République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi- TEBESSA-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : biologie appliquée

Mémoire : de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de MASTER

Domaine : Science de la nature et vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Thème :

Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* et de la ciprofloxacine contre des souches multirésistantes aux antibiotiques

Présenté par:

M. MAHDI Mohamed Hamouda & M. ATATRA Tarek

Encadreur

M. MECHAI. A

Devant le jury:

Mme. SMAALI. S	MCA	Université de (E.C.L.T)	Tebessa	Présidente
M. MECHAI . A	Pr	Université de (E.C.L.T)	Tebessa	Encadreur
Mme. DEBABZA . M	Pr	Université de (E.C.L.T)	Tebessa	Co-encadreur
Mme. AZIZI . N	MCB	Université de (E.C.L.T)	Tebessa	Examinatrice

Date de soutenance : 04/06/2025

Remerciements

Tout d'abord, un immense merci à Dieu Tout-Puissant, qui nous a donné la force, la volonté et la patience, et qui nous a guidés tout au long de ce parcours jusqu'à ce jour important de notre vie.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre encadreur, Pr. Mechai Abdelbasset, qui nous a généreusement offert ses précieux conseils et ses orientations avisées. Son soutien constant tout au long de ce travail a été d'une grande aide. Son sérieux, sa compétence et son sens du devoir ont laissé une empreinte significative sur notre parcours.

Nous remercions également les membres du jury, Mme Smaali Sawsen, présidente du jury, et Mme Azizi Nassima, examinatrice, pour avoir accepté d'évaluer notre travail et pour leurs remarques enrichissantes.

Un grand merci à notre encadrante, Dbabaza Manel, pour son aide précieuse et son soutien, qui nous ont permis de surmonter les défis rencontrés pendant la réalisation de ce projet.

Nous adressons aussi nos sincères remerciements à tous nos enseignants qui nous ont guidés et formés au fil des années. Leur engagement et leur dévouement ont été essentiels à notre apprentissage.

Nous tenons à remercier chaleureusement toutes les personnes qui nous ont aidés dans le laboratoire et ont facilité notre travail, en particulier Naïma, dont l'aide et l'engagement ont été d'une grande valeur dans la réussite de ce projet.

Nos sincères gratitude vont également à nos familles, qui nous ont soutenus et encouragés tout au long de ce parcours, ainsi qu'à toutes les personnes qui nous ont aidés, de près ou de loin, à mener à bien ce travail et à atteindre cet objectif.

Dédicace

Je dédie ce travail:

À 'Allah 'qui m'a donné la force, la volonté et la patience pour pouvoir accomplir

ce travail, et qui m'a permis d'arriver là où je suis aujourd'hui.

Avec toute ma gratitude et mon respect, je tiens à exprimer mes sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué à mon parcours, à ceux qui m'ont soutenu et encouragé jusqu'à ce moment qui signifie tant pour moi .

À mon cher père, qui a toujours été mon premier soutien, qui m'a donné force et courage. Merci pour ton amour, ta patience et tes précieux conseils. Tu m'as appris que la persévérance et le travail sont les clés de la réussite. Que Dieu te bénisse et te garde en bonne santé .

À mon frère bien-aimé Abdel Raouf, mon compagnon de route et de rêves. Merci d'avoir toujours cru en moi, de m'avoir soutenu et encouragé, même dans les moments de doute .

À ma famille précieuse, chaque instant de chaleur et d'amour partagé avec vous est un trésor. Votre présence est une des plus grandes raisons de ma réussite .

À mon binôme Tarek, qui n'a pas seulement été un collègue, mais un véritable grand frère et un ami de confiance. Merci pour ton soutien, tes conseils et ta gentillesse. Ta présence a rendu ce chemin plus facile et agréable .

À mes collègues de la promotion Microbiologie 2025, avec qui j'ai partagé des années de travail et d'apprentissage. Merci pour ces souvenirs inoubliables et pour l'esprit de solidarité qui nous a unis .

À mes chers amis, vous êtes la famille que j'ai choisie. Merci pour votre sincérité, votre amitié et votre soutien. Que nos liens restent forts pour toujours .

Enfin, à ma chère mère, que Dieu lui accorde le paradis, les mots ne suffisent pas à exprimer mon amour et mon manque. Tu as été ma lumière, ma protection et ma force, même de loin. Chaque réussite est un hommage à toi .

Je dédie ce travail à ta mémoire, maman, en espérant avoir accompli ce que tu souhaitais pour moi et que cela soit une source de fierté pour toi, comme tu l'as toujours été pour moi .

Med Hamouda

Dédicace :

Je dédie ce modeste travail :

À ***ma femme****, pour leur encouragement, leur soutien moral et leur conseils, je te souhaite tout ce que tu veux avec une vie pleine de joie et de succès.*

À Mes chers filles ***Ilaf****,* ***Yousser*** *et* ***Chifaa*** *en espérant que Dieu les protège et leur accorde succès et bonheur dans leur vie.*

Je veux dédier aussi un grand merci à mon binôme « ***Mohammed Hamouda****» qui a subi cette expérience avec moi ; nous avons formé une bonne équipe. Je voulais simplement te dire ceci : tu es un ami en or. Je te souhaite plein succès dans ta future carrière et bonne chance.*

À tous mes collègues de promotion de master 2 microbiologie appliquée, de l'année universitaire 2024/2025

À tous mes collègues de travail du CEM ***Ghairia Ali***

– Bir D'heb –

Je dédie également ce travail a tous ceux que j'ai eu l'honneur d'ensieigner en leur

Souhaitant plein de succès et de bonheur.

Et À tous ceux qui ont été à mes côtés jusqu'à aujourd'hui.

Merci pour votre amour, votre aide et votre amitié vous êtes les meilleurs.

Tarek

الملخص:

تُعد مقاومة المضادات الحيوية وظهور البكتيريا المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية خطرًا دائمًا على الصحة العامة، نظرًا لانتشارها السريع والصعوبات التي يواجهها الأطباء في علاج العدوى التي تسببها هذه البكتيريا. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا الجيرانيوم العطري (العطرشة) *Pélargonium graveolens* وتآزره مع السيبروفلوكساسين، وهو مضاد حيوي يُستخدم عادة في علاج التهابات المسالك البولية.

تم اختبار هاتين المادتين النشطتين بيولوجيًا لتأثيرهما على سبع سلالات معزولة من عينات بولية ومواد غذائية مقاومة متعددة للمضادات الحيوية ومنتجة لإنزيم بيتا–لاكتاماز واسع الطيف(BLSE) ، بالإضافة إلى سلالات مرجعية.

أظهر الجيرانيوم العطري (HE) نشاطًا ضد معظم السلالات البكتيرية المختبرة، مع أقطار مناطق تثبيط تتراوح بين 10.00 ± 0.00 مم و34.00 ± 0.74 مم. أما السيبروفلوكساسين فقد أظهر أيضًا نشاطًا فعالًا.

تراوحت قيم التركيز المثبط الأدنى (CMI) بين 25 و0.781 ميكرولتر/مل. ومع ذلك، أظهرت نتائج التركيز القاتل الأدنى (CMB) الجيرانيوم العطري (العطرشة) تأثيرًا قاتلًا للبكتيريا على تسع سلالات، في حين كان التأثير تثبيطيًا على (S25) *Klebsiella pneumoniae* ssp *pneumonia* و *Raoultella terrigena* (S170).

أثبتت الدراسات أن تركيبات من الجيرانيوم العطري (العطرشة) (HE) مع السيبروفلوكساسين تمارس نشاطًا مضادًا للبكتيريا بتأثير تآزري ضد البكتيريا الممرضة والمقاومة المتعددة مثل *Enterobacter cloacae* (S9)، *Raoultella terrigena* (S170)، *Serratia odorifera1* (S43) *Serratia odorifera1* (S46).

تشير هذه النتائج إلى أن استخدام الزيوت الأساسية بالتزامن مع المضادات الحيوية قد يكون بديلًا لاستخدام المضادات الحيوية بشكل مفرط في العلاج لعلاج العدوى التي تسببها الجراثيم المقاومة المتعددة.(MDR)

الكلمات المفتاحية: المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية، الزيت الأساسي، *Pélargonium graveolens*، التأثير التآزري، المضاد الحيوي.

Abstract :

Antibiotic resistance and the emergence of multidrug-resistant (MDR) bacteria pose a significant threat to public health due to their rapid spread and the challenges they present in treating infections. This study aims to evaluate the antibacterial activity of *Pelargonium graveolens* essential oil and its combination with ciprofloxacin, an antibiotic commonly used to treat urinary tract infections (UTIs).

Both bioactive agents were tested against seven bacterial strains isolated from urine samples and food products, all of which were MDR and producers of extended-spectrum beta-lactamases (BLSE), as well as against reference strains.

The essential oil of *Pelargonium graveolens* demonstrated activity against most of the tested bacterial strains, with inhibition zone diameters ranging from 10.00 ± 0.00 mm to 34.00 ± 0.74 mm. Ciprofloxacin also exhibited antibacterial activity.

Minimum inhibitory concentration (CMI) values for the essential oil varied between 25 and 0.781 µl/ml. Minimum bactericidal concentration (CMB) results indicated a bactericidal effect on nine strains, while a bacteriostatic effect was observed on *Klebsiella pneumoniae* ssp. *pneumonia* (S25) and *Raoultella terrigena* (S170).

Combining *Pelargonium graveolens* essential oil with ciprofloxacin showed a synergistic antibacterial effect against MDR pathogens such as *Enterobacter cloacae* (S9), *Raoultella terrigena* (S170), and *Serratia odorifera1* (S43 and S46).

These findings suggest that using essential oils in combination with antibiotics could be a viable alternative to the excessive use of antibiotics in treating infections caused by MDR bacteria.

Keywords : Antibiotic resistance, Essential oil, *Pelargonium graveolens*, Synergistic effect, Antibiotic.

Résumé

L'antibiorésistance et l'émergence récente des bactéries multirésistantes aux antibiotiques représentent un danger permanant pour la santé publique, de par leur diffusion rapide et la difficulté que rencontrent les médecins pour le traitement des infections provoquées par ces bactéries. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de Pélargonium *graveolens* et son association avec la ciprofloxacine, antibiotique empiriquement utilisé dans le traitement des infections urinaires.

Ces deux bioactives molécules sont testées pour leurs activités vis-à-vis de sept souches isolées des prélèvements urinaire et des denrées alimentaire multirésistantes aux antibiotiques et productrices de béta-lactamase à spectre élargi BLSE et des souches de références.

L'huile essentielle (HE) de *Pélargonium graveolens* est active sur la plupart des souches bactériennes testées avec des diamètres de zones d'inhibition allant de 10.00 ± 0.00 mm à 34.00 ± 0.74 mm. La ciprofloxacine quant à lui il se montre aussi actif.

Les valeurs de la CMI variées entre 25 et 0.781 µl/ml, cependant, les résultats de la CMB de l'huile essentielle ont permis de constater un effet bactéricide sur neuf souches. Alors qu'il de type bacteriostatique *sur Klebsiella pneumoniae* ssp *pneumonia* (S25) et *Raoultella terrigena* (S170).

Il est démontré que des combinaisons de (HE) de *Pélargonium graveolens* avec la ciprofloxacine exercent une activité antibactérienne avec un effet synergique contre les bactéries pathogènes et multirésistantes *Enterobacter cloacae* (S9), *Raoultella terrigena* (S170), *Serratia odorifera1* (S43) et *Serratia odorifera1* (S46) .

De ces résultats, il ressort que l'utilisation des huiles essentielles en combinaison avec les antibiotiques pourrait être une alternative à l'utilisation excessive des antibiotiques en thérapeutique pour traiter les infections à germes MDR .

Mots clés : Multirésistance aux antibiotiques, Huile essentielle, *Pélargonium graveolens*, Effet synergétique, Antibiotique.

Table des matières

Remerciements 2

Dédicace 3

Résumé 7

Table des matières 8

Liste des figures 12

Liste des tableaux 13

Liste des abréviations 14

Introduction 2

Chapitre 1 : 4

Les entérobactéries 4

I. Entérobactérie : 5

1. *Escherichia coli* 5

1.1 Caractères bactériologiques 5

2. *Raoultella* 6

3. Groupe K.E.S 7

3.1. Le genre *Klebsiella* 7

3.2. Le genre *Enterobacter* 9

3.3. Le genre *Serratia* 10

Chapitre 2 : La résistance aux antibiotiques 11

II. Résistance aux antibiotiques 12

1. Définition 12

2. Types de résistance 12

2.1 Résistance naturelle ou intrinsèque 12

2.2 Résistance acquise 13

3. Les niveaux de résistance 14

4. Mécanismes de résistance 14

5. Phénotype de résistance 15

III. Résistance des entérobactéries aux antibiotiques 15

1. Entérobactéries et ß-lactamines 15
1.1 Résistance naturelle ou phénotypes « sauvages » 15
1.2 Résistance acquise 16
2. Mécanisme de la résistance des entérobactéries aux ß-lactamines 17
2.1 Les ß-lactamases 17
2.2 Mode d`action 19
2.3 β-lactamases à spectre élargi 19
Chapitre 3 :Les huiles essentielles et leurs activités 22
IV. Généralité sur les huiles essentielles 23
1. Historique 23
2. Définition 23
3. Caractéristiques des huiles essentielles 24
4. Composition chimique des huiles essentielles 24
5. Techniques d'extraction des huiles essentielles : 26
5.1 Distillation 26
5.2 Par hydrodistillation 26
5.3 La distillation à la vapeur d'eau 27
5.4 Par solvant organique 27
5.5 Par solvant volatil 28
5.6 Enfleurage 28
5.7 Macération 28
5.8 Expression à froid 28
5.9 Extraction assistée par micro-ondes 29
5.10 Extraction par fluide à l'état supercritique 30
V. *Pélargonium graveolens* 30
1. Histoire 31
2. Position systématique 32
3. Caractérisation botanique 33

3.1 Morphologie 33
VI. Huile essentielle de *Pélargonium graveolens* : 33
1. Propriétés physiques et composition chimique 34
2. Domaines d'utilisations 35
2.1 Parfumerie et cosmétiques 35
2.2 Médecine traditionnelle et aromathérapie 36
2.3 Agroalimentaire 36
3. Toxicité et pouvoir allergisant 36
VII. Association Antibiotique-huile essentielle 37
1. Généralités 37
2. Quelques exemples d'association 38
Matériel et méthodes 40
1. Cadre d'étude et objectif générale : 41
2. Matériel 41
2.1 Matériel non biologiques 41
2.1.1 Appareillages 41
2.1.2 Verrerie 41
2.2.1 Matériels végétales 42
2.2.2 Souches d'origine alimentaire multi résistantes aux antibiotiques 43
2.2.3 Souches uropathogènes multi résistantes aux antibiotiques 45
3. Méthodes 47
3.1 Extraction de l'huile essentielle 47
3.2 Revivification des souches bactériennes 47
3.3 Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles 48
3.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle et de la ciprofloxacine 49
3.5 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) 49
3.6 Détermination de types d'interaction entre huile l'essentielle et la ciprofloxacine ... 50
Résultats et discussion 53

Résultats et discussion..... 54

1. activité anti-bactérienne de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* et de la ciprofloxacine sur les bactéries testées..... 54

2. Résultat de la CMI et de la CMB 57

3. Effets combinés de l'huile essentielle de Pélargonium graveolens (HE) et de la ciprofloxacine (ATB cip) évalués par la méthode de diffusion en puits 59

4. Effets de combinaisons de l'HE de *Pélargonium graveolens et de la ciprofloxacine* par la méthode de diffusion en disques. 63

5. Indice des concentrations inhibitrices fractionnaires (ICIF) des combinaisons de l'HE de *Pélargonium graveolens et* de *la ciprofloxacine* 67

Conclusion..... 69

Liste de Références 72

Liste des figures

Figure 1: les modes de transmission de matériel génétique (Afssa, 2006) 14
Figure 2: mécanisme d'hydrolyse d'une B-lactamine par une B-lactamase (Ruppé, 2010). 19
Figure 3: Culture de *Pélargonium graveolens* (Blida, 2011)..... 33
Figure 4 :Les étapes d'extraction de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens*. 47
Figure 5:les étapes de CMI..... 50
Figure 6: Schéma de microplaque utilisée dans la détermination des CMI de la combinaison de l'huile essentielle et l'antibiotique vis-à-vis des souches pathogènes..... 52
Figure 7: Images de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* et de la *ciprofloxacine* sur les bactéries testées. 56
Figure 8: Photographies de la sensibilité des souches pathogènes aux combinaisons de ciprofloxacine par la méthode de diffusion en disques. 63
Figure 9: Photographies de la sensibilité des souches pathogènes aux combinaisons de l'HE de *Pélargonium graveolens* et de *la ciprofloxacine* par la méthode de diffusion sur disque 66

Liste des tableaux

Tableau 1: Les caractères biochimiques d'Escherichia (Murray *et al*., 2016). 6
Tableau 2: Les caractères biochimiques de Klebsiella (Murray *et al*., 2016). 8
Tableau 3: Les caractères biochimiques d'Enterobacter (Murray et al., 2016). 10
Tableau 4: Les caractères biochimiques de Serratia (Murray *et al*., 2016). 10
Tableau 5: Les différents composés chimiques des huiles essentielles 25
Tableau 6: Classification de pélargonium graveolens (Demarne, 1992). 32
Tableau 7: Paramètres physiques de l'HE de Géranium (International Standard ISO 4731, 2006). 34
Tableau 8: Profil chromatographique de l'HE de Géranium (International Standard ISO 4731, 2006)..... 35
Tableau 9 Source et partie utilisée de la plante médicinale. 43
Tableau 10 : profil d'antibiogramme des souches d'origine alimentaire sélectionnées 44
Tableau 11 : Origine des souches uropathogènes 45
Tableau 12 : profil d'antibiogramme des souches uropathogènes sélectionnées..... 46
Tableau 13 :Valeurs des dilutions utilisées dans la détermination des CMI des huiles essentielles 49
Tableau 14 : activité anti-bactérienne de l'huile essentielle de Pélargonium graveolens et de la ciprofloxacine sur les bactéries testées..... 54
Tableau 15 : Résultat de CMI et CMB de l'huile essentielle de Pélargonium graveolens et de la ciprofloxacine sur les souches indicatrices. 58
Tableau 16 : Résultat de CMI de la ciprofloxacine sur les souches indicatrices. 58
Tableau 17 : l'effet de combinaison combinaisons de l'HE de Pélargonium graveolens et de la ciprofloxacine par la méthode de diffusion en puits. 61
Tableau 18 : l'effet de combinaison de l'HE de Pélargonium graveolens et de la ciprofloxacine par la méthode de diffusion en disques. 64
Tableau 19 : Indice des concentrations inhibitrices fractionnaires (ICIF) des combinaisons de l'HE de Pélargonium graveolens et de la ciprofloxacine. 67

Liste des abréviations

OMS	Organisation Mondiale de la Santé
HEs	Huiles essentielles
GRAS	"Generally Recognized As Safe" (Généralement reconnue comme saine)
S	(Smooth) Phénotype lisse (colonies lisses)
R	(Rough) Phénotype rugueux (colonies rugueuses)
ONPG	Ortho-Nitro-Phenyl-Galactoside
VP	Voges-Proskauer (test biochimique)
TDA	Tryptophane Désaminase
H_2 S	Hydrogène Sulfureux
Glu	Glucose
Lac	Lactose
ARN 16S	ARN ribosomal 16S (marqueur phylogénétique bactérien)
K.E.S	Klebsiella - Enterobacter - Serratia
ADN	Acide Désoxyribonucléique
P.S	Phénotype sensible
P.B.N	Phénotype Pénicillinase de Bas Niveau
P.H.N	Phénotype Pénicillinase de Haut Niveau
T.R.I	Phénotype Résistant aux Inhibiteurs des β-lactamases
BLSE	β-Lactamase à Spectre Élargi (Extended Spectrum Beta-Lactamase)
C.Ind	Céphalosporinase Inductible
C.D	Céphalosporinase Déprimée
BGN	Bacilles à Gram Négatif
C1G, C2G, C3G, C4G	Céphalosporines de 1ère, 2ème, 3ème et 4ème Génération
TEM	Temoneira β-lactamase

SHV	Sulfhydryl Variable β-lactamase
CTX-M	Cefotaximase Munich
AmpC	AmpC β-lactamase
FOX	Cephamycinase FOX
ACT	Acinetobacter-derived cephalosporinase
CMY	Cephamycinase CMY
OXA	Oxacillinase
GES	Guiana Extended-Spectrum β-lactamase
PER	Pseudomonas Extended-Resistance β-lactamase
VEB	Vietnamese Extended-Spectrum β-lactamase
EDTA	Acide ÉthylèneDiamineTétraAcétique (chélateur)
FMC	Food Machinery Corporation-in-line (procédé industriel)
SFME	Solvent Free Microwave Extraction (extraction par micro-ondes sans solvant)
SFE	Supercritical Fluid Extraction (extraction par fluide supercritique)
FEMA	Flavour and Extract Manufacturers Association
ATB	Antibiotique
FICI	Fractional Inhibitory Concentration Index
MH	Mueller Hinton Agar (milieu de culture)
BN	Bouillon Nutritif
GN	Gélose Nutritive
ATCC	American Type Culture Collection
CASFM	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
MHB	Mueller Hinton Broth (bouillon Mueller Hinton)
UFC/ml	Unités Formant Colonie par millilitre
BMH	Bouillon Mueller Hinton
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
DMSO	Diméthylsulfoxyde

SARM	Staphylococcus Aureus Résistant à la Méticilline
ATB cip	Antibiotique Ciprofloxacine
AMX	Amoxicilline
PIP	Pipéracilline
TIC	Ticarcilline
AMC	Amoxicilline Acide clavulanique
TCC	Ticarcilline-Acide-clavulanique
CL	Céfalexine
FOX	Céfoxitine
CAZ	Ceftazidime
CTX	Cefotaxime
CFM	Céfixime
FEP	Céfépime
ATM	Aztréonam
ETP	Ertapénème
IPM	Imipénème
AN/ AK	Amikacine
TOB	Tobramycine
GM/GN	Gentamicine
OFX	Ofloxacine
CIP	Ciprofloxacine
SXT	Sulfaméthoxazole- Triméthoprime
NIT	Nitrofurantoine
FOS	Fosfomycine

Introduction

Introduction

La prolifération de bactéries résistantes aux antibiotiques est devenue une préoccupation majeure dans le domaine de la santé. Depuis la moitié du 20ème siècle, on enregistre une inquiétante émergence de bactéries multirésistantes, notamment celles productrices de β-lactamases à spectre élargi représentent un véritable danger pour la santé publique **(Atailia, 2016).** Selon l'OMS la résistance aux antibiotiques représente l'une des dix plus grandes menaces pour la santé publique auxquelles était confrontée l'humanité ; Le coût de la résistance aux antimicrobiens pour l'économie est également considérable à cause des durées plus longue de la maladie qui ne se traduisent pas des séjours prolongés à l'hôpital **(Moussaoui *et al.*, 2016).**

La situation est d'autant plus alarmante que les infections causées par les bactéries résistantes entraînent souvent une prolongation de l'état pathologique et un accroissement du taux de mortalité. L'acquisition de ces multiples résistances a engendré une perte d'efficacité de l'antibiothérapie pour, finalement, conduire à une impasse thérapeutique.

Face à ces résistances et à la limite de synthèse de nouvelles classes de molécules anti-infectieuses, un regain d'intérêt est porté aux plantes aromatiques et médicinales dont les propriétés antimicrobiennes sont dues principalement à une fraction d'essence : les huiles essentielles (**Mohd, 2022)**. Ces dernières sont des substances odorantes concentrées dont l'usage s'est élargi à plusieurs domaines allant de l'agroalimentaire aux industries chimiques et pharmaceutiques (**Ben bekkou *et al.*, 2022**).

Les huiles essentielles (HEs) extraites des plantes aromatiques constituent une source potentielle de molécules naturelles bioactives. En raison de leurs propriétés biologiques, les HEs ont gagné beaucoup d'attention et ont donné naissance aux diverses investigations sur leurs potentiels antimicrobiens alternatifs pour le traitement des maladies infectieuses et en industrie agroalimentaire.

Parmi les plantes aromatiques largement répondues et facilement cultivables en Algérie : *Pélargonium graveolens*. Cette plante annuelle et spontanée est originaire de l'Afrique australe et cultivée dans de nombreuses régions méditerranéennes et subtropicales (**Khaddar, 2018**). L'huile essentielle de ce pélargonium, classée « Généralement reconnue comme saine » (*GRAS*) et approuvée pour usage alimentaire par l'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (*Food and Drug Administration*), est connue pour ses propriétés anti-inflammatoires, spasmolytiques, hémostatiques et cicatrisantes (**Omar *et al.*,**

2012). Cependant, peu de travaux ont été consacrés à ses qualités antibactériennes, notamment en Algérie.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est l'évaluation in vitro de l'activité antibactérienne de l'HE de *Pélargonium graveolens* sous l'appellation géranium rosat, en combinaison avec *la ciprofloxacine* pour un éventuel effet synergique vis-à-vis de différentes souches bactériennes pathogènes multirésistantes aux antibiotiques.

Chapitre 1 :

Les entérobactéries

I. Entérobactérie :

Les entérobactéries, généralement opportunistes et causes d'infections nosocomiales, sont les bactéries les plus fréquemment concernées en raison de leur prévalence dans l'intestin, leur capacité à se déplacer, leur multiplication rapide et leur résistance fréquente aux antibiotiques. Surtout en milieu hospitalier dans le domaine de la pathologie infectieuse humaine. On appelle couramment les entérobactéries des agents pathogènes urinaires, car elles sont fréquemment isolées dans les infections urinaires **(Ben Abdallah et Hamlaoui, 2016).**

Cette famille de bactéries hétérogène comprend une vingtaine de genres et plusieurs dizaines d'espèces **(Joly et Reynaud, 2002).** Qui sont regroupés en raison de leurs caractéristiques bactériologiques communes : Gram négatif, il s'agit de bacilles ou coccobacilles. Mobiles avec ciliature péritrichique ou sans mobilité ; Pas exigeants ; Aérobies-anaérobies facultatifs ; fermentant le glucose avec ou sans production de gaz ; nitrate réductase positive ; oxydase négative ; catalase positive ; non sporulés **(Bousseboua, 2005).**

1. *Escherichia coli*

E. coli (colibacille) est l'espèce type du groupe des *Enterobacteriacea*, est potentiellement pathogène pour l'homme ; responsable d'infections spontanées des voies urinaires et de gastro-entérites, il est aussi responsable d'infections nosocomiales **(Dembelle, 2006).** *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fondamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique **(Jean *et al.*, 2018).**

1.1 Caractères bactériologiques

a) Caractères morphologiques et culturaux

Bacille de taille comprise entre 1 et 1,5 µm de largeur et 2 à 6 µm de longueur et souvent mobile. *E. coli* donne des colonies non pigmentées de 2 à 3 mm, de type "S" smooth: lisses et brillantes, ou de type "R" rough: présentant une surface sèche et rugueuse. Certaines colonies sont particulièrement mucoïdes et correspondent à la présence d'une capsule liée aux lipopolysaccharides de la membrane externe **(Avril *et al.*, 1992 ; Avril *et al.*, 2000).**

b) Caractères biochimiques

Les caractères biochimiques d'*Escherichia* **(Murray *et al.*, 2016).**

Tableau 1: Les caractères biochimiques d'Escherichia (Murray *et al*., 2016).

Test	GLU	LAC	ONPG	Indole	VP	Cit	Mob	Urée	H_2S
Résultat	+	+	+	+	-	-	+	-	-

ONPG = Ortho NitroPhenyl Galactoside ; VP = Voges Proskauer ; TDA = Tryptophane desaminase ; H2S = Hydrogène sulfureux ; Glu = Glucose ; Lac = Lactose

(+) = positif ; (+/-) = variable ; (-) = négatif

c) Caractères antigéniques

Les différents sérotypes d'*E. coli* contiennent plusieurs catégories d'antigènes :

- **Antigènes somatiques O :** ils sont de nature lipopolysaccharidique ; il existe environ 160 antigènes O différents.
- **Antigènes capsulaires K :** ils sont de nature polysaccharidique ; environ 70 antigènes d'enveloppe différents ont été reconnus.
- **Antigènes flagellaires H :** ils sont de nature protéique ; on en connaît 52 types, ils ne sont présents que chez les souches mobiles **(Marc *et al.*, 1999 ; Avril *et al.*, 2000).**

2. *Raoultella*

En 2001, *Raoultella* a été réassigné à un genre séparé de *Klebsiella*. En raison de l'augmentation des signalements d'infections cliniques causées par les espèces de *Raoultella*, il s'agit donc d'une pathogène émergent **(Yu *et al.*, 2019).** Ce genre porte le nom de la bactériologiste française Didier Raoult. Il englobe des organismes anaérobies facultatifs de Gram négatif, oxydase-négatif, et repose sur l'analyse phylogénétique des gènes de l'ARN 16s **(Schicklberger, 2015).** Toutefois, certaines caractéristiques métaboliques sont observées chez certaines espèces et pas chez d'autres, ce qui est utile pour les différencier. Parmi celles-ci figurent le test de l'indole, la croissance à 10°C, la production d'histamine et le test de la

mélanozitose. Au sein de ces espèces *Raoultella planticola* et *Raoultella terrigena* **(Appel *et al.*, 2021)**

3. Groupe K.E.S

Le groupe *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* (K.E.S) regroupe diverses espèces bactériennes qui ont longtemps été perçues comme commensales et qui sont désormais à la source de nombreuses complications infectieuses dans les hôpitaux. Ces caractéristiques sont partagées par les bactéries de ce groupe : La réponse de Voges-Prauskauer est habituellement favorable. Il s'agit de bactéries opportunistes pathogènes qui ont une faible viabilité et se manifestent rarement en milieu extrahospitalier. Ces bactéries provoquent l'inflammation infectieuse chez les patients atteints de débilité, de cirrhose, de diabète, d'incendie, de cancer et en réanimation. Souvent, ces bactéries présentent plusieurs résistances aux antibiotiques. Il est plus courant de les rencontrer lorsque la pression de sélection des antibiotiques de large spectre est importante **(Berche *et al.*, 1988 ; Flandrois, 1997 ; Avril *et al.*, 2000).**

3.1. Le genre *Klebsiella*

Trevisan a dédié ce genre au nom de Klebs Edwin, microbiologiste allemand du 19e siècle **(Belbel, 2014),** et il appartient parmi les cinq agents pathogènes de gram-négatifs les plus fréquemment observés dans les infections hospitalières **(Hansen *et al.*, 2004).** Ce genre de bactérie est constamment immobile, encapsulé et réagit naturellement aux antibiotiques. Ses cellules se présentent habituellement comme suit : isolées, par paire ou en courte chaîne **(Singleton, 2008).** On reconnaît généralement six espèces de *Klebsiella* : 4 espèces sont pathogènes pour l'homme (*K. pneumoniae, K. oxytoca, K. ozaenae et K. rhinoscleromatis*) tandis que 2 d'entre elles se trouvent dans l'environnement et ne provoquent généralement pas de maladies (*K. terrigena et K. planticola*) **(Avril *et al.*, 2000).**

3.1.1. Caractères bactériologiques

a) Caractères morphologiques

K. pneumoniae est un type de bacilles à Gram négatif, aéro-anaérobie facultatif et de mesure de 0,3 à 0,1 µm de diamètre et 0,6 à 6µm de long, aux extrémités arrondies **(Abbot, 2007).** Elles peuvent être présentes de manière isolée, groupée, sous forme de diplobacilles ou de courtes chaînettes. Les colonies de *Klebsiella* ont un diamètre variant entre 3 et 4 mm.

Elles ont une grandeur, une forme ronde, une lisière lisse et un aspect visqueux, présentant une apparence muqueuse et parfois filante à la base de platine **(Le Minor et Véron, 1989).**

b) Caractères culturaux

Klebsiella est cultivée soit sur gélose soit dans un milieu liquide. Sur gélose, elle se développe en aéro-anaérobiose dans des milieux classiques couramment utilisés pour les entérobactéries tels que la gélose nutritive, la gélose Hektoen, la gélose MacConkey. Une fois incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures, on observe un changement de couleur du milieu à cause de la fermentation du lactose de milieu. Dans un milieu liquide (bouillon nutritif), la culture se développe rapidement, en quelques heures, à une température entre 30 et 37°C. On observe la formation d'un dépôt muqueux et d'un halo visqueux à la surface. Dans un bouillon de lactose bilié brillant à 44°C, le lactose subit une fermentation qui génère de la production de gaz (tableau 2) **(Le Minor et Véron, 1989).**

c) Caractères biochimiques :

Tableau 2: Les caractères biochimiques de Klebsiella (Murray *et al*., 2016).

Test	GLU	LAC	ONPG	Indole	VP	Cit	Mob	Urée	H_2S
Résultat	+	+	+	+/-	+	+	-	+	-

ONPG = Ortho NitroPhenyl Galactoside ; VP = Voges Proskauer ; TDA = Tryptophane desaminase ; H2S = Hydrogène sulfureux ; Glu = Glucose ; Lac = Lactose

(+) = positif ; (+/-) = variable ; (-) = négatif

d) Caractères antigéniques

Klebsiella pneumoniae détient des antigènes similaires à ceux que portent d'autres entérobactéries, sauf l'antigène (H).

- **Antigène flagellaire (H) :** de son immobilité.
- **Antigène O = antigène somatique :** il désigne l'antigène de la paroi des entérobactéries qui se distingue par sa thermo stabilité. Il se divise en deux fractions :

protéinique et poly osidique, déterminant la spécificité de cet antigène. De plus, une fraction lipidique est associée au polyoside qui provoque la toxicité de la bactérie. L'analyse de ces antigènes donne la possibilité d'organiser les bactéries d'une espèce en sérotype ou sérovar.

- **Antigène K= antigène capsulaire :** au moins 77 antigènes K ont été identifiés chez *K. pneumoniae* : K1 à K72, K74, K79 à K82. Les souches les plus pathogène pour l'homme et les animaux font partie des types capsulaires 1 et 2 **(Freney *et al.,* 2000).**

3.2. Le genre *Enterobacter*

Au fil des trois dernières décennies au sein des hôpitaux, les *Enterobacter* ont été identifiés comme d'importants pathogènes bactériens opportunistes et multirésistantes pour l'homme, tout comme un agent infectieux bien reconnu pour les affections des plantes **(Wu *et al.*, 2020).** Appartient à la famille des *Enterobacteriacea*.

E. cloacea une espèce qui se trouve en microflore commensale dans le système digestif des êtres humains et animales **(Davin-Regali et Pages, 2015).**

3.2.1. Caractères bactériologiques

a) Caractères morphologiques

Enterobacter est un genre de bacilles à Gram négatif qui se manifeste soit individuellement, soit en groupes ou en petites chainettes. Il se déplace par flagelles péritriches et a sporogènes **(Grimont et Grimont, 2002 ; Lehner, 2011).**

b) Caractères culturaux

L'isolement d'*Enterobacter*, est effectué sur des milieux de culture utilisés pour l'isolement des entérobactéries (Drigalski, MacConkey, Hecktoen...), qui former après 18 à 24 heures des colonies rondes, légèrement irisées ou mates, sèches ou mucoïdes et avec des contours irréguliers. Chez 80% des souches, la fermentation du lactose (tableau 3) provoque des changements de couleur sur le milieu **(Lehner, 2011).**

c) Caractères biochimiques

Tableau 3: Les caractères biochimiques d'Enterobacter (Murray et al., 2016).

Test	GLU	LAC	ONPG	Indole	VP	Cit	Mob	Urée	H_2S
Résultat	+	+	+	-	+	+	+	-	-

ONPG = Ortho NitroPhenyl Galactoside ; VP = Voges Proskauer ; TDA = Tryptophane desaminase ; H2S = Hydrogène sulfureux ; Glu = Glucose ; Lac = Lactose

(+) = positif ; (+/-) = variable ; (-) = négatif

3.3. Le genre *Serratia*

Le genre *Serratia* rassemble actuellement dix espèces différentes : *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia proteomaculans, Serratia grimesii*, *Serratia polmuthica*, *Serratia rubidaea*, *Serratia odorifera*, *Serratia ficaria*, *Serratia fonticola* et *Serratia entomophila* **(Sekhsokh *et al.*, 2007).**

3.3.1. Caractères bactériologiques

a) Caractères morphologiques et culturaux

Serratia est bacille mobile dont la longueur varie entre 0,9 et 2 µm tandis que sa largeur entre 0,5 et 0,8 µm. Parfois, elle produit des colonies avec une pigment rouge (prodigiosine) **(Didier, 1998 ; Avril *et al.*, 2000).**

b) Caractères biochimiques

Tableau 4: Les caractères biochimiques de Serratia (Murray *et al.*, 2016).

Test	GLU	LAC	ONPG	Indole	VP	Cit	Mob	Urée	H_2S
Résultat	+	-	+	-	+	+	+	-	-

ONPG = Ortho Nitrophénol Galactoside ; VP = Voges Proskauer ; TDA = Tryptophane desaminase ; H2S = Hydrogène sulfureux ; Glu = Glucose ; Lac = Lactose

(+) = positif ; (+/-) = variable ; (-) = négatif

Chapitre 2 : La résistance aux antibiotiques

II. Résistance aux antibiotiques

Certaines espèces bactériennes, ainsi que certaines souches d'une même espèce, peuvent présenter une résistance à l'action d'un ou plusieurs antibiotiques. Dans ce dernier cas, on évoque alors la notion de résistance croisée ou de résistance multiple. La résistance bactérienne découle systématiquement de l'incapacité de l'antibiotique à exercer son action sur sa cible, en raison des réactions des bactéries face à l'antibiotique, manifestées par divers mécanismes **(Bousseboua, 2005).**

1. Définition

Une bactérie est qualifiée de résistante lorsqu'elle est capable de survivre à une concentration d'antibiotique significativement supérieure à celle nécessaire pour inhiber la croissance de la plupart des autres bactéries de la même espèce **(Carl, 2009).**

2. Types de résistance

2.1 Résistance naturelle ou intrinsèque

La résistance naturelle, connue sous le nom d'intrinsèque, est confirmée en cas d'insensibilité de toutes les souches d'une espèce ou d'un genre bactérien à un (ou plusieurs) antibiotique(s). Ce genre de résistance est identifié dès les premières investigations menées sur l'antibiotique pour évaluer son efficacité, et participe à la définition de son spectre antibactérien. Cette résistance peut résulter de l'inaccessibilité de la cible à l'antibiotique, d'une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou de l'absence de la cible. La résistance bactérienne naturelle est intrinsèque et résulte de gènes présents sur le chromosome. Il s'agit en réalité d'une insensibilité naturelle qui n'est pas le résultat d'une évolution de l'espèce depuis l'avènement des antibiotiques. Elle demeure stable et se transmet lors de la division cellulaire (transmission verticale), mais elle n'est habituellement pas transférable d'une bactérie à une autre (transmission horizontale) **(Carle, 2009 ; Mandell, Bennett et Dolin, 2005 ; Moroh, 2013).**

2.1.1. Exemples de résistances naturelles

- *Klebsiella* sp synthétise naturellement des β-lactamases. Cette enzyme se trouve dans l'espace périplasmique de la bactérie, où elle catalyse la dégradation d'antibiotiques tels que les pénicillines A avant qu'ils n'atteignent leur cible bactérienne.
- Les bactéries anaérobies présentent une résistance naturelle aux aminosides en raison de l'absence d'un système de transport actif permettant le passage des aminosides à travers la membrane cytoplasmique **(Lozniewski et Rabaud, 2010).**

2.2 Résistance acquise

Il s'agit d'une caractéristique qui n'est présent que chez quelques souches d'une espèce bactérienne. La résistance acquise, bien que moins stable, a tendance à se propager de manière significative au sein de la communauté bactérienne. Cela découle d'une altération du patrimoine génétique de la bactérie, que ce soit par une mutation chromosomique ou extra-chromosomique, ce qui lui confère la capacité de supporter une concentration d'antibiotiques plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce **(Lozniewski et Rabaud, 2010).**

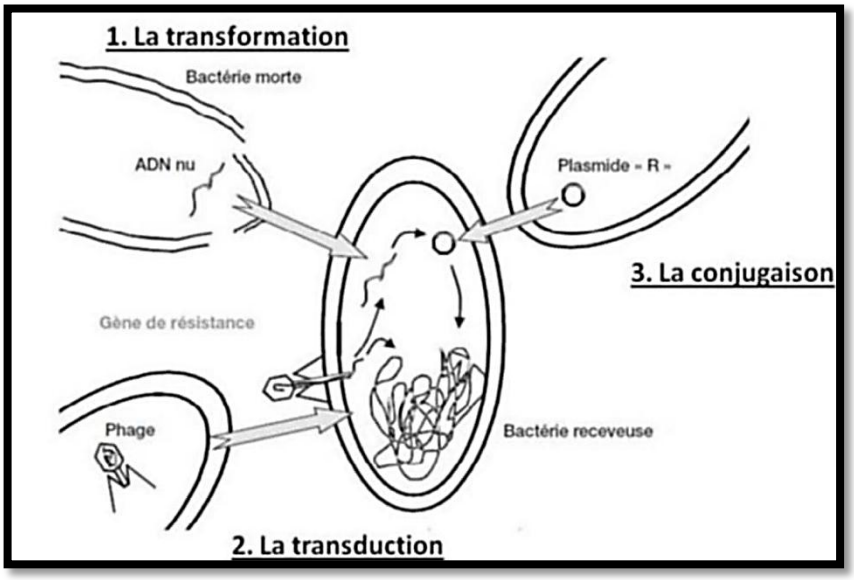
2.1.2. Les deux grands types d'acquisition de résistance

- **Résistance par mutation chromosomique**

Il s'agit d'une mutation chromosomique qui entraîne le remplacement d'une base de l'ADN par une autre, conférant ainsi une résistance spontanée à une famille d'antibiotiques. Il convient de noter que cet événement est rare et stable, ce qui signifie que cette résistance sera transmise aux générations futures de bactéries, et donc à leur descendance. Il est alors problème de transmission verticale **(Battraud, 2017).**

- **Résistance par acquisition de gènes (extra chromosomique)**

Également connu sous le nom de transfert latéral de gènes, ce mécanisme autorise un organisme à incorporer du matériel génétique provenant d'un autre organisme sans être directement issu de celui-ci. Les éléments échangés comprennent des éléments génétiques



(figure 1).

Figure 1: les modes de transmission de matériel génétique (Afssa, 2006)

mobiles tels que des plasmides (le plus courant), des transposons ou des intégrons **(Figure 1) (Blair *et al.*,2015).**

3. Les niveaux de résistance

Le concept de résistance de bas niveau est utilisé pour décrire l'arrêt de la croissance bactérienne en présence de faibles concentrations d'antibiotiques, tandis que la résistance de haut niveau se réfère à l'arrêt de cette croissance à des concentrations élevées d'antibiotiques **(http://anne.free.fr/atb/resab.htm).**

4. Mécanismes de résistance

Les bactéries ont mis en place divers mécanismes pour contrer l'effet des agents antibactériens, parmi lesquels les plus courants sont :

- L'inactivation enzymatique des antibiotiques se produit lorsque l'enzyme altère le site actif de l'antibiotique par clivage ou par l'ajout d'un groupement chimique, ce qui entrave la liaison de l'antimicrobien à sa cible **(Muylaerta et Mainil, 2012).**
- La modification ou le remplacement de la cible de l'antibiotique implique une altération structurelle de celle-ci, empêchant ainsi le composé antibactérien de se fixer et d'exercer son action **(Muylaerta et Mainil, 2012).**
- Les pompes à efflux, qui sont des protéines transmembranaires, assurent un mécanisme actif d'efflux nécessitant de l'énergie. Elles sont utilisées par les bactéries pour expulser hors de leur membrane des composés étrangers tels que des antibiotiques **(Muylaerta et Mainil, 2012).**
- La perméabilité réduite est caractérisée par une enveloppe plus complexe et moins perméable chez les bactéries à Gram négatif. Les antibiotiques hydrophiles entrent à l'intérieur de la bactérie en passant à travers des protéines transmembranaires appelées porines. De plus, des mutations affectant les gènes responsables de la synthèse des porines peuvent entraîner leur disparition, une réduction de leur taille ou une diminution de leur expression, ce qui se traduira par une sensibilité accrue à de nombreux antibiotiques **(Muylaerta et Mainil, 2012).**
- Piégeage de l'antibiotique : Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique par l`augmentation de la production de sa cible, la production d` une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au

niveau de la cible. Ainsi des mutations chromosomiques responsables d'une surproduction des cibles **(Muylaerta et Mainil, 2012).**

5. Phénotype de résistance

Il s'agit de l'indication de la résistance d'une souche face à divers antibiotiques appartenant soit à la même catégorie, soit à des catégories distinctes. L'identification du mécanisme de résistance et/ou du génotype associé au phénotype observé peut parfois être effectuée grâce à la sélection appropriée des antibiotiques examinés. L'identification de certaines souches bactériennes à l'origine d'infections nosocomiales est suggérée par l'examen du phénotype de résistance **(Bathily, 2002).**

III. Résistance des entérobactéries aux antibiotiques

1. Entérobactéries et ß-lactamines

1.1 Résistance naturelle ou phénotypes « sauvages »

Toutes les entérobactéries sont naturellement résistantes aux pénicillines G et M. Elles peuvent être divisées en 6 groupes en fonction de leur comportement vis à vis des ß-lactamines **(Zogheibe et Dupont, 2005).**

Groupe 0 : Phénotype « sensible » d'espèces dépourvues de gènes de β-lactamases *Salmonella* spp et *Proteus mirabilis* sont dépourvus de β-lactamase à l'état « sauvage » et sont naturellement sensibles aux amino-pénicillines, carboxypénicillines, uréido-pénicillines, à l'aztréonam, aux céphalosporines et aux carbapénèmes **(Bonnet, 2006).**

Groupe 1 : Phénotype « sensible » d'espèces produisant naturellement une céphalosporinase de classe C Une β-lactamase de classe C constitutive à bas niveau est présente chez les souches sauvages d'*Escherichia coli* et *Shigella* spp. et ne confère de résistance qu'aux β-lactamines. qui pénètrent faiblement dans l'espace périplasmique (benzylpénicilline, cefsulodine) **(Gautier, 2007).**

Groupe 2 : Phénotype « pénicillinase de bas niveau » Ce phénotype, observé chez *Klebsiella (K.pneumoniae, K.oxytoca), Citrobacter koseri (C.diversus), Citrobacter amalonaticus et Escherichia hermannii,* se caractérise par la résistance à bas niveau de ces espèces à l'amoxicilline et à la ticarcilline, par la sensibilité à la céfalotine, au céfotaxime et aux autres β-lactamines **(Vedel, 1998).**

Groupe 3 : Phénotype « céphalosporinase de bas niveau » Des espèces *comme Enterobacter cloacae, Enterobacter aerogenes, Citrobacter freundii, Morganella morganii, Serratia*

marcescens, Hafniaalvei, Yersinia enterocolitica, Providencia stuartiiet Providencia rettgeri possèdent une céphalosporinase inductible, leur conférant une résistance aux amino-pénicillines, aux céphalosporines de 1ere génération et à l'action de l'acide clavulanique. Ce caractère inductible est détecté dans l'antibiogramme en milieu gélosé par un antagonisme ("écrasement" du diamètre d'inhibition) entre une β lactamine inductrice (imipénème, céfoxitine) et une céphalosporine de 3eme génération. Ce type d'expression est le fait d'un mécanisme complexe faisant intervenir plusieurs gènes régulateurs (ampR, ampD, et ampG) **(Philippon et Arlet, 2006).**

Groupe 4 : *Yersinia enterocolitica et Serratiafonticola* Elles sont résistantes aux amino-pénicillines, uréido-pénicillines, carboxypénicillines et aux céphalosporines de 1ere génération par l'action associée d'une pénicillinase et d'une céphalosporinase naturelle produite à bas niveau **(Zomahoun, 2004).**

Groupe 5 : Phénotype « céfuroximase » *Proteus vulgaris* et *Proteus penneri* possèdent une β-lactamase particulière par fois dénommée "céfuroximase" qui rend ces espèces résistantes aux pénicillines du groupe A et aux céphalosporines de 1ere et 2eme générations (à l'exception des céphamycines comme la céfoxitine) mais dont l'activité enzymatiques et inhibe par l'action d'acide clavulanique **(Denis et Ploy, 2007).**

Groupe 6 : Phénotype « β-lactamase à spectre étendu chromosomique » Les entérobactéries d'isolement très rare tell que Kluyvera montrant un phénotype de résistance inhabituel "pénicillinase de bas niveau". Ce phénotype est nettement à distinguer de celui "pénicillinase de bas niveau" **(Philippon, 2005).** Il s'agit une BLSE naturelle exprimé à bas niveau **(Denis et Ploy, 2007).**

Après clonage du gènecorres pondant (KLUA-1) dans une souche réceptrice d'*E.coli,* a été identifié, par la suite, un des progénitures de BLSE plasmidiques de type CTX-M **(Philippon, 2005).**

1.2 Résistance acquise

Nous avons identifié 6 phénotypes qui sont :

- **Phénotype sensibles (P.S.) :** Les souches de ce phénotype sont sensibles aux bêta-lactamines. Il s'agit des entérobactéries du groupe 1.

- **Phénotype pénicillinase de bas niveau (P.B.N.) :** Les souches sont résistantes à l'amoxicilline et sensibles à l'association amoxicilline + acide clavulanique, à la céfalotine et à la ceftriaxone.
- **Phénotype pénicillinase haut niveau (P.H.N.) :** Les souches sont résistantes à l'amoxicilline, à l'association amoxicilline + acide clavulanique, à la céfalotine mais sont sensibles à la ceftriaxone.
- **Phénotype pénicillinase résistante aux inhibiteurs des bêta-lactamases (T.R.I.) :** Les souches sont résistantes à l'amoxicilline, l'association amoxicilline + acide clavulanique mais sont sensibles à la céfalotine et à la ceftriaxone.
- **Phénotype céphalosporinase inductible (C.Ind.) :** Les souches de ce phénotype sont résistantes à l'amoxicilline, à l'association amoxicilline + acide clavulanique, à la céfalotine mais sont sensibles à la ceftriaxone et à la ticarcilline.
- **Phénotype céphalosporinase déprimée (C.D.) :** Les souches sont résistantes à l'amoxicilline, à l'association amoxicilline + acide clavulanique, à la ticarcilline, à la céfalotine et à la ceftriaxone mais elles sont sensibles au mécillinam.
- **Phénotype bêta-lactamase à spectre élargi (B.L.S.E.) :** Les souches de ce phénotype sont résistantes à l'amoxicilline, à l'association amoxicilline + acide clavulanique, à la céfalotine et à la ceftriaxone **(Ketta, 1998).**

2. Mécanisme de la résistance des entérobactéries aux ß-lactamines

2.1 Les ß-lactamases

2.1.1 Définition et classification des β-lactamases

Les entérobactéries ont la capacité de résister aux β-lactamines grâce à la production de β-lactamases, des enzymes qui catalysent efficacement et de manière irréversible l'hydrolyse de la liaison amide du cycle β-lactame des β-lactamines, générant un produit qui perd complètement son action antimicrobienne **(Debabza,2015).**

Les gènes responsables de la codification de ces enzymes proviennent soit des chromosomes, soit des plasmides. Ces gènes ont également été identifiés sur des transposons et des intégrons, facilitant de ce fait le transfert horizontal de ces gènes entre espèces d'une grande distance phylogénétique **(Belbel, 2014).**

Plus de 290 variantes de β-lactamases ont été identifiées, la majorité étant présentes chez les BGN qui présentent une résistance accrue et multi-résistante **(Brahmia, 2022).**

On distingue les β-lactamases selon deux modèles :

• La première, proposée en 1980, repose sur la structure primaire de l'enzyme, plus précisément la séquence d'acides aminés des éléments conservés du site actif. Elle personnalise.

On distingue quatre classes de molécules : A, C et D (également appelées enzymes sérines), ainsi que B (qui contiennent deux atomes de zinc dans leur site actif) **(Belbel, 2014).**

• La catégorisation fonctionnelle de Bush-Jacoby-Medeiros **(Bush *et al.*, 1995)** : dans laquelle les auteurs prennent en compte la fonctionnalité des β-lactamases (substrat, profil d'inhibition) et classent également ces enzymes en quatre catégories (1 à 4), comprenant divers sous-groupes.

Les enzymes à sérine actives, notamment les β-lactamases des classes A, C et D, contiennent une sérine au sein de leur site actif qui joue un rôle dans le processus d'acylation lors de l'hydrolyse des β-lactamines. Cependant, la classe B englobe les métallo-β-lactamases qui requièrent la présence d'ions métalliques (un ou deux ions de zinc) pour leur activité.

La classe A est la plus variée, comprenant les pénicillinases des bactéries à Gram positif, les β-lactamases plasmidiques à large spectre qui décomposent les céphalosporines avec la même efficacité que les pénicillines, ainsi que les β-lactamases à spectre étendu qui dégradent les C3G et les monobactames. La plupart de ces enzymes sont sensibles aux inhibiteurs (acide clavulanique, sulbactame et tazobactame) qui sont utilisés dans le domaine médical.

Les β-lactamases du type TEM, SHV et plus récemment CTX-M sont les membres les plus notables de ce groupe.

On trouve des céphalosporinases dans la classe C, qui sont des enzymes résistantes à l'acide clavulanique et au sulbactame ; néanmoins, certaines d'entre elles sont seulement légèrement inhibées par le tazobactame **(Doi *et al.*, 2004**). L'hyperproduction qu'ils présentent est liée au phénotype de multirésistance identifié chez certains BGN. Initialement associées à un transfert chromosomique, les β-lactamases de classe C sont désormais également liées à une transmission plasmidique. Dans ce groupe, on retrouve les enzymes AmpC, FOX, ACT et CMY.

La classe D englobe les β-lactamases qui hydrolysent les isoxazolylpénicillines telles que la cloxacilline et l'oxacilline. Ces dernières résistent à l'hydrolyse par les autres types de β-lactamases et présentent une certaine activité inhibitrice. Ces enzymes sont connues sous le nom d'oxacillinases et elles se caractérisent par les β-lactamases de type OXA. Ces enzymes

présentent une résistance variable à l'effet de l'acide clavulanique, mais sont efficacement inhibées par le tazobactame **(Debabza, 2015).**

Les β-lactamases de classe B hydrolysent les carbapanèmes, des composés qui sont résistants à l'action des β-lactamases à sérine. Les métallo-β-lactamases, qui hydrolysent un éventail de pénicillines et de céphalosporines, ne réagissent pas aux inhibiteurs traditionnels tels que l'acide clavulanique, le sulbactame et le tazobactame. Cette classe est divisée en trois sous-catégories, B1, B2 et B3, sur la base de la séquence des enzymes **(Benthabet,2021).**

2.2 Mode d`action

Les β-lactamases ont une structure proche des enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane de la bactérie. Le mode d'action des β lactamines sur une bactérie sensible consiste à entraîner une erreur des peptidases aboutissant à un défaut de synthèse du peptidoglycane. Pour éviter que les peptidases ne se « trompent », la bactérie synthétise une β-lactamase qui va hydrolyser le cycle β-lactame **(Figure 2)**.

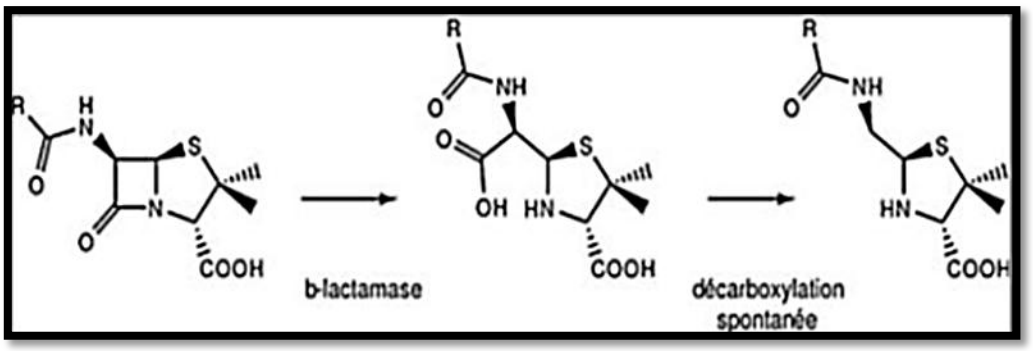


Figure 2: mécanisme d'hydrolyse d'une B-lactamine par une B-lactamase (Ruppé, 2010).

Son ouverture va empêcher sa reconnaissance par la peptidase et donc la synthèse du peptidoglycane est possible : la multiplication bactérienne n'est alors pas affectée **(Lavigne *et al.*, 2002).**

2.3 β-lactamases à spectre élargi

2.3.1 Définition

Les enzymes à large spectre de type β-lactamase (BLSE) partagent une caractéristique commune : elles possèdent la capacité de conférer une résistance aux pénicillines, ainsi qu'aux C1G, C2G et C3G, et à l'aztréonam (mais pas aux céphamycines et carbapénèmes) en hydrolysant ces antibiotiques. De plus, elles sont inhibées par des inhibiteurs de β-lactamases tels que l'acide clavulanique **(Bush *et al.*, 1995).**

L'existence des BLSE a été initialement rapportée chez *Klebsiella ozaeniae* en 1983 en Allemagne, suivie de leur identification en 1984 chez *K. pneumoniae* et *E. coli* en France et en Tunisie **(Belbel, 2014).**

Ces enzymes ont été nommées céfotaximase et ceftazidimase du fait qu'elles confèrent une résistance préférentielle à la céfotaxime ou à la ceftazidime aux bactéries qui les produisent. Elles désactivaient également d'autres β-lactamines comme la ceftriaxone et l'aztréonam. Actuellement, ces enzymes sont réparties à l'échelle mondiale **(Paterson et Bonomo, 2005).**

Les BLSE fonctionnent par médiation plasmidique et sont classées dans la classe moléculaire A d'Ambler, ainsi que dans le groupe 2be de la classification Bush-Jacoby-Medeiros, à l'exception des BLSE OXA qui appartiennent à la Classe D d'Ambler et au groupe 2d de Bush-Jacoby-Medeiros **(Bush *et al.*, 1995).**

Elles se distinguent des β-lactamases du groupe C produites par les bacilles Gram-négatif comme Enterobacter, qui peuvent présenter un spectre élargi en raison de la surproduction, mais qui sont résistantes à l'acide clavulanique et sensibles aux C4G (céfépime, cefpirome) grâce à leur capacité d'inhibition par l'acide clavulanique **(Brahmia, 2022).** Elles se distinguent également des métallo-β-lactamases qui, bien qu'elles hydrolysent toutes les β-lactamines (pénicillines, céphalosporines et carbapénèmes), ne sont inhibées que par l'EDTA **(Debabza, 2015).**

2.3.2. Différents types de BLSE

- **TEM**

Les BLSE de type TEM (Temoniera) sont dérivés de TEM-1 et TEM-2 par remplacement d'un ou plusieurs acides aminés. Bien que ce genre de BLSE soit généralement...

Ces enzymes, produites par *E. coli et K. pneumoniae*, ont également été identifiées chez d'autres espèces d'Entérobactéries (telles qu'*Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri* et *Salmonella* spp), ainsi que chez Pseudomonas aeruginosa (TEM-42) **(Debabza, 2015).**

- **SHV**

L'enzyme SHV-1 (Sulfo- Hydroxyl Variable), à partir de laquelle les BLSE de type SHV sont dérivées grâce à la substitution d'un ou plusieurs acides aminés, est souvent présente chez

K. pneumoniae. Cette enzyme hydrolyse les pénicillines, les Céphalosporines, mais pas les oxyimino-céphalosporines ni l'aztréonam **(Debabza, 2015).**

La plupart de ces enzymes ont été identifiées dans les souches de *K. pneumoniae.*

Cependant, ces enzymes ont été découvertes chez *Citrobacter*. On a formé sur les données jusqu'à octobre 2023 concernant *Freundii, C. diversus, E. coli, Enterobacter cloacae et P. aeruginosa.*

- **CTX-M**

Les BLSE de type CTX-M sont incluses dans la catégorie des BLSE non-TEM et SHV, présentant une homologie inférieure à 40% avec les BLSE TEM et SHV. Elles sont plasmidiques et offrent une grande résistance au céfotaxime et à la ceftriaxone, n'ayant qu'une influence marginale.

Concernant la CMI de la ceftazidime **(Benthabet, 2021).** Signalées pour la première fois au milieu des années 80, elles démontrent un degré de propagation parmi les bactéries et à travers le monde qui a considérablement augmenté depuis 1995. On a isolé les enzymes de la famille CTX-M à partir de diverses espèces d'entérobactéries. Elles sont classées en cinq groupes (CTXM-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-9 et CTX-M-25) sur la base de leurs séquences protéiques **(Benthabet, 2021).**

- **OXA**

Les BLSE OXA diffèrent des types TEM et SHV par le fait qu'elles appartiennent à la classe D et au groupe 2d **(Bush *et al.*, 1995).** Contrairement à ce qui est observé dans les BLSE de la classe A qui sont produites le plus souvent par les entérobactéries, les BLSE OXA sont en grande majorité détectées *chez P. aeruginosa*. Plus d'une dizaine de ces enzymes ont été mises en évidence et la majorité provient de OXA-10 par mutation d'un ou de plusieurs acides aminés **(Bradford, 2001).**

- **Autres types de BLSE**

Outre les BLSE déjà identifiés, de nouvelles catégories classées comme BLSE non-TEM et non-SHV ont émergé. Ces BLSE sont classées en classe A d'Ambler et ont été isolées non seulement de *P. aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*, mais également des entérobactéries. Ces nouvelles catégories incluent le type GES, le type PER et le type VEB **(Belbel, 2014).**

Chapitre 3 : Les huiles essentielles et leurs activités

IV. Généralité sur les huiles essentielles

1. Historique

L'usage des huiles essentielles est documenté depuis l'Antiquité : Vers 4500 avant J.-C., les Égyptiens produisaient de l'HEs en utilisant la méthode de macération et d'essorage, et l'utilisaient dans différents secteurs tels que la médecine, la parfumerie, la cosmétique et l'embaumement. Vers 4000 avant J.-C., au Moyen-Orient, les huiles étaient principalement employées dans le secteur de la parfumerie. Sous l'influence égyptienne dans le domaine médical, elles ont progressivement gagné en popularité pour traiter les affections cutanées et psychologiques. Au cours du premier millénaire avant J.-C. en Amérique, les diverses tribus indiennes se servaient des plantes médicinales à diverses fins telles que le soulagement corporel, la purification, le développement de l'esprit, ou encore le nettoyage des habitations, entre autres. En 300 avant J.-C., les herbes médicinales ont été introduites en Grèce par Alexandre le Grand à la suite de sa conquête de l'Égypte et de sa reconnaissance des propriétés bénéfiques des plantes. En 150 avant J.-C., la Grèce exerce une influence sur l'Empire romain et manifeste un intérêt croissant pour l'utilisation des épices en raison de leurs saveurs et de leurs arômes. Durant la renaissance du Moyen-Orient, Avicenne, un médecin et philosophe perse, a contribué à l'avancement de la méthode de distillation en inventant le serpentin. La Renaissance en Europe a été marquée par l'émergence des premiers dispositifs de diffusion d'huiles essentielles, connus sous le nom de "pomanders", qui étaient utilisés pour endiguer les épidémies de peste.

Pendant les guerres, les soldats blessés recevaient des soins à l'aide de bandages imprégnés d'huiles essentielles. Ces pratiques ont mis en évidence les limites de l'antibiothérapie, ce qui souligne l'efficacité des huiles essentielles comme alternative pour le traitement des maladies. **(Théophane *et al.*, 2019),...** L'aromathérapie a ainsi fait son retour dans les années 60 à l'échelle mondiale. Jean Valnet a mis au point la méthode pour évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles. De nos jours, l'aromathérapie est largement répandue à l'échelle mondiale. Il s'agit probablement d'une des méthodes les plus naturelles pour lutter contre les infections microbiennes, étant aussi efficace en prévention qu'en traitement.

2. Définition

Les huiles essentielles sont des composés naturels complexes contenant des métabolites secondaires, qui sont volatils, odorants, non gras et extraits sous forme liquide à partir de végétaux **(Guinoiseau, 2010).** Cette substance est issue d'une sécrétion produite par

l'ensemble de la plante aromatique, voire plus précisément par certains de ses organes (racine, écorce, feuille, fleur, fruit, graine...) qui sont choisis pour extraire les composés aromatiques **(Couic-Marinier et Lobstein, 2013).** L'hydrodistillation demeure la méthode la plus couramment utilisée pour l'extraction des huiles essentielles, bien qu'il soit également possible de les extraire par expression à froid ou par entraînement à la vapeur d'eau **(Guinoiseau, 2010).** Ces huiles essentielles peuvent contribuer à combattre les infections qui se propagent de manière de plus en plus aisée. Les huiles essentielles, en raison de leur propriété antiseptique, ont la capacité d'assainir l'air intérieur ainsi que les systèmes de ventilation, ce qui contribue à réduire la propagation des germes microbiens **(Billerbeck, 2007).**

L'aromathérapie consiste en l'utilisation des huiles essentielles dans un but thérapeutique, préventif ou curatif. Ces substances sont administrées soit par voie orale ou cutanée, soit par inhalation.

3. Caractéristiques des huiles essentielles

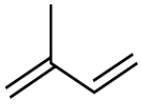
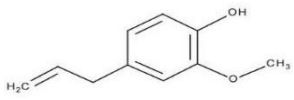
Les huiles essentielles partagent plusieurs propriétés physiques qui peuvent varier en fonction de leur composition chimique. Les huiles essentielles de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), de cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*) et de sassafras (Sassafras albidum) sont caractérisées par leur volatilité, leur odeur, leur inflammabilité et une densité de 1. Les établissements d'enseignement supérieur constituent un groupe très homogène **(Brumeton, 1993).** Les caractéristiques principales qu'ils présentent sont les suivantes : Certains liquides ont la particularité de rester à l'état liquide à des températures ambiantes (entre 30 et 40°C), tandis que d'autres peuvent cristalliser à des températures plus basses. Elles se distinguent également par leur pouvoir rotatoire et leur viscosité. En raison de leur sensibilité à l'oxydation et à la polymérisation, les composés sont facilement altérables, ce qui peut entraîner la formation de produits résineux. Par conséquent, il est recommandé de les conserver dans un environnement protégé de la lumière et de l'air. Ces composés se distinguent également par leur capacité à se dissoudre dans les alcools et la plupart des solvants organiques, bien qu'ils présentent une faible solubilité dans l'eau. Les pigments peuvent être incolores ou présenter une gamme de couleurs allant du jaune pâle à l'émeraude, du bleu au rouge brunâtre, en fonction de l'huile utilisée.

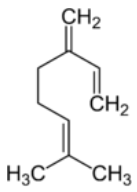
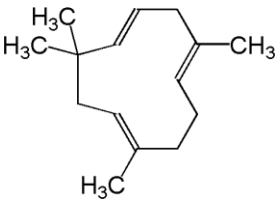
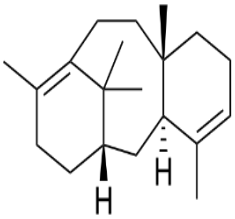
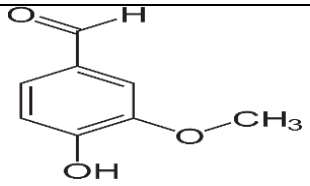
4. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles est caractérisée par des mélanges complexes et variables de divers composés chimiques, qui se dissolvent les uns dans les autres pour former des solutions homogènes. Plus de 3000 constituants ont été identifiés dans

les huiles essentielles, se répartissant principalement en deux groupes distincts en termes d'origine biogénétique : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane **(Tableau 5) (Kaloustian *et al.*, 2012).**

Tableau 5: Les différents composés chimiques des huiles essentielles

<table>
<tr><th colspan="3">Composés terpénoïdes</th><th>Composés aromatiques</th><th>Autres composes</th></tr>
<tr><td colspan="3">Constitue une famille de composés structurellement variée.
Hydrocarbures volatiles à la faible masse moléculaire.
Constitué d'une unité de 5 carbones, la formule générale est appelée « Isoprène » (C5H8).
Ils sont subdivisés selon le nombre d'entité isoprène.

(CROUTEAU *et al.*, 2000)
(Kaloustian *et al.*,2012)</td><td rowspan="2">Beaucoup moins fréquents que les terpénoïdes, responsables des caractères organoleptiques des HE.
Ils sont fréquemment rencontrés dans les plantes odorantes.
Les composés se distinguent entre eux par le nombre et la position des groupements hydroxyles et méthoxyles
(Kaloustian *et al.*, 2012)

Eugénol</td><td rowspan="2">Sont des composés aliphatiques de faible poids moléculaires entrainés lors de l'extraction des huiles, ils peuvent être azotés ou soufrés
(INOVYE *et al.*, 2003)</td></tr>
<tr><td>Monoterpènes</td><td>Sesquiterpènes</td><td>Diterpènes</td></tr>
<tr><td>Hydrocarbures aliphatiques volatiles entrainables à la vapeur d'eau, peuvent être saturés ou instaurés. Peuvent être acyclique, cyclique, ou aromatique.</td><td>Constitués de 15 atomes de carbones souvent présentés sous forme de lactones.
Il se divise en plusieurs catégories structurelles (ex : acyclique, monocyclique…etc) et constitue la classe la plus diversifiée
(Bretmaier,2006)</td><td>composé de quatre groupes isoprène, sont des métabolites v égétaux très importants dérivés du géranyle.
Ils sont classés en plusieurs catégories tel que l'abiétane, le guanacastène A etc…</td></tr>
</table>

(Kaloustian *et al.*, 2012) 			 Vanilline	

5. Techniques d'extraction des huiles essentielles :

Les méthodes d'extraction les plus couramment utilisées sont la distillation et l'extraction par des solvants organiques :

5.1 Distillation

Le processus de distillation repose sur la volatilité des huiles essentielles sous l'effet de la chaleur, ce qui permet à l'huile d'être transportée par la vapeur d'eau. Suite à la condensation, l'huile est séparée du distillat par décantation **(Boukhatem *et al.*, 2019).** Il y a deux méthodes principales de distillation :

5.2 Par hydrodistillation

Dans le cadre de la méthode de l'hydrodistillation, la matière végétale à traiter est plongée directement dans un bain d'eau distillée qui est ensuite chauffé jusqu'à ébullition. Les vapeurs hétérogènes se condensent sur une surface froide, ce qui entraîne la séparation de l'huile essentielle en raison de différences de densité. Toutefois, cette approche comporte des inconvénients associés à l'impact de la vapeur d'eau. En effet, certains organes végétaux, tels que les fleurs, sont trop délicats pour supporter ce type de traitement par entraînement à la vapeur et risquent de se calciner. De plus, le contact direct entre l'eau et les composés de l'huile peut entraîner des réactions chimiques entraînant des modifications dans la composition finale de l'extrait. Il convient de noter que la durée de la distillation a une incidence sur le rendement de l'huile. Cette méthode présente des limites en raison de la dégradation du matériel végétal et des composés aromatiques induite par un chauffage intense et prolongé **(Boukhatem *et al.*, 2019).**

5.3 La distillation à la vapeur d'eau

La distillation à la vapeur d'eau est le procédé le plus approprié pour extraire les essences, en particulier lorsqu'elles sont destinées à des applications thérapeutiques. Dans cette situation, la matière végétale n'est pas directement en contact avec l'eau, mais est traversée par un flux de vapeur d'eau. La distillation par entraînement à la vapeur se réalise en disposant les plantes aromatiques sur une grille perforée située au-dessus du fond de l'alambic. Lorsque la chaleur agit, l'eau subit un changement d'état en se vaporisant, puis elle traverse les plantes en emportant avec elle les molécules aromatiques vers un dispositif de refroidissement. La vapeur d'eau imprégnée d'essence se liquéfie à nouveau par le processus de condensation. Ainsi, le produit de la distillation se divise en deux phases bien différenciées : l'huile essentielle, caractérisée par une faible densité, et l'eau condensée connue sous le nom d'eau florale ou d'hydrolat. Le parfum extrait est plus raffiné grâce à cette méthode régulière et plus rapide, ce qui permet aux notes de tête, caractérisées par des fragrances très volatiles, d'être riches en esters. Ces dernières sont générées par des molécules légères qui se libèrent en premier. Dans la plupart des cas, une période de trente minutes est généralement adéquate pour capturer 95% des molécules volatiles, ce qui est satisfaisant pour les exigences de l'industrie de la parfumerie, notamment pour la lavande. Cependant, pour une utilisation en aromathérapie, il est nécessaire de prolonger le processus afin de récupérer la totalité des composés aromatiques volatils. **(Boukhatem *et al.*, 2019)**.

Une autre méthode d'entraînement à la vapeur d'eau est l'hydro diffusion. Cette méthode implique l'émission de vapeur d'eau à une pression très basse, comprise entre 0,02 et 0,15 bar. De haut en bas, à travers la végétation dense. La composition des produits obtenue est qualitativement distincte de celle des produits obtenus par les méthodes classiques, le procédé permettant ainsi un gain de temps et d'énergie **(Atailia, 2016).**

5.4 Par solvant organique

En présence d'un solvant organique, il est parfois impossible d'utiliser la distillation pour des huiles essentielles ayant une densité similaire à celle de l'eau. Dans de tels cas, il est inévitable de recourir à une méthode d'extraction utilisant des solvants organiques, même si ceux-ci ne représentent qu'un faible pourcentage (3%) du processus. Actuellement, la méthode d'extraction par solvants a remplacé l'enfleurage. Elle conduit à l'acquisition d'extraits très prisés par les parfumeurs en raison de la pureté de leur fragrance intense **(Boukhatem *et al.*, 2019).**

5.5 Par solvant volatil

L'extraction par solvant volatil implique la mise en contact de la matière végétale avec un solvant qui dissout et extrait les constituants solubles présents dans la plante. Ces composés se retrouvent ensuite dans le solvant évacué à la fin du processus, et cette opération peut être répétée plusieurs fois sur la même quantité de matière végétale. Les solvants les plus couramment employés dans l'industrie actuellement sont l'hexane, l'alcool éthylique et l'eau.

5.6 Enfleurage

L'enfleurage, également connu sous le nom de macération à saturation, représente une technique d'extraction ancestrale largement employée pour les fleurs fragiles telles que les roses et le jasmin. L'artisan dispose les pétales de la fleur sur un corps gras purifié, lequel s'imprègne progressivement des arômes. Une fois que le corps gras atteint sa capacité de saturation en parfum et qu'il ne peut plus en absorber, l'artisan procède au nettoyage de la pommade obtenue. Ensuite, il incorpore de l'alcool et laisse le mélange reposer pendant environ 24 heures, cette étape vise à la séparation des corps gras et des huiles essentielles. Malgré la grande qualité des huiles essentielles obtenues par enfleurage.

Cette technique est de nos jours peu répandue, car l'enfleurage est un processus extrêmement exigeant en termes de travail et de temps, ce qui se traduit par un coût élevé des huiles essentielles obtenues de cette manière.

5.7 Macération

La macération implique l'immersion des fleurs dans des graisses fluides d'origine animale ou végétale. Cette immersion se déroule dans des flacons en cuivre revêtus à l'intérieur d'une couche de zinc. Les fioles sont placées dans un bain-marie porté à ébullition afin de produire un mélange lipidique. Ce mélange est ensuite soumis à une centrifugation pour extraire l'huile essentielle, tandis que la phase restante est traitée avec de l'alcool à 90%. Après le processus de refroidissement, le mélange est agité jusqu'à ce que l'alcool soit saturé en huile essentielle ; la phase alcoolique est ensuite récupérée et épuisée à une température de 30°C, ce qui permet d'obtenir le résidu connu sous le nom d'huile absolue.

5.8 Expression à froid

La méthode de l'expression à froid est utilisée spécifiquement pour extraire les huiles essentielles présentes dans les enveloppes des agrumes en les rompant à l'aide d'un procédé mécanique. Cette opération implique la rupture ou la déchirure des parois des sacs oléifères présents dans le mésocarpe, situé immédiatement sous l'écorce du fruit, appelé l'épicarpe, afin

d'extraire leur contenu inchangé. Les systèmes modernes tels que le dispositif « Food Machinery Corporation-in-line » (FMC) permettent d'extraire le jus de fruit et l'essence de manière quasi simultanée, sans qu'ils entrent en contact. C'est la raison pour laquelle l'extraction à froid est préférée pour obtenir ces essences, étant donné que la distillation n'est plus considérée comme une méthode très adaptée. En réalité, lors du processus de distillation, les huiles aromatiques obtenues sont de qualité inférieure en raison principalement de la forte concentration d'aldéhydes, des composés sensibles à l'oxydation et à la chaleur **(Boukhatem *et al.*, 2019).**

5.9 Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction assistée par micro-ondes présente l'avantage notable de réduire significativement la durée de la distillation et d'augmenter le rendement. Cependant, aucun progrès industriel n'a encore été accompli. La distillation assistée par micro-ondes est actuellement l'objet de nombreuses recherches et continue d'être perfectionnée en raison de ses nombreux avantages : son caractère écologique, ses économies d'énergie et de temps, son faible coût initial, ainsi que la réduction des dégradations thermiques et hydrolytiques. Par ailleurs, l'utilisation des micro-ondes est une méthode d'extraction en plein essor.

À titre illustratif, la SFME (Solvent Free Microwave Extraction) représente une fusion novatrice des méthodes de chauffage par micro-ondes et de distillation sans solvant. Cette méthode implique l'introduction du matériel végétal dans un réacteur placé à l'intérieur d'un four à micro-ondes, sans recourir à l'ajout d'eau ou de solvant. Le chauffage interne de l'eau présente dans la plante provoque la dilatation de ses cellules, ce qui entraîne la rupture des glandes et des récipients oléifères. L'acide hydroxyéthanoïque ainsi libéré s'évapore en même temps que l'eau de la plante. En comparaison avec la méthode d'hydrodistillation traditionnelle, la SFME se distingue par une réduction de la consommation d'énergie et des émissions de CO2, mais surtout par un temps d'extraction environ 9 fois plus rapide. Les huiles essentielles obtenues à partir de cette méthode se caractérisent par une concentration plus élevée en composés oxygénés et des notes olfactives plus marquées, tandis que les monoterpènes sont présents en quantité moindre **(Atailia, 2016).**

5.10 Extraction par fluide à l'état supercritique

La particularité de la méthode d'extraction par fluide supercritique, connue sous le nom de SFE, réside dans l'emploi de solvants à l'état supercritique. Cela signifie que les solvants sont utilisés dans des conditions de température et de pression telles qu'ils se trouvent dans un état intermédiaire entre liquide et gazeux, ce qui leur confère des propriétés physico-chimiques distinctes, notamment une capacité de solvatation plus élevée.

En pratique, bien que divers solvants puissent être utilisés, le dioxyde de carbone (CO2) est le choix prédominant pour environ 90% des extractions par fluides supercritiques, principalement en raison de sa praticité. En raison de ses pression et température critiques relativement basses, le dioxyde de carbone présente une facilité d'obtention. De plus, il est considéré comme relativement non toxique, disponible à haute pureté et à un coût abordable. Un autre avantage est sa capacité à être éliminé facilement de l'extrait **(Kerchouche et Zerrouki, 2020).**

V. *Pélargonium graveolens*

Géranium *(Pélargonium graveolens*), nommé aâtercha en arabe, est une plante dont le nom provient du grec « pelargos» qui signifie « cigogne» et fait référence à la forme du fruit en long bec droit et pointu (**Chraibi et *al.*, 2019**). *Pélargonium graveolens* porte différents noms dont les plus connus sont : géranium rosat (nom à l'île de la Réunion), géranium odorant. Ce genre comprend plus de 250 espèces regroupées en 16 sections (**Kerchouche et Zerrouki, 2020**), de nombreuses espèces sont aromatiques et en particulier *P. capitatum*, *P. graveolens* et *P.radens* sont utilisées dans des programmes de culture pour l'ennoblissement de l'huile de «géranium».

L'importance indiscutable du géranium rosat comme une plante aromatique et médicinale (PAM) est liée à son huile essentielle (HE) ayant d'intéressantes propriétés thérapeutiques (**Boukhatem et *al.*, 2011**). Aussi, la nature chimique de ses essences leur confère de grandes perspectives d'application.

En Algérie, le *Pélargonium graveolens* est cultivé principalement dans la plaine de la Mitidja **(Boukhatem et *al.*, 2011**). Bien que les plus remarquables soient en raison des parfums qu'elles produisent, ce sont en fait les huiles essentielles qui fournissent les avantages que la société récolte. Les huiles essentielles sont les métabolites secondaires que les plantes produisent (**Carvalho et *al.*, 2018**).

1. Histoire

Le *Pélargonium graveolens* est originaire du Cap de Bonne Espérance en Afrique du Sud. Il a été introduit en Europe à la fin du XVIIe siècle au sein des jardins botaniques **(Recluz, 1852).**

Au cours du XIXe siècle, en raison de la rareté de la véritable Rose du Levant (Rosa damascena Mill.) et de la hausse significative du prix de son huile essentielle, les parfumeurs de l'époque ont été contraints de trouver de nouvelles sources d'essences à l'odeur de rose. C'est ainsi que des essais de culture de Géranium rosat ont été réalisés par Demerson, et les premières plantations ont été établies dans la région de Grasse en France dans le but de produire de l'huile essentielle. Toutefois, la culture était mal adaptée aux contraintes climatiques et économiques du Sud de la France. Les nouvelles plantations ont rapidement été mises en place en Algérie et à la Réunion **(Demarne, 1992).**

Au commencement du 20ème siècle, la culture du Géranium rosat s'est étendue à d'autres régions telles que la Corse (France), l'Italie, l'Espagne, le Portugal, le Maroc, la Tunisie, l'Égypte, la Russie, les Comores, l'Afrique du Sud, le Congo, l'Inde, le Brésil et la Chine **(Peyron, 2013).**

***Pélargonium graveolens* en Algérie :**

L'introduction du *Pélargonium graveolens* en Algérie remonte aux années 1850, avec les premiers plants provenant de France. Des expérimentations ont été initialement menées à Chéraga, située dans la Wilaya d'Alger, et ont rapidement produit des résultats prometteurs. À cette période, le coût des carburants était très élevé. Le prix de vente de l'essence de Géranium était de 250 francs par kilogramme **(Atailia, 2016) .**

En 1880, A. Chiris établit d'importantes plantations à Blida et Boufarik, ainsi qu'une usine à Boufarik, placée sous la direction de Gros et Monk **(Peyron, 2013 ; Chiris, 1925).**

Les cultures se sont développées dans diverses régions de l'Algérie, notamment sur une superficie de 1964 hectares à Alger, jusqu'à ce que des avancées scientifiques permettent la fabrication artificielle. Tous les parfums sont proposés à des prix extrêmement bas. En raison de cette concurrence accrue, le prix de l'essence de Géranium avait chuté à 18 francs le kilogramme en 1908. À ce moment-là, une crise s'est manifestée et de nombreuses plantations ont été laissées à l'abandon. Cependant, une décennie plus tard, la situation avait changé ; il a été observé que les substances synthétiques ne pouvaient pas se substituer aux

substances naturelles, et l'engouement pour les produits naturels est revenu en force. Les cours des cours imprégnés d'essence de Géranium rosat s'élevaient à 300 francs à ce moment-là **(Atailia, 2016).**

Pendant les années 1960, un grand nombre de ces exploitations agricoles ont été laissées à l'abandon en raison de la guerre d'indépendance. Cependant, la région de Blida demeure, encore à ce jour, un site résiduel de production de *Pélargonium graveolens*. Cette plante est également présente dans les espaces verts tels que les jardins, les balcons et les cimetières.

2. Position systématique

Plusieurs essais de classification ont été réalisés : Dillenius (1721), Burmann (1738-1759), et Linné (1753). Jusqu'en 1778, Louis l'Héritier de Brutelle a procédé à une séparation définitive des genres Geranium et pélargonium **(Peyron, 2013).**

Les principaux genres de la famille des *Geraniaceae* sont résumés dans **tableau 6** ci-dessous :

Tableau 6: Classification de pélargonium graveolens (Demarne, 1992).

Famille	Genre	Espèce
Geraniaceae	*Erodium*	-
	Geranium	-
	Monsonia	-
	Sarcocaulon	-
	Pelargonium	***P. graveolens***
		P. capitatum
		P. radens
		P. vitifolium

Position systématique

Règne : *Plantae*

Division :***Magnoliophyta***

Classe : ***Magnoliopsida***

Ordre : ***Geraniales***

Famille : ***Geraniaceae***

Genre : ***Pelargonium***

Espèce **: *Pelargonium graveolens*. (Goetz, 2015).**

3. Caractérisation botanique

3.1 Morphologie

Cet arbrisseau, de port érigé et très ramifié, prend la forme d'une touffe arrondie. Sa taille peut aller jusqu'à 1m30 de hauteur et 1 mètre de diamètre selon les sources **(Ghedira et Goetz, 2015 ; Peyron, 2013 ; Boukhatem *et al.*, 2011**). Les tiges, initialement de couleur verte et de texture tendre, subissent un processus de lignification au fil du temps, ce qui les fait devenir plus foncées. Les feuilles, persistantes et odorantes, sont disposées de manière opposée et se caractérisent par leur texture douce ainsi que par leur découpe en 5 à 7 lobes **(Figure 3).** L'inflorescence, de couleur rose, est terminale et se compose de 3 à 10 semi-ombelles. Les fleurs roses, composées de cinq pétales, présentent fréquemment des veines d'une teinte plus sombre **(ASNAPP, 2011 ; Lavergne, 2004).**



Figure 3: Culture de *Pélargonium graveolens* (Blida, 2011)

VI. Huile essentielle de *Pélargonium graveolens* :

Au cours de la première année de la récolte du Géranium rosat, la production d'huile essentielle est généralement limitée à 10 kg d'essence par hectare, mais peut atteindre 25 à 30 kg les années suivantes en cas de maintenance adéquate de la plantation **(Atailia, 2016).**

Pendant une période prolongée, la Réunion a été le principal producteur d'huile de Géranium, et son huile essentielle continue de servir de référence par rapport à laquelle les huiles d'autres provenances sont évaluées. Actuellement, la Chine occupe la position de premier producteur au niveau mondial. D'autres importants producteurs incluent l'Egypte, le Maroc, la Réunion, l'Inde et l'ancienne Union Soviétique.

La production annuelle mondiale s'élève à environ 300 tonnes, tandis que la demande est estimée à 500 tonnes. Les principaux pays importateurs incluent les États-Unis, l'Europe et le Japon. La totalité de la production de l'Inde et des pays de l'ancienne Union soviétique est consommée localement **(Dasuki, 2002).**

1. Propriétés physiques et composition chimique

À température et pression ambiante, l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* se présente sous forme liquide. Sa couleur varie du jaune clair au vert jaunâtre, tandis que pour le type Bourbon, elle est plutôt vert brunâtre. Son parfum est une combinaison de notes de rose et de citron, typique de cette plante **(International Standard ISO 4731, 2006).**

Les paramètres physiques de cette HE selon la norme ISO 4731 sont résumés sur le **tableau 7** ci-dessous :

Tableau 7: Paramètres physiques de l'HE de Géranium (International Standard ISO 4731, 2006).

	Afrique du Nord	Bourbon	Chine	Madagascar
Densité	0.885-0.905	0.885-0.897	0.882-0.899	**0.887-0.897**
Indice de réfraction	1.461-1.475	1.460-1.470	1.460-1.472	**1.462-1.471**
Pouvoir rotatoire	**-14°/ -8°**	**-17°/ -9°**	**-14°/ -7°**	**-17°/ -9°**

Elle présente une miscibilité avec l'éthanol. Pour obtenir une solution claire, il est recommandé de ne pas dépasser l'utilisation de trois volumes de cet alcool à 70° pour un volume d'huile essentielle **(International Standard ISO 4731, 2006).**

La composition de l'huile essentielle du Géranium rosat est caractérisée par sa complexité chimique. Parmi les constituants les plus significatifs figurent le géraniol et le citronellol, dont l'interaction confère une fragrance aromatique distinctive **(Er-Rouissi *et al.*, 2014 ; Sharopov, Zhang et Setzer, 2014).**

Le tableau 8 ci-dessous présente en détail le profil chromatographique des huiles essentielles de Géranium provenant de diverses origines telles que l'Afrique du Nord, la Réunion, la Chine et Madagascar, conformément à la norme ISO 4731. Les pourcentages de chaque composé sont également inclus dans le tableau 8:

Tableau 8: Profil chromatographique de l'HE de Géranium (International Standard ISO 4731, 2006).

	Afrique du Nord	Bourbon	Chine	Madagascar
***cis*-Oxyde de rose**	0.7 – 1.5	0.3 – 1.1	1.3 – 3.5	**0.4 – 1.4**
***trans*-Oxyde de rose**	0.3 – 0.6	0.1 – 0.5	0.5 – 1.5	**0.1 – 0.6**
Menthone	< 2.1	< 2.0	< 2.5	**< 2.0**
Isomenthone	4.0 – 8.0	5.0 – 10.0	4.0 – 7.0	**5.0 – 10.0**
Linalol	4.0 – 8.5	8.0 – 11.0	2.0 – 4.5	**4.0- 10.0**
Guaiadiène-6,9	< 0.5	5.0 – 8.5	4.0 – 7.0	**5.0 - 9.0**
Formiate de citronellyle	5.0 – 8.0	6.5 – 11.0	7.0 – 12.0	**6.5 – 11.0**
α-Terpinéol	0.3 – 0.6	0.3 – 1.2	0.1 – 0.5	**0.3 – 1.0**
Formiate de géranyle	2.0 – 7.0	4.0 – 8.0	1.0 – 3.0	**3.8 – 7.0**
Citronellol	25.0 – 36.0	18.0 – 26.0	32.0 – 43.0	**18.0 – 26.0**
Géraniol	10.0 – 18.0	12.0 – 20.0	5.0 – 12.0	**10.0 – 20.0**
Butyrate de géranyle	0.7 – 2.0	0.7- 2.0	0.4 – 1.0	**0.7 – 1.7**
10-épi-γ-Eudesmol	3.0 – 6.0	nd	nd	**nd**
Tiglate de géranyle	0.9 – 2.0	0.7 – 2.0	1.0 – 1.6	**0.7 – 2.0**
Tiglate de phénylethyle	**0.5 – 1.2**	**0.4 – 1.0**	**0.4 – 1.0**	**0.4 – 1.0**

La conservation de l'huile essentielle de *Géranium* est rendue difficile en raison de l'instabilité relative de ses molécules constitutives. Les divers processus de dégradation comprennent la photo dégradation, la thermolyse et l'oxydation, parmi d'autres.

2. Domaines d'utilisations

2.1 Parfumerie et cosmétiques

Depuis le milieu du 19ème siècle, l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* est une matière première de grande qualité utilisée dans l'industrie de la parfumerie. En raison de ses caractéristiques cutanées et de son parfum suave, puissant et rappelant la rose, cette plante est

largement utilisée dans la composition de nombreux parfums, crèmes et produits cosmétiques **(Er-Rouissi *et al.*, 2014).**

Les caractéristiques olfactives sont modulées par la provenance géographique de la plante. Le *Géranium* de Grasse dégage une fragrance rosée, délicate, persistante, suave et intense, étroitement similaire à celle de l'huile essentielle de rose. Le parfum du *Géranium* de la Réunion est caractérisé par des nuances de feuille rosée et des tonalités de menthe poivrée, tandis que celui d'Afrique présente une fragrance plus délicate, légèrement moins mentholée mais avec une note florale de rose prononcée. Certains parfums célèbres contiennent de l'huile essentielle de *Géranium rosat*, tels que Brut (Fabergé), Déclaration (Cartier), Miss Dior (Dior), Calèche (Hermès) et Habit Rouge (Guerlain) **(Peyron, 2013).**

2.2 Médecine traditionnelle et aromathérapie

L'huile essentielle de *Géranium rosat* est couramment employée en aromathérapie, que ce soit par voie interne, externe, par diffusion ou par vaporisation **(Moro Buronzo, 2008).**

De multiples recherches ont mis en évidence que l'huile essentielle *de pélargonium graveolens*, en raison de sa composition chimique diversifiée et de sa concentration en alcools terpéniques, présente de nombreuses propriétés thérapeutiques. Ses propriétés incluent des effets antioxydants, antifongiques et antibactériens, notamment contre *Staphylococcus aureus, S. epidermidis, Proteus vulgaris et Bacillus cereus*, ainsi que des propriétés antiparasitaires, répulsives envers les insectes, spasmolytiques, hémostatiques, cicatrisantes et anti-inflammatoires **(Haddouchi et Benmansour, 2008 ; Ghedira et Goetz, 2015 ; Zhong Yao *et al.*, 2005 ; Botha et McCrindle, 2000).**

2.3 Agroalimentaire

Les huiles essentielles de *Géranium* de Bourbon, d'Algérie et du Maroc ont été identifiées comme étant Generally Recognized as Safe (GRAS) par la FEMA (Flavor and Extract Manufacturers Association) et ont été autorisées par la FDA pour une utilisation dans l'alimentation. Cette huile essentielle est également répertoriée par le Conseil de l'Europe parmi les épices et les condiments considérés comme acceptables pour un usage alimentaire, avec une possible restriction de la teneur en principe actif dans le produit final **(Lis-Balchin, 2004 ; Dasuki, 2002).**

3. Toxicité et pouvoir allergisant

Le *Pélargonium graveolens* n'est pas répertorié comme une plante toxique. Il est possible qu'une sensibilisation évolue vers une allergie avérée. Cependant, les réactions allergiques à

cette plante sont peu fréquentes. Une étude menée au Danemark sur 253 jardiniers et travailleurs exposés à la plante a révélé seulement 7 tests cutanés positifs indiquant des réactions allergiques, ce qui représente moins de 3% de l'échantillon. Il convient de noter que cette population n'est pas représentative de la population générale, car elle est régulièrement exposée à la plante dans le cadre de leurs activités professionnelles **(Zhong Yao *et al.*, 2005).**

Les connaissances sur la toxicité de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* sont limitées. Aucune publication scientifique ne fait état de cas d'intoxication suite à l'ingestion de ce produit **(Base de données MEDLINE, 2015).** Les cas recensés se limitent à des affections dermatologiques bénignes telles qu'une irritation cutanée, des fissurations et un assèchement **(Anderson, 1923 ; Boukhatem *et al.*, 2010).**

Cependant, on a recensé deux incidents d'intoxication chez des enfants suite à la consommation d'huile essentielle de citronnelle (*Cymbopogon winterianus*), dont la composition chimique est similaire à celle de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens*, contenant du citronellol (10 à 35%) et du géraniol (18 à 21%). Il est essentiel de prendre en considération les facteurs environnementaux dans l'analyse des risques pour la santé **(Gosselin *et al.*, 1976).**

VII. Association Antibiotique-huile essentielle

1. Généralités

De nos jours, il est impératif de faire preuve de modération et de restreindre l'usage des antibiotiques en raison de la résistance croissante des agents infectieux ciblés, qui rend ces médicaments de moins en moins efficaces. En effet, l'augmentation de la résistance des bactéries aux antibiotiques constitue un problème mondial majeur qui a stimulé la recherche en vue d'identifier de nouvelles biomolécules présentant une activité antibactérienne étendue. Les éléments les plus significatifs comprennent les végétaux et leurs dérivés, notamment les huiles essentielles, qui sont fréquemment employées en phytothérapie. Ces composés renferment une diversité de métabolites secondaires ayant la capacité d'entraver ou de ralentir la prolifération bactérienne **(Bouyahya *et al.*, 2017).**

Ces dernières années, en raison de la montée des bactéries résistantes et de l'inefficacité des traitements disponibles, une approche consistant à combiner les huiles essentielles (HEs) et les antibiotiques (ATB) est devenue une nouvelle stratégie pour lutter contre l'antibiorésistance et les effets secondaires des médicaments. Cette étude met en évidence les

composés naturels présents dans les huiles essentielles qui peuvent améliorer la sensibilité des médicaments.

Afin de compenser l'inefficacité des médicaments antibiotiques classiques face à la montée croissante de la résistance des bactéries à ces substances, ainsi que la diminution générale de l'immunité chez les patients traités par antibiotiques, l'utilisation des huiles essentielles s'avère être une option d'une grande pertinence. La diffusion de ces informations revêt un caractère essentiel dans le cadre d'une mission de santé publique. En 2014, l'OMS a lancé un appel visant à promouvoir la recherche de nouveaux outils pour lutter contre les bactéries résistantes.

En aromathérapie, on distingue deux niveaux d'efficacité des traitements antibiotiques : les huiles essentielles puissantes et les huiles essentielles douces. Les huiles essentielles les plus puissants en tant qu'antibiotiques présentent un inconvénient majeur : elles sont à la fois dermocaustiques et hépatotoxiques. Par conséquent, des précautions appropriées doivent être prises lors de leur administration. De plus, il convient de noter l'existence de synergies entre les huiles essentielles, car la combinaison de deux huiles permet d'augmenter leur spectre d'activité.

2. Quelques exemples d'association

Les huiles essentielles (HEs) peuvent être considérées comme des adjuvants prometteurs des antibiotiques en raison de leurs mécanismes d'action pouvant entraîner une synergie pharmacologique.

Tripti et ses collègues (2011) ont examiné l'effet synergique de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens (géranium)* en combinaison avec la Ciprofloxacine sur les uropathogènes tels que *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et *Staphylococcus aureus*.

Ces études mettent en lumière une synergie surprenante entre l'antibiotique et l'huile essentielle contre les pathogènes responsables des infections urinaires. Ces chercheurs ont évalué les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle (HE) et de l'agent antibactérien (ATB) en utilisant la méthode standard de dilution en microdilution, et ont analysé l'interaction entre ces deux agents à l'aide de la méthode du "checkerboard". L'évaluation de l'effet synergique de l'huile essentielle et de l'antibiotique a été réalisée en déterminant l'Indice de Concentration Inhibitrice Fractionnaire (FICI).

Les résultats de l'étude menée par **Tripti et ses collègues** indiquent que le FICI est de 0,375 pour *K. pneumoniae et P. mirabilis,* et de 0,5 pour S. aureus. Ainsi, les valeurs du coefficient de fractionnement inhibiteur combiné (FICI) sont toutes inférieures ou égales à 0,5 pour les trois micro-organismes examinés, ce qui suggère une synergie dans l'action antibactérienne entre l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* et l'antibiotique ciprofloxacine. Afin de confirmer l'augmentation de l'activité antibactérienne de *la ciprofloxacine* par l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* contre ces trois uropathogènes, ces chercheurs ont réalisé des isobologrammes, qui sont des représentations graphiques des phénomènes de synergie et d'inhibition. Les auteurs recommandent d'associer l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* à la ciprofloxacine pour le traitement des infections des voies urinaires, ce qui pourrait permettre de diminuer la posologie efficace de la ciprofloxacine et de réduire les effets secondaires associés à ce médicament.

Toutefois, il est indispensable d'effectuer des essais in vivo afin d'évaluer l'efficacité de cette association en vue de son utilisation à des fins thérapeutiques. Les huiles essentielles ont un impact bénéfique sur la composition du microbiote intestinal, renforcent le système immunitaire et ont des propriétés antimicrobiennes. Toutefois il a été proposé d'incorporer des molécules extraites d'huiles essentielles de plantes aromatiques reconnues pour leur efficacité contre les micro-organismes aux antibiotiques **(Hkaddar, 2018)**. Une proposition visant à combattre les bactéries présentant une résistance aux antibiotiques. Les herbes aromatiques telles que l'origan, le thym et le romarin. Ce mélange d'herbes aromatiques pourrait incarner un nouvel espoir dans la lutte contre l'antibiorésistance, en tant que nouveau complexe moléculaire conçu pour surmonter ce phénomène. Toutefois, à des concentrations élevées, elles deviennent fréquemment inutilisables en raison des effets secondaires qu'elles provoquent. Lorsque les molécules naturelles à effet dopant interagissent avec les antibiotiques, elles forment des complexes moléculaires qui présentent une difficulté pour les mécanismes de résistance bactériens à les reconnaître. Les bactéries ont donc une difficulté considérable à acquérir des résistances significatives face au traitement anti-infectieux **(Barchann et al., 2015).**

Matériel et méthodes

1. Cadre d'étude et objectif générale :

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de microbiologie du département de Biologie Appliquée de la faculté des sciences exacte et science de la nature et de la vie, de l'Université Larbi Tébessi de Tébessa pendant une durée d'un mois et 15 jours de l'année universitaire 2025. La présente Cette étude s'articule autour de trois principaux objectifs :

- Extraction d'une huile essentielle d'une plante médicinale *Pélargonium graveolens*.
- L'étude de l'activité antimicrobienne de ce HE contre les bactéries pathogènes.
- L'étude de l'effet de synergie de la ciprofloxacine et l'huile essentielle contre les bactéries pathogènes.

2. Matériel

2.1 Matériel non biologiques

2.1.1 Appareillages

- Un appareil d'hydro distillation de type Clevenger, utilisé pour l'extraction des huiles essentielles, il se compose de trois compartiments essentiels :
- Une chauffe ballon.
- Un ballon en verre à fond rond de 2 litre.
- Un réfrigérant.
- Autoclave 120°C.
- Balance électrique de précision.
- Etuve à 37°C.
- Plaque chauffante.
- Réfrigérateur (-20°C à 5°C).
- PH mètre.
- Agitateur.

2.1.2 Verrerie

- Béchers (500 ml).
- Flacons stériles 250 ml.
- Pipettes graduées 10ml.
- Pipettes Pasteur.
- Tubes à essai.

2.1.3 Outils

- Boites de Pétri.
- Bec Bunsen.
- Micropipette 1000µl.
- Micropipette 200µl.
- Pince.
- Portoirs.
- Disques en papier (Wattman n°4).
- Ecouvillons.
- Des microplaques à **96** puits.
- Cônes bleus et jaunes.
- Tubes Eppendorf.
- Tubes coniques.
- Eaux distillées et eaux physiologiques.

2.1.4 Milieux de culture

- Mueller Hunten agar (MH).
- Bouillon Nutritif (BN).
- Gélose Nutritive(GN).

2.2 Matériels biologiques

2.2.1 Matériels végétales

Pélargonium graveolens une plante de la famille des *Géraniaceae*, originaire d'Afrique de Sud et cultivée en Algérie, dans les jardins et dans les cimetières. Cette espèce est utilisée depuis longtemps pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques (Émollient, bactéricide, fongicide et anti-inflammatoire). Il s'avère utile dans le traitement des problèmes de peau (acné, eczéma, vergetures, couperose), traite les dermatoses, apaise les symptômes liés à des affections respiratoires, aide à la cicatrisation des plaies, en massages en cas de grande fatigue, d'asthénie ou de stress, en cataplasmes et pour traiter les hémorroïdes (**Hamdani, 2022)**. Les parties usitées et l'origine de La plante *Pélargonium graveolens* utilisé dans notre étude sont données dans le tableau 9.

Tableau 9 : Source et partie utilisée de la plante médicinale.

Nom scientifique	Partie utilisée	Lieu d'échantillonnage	Date d'échantillonnage
Pelargonium graveolens	Partie aérienne (Les feuilles)	Tébessa et Souk Ahras	01 février 2025

Souches bactériennes :

➢ Pour les tests d'activité antibactérienne, nous avons choisis les souches bactériennes (références) suivantes :

Staphylococcus aureus ATCC 25923, Listeria monocytogenes ATCC 7644, Micrococcus luteus ATCC 4698, Bacillus subtilis ATCC 9372, Bacillus cereus ATCC 11778, Escherichia coli ATCC 25422.

ATCC: American Type Culture Collection.

2.2.2 Souches d'origine alimentaire multi résistantes aux antibiotiques

Les souches d'entérobactéries utilisées dans notre travail (03 souches isolées du blanc de poulet) sont isolées et identifiées par M^{elle}Amra Amel dans le cadre d'une thèse de doctorat sous la direction de Pr Debabza Manel et Mechai Abdelbasset (**Tableau 10**). L'antibiogramme de ces souches est réalisé vis-à-vis de 22 antibiotiques selon les recommandations de la CASFM 2018.

Tableau 10 : profil d'antibiogramme des souches d'origine alimentaire sélectionnées

Code	Espèce	Profil	Test de BLSE		Phénotype de résistance	multi résistance
			Test de synergie	Test du double disque		
S42.	*Serratia odorifera1*	AMX-PRL-TIC-TTC-CL-FOX-AMC-CAZ-CTX-FEP-ATM-ETP-IPM-GN-NA-OFX-CIP-FOS-COT	-	+	BLSE	5 familles 19 ATB
S43	*Serratia odorifera1*	AMX-PRL-TIC-TTC-CL-FOX-AMC-CAZ-CTX-FEP-ATM-ETP-IPM-GN-NA-OFX-CIP-COT	-	+	BLSE	4 familles 18 ATB
S46	*Serratia odorifera1*	AMX-PRL-TIC-TTC-CL-FOX-AMC-CAZ-CTX-FEP-ATM-ETP-IPM-GN-NA-OFX-CIP-COT	-	+	BLSE	4 familles 18 ATB

Amoxicilline**: AMX ,** Pipéracilline**:PIP,** Ticarcilline**:TIC,** Amoxicilline Acide clavulanique **: AMC,** Ticarcilline-Acide-clavulanique **:TCC,** Céfalexine **: CL,** Céfoxitine **: FOX,** Ceftazidime **:CAZ,** Cefotaxime **:CTX,** Céfixime **: CFM,** Céfépime **: FEP,** Aztréonam **:ATM,** Ertapénème **:ETP,** Imipénème **: IPM ,** Amikacine **: AN/ AK,** Tobramycine **:TOB,** Gentamicine**: GM/GN,** Ofloxacine **: OFX,** Ciprofloxacine **:CIP,** Sulfaméthoxazole- Triméthoprime **:SXT,** Nitrofurantoine **:NIT,** Fosfomycine **:FOS.**

BLSE (béta-lactamase à spectre élargi)

2.2.3 Souches uropathogènes multi résistantes aux antibiotiques

Les souches d'entérobactéries uropathogène utilisées dans notre travail (04 souches) sont isolées et identifiées par Dr Fares Roufaida (**Tableau 11 et 12)** dans le cadre d'une thèse de doctorat sous la direction de Pr Mechai Abdelbasset et Pr. Debabza Manel. L'antibiogramme est réalisé vis-à-vis de 22 antibiotiques selon la recommandation de la CASFM 2018 (tableau).

- *Enterobacter cloacae* (S9) .
- *Klebsiella pneumoniae* ssp *pneumoniae* (S25) .
- *Enterobacter cloacae* (S 49) .
- *Raoultella terrigena* (S 170) .

Tableau 11 : Origine des souches uropathogènes

Espèces	Souches	Age	Sexe	Service	Hôpital
Enterobacter cloacae	**S9**	46	Femme	Dialyse	EPH Cheria
Klebsiella pneumoniae **ssp *pneumoniae***	**S25**	47	Homme	Médecine homme	EPH Cheria
Enterobacter cloacae	**S49**	48	Femme	Médecine femme	EPH Bir El Ater
Raoultella terrigena	**S170**	33	Homme	Médecine homme	EPH Cheria

-

Tableau 12 : profil d'antibiogramme des souches uropathogènes sélectionnées

Souches	Codes	AMX	PRL	TIC	TTC	AMC	CL	FOX	CAZ	CTX	CFM	FEP	ATM	IPM	ETP	AK	GN	TOB	OFX	CIP	NIT	FOS	COT
Enterobactercloacae	S9	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	S	R	R	R	R	R	R	S
Klebsiella pneumoniae ssp *pneumoniae*	S25	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	I	S	R	R	R	S	S	R	R
Enterobactercloacae	S49	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	I	S	R	R	S	S	S	S	S
Raoultellaterrigena	S170	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	I	I	S	R	I	I	R	I	S	S	R

Amoxicilline**: AMX ,** Pipéracilline**:PIP,** Ticarcilline**:TIC,** Amoxicilline Acide clavulanique **: AMC,** Ticarcilline-Acide-clavulanique **:TCC,** Céfalexine **: CL,** Céfoxitine **: FOX,** Ceftazidime **:CAZ,** Cefotaxime **:CTX,** Céfixime **: CFM,** Céfépime **: FEP,** Aztréonam **:ATM,** Ertapénème **:ETP,** Imipénème **: IPM ,** Amikacine **: AN/ AK,** Tobramycine **:TOB,** Gentamicine**: GM/GN,** Ofloxacine **: OFX,** Ciprofloxacine **:CIP,** Sulfaméthoxazole- Triméthoprime **:SXT,** Nitrofurantoine **:NIT,** Fosfomycine **:FOS**

3. Méthodes

3.1 Extraction de l'huile essentielle

L'extraction par hydro distillation de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* est réalisée au niveau du laboratoire de recherche sur les Molécules Bioactives et Applications de la faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie université de Tébessa. L'extraction a été réalisée à l'aide d'un dispositif de type Clevenger **(Figure 4).** Avant l'emploi, l'appareil a été nettoyé à l'alcool puis rincé à l'eau distillée pour éliminer les poussières et les graisses probablement présentes dans l'appareil afin d'éviter toute contamination de l'huile au cours de l'extraction.

a) Principe

L'huile essentielle de chaque plante a été extraite par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger, comme décrit par **(Elyemni *et al.*, 2022)**. Dans un ballon de 2L, 100g de la plante sèche est imprégné dans un litre d'eau distillée. L'ensemble est porté à l'ébullition pendant 1h 30 jusqu'à 2h de temps, le ballon est lié à une colonne qui communique avec un réfrigérant, permettant la condensation des vapeurs d'eau chargée de gouttelettes d'HE, et la chute de ces derniers dans une ampoule à décanter, où l'eau et l'huile se séparent par différence de densité.

Une fois l'extraction d'HE terminée, la partie huileuse flottante est récupérée puis conservée à 4 °C dans des flacons en verre ambré hermétiquement fermés **(Laouar & Sifer, 2013**).

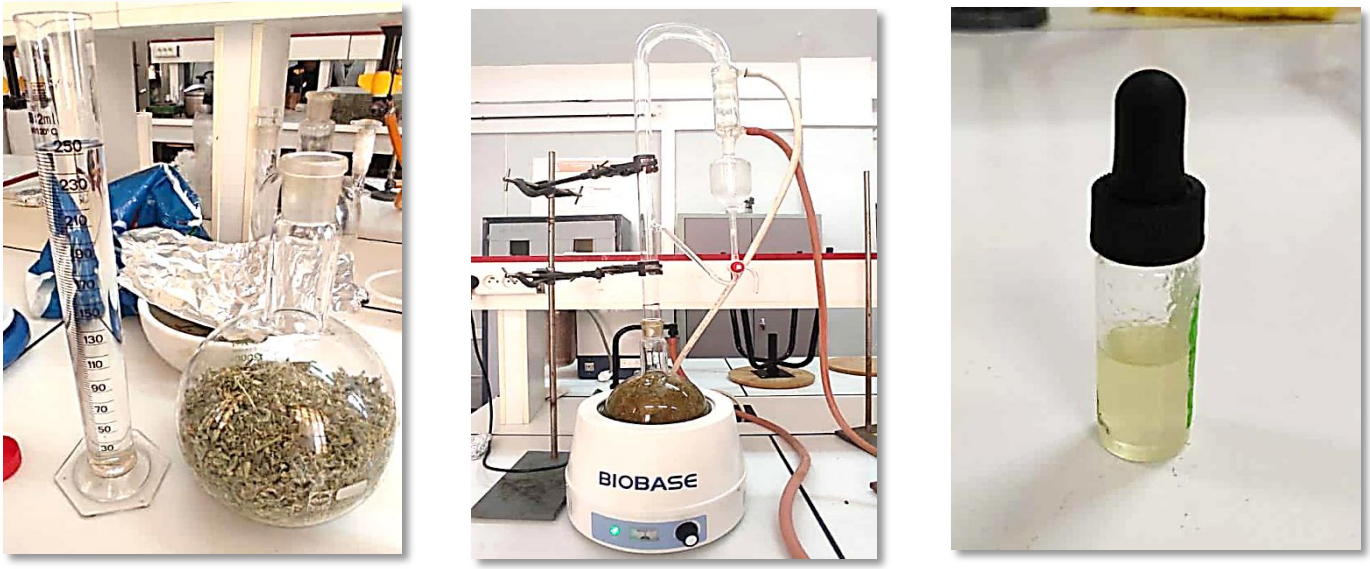


Figure 4 : Les étapes d'extraction de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens*.

3.2 Revivification des souches bactériennes

Repiquage et enrichissement

Les souches bactériennes sont repiquées 02 fois successives dans le bouillon nutritive et

incubées à 37 °C, pendant 24h. Chaque souche est isolée par la méthode des stries dans la gélose nutritive et incubée à 37°C, pendant 24h. Une ou plusieurs colonies identiques sont prélevées et transférées dans l'eau physiologique stérile afin d'avoir une densité optique de la suspension bactérienne entre 0,08 et 0,1 à 620 nm **(Barchan *et al.*, 2015)**.

3.3 Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

Aromatogramme : La méthode de Vincent.

a) Technique

L'activité antimicrobienne du l'huile essentielle a été testé par la méthode de diffusion de disque en milieu gélosé selon les recommandations de la Comité National pour les Normes de Laboratoire Clinique (**NCCLS, 2001**).

Des cultures bactériennes jeunes pour les souches indicatrices ont été mises en suspension dans l'eau physiologique (0,9 % NaCl). Ces inoculum ont été étalés avec des écouvillons stériles sur la surface de boîtes de Pétri contenant de la Mueller-Hinton Agar. Ensuite, des disques de papier (Wattman n°4) stériles de 6 mm de diamètres ont été disposés sur la plaque et 5 µl d'HE ont été ajoutés à chaque disque. Les boîtes de Pétri ont été maintenues à 4°C pendant 1 h, puis incubées à 37°C pendant 18 à 24h **(Chebaibi et *al.*, 2016).**

b) Lecture

À la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne s'est traduite par un halo translucide autour du disque, identique à la gélose stérile, dont les diamètres des zones d'inhibition (mm) ont été mesurés à l'aide d'une règle transparente, y compris le diamètre des disques. Selon la fourchette proposée par **(Zemouli & Soualmia 2023)**, les souches seront ainsi classées selon l'effet inhibiteur d'HE comme suit :

- **Non sensible (-)** : Si le diamètre d'inhibition ne dépasse pas 8mm (6mm Ø ≤ 8mm).
- **Sensible (+) :** Si 9 < diamètre ≤ 14mm.
- **Très sensible (++)** : Si 15 < diamètre ≤ 19mm.
- **Extrêmes sensible (+++)** : Si le diamètre dépasse 20mm (Ø ≥20 mm).

3.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle et de la ciprofloxacine

La CMI ou concentration minimale inhibitrice est la concentration la plus petite d'HE qui empêche les bactéries de se multiplier. C'est le paramètre le plus utilisé pour mesurer *in vitro* l'activité d'un antibiotique**.**

a) Principe

Cette méthode consiste à ensemencer, par une suspension bactérienne standardisée (0,5 McFarland), une série des dilutions de l'HE. L'observation de cette série après un temps d'incubation de 18 à 24 h permet d'accéder à la concentration minimale inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus petite concentration en HE pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu (inhibition de la croissance de 90% de la population microbienne) **(Brahmi et *al.*, 2021).**

b) Technique

Une micro-dilution des huiles essentielles à tester, a été réalisée dans des microplaques à 96 puits selon le protocole décrit par **(Tabanca et *al.*, 2020).** Le milieu de culture utilisé est constitué de Muller Hinton bouillon avec 0,5% de tween 80. **20 µl** d'huile essentielle sont ajoutés dans le premier puits qui contient **180 µl** de bouillon Mueller-Hinton (tween 80 : 0,5%) les autres puits contiennent déjà 100µl MHB (tween 80 : 0,5%). Après homogénéisation du premier puits, **100 µl** du mélange du premier puits sont transférés dans le deuxième puits et ainsi de suite, les **100 µl** du dernier puits sont retirés (une dilution géométrique de base 2). Ensuite, chaque puits a été inoculé avec **10µl** de la suspension bactérienne à tester ($3,5 \times 10^7$ UFC/ml). Des puits contenants de MHB (tween 80 : 0,5%) ont été inoculés par la souche à tester sont utilisés comme contrôles positifs, ceux contenant le HE ou la ciprofloxacine et BMH (tween 80 : 0,5%) non inoculés sont utilisés comme contrôle négatif.

Après 18 heures d'incubation à température de 37° C, Les résultats sont lus à l'œil nu, la CMI de l'huile essentielle est défini comme la plus faible concentration de l'huile essentielle à laquelle le micro-organisme testé ne présente pas de croissance visible dans le bouillon. **(Zemouli & Soualmia, 2023)**.

Valeurs des dilutions utilisées dans la détermination des CMI des huiles essentielles **(Tableau 13).**

Tableau 13 : Valeurs des dilutions utilisées dans la détermination des CMI des huiles essentielles

Facteur de dilution d'HE	**1**	**1/2**	**1/4**	**1/8**	**1/16**	**1/32**	**1/64**	**1/128**	**1/256**
HE µl /ml	**100**	**50**	**25**	**12.5**	**6.25**	**3.125**	**1.562**	**0.781**	**0.390**

3.5 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB est définie comme étant la plus faible concentration de l'huile essentielle qui détruit 99,9% de la concentration cellulaire finale. **10µl** de la suspension bactérienne sont repiqués à partir des puits montrant une absence complète de la croissance bactérienne puis déposés en strie sur gélose MH. Les boites ensemencées sont incubées pendant 18h d'incubation à 37°C **(Figure 5).** La CMB a été considérée comme la concentration la plus faible à laquelle aucune croissance bactérienne n'a été observée. **(Chebaibi et *al.*, 2016).** Le rapport **CMB/CMI** est calculé, il permet de déterminer le pouvoir antibiotique de l'huile essentielle. Lorsque ce rapport est inférieur ou égal à 4, on dit que l'extrait est bactéricide et lorsqu'il est supérieur à 4, l'extrait est qualifié de bactériostatique **(Bouharb et *al.*, 2014**).

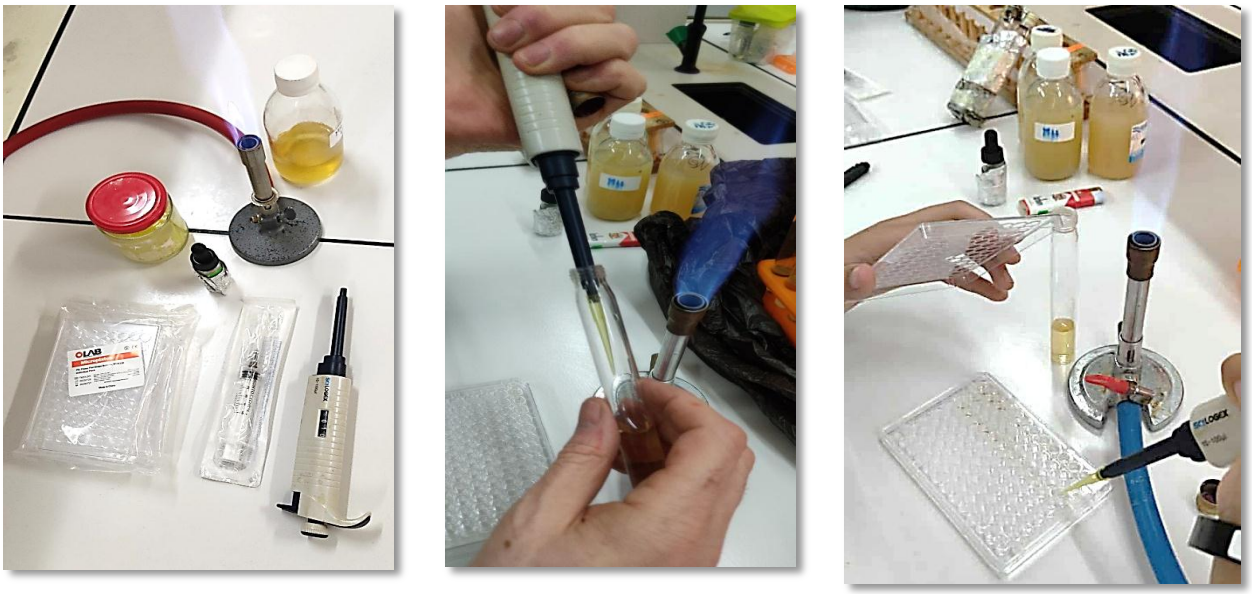


Figure 6:les étapes de détermination de la CMI

3.6 Détermination de types d'interaction entre huile l'essentielle et la ciprofloxacine

3.6.1 Etude de l'effet de combinaison « huile essentielle / antibiotique » par la méthode de diffusion en puits

Cette combinaison est réalisée afin de tester l'activité antibactérienne et de mettre en valeur un éventuel effet synergique entre l'huile et la ciprofloxacine sur les souches bactériennes testées.

Ce test consiste à réaliser des combinaisons entre l'huile et la ciprofloxacine à différentes concentrations émulsifiées dans le DMSO à raison de 5% (v/v).

- 25% d'huile +75% de FSC.
- 50% d'huile + 50% de FSC.
- 75% d'huile +25% de FSC.

Des puits de 6 mm de diamètres creusés dans la gélose MH préalablement ensemencée avec la souche teste sont remplis avec 70µl de la combinaison HE/ATB. Après l'incubation à 37° pendant 24h, une lecture a été faite comme cité précédemment dans l'aromatogramme.

D'après **Pibiri (2005)**, il existe quatre effets antimicrobiens des associations d'huiles essentielles, ainsi pour les antibiotiques :

- Indifférent : (A+B) = Effet A ou Effet B.
- Addition : (A+B)= Effet A + Effet B
- Synergie : (A +B) > Effet A + Effet B.
- Antagonisme : (A +B) < Effet A ou Effet B.

3.6.2 Etude de l'association « huile essentielle / antibiotique » par la méthodedes disques

La méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de l'association HE/ATB est celle de diffusion sur milieu solide préconisée par **Halawani (2009)**.

- Un disque d'antibiotique de 6 mm de diamètre est déposé au centre de chaque boîte MH préalablement ensemencée (un disque par boîte);
- A l'aide d'une micropipette, 10 µl d'HE sont déposés sur chaque disque d'ATB;
- Les boîtes sont laissées diffuser à 4°C pendant 2 h puis incubées à 37°C pendant 24 h;
- Après incubation, le diamètre des zones d'inhibition est mesuré en mm. Le résultat étant la moyenne de trois essais ;

Les données ont été analysées comme suit:

• **Indifférence :** les deux zones d'inhibition de l'HE seule et de l'association HE/ATB restent inchangées.

• **Antagonisme :** la zone d'inhibition de l'association HE/ATB est moins importante que celle de l'HE toute seule.

• **Synergie :** la zone d'inhibition de l'association HE/ATB est plus importante que celle de l'HE toute seule.

3.4.3. Etude de l'association « huile essentielle/antibiotique » par la méthode de micro dilution en milieu liquide.

La méthode de micro dilution modifiée a été utilisée pour déterminer le potentiel de synergie des associations HE/ATB à différentes concentrations suivant la même procédure utilisée pour évaluer la CMI **(Zemouli & Soualmia, 2023).** La dilution de l'HE est effectuée dans le sens horizontal et l'ajout des différentes concentrations d'antibiotiques est fait verticalement avec

une gamme de concentration allant de 100 à 0.195 µL/mL, une série de combinaisons de concentration différente en HE/ATB sera obtenue. **(Figure 7)**

L'HE et l'ATB sont également testés séparément sur la même microplaque pour la comparaison (témoin positif). Par la suite, la microplaque est inoculée avec une suspension bactérienne de telle façon à obtenir une charge finale qui est de 5 x10^5UFC/ mL, puis incubée à 37°C pendant 24 h. La mesure de l'effet association HE/ATB a été obtenue en calculant l'Indice de Concentration Inhibitrice Fractionnaire (FICI : Fractional Inhibitory Concentration Index) selon la formule ci-dessous.

$$FICI = \frac{\text{CMI de l'ATB en combinaison}}{\text{CMI de l'ATB seul}} + \frac{\text{CMI de l'HE en combinaison}}{\text{CMI de l'HE seul}}$$

La combinaison des deux composés est considérée selon **Turgis et *al.*, (2012)** comme :

FICI ≤ 0,5 : association synergique

0,5 < FICI < 1 : association additif

1 <FICI<4 : absence d'association

FICI >4 : association antagoniste.

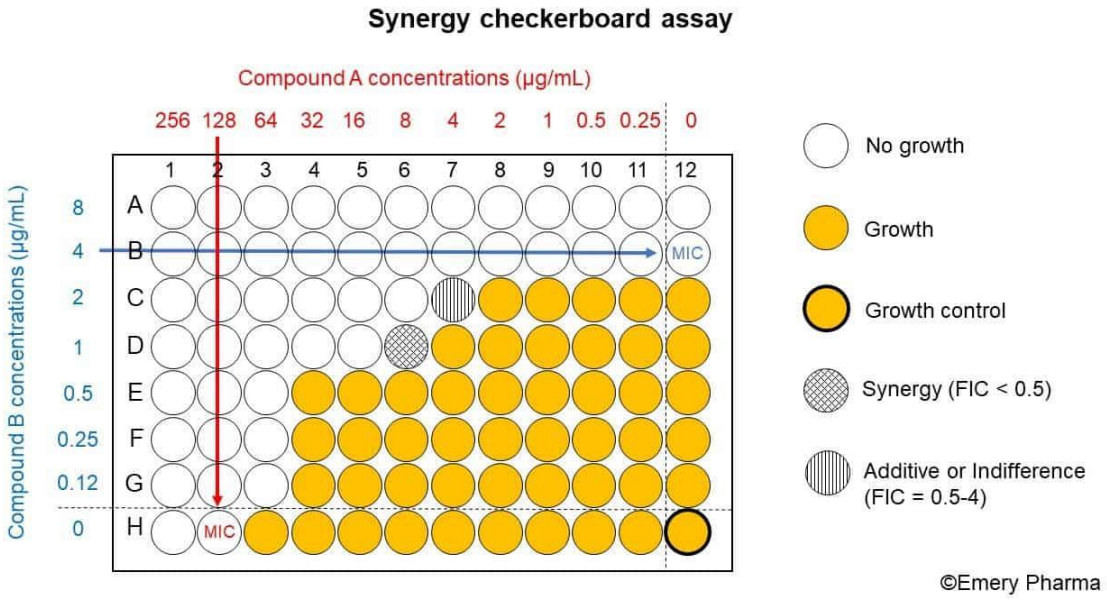


Figure 8: Schéma de microplaque utilisée dans la détermination des CMI de la combinaison de l'huile essentielle et l'antibiotique vis-à-vis des souches pathogènes.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Activité anti-bactérienne de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* et de la ciprofloxacine sur les bactéries testées.

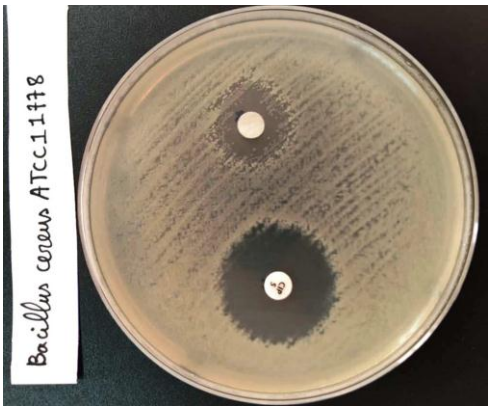
L'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* a montré une activité antibactérienne variable selon les souches testées **(Tableau 14).** La souche la plus sensible était *Raoultella terrigena* (S170), avec une zone d'inhibition de 34.00 ± 0.74 mm, suivie de *Staphylococcus aureus ATCC* 25923 (28.00 ± 0.70 mm) et *Bacillus subtilis ATCC* 9372 (27.00 ±1.22 mm) respectivement, indiquant une forte efficacité de l'huile contre ces bactéries, en particulier sur les Gram positives. Une activité modérée a été observée contre *Escherichia coli* ATCC 25422 (13.00 ± 1.62 mm), *Enterobacter cloacae* (S9) (14.00 ± 0.98 mm), *Klebsiella pneumoniae* ssp. *pneumoniae (S25)* (16.00 ± 0.45 mm) et *Enterobacter cloacae* (S49*)* (14.00 ± 0.98 mm). En revanche, une faible activité a été enregistrée contre les souches *Serratia odorifera1* (S43) et *Serratia odorifera1* (S46)), avec des zones d'inhibition de 08.00 ± 0.00 et de 10.00 ± 0.00 mm respectivement (figue 01).

Tableau 14 : activité anti-bactérienne de l'huile essentielle de Pélargonium graveolens et de la ciprofloxacine sur les bactéries testées.

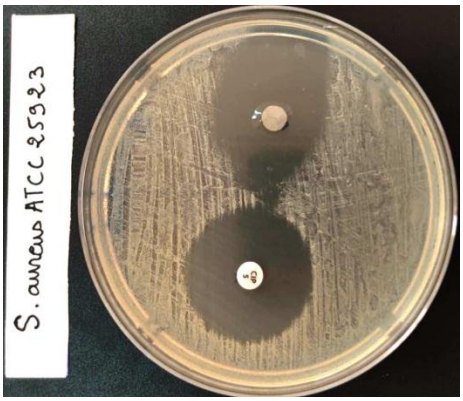
	diamètre de zone d'inhibition (mm)	
Souches bactériennes testées	***Pélargonium graveolens***	*ciprofloxacine*
Staphylococcus aureus ATCC 25923	28.00 ± 0.70	30.00 ± 0.28
Bacillus subtilis ATCC 9372	27.00 ±1.22	31.00 ± 0.75
Bacillus cereus ATCC 11778	21.00 ± 2.12	23.00 ± 2.36
Micrococcus luteus ATCC 4698	23.00 ± 0.31	31.00 ± 0.40
Escherichia coli ATCC 25422	13.00 ± 1.62	28.00 ± 2.11
Enterobacter cloacae (S9)	11.00 ± 2.82	22.00 ± 0.55
Klebsiella pneumoniae ssp *pneumonia* (S25)	16.00 ± 0.45	21.00 ± 0.08
Enterobacter cloacae (S49)	14.00 ± 0.98	25.00 ± 0.21
Raoultella terrigena (S170)	34.00 ± 0.74	32.00 ± 0.42
Serratia odorifera1 (S42)	11.00 ± 2.54	11.00 ± 1.23
Serratia odorifera1 (S43)	08.00 ± 0.00	11.00 ± 1.74
Serratia odorifera1 (S46)	10.00 ± 0.00	10.00 ± 0.05

La ciprofloxacine a démontré une forte activité antibactérienne sur la majorité des souches testées, avec des zones d'inhibition qui fluctuent entre 10.00 ± 0.05 et 32.00 ± 0.42 mm

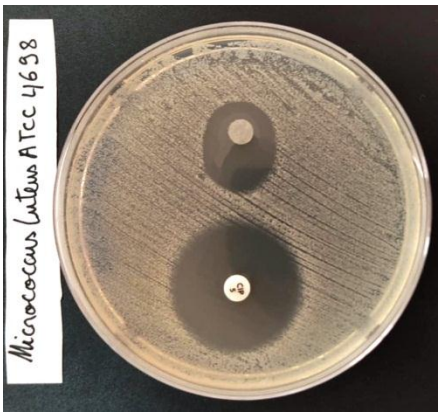
(Tableau14). La souche *Raoultella terrigena* (S170) a présenté la plus grande sensibilité avec une zone d'inhibition de 32.00 ± 0.42 mm, suivie de *Bacillus subtilis ATCC* 9372 (31.00 ± 0.75 mm), *Micrococcus luteus ATCC 4698* (31.00 ± 0.40 mm) et *Staphylococcus aureus ATCC* 25923 (30.00 ± 0.28 mm), indiquant une excellente efficacité de cet antibiotique contre ces bactéries Gram positives. *Escherichia coli ATCC* 25422 se montre sensible avec un diamètre de 28.00 ± 2.11 mm, tout comme *Enterobacter cloacae* (S49) avec 27 mm. Une activité modérée a été observée contre *Bacillus cereus ATCC 11778* (24 mm), *Enterobacter cloacae* (S9), et *Klebsiella pneumoniae* ssp. *pneumoniae* (S25), toutes deux avec des zones de 22 mm. En revanche, les souches *Serratia odorifera* (S42, S43, S46) ont présenté une résistance remarquable, avec des zones d'inhibition très faibles allant de 10.00 ± 0.05 à 11.00 ± 1.23 mm. Ces résultats montrent que, bien que la ciprofloxacine soit généralement efficace, certaines souches, notamment du genre *Serratia,* peuvent présenter une résistance significative **(figure 9)**.



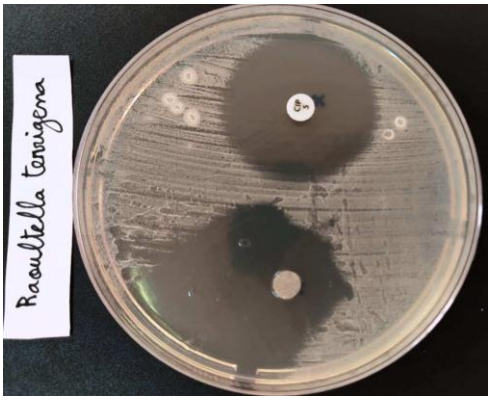
Bacillus subtilis ATCC *9372*



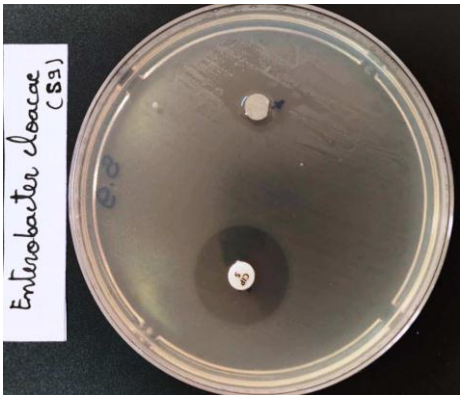
Staphylococcus aureus ATCC *25923*



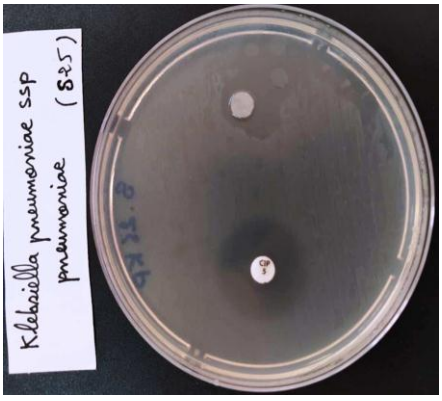
Micrococcus luteus ATCC 4698



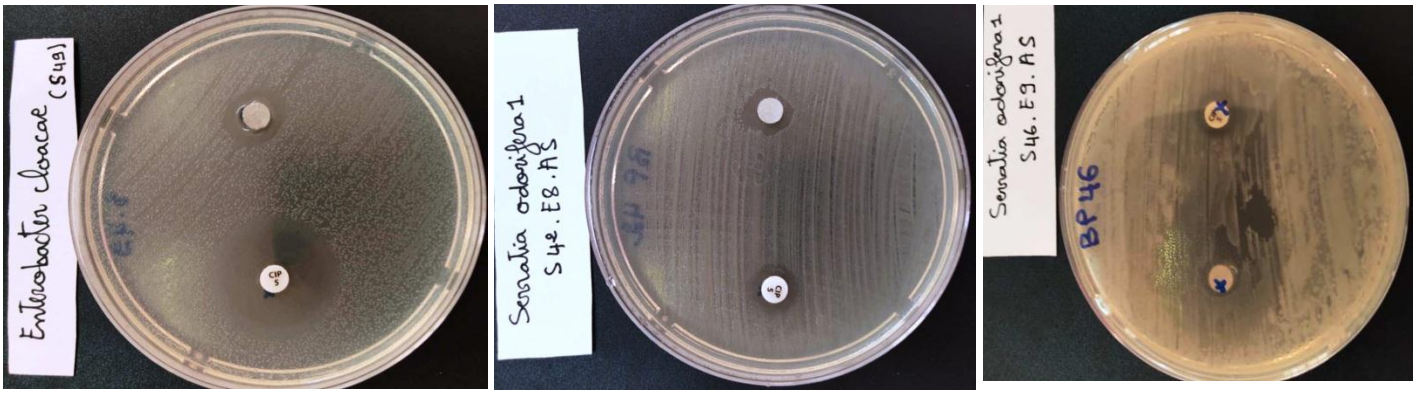
Raoultella terrigena (S170)



Enterobacter cloacae (S9)



Klebsiella pneumoniae ssp *pneumonia* (S25)



Enterobacter cloacae (S49) *Serratia odorifera1* (S42) *Serratia odorifera1* (S46)

Figure 9: Images de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* et de la *ciprofloxacine* sur les bactéries testées.

Un certain nombre d'études ont évalué l'efficacité d'HE de *Pélargonium graveolens* par rapport à un certain nombre de bactéries Gram positif et Gram négatif. A ce titre **Bouguhlmouna (2014)** a rapporté que l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* possède une excellente activité sur la majorité des microorganismes testés à l'égard de *Staphylococcus aureus, S. epidermidis, Sarcina lutea, Escherichia coli, Bacillus subtilis, Klebsiella pneumoniae,*) avec des diamètres d'inhibition supérieurs à 25 mm**.**

Dans une autre étude **Boutarfaia et Benyahia (2015)**, ont constatés que l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* présente une bonne activité antibactérienne. Les bactéries *Staphylococcus aureus, Proteus* spp. et *Serratia marcescens* se sont montrées sensibles, avec des zones d'inhibition de 24 mm, 15 mm et 12 mm respectivement. En revanche, *Pseudomonas aeruginosa et Pseudomonas fluorescens* étaient résistantes, avec seulement 6 mm de zone d'inhibition. En comparant ces résultats avec les nôtres, on remarque que *Staphylococcus aureus* est également très sensible dans notre étude, avec une zone d'inhibition plus élevée de 28 mm, ce qui confirme l'efficacité de cette huile essentielle contre ces bactéries.

Toutefois selon **Atailia et Djahoudi, (2015),** l'action antibactérienne de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* pourrait être due à la composition chimique de l'huile comme notamment le géraniol, formiate de citronellyle, iomenthone et le citronellol

Plusieurs études récentes rapportent que les HEs et leurs principaux constituants inhibent les bactéries via une gamme de mécanismes tels que : la perturbation de la paroi**,** déstabilisation

de la membrane plasmique**,** endommagement des protéines membranaires**,** fuite de constituants intracellulaires tels que les métabolites et les ions, coagulation du contenu cellulaire, et l'épuisement de la force proton-motrice **(Loose *et al.,* 2020 ; Barbarossa et *al.,* 2022).**

Concernant le spectre d'activité de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens*, nos résultats corroborent ceux de *Atailia et Djahoudi (2015)* et qui ont mentionnés que les bactéries Gram + sont plus sensible à l'action antimicrobienne de l'HE de cette plante que les Gram -. Cette différence pourrait être expliquée par le fait que les Gram – possèdent une résistance intrinsèque aux huiles essentielles, qui est en relation avec la nature de leur paroi bactérienne.

2. Résultat de la CMI et de la CMB

Les valeurs absolues des CMI (**Tableau 15**) de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* montrent de larges écarts allant de 0.781 (µL/mL) à 25 (µL/mL) selon l'espèce bactérienne étudiée. Toutefois, l'huile essentielle a montré une activité bactéricide contre la majorité des souches testées, comme *Staphylococcus aureus ATCC 25923* (CMI = 25 µg/mL, CMB = 25 µg/mL, rapport CMB/CMI = 1), *Bacillus subtilis ATCC 9372* (CMI = 3.125 µg/mL, CMB = 6.25 µg/mL, rapport = 2), *Bacillus cereus ATCC 11778* (CMI = CMB = 1.562 µg/mL, rapport = 1), *Micrococcus luteus ATCC 4698* (CMI = CMB = 12.5 µg/mL, rapport = 1), *Escherichia coli ATCC 25422* (CMI = CMB = 25 µg/mL, rapport = 1),*Enterobacter cloacae* (S9) (CMI = 6.25 µg/mL, CMB = 25 µg/mL, rapport = 4), *Enterobacter cloacae* (S49) (CMI = 1.562 µg/mL, CMB = 6.25 µg/mL, rapport = 4), *Serratia odorifera* (S42) (CMI = 6.25 µg/mL, CMB = 12.5 µg/mL, rapport = 2), et *Serratia odorifera* (S46) (CMI = CMB = 6.25 µg/mL, rapport = 1). En revanche, un effet bactériostatique a été observé uniquement sur *Klebsiella pneumoniae* ssp. *pneumoniae* (S25), avec une CMI très faible de 0.781 µg/mL mais une CMB de 6.25 µg/mL, donnant un rapport élevé de 8, ainsi que sur *Raoultella terrigena* (S170), qui présente une CMI de 1.562 µg/mL et une CMB de 12.5 µg/mL, soit un rapport également égal à 8. Globalement, l'huile essentielle se montre efficace, avec une bonne activité surtout contre les bactéries Gram positives, comme *Bacillus cereus et Micrococcus luteus.*

Tableau 15 : Résultat de CMI et CMB de l'huile essentielle de Pélargonium graveolens et de la ciprofloxacine sur les souches indicatrices.

Souches	**CMI (µL/mL)**	**CMB (µL/mL)**	*Rapport CMB/CMI*	**Effet**
Staphylococcus aureus* ATCC *25923	**25**	**25**	**1**	bactéricide
Bacillus subtilis* ATCC *9372	**3.125**	**6.25**	**2**	bactéricide
Bacillus cereus* ATCC *11778	**1.562**	**1.562**	**1**	bactéricide
Micrococcus luteus* ATCC *4698	**12.5**	**12.5**	**1**	bactéricide
Escherichia coli* ATCC *25422	**25**	**25**	**1**	bactéricide
***Enterobacter cloacae* (S9)**	**6.25**	**25**	**4**	bactéricide
***Klebsiella pneumoniae* ssp *pneumonia* (S25)**	**0.781**	**6.25**	**8**	bactériostatique
***Enterobacter cloacae* (S49)**	**1.562**	**6.25**	**4**	bactéricide
***Raoultella terrigena* (S170)**	**1.562**	**12.5**	**8**	bactériostatique
***Serratia odorifera1* (S42)**	**6.25**	**12.5**	**2**	bactéricide
***Serratia odorifera1* (S43)**	**/**	**/**	**/**	**/**
***Serratia odorifera1* (S46)**	**6.25**	**6.25**	**1**	bactéricide

Concernant les résultats de la CMI de la ciprofloxacine contre deux souches bactérienne (**Tableau 16).** Pour la souche *Escherichia coli* ATCC 25422, la CMI et la CMB sont toutes deux de 1.644 µg/mL, avec un rapport CMB/CMI de 1, indiquant un effet bactéricide net. Cependant, *Enterobacter cloacae* (S9) présente une CMI et une CMB identique de 3.289 µg/mL, avec un rapport également égal à 1, traduisant un effet bactéricide efficace.

Tableau 16 : Résultat de CMI de la ciprofloxacine sur les souches indicatrices.

Souches	**CMI**	**CMB**	*Rapport CMB/CMI*	**Effet**
***Escherichia coli* ATCC 2**	**1.644**	**1.644**	**1**	bactéricide
***Enterobacter cloacae* (S9)**	**3.289**	**3.289**	**1**	bactéricide

L'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* et la ciprofloxacine ont des effets antibactériens, mais leur efficacité et leur spectre d'activité se diffère selon les espèces et les souches bactériennes étudiées diffèrent. L'huile essentielle montre une activité bactéricide contre plusieurs souches, mais elle peut aussi être bactériostatique à faible concentration pour certaines souches. En comparaison, la ciprofloxacine est plus puissante, avec des CMI plus faibles et un effet bactéricide constant, surtout contre les souches Gram négatives comme *Escherichia coli et Enterobacter cloacae*. Alors que l'huile essentielle agit plus largement sur différentes bactéries, la ciprofloxacine est plus ciblée et efficace à des doses plus faibles.

Dans une étude récente sur l'activité biologique de l'huile essentielle de *Pélargonium asperum,* **Ouelhadj *et al*., (2019)** ont montré que montré que cette huile affiche une bonne activité antibactérienne, surtout contre la souche de *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 et une souche *d'Escherichia coli*. En revanche, son efficacité est faible contre *Klebsiella pneumoniae et Pseudomonas aeruginosa,* deux bactéries à Gram résistantes aux antibiotiques. Selon **Sandoz (2018)**.

La ciprofloxacine affiche une très forte activité in vitro contre la plupart des germes oculaires étudiés : les bactéries à Gram négatif telles que Neisseria gonorrhoeae (CMI = 0,004 µg/mL), Haemophilus influenzae et Escherichia coli (CMI≤ 0,06 µg/mL) sont particulièrement sensibles, tandis que les staphylocoques et streptocoques à Gram positif (CMI comprises entre 0,25 et 1,0 µg/mL) montrent une sensibilité modérée à bonne. En revanche, les anaérobies comme les espèces Bacteroides (CMI= 16 µg/mL) et Clostridium non-difficile (CMI = 8 µg/mL) nécessitent des concentrations beaucoup plus élevées pour être inhibés, suggérant une efficacité clinique réduite contre ces souches. Dans l'ensemble, plus la CMI est faible, plus la ciprofloxacine est un choix pertinent pour traiter les infections oculaires bactériennes, notamment celles dues à des bacilles à Gram négatif.

3. Effets combinés de l'huile essentielle de Pélargonium graveolens (HE) et de la ciprofloxacine (ATB cip) évalués par la méthode de diffusion en puits

L'analyse des résultats des tests effectués (**tableau 17**), nous a permis d'observer de trois types d'interactions à savoir: la synergie, où l'effet combiné des deux agents est supérieur à la somme de leurs effets individuels ; l'indifférence, où la combinaison n'apporte ni

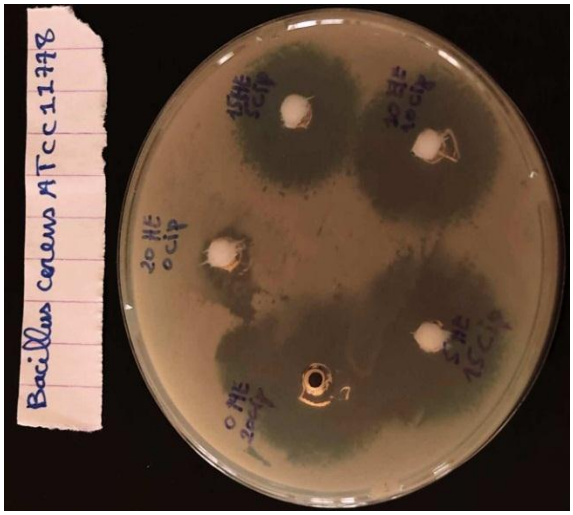
amélioration ni réduction de l'activité antibactérienne ; et l'antagonisme, où la combinaison diminue l'efficacité par rapport à chaque agent seul (**figure 10**). Les résultats révèlent que *Micrococcus luteus ATCC 4698* montre une synergie notable avec les trois combinaisons utilisées à savoir ; *75% HE/ 25% ATB cip, 50% HE/ 50% ATB cip et 25% HE/ 75% ATB cip*. En revanche, les autres souches comme *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Raoultella terrigena* et *Serratia odoriferal* présentent un effet antagoniste à l'egard de différentes concentrations utilisées, un effet indifférent est observé à certaines concentrations, ce qui signifie que la combinaison n'a pas d'effet significatif par rapport aux substances utilisées seules. Enfin, *Staphylococcus aureus ATCC 25923* présente une un effet Indifférent avec les differentes concentration de combinaisont utilisées.

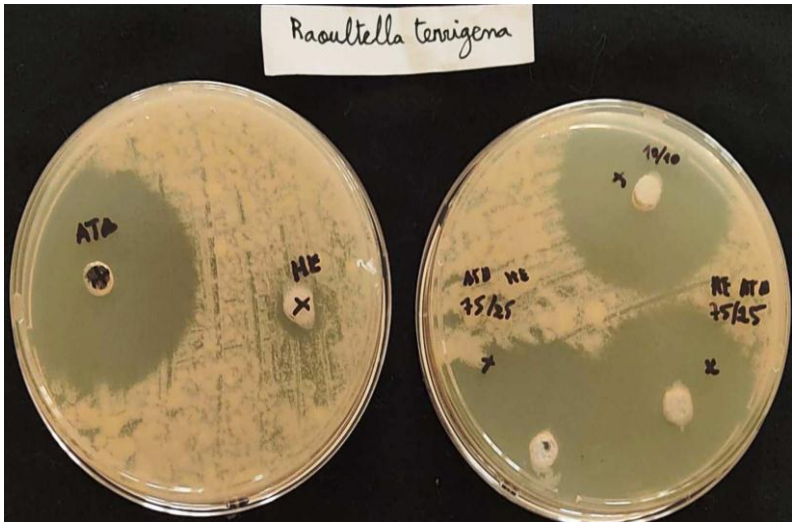
Tableau 17 : l'effet de combinaison combinaisons de l'HE de Pélargonium graveolens et de la ciprofloxacine par la méthode de diffusion en puits.

	diamètre de zone d'inhibition (mm) de la combinaison				
Souches bactériennes testées	**HE/ATB cip 100%/0%**	**HE/ATB cip 0%/100%**	**HE/ATB cip 75%/25%**	**HE/ATB cip 50%/50%**	**HE/ATB cip 25%/75%**
Staphylococcus aureus ATCC 25923	12.00 ± 1.12	36.00 ± 0.85	33.00 ± 0.22	37.00 ± 0.10	40 ± 0.22
Effet de la combinaison	/	/	Antagonisme	Indifférent	Indifférent
Bacillus subtilis ATCC 9372	06.00 ± 2.20	44.00 ± 1.10	38.00 ± 0.07	39.00 ± 0.48	42.00 ± 2.91
Effet de la combinaison	/	/	Antagonisme	Antagonisme	Antagonisme
Bacillus cereus ATCC *11778*	11.00 ± 1.52	28.00 ± 1.54	23.00 ± 0.68	26.00 ± 0.65	28.00 ± 1.55
Effet de la combinaison	/	/	Antagonisme	Antagonisme	Antagonisme
Micrococcus luteus ATCC 4698	06.00 ± 1.41	33.00 ± 1.44	40.00 ± 0.94	36.00 ± 0.41	36.00 ± 1.32
Effet de la combinaison	/	/	synergie	Synergie	synergie
Escherichia coli ATCC 25422	11.00 ± 1.32	37.00 ± 0.38	30.00 ± 0.08	30.00 ± 0.84	34.00 ± 0.05
Effet de la combinaison	/	/	Antagonisme	Antagonisme	Antagonisme
Enterobacter cloacae (S9)	19.00 ± 0.92	32.00 ± 0.66	28.00 ± 1.26	30.00 ± 0.74	29.00

Effet de la combinaison	/	/	Antagonisme	Antagonisme	Antagonisme
Klebsiella pneumoniae ssp *pneumonia* (S25)	07.00 ± 0.87	26.00 ± 0.12	26.00 ± 1.73	29.00 ± 0.00	27.00 ± 0.12
Effet de la combinaison	/	/	Antagonisme	Antagonisme	Antagonisme
Enterobacter cloacae (S49)	06.00 ± 1.32	31.00 ± 0.00	26.00 ± 0.8	30.00 ± 1.56	27.00 ± 0.54
Effet de la combinaison	/	/	Antagonisme	Antagonisme	Antagonisme
Raoultella terrigena (S170)	13.00 ± 1.44	42.00 ± 0.36	35.00 ± 0.46	42.00 ± 0.05	31.00 ± 0.42
Effet de la combinaison	/	/	Antagonisme	Antagonisme	Antagonisme
Serratia odorifera1 (S42)	ND	ND	ND	ND	ND
Serratia odorifera1 (S43)	06.00 ± 0.74	19.00 ± 2.11	06.00 ± 1.98	12.00 ± 1.87	13.00 ± 1.56
Effet de la combinaison			Antagonisme	Antagonisme	Antagonisme
Serratia odorifera1 (S46)	07.00 ± 0.76	14.00 ± 2.84	06.00 ± 0.74	16.00 ± 0.32	15.00 ± 0.87
Effet de la combinaison			Antagonisme	Indifférent	Antagonisme

ND : Non déterminer





Bacillus cereus ATCC 11778 *Raoultella terrigena* (S170)



Staphylococcus aureus ATCC 25923

Figure 10: Photographies de la sensibilité des souches pathogènes aux combinaisons de ciprofloxacine par la méthode de diffusion en puits.

4. Effets de combinaisons de l'HE de *Pélargonium graveolens* et de la ciprofloxacine par la méthode de diffusion en disques.

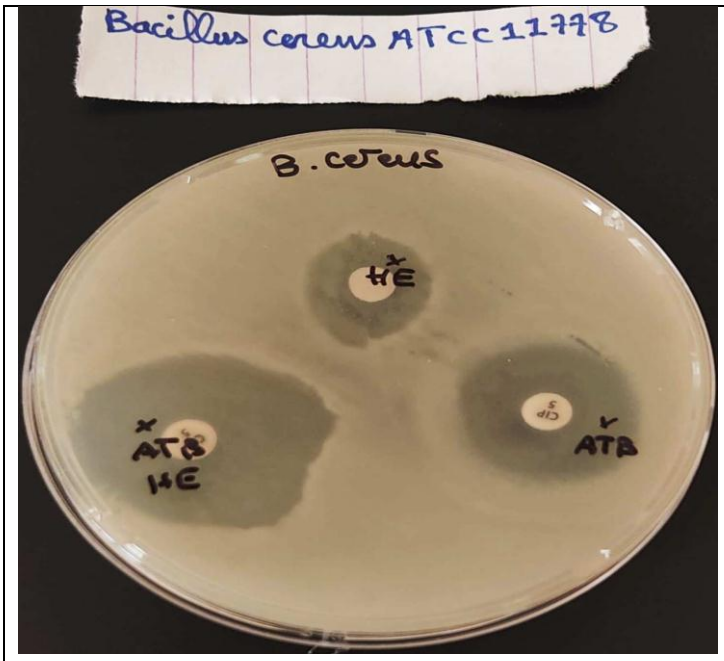
Le tableau 18 présente l'effet de la combinaison de l'huile essentielle (HE) de *Pélargonium graveolens* avec la ciprofloxacine (ATB cip) sur différentes souches bactériennes. L'analyse des résultats nous a permis de constater que la majorité des associations HE/ATB montrent un

effet synergique **(figure 11)**, comme observé chez *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, et *Raoultella terrigena*, avec des diamètres de zones d'inhibition supérieurs à ceux obtenus par chaque agent seul. Ce résultat suggère un potentiel d'interaction positive entre l'HE et l'antibiotique, pouvant renforcer l'activité antibactérienne. Toutefois, une exception est observée avec *Klebsiella pneumoniae* ssp *pneumoniae*, où l'effet est antagoniste, indiquant une possible interférence entre les deux agents. Par ailleurs, *Serratia odorifera* (souche S42) montre une indifférence à la combinaison, suggérant une résistance naturelle ou une absence d'effet combiné. Ces résultats soulignent l'intérêt potentiel d'utiliser les huiles essentielles en combinaison avec des antibiotiques pour améliorer l'efficacité thérapeutique, tout en signalant la nécessité d'évaluer les interactions spécifiques à chaque souche bactérienne.

Tableau 18 : l'effet de combinaison de l'HE de Pélargonium graveolens et de la ciprofloxacine par la méthode de diffusion en disques.

	Diamètre de zone d'inhibition (mm) de la combinaison		
Souches bactériennes testées	**HE**	**ATB cip**	**HE/ATB cip**
Staphylococcus aureus ATCC 25923	35.00 ± 0.04	31.00 ± 0.62	40.00 ± 0.88
Effet de la combinaison			Synergie
Bacillus subtilis ATCC 9372	30.00 ± 2.05	36.00 ± 0.76	42.00 ±0.32
Effet de la combinaison			Synergie
Bacillus cereus ATCC 11778	17.00 ± 1.08	22.00 ± 0.75	31.00 ± 0.28
Effet de la combinaison			Synergie
Micrococcus luteus ATCC 4698	36.00 ± 0.06	30.00 ± 1.74	40.00 ± 0.46
Effet de la combinaison			Synergie
Escherichia coli ATCC 25422	12.00 ± 0.82	27.00 ± 0.43	26.50 ± 1.23
Effet de la combinaison			Synergie
Enterobacter cloacae (S9)	10.00 ± 0.92	25.00 ± 1.58	28.00 ± 1.78
Effet de la combinaison			Synergie
Klebsiella pneumoniae ssp	37.00 ± 0.49	22.00 ± 0.65	28.00 ± 0.95

pneumonia (S25)			
Effet de la combinaison			Antagonisme
Enterobacter cloacae (S49)	23.00 ± 0.28	21.00 ± 0.6	26.00 ± 0.15
Effet de la combinaison			Synergie
Raoultella terrigena (S170)	29.00 ± 0.07	39.00 ± 0.43	42.00 ± 0.25
Effet de la combinaison			Synergie
Serratia odorifera1 (S42)	10.00 ± 2.15	12.00 ± 1.49	11.00 ± 0.26
			Indifférence
Serratia odorifera1 (S43)	07.00 ± 1.14	10.00 ± 0.78	13.00 ± 0.48
Effet de la combinaison			Synergie
Serratia odorifera1 (S46)	05.00 ± 0.05	10.00 ± 0.45	14.00 ± 0.87
Effet de la combinaison			Synergie



Bacillus cereus ATCC 11778



Enterobacter cloacae (S49)



Escherichia coli ATCC 25422



Staphylococcus aureus ATCC 25923

Figure 11: Photographies de la sensibilité des souches pathogènes aux combinaisons de l'HE de *Pélargonium graveolens* et de *la ciprofloxacine* par la méthode de diffusion sur disque

L'association des huiles essentielles (HEs) avec des antibiotiques représente une stratégie innovante pour lutter contre les bactéries résistantes, en renforçant l'efficacité de l'activité antimicrobienne **(Yap *et al.*, 2014).** Qu'il s'agisse d'huiles essentielles entières ou de mélanges de leurs principaux constituants purifiés, ces combinaisons exposent les bactéries à une diversité de composés chimiques agissant par des mécanismes antibactériens variés et simultanés sur plusieurs cibles cellulaires. Cette approche pourrait ainsi améliorer l'efficacité des traitements tout en réduisant le risque d'apparition d'une résistance adaptative. En effet, le développement d'une résistance à plusieurs mécanismes d'action distincts est moins probable que dans le cas d'un traitement par un seul agent **(Belounis et Saoudi, 2020).**

Dans ces combinaisons, l'interaction entre les agents antimicrobiens peut conduire à trois types d'effets : la synergie, l'addition ou l'antagonisme. Une synergie est observée lorsque l'effet antimicrobien combiné est supérieur à la somme des effets individuels. Un effet additif se produit lorsque cette somme est équivalente à celle des effets isolés. En revanche, un effet antagoniste survient lorsque la combinaison génère une activité inférieure à la somme des effets des deux composés pris séparément **(Burt, 2004).**

Dans une étude récente, **Knezevic *et al.*, (2015)** ont révélé que l'huile essentielle d'Eucalyptus camaldulensis, montre une activité synergique avec la ciprofloxacine, ainsi qu'avec la polymexine B contre deux souches d'Acinetobater baumannii isolées de plaies. Cette meme étude conclut que l'effet synergique a été, partiellement attribué aux terpènes polaires et auspathulenol (alcool sesquiterpènique) qui composent cette HE.

5. Indice des concentrations inhibitrices fractionnaires (ICIF) des combinaisons de l'HE de *Pélargonium graveolens et* de *la ciprofloxacine*

Les résultats obtenus pour les combinaisons de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* et de la ciprofloxacine (CIP) (**Tableau 19**), montrent des effets variés en fonction des souches bactériennes testées. Pour la souche Escherichia coli ATCC 25422, le FICI de 0.8 indique une association additive, suggérant que les deux agents agissent indépendamment l'un de l'autre sans renforcer l'effet antimicrobien. En revanche, pour *Raoultella terrigena (S170),* Enterobacter cloacae (S9) et *Staphylococcus aureus ATCC 25923,* nous avons constatés des valeurs de FICI de 0.3, 0.4 et 0.45 respectivement indiquant une association synergique, où la combinaison des deux agents améliore l'effet antimicrobien par rapport à l'action individuelle de chaque composé, suggérant une efficacité accrue contre ces souches.

Tableau 19 : Indice des concentrations inhibitrices fractionnaires (ICIF) des combinaisons de l'HE de Pélargonium graveolens et de la ciprofloxacine.

Souches bactériennes testées	ICIF	Type d'interaction
Escherichia coli ATCC 25422	0.8	association additif
Enterobacter cloacae (S9)	0.4	association synergique
Staphylococcus aureus ATCC 25923	0.45	association synergique
Raoultella terrigena (S170)	0.3	association synergique

De nombreuses études ont rapporté l'existence des associations positives entres les huiles essentielles et les antibiotiques conventionne. Nos résultats corroborent ceux obtenus par **Tripti *et al*., (2011)**, qui ont montré que l'huile essentielle *Pélargonium graveolens* présentait une bonne activité antibactérienne quand elle est utilisée en combinaison avec la ciprofloxacin contre les souches uropathogènes *Klebsiella pneumoniae* KT2 (ICIF = 0.375) , *Proteus mirabilis* PRT3 (ICIF = 0.5) and *Staphylococcus aureus* ST2 (ICIF = 0.5). Les valeurs de cet indice 'ICIF' sont donc ≤ 0,5 pour les 3 micro-organismes testés, ce qui indique

que l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* et l'antibiotique ciprofloxacine ont une action antibactérienne synergique.

Dans une étude menée par Sallet Baya et Rabah Taqwa (2024), la combinaison de l'antibiotique CIP avec l'huile essentielle de Myrtus communis (HE-MC) présente un effet synergique contre les souches d'origine alimentaire il s'agit notamment d'*Escherichia* coli UPT15 et *Enterobacter cloacae* UPT 11 multirésistantes et productrices de β-lactamases à spectre élargi (BLSE)**.**

Une autre étude menée par **Si *et al*., (2008)**, les auteurs ont montré que l'huile essentielle d'origan présentait une bonne activité antibactérienne quand elle est utilisée en combinaison avec les fluoroquinolones, doxycycline et lincomicyne contre les souches de d'*E. coli* multirésistantes, productrices de β-lactamases à spectre élargi (BLSE).

Enfin **El Atki *et al*., (2019),** dans leur étude réalisée sur des bactéries multirésistantes (A. *baumannii et E.coli* (BLSE)) et trois souches SARM, isolées de différents patients, ils affirment que trois HEs de plantes endémiques du Nordafricain (*Pituranthos chloranthus, Teucruim ramosissimum* et *Pistacia lentiscus*) montrent des effets synergiques avec certains antibiotiques standards. En effet, la combinaison de chacune de ces HE avec l'ofloxacine ou la novobiocine a démontré une activité synergique contre *E. coli* (BLSE) en réduisant significativement les CMI des antibiotiques, ils ont également rapporté que la combinaison *P. chloranthus*/amoxicilline exerce le même effet sur cette souche en réduisant 4 fois la CMI de l'amoxicilline

A la lumière des résultats obtenus nous pouvons suggérer que la combinaison de l'HE de *Pélargonium graveolens* et la ciprofloxacine pour traiter les infections des voies urinaires, ce qui peut réduire la dose efficace de la ciprofloxacine et minimiser les effets secondaires de la ciprofloxacine**.**

Conclusion

La résistance aux antibiotiques est un enjeu croissant de santé publique. Les souches classiquement multirésistantes laissent aujourd'hui la place à de nouvelles bactéries multirésistantes (BMR) (entérobactéries sécrétrices de ß-lactamase à spectre élargi [BLSE]) mais également aux plus redoutées bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe), rendant leur traitement plus complexe et constituant un défi majeur pour la médecine.

Face à ce phénomène, mis en péril par l'émergence de germes multi-résistants, la découverte de nouvelles molécules antibactériennes, qui pourraient constituer une alternative à l'usage des antibiotiques conventionnels devenus inefficaces, est devenue une nécessité absolue.

Dans le présent travail, quatre souches d'entérobactéries uropathogènes isolées de prélèvement urinaire et trois souches d'origine alimentaire toutes multirésistantes aux antibiotiques et productrices de BLSE sont testées pour leur sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* mais aussi vis-à-vis de la ciprofloxacine.
Les résultats obtenus nous ont permis de constater que ces souches sont sensibles à l'HE de *Pélargonium graveolens.* Les valeurs absolues des diamètres des zones d'inhibition montrent de larges écarts allant de 10.00 ± 0.00 mm à 34.00 ± 0.74 mm pour l'HE et des diamètres qui fluctuent entre 10.00 ± 0.05 et 32.00 mm ± 0.42 mm contre la ciprofloxacine.

En ce qui concerne la détermination de la CMI par la méthode de micro dilution en milieu liquide, toutes les souches testées sont inhibées avec des concentrations variant de 25 à 0.781 µL/mL. On enregistre une meilleure activité sur *Klebsiella pneumoniae* ssp *pneumonia* (S25) avec une CMI variant de 0.781 µL/mL. Les concentrations minimales bactéricides de l'huile sont importantes et fluctuent entre 1.562 et 25 µl/ml pour la majorité des souches testées. L'activité de l'huile essentielle est de type bactéricide sur 9 de 11 souches testées et est bactériostatique vis-à-vis *Klebsiella pneumoniae* ssp *pneumonia* (S25) et *Raoultella terrigena* (S170).

Un effet synergique notoire de l'HE de *Pélargonium graveolens* avec la ciprofloxacine a été constaté et avec la méthode de diffusion en puits et confirmé avec la méthode d'indice des concentrations inhibitrices fractionnaires.

Ces résultats ouvre une multitude de perspectives d'utilisation pour lutter contre l'émergence et la diffusion des bactéries multirésistantes aux antibiotiques et cela passe par ;

- L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* pour mieux comprendre leur mode d'action.
- Analyse d'éventuelles synergies de l'HE avec d'autres molécules bioactives d'origine naturelle et/ou chimique.
- Réalisation de tests toxicologiques complets afin de préciser le domaine d'application et les concentrations adéquates.
- Une étude de conception d'une formule médicamenteuse qui combine entre les antibiotiques et les huiles essentielle présentant des effets synergiques en association.
- Réaliser une étude sur un modèle alimentaire

Liste de Références

Liste de références :

• A

- A.C. Le géranium rosat dans l'Afrique du Nord. Rev. Bot. App. Agr. Col. 1927 ; 68 : 273 275.
- A.M. Džamić, M.D. Soković, M.S. Ristić, S.M. Grujić, K.S. Mileski, P.D. Marin. Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of Pelargonium graveolens essential oil. J. App. Pharm. Sci. 2014; 4: 01-05.
- Abbott, S. L. (2007). Klebsiella, Enterobacter, Citobacter, Serratia, Plesiomonas, and other Enterobacteriaceae. In P R. Murray, E.J. Baron, J.H.Jorgensen, M.L.Landry& M.A.Pfaller (Eds.), Manual of clinical Microbiology (9th ed., pp.698-711).Washington, USA : ASM Press.
- activities of menthaspicata essential oil. Phytothérapie, 19(5-6), 397-403.
- AFSSA : Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2006). Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. 232p.
- Agribusiness in Sustainable Natural African Plant Products (ASNAPP). Rose scented Pelargonium. www.asnpp.org. (Site consulté le 21 juin 2011).
- Appel TM, Quijano-martínez N, La caden E, Mojica MF, Villegas MG. (2021). Microbiological and clinical aspects of Raoultella spp. Frontiers in public health. 1125
- Asian Pac J Trop Biomed 2016; 6(1): 32–37, DOI :
- Atailia, I. (2016). Sensibilité bactérienne aux extraits bio-actifs de Pelargonium graveolens (Géranium rosat). Thèse de de Doctorat. Université de Badji Mokhtar – ANNABA- 222p.
- Avril JL, Dabernat H, Denis F, Monteil H. (1992). Bactériologie clinique. 2ème édition. Ellipses, Paris. 511 p
- Avril JL, Dabernat H, Denis F, Monteil H. (2000). Bactériologie clinique. 3ème édition. Ellipses, Paris. 602 p.

• B

- B.M. Botha, C. M. Mc Crindle. An appropriate method for extracting the insect repellent citronellol from an indigenous plant (Pelargonium graveolens L'Hér.) for potential use by resource-limited animal owners. J. S. Afr. vet. Assoc. 2000; 71: 103-105.

- Barchan, A., Bakkali, M., · Arakrak, A.,· Laglaoui, A. (2015). Effet antibactérien et anti-biofilm de trois espèces de Mentha : Mentha spicata, Mentha pulegium et Mentha piperita. Phytothérapie. 3 : 01-11. DOI 10.1007/s10298-015-0970-y.
- Base de données MEDLINE, 2015.
- Bathily MD. (2002). Sensibilité aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif isolées d'infections urinaires de 1999 à 2001. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université de Bamako, Mali. 88p.
- BATTRAUD PAUL.(2017).La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité ! [doctorat dissertation] Université de Lille, France pp. 31-34.
- Belbel Z. (2014). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de Klebsiella pneumoniae isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba.
- Ben bekkou L., Nouri, M., Terras, T. (2022). Activité des huiles essentielles seules
- Ben Hsouna, N. Hamdi. Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils and organic extracts from Pelargonium graveolens growing in Tunisia. Lipids Health Dis. 2012; 11:167.
- Benabdallah-khoudja A, Hamlaoui Y. Étude phénotypique de quelques souches d'Escherichia coli productrices des carbapénémases. Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine, 2016, 41p.
- Benthabet, J. (2021). Profil épidémiologique des entérobactéries productrices de β-lactamases à spectre élargi à l'hôpital Ibn Tofail [Doctoral dissertation, Université Kadi Ayadh Maroc].
- Berche P, Gaillard JL, Simonet M. (1988). Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1ère édition. Médecine-sciences Flammarion. 660 p.
- Billerbeck VG. (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. Phytothérapie. 5 (5): 249-253.
- BLAIR, J. M., WEBBER, M. A., BAYLAY, A. J., OGBOLU, D. O., & PIDDOCK, L. J. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nature reviews microbiology, 13(1), 42-51.
- Bonnet R. (2006). □-lactamines et entérobactéries. Chapitre 15. Livre antibiogramme. Paris. ESKA : 2éme édition .143 p.

- Bouharb H., El Badaou K., Zair T. et al. (2014). Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre Pseudomons aeruginosa. Journal of Applied Bioscience, (78), 6685-6693.
- Boukhatem M.N, Saidi F, Hamaidi M.S, Hakim Y et Mekarnia M (2011). Culture et exploitation industrielle du géranium rosat (*Pelargonium graveolens*) en Algérie : état des
  lieux et perspectives, *Phytothérapie* 9(5), 304–305.
- Boukhatem Mohamed Nadjib,FERHAT Amine et KAMELI Abdelkarim(2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huilles essentielles :Revue de littérature. Revus Agrobiologia :1653-1659.
- Bousseboua H. 2005. Éléments de microbiologie : Programme de graduation : biologie, médecine, pharmacie, chirurgie dentaire, sciences vétérinaires, sciences alimentaires, agronomie. 2éme édition. Edition Campus-Club. 304 p.
- Bouyahya. A, Y. Bakri, A. Et-Touys A. Talbaoui, A. Khouchlaa, S. Charfi, J. Abrini, N. Dakka, 2017, Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries, DOI : DOI 10.1007/s10298-017-1118-z
- Brahmi M., Adli D.E., Boufadi M.Y. (2021). Antimicrobial and antiochratoxic
- Brahmi, S. (2022). Épidémiologie de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées du service de chirurgie urologique au CHU d'Annaba [Doctoral dissertation,Université de Badj-Mokhtar]
- Bretmaier P.D.E.,(2006). Terpenes :Flavors,Fragrances, Pharmaca ,Pheromones. Tec &Doc, Lavoisier. Weinheim,Germany.
- Brumeton J., (1993) Pharmacolognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec et doc,lavoisier, paris : 915.
- Bush, K., Jacoby, G. A., & Medeiros, A. A. (1995). A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 39(6), 1211–1233

• C

- Carl S. La Résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. Le parrainage des antimicrobiennes. Le parrainage des antimicrobiens. 2009, vol. 42, p.6-2.
- Carvalho M, Albano H and Teixeira P (2018). In vitro antimicrobialactivities of various

essential oilsagainstpathogenic and spoilagemicroorganisms, *Journal of Food Quality and*
Hazards Control, 5(2), 41-48.

- Chebaibi A., Marouf Z., Rhazi-Filali, F. et al. (2016). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. Phytothérapie, 14(6), 355-362.
- Chiris. Les essences de Géranium. Les Parfums de France 1925 : 272-280.
- Chraibi M, Fikri-Benbrahim K, Edryouch A, Fadil M, Farah A (2019). Caractérisation chimique et activités antibactériennes des huiles essentielles de *Pelargonium graveolens* et *Myrtus communis* et leur effet antibactérien synergique, *Phytothérapie*, Vol.7.
- Couic-Marinier F, Lobstein A. (2013). Les huiles essentielles gagnent du terrain a l'officine. Actualités pharmaceutiques. 52 (525), 18-21.
- Croteau R., Kutchan T.M. et Lewis N.G.(2000).Natural Products (Secondary Metabolites). Biochemistry and Molecular Biology of Plants., 24: 1250-1319.

• D

- Davin-regli A, Pagès JM. (2015). Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. Frontiers in microbiology.6 : 392.
- Debabza, M. (2015). Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux antibiotiques : étude bactériologique et moléculaire (Thèse de doctorat). Université de Badj-Mokhtar.
- Demarne. Histoire de la culture botanique et systématique du géranium. In : Le géranium rosat à la Réunion. APR, CIRAD, Chambre d'agriculture de la Réunion, CAHEB, Réunion-SPV, SAFER-Réunion. Ed. Saint-Denis : CAH. 1992 : 23-25.
- Dembelle M. Fréquence d'isolement des souches d'Escherichia coli au laboratoire de l'HGT. Thèse de doctorat en pharmacie. Bamako: Faculté de Médecine de Pharmacie et d'OdontoStomatologie, 2006,75 p.
- Denis F. et Ploy MC. (2007). Bactériologie médicale : techniques usuelles. Elsevier Masson. 316-318.
- Didier R. (1998). Dictionnaire de maladies infectieuses diagnostic-épidémiologie répartitiongéographique-taxonomie-symptomatologie. Editions scientifiques et médicales, Elsevier Masson, Paris. 1162.

• E

- Elyemni, M., Ouadrhiri, F. E., Lahkimi, A., Elkamli, T., Bouia, A., & Eloutassi, N. (2022). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Wild and Cultivated Rosmarinus officinalis from Two Moroccan Localities. Journal of Ecological Engineering, 23(3), 214–222. https://doi.org/10.12911/22998993/145458
- Er-Rouissi, A. Kribii, A. Kribii, A. Habsaoui, K. Ounine. Etudes de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits du Géranium rosat du Gharb. Recueil des résumes; 3ème Journées jeunes chercheurs « Innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué ». Rabat, Maroc. 2014: 40.

• F

- F.S. Sharopov, H. Zhang, W.N. Setzer. Composition of geranium (Pelargonium graveolens) essential oil from Tajikistan. Am. J. Essent. Oils Nat. Prod. 2014; 2: 13-16.
- Fauchère JL. (1997). Bactériofiches. Techniques en Bactériologie Clinique. Edition Ellipses. 174 p.
- Freney J, R. F., Hansen W, and Bollet TC. (2000). Précis de bactériologie clinique.

• G

- G.L. Mandell, J.E. Bennett, R. Dolin. Mandell. Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Ed.6: Elservier, Churchill Livingstone, Philadelphia, USA. 2005.
- Gautier V. (2007). Caractérisation et expression des gènes codant pour les β-lactamases chromosomiques au sein des entérobactéries de l'environnement. Ecole pratique des hautes études Sciences de la Vie et de la Terre. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes.
- Gram negatives pathogènes.mémoire de Master en Microbiologie appliquée. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Faculté Sciences biologiques et agronomiques. 109p.
- Grimont F, Grimont P. A.D. Enterobacter In: Bergy's Manual of Systematic Bacteriology. 2 eme edition, 2002, p. 661-671.
- Guinoiseau E. (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat. Universite de Corse pasquale Paoli. Faculté des sciences et techniques. 143 p.

• H

- Haddouchi, A. Benmansour. Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. Les technologies de laboratoire 2008 ; 8: 23-27.
- Halawani E. (2009). Antibacterial Activity of Thymoquinone and Thymohydroquinone of Nigella sativa L. and Their Interaction with Some Antibiotics. Advan. Biol. Res. 3 (5-6), 148-152.
- Hamdani, I. (2022). Evaluation du pouvoir antioxydant de Pelargonium graveolens. Mémoire de master. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers. Université de Tlemcen. 120p.
- Hansen DS, Aucken H M, Abiola T, Abiola T, Podschun R. (2004). Rocommended test panel for differentiation of klebsiella species on the basis of a trilateral interlaboratory evaluation of 18 biochimical tests. Journal of Clinical Microbiology. 42 (8): 3665-3669.
- http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.09.024.
- https://doi.org/10.3390/antibiotics11070855.

• I

- INOUYES . ABE S. ;RZPO T.(2003). Comparative study of antimicrobial and cytotoxic effects of selected essential oils by gaseous and solution contacts .Int J of Aromatherapy. 13,33-41.
- International Standard ISO 4731. Oil of geranium (Pelargonium X ssp.) 2nd Ed. 2006.

• J

- J.B.H. Lejeune. Le Géranium Rosat au Congo belge. Rev. Bot. App. Agr. Col. 1936 ; 180 : 627-652.
- J.L.A. Moroh. Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de Morinda morindoides. Thèse de Doctorat. Université de Bretagne occidentale – Brest, France 2013 : 30-31.
- J.W. Anderson. Geranium dermatitis. Arch. Dermatol. Syph. 1923; 7: 510-511.
- Jean F, François R, Roland L, Philippe R. Bactériologie clinique.3éme édition. ESKA / Lacassagne, 2018,1744 p.
- Joly B, Reynaud A. Entérobactéries: systématique et méthode de diagnostic. Tec & Doc Lavoisier, 2002, 392p

- Joly B. et Reynaud A. (2007). Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Edition Techniques et Documentation, Paris.182 p.

• K

- K. Ghedira, P. Goetz. Géranium rosat: Pelargonium graveolens L'Hér. Phytothérapie 2015 ; 13 : 197-201.
- Kaloustian ,Jacques ;Hadji-Minglou,Francis.(2012).(La connaissance des huiles essentielles :qualitologie et aromathérapie)Springer ,France ,11-16 ;26 .
- Kerchouche, R & Zerrouki H (2020). Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de géranium rosat (*Pelargonium graveolens*) cultivé en Algérie. Mémoire de Master en Biotechnologie Microbienne. Université M'hamed Bougara de Boumerdes. Faculté Des Sciences. 116p.
- Khaddar, M.F (2018). Alternatives à l'antibiothèrapie par les huiles essentielles et synerigie d'action. Thèse de doctorat. Faculté de pharmacie de Marseille. France. 107p.

• L

- L. Peyron. Histoire du « Géranium rosat pour parfumerie » dans le pays de Grasse. Association historique du pays de Grasse. France. 2013.
- Laouar S et Sifer H. (2013). Etude de l'activité antibactérienne de quelques huiles essentielles et l'effet de leurs associations avec les antibiotiques. Mémoire d'Ingénieur d'Etat En Génie Biologique. Université Abderrahmane MIRA Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
- Lavigne J-P, Sotto A, Merle C. Résistance enzymatique d'Escherichia coli aux □-lactamines et prévalence en clinique. Pathologie Biologie. 2002, vol.50, n°6, p. 388-393.
- Le Minor L and Véron M. (1989). Bactériologie médicale.2eme édition, Flammarion Médecine-Science Paris 2 : 428-432.
- Lehner A, Roger S, Fanning S, Iversen C. Enterobacter In: Molecular detection of human bacterial pathogens.1er edition, 2011, p. 853-863.
- LOZNIEWSKI A., RABAUD C. (Juillet 2010). Nancy. résistance bactérienne aux antibiotiques. Infections associées aux soins. CCLIN Sud-Est.1 :1-4.

- Lozniewski, C. Rabaud. Résistance bactérienne aux antibiotiques. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Infections associées aux soins. CCLIN Sud-Est ; Nancy, France. 2010.

• M

- M. Boukhris, C. Ben Ahmed, I. Mezghani, M. Bouaziz, M. Boukhris, S. Sayadi. Biological and anatomical characteristics of the rose-scented geranium (Pelargonium graveolens, l'Hér.) grown in the south of Tunisia. Pak. J. Bot. 2013; 45: 1945-1954.
- M. Lis-Balchin. Geranium and Pelargonium. The genera Geranium and Pelargonium. Ed. Taylor & Francis; South Bank University, London, UK. 2002; 49-51.
- M.N. Boukhatem, F. Saidi, M.S. Hamaidi, Y. Hakim, M. Mekarnia. Culture et exploitation industrielle du géranium rosat (Pelargonium graveolens) en Algérie: état des lieux et perspectives. Phytothérapie 2011 ; 5 : 304-309.
- M.T. Lis-Balchin. Handbook of herbs and spices. Vol. 2, Ed. K.V. Pete; South Bank University, Royaume-Uni. 2004.
- Maillard .Aude, Aromathérapie, [En ligne]. Traitement antibiotique naturel puissant avec les huiles essentielles, Consulté : Juin 2022 Disponible sur : https://www.aude-maillard.fr/antibiotique-bacteries-huile-essentielle-microbiote
- Marc V, Anne-Lise BG, Hervé B, Robin D, André P. (1999). Microbiologie et pathologie infectieuse. 2ème édition américaine de Boeck université. 973 p.
- Mohd S (2022). Synergistic Role of Plant Extracts and Essential Oils against
- Moro Buronzo. Grand guide des huiles essentielles. Ed. Hachette pratique. 2008 : 191.
- Mouas, Y., Benrebiha, F. Z., & Chaouia, C. (2017). Évaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin Rosmarinus officinalis l. Revue agrobiologia, 7(1), 363-370.
- Moussaoui, F and Alaoui, T. (2016). Evaluation of antibacterial activity and
- Multidrug Resistance and Gram-Negative Bacterial Strains Producing Extended Spectrum béta-Lactamases, Antibiotics 2022, 11, 855. DOI:
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2016). Medical Microbiology. 8th edition. Philadelphia : Elsevier Saunders.
- Muylaerta A, Mainil J. Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». 2012, vol. 156, p.109- 123.

• N

- NCCLS (2002) Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals, Approved Standard. 2nd Edition, NCCLS Document M31-A2 22(6), Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.

• O

- Omar, S., Hassane, S., Ghanmi, M., Satrani, B., Farah, A., Mansouri, N., Chaouch, A. (2012). Activité antifongique contre la pourriture du bois de l'huile essentielle de Pelargonium x asperum Erthrt. Ex Willd des îles Comores. Bull. Soc. R. Sci. Liège 81: 36–49

• P

- Paterson DL, Bonomo RA. (2005). Extended-spectrum beta lactamases: A clinical update. Clin MicrobiolRev; 18:657-86.
- Paulsen. Immediate skin and mucosal symptoms from plants and vegetables in gardeners and greenhouses workers. Contact Dermatis 1998; 39: 166- 170.
- Philippon A, et Arlet G. (2006). β-lactamases de bacilles à Gram négative : le mouvement perpétuel. Ann Biol Clin. 64 (1) : 37-51.
- Pibiri M.C. (2005). Assainissement microbiologique de l'aire et des systèmes de
- Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. LWT-Food Science and Technology, 36(7) : 679-684 https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4.

• R

- R. Lavergne. Les plantes médicinales réunionnaise d'aujourd'hui. Ed. Orphie. 2004.
- R.E. Gosselin, H.C. Hodge, R.P. Smith, M.N. Gleason. Clinical toxicology of commercial products. Ed. 4: Williams and Wilkins, Baltimore. 1976: 168.
- R.S. Verma, R.K. Verma, A.K. Yadav, Amit Chauhan. Changes in the essential oil composition of rose-scented geranium (Pelargonium graveolens L'Hérit. ex Ait.) due to date of transplanting under hill conditions of Uttarakhand. Indian J. Nat. Prod. Resour. 2010; 1: 367-370.
- Recluz. Distillation du géranium à Lyon en 1819. Pharm. Journal London 1852 ; 11 :325.
- Ruppé E. Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. Antibiotiques.2010, vol.12, p. 3-16

• S

- S. Carle. La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Le parrainage des antimicrobiens : vision 2010. Pharmactuel 2009 ; 42 (Suppl. 2) : 6-21.
- Schicklberger M, Shapiro N, Loqué D, Woyke T, Chakraborty R. (2015). Draft genome sequence of Raoultella terrigena R1Gly, a Diazotrophic Endophyte. Genome Announcements. 3 (3).
- Sekhsokh Y, Arsalane L, El Ouenass M. Bactériémie à Serratia rubidaea. Médecine et maladies infectieuses. 2007, vol.37, p. 287-289.
- Singleton P. (2008). Bactériologie pour la médcine, la biologie et les biotechnologies. 6ème. Édition. Science Sup. 542p.
- synergistic effect between antibiotic and the essential oils of some medicinal plants,

• T

- Tabanca, N., Nalbantsoy, A., Kendra, P. E., Demirci, F., & Demirci, B. (2020). Chemical Characterization and Biological Activity of the Mastic Gum Essential Oils of Pistacia lentiscus var. chia from Turkey. Molecules, 25(9), 2136. https://doi.org/10.3390/molecules25092136.
- Théophane et l'équipe de la compagnie des Sens. « HISTOIRE DES HUILES ESSENTIELLES » ,[EN LIGNE] ,2019.[https://www.compagnie-des-sens.fr/histoire des-huiles-essentielles/]. (MAI 2022).
- Turgis, M., Vu, K. D., Dupont, C., & Lacroix, M. (2012). Combined antimicrobial effect of essential oils and bacteriocins against foodborne pathogens and food spoilage bacteria. Food Research International, 48(2), 696–702. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.016.

• U

- U.A. Dasuki. Pelargonium Rosat Group. Plant Resources of Tropical Africa. Ed. Prota, Wageningen, Pays Bas. 2002.
- Union des Comores, Unité-Solidarité-Développement. Colloque international sur le Karthala. Moroni, Palais du Peuple, Comores. 2008 : 42-43.

• V

- Vedel G. (1998). Lecture interprétative de l'antibiogramme (interprétation phénotypique). In outil d'investigation microbiologique en réanimation. Edition Arnette. 183-188 p.

- ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse doctorat : Université Lausan Suisse. 240p.

• Y

- Yu X, Zheng B, Zhang J, Xu H, Xiao T, Zhou Y, et al. (2019). Comprehensive genome analysis of carbapenem-resistant strains of Raoultella species, an emerging multidrug-resistant bacterium in Hospitals. Antimicrobial agents and chemotherapy. 63 (12).

• Z

- Zemouli F., Soualmia A. (2023). Effets de synergie des bactériocines issues des bactéries lactiques et de l'huile essentielle de (Rosmarinus officinalis, Origanum compactum et Myrtus communis) contre les germes pathogènes. Mémoire de master. Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie. 110p.
- Zhong Yao, W. Sun, Z. Xu, C. Wang, W. Qu, C. Lin. Study on antioxidant activity of essential oils and its monomer from Pelargonium graveolens. Shangai Institute of Technology. 2005.
- Zomahoun C. I. N. P. (2004). Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des infections urinaires au laboratoire de bactériologie du centre national hospitalier universitaire – HUBERT KOUTOUKOU MAGA (C.N.H.U.-H.K.M.) DE COTONOU. Faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie.