielles croissantes allant de 0,1 à 100  $\mu$ g/mL. L'ensemencement par spot des différentes souches cibles, est réalisé à partir de  $10^6$  UFC/mL par prélèvement de 10  $\mu$ L, soit  $10^4$  UFC/spot (CA-SFM, 2022). Un témoin négatif sans extrait (l'extrait est remplacé par du DMSO) est réalisé. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, une vérification d'une croissance ou non au niveau du point d'application du spot est effectué. La CMI correspond à la première concentration dépourvue de croissance bactérienne (Moroh *et al.*, 2008).

### II.1.2.2. Détermination des concentrations minimales bactéricides

La concentration minimale bactéricide (CMB) est définie comme étant la plus faible concentration en composé bioactif permettant de détruire 99,99 % de la concentration cellulaire initial des bactéries (soit 0,01 % de survivants) (Caquet, 2004).

Des tubes de bouillon Mueller Hinton sont ensemencés par des morceaux de géloses raclés là où aucune croissance n'est observée sur la boîte de Pétri. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, une présence ou non d'un trouble est mentionnée. La CMB correspond à la première concentration où aucun trouble n'est observé.

**II.2. Etude statistique**

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart type. Les données sont analysées en utilisant une analyse de variance (ANOVA). Des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre les moyennes sont déterminées par le test LSD (Low Significant Difference). Le logiciel utilisé est STATISTICA 5.5.

# *Résultats et discussion*

## Résultats et discussion

### I. Evaluation qualitative (Aromatogramme)

L'activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées est estimée en termes des diamètres des zones d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester *vis-à-vis* de cinq bactéries pathogènes responsables de la mammite bovine ainsi que trois souches de références. Les résultats obtenus sont enregistrés dans le tableau V et illustrés dans la figure 5.

L'échelle de l'estimation de l'activité antibactérienne est donnée par **Abboud *et al.* (2015)**, comme suit :

- Le diamètre de la zone d'inhibition > 20 mm : sensible.
- Le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 10 et 20 mm : intermédiaire.
- Le diamètre de la zone d'inhibition < 10 mm : résistant.

**Tableau V:** Résultats de l'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées *vis-à-vis* les souches testées.

Souche	Zone d'inhibition (mm) des HEs (250 µg/disque)								
	Arbre à thé	Clou de girofle	Eucalyptus	Lavande	Lentisque	Menthe poivrée	Origan	Romarin	Thym
<i>E. coli</i>	11 ± 1,0 d	14 ± 1,0 c	9,5 ± 0,5 e	8,5 ± 0,5 ef	8,0 ± 0,0 f	9,0 ± 0,0 ef	24 ± 0,0 a	9,25 ± 1,25 ef	21 ± 1,0 b
<i>E. coli 1</i>	11,5 ± 2,0 d	13,5 ± 0,5 c	9,25 ± 0,25 e	9,25 ± 0,25 e	00,0 ± 0,0 f	9,5 ± 1,5 e	19,5 ± 0,5 b	9,0 ± 0,0 e	27,5 ± 1,5 a
<i>E. coli 2</i>	9,0 ± 0,0 d	15,0 ± 0,0 c	8,0 ± 0,0 ef	8,0 ± 1,0 ef	6,5 ± 0,5 fg	8,5 ± 0,5 de	20 ± 1,0 b	7,5 ± 0,5 f	21,5 ± 0,5 a
<i>E. coli 3</i>	20,5 ± 2,5 c	17,5 ± 2,5 d	7,5 ± 0,5 fg	11,25 ± 1,25 e	6 ± 0,0 g	8,25 ± 1,25 f	26 ± 1,0 b	9,0 ± 0,0 f	28,75 ± 0,75 a
<i>E. coli 4</i>	12 ± 2,0 c	14 ± 0,0 b	9,0 ± 0,0 ef	10,5 ± 0,5 cde	8,0 ± 0,0 f	10,25 ± 0,75 de	25,5 ± 0,5 a	11 ± 1,0 cd	26 ± 2,0 a
<i>K. pneumoniae</i>	13,5 ± 0,5 b	15,75 ± 0,75 b	9,0 ± 0,0 efg	11 ± 1,0 de	10 ± 0,0 def	5,5 ± 0,5 h	24 ± 4,0 a	8,5 ± 1,5 fg	25,5 ± 0,5 a
<i>SARM</i>	6,5 ± 0,5 gh	13 ± 0,0 c	8,5 ± 0,5 df	6,5 ± 0,5 gh	5,5 ± 0,5 hi	9,5 ± 0,5 d	18 ± 1,0 b	5 ± 0,5 i	23,5 ± 1,5 a
<i>S. aureus</i>	00 ± 0,0 c	16 ± 1,0 b	00 ± 0,0 c	00 ± 0,0 c	00 ± 0,0 c	00 ± 0,0 c	16,5 ± 0,5 b	00 ± 0,0 c	25,5 ± 0,5 a

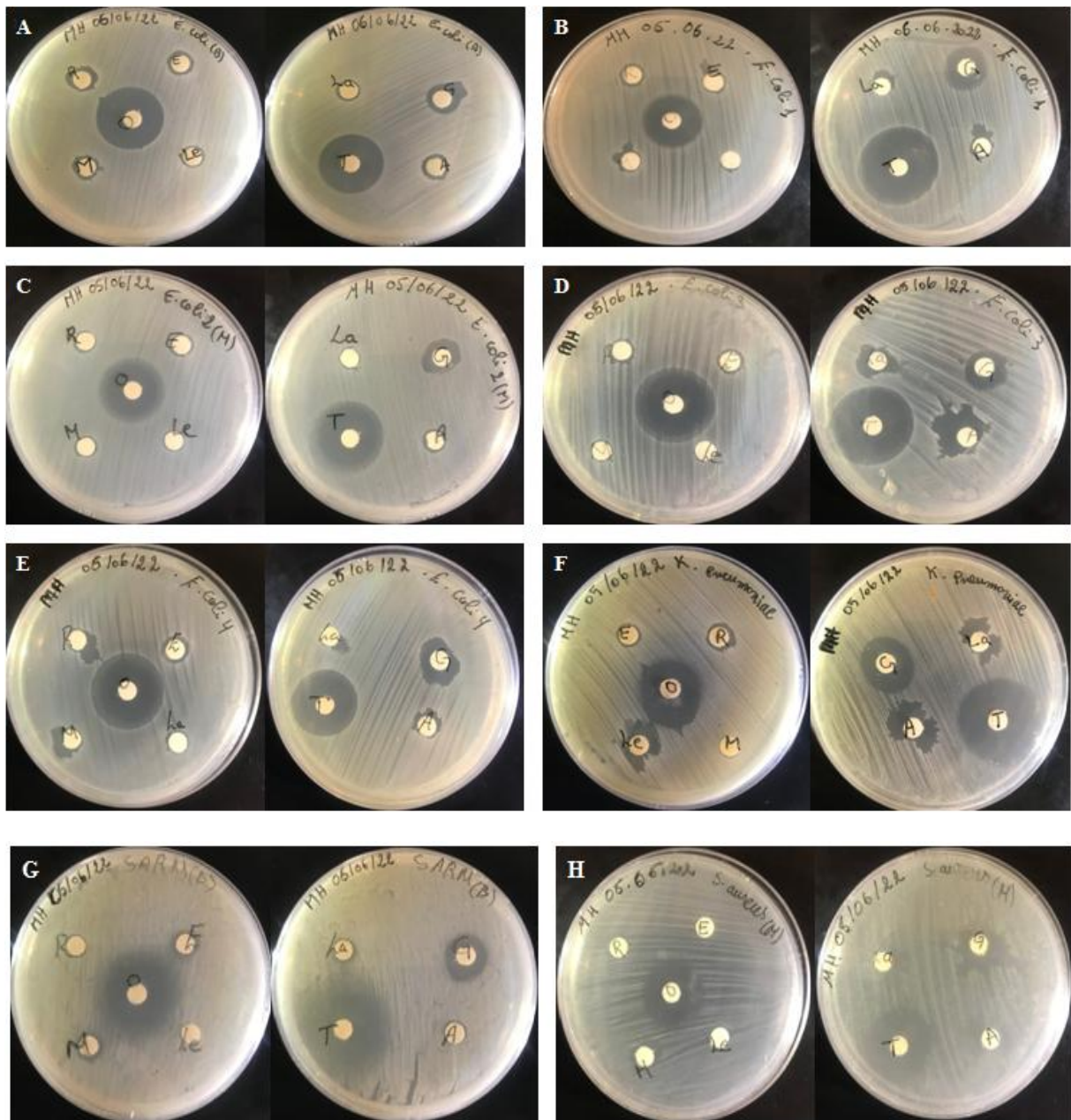
Les valeurs portant les mêmes lettres sur la même ligne ne présentent aucune différence significative ( $p < 0,05$ ).

L'étude statistique a montré une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les huiles essentielles de *Thymus vulgaris L.*, d'*Origanum vulgare L. ssp. Glandulosum* et de *Syzygium aromaticum L.*, vis-à-vis de toutes les souches d'*Escherichia coli* testées. Les HEs du thym et d'origan présentent une meilleure activité inhibitrice à l'encontre des cinq souches d'*E. coli* avec des zones d'inhibitions allant de 21 à 28,75 mm pour le thym et de 19,5 à 26 mm pour l'origan. La zone d'inhibition la plus large est obtenue par l'HE du thym vis-à-vis d'*E. coli* 3, cette souche s'est avérée être sensible également à l'HE de *Melaleuca alternifolia* dont le diamètre d'inhibition est de 20,5 mm. Quant à l'HE de clou de girofle, elle possède une activité intermédiaire à l'égard de toutes les souches d'*E. coli* avec des zones d'inhibition allant de 13,5 à 17,5 mm. L'HE de *Pistacia lentiscus L.* s'est montrée la moins active avec des diamètres d'inhibition allant de 6 à 8 mm, à l'exception d'*E. coli* 1 où aucune zone d'inhibition n'est observée.

Concernant *K. pneumoniae*, les meilleurs effets inhibiteurs sont enregistrés par les HEs de *Thymus vulgaris L.* et d'*Origanum vulgare L. ssp. Glandulosum* avec des zones d'inhibition de 25,5 mm et 24 mm, respectivement. Une activité intermédiaire est enregistrée par les HEs de *Syzygium aromaticum L.* et de *Melaleuca alternifolia* vis-à-vis de cette souche avec aucune différence significative ( $p < 0,05$ ). La zone d'inhibition la plus étroite est obtenue par l'HE de *Mentha piperita L.* avec un diamètre de 5,5 mm.

Les HEs de *Thymus vulgaris L.* et d'*Origanum vulgare L. ssp. Glandulosum* ont exercé un effet antibactérien à l'égard du SARM avec des zones d'inhibition de 23,5 mm et 18 mm, respectivement, avec une différence significative ( $p < 0,05$ ). D'autre part, l'HE de *Syzygium aromaticum L.* a montré une activité intermédiaire envers cette souche avec une zone d'inhibition de 13 mm. Une faible activité est notée par les HEs de *Rosmarinus officinalis L.* et de *Pistacia lentiscus L.* avec de faibles diamètres des zones d'inhibition de 5 mm et 5,5 mm, respectivement avec une différence non significative ( $p < 0,05$ ).

Aucune différence significative ( $p < 0,05$ ) n'est observée entre les HEs de *Melaleuca alternifolia*, *Eucalyptus globulus*, *Lavandula stoechas L.*, *Pistacia lentiscus*, *Mentha piperita L.* et *Rosmarinus officinalis L.* à l'égard de *Staphylococcus aureus* qui s'est montrée résistante à ces cinq huiles essentielles. Tandis que les HEs de *Thymus vulgaris L.*, d'*Origanum vulgare L. ssp. Glandulosum* et de *Syzygium aromaticum L.* exercent une meilleure activité avec des zones d'inhibitions allant de 16 à 25,5 mm. La zone d'inhibition la plus large est obtenue avec l'HE de thym.



**Figure 5 :** Photographies de quelques zones d'inhibitions obtenues par les huiles essentielles étudiées contre les souches cibles: *E. coli* (A), *E. coli* 1 (B), *E. coli* 2 (C), *E. coli* 3 (D), *E. coli* 4 (E), *K. pneumoniae* (F), SARM (G) et *S. aureus* (H).

R: romarain, E: eucalyptus, M: menthe poivrée, Le: lentisque, O: origan, La: lavande, G: clou de girofle, T: thym, A: arbre à thé.



Les résultats montrés dans le tableau VI indiquent que les témoins positifs utilisés présentent une activité antibactérienne *vis-à-vis* de toutes les souches testées. Les zones les plus larges sont obtenues par l'antibiotique contre *E. coli* 3 (20 mm) et par l'eugénol *vis-à-vis* d'*E. coli* (13,5 mm). Les HEs de *Thymus vulgaris L.* et d'*Origanum vulgare L. ssp. Glandulosum* marquent une forte activité inhibitrice contre les souches d'*E. coli* en comparant à l'ATB avec une différence significative ( $p < 0,05$ ). La spiramycine présente une meilleure activité inhibitrice (20 mm) que celle de l'HE de *Syzygium aromaticum L.* à l'égard d'*E. coli* 3 (17,5 mm), avec une différence significative ( $p < 0,05$ ). Or que, *vis-à-vis* d'*E. coli* 4 cette huile essentielle a marqué une meilleure activité (14 mm) que cet antibiotique (7,5 mm).

**Tableau VI :** Résultats de l'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne des témoins positifs *vis-à-vis* les souches testées.

Souche	Zone d'inhibition (mm) des témoins positifs (250 µg/disque)		
	Spiramycine	Eugénol	Thymol
<i>E. coli</i>	14,5 ± 0,5 a	13,5 ± 1,5 a	12,5 ± 0,5 b
<i>E. coli</i> 1	13,0 ± 1,0 a	9,75 ± 0,75 b	9 ± 0,0 b
<i>E. coli</i> 2	10,75 ± 0,25 b	11,75 ± 0,75 a	10,75 ± 0,25 b
<i>E. coli</i> 3	20 ± 1,0 a	13 ± 1,0 b	13,75 ± 0,75 b
<i>E. coli</i> 4	7,5 ± 0,5 c	12 ± 1,0 a	10 ± 0,0 b
<i>K. pneumoniae</i>	7,5 ± 0,5 c	13,75 ± 0,75 a	11,5 ± 0,5 b
SARM	27,5 ± 0,5 a	7,5 ± 0,5 c	9 ± 0,0 b
<i>S. aureus</i>	28,5 ± 1,5 a	11,5 ± 0,5 b	12,5 ± 2,5 b

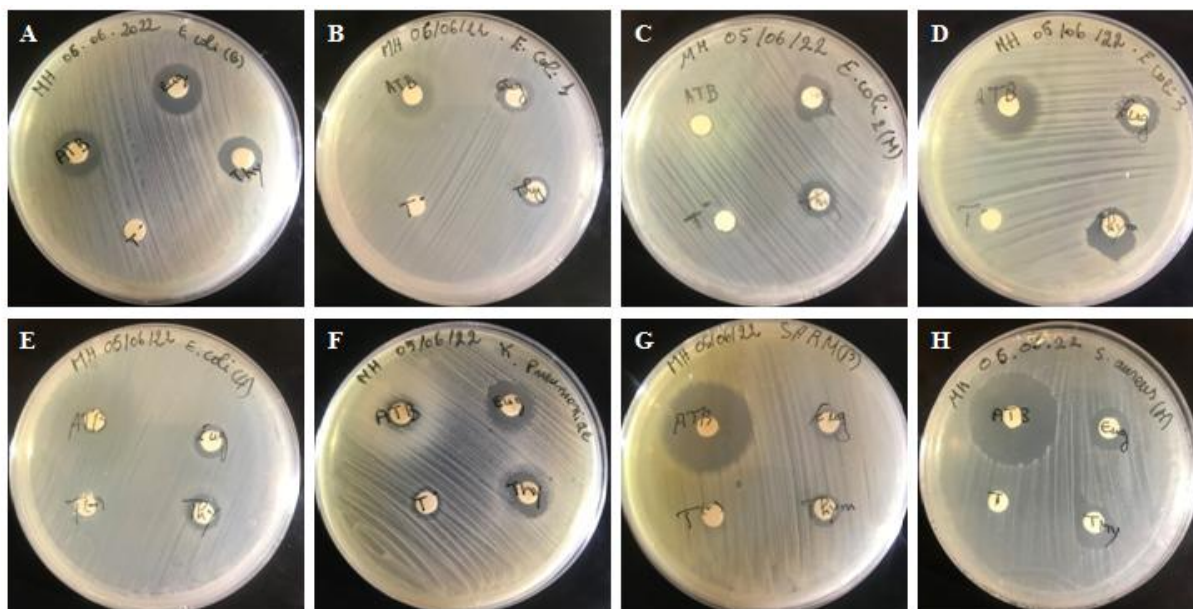
\*A noter que le témoin négatif (DMSO) n'a montré aucune activité.

Les valeurs portant les mêmes lettres sur la même ligne ne présentent aucune différence significative ( $p < 0,05$ ).

L'eugénol exerce un effet inhibiteur avec une zone d'inhibition de 13,75 mm contre *K. pneumoniae*, avec des différences significatives entre ce témoin, le thymol et la spiramycine. On note que les HEs de thym, d'origan et de clou de girofle présentent une forte activité par rapport aux témoins positifs à l'égard de cette souche.

Le SARM s'est avéré être sensible à l'égard de la spiramycine (27,5 mm) comparant aux HEs de thym, d'origan et de clou de girofle.

La spiramycine exerce une excellente activité inhibitrice contre la souche *S. aureus* (28,5 mm) avec une différence significativement ( $p < 0,05$ ) avec les HEs de thym, d'origan et de clou de girofle. A l'égard de cette souche, l'eugénol et le thymol sont actifs, contrairement aux HEs de l'arbre à thé, l'eucalyptus, la lavande, le lentisque, la menthe poivrée et le romarin où aucune activité n'est observée *vis-à-vis* de *S. aureus*.



**Figure 6 :** Photographies des zones d'inhibitions des témoins positifs (spiramycine, eugénol, thymol) et du témoin négatif (DMSO) testés contre les souches cibles.

*E. coli* (A), *E. coli* 1 (B), *E. coli* 2 (C), *E. coli* 3 (D), *E. coli* 4 (E), *K. pneumoniae* (F), SARM (G) et *S. aureus* (H).

D'après l'analyse des résultats obtenus, les HEs de *Thymus vulgaris L.* et d'*Origanum vulgare L. ssp. Glandulosum* exercent une meilleure activité antibactérienne *vis-à-vis* d'*E. coli*, contrairement à ce qui est rapporté par **Fratini et al. (2014)** où aucune activité antibactérienne n'est observée. **Sokovic et al. (2008)** ont rapporté que l'HE de *Thymus vulgaris L.* a une meilleure zone d'inhibition (30 mm) que la streptomycine (20 mm) contre certaines bactéries pathogènes de l'Homme telles que *S. aureus*, *S. epidermis* et *E. coli*. Les HEs de la lavande, selon la même étude, ont une zone d'inhibition plus faible (6 mm) par rapport aux HEs de thym et à l'antibiotique témoin (streptomycine). Ces résultats sont cohérents avec les résultats obtenus dans notre étude où l'HE de thym a enregistré une meilleure activité antibactérienne que la spiramycine *vis-à-vis* les souches d'*E. coli* et *S.*

*aureus* isolées de la mammite bovine. Tandis que la lavande présente une faible activité antibactérienne par rapport à l'HE de thym et l'antibiotique spiramycine.

**Behbahani et al. (2019)** ont enregistré une activité antibactérienne de l'HE de *Syzygium aromaticum* L. avec des zones d'inhibition de 20,5 mm et 29,5 mm *vis-à-vis* d'*E. coli* et *S. aureus*, respectivement. En comparant à nos résultats, une activité intermédiaire est enregistrée à l'égard de toutes les souches testées. Dans une étude menée par **Ginting et al. (2021)**, il a été constaté que l'HE de clou de girofle était potentiellement active contre *E. coli* et *K. pneumoniae*. A une concentration de 10 %, des zones d'inhibitions de 17 mm et 15 mm ont été obtenues à l'égard de ces deux souches respectivement. Ces résultats corroborent avec les valeurs enregistrées dans notre étude. **Bajalan et al. (2017)** ont rapporté que les sept HES iraniennes de *Rosmarinus officinalis* L. ont montré une activité antibactérienne contre *S. aureus*. Concernant l'HE de *Melaleuca alternifolia* contre *E. coli*, une activité intermédiaire (12 mm) a été trouvée par **Zhang et al. (2018)**, ce qui concorde avec nos résultats.

Contrairement à nos résultats, **Bachheti (2015)** a montré que l'HE d'*Eucalyptus globulus* exerce une bonne activité antibactérienne *vis-à-vis* de *S. aureus* (28 mm) et de *K. pneumoniae* (24,5 mm). Selon **Rakhshander et al. (2011)**, l'activité antibactérienne des HES diffère d'un échantillon à l'autre. La quantité d'ingrédients actifs d'une même plante peut être affectée par la zone et la saison de cueillette. **Yuan et al. (2016)** rajoute que la composition des HES au sein d'une même espèce botanique est influencée par la méthode d'extraction et le mode de conservation.

La différence observée dans l'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne des HES étudiées est principalement liée à leur composition biochimique. Les monoterpènes hydrocarbonés présentes l'activité antibactérienne la plus faible, tandis que les composés oxygénés possèdent un potentiel plus élevé, en particulier les composés de type phénol comme le thymol et le carvacrol (**Abboud et al., 2015**). En effet, la bonne activité antibactérienne observée pour les HES de thym et d'origan est probablement liée à la présence de ces deux composés phénolique. Selon (**Walsh et al. (2003)**), le thymol et le carvacrol ont des effets inhibiteur et létal sur diverses souches dont *E. coli* et *S. aureus*, sur lesquelles elles provoquent des fuites d'ions potassium ( $K^+$ ).

Dans notre étude, l'HE de *Syzygium aromaticum* L. a présenté une activité intermédiaire, elle est probablement due à sa composition. En effet, le clou de girole contient

15 à 20 % d'HE, dominée par l'eugénol (70 à 85 %), l'acétate d'eugényle (15 %) et le  $\beta$ -caryophyllène (5 à 12 %) (Mittal *et al.*, 2014). L'eugénol est un composé bioactif ayant des activités bactéricides dommageables, tels que des trous de l'enveloppe et des déformations des cellules bactériennes (Walsh *et al.*, 2003).

## II. Evaluation quantitative

### II.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides

D'après les résultats de l'aromatogramme, seules les HEs de *Thymus vulgaris* L., d'*Origanum vulgare* L. ssp. *Glandulosum* et de *Syzygium aromaticum* L., ayant une bonne activité antibactérienne contre les bactéries testées, ont été considérées pour des études ultérieures, à savoir l'analyse quantitative (CMI et CMB). Les résultats sont résumés dans le tableau VII et illustrés dans les figures 7 et 8.

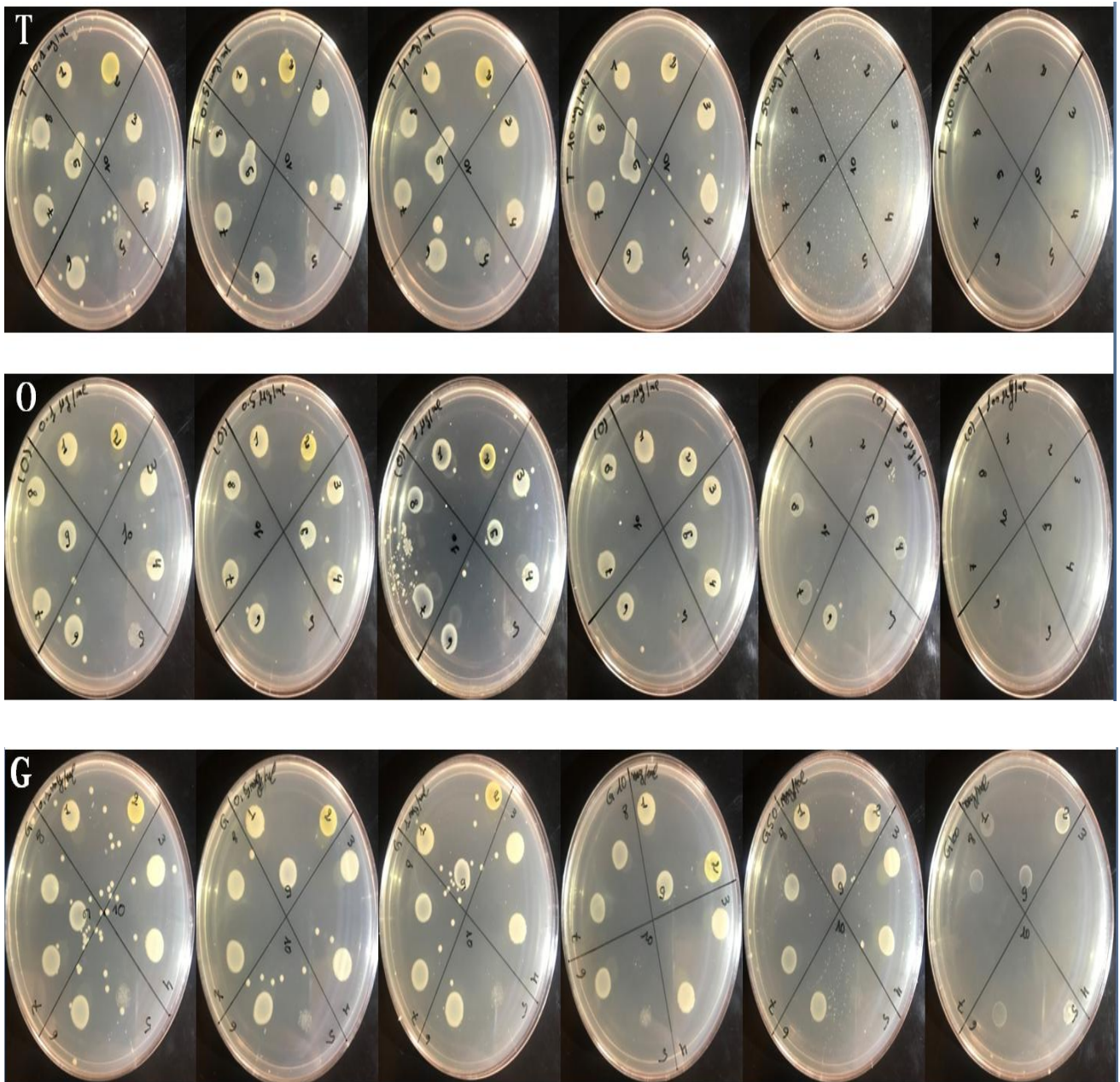
**Tableau VII** : Résultats de l'évaluation quantitative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées *vis-à-vis* les souches testées.

Souche	HE	CMI (µg/mL)	CMB (µg/mL)
<i>E. coli</i>	Thym	50	>100
	Origan	50	100
	Clou de girofle	>100	>100
<i>E. coli</i> 1	Thym	50	100
	Origan	100	>100
	Clou de girofle	>100	>100
<i>E. coli</i> 2	Thym	50	100
	Origan	100	>100
	Clou de girofle	100	>100
<i>E. coli</i> 3	Thym	50	100
	Origan	100	>100
	Clou de girofle	100	>100
<i>E. coli</i> 4	Thym	50	100
	Origan	100	>100
	Clou de girofle	100	>100
<i>K. pneumoniae</i>	Thym	50	50
	Origan	50	>100
	Clou de girofle	100	>100
SARM	Thym	50	50
	Origan	50	100
	Clou de girofle	>100	>100
<i>S. aureus</i>	Thym	50	50
	Origan	50	100
	Clou de girofle	>100	>100

L'HE de *Thymus vulgaris* L. exhibe une activité inhibitrice à une concentration de 50 µg/mL vis-à-vis de toutes les souches testées, ceci, concorde avec les résultats obtenus dans l'antibiogramme où des larges zones d'inhibition sont observées. A 100 µg/mL, une action bactéricide a été constatée à l'égard du SARM et de *S. aureus*. En revanche, pour les cinq souches d'*E. coli* testées, la CMB est supérieure à 100 µg/mL et pour *K. pneumoniae* elle est de 50 µg/mL.

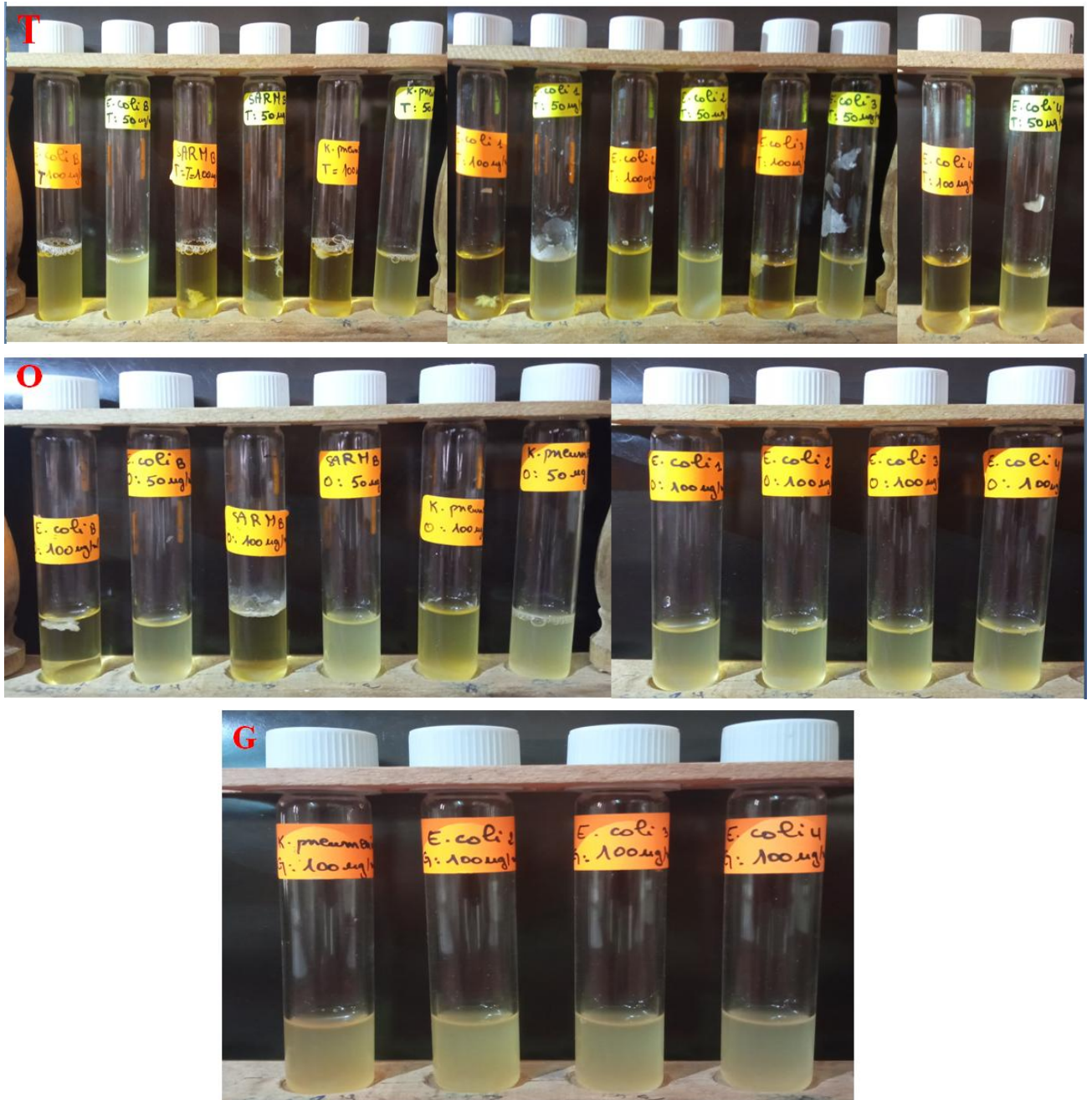
La CMI révélée par l'HE d'*Origanum vulgare* L. ssp. *Glandulosum* vis-à-vis d'*E. coli*, *K. pneumoniae*, SARM et *S. aureus* est de 50 µg/mL. Cependant, cette l'HE exerce une action bactéricide à une concentration de 100 µg/mL contre ces souches, à l'exception de *K. pneumoniae* où la CMB est supérieure à 100 µg/mL. Contre les souches d'*E. coli* isolées des mammites, l'HE de l'origan montre un effet inhibiteur à 100 µg/mL et bactéricide à une concentration supérieure à 100 µg/mL.

L'HE de *Syzygium aromaticum* L. présente la même activité inhibitrice à l'égard de *E. coli* 2, *E. coli* 3, *E. coli* 4 et *K. pneumoniae* avec une CMI de 100 µg/mL et une CMI supérieure à 100 µg/mL à l'encontre d'*E. coli*, *E. coli* 1, SARM et *S. aureus*. Cette HE a montré des CMB supérieures à 100 µg/mL vis-à-vis de toutes les souches cibles.



**Figure 7 :** Photographies des résultats des concentrations minimales inhibitrices des HEs de thym (T), d’origan (O) et de clou de girofle (G) vis-à-vis les souches cibles.

1: *E. coli*, 2: SARM, 3: *K. pneumoniae*, 6: *E. coli* 1, 7: *E. coli* 2, 8: *E. coli* 3, 9: *E. coli* 4.



**Figure 8** : Photographies des résultats des concentrations minimales bactéricides des HEs de thym (T), d'origan (O) et de clou de girofle (G) vis-à-vis les souches testées.



La CMI révélée par l'HE de *Thymus vulgaris L.* est inférieure à la CMI enregistrée pour cette HE étudiée par **Kovačević et al. (2021a)**, elle est de 3,125 mg/mL pour quatre souches d'*E. coli* et 6,25 mg/mL pour *Staphylococcus spp.* Ces auteurs ont également obtenu des CMBs de 6,25 et 12,5 mg/mL *vis-à-vis* des quatre souches d'*E. coli* et *Staphylococcus spp.*, respectivement. **Fournomiti et al. (2015)** ont enregistré un effet bactériostatique de l'HE de thym à l'égard de *K. pneumoniae* à 11,34 µg/mL, elle est inférieure à la CMI trouvée dans notre étude. **Al-Bayati (2008)** a rapporté des valeurs de CMI égales à 500 µg/mL pour *K. pneumoniae* et de 62,5 µg/mL pour *E. coli*, ce dernier résultat concorde avec le notre (CMI de 50 µg/mL).

Selon l'étude menée par **Ginting et al. (2021)**, l'HE de *Syzygium aromaticum L.* exerce un effet inhibiteur et bactéricide *vis-à-vis* d'*E. coli* à une concentration de 0,078 % (v/v). Aussi, une CMI de 0,078 % (v/v) et une CMB de 0,156 % (v/v) sont enregistrées *vis-à-vis* de *K. pneumoniae*. **Budri et al. (2015)** ont rapporté une CMI de 0,392 mg/mL par l'HE de clou de girofle à l'encontre de *S. aureus*, ces valeurs sont cohérentes avec nos résultats (CMI > 100 µg/mL).

L'étude menée par **Kovačević et al. (2021b)** sur l'HE d'*Origanum vulgare L. ssp. Glandulosum* a rapporté des valeurs de CMI (0,78 mg/mL) et de CMB (1,56 mg/mL) *vis-à-vis* les quatre souches d'*E. coli* testées, et des CMI et CMB respectivement de 3,123 mg/mL et 6,25 mg/mL contre *Staphylococcus spp.* **Žitek et al. (2021)** ont étudié l'efficacité de l'huile d'origan obtenue par extraction par fluide supercritique (SFE) et macération. Les valeurs de CMI obtenues dans leurs travaux variaient de 0,147 à 0,327 mg/mL pour *S. aureus* et de 0,728 à 2,484 mg/mL pour *E. coli*. Par rapport à nos résultats, les CMI et les CMB, déterminées par ces auteurs, sont supérieures. **Fournomiti et al. (2015)** ont enregistré des valeurs des CMI moyennes de 43,5 et 102,7 µg/mL pour cette HE à l'égard de *K. pneumoniae*, ces résultats sont cohérents avec les valeurs de CMI trouvées dans notre étude.

L'activité antibactérienne des HEs est attribuée aux monoterpènes particulièrement aux phénols (**Oussalah et al., 2006**). D'après **Lambert et al. (2001)** et **Bakkali et al. (2008)**, les composés phénoliques entraînent des dommages au niveau de la membrane externe et interne des bactéries, ce qui provoque une augmentation de la perméabilité membranaire aux protons et aux ions de potassium, une réduction des réserves de l'ATP intracellulaire, une perturbation de la force proton motrice et une dénaturation des protéines intracellulaires. Cependant, l'activité antibactérienne élevée des HEs de thym et d'origan peut être expliquée

par la présence des composés phénoliques : le thymol, le carvacrol et le p-cymène. Plusieurs études ont déjà montré que le thymol et le carvacrol ont une activité bactériostatique et bactéricide (**Veldhuizen *et al.*, 2006**). Des études antérieures ont démontré que le p-cymène peut renforcer les effets inhibiteurs du carvacrol lorsque ces deux composés sont utilisés ensembles (**Kovačević *et al.*, 2021b**). **Mihajilov-Krstev *et al.* (2010)** précisent que le p-cymène est hydrophobe et provoque un gonflement plus important de la membrane cytoplasmique, et que cet effet permet au carvacrol d'être plus facilement transporté dans la cellule. Il est nécessaire de noter que la composition et l'activité biologique des HEs sont fortement associées au procédé d'extraction, au type de solvant, à la composition phénotypique de la plante, aux conditions de stockage et au type de prétraitement (**Burt, 2004 ; Andrade *et al.*, 2017**). **Lopes *et al.* (2020)** rajoutent que même des facteurs externes tels que le climat, le sol, la gestion et le stade phénologique peuvent provoquer des variations dans la composition des métabolites secondaires, responsables de leurs propriétés biologiques et thérapeutiques.

*Conclusion*

## Conclusion

Les plantes médicinales demeurent une source crédible des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L., *Lavandula stoechas* L., *Origanum vulgare* L. ssp. *Glandulosum*, *Melaleuca alternifolia*, *Rosmarinus officinalis* L., *Syzygium aromaticum* L., *Mentha piperita* L., *Pistacia lentiscus* L. et *Eucalyptus globulus* vis-à-vis des bactéries isolées de la mammite bovine (*E. coli* 1, *E. coli* 2, *E. coli* 3, *E. coli* 4 et *S. aureus*) ainsi que vis-à-vis des souches bactériennes de références (*E. coli*, SARM et *K. pneumoniae*).

Les données expérimentales de l'aromatogramme ont démontré que les HEs de *Thymus vulgaris* L., d'*Origanum vulgare* L. ssp. *Glandulosum* et de *Syzygium aromaticum* L. possèdent une activité antibactérienne à l'égard de toutes les souches testées, en présentant de larges zones d'inhibition allant de 16,5 à 28 mm pour les HEs de thym et d'origan et des zones d'inhibition qui varient entre 13 à 17,5 mm pour l'HE de clou de girofle. L'activité antibactérienne des autres HEs testées semble être moins efficace.

D'après ces résultats, les HEs de *Thymus vulgaris* L., d'*Origanum vulgare* L. ssp. *Glandulosum* et de *Syzygium aromaticum* L. ont été choisies pour l'évaluation quantitative de l'activité antibactérienne; détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB). L'HE de thym a montré un effet bactériostatique à 50 µg/mL à l'égard de toutes les souches testées. Par contre un effet bactéricide n'a été observé qu'à 50 µg/mL pour *K. pneumoniae*, SARM et *S. aureus* et à 100 µg/mL pour les quatre souches d'*E. coli* isolées de la mammite bovine. Les plus faibles effets inhibiteur et bactéricide sont observés chez l'HE de clou de girofle ; selon les souches, les CMI sont  $\geq 100$  µg/mL et les CMB sont supérieures à 100 µg/mL.

Il ressort de cette étude que les HEs de *Thymus vulgaris* L. et d'*Origanum vulgare* L. ssp. *Glandulosum* peuvent contribuer à développer un traitement préventif à base de plantes aromatiques contre la mammite bovine pour réduire son incidence et diminuer l'application d'antibiotiques pendant la première phase du développement de cette maladie.

Ce travail reste préliminaire et d'autres études sont souhaitables afin de l'approfondir, il serait donc nécessaire de :

- Etudier l'activité antibactérienne *vis-à-vis* de la plupart des souches bactériennes incriminées dans les mammites bovines;
- Etablir des synergies des différentes HEs étudiées et aussi avec des ATB;
- Réaliser des tests de cytotoxicité pour éviter les doses toxiques en thérapeutique;
- Réaliser des tests *in vivo* pour évaluer l'activité antibactérienne des HEs de thym et d'origan contre la mammite bovine;
- Réaliser l'identification des composés bioactifs des huiles essentielles étudiées.

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

- Abboud, M., El Rammouz, R., Jammal, B., & Sleiman, M. (2015).** In vitro and in vivo antimicrobial activity of two essential oils *Thymus vulgaris* and *Lavandula angustifolia* against bovine *Staphylococcus* and *Streptococcus* mastitis pathogen. *Middle East J. Agric. Res*, 4, 975-983.
- AFNOR, 2000.** Normes française : huile essentielle. Paris, Association Française de Normalisation.
- Agatonovic-Kustrin, S., Kustrin, E., & Morton, D. W. (2019).** Essential oils and functional herbs for healthy aging. *Neural regeneration research*, 14(3), 441.
- Al-Bayati, F. A. (2008).** Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *Journal of ethnopharmacology*, 116(3), 403-406.
- Algharib, S. A., Dawood, A., & Xie, S. (2020).** Nanoparticles for treatment of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *Drug delivery*, 27(1), 292-308.
- Ali, B., Al-Wabel, N. A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, S. A., & Anwar, F. (2015).** Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(8), 601-611.
- Ali, H., Al-Khalifa, A. R., Aouf, A., Boukhebti, H., & Farouk, A. (2020).** Effect of nanoencapsulation on volatile constituents, and antioxidant and anticancer activities of Algerian *Origanum glandulosum* Desf. essential oil. *Scientific Reports*, 10(1), 1-9.
- Aljaafari, MN, AlAli, AO, Baqais, L., Alqubaisy, M., AlAli, M., Molouki, A., ... & Lim, SHE (2021).** Tour d'horizon des applications thérapeutiques potentielles des huiles essentielles. *Molécules*, 26 (3), 628.
- Almeida, R. A., & Oliver, S. P. (2001).** Interaction of coagulase-negative *Staphylococcus* species with bovine mammary epithelial cells. *Microbial Pathogenesis*, 31(5), 205-212.
- Alonso-Gato, M., Astray, G., Mejuto, J. C., & Simal-Gandara, J. (2021).** Essential Oils as Antimicrobials in Crop Protection. *Antibiotics* 2021, 10, 34.
- Alviano, W. S., Mendonça-Filho, R. R., Alviano, D. S., Bizzo, H. R., Souto-Pradrón, T., Rodrigues, M. L., ... & Souza, M. M. G. (2005).** Antimicrobial activity of Croton cajucara Benth linalool-rich essential oil on artificial biofilms and planktonic microorganisms. *Oral microbiology and immunology*, 20(2), 101-105.
- Andrade, K. S., Poncelet, D., & Ferreira, S. R. (2017).** Sustainable extraction and encapsulation of pink pepper oil. *Journal of Food Engineering*, 204, 38-45.
- Angane, M., Swift, S., Huang, K., Butts, C. A., & Quek, S. Y. (2022).** Essential Oils and Their Major Components: An Updated Review on Antimicrobial Activities, Mechanism of Action and Their Potential Application in the Food Industry. *Foods*, 11(3), 464.

- Artiga-Artigas, M., Acevedo-Fani, A., & Martín-Belloso, O. (2017).** Improving the shelf life of low-fat cut cheese using nanoemulsion-based edible coatings containing oregano essential oil and mandarin fiber. *Food control*, 76, 1-12.
- Atailia, I., & Djahoudi, A. (2015).** Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de géranium rosat (*Pelargonium graveolens* L'Hér.) cultivé en Algérie. *Phytothérapie*, 13(3), 156-162.
- Babra, C., Tiwari, J. G., Pier, G., Thein, T. H., Sunagar, R., Sundareshan, S., ... & Mukkur, T. (2013).** The persistence of biofilm-associated antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical bovine mastitis cases in Australia. *Folia microbiologica*, 58(6), 469-474.
- Bachheti, R. K. (2015).** Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from the leaves of *Eucalyptus globulus* collected from Haramaya University, Ethiopia. *Der Pharma Chemica*, 7(2), 209-214.
- Bajalan, I., Rouzbahani, R., Pirbalouti, A. G., & Maggi, F. (2017).** Antioxidant and antibacterial activities of the essential oils obtained from seven Iranian populations of *Rosmarinus officinalis*. *Industrial crops and products*, 107, 305-311.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. et Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46(2), 446–475.
- Bansemir, A., Blume, M., Schröder, S., & Lindequist, U. (2006).** Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*, 252(1), 79-84.
- Barbosa, L. C. A., Filomeno, C. A., & Teixeira, R. R. (2016).** Chemical variability and biological activities of *Eucalyptus spp.* essential oils. *Molecules*, 21(12), 1671.
- Basavegowda, N., & Baek, K. H. (2021).** Synergistic antioxidant and antibacterial advantages of essential oils for food packaging applications. *Biomolecules*, 11(9), 1267.
- Batiha, G. E. S., Alkazmi, L. M., Wasef, L. G., Beshbishy, A. M., Nadwa, E. H., & Rashwan, E. K. (2020).** *Syzygium aromaticum* L.(Myrtaceae): Traditional uses, bioactive chemical constituents, pharmacological and toxicological activities. *Biomolecules*, 10(2).
- Begum, A., Sandhya, S., Vinod, K. R., Reddy, S., & Banji, D. (2013).** An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). *Acta scientiarum polonorum Technologia alimentaria*, 12(1), 61-74.
- Behbahani, B. A., Noshad, M., & Falah, F. (2019).** Study of chemical structure, antimicrobial, cytotoxic and mechanism of action of *Syzygium aromaticum* essential oil on foodborne pathogens. *Potravinarstvo*, 13(1).
- Belewu, M. A., El-Imam, A. A., Adeyemi, K. D., & Oladunjoye, S. A. (2012).** Eucalyptus oil and lemon grass oil: effect on chemical composition and shelf-life of soft cheese. *Environment and Natural Resources Research*, 2(1), 114.
- Bessah, R., & Benyoussef, E. H. (2015).** La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. *Journal of Renewable Energies*, 18(3), 513-528.



- Bhutto, A. L., Murray, R. D., & Woldehiwet, Z. (2012).** California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows. *Research in veterinary science*, 92(1), 13-17.
- Blejan EI, Popa DE, Costea T, Cioaca A, Olariu L, Ghica M, Georgescu M, Stancov G et Arsene AL. (2021).** The in vitro antimicrobial activity of some essential oil from aromatic plants. *Farmacia*. 69(2), 290-298p.
- Boukhatem MN, Ferhat A et Kameli A. (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : Revue de littérature. *Revue Agrobiologia*. Département de Biologie et Physiologie Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 9(2),1653-1659p.
- Boukhatem, M. N., Sudha, T., Darwish, N. H., Chader, H., Belkadi, A., Rajabi, M., ... & Mousa, S. A. (2020).** A new eucalyptol-rich lavender (*Lavandula stoechas L.*) essential oil: Emerging potential for therapy against inflammation and cancer. *Molecules*, 25(16), 3671.
- Boullard B., 2001.** Plantes médicinales du monde: croyances et réalités. Ed: FSTEM, 636 p.
- Bouyahya, A., Abrini, J., Dakka, N., & Bakri, Y. (2019).** Essential oils of *Origanum compactum* increase membrane permeability, disturb cell membrane integrity, and suppress quorum-sensing phenotype in bacteria. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 9(5), 301-311.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2017).** Resistance to antibiotics and mechanisms of action of essential oils against bacteria. *Phytothérapie*, 3, 1-11.
- Bruneton, J. (1999).** Terpènes et stéroïdes. In *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. 3ème éd. Tec & Doc, Paris, pp. 461 -769.
- Budri, P. E., Silva, N. C., Bonsaglia, E. C., Júnior, A. F., Júnior, J. A., Doyama, J. T., ... & Rall, V. L. (2015).** Effect of essential oils of *Syzygium aromaticum* and *Cinnamomum zeylanicum* and their major components on biofilm production in *Staphylococcus aureus* strains isolated from milk of cows with mastitis. *Journal of dairy science*, 98(9), 5899-5904.
- Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Cai, Y., Wang, R., An, M. M., & Bei-Bei, L. (2010).** Iron-depletion prevents biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* through twitching motility and quorum sensing. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 37-41.
- Caquet, R. (2004).** 250 examens de laboratoire: prescription et interprétation. Ed. Masson, France, 453.
- Castelani, L., Arcaro, J. R. P., Braga, J. E. P., Bosso, A. S., Moura, Q., Esposito, F., ... & Lincopan, N. (2019).** Activity of nisin, lipid bilayer fragments and cationic nisin-lipid nanoparticles against multidrug-resistant *Staphylococcus spp.* isolated from bovine mastitis. *Journal of dairy science*, 102(1), 678-683.
- Cauty, I., & Perreau, JM (2003).** *La conduite du troupeau laitier*. Éditions France Agricole.

- Celiktas O., Hames E., Bedir E., Vardar S.(2007).** Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis* depending on location and seasonal variations. *Food Chemical*, 100: 553-559.
- Ceroli, MF, Moliva, MV, Cariddi, LN et Reinoso, EB (2018).** Effet de l'huile essentielle de *minthostachys verticillata* (Griseb.) epling et du limonène sur la production de biofilm chez les pathogènes responsables de la mammite bovine. *Frontières en sciences vétérinaires* , 5 , 146.
- Charton, C. (2017).** *Caractérisation de l'adaptation de la glande mammaire des vaches laitières à l'allongement de l'intervalle entre traites.* (Thèse de Doctorat, Université Bretagne Loire, Agrocampus Ouest) 220p.
- Chaudhari, A. K., Singh, V. K., Kedia, A., Das, S., & Dubey, N. K. (2021).** Essential oils and their bioactive compounds as eco-friendly novel green pesticides for management of storage insect pests: prospects and retrospects. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(15), 18918-18940.
- Chebaibi, A., Marouf, Z., Rhazi-Filali, F., Fahim, M., & Ed-Dra, A. (2016).** Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie*, 14(6), 355-362.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017).** Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 34, 540-560.
- Cherbal, A., Kebieche, M., Madani, K., & El-Adawi, H. (2012).** Extraction and valorization of phenolic compounds of leaves of Algerian *Pistacia lentiscus*. *Asian Journal of Plant Sciences*,11(3),131-136.
- Cobirka, M., Tancin, V., & Slama, P. (2020).** Epidemiology and classification of mastitis. *Animals*, 10(12), 2212.
- Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM). Communiqué. (2022).**
- Constance Rattez. (2017).** *Les mammites subcliniques en élevage bovin laitier : antibiothérapie et alternatives.* *Sciences pharmaceutiques.* (Thèse de Doctorat, Université de Rouen, Faculté de Médecine et de Pharmacie) 218p.
- Côté-Gravel, J., & Malouin, F. (2019).** Symposium review: features of *Staphylococcus aureus* mastitis pathogenesis that guide vaccine development strategies. *Journal of dairy science*, 102(5), 4727-4740.
- Couic-Marinier, F., & Lobstein, A. (2013).** Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités pharmaceutiques*, 52(525), 22-25.
- da Silva, B. D., Bernardes, P. C., Pinheiro, P. F., Fantuzzi, E., & Roberto, C. D. (2021).** Chemical composition, extraction sources and action mechanisms of essential oils: Natural preservative and limitations of use in meat products. *Meat Science*, 176, 108463.

**Destandau, E., Michel, T., & Elfakir, C. (2013).** *Microwave-assisted extraction* (Vol. 4, pp. 113-156). London, UK: The Royal Society of Chemistry.

**Dhakad, A. K., Pandey, V. V., Beg, S., Rawat, J. M., & Singh, A. (2018).** Biological, medicinal and toxicological significance of Eucalyptus leaf essential oil: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(3), 833-848.

**Djeddi S., 2012.** Les huiles essentielles "Des mystérieux métabolites secondaires» : Manuel de formation destiné aux étudiants de Master. ED. Presses Académiques Francophones Grèce, 64 p.

**Donsi, F., Annunziata, M., Sessa, M., & Ferrari, G. (2011).** Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT-Food Science and Technology*, 44(9), 1908-1914.

**Durel, L., Hugues, G. et Léonard, T. 2011.** Mammites bovine, Vade. Mecum. Edition *Med'com.270*: 18,218.

**Ebadollahi, A., Ziaee, M., & Palla, F. (2020).** Essential oils extracted from different species of the *Lamiaceae* plant family as prospective bioagents against several detrimental pests. *Molecules*, 25(7), 1556.

**Falleh, H., Jemaa, M. B., Saada, M., & Ksouri, R. (2020).** Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. *Food Chemistry*, 330, 127268.

**Fenghour, H., Bouabida, H., Dris, D., & Houhamdi, M. (2021).** Effet antibactérien des huiles essentielles de deux plantes Eucalyptus camaldulensis et Artemisia herba alba sur certaines souches bactériennes. *Diversité des biosystèmes*, 29 (2), 73-77.

**Fontaine, C. (2018).** *Echec vaccinal en élevage bovin: Résultats d'une enquête auprès des vétérinaires praticiens français* (Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse) 152p.

**Fournomiti, M., Kimbaris, A., Mantzourani, I., Plessas, S., Theodoridou, I., Papaemmanouil, V., ... & Alexopoulos, A. (2015).** Antimicrobial activity of essential oils of cultivated oregano (*Origanum vulgare*), sage (*Salvia officinalis*), and thyme (*Thymus vulgaris*) against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, and *Klebsiella pneumoniae*. *Microbial ecology in health and disease*, 26(1), 23289.

**Fratini, F., Casella, S., Leonardi, M., Pisseri, F., Ebani, V. V., Pistelli, L., & Pistelli, L. (2014).** Antibacterial activity of essential oils, their blends and mixtures of their main constituents against some strains supporting livestock mastitis. *Fitoterapia*, 96, 1-7.

**Gausсен, H., Leroy, J.-F. et Ozenda, P. (1982).** *Précis de botanique; végétaux supérieurs*. 2ème éd. Tome II. Masson, Paris, 579 p.

**Ghedira, K., Goetz, P. et Le Jeune, R., 2008.** *Eucalyptus globulus* Labill. *Phytothérapie*, 6 (3), pp.197-200.

**Ginting, E. V., Retnaningrum, E., & Widiasih, D. A. (2021).** Antibacterial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) and cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) essential oil against extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing bacteria. *Veterinary world*, 14(8), 2206.

**Godoy-Santos, F., Pinto, M. S., Barbosa, A. A., Brito, M. A., & Mantovani, H. C. (2019).** Efficacy of a ruminal bacteriocin against pure and mixed cultures of bovine mastitis pathogens. *Indian journal of microbiology*, 59(3), 304-312.

**Goetz P et Ghedira K, 2012.** Phytothérapie anti-infectieuse. Ed Springer Verlag France, Paris. p 342-345.

**Guignard J.L., 2001.** Botanique systématique moléculaire. 12eme édition, Masson, 290 p.

**Guiraud J.P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Ed. *Dunod*. Paris, P: 652.

**Gyawali, R., & Ibrahim, S. A. (2014).** Natural products as antimicrobial agents. *Food control*, 46, 412-429.

**Haro-González, J. N., Castillo-Herrera, G. A., Martínez-Velázquez, M., & Espinosa-Andrews, H. (2021).** Clove essential oil (*Syzygium aromaticum* L. *Myrtaceae*): Extraction, chemical composition, food applications, and essential bioactivity for human health. *Molecules*, 26(21), 6387.

**Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012).** Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in microbiology*, 3, 12.

**Iserin, P. (2001).** Larousse encyclopédie des plantes médicinales. *Identification, préparations, soins. 2e édition, Dorling Kindersley Limited, Londres.*

**Jammes, H., & Djiane, J. (1988).** Le développement de la glande mammaire et son contrôle hormonal dans l'espèce bovine. *Productions animales*, 1(5), 299-310.

**Jansi, RS, Khusro, A., Agastian, P., Alfarhan, A., Al-Dhabi, NA, Arasu, MV, ... & Al-Tamimi, A. (2021).** Paradigmes émergents des maladies virales et rôle primordial des ressources naturelles en tant qu'agents antiviraux. *Science de l'environnement total*, 759, 143539.

**Jiang, Y., Wu, N., Fu, Y.-J., Wang, W., Luo, M., Zhao, C.-J., ... Liu, X.-L. (2011).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of rosemary. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 32(1), 63–68.

**Jimbo, D., Kimura, Y., Taniguchi, M., Inoue, M., & Urakami, K. (2009).** Effect of aromatherapy on patients with Alzheimer's disease. *Psychogeriatrics*, 9(4), 173-179.

**Jullien, J–DGAL. Juillet, (2016)** «Guide de reconnaissance Plantes hôtes potentielles de *Xylella fastidiosa* subsp, multiplex en France, Surveillance biologique du territoire (SBT) dans le domaine végétal, Symptôme d'une infection de *Xylella fastidiosa* subsp, multiplex sur *Polygala myrtifolia* », 1ère édition.

**Karabay-Yavasoglu, N. U., Sukatar, A., Ozdemir, G., & Horzum, Z. (2007).** Antimicrobial activity of volatile components and various extracts of the red alga *Jania rubens*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(2), 153-156.

**Khan, M. Z., & Khan, A. (2006).** Basic facts of mastitis in dairy animals: A review. *Pakistan veterinary journal*, 26(4), 204.

**Kovačević, Z., Kladar, N., Čabarkapa, I., Radinović, M., Maletić, M., Erdeljan, M., & Božin, B. (2021b).** New perspective of *Origanum vulgare* L. and *Satureja montana* L. essential oils as bovine mastitis treatment alternatives. *Antibiotics*, *10*(12), 1460.

**Kovačević, Z., Radinović, M., Čabarkapa, I., Kladar, N., & Božin, B. (2021a).** Natural agents against bovine mastitis pathogens. *Antibiotics*, *10*(2), 205.

**Kowalczyk, A., Przychodna, M., Sopata, S., Bodalska, A., & Fecka, I. (2020).** Thymol and thyme essential oil—new insights into selected therapeutic applications. *Molecules*, *25*(18), 4125.

**Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., & Nychas, G. J. (2001).** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of applied microbiology*, *91*(3), 453-462.

**Leyva-López, N., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Vazquez-Olivo, G., & Heredia, J. B. (2017).** Essential oils of oregano: Biological activity beyond their antimicrobial properties. *Molecules*, *22*(6), 989.

**Liu, T., Kang, J., & Liu, L. (2021).** Thymol as a critical component of *Thymus vulgaris* L. essential oil combats *Pseudomonas aeruginosa* by intercalating DNA and inactivating biofilm. *LWT*, *136*, 110354.

**Lopes, T. S., Fontoura, P. S., Oliveira, A., Rizzo, F. A., Silveira, S., & Streck, A. F. (2020).** Use of plant extracts and essential oils in the control of bovine mastitis. *Research in Veterinary Science*, *131*, 186-193.

**Lucchesi, M. E., Chemat, F., & Smadja, J. (2004).** Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography a*, *1043*(2), 323-327.

**Luciardi, M. C., Blázquez, M. A., Cartagena, E., Bardón, A., & Arena, M. E. (2016).** Mandarin essential oils inhibit quorum sensing and virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*. *LWT-Food Science and Technology*, *68*, 373-380.

**Luís, Â., Duarte, A., Gominho, J., Domingues, F., & Duarte, A. P. (2016).** Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils. *Industrial Crops and Products*, *79*, 274-282.

**Łyczko, J., Piotrowski, K., Kolasa, K., Galek, R., & Szumny, A. (2020).** *Mentha piperita* L. micropropagation and the potential influence of plant growth regulators on volatile organic compound composition. *Molecules*, *25*(11), 2652.

**Mahendran, G., & Rahman, L. U. (2020).** Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological updates on Peppermint (*Mentha × piperita* L.)—A review. *Phytotherapy Research*, *34*(9), 2088-2139.

**Maiden et Betche Cheel., GRIN (1924):** espèce *Melaleuca alternifolia*.

**Masniyom, P., Benjama, O., & Maneesri, J. (2012).** Effect of turmeric and lemongrass essential oils and their mixture on quality changes of refrigerated green mussel (*Perna viridis*). *International journal of food science & technology*, *47*(5), 1079-1085.

- Mechergui, K., Jaouadi, W., Coelho, J. A., Serra, M. C., & Khouja, M. L. (2016).** Biological activities and oil properties of *Origanum glandulosum* Desf: A review. *Phytothérapie*, 14(2), 102-108.
- Mendesil, E., Tadesse, M., & Negash, M. (2012).** Efficacy of plant essential oils against two major insect pests of coffee (coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, and antestia bug, *Antestiopsis intricata*) and maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 45(3), 366-372.
- Mihajilov-Krstev, T., Radnović, D., Kitić, D., Stojanović-Radić, Z., & Zlatković, B. (2010).** Antimicrobial activity of *Satureja hortensis* L. essential oil against pathogenic microbial strains. *Archives of Biological Sciences*, 62(1), 159-166.
- Milia, E., Bullitta, S. M., Mastandrea, G., Szotáková, B., Schoubben, A., Langhansová, L., ... & Eick, S. (2021).** Leaves and fruits preparations of *Pistacia lentiscus* L.: a review on the ethnopharmacological uses and implications in inflammation and infection. *Antibiotics*, 10(4), 425.
- Mittal, M., Gupta, N., Parashar, P., Mehra, V., & Khatri, M. (2014).** Phytochemical evaluation and pharmacological activity of *Syzygium aromaticum*: a comprehensive review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(8), 67-72.
- MOHAMMEDI, Z., & ATIK, F. (2012).** Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Revue «Nature & Technologie»*. n, 6, 34-39.
- Moroh, J. L. A., Bahi, C., Dje, K., Loukou, Y. G., & Guédé Guina, F. (2008).** Study of the antibacterial activity of Acetic Extract (EAC) of *Morinda morindoides* (Baker) MiilneRedh (*Rubiaceae*) on the in vitro growth of strains of *Escherichia coli*. *Bulletin of the royal society of sciences of Liege*, 77, 44-61.
- Motaung, T. E., Petrovski, K. R., Petzer, I. M., Thekiso, O., & Tsilo, T. J. (2017).** Importance of bovine mastitis in Africa. *Animal Health Research Reviews*, 18(1), 58-69.
- Moureu, S. (2015).** *Identification d'un moyen de lutte alternatif contre les mammites: synthèse, caractérisation et évaluation de l'activité antibactérienne in vitro d'huile de tournesol ozonée* (Thèse de Doctorat, Université de Toulouse) 165p.
- Mucha, W., & Witkowska, D. (2021).** The applicability of essential oils in different stages of production of animal-based foods. *Molecules*, 26(13), 3798.
- Muhammad, I., Riffat, T., Asif, J., Atif, J., Raja, M. U., & Anjum, M. (2017).** Lemongrass essential oil as an alternate approach to manage seed associated fungi of wheat and rice. *International Journal of Agriculture and Biology*, 19(6), 1301-1306.
- Mushtaq, S., Shah, A. M., Shah, A., Lone, S. A., Hussain, A., Hassan, Q. P., & Ali, M. N. (2018).** Bovine mastitis: An appraisal of its alternative herbal cure. *Microbial pathogenesis*, 114, 357-361.
- Nahar L, El-Seedi HR, Khalifa SAM, Mohammadhosseini M, Sarker SD. (2021).** *Ruta* Essential Oils: Composition and Bioactivities. *Molecules*. 6;26(16):4766.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & Feo, V. D. (2017).** Essential oils and antifungal activity. *Pharmaceuticals*, 10(4), 86.

- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013).** Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451-1474.
- Neculai-Valeanu, A. S., Ariton, A. M., Mădescu, B. M., Rîmbu, C. M., & Creangă, Ș. (2021).** Nanomaterials and essential oils as candidates for developing novel treatment options for bovine mastitis. *Animals*, 11(6), 1625.
- Oh, Y. A., Oh, Y. J., Song, A. Y., Won, J. S., Song, K. B., & Min, S. C. (2017).** Comparison of effectiveness of edible coatings using emulsions containing lemongrass oil of different size droplets on grape berry safety and preservation. *Lwt*, 75, 742-750.
- Oliveira, R. C., Carvajal-Moreno, M., Correa, B., & Rojo-Callejas, F. (2019).** Cellular, physiological and molecular approaches to investigate the antifungal and anti-aflatoxigenic effects of thyme essential oil on *Aspergillus flavus*. *Food Chemistry*, 126096.
- Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi, R., Azizi, M., & Bassami, M. R. (2010).** Phytochemical composition of the essential oils from three *Apiaceae* species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. *Food chemistry*, 120(3), 765-770.
- Ouis, N. (2015).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, des fenouils et de persil. *Diss. Thèse de Doctorat, Université Ahmed Ben Bella-Oran, Alger*. 198p.
- Oussalah, M., Caillet, S., & Lacroix, M. (2006).** Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes*. *Journal of food protection*, 69(5), 1046-1055.
- Pandey, A. K., Kumar, P., Singh, P., Tripathi, N. N., & Bajpai, V. K. (2017).** Essential oils: Sources of antimicrobials and food preservatives. *Frontiers in microbiology*, 7, 2161.
- Pandey, A. K., Palni, U. T., & Tripathi, N. N. (2014).** Repellent activity of some essential oils against two stored product beetles *Callosobruchus chinensis* L. and *C. maculatus* F.(Coleoptera: Bruchidae) with reference to *Chenopodium ambrosioides* L. oil for the safety of pigeon pea seeds. *Journal of food science and technology*, 51(12), 4066-4071.
- Papageorgiou, V. P., Mellidis, A. S., & Argyriadou, N. (1991).** The chemical composition of the essential oil of mastic gum. *Journal of Essential Oil Research*, 3(2), 107-110.
- Park, Y. K., Fox, L. K., Hancock, D. D., McMahan, W., & Park, Y. H. (2012).** Prevalence and antibiotic resistance of mastitis pathogens isolated from dairy herds transitioning to organic management. *Journal of veterinary science*, 13(1), 103-105.
- Pavela, R., & Benelli, G. (2016).** Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. *Trends in plant science*, 21(12), 1000-1007.
- Pinheiro Machado, G. T., Veleirinho, M. B., Mazzarino, L., Machado Filho, L. C. P., Maraschin, M., Cerri, R. L. A., & Kuhnen, S. (2019).** Development of propolis nanoparticles for the treatment of bovine mastitis: in vitro studies on antimicrobial and cytotoxic activities. *Canadian Journal of Animal Science*, 99(4), 713-723.
- Prasanth, R., Ravi, V.K, Varsha, P.V, Satyam S.(2014).** Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties. *Med Aromat Plants*. 3 (4):1-3.
- Pyörälä, S., & Taponen, S. (2009).** Coagulase-negative staphylococci—Emerging mastitis pathogens. *Veterinary microbiology*, 134(1-2), 3-8.

- Quezel, P. et Santa, S. (1963).** *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Tome II. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, pp. 571-1170.
- Raaman, N. (2006).** Phytochemical techniques. New India Publishing, New Delhi, Inde.
- Rakhshandeh, H., & Vahdati-Mashhadian, N. (2011).** In vitro and in vivo study of the antibacterial effects of *Nigella sativa* methanol extract in dairy cow mastitis. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 1(1), 29-35.
- Rameau J.C., Mansion D., Dumé G. et Gauberville C., 2008.** Flore forestière française, guide écologique illustré 3 régions méditerranéennes. Ed IDF, 2426 p.
- Ramsey, J. T., Shropshire, B. C., Nagy, T. R., Chambers, K. D., Li, Y., & Korach, K. S. (2020).** Focus: Plant-based medicine and pharmacology: Essential oils and health. *The Yale journal of biology and medicine*, 93(2), 291.
- Remy D.(2010).** Les mammites. Guides France Agricole.
- Richard H., Loo A., (1992).** Composition des extraits d'épices et herbes aromatiques. In Richard H (coordonnateur) Epice et Aromates. Tec et Doc – Lavoisier, apria.
- Rodríguez-Pérez, C., Quirantes-Piné, R., Amessis-Ouchemoukh, N., Madani, K., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutierrez, A. (2013).** A metabolite-profiling approach allows the identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 77, 167-174.
- Royster, E., & Wagner, S. (2015).** Treatment of mastitis in cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 31(1), 17-46.
- Sadeh, D., Nitzan, N., Chaimovitsh, D., Shachter, A., Ghanim, M., & Dudai, N. (2019).** Interactive effects of genotype, seasonality and extraction method on chemical compositions and yield of essential oil from rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*). *Industrial Crops and Products*, 138, 111419.
- Sandner, G., Heckmann, M., & Weghuber, J. (2020).** Immunomodulatory activities of selected essential oils. *Biomolecules*, 10(8), 1139.
- Séquin, M. (2017).** Volatiles for the Perfume Industry: 393-398.
- Sérieys F., 1997.** Le tarissement de la vache laitière. 2ème Ed. France Agricoles Paris 224 P (61-73, 139-143).
- Sharma, S. H., Thulasingham, S., & Nagarajan, S. (2017).** Terpenoids as anti-colon cancer agents—A comprehensive review on its mechanistic perspectives. *European journal of pharmacology*, 795, 169-178.
- Sharun, K., Dhama, K., Tiwari, R., Gugjoo, M. B., Iqbal Yattoo, M., Patel, S. K., ... & Chaicumpa, W. (2021).** Advances in therapeutic and managemental approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*, 41(1), 107-136.
- Siddiqui, M. A., Khalid, M., Akhtar, J., Siddiqui, H. H., Ahmad, U., Ahsan, F., ... & Ali, A. (2016).** *Lavandula stoe-chas* (Ustukhuddus): A miracle plant. *J. Innov. Pharm. Biol. Sci*, 3, 96-1.



- Silva, C. D. B. D., Guterres, S. S., Weisheimer, V., & Schapoval, E. E. (2008).** Antifungal activity of the lemongrass oil and citral against *Candida* spp. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 12, 63-66.
- Singh, R., Shushni, M. A., & Belkheir, A. (2015).** Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(3), 322-328.
- Skowron, K., Sekowska, A., Kaczmarek, A., Grudlewska, K., Budzynska, A., Bialucha, A., & Gospodarek-Komkowska, E. (2019).** Comparison of the effectiveness of dipping agents on bacteria causing mastitis in cattle. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 26(1).
- Smith, C. A., Collins, C. T., & Crowther, C. A. (2011).** Aromatherapy for pain management in labour. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (7).
- Sokovic, M., Marin, P. D., Brkic, D., & van Griensven, L. J. (2008).** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils against human pathogenic bacteria. *Food*, 1(2), 220-226.
- Spichiger, R. E., Savolainen, V., Figeat, M., Jeanmonod, D., & Perret, M. (2019).** Systematic botany of flowering plants: a new phylogenetic approach to angiosperms of the temperate and tropical regions. CRC Press
- Stevanović, Z. D., Bošnjak-Neumüller, J., Pajić-Lijaković, I., Raj, J., & Vasiljević, M. (2018).** Essential oils as feed additives—Future perspectives. *Molecules*, 23(7), 1717.
- Tagde, P., Tagde, S., Tagde, P., Bhattacharya, T., Monzur, S. M., Rahman, M. H., ... & Bungau, S. (2021).** Nutraceuticals and herbs in reducing the risk and improving the treatment of COVID-19 by targeting SARS-CoV-2. *Biomedicines*, 9(9), 1266.
- Tchinda, E. S., Jazet, P. M., Tatsadjieu, L. N., Ndongson, B. D., Amvam, P. H., & Menut, C. (2009).** Antifungal activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) against *Phaeoramularia angolensis*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 12(2), 218-224.
- Tocaven, I. (2011).** L'huile essentielle d'arbre a the: une source de bienfaits.
- Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014).** Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231-R1249.
- Traore, N., Sidibe, L., Bouare, S., Harama, D., Somboro, A., Fofana, B., ... & Chalchat, J. C. (2013).** Activités antimicrobiennes des huiles essentielles de *Eucalyptus citriodora* Hook et *Eucalyptus houseana* W. Fitzg. ex Maiden. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7(2), 800-804.
- Trosko, J. E. (2016).** Evolution of microbial quorum sensing to human global quorum sensing: an insight into how gap junctional intercellular communication might be linked to the global metabolic disease crisis. *Biology*, 5(2), 29.
- Truchado, P., Larrosa, M., Castro-Ibáñez, I., & Allende, A. (2015).** Plant food extracts and phytochemicals: their role as quorum sensing inhibitors. *Trends in Food Science & Technology*, 43(2), 189-204.

**Tuncel, G., & Nergiz, C. (1993).** Antimicrobial effect of some olive phenols in a laboratory medium. *Letters in applied microbiology*, 17(6), 300-302.

**Turek, C., & Stintzing, F. C. (2013).** Stability of essential oils: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 12(1), 40-53.

**Valnet J.(2000).** Aromathérapie, traitement des maladies par les essences des plantes. Ed. Maloine S.A., Paris.

**Veldhuizen, E. J., Tjeerdsma-van Bokhoven, J. L., Zweijtzer, C., Burt, S. A., & Haagsman, H. P. (2006).** Structural requirements for the antimicrobial activity of carvacrol. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 54(5), 1874-1879.

**Vogiatzoglou, A., Mulligan, AA, Lentjes, MA, Luben, RN, Spencer, JP, Schroeter, H., ... & Kuhnle, GG (2015).** Apport en flavonoïdes chez les adultes européens (18 à 64 ans). *PloS one* , 10 (5), e0128132.

**Walsh, S. E., Maillard, J. Y., Russell, A. D., Catrenich, C. E., Charbonneau, D. L., & Bartolo, R. G. (2003).** Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and-negative bacteria. *Journal of applied microbiology*, 94(2), 240-247.

**Wińska, K., Mączka, W., Łyczko, J., Grabarczyk, M., Czubaszek, A., & Szumny, A. (2019).** Essential oils as antimicrobial agents—myth or real alternative?. *Molecules*, 24(11), 2130.

**Witkowska, D., & Sowińska, J. (2013).** The effectiveness of peppermint and thyme essential oil mist in reducing bacterial contamination in broiler houses. *Poultry science*, 92(11), 2834-2843.

**Yang, W., Chen, X., Li, Y., Guo, S., Wang, Z., & Yu, X. (2020).** Advances in pharmacological activities of terpenoids. *Natural Product Communications*, 15(3), 1934578X20903555.

**Yuan, Y., Huang, M., Pang, Y. X., Yu, F. L., Chen, C., Liu, L. W., ... & Hu, X. (2016).** Variations in essential oil yield, composition, and antioxidant activity of different plant organs from *Blumea balsamifera* (L.) DC. at different growth times. *Molecules*, 21(8), 1024.

**Zhang, N., & Yao, L. (2019).** Anxiolytic effect of essential oils and their constituents: a review. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(50), 13790-13808.

**Zhang, X., Guo, Y., Guo, L., Jiang, H., & Ji, Q. (2018).** In vitro evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of *Melaleuca alternifolia* essential oil. *BioMed research international*, 2018.

**Žitek, T., Borjan, D., Golle, A., Knez, Ž., & Knez, M. (2021).** Optimization of extraction of phenolic compounds with antimicrobial properties from *Origanum vulgare*. *Processes*, 9(6), 1032.

**Anonyme 1 :** <https://images.app.goo.gl/SJnJSzE6h6GhYHaB9> (consulté le 05/05/2022).

# *Annexes*

## **Annexe I : Composition (pour un litre) des milieux de culture utilisés**

(Guiraud, 1998)

### **Bouillon Mueller Hinton**

Extrait de viande 2 g

Hydrolysate acide de caséine 17,5 g

Amidon 1,5 g

Agar 10 g

pH 7,4

### **Gélose Mueller Hinton**

Extrait de viande 2 g

Hydrolysate acide de caséine 17,5 g

Amidon 1,5 g

Agar 10 g

pH 7,4

### **Gélose PCA**

Peptone 5 g

Extrait de levure 2,5 g

Glucose 1 g

Agar 15 g

pH 7

## Résumé

Les échecs thérapeutiques et les coûts de plus en plus élevés des traitements de mammite appellent à trouver d'autres alternatives de soins. L'objectif de cette étude était de vérifier si l'utilisation des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques, très utilisées en Algérie, comme moyen de lutte alternatif contre cette maladie est envisageable. Dans un premier temps, une évaluation qualitative de l'activité antibactérienne des HEs de ces plantes a été investiguée contre les bactéries associées à la mammite bovine par la méthode de diffusion sur disque. Par la suite, une évaluation quantitative a été réalisée dans le but de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB). Les résultats obtenus ont révélés que les HEs de *Thymus vulgaris L.* et d'*Origanum vulgare L. ssp. Glandulosum* possèdent un pouvoir antibactérien intéressant *vis-à-vis* de toutes les souches bactériennes testées. Les plus larges diamètres des zones d'inhibition sont de 28,75 mm et 26 mm obtenus respectivement par le thym et l'origan contre *Escherichia coli*. L'HE de thym a enregistré les meilleures CMI (50 µg/mL) et CMB ( $\geq 100$  µg/mL) à l'égard de toutes les souches d'*E. coli* testées. Les HEs de *Thymus vulgaris L.* et d'*Origanum vulgare L. ssp. Glandulosum* peuvent contribuer à développer un traitement préventif à base de plantes aromatiques contre la mammite bovine

**Mots-clés:** activité antibactérienne, huiles essentielles, mammites, plantes médicinales.

## Abstract

Therapeutic failures and the increasing high costs of mastitis treatments call for finding other treatment alternatives. The aim of this study was to verify whether to use of essential oils of some aromatic plants widely used in Algeria, as an alternative of combating this disease is possible. First, a qualitative evaluation of the antibacterial activity of EOs from these plants was investigated against bacteria associated with mastitis by the disc diffusion method. Subsequently, a quantitative evaluation was carried out in order to determine the minimum inhibitory concentrations (MICs) and bactericidal (MBCs). The results obtained revealed that the EO of *Thymus vulgaris L.* as well as the EO of *Origanum vulgare L. ssp. Glandulosum* has an interesting antibacterial activity against all bacterial strains tested. The largest diameters of zone of inhibitions are 28,75 mm and 26 mm obtained respectively by thyme and oregano against *Escherichia coli*. Thym EO recorder the best MIC (50 µg/mL) and MBC ( $\geq 100$  µg/mL) against all strains of *E. coli* tested. HEs of *Thymus vulgaris L.* and *Origanum vulgare L. ssp. Glandulosum* can contribute to the development of a preventive herbal treatment against bovine mastitis.

**Keywords:** antibacterial activity, essential oils, mastitis, medicinal plants.