

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université de Ghardaia**



**Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et Sciences de la Terre**

**Département de Biologie**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**Filière** : Sciences biologiques

**Spécialité** : Microbiologie appliquée

**Par** : Melle. BEDJADJ Hamida

Mme. BAHOURA Faiza

**Thème**

**Évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles  
essentielles des plantes utilisées en médecine  
traditionnelle**

Soutenu publiquement le : 15/06/2025, devant le jury composé de :

M <sup>lle</sup> . DJEMOUAI N.	Maitre de conférences A	Univ. Ghardaia	Présidente
M <sup>me</sup> . MEZERAI R.	Maitre de conférences B	Univ. Ghardaia	Directrice de mémoire
M <sup>lle</sup> . BAALI F.	Maitre de conférences A	Univ. Ghardaia	Examinatrice

**Année universitaire : 2024/2025**

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail*

*À mes parents bien-aimés, qui m'ont transmis l'amour  
du savoir et de l'apprentissage, et qui m'ont soutenu à  
chaque étape de ma vie.*

*À ma chère famille et à mes frères, qui ont toujours  
été à mes côtés, m'apportant soutien et  
encouragement. Merci pour votre patience, votre  
compréhension et vos prières, qui ont illuminé mon  
chemin.*

*À tous ceux qui ont contribué à mon succès et m'ont  
guidé, je suis profondément reconnaissant.*

*Hamida*

*Je dédie ce travail*

*À moi-même, qui a été patiente et n'a pas abandonné malgré les jours difficiles que nous avons vécus, et qui m'a fait confiance jusqu'à ce que j'achève ce travail,*

*À mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,*

*À mon cher époux CHENINI Abdarrahim, grâce à ton aide et à ta patience avec moi, que ce travail a pu voir le jour. Je souhaite que Allah me le garde et que vie nous donne temps pour le remercier,*

*À l'amour de ma vie, le bonheur de mon existence, ma petites anges baha Eddine et Mohammed Raide que j'aime plus fort que tout, plus que ma propre vie,*

*À mes très chers frères, pour l'amour, l'attention et l'aide qu'ils m'ont apporté.*

*Faiza*

## **Remerciements**

*Nous tenons à remercier en premier lieu Allah pour tout puissant de nous avoir donné le courage, la santé et la patience pour achever ce travail.*

*Nous tenons à remercier notre famille mais surtout, nos parents pour leur soutien et pour leur encouragement qui ont été indispensables pour mener à bien ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos profonde gratitude envers : Mme. MEZERAI Rabiha maître de conférences B à l'université de Ghardaïa, notre encadreur, pour le temps et l'attention qu'elle a bien voulu consacrer à la réalisation efficace de ce travail.*

*Nous tenons également à remercier chaleureusement les membres du jury : Mme. DJEMOUAI Nadjette, Maître de conférences A à l'univ. Ghardaïa Présidente, Mme. BAALI Faiza, Maître de conférences B à l'univ. Ghardaïa Examinatrice.*

*Permettez-nous d'exprimer mes sincères remerciements à toute l'équipe du service de chirurgie homme, service d'urgence et l'équipe de laboratoire centrale de l'hôpital Dr. TIRISHINE Ibrahime : Dr. BOUDIA Noura et Mme. BOUGUERRARA Farha, Mme. BELAOUR Farida et M. BEN ALI Abdelkrim et*

*M. CHERRAE Belkacem et merci affinement à toute l'équipe du service d'urgence de la polyclinique de Thniat El Makhzen.*

*Le vif remerciement s'adresse et le grand respect à : M. BOURAS Noureddine professeur à l'univ. Ghardaïa, M. MAHAMDI AllaEddine MCB à l'univ. Ghardaïa, Mme. BAALI Faiza MCB à l'univ. Ghardaïa, Mme. DJEMOUAI Najat MCA à l'univ. Ghardaïa, Mme. BAIADÉ Radia MCB à l'univ. Ghardaïa et Mme. AOULAD ALI Zineb professeure à l'univ. Ghardaïa, Mme. HADDAD Sara doctorante à l'université de Ghardaïa pour leur disponibilité, leur aide précieuse et leurs réponses à toutes nos interrogations.*

*Nous tenons également à remercier tout le personnel de laboratoire de l'université de Ghardaïa en particulier Mme GHEZAIL Suhaila l'ingénieure de laboratoire Microbiologie et M. BEN SALIH Bashir l'ingénieur de laboratoire Biochimie, pour leurs recommandations et leurs assistances.*

*Finalement, nous tenons à exprimer ma gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.*

# Table de matière

## liste des abréviations

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des Figure

Liste des Tableau

Introduction.....	1
Synthèse bibliographique .....	2
1 Plantes médicinales et leurs propriétés.....	2
1.1 Plantes médicinales.....	2
1.2 Historique.....	2
1.3 Huiles essentielles.....	2
1.4 Propriétés biologiques des huiles essentielles.....	3
2 Plantes médicinales étudiées.....	3
2.1 Menthe ( <i>Mentha spicata</i> ).....	3
2.1.1 Classification botanique.....	4
2.1.2 Composition chimique .....	4
2.1.3 Utilisation Traditionnelle .....	4
2.2 Romarin ( <i>Rosmarinus officinalis</i> L.).....	5
2.2.1 Classification botanique.....	5
2.2.2 Composition chimique .....	6
2.2.3 Utilisation Traditionnelle .....	6
2.3 Armoise blanche ( <i>Artemisia herba-alba</i> Asso).....	6
2.3.1 Classification botanique.....	7
2.3.2 Composition chimique .....	7
2.3.3 Utilisation Traditionnelle .....	8

<b>3</b>	<b>Pied diabétique</b> .....	<b>8</b>
<b>3.1</b>	<b>Définition</b> .....	<b>8</b>
<b>3.2</b>	<b>Classification</b> .....	<b>9</b>
<b>3.3</b>	<b>Complications infectieuses liées au pied diabétique</b> .....	<b>10</b>
<b>3.4</b>	<b>Pathogènes impliqués (bactéries et champignons)</b> .....	<b>10</b>
<b>3.5</b>	<b>Traitement pharmacologique de diabète</b> .....	<b>12</b>
	<b>Matériel et méthode</b> .....	<b>15</b>
<b>1</b>	<b>Protocole expérimentale suivis dans l'étude</b> .....	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>Matériel</b> .....	<b>17</b>
<b>2.1</b>	<b>Matériel biologique</b> .....	<b>17</b>
<b>2.1.1</b>	<b>Matériel végétal</b> .....	<b>17</b>
<b>2.1.2</b>	<b>Les souches utilisées et les milieux</b> .....	<b>17</b>
<b>2.2</b>	<b>Matériel non biologique</b> .....	<b>17</b>
<b>3</b>	<b>Méthodes</b> .....	<b>17</b>
<b>3.1</b>	<b>Extraction des huiles essentielles</b> .....	<b>17</b>
<b>3.2</b>	<b>Sélection des patients et collecte des échantillons</b> .....	<b>19</b>
<b>3.2.1</b>	<b>Localisation et durée du stage</b> .....	<b>19</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Protocole d'identification des souches sauvages</b> .....	<b>19</b>
<b>3.3</b>	<b>Prélèvement des échantillons (collecte des échantillons)</b> .....	<b>20</b>
<b>3.3.1</b>	<b>Méthodes de prélèvement</b> .....	<b>21</b>
<b>3.4</b>	<b>Identification</b> .....	<b>22</b>
<b>3.5</b>	<b>Évaluation de l'activité antibactérienne</b> .....	<b>26</b>
<b>3.5.1</b>	<b>Antibiogramme</b> .....	<b>26</b>
<b>3.5.2</b>	<b>Aromatogramme</b> .....	<b>26</b>
<b>3.5.3</b>	<b>Évaluation de l'activité synergique des huiles essentielles</b> .....	<b>27</b>
<b>3.5.4</b>	<b>Détermination CMI ou CMB</b> .....	<b>27</b>
	<b>Résultats et Discussion</b> .....	<b>28</b>

<b>1</b>	Rendement en huile essentielle des trois plantes.....	29
<b>2</b>	Résultats des analyses.....	29
<b>3</b>	Répartition des souches bactériennes identifiées dans le cas du pied diabétique.....	34
<b>4</b>	Antibiogramme.....	35
<b>5</b>	Aromatogramme.....	37
<b>6</b>	Activité synergique des huiles essentielles.....	40
<b>7</b>	Détermination de la CMI et de la CMB .....	42
	Conclusion.....	46
	Références.....	47
	Annexes	

## Liste des abréviations

**API 20E** : Appareillage et Procédés d'Identification 20 E (E=Entérobactéries).

**BN** : Bouillon Nutritif.

**C** : Gentamicine.

**CIP**: Ciprofloxacine.

**CLSI**: Clinical and Laboratory Standards Institute.

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide.

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice.

**CN** : Chloramphénicol.

**GN** : Gélose Nutritive.

**GSF** : Gélose au Sang Frais.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène.

**HE** : Huile Essentielle.

**MHB** : Bouillon Mueller-Hinton.

**NIN** : Nitrite.

**NIT** : Nitrate.

**SCN** : Staphylocoques à Coagulase Négative.

**TDA** : Tryptophane Désaminase.

**VP** : Vosges-Proskauer.

**ZYM**: Enzyme Substrate Test.

**DID**: Diabètes type I

## ملخص

يهدف هذا العمل إلى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا والتأثير التآزري للزيوت العطرية المستخلصة من نبات الشيح الأبيض (*Artemisia herba-alba* Asso)، والنعناع الفلفلي (*L. Mentha spicata*)، وإكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis* L) المستخدمة في الطب التقليدي. تم استخراج الزيوت بواسطة التقطير البخار. تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا على سلالات برية معزولة من أقدام مرضى السكري التسعة. البكتيريا المعزولة تشمل: المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*)، المكورات العنقودية الجلدية (*Staphylococcus epidermidis*) ، كليبسيلا الرئوية (*Klebsiella pneumoniae*)، الزائفة الزنجارية (*Pseudomonas aeruginosa*)، والمكورات العقدية الفيحية (*Streptococcus pyogenes*). تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت العطرية ضد هذه السلالات البرية من خلال التقييم النوعي (انتشار الأقراص على وسط هلامي)، اختبار الحساسية، وتحديد الحد الأدنى لتركيز التثبيط (CMI) والحد الأدنى لتركيز القتل (CMB). أظهرت النتائج قيماً مهمة، حيث كانت مناطق التثبيط للمكورات العنقودية الذهبية 18 مم، 15 مم، و 21 مم مع زيت الشيح الأبيض، والنعناع الفلفلي، وإكليل الجبل على التوالي. أما بالنسبة للتأثيرات التآزرية لهذه الزيوت، فقد أظهر الخليط (S05: 2) حجم من زيت إكليل الجبل و 1 حجم من زيت الشيح الأبيض (تثبيطاً قوياً ضد المكورات العنقودية الذهبية (من 25 إلى 40 مم)، المكورات العنقودية الجلدية (33 مم)، وكليبسيلا الرئوية (20 مم). بناءً على النتائج المتعلقة بالحد الأدنى لتركيز التثبيط والقتل ، يمكن اقتراح استخدام هذه المواد الطبيعية كعوامل مضادة للبكتيريا في الصناعات الدوائية كبديل علاجي.

**الكلمات المفتاحية:** الشيح الأبيض، النعناع الفلفلي، إكليل الجبل، الحد الأدنى لتركيز التثبيط (CMI)، الحد الأدنى لتركيز القتل (CMB)، الزيوت العطرية، القدم السكري، النشاط المضاد للبكتيريا، التأثير التآزري.

## Résumé

Ce travail a pour but d'évaluer l'activité antibactérienne et l'effet synergique des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* Asso, *Mentha spicata* L. et *Rosmarinus officinalis* L. utilisées en médecine traditionnelle. L'extraction des huiles a été réalisée par l'hydrodistillation. L'activité antibactérienne est testée sur des souches sauvages obtenues à partir des pieds diabétiques de neuf patients diabétiques. Les souches bactériennes isolées sont: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Streptococcus pyogenes*. L'activité antibactérienne des huiles essentielles contre les souches sauvages a été évaluée par l'évaluation qualitative (définition des disques sur milieu gélosé), antibiogramme et détermination de CMI et CMB. Les résultats ont montré des valeurs significatives, dont les zones d'inhibition pour *Staphylococcus aureus* sont 18 mm, 15mm et 21mm avec l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Asso, de *Mentha spicata* et de *Rosmarinus officinalis* L. respectivement. Concernant les effets synergiques des huiles, le mélange (S05 : 2V de *Rosmarinus officinalis* L et 1V d'*Artemisia herba-alba* Asso) a montré une inhibition importante contre la *Staphylococcus aureus* (de 25 jusqu'à 40 mm), la *Staphylococcus epidermidis* (33mm) et *Klebsiella pneumonia* (20mm). Par conséquent, et sur la base de résultats de CMI et de CMB, on peut proposer l'usage de cette substance naturelle en tant qu'agents antibactériens en industrie pharmaceutiques comme alternatif thérapeutique.

**Mots clés :** *Artemisia herba-alba* Asso, *Mentha spicata* L., *Rosmarinus officinalis* L., CMI, CMB, Huiles essentielles, Pied diabétique, Activité antibactérienne, Effet synergique.

## Abstract

This study aims to evaluate the antibacterial activity and the synergistic effect of essential oils from *Artemisia herba-alba* L, *Mentha spicata*, and *Rosmarinus officinalis* L, which are used in traditional medicine. The oils were extracted by hydrodistillation. The antibacterial activity was tested on wild strains isolated from the diabetic feet of nine diabetic patients. The isolated bacterial strains are *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Streptococcus pyogenes*. The antibacterial activity of the essential oils against the wild strains was evaluated through qualitative assessment (disk diffusion on agar medium), antibiogram, and determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). The results showed significant values, with inhibition zones for *Staphylococcus aureus* measuring 18 mm, 15 mm, and 21 mm with the essential oils of *Artemisia herba-alba* Asso, *Mentha spicata*, and *Rosmarinus officinalis* L., respectively. Regarding the synergistic effects of these oils, the mixture (S05: 2 volumes of *Rosmarinus officinalis* L., and 1 volume of *Artemisia herba-alba* L L) showed significant inhibition against *Staphylococcus aureus* (ranging from 25 to 40 mm), *Staphylococcus epidermidis* (33 mm), and *Klebsiella pneumoniae* (20 mm). Therefore, based on the MIC and MBC results, the use of these natural substances as antibacterial agents in the pharmaceutical industry can be proposed as a therapeutic alternative.

**Keywords:** *Artemisia herba-alba* Asso, *Mentha spicata* L., *Rosmarinus officinalis* L., MIC, MBC, Essential oils, Diabetic foot, Antibacterial activity, Synergistic effect.

## Liste des Figure

<b>Figure 1:</b> <i>Mentha spicata</i> .....	3
<b>Figure 2:</b> Caractéristique marpologique de <i>Romarinus officinalis</i> L.....	5
<b>Figure 3:</b> Caractéristique morphologique de l' <i>Artimisia herba alba</i> L. ....	7
<b>Figure 4:</b> Schéma de protocole expérimental suivis dans l'étude .....	16
<b>Figure 5:</b> Mantage d"hydrodistillation (clevanger) .....	18
<b>Figure 6:</b> Schéma du protocole d'identification des souches sauvages .....	20
<b>Figure 7 :</b> Réactifs de coloration de Gram. ....	23
<b>Figure 8 :</b> Test coagulase.....	24
<b>Figure 9:</b> Observation macroscopique de <i>streptococcus pyogenes</i> sur milieu gélose de sang frais.....	30
<b>Figure 10:</b> Observation macroscopique des colonies sur milieu Héctoén .....	30
<b>Figure 11:</b> Observation macroscopique des souches de <i>staphylococcus epidermidis</i> sur milieu Chapman.....	31
<b>Figure 12:</b> Observation macroscopique des souches de <i>staphylococcus aureus</i> sur milieu Chapman.....	31
<b>Figure 13:</b> Observation macroscopique des souches de <i>pseudomons aeruginosa</i> sur milieu cétrimide.....	31
<b>Figure 14:</b> Observation microscopique après coloration de Gram (Grossissement x100) .....	32
<b>Figure 15:</b> Résultat de test biochimique par API 20E.....	33
<b>Figure 16:</b> Catalase positive : cas de <i>staphylococcus aureus</i> .....	33
<b>Figure 17:</b> Lecture de test de coagulase .....	34
<b>Figure 18:</b> Zone d'inhibition de trois antibiotique (CN, C, CIP) contre <i>staphylococcus aureus</i> de patient 9 et 7 .....	37
<b>Figure 19:</b> Activité antibactérienne des trois huiles essentielles seul (M : <i>Mentha spicata</i> , ..	38
<b>Figure 20:</b> Activité synergique des huiles contre <i>S. aureus</i> et <i>K. pneumoniae</i> (patient 2) .....	41

## Liste des Tableau

<b>Tableau 1:</b> Rendement des huiles essentielles.....	35
<b>Tableau 2:</b> Répartition des souches bactériennes identifiées .....	36
<b>Tableau 3:</b> Activité antibactérienne de trois antibiotique (Chloramphénicol(C), Gentamicine (GN), Ciprofloxacine (CIP)) cote les souches bactériennes .....	36
<b>Tableau 4:</b> Zone d'inhibition (mm) des huiles essentielles testées contre différentes souches bactériennes.....	38
<b>Tableau 5:</b> Zone d'inhibition(mm) observées pour différentes activités synergiques des huiles essentielles contre les souches bactériennes.....	40
<b>Tableau 6:</b> Concentrations minimales inhibitrice et bactéricide de 4 huiles essentielleset de S05.....	43

# *Introduction*

### Introduction

Le pied diabétique est une complication chronique du diabète sucré, caractérisée par l'apparition d'ulcérations, d'infections ou de destructions profondes des tissus du pied, généralement associées à une neuropathie périphérique et/ou à une ischémie due à un artériopathie oblitérant des membres inférieurs. Cette condition augmente significativement le risque d'amputation et de morbidité chez les patients diabétiques (**Armstrong *et al.*, 2017**).

Au cours des dernières décennies, le recours massif aux antibiotiques a permis des avancées significatives dans le traitement des infections. Toutefois, l'apparition rapide de résistances antimicrobiennes, en grande partie due à l'usage abusif et inapproprié de ces médicaments, a considérablement limité leur efficacité. Ce phénomène constitue aujourd'hui une menace mondiale, qualifiée par l'Organisation mondiale de la santé comme l'une des plus grandes urgences sanitaires (**Prestinaci *et al.*, 2015**).

Face à cette situation, la recherche de solutions alternatives ou complémentaires devient de plus en plus urgente. Parmi les options les plus prometteuses figurent les huiles essentielles extraites de plantes médicinales, riches en composés bioactifs tels que les terpènes, les phénols et les aldéhydes. Ces huiles sont reconnues pour leurs propriétés antimicrobiennes, antioxydants et cicatrisantes, ce qui suscite un intérêt scientifique croissant (**Bakkali *et al.*, 2008**).

La médecine traditionnelle a toujours joué un rôle central dans les soins de santé. Avec la reconnaissance accrue des médecines alternatives et complémentaires, l'intérêt pour la validation scientifique des plantes médicinales utilisées de manière ancestrale dans le traitement des pathologies chroniques ne cesse de croître (**OMS, 2013**).

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles, à la fois individuellement et leurs effets synergiques, en comparant leurs efficacités sur des souches bactériennes de référence et sur des souches cliniques isolées à partir d'infections du pied diabétique prélevées de 9 patients.

# *Synthèse bibliographique*

# 1 Plantes médicinales et leurs propriétés

## 1.1 Plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des plantes utilisées pour fabriquer des médicaments parce qu'elles ont la capacité de prévenir ou de traiter des maladies grâce à une gamme d'ingrédients actifs tels que les alcaloïdes, les huiles essentielles, les flavonoïdes et les tanins qui aident les humains à maintenir leur santé. Les plantes médicinales sont un patrimoine important pour l'homme. Elles peuvent être utilisées sous différentes formes : injections, poudres et extraits. C'est la base de la phytothérapie (**Ikram & Radia, 2020**).

## 1.2 Historique

Autrefois, de nombreuses populations ont utilisé des plantes médicinales pour leurs propriétés distinctives sur la santé. Les plantes ont acquis un rôle de premier plan en raison de leurs caractéristiques médicales et sanitaires exceptionnelles, ce qui justifie leur large utilisation dans la médecine traditionnelle. Grâce à leurs propriétés naturelles, ces plantes sont une source essentielle et précieuse de nombreux secrets de santé que nos grands-parents utilisaient pour traiter de nombreuses maladies. Les extraits de plantes, en particulier les huiles essentielles, sont l'un des produits naturels les plus efficaces, grâce à leurs propriétés biologiques incomparables telles que les propriétés antimicrobiennes, antioxydants et inflammatoire (**Guidadou & Kassoussi, 2022**).

Le premier à produire l'huile essentielle aromatique associée à la médecine est le célèbre médecin Ibn Sina (980-1037) qui a inventé la bobine qui permettant un refroidissement rapide des vapeurs aromatiques donnant une nouvelle lumière au traitement des plantes (**Guidadou & Kassoussi, 2022**).

Au XIX<sup>e</sup> siècle, le père de l'aromathérapie française René Maurice Gativosé (1881-1950, a étudié les huiles essentielles et leurs propriétés thérapeutiques. Lorsqu'il s'est brûlé la main lors de l'explosion de son laboratoire en plaçant sa main dans un récipient contenant de l'huile de lavande, ce dernier l'a aidé à guérir sa main très rapidement (**Atmani-Merabet & Belkhiri, 2018**).

## 1.3 Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des extraits de certaines parties des plantes (écorce, fleurs, feuilles...), obtenues par distillation ou extraction mécanique, Elles contiennent des composés

volatils responsables de leurs effets thérapeutiques tels que : les terpènes, les phénols et les esters. Ces composés sont ceux qui leur donneront de nombreuses caractéristiques telles que: désinfectant, anti-inflammatoire (Guidadou & Kassoussi, 2022).

### 1.4 Propriétés biologiques des huiles essentielles

Les huiles aromatiques se distinguent par leurs propriétés biologiques d'une grande importance médicale et physiothérapeutique. Ils ont une capacité exceptionnelle à contrôler les microbes, éliminant les bactéries, les champignons et même certains virus grâce à leurs principes actifs qui entravent la croissance de ces organismes nuisibles.

En outre, les huiles aromatiques montrent des propriétés antioxydantes, neutralisant les radicaux libres qui causent des dommages cellulaires, ce qui contribue à protéger le corps contre le stress oxydatif (Chahbi, 2020).

Certaines huiles, comme l'huile de lavande, sont également connues pour leur capacité à réduire l'inflammation et à apaiser les irritations cutanées. Cela en fait une option naturelle pour les soins de la peau et le traitement des affections inflammatoires (Selka *et al.*, 2022).

## 2 Plantes médicinales étudiées

### 2.1 Menthe (*Mentha spicata*)

La menthe fait partie des Lamiacées, qui est l'une des plantes les plus répandues dans le monde en raison de ses propriétés thérapeutiques distinctives et possédant de nombreuses espèces. Elle se compose de menthe à tiges quadruples et de feuilles opposées qui sont vertes, multibranches (Figure 1). Les petites fleurs, violettes, roses ou blanches, selon le type de menthe, ont une odeur aromatique (Ikram & Radia, 2020; Anbri *et al.*, 2022).



Figure 1: *Mentha spicata* (photo originale, 2025).

### 2.1.1 Classification botanique

**Règne :** *Plante.*

**Embranchement :** *Spermaphytes.*

**Sous embranchement :** *Angiospermes.*

**Division :** *Magnoliophyta.*

**Classe :** *Magnoliopsida.*

**Ordre :** *Lamiales.*

**Familles :** *Lamiaceae.*

**Genres :** *Mentha.*

**Espèce :** *Mentha spicata* L (Benmessaoud & Chabane Chaouch, 2015 ; Mahendran *et al.*, 2021).

### 2.1.2 Composition chimique

La composition chimique de la menthe varie selon l'espèce, et ses feuilles renferment une grande diversité de composés bioactifs qui lui confèrent ses propriétés aromatiques et médicinales. Les huiles essentielles, principales responsables de son odeur caractéristique, contiennent des composés tels que le menthol, la menthone et l'isomenthone, dont les proportions varient selon l'espèce et les conditions de culture. La menthe est également riche en acides phénoliques, notamment l'acide rosmarinique, un puissant antioxydant, ainsi que l'acide caféique, l'acide chlorogénique et l'acide fumarique. Parmi les flavonoïdes présents, on trouve des glycosides de lutuline, l'apigénine et d'autres composés aux propriétés. Les terpènes, dont les monoterpènes et les sesquiterpènes, jouent un rôle important dans le métabolisme et contribuent aux propriétés aromatiques et médicinales de la plante. Enfin, la menthe contient aussi des vitamines, notamment la vitamine C, ainsi que des pigments caroténoïdes qui agissent comme provitamine A et antioxydants (Sanja *et al.*, 2021; Tebbani *et al.*, 2022).

### 2.1.3 Utilisation Traditionnelle

La menthe est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter et soulager les symptômes du côlon (Sabate, 2022), maux d'estomac, la diarrhée et des rhumes et des maladies respiratoires (Ikram & Radia, 2020; Mahendran *et al.*, 2021).

La menthe a une multiplicité d'usages culinaires qui s'utilise dans le vinaigre et les épices pour rehausser la saveur des salades et de légumes et aussi utilisée en confiserie (crème glacée), sauces et pain. Leurs feuilles fraîches sont également utilisées pour aromatiser le thé (González-Minero *et al.*, 2020; Ikram & Radia, 2020).

### 2.2 Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.)

*Rosmarinus officinalis* L est une plante vivace, herbacée et ligneuse, dotée de feuilles aromatiques persistantes, en forme d'aiguille. Ses fleurs peuvent être blanches, roses, violettes ou bleues. Le romarin peut grimper jusqu'à 0,8 m de haut et même atteindre 2 m lorsqu'il est cultivé. Les feuilles, étroites et en forme de lance, sont disposées de manière opposée et sessile. Elles mesurent 4 cm de long sur 5 cm de large et présentent un port rigide, une texture robuste et coriace, ainsi qu'un limbe épais et cassant qui est vert foncé sur la face supérieure (où il est strié) et blanchâtre sur la face inférieure (Benzidane & Ibessaine, 2022).

Les bords sont roulés vers le bas, avec une marge tournante en forme d'aiguilles. Des fleurs bleu clair, remplies de violettes, sont étalées tout au long de l'année en petits grains disposés sur les axes foliaires (Figure 2), elle a d'autres appellations : Azir, Barkella, Haselban (Benzidane & Ibessaine, 2022).



**Figure 2:** Caractéristique morphologique de *Rosmarinus officinalis* L (photo originale, 2025).

#### 2.2.1 Classification botanique

**Règne :** *Plantae*

**Sous Règne :** *Tracheobionta*

**Embranchement :** *Spermatophyta*

**Sous Embranchement :** *Magnoliophyta*

**Classe :** *Magnoliopsida*

**Sous Classe :** *Asteridae*

**Ordre :** *Lamiales*

**Famille :** *Lamiaceae*

**Genre :** *Rosmarinus* L.

**Espèce :** *Rosmarinus officinalis* L. (**Benzidane & Ibessaine, 2022**).

### 2.2.2 Composition chimique

La composition chimique du romarin varie selon les espèces, mais ses principaux composants incluent plusieurs éléments essentiels. Les fleurs de romarin contiennent entre 10 et 25 ml d'huile essentielle par kilogramme de plante, dont des composés majeurs tels que le cinéol, qui possède des propriétés antibactériennes, l'alpha-pinène, reconnu pour ses effets anti-inflammatoires, et le bornéol, qui agit comme désinfectant. Le romarin renferme également des diterpènes phénoliques tricycliques, notamment l'acide carnosolique, l'épirosmanol et le rosmanol, qui sont des produits d'oxydation formés lors de l'extraction. Les tanins présents comprennent des acides phénoliques comme l'acide caféique et l'acide rosmarinique. Par ailleurs, on trouve des flavonates méthylés aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, tels que la genkwanine, la lutéoline, la diosmétine et divers hétérosides. Enfin, le romarin contient aussi des tri-terpènes et des stéroïdes, incluant des dérivés d'acide oléanolique et d'acide ursolique, ainsi que des alpha- et bêta-amyrines (**Boutabia et al., 2016; González-Minero et al., 2020; Nadjmaoui et al., 2021**).

### 2.2.3 Utilisation Traditionnelle

Le romarin est utilisé dans les traitements traditionnels pour traiter l'asthme et l'arthrite. Le romarin est largement utilisé comme assaisonnement pour la dégustation de viande (poulet, veau de canard, mouton) et la dégustation de poisson, soupe et légumes (pommes de terre et aubergine). En outre, il est utilisé pour produire du miel spécifiquement à partir de nectar floral de romarin (**Benzidane & Ibessaine, 2022**).

## 2.3 Armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso)

*Artemisia herba-alba* est une armoise blanche qui pousse dans les zones désertiques. C'est un arbuste nain aromatique médical de 30 à 80 cm de long. Cet arbre a généralement tendance à se développer en petits groupes, et est perturbé par les pédales animales et l'érosion éolienne.

Pousser sur les branches et les feuilles ces dernières sont de petites en taille, chaque feuille contient trois à cinq feuilles, de couleur blanche, mousseuses, courtes et enrobées de duvet (**Guidadou & Kassoussi, 2022; Tebbani et al., 2022**).

Les fleurs sont de couleur jaune et regroupées dans la tête de la fleur. Le fruit contient une graine, tandis que les racines sont particulièrement fortes et laineuses, profondément enracinées dans le sol (**Tebbani et al., 2022**).



**Figure 3:**Caractéristique morphologique de *l'Artemisia herba alba* L (**photo originale, 2025**).

### 2.3.1 Classification botanique

**Région :** *Plantae*

**Classe :** *Magnoliopsida*

**Ordre :** *Asterales*

**Famille :** *Asteraceae*

**Sous-famille :** *Asteroideae*

**Genre :** *Artemisia*

**Espèce :** *Artemisia herba-alba* Asso (**Tebbani et al., 2022**).

### 2.3.2 Composition chimique

L'*Artemisia herba-alba* Asso à base de plantes se trouve dans le vocabulaire de la médecine traditionnelle. Il a un bénéfice thérapeutique grâce à ses composés phénoliques qui renforcent son effet biologique dans les soins et le traitement. Les flavonoïdes identifiés dans *Artemisia herba-alba* Asso semblent être la structure la plus complète. Parmi ces composés les flavonoïdes connus dans le domaine de la chimie (flavones, glycosides flavonols). C'est l'un

des composés les plus complexes de la catégorie des flavonoïdes et il a une teneur élevée en méthyle. Les glycosides de flavones-C sont rarement trouvés dans l'armoise. Mono terpènes sont parmi les ingrédients principaux de l'armoise blanche. Des santonines, des coumarines, terpènes de type penta-anneau et tanins (Tebbani *et al.*, 2022).

### 2.3.3 Utilisation Traditionnelle

L'*Artemisia* est l'un des éléments de la constitution pharmaceutique traditionnelle chez les Arabes et les résidents du monde entier. Les bergers et les bédouins connaissaient le ver blanc pour ses effets bénéfiques sur les organismes. Il est particulièrement utilisé pour éliminer les vers des moutons. Ou pour apaiser les troubles intestinaux (douleurs intestinales et ses divers symptômes), il est préparé avec du thé et pris par les diabétiques pour aider à réguler leur taux de sucre dans le sang.

En Algérie, l'armoise est connu comme un traitement très commun souvent utilisé pour améliorer la digestion, soulager les douleurs abdominales et certains troubles du foie (Tebbani *et al.*, 2022). l'armoise blanche est également utilisé comme hypothermique, antipaludique, antispasmodique, et aide à se débarrasser du cholestérol élevé et lutter contre l'obésité (Ahmed chaouch & Benzoukh, 2020).

L'*Artemisia* est utilisée dans le secteur de l'alimentation et de la nutrition comme arôme car elle a une saveur particulière d'autres plantes telles que les boissons au café ou le thé, mais son utilisation en tant qu'ingrédient essentiel dans les aliments n'est pas importante. La beta thujone, qui est la substance contenue dans l'armoise blanche, est jugée toxique et nocive pour l'organisme, si sa concentration dépasse le seuil normal estimé à 5 mg/kg (Mohamed *et al.*, 2010; Hidar *et al.*, 2024).

## 3 Pied diabétique

### 3.1 Définition

Le diabète est une pathologie métabolique chronique à l'origine d'une élévation du glucose sanguin, ou hyperglycémie, qui perturbe le métabolisme des glucides, et de ce fait, celui des lipides et des protéines (Wens *et al.*, 2007). Il est causé par un défaut de la sécrétion d'insuline ou de l'action de cette hormone (Benabdelhafid, 2020).

L'insuline produite par le pancréas est absolument nécessaire pour permettre au glucose de pénétrer dans les cellules sanguines, sinon, il y a augmentation du glucose sanguin (**Durand, 2012**).

### 3.2 Classification

#### 3.2.1 Diabète gestationnel

Qui est le terme utilisé pour désigner le diabète de grossesse, est un diabète qui apparaît pendant le troisième trimestre de la grossesse (**Wainsten, 2009**). Le diabète gestationnel reste caractérisé par une hyperglycémie modérée, sans danger pour la mère, mais susceptible de provoquer des complications pour l'enfant. Parmi ces complications, la plus préoccupante est la macrosomie (croissance excessive intra-utérine), qui peut rendre l'accouchement difficile. Le néonate peut également souffrir d'hypoglycémie néonatale, ou d'un défaut de maturation pulmonaire (**Zenasni, 2019; Nasri, 2022**).

#### 3.2.2 Diabète de type 1

Le diabète de type 1, appelé aussi diabète insulino-dépendant (DID) ou diabète juvénile correspond à une maladie chronique auto-immune qui entraîne la destruction des cellules  $\beta$  (nécessaires à la sécrétion d'insuline). Il survient essentiellement chez le jeune. L'hyperglycémie ne se manifeste que lorsque 90 % des cellules ont été détruites, suite à une déficience importante dans la production d'insuline. Les patients atteints de diabète de type 1 sont de ce fait insulino-dépendants (dépendants des injections d'insuline)(**Benabdelhafid, 2020; Monnier et al., 2021**).

Les manifestations de la DID comprennent : une élimination urinaire abondante (polyurie), une soif inextinguible (polydipsie), un appétit insatiable, une diminution du poids corporel, des troubles de la vue et de l'épuisement(**Benabdelhafid, 2020; Monnier et al., 2021**).

Ces symptômes peuvent se manifester de manière soudaine. Il peut également se manifester par l'émergence d'une complication aiguë (**Benabdelhafid, 2020; Monnier et al., 2021**).

#### 3.2.3 Diabète de type 2

Le diabète de type 2, une maladie non insulino-dépendante qui se manifeste seulement chez l'humain, est une maladie métabolique qui a la capacité de résister à l'insuline en d'autres termes, est l'incapacité de l'organisme à répondre adéquatement au travail de l'insuline

excrétée par le pancréas entraînant une pénurie importante de la sécrétion d'insuline (Monnier *et al.*, 2021; Benabdelhafid, 2020).

Le diabète 2 est difficile à identifier parce qu'il est faible et qu'on l'identifie au hasard pendant l'examen ou lorsque des complications surviennent, qui impliquent souvent une neuropathie et des infections de la peau et du mucus. La condition est remise en question après avoir des antécédents familiaux de diabète de type 2 (Monnier *et al.*, 2021; Zenasni, 2019).

### 3.3 Complications infectieuses liées au pied diabétique

L'hyperglycémie prolongée est associée à l'émergence et au développement de nombreuses complications chroniques, qui affectent de nombreux organes (yeux, reins, nerfs et système cardiovasculaire), y compris le pied diabétique et l'infection diabétique (Lipsky *et al.*, 2012; Benabdelhafid, 2020).

#### 3.3.1 Pied diabétique

Il peut être défini comme un groupe de troubles circulatoires périphériques, neuropathiques ou angiopathiques. Leur nature diabétique est associée à la perte des allergies habituelles et des troubles circulatoires (plaies, peau sèche, fissures) d'où la nécessité de traiter chaque lésion le plus rapidement possible, même si elle est mineure, car elle peut entraîner de graves complications qui nécessitent souvent une amputation (Lipsky *et al.*, 2012; Benabdelhafid, 2020).

#### 3.3.2 Infections des plaies chez les diabétiques

L'infection est définie comme une infiltration de bactéries et leur stabilisation dans les tissus avec ou sans inflammation hôte. Il est important de faire la distinction entre l'infection et la colonisation bactérienne. La colonisation est un processus physiologique impliquant des bactéries coexistant avec la peau, ce qui signifie une infection par des bactéries pathogènes. Les éléments transformant la colonisation en infection sont multiples : nombre de micro-organismes, virulence des germes pathogènes, effet synergique entre les espèces bactériennes et les virus, aptitude de l'hôte à se défendre (Lipsky *et al.*, 2012; Benabdelhafid, 2020).

### 3.4 Pathogènes impliqués (bactéries et champignons)

Les infections du pied causées par le diabète peuvent entraîner de graves complications, comme une septicémie et d'autres, si elles ne sont pas traitées adéquatement et en temps

opportun. Ces infections sont souvent polymicrobiennes, ce qui signifie qu'elles sont causées par un groupe différent de bactéries, ainsi que certains champignons dans des cas spécifiques, notamment :

### ✓ **Les entérocoques**

Les *Enterococcus* sont classés dans un genre distinct des streptocoques, bien qu'ils présentent certaines similitudes, notamment au niveau de leur morphologie et de leur métabolisme anaérobie. La présence d'un acide téichoïque de la paroi portant l'antigène D, chez les entérocoques les associe spécifiquement aux streptocoques du groupe D. Ce sont des bactéries coccoïdes Gram positif qui se manifestent soit en cellules isolées, en paires ou en chaînes. Elles sont oxydases positives et généralement catalases négatives.

Ils sont généralement des anaérobies facultatifs et immobiles. Ils peuvent agir comme des pathogènes opportunistes, causant des infections urinaires, des infections abdominales (Cattoir & Leclercq, 2010).

### ✓ **Les staphylocoques**

Le staphylocoque figure au rang des agents pathogènes bactériens, considérés comme prépondérants en milieu clinique. Il s'agit de cocci Gram-positifs généralement organisés en amas. L'espèce primordiale est *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). On désigne les autres staphylocoques sous le nom de staphylocoques à coagulase négative (SCN). *S. aureus* génère un grand nombre de toxines qui participent à sa capacité pathogène en augmentant son aptitude à infiltrer l'organisme et les tissus. Il est chargée à la fois d'infections communautaires et nosocomiales, tandis que les SCN sont généralement des bactéries opportunistes principalement à l'origine d'infections nosocomiales. Généralement, leur transmission se fait par contact direct entre individus, que ce soit de manière intra ou interhumaine (Gérald, 2018).

### ✓ **Les entérobactéries**

Au sein de la famille des entérobactéries, la diversité tant écologique que pathogénique est très marquée ; en effet ce sont soit des parasites (*Shigella*, *Yersinia pestis*), soit des espèces généralement commensales, associées à des infections chroniques ou déjà guéries (*E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella* sp.), soit des saprophytes (*Serratia* sp., *Enterobacter* sp.). Les entérobactéries sont des bacilles Gram négatifs, non sporulés, mobiles ou immobiles par des flagelles péritriches, facultativement aéro-anaérobies, positives à la catalase, négatives à

l'oxydase, positives à la réduction des nitrates, ayant des besoins nutritionnels plutôt simples, fermentant les sucres en divers produits finaux (Abdullahi & Lawal, 2024; Cattoir & Leclercq, 2010).

### ✓ *Les Pseudomonas*

*Les Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif pathogènes opportunistes ubiquistes, dotés d'une extrémité effilée ou arrondie et d'une régularité marquée. Ils sont généralement très mobiles grâce à leur ciliature polaire, non sporulés et strictement aérobies, sans être particulièrement exigeants (Doumbia, 2022).

*Pseudomonas aeruginosa* est un agent pathogène opportuniste à l'origine d'infections nosocomiales sévères et d'infections qui peuvent s'avérer mortelles chez les individus dont le système immunitaire est affaibli (Khalifa *et al.*, 2011).

### ✓ **Les streptocoques**

Les bactéries du genre *Streptococcus*, sont des cocci Gram-positifs largement répandus, se présentant généralement en paires ou en chaînes. Ce sont des aéro-anaérobies facultatifs non sporulants, catalase négative. La fasciite nécrosante est une affection sévère qui affecte les couches profondes de la peau. La majorité des cas sont généralement attribués à une bactérie de type streptocoque A (Mohamed, 2020).

Ainsi, on identifie les streptocoques  $\beta$ -hémolytiques qui détruisent complètement les hématies, les streptocoques  $\alpha$ -hémolytiques qui n'engendrent qu'une lyse partielle avec souvent une légère teinte verdâtre au centre de la culture (comme *Streptococcus viridans*), et finalement, les streptocoques non hémolytiques (Benabdelhafid, 2020).

## 3.5 Traitement pharmacologique de diabète

Le traitement du diabète consiste en un certain nombre de médicaments différents (antidiabétiques) pour réguler la glycémie et prévenir les complications. Voici un aperçu des traitements médicamenteux, des antibiotiques et des complications associées au diabète :

- **Insuline** : Il est utilisé dans le diabète de type I et parfois dans le diabète de type II. L'insuline à impact rapide comme Lisbrough, Aspart et Glulicin en font partie (Meunier *et al.*, 2019).
- **Hypoglycémiant oraux** : Les antidiabétiques oraux sont divisés en différentes catégories. Par exemple, la metformine est la première option dans la catégorie des

béguanides, grâce à sa capacité d'améliorer la sensibilité de l'organisme à l'insuline. De plus, l'urée sulfonyle stimule la sécrétion d'insuline par le pancréas, tandis que les inhibiteurs DPP-4, comme la cytagliptine et la veldalipine, contribuent à augmenter les taux d'insuline et à réduire la quantité de glucagon dans le sang, favorisant ainsi une meilleure régulation des taux de sucre (**Carles *et al.*, 2010**).

- **Antidiabétiques injectables** : Les médicaments injectables utilisés dans le traitement du diabète comprennent plusieurs types. Les dérivés du GLP-1 améliorent la sécrétion d'insuline et réduisent le taux de sucre dans le sang en stimulant le pancréas et en ralentissant la vidange de l'estomac, ce qui aide à gérer les niveaux de glucose. Les inhibiteurs du SGLT2 réduisent la réabsorption du glucose dans le rein, ce qui entraîne la libération de glucose avec l'urine, réduisant ainsi la glycémie indépendamment de l'insuline (**Monnier & Colette, 2016**).

# *Matériel et méthode*

### **1 Protocole expérimentale suivis dans l'étude**

Dans le cadre de cette étude, un protocole expérimental rigoureux a été mis en place afin d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites de différentes plantes aromatiques. Ce protocole comprend plusieurs étapes, allant de l'obtention et l'identification biochimique des souches sauvages à l'extraction et la purification des huiles essentielles, suivies par l'évaluation de leur efficacité à travers des tests microbiologiques spécifiques tels que l'antibiogramme, l'aromatogramme et la détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides. Cette démarche méthodologique vise à garantir la fiabilité et la reproductibilité des résultats obtenus.

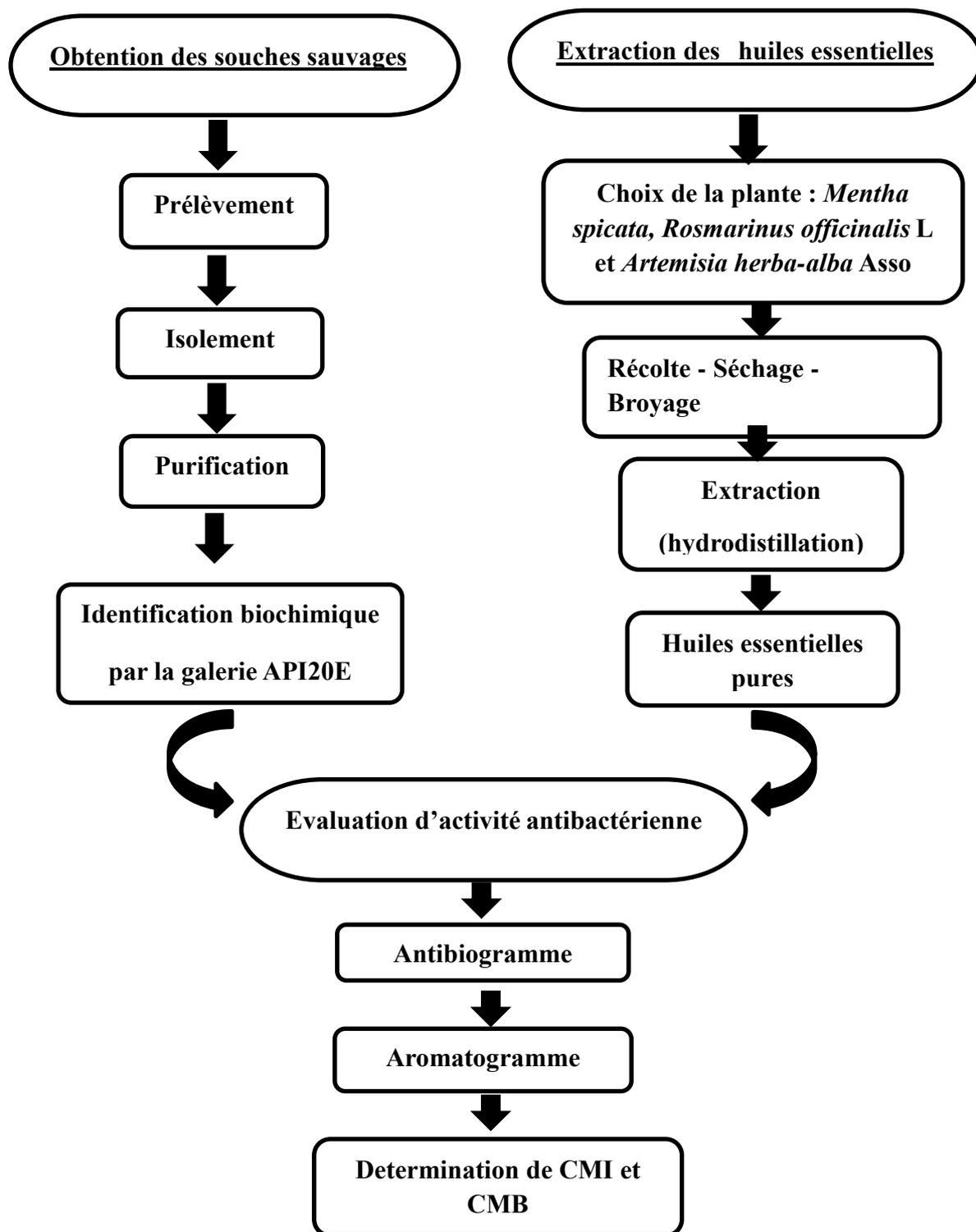


Figure 4: Schéma de protocole expérimental suivis dans l'étude

## 2 Matériel

### 2.1 Matériel biologique

#### 2.1.1 Matériel végétal

Dans ce travail, 1 kg de chaque plante utilisée dans la région de Ghardaïa a été récoltée, puis séchée et broyée en poudre pour une utilisation ultérieure.

La récolte des plantes menthe et armoise a été effectuée en février 2025, tandis que celle du romarin a eu lieu en mars de la même année. Pour l'ensemble des plantes, les parties aériennes incluant les tiges, les feuilles, et pour le romarin, les fleurs ont été soigneusement séchées puis stockées dans un lieu bien ventilé, à température ambiante. Suite à ce séchage, ces parties aériennes ont été broyées à l'aide d'un moulin afin d'obtenir une fine poudre.

#### 2.1.2 Les souches utilisées et les milieux

- Les souches utilisées dans cette étude comprennent une souche de référence *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603, ainsi que ainsi que plusieurs souches sauvages isolées à partir d'échantillons prélevés chez des patients atteints d'infection du pied diabétique : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Streptococcus pyogenes*.
- Le milieu utilisé pour l'évaluation de l'activité antibactérienne est Mueller-Hinton.

### 2.2 Matériel non biologique

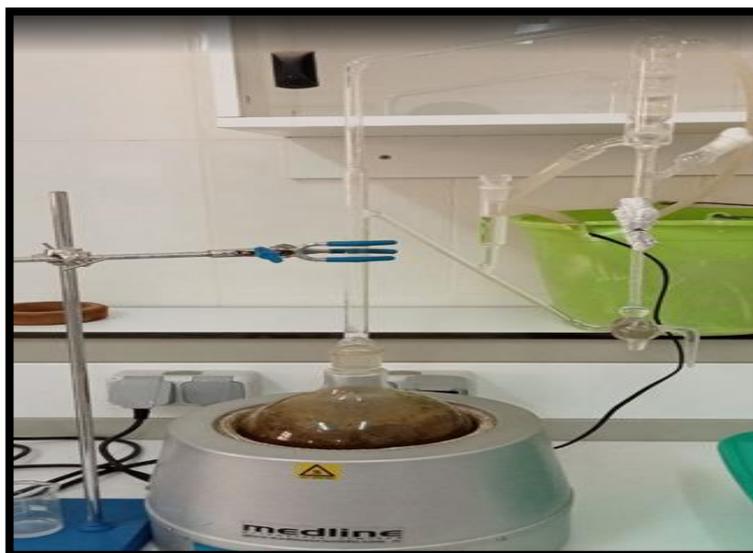
Pour mener cette recherche, nous avons utilisé une gamme d'équipements standard comprenant des appareils, des réactifs, des produits chimiques et du matériel de laboratoire, dont la description se trouve en annexe1.

## 3 Méthodes

### 3.1 Extraction des huiles essentielles

L'hydro distillation est la technique utilisée pour l'extraction des huiles essentielles de la matière végétale fraîche dans un appareil de Clevenger. Cent grammes de matière végétale broyée sont placés dans un ballon d'un litre contenant 1000 ml d'eau distillée. On porte le tout à ébullition pendant une durée de 3 heures. Au cours de ce processus, la vapeur contenant de l'eau et de l'huile passe à travers un réfrigérant incliné et se condense. Le distillat se déverse goutte à goutte et est recueilli dans une ampoule de décantation (**Figure 5**).

La séparation de l'huile et l'eau est possible grâce à la différence de leur densité. L'huile qui est au-dessus est ensuite aspirée à l'aide d'une micropipette puis desséchée par le sulfate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) ou sulfate de magnésium anhydre ( $\text{MgSO}_4$ ). Les huiles essentielles extraites de chaque plante sont stockées autour de  $4^\circ\text{C}$  dans des flacons en verre opaques clos hermétiquement pour être utilisées plus tard (Moutchou *et al.*, 2024).



**Figure 5 :**Montage d'hydrodistillation (clevanger) (photo originale,2025).

### Calcul de Rendement

Le rendement en huile essentielle est la proportion entre la masse de l'huile obtenue et la masse de la plante employée (Ghanmi *et al.*, 2010). La formule ci-dessous est utilisée pour calculer le rendement, qui est exprimé en pourcentage:

$$R\% = (MB / MA) \times 100$$

R : Rendement de l'huile en %

MB : masse de l'huile en g

MA : masse de la plante en g

Après extraction, les huiles essentielles sont conservées (stockées) dans des flacons en verre opaque, pour éviter l'exposition à la lumière, à une température de  $4^\circ\text{C}$ , pour préservant leurs propriétés chimiques et biologiques (Ghanmi *et al.*, 2010).

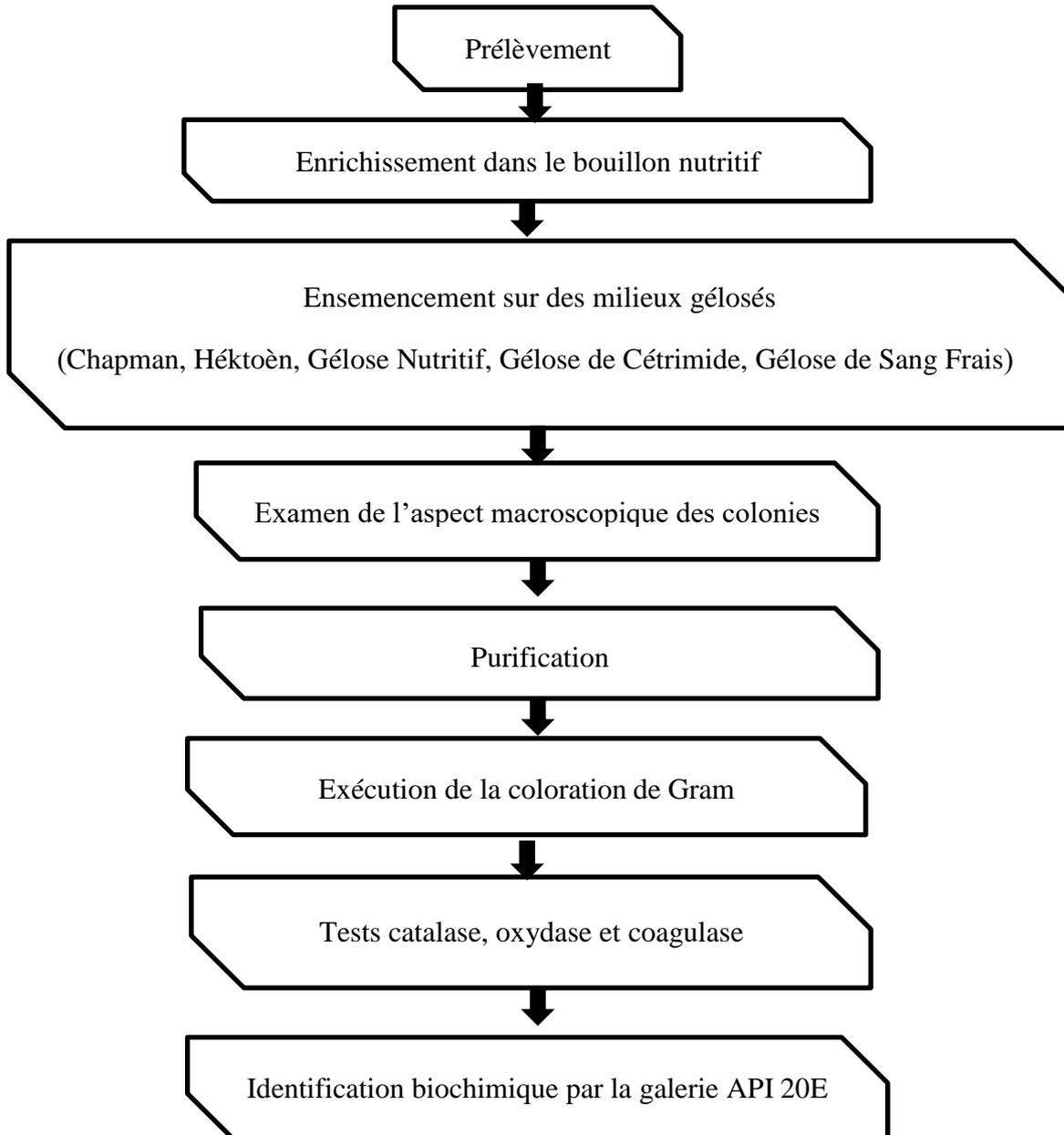
### 3.2 Sélection des patients et collecte des échantillons

#### 3.2.1 Localisation et durée du stage

L'obtention des souches sauvages a été réalisé au laboratoire de microbiologie de l'hôpital TRICHINE Ibrahim de Ghardaïa de la période de 1 février au 12 mai 2025, pour 9 patients admis à l'hôpital avec une infection du pied diabétique.

#### 3.2.2 Protocole d'identification des souches sauvages

Le schéma suivant montre le protocole d'identification des souches sauvages (**Guira *et al.*, 2015; Nadia *et al.*, 2019**).



**Figure 6:** Schéma du protocole d'identification des souches sauvages

### 3.3 Prélèvement des échantillons (collecte des échantillons)

- Un total de neuf prélèvements a été réalisé à partir des plaies des pieds diabétiques de patients hospitalisés au sein de service des urgences et chirurgie homme de l'hôpital de TRICHINE Ibrahim et de service des urgences Clinique Publique de Santé de Thénia.

### 3.3.1 Méthodes de prélèvement

#### 3.3.1.1 Préparation de la plaie des pieds diabétique

- Avant tout prélèvement, il est nécessaire de préparer la plaie
- On effectue un débridement à l'aide d'une curette ou d'un scalpel stérile. Il est nécessaire de retirer les parties molles nécrosées, les tissus contaminés, dévitalisés et fibreux.
- La plaie doit ensuite être lavée avec une compresse stérile imbibée de sérum physiologique stérile permettant d'éliminer la flore bactérienne colonisante (**Guira et al., 2015; Zenasni, 2019**).

#### 3.3.1.2 L'écouvillonnage

Avec un écouvillon stérile on effectue un frottement sur 1 cm<sup>2</sup> de la lésion, dans un mouvement en Z, associé à une rotation, à réaliser sur les plaies superficielles (**Chidiac et al., 2007**). L'écouvillon est ensuite placé soigneusement dans un tube à vis stérile ayant déjà servi à contenir un bouillon nutritif d'enrichissement (BN) afin d'enrichir le prélèvement et d'en garantir le transport. Les échantillons sont ensuite acheminés dans les meilleurs délais en laboratoire de microbiologie, où ils sont incubés 24 heures à 37°C (**Denis et al., 2016; Benabdelhafid, 2020**).

#### 3.3.1.3 Ensemencement et isolement

La méthode utilisée pour l'ensemencement est la technique du quadrant. Cette méthode de culture permet de séparer les diverses bactéries présentes dans un mélange. Toutes les cultures fraîches, obtenues sur BN ont été ensemencé sur 5 milieux de culture : gélose Chapman, gélose nutritive (GN), gélose au sang frais (GSF), gélose héctoën, gélose au cétrimide.

**Gélose nutritive** : est un milieu général qui permet la croissance de nombreuses bactéries non exigeantes (**Badri & Tahri, 2016**).

**Gélose Héctoën** : est un milieu utilisé pour isoler les entérobactéries en utilisant le bleu de bromothymol (indicateur de pH), et la fuschine acide (qui prend une couleur en présence d'aldéhyde) comme indicateurs (**Badri & Tahri, 2016; Benabdelhafid, 2020**).

**Le milieu de Chapman** : Le milieu de Chapman (Mannitol Salt Agar) a été utilisée comme milieu sélectif et différentiel pour l'isolement des staphylocoques. Il est particulièrement indiqué dans l'analyse de divers types d'échantillons cliniques tels que les suppurations cutanées (**Badri & Tahri, 2016**).

**Gélose au sang frais** : est un milieu d'isolement enrichi utilisé pour isoler les streptocoques et pour l'observation du caractère hémolytique (**Badri & Tahri, 2016**).

**Gélose au Cétrimide** : est un milieu sélectif qui permet d'isoler et d'identifier précocement *Pseudomonas aeruginosa* (**Badri & Tahri, 2016**).

Après une incubation des milieux ensemencés à 37°C pendant 24 à 48 heures, les colonies obtenues ont fait l'objet de repiquages successifs sur le même type de milieu. Cette étape vise à isoler des souches bactériennes pures en vue de leur identification.

### 3.4 Identification

#### 3.4.1 Aspects macroscopiques

L'observation des colonies est une description directe réalisée sur des boîtes d'isolement, qui permet au minimum de différencier les souches entre elles, en vue de leur purification.

Cette observation est basée sur une analyse macroscopique, qui implique l'examen à l'œil nu des colonies, formées de milliards de descendants d'une seule cellule bactérienne. Elle permet de déterminer la dimension, l'apparence, la forme, la teinte, la texture, les contours et l'opacité des colonies. L'examen de l'apparence des colonies nécessite une observation à l'œil nu (**Denis et al., 2016**).

#### 3.4.2 Aspects microscopiques

- **Coloration de Gram**

##### Étape 1 : Préparation du frottis

- ✓ Déposer une goutte d'eau sur la lame.
- ✓ Prélever une petite colonie bactérienne à l'aide d'une anse de platine stérilisée.
- ✓ Mélanger la colonie avec l'eau pour obtenir une suspension homogène.
- ✓ Passer la lame au-dessus de la flamme du bec Bunsen par un mouvement de va-et-vient pour fixer l'échantillon sans le brûler.

##### Étape 2 : La coloration

- Coloration primaire:
  - ✓ Ajouter du violet de gentiane et laisser agir pendant 1 minute.
  - ✓ Rincer délicatement la lame avec un jet doux d'eau pendant 2 secondes.
  - ✓ Fixateur (Lugol)
  - ✓ Ajouter quelques gouttes de lugol et laisser agir pendant 1 minute.

- ✓ Rincer la lame avec de l'eau de la même manière que la première étape.
- Décoloration (alcool)
- ✓ Appliquer l'alcool pendant 30 secondes pour éliminer la coloration des bactéries à Gram négatif.
- ✓ Rincer immédiatement la lame à l'eau pour stopper l'action du décolorant.
- Contre-coloration:
- ✓ Ajouter quelques gouttes de fuchsine ou de safranine et laisser agir pendant 30 secondes.
- ✓ Rincer la lame à l'eau et sécher avec du papier absorbant.

### Étape 3 : Observation au microscope

- ✓ Déposer une goutte d'huile d'immersion sur le frottis.
- ✓ Observer l'échantillon sous un microscope à objectif  $\times 100$  (Denis *et al.*, 2016).



Figure7 : Réactifs de coloration de Gram (photo originale,2025).

### • Tests physiologiques

#### 1. Test catalase

Le test de catalase consiste à utiliser une enzyme qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) selon la réaction suivante :



L'examen de la catalase est couramment utilisé pour distinguer les staphylocoques, qui possèdent une catalase positive, des entérobactéries qui ont une catalase négative.

### ❖ Technique

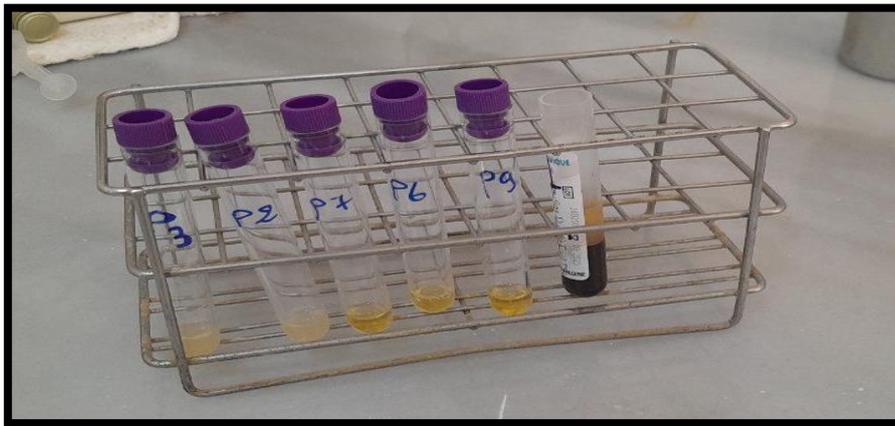
Pour chaque souche déposée une goutte d'eau oxygénée sur une lame stérile où quelques colonies sont dispersées. Les réactions favorables se caractérisent par une effervescence démontrant la décomposition de l'eau oxygénée sous l'influence de la catalase (**Karen, 2010; Souhila & Ahmed, 2011**).

### 2. Test coagulase

La coagulase (staphylocoagulase) est une enzyme qui permet de coaguler le plasma sanguin. La présence de la coagulase libre favorise la différenciation des espèces du genre *Staphylococcus* (**Sue Katz, 2010**).

### ❖ Technique

Dans un tube à essai, mettez 1 ml de plasma humain frais avec 1 ml de culture fraîche en bouillon nutritif des souches que vous étudiez. Placez le mélange dans l'étuve à une température de 37°C et laissez-le incuber pendant 24 heures (**Joffin & Leyral, 2006**).



**Figure 8 : Test coagulase (photo originale,2025).**

### 3. Test oxydase

Le test d'oxydase constitue une procédure différentielle essentielle qui doit être réalisée sur toutes les bactéries Gram-négatives à identifier. Cette technique est essentielle dans l'identification des bactéries, car elle souligne les caractéristiques spécifiques d'oxydation de ces micro-organismes.

### ❖ Technique

- Utilisez une anse de platine pour prélever une colonie bactérienne, puis déposez-la sur le disque d'oxydase. Un changement de couleur vers le violet ou pourpre indique un résultat positif (Souhila & Ahmed, 2011).

### 4. Identification biochimique par la galerie API 20 E

La galerie API 20 E est constituée de 20 micro tubes renfermant des substances déshydratées. Une suspension bactérienne est utilisée pour inoculer les micro tubes, afin de reconstituer les tests. Les métabolites produits durant la période d'incubation se traduisent par des virages des couleurs spontanés ou révélés par addition de réactifs.

### ❖ Technique

- 1) Utilisez une pipette stérile pour prélever une colonie bien isolée provenant d'une culture récente (18 à 24 heures) sur un milieu de culture. Elle est ensuite mise en suspension dans 10 ml d'eau physiologique stérile afin d'obtenir une solution homogène.
- 2) Pour créer une atmosphère humide, assemblez le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation, puis répartissez environ 5 ml d'eau distillée au fond de la boîte d'incubation.
- 3) À l'aide d'une pipette Pasteur, remplissez les galeries API 20E avec la suspension bactérienne. Afin d'éviter la formation de bulles, l'inoculation est réalisée en inclinant légèrement la galerie et en plaçant la pipette sur le bord des cupules.
  - Les tests CIT, VP et GEL nécessitent de remplir à la fois le tube et la cupule.
  - Pour les autres tests, seul le tube est rempli.
  - Une atmosphère anaérobie est assurée dans les tests ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S et URE par l'ajout d'une goutte d'huile de paraffine dans la cupule correspondante.
- 4) Fermez la boîte d'incubation et incubez à 37 °C ± 2°C pendant 18 à 24 heures.
- 5) Lecture de la galerie : Après l'ajout des réactifs nécessaires pour révéler les résultats des tests (TDA, VP, ZYM, NIT, NIN et Kovacs), les réactions obtenues doivent être observées et interprétées. L'interprétation des résultats se fait en se référant au tableau de lecture, qui permet de déterminer la nature de chaque réaction (Nadia *et al.*, 2019). Les tableaux explicatifs détaillant les résultats de chaque test sont inclus dans les **annexes1**.

### 3.5 Évaluation de l'activité antibactérienne

#### 3.5.1 Antibiogramme

Un test de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme) a été effectué sur les mêmes souches bactériennes, en utilisant trois antibiotiques standard : Chloramphénicol (CN), Gentamicine (C) et Ciprofloxacine (CIP).

Les disques antibiotiques ont été déposés sur des gélose Mueller-Hintonensemencées de manière homogène. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en mm, et les résultats interprétés selon les normes du CLSI (Baali *et al.*, 2019; Smiline Girija & Vijayashree Priyadharsini, 2019).

#### 3.5.2 Aromatogramme

**Méthode de diffusion sur disque :**

##### **Préparation de l'inoculum**

Pour la réalisation des tests d'activité antibactérienne, les souches bactériennes ont été préalablement cultivées sur gélose et incubées pendant 24 heures à 37°C. Par la suite, 4 à 5 colonies bien isolées ont été prélevées à l'aide d'une anse stérile et remises en suspension dans une solution saline stérile (NaCl 0,9 %). La densité de la suspension a été ajustée à une turbidité équivalente à 0,5 sur l'échelle de McFarland, ce qui correspond à une absorbance comprise entre 0,08 et 0,13 à 625 nm.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites (*Artemisia herba-alba* Asso, *Mentha spicata* et *Rosmarinus officinalis* L) a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque sur gélose Mueller-Hinton.

##### **Protocole**

La surface des boîtes de Pétri contenant de la gélose Mueller-Hinton a étéensemencée à l'aide d'un écouvillon stérile imbibé de la suspension bactérienne normalisée. Trois disques de papier stériles, de 6 mm de diamètre chacun, ont été déposés dans chaque boîte, chaque disque étant imprégné de 10 µL d'une huile essentielle pure différente. Les disques ont été placés de manière à éviter le chevauchement des halos d'inhibition. Ensuite, les boîtes sont restées à 4 °C pendant 2 heures avant d'être incubées à 37 °C pendant 24 heures. Après cette incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètres à l'aide d'une règle graduée (Issabeagloo *et al.*, 2012; Baali *et al.*, 2019).

### 3.5.3 Évaluation de l'activité synergique des huiles essentielles

L'activité synergique entre les huiles essentielles extraites d'*Artemisia herba-alba* Asso, *Mentha spicata* et *Rosmarinus officinalis* L a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion sur disque selon les combinaisons suivantes :

S 1 : Mélange équimolaire (1V,1Vet 1V) des trois huiles (*Rosmarinus officinalis* L + *Mentha spicata* + *Artemisia herba-alba* Asso).

S2 : Mélange (1V,1V) de (*Rosmarinus officinalis* L + *Mentha spicata*) .

S 3 : Mélange (1V,1V) de (*Rosmarinus officinalis* L + *Artemisia herba-alba* Asso).

S 4 : Mélange (2V,1V) de (*Rosmarinus officinalis* L + *Mentha spicata*).

S5 : Mélange (2V,1V) de (*Rosmarinus officinalis* L + *Artemisia herba-alba* Asso).

Pour chaque combinaison, un volume total de 10 µL a été utilisé pour imprégner des disques stériles (6mm de diamètre), en respectant les proportions correspondantes de chaque huile dans le mélange.

Les disques imprégnés ont été placés sur des boîtes de gélose Mueller-Hinton,ensemencées avec les suspensions bactériennes standardisées (0,5 McFarland). Après un stockage à 4 °C pendant 2 h, les boîtes ont été incubées pendant 24 h à 37 °C, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés (Issabeagloo *et al.*, 2012).

### 3.5.4 Détermination CMI ou CMB

#### Protocole

Pour la préparation des solutions principales, 300 µL de chaque huile essentielle ont été mélangés avec 3 ml de bouillon Mueller-Hinton stérile (MHB) et 3 gouttes de Tween 80 (agent émulsifiant) . Ensuite, 100 µL de MHB contenant du rouge phénol (indicateur de pH) , ont été versés dans chaque puits d'une plaque à 96 puits. Cent microlitres de la solution principale ont été ajoutés dans les puits de la première rangée, à l'exception de la rangée B. Des dilutions en série au facteur deux ont ensuite été réalisées, en transférant 100 µL de puits en puits, de la première rangée jusqu'au 12e puits. Pour la rangée B, 100 µL de MHB sans rouge phénol ont été ajoutés dans le premier puits, suivis des mêmes dilutions en série.

L'inoculation bactérienne a été effectuée en ajoutant 100 µL d'une suspension bactérienne à 10<sup>6</sup> UFC/ml dans tous les puits, sauf ceux de la première rangée qui servent de contrôle négatif sans inoculum. La deuxième rangée, contenant l'inoculum mais sans huile essentielle, a été utilisée comme contrôle positif pour confirmer la croissance attendue. La plaque a ensuite été recouverte et scellée avec du parafilm afin de créer des conditions microaérobies, puis incubée à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

La lecture des résultats s'est faite grâce au changement de couleur du rouge phénol : une couleur jaune indique une multiplication bactérienne, signe de croissance, tandis que la conservation de la couleur rouge initiale signale une inhibition de la croissance, donc une absence de multiplication bactérienne (Tchokponhoue Kpodekon *et al.*, 2013).

# *Résultats et Discussion*

## 1 Rendement en huile essentielle des trois plantes

Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation à partir de matière végétale sèche pour chaque plante. Les rendements obtenus sont mentionnés dans le tableau 2.

**Tableau 1** : Rendement des huiles essentielles

Les plante	<i>Artemisia herba-alba</i> Asso	<i>Mentha spicata</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i> L
Rendement (%)	0.44	1.29	1.15

Les rendements en huiles essentielles obtenus à partir de la hydro distillation de 1 kg de matière végétale sèche étaient de 0,44 % pour *Artemisia herba-alba* Asso, 1,29 % pour *Mentha spicata* et 1,15 % pour *Rosmarinus officinalis* L .

Ces valeurs reflètent une variabilité naturelle liée à plusieurs facteurs tels que l'espèce botanique, la partie aérienne, les conditions pédoclimatiques, la période de récolte (**González-Minero et al., 2020**).

Le rendement de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Asso obtenu dans notre étude était de (0,44 %), ce qui est relativement faible comparé aux résultats rapportés dans la littérature (**Aouchiche & Kechkar, 2013**), ont obtenu un rendement de (0,9 %), soit plus du double de celui observé dans notre cas. Cette différence peut s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment la période de récolte, qui joue un rôle déterminant dans la concentration des composés volatils. En ce qui concerne *Mentha spicata*, le rendement obtenu dans notre étude (1,49 %) est conforme aux résultats rapportés par **Golparvar & Hadipanah, (2016)**. Quant à *Rosmarinus officinalis* L le rendement obtenu (1,15%) s'aligne également avec les résultats trouvés ou apportés par **Boutabia et al. (2016)** (1,08%). Une étude réalisée en Sardaigne (Italie) par **Angioni et al. (2004)** a montré que le rendement en huile essentielle de romarin varie entre 0,9 % et 2 %, selon la saison de récolte et les conditions géographiques.

## 2 Résultats des analyses

### 2.1 Isolement et identification des souches obtenues

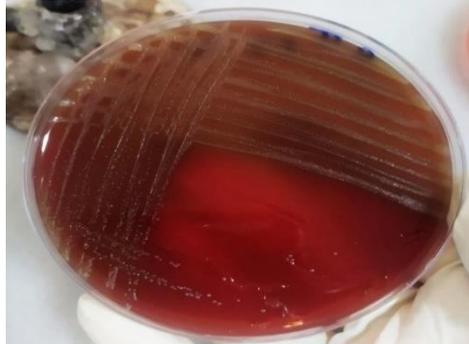
Première étape du diagnostic des bactéries et du biotypage d'un isolat consiste à décrire de manière macroscopique les colonies isolées.

- **Sur gélose au sang frais**

Certaines espèces de *Streptococcus* cultivées sur gélose au sang présentent un halo caractéristique autour des colonies : c'est le pouvoir hémolytique (**Figure 9**).

On distingue principalement deux types d'hémolyse:

- Hémolyse alpha ( $\alpha$ ) : formation d'un halo verdâtre.
- Hémolyse bêta ( $\beta$ ) : formation d'un halo clair et transparent



**Figure 9 :** Observation macroscopique de *streptococcus pyogenes* sur milieu gélose de sang frais (photo originale,2025)

- **Milieu Héктоэн:** On observe des colonies de couleur jaune, indiquant une fermentation des sucres présents dans le milieu (**Figure 10**).



**Figure 10:** Observation macroscopique des colonies sur milieu Héктоэн (photo originale,2025)

- **Sur milieu Chapman**

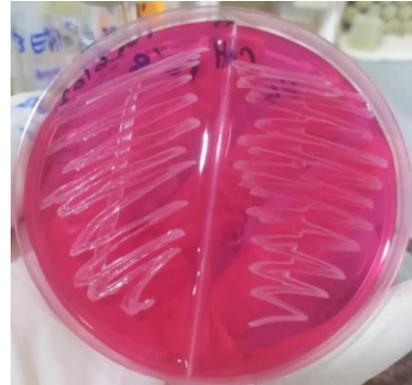
Il a été observé les colonies de *Staphylococcus* comme suit:

Des colonies jaunes sur fond jaune ou entourées d'un halo jaune, ce qui indique la fermentation du mannitol, caractéristique de *Staphylococcus aureus* (**Figure 11**).

Des colonies blanches sur fond rose, ce qui suggère la présence de *Staphylococcus epidermidis* (staphylocoque blanc) (**Figure 12**).

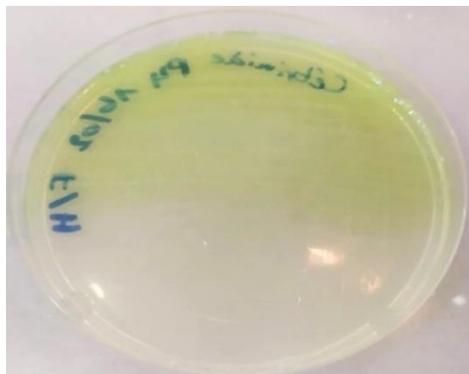


**Figure 12** :Observation macroscopique des souches de *staphylococcus aureus* sur milieu Chapman (**photo originale,2025**)



**Figure 11** :Observation macroscopique des souches de *staphylococcus epidermidis* sur milieu Chapman (**photo originale,2025**)

- **Sur milieu cétrimide:** On observe des colonies de couleur vert jaunâtre, caractéristiques de *Pseudomonas aeruginosa* (**Figure 13**).



**Figure 13:**Observation macroscopique des souches de *pseudomons aeruginosa* sur milieu cétrimide (**photo originale,2025**).

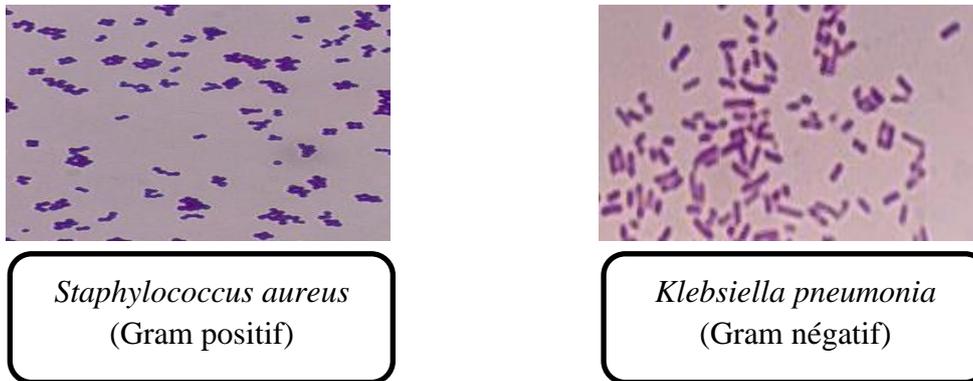
## 2.2 Etude microscopique

### ▪ Répartition des souches obtenues selon la coloration de Gram

Suite à la coloration de Gram, on remarque des colonies distinctes sur les milieux de culture. Sur Chapman, nous avons noté la présence de cocci en grappes semblables à des raisins, qui se colorent en Gram positif, une caractéristique typique des espèces de *Staphylococcus*

comme *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, Au total, six souches Gram-positives ont été isolées.

Les colonies qui se développent dans les milieux héktoen prennent la forme de bacilles Gram-négatifs, ce qui est caractéristique des *Enterobacteriaceae* telles que *Klebsiella pneumoniae* ou *Pseudomonas aeruginosa*. De ce fait, on obtient 5 souches Gram négatifs (**Figure 14**) .



**Figure 14:** Observation microscopique après coloration de Gram  
(Grossissement x100) (photo originale,2025).

### 2.3 Identification biochimique

**Figure 15** présente les résultats des tests biochimiques effectués avec l'API 20 E, qui ont mis en évidence la présence de 11 souches.



*Streptococcus pyogenes*



*Klebsiella pneumonia*

Figure 15 : Résultat de test biochimique par API 20E (photo originale,2025)

▪ Répartition des souches à Gram positif selon Test de la catalase

Toutes les bactéries testées étaient soit positives (Figure 16), comme *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Klebsiella pneumoniae*, soit négatives pour la catalase, tel que *Streptococcus pyogenes*).



Figure 16: Catalase positive : cas de *staphylococcus aureus* (photo originale,2025)

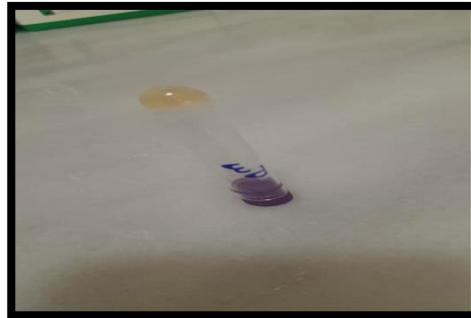
▪ Répartition des souches à Gram positif selon le test de la coagulation

Sur les 5 souches de staphylocoques isolées, nous avons relevé 4 réactions de coagulation positives provenant des échantillons (02, 03, 07, 09). Un résultat positif signifie la création

d'un caillot, qui correspond au plasma coagulé, la **Figure17** représente le résultat du test de coagulase.

*S. aureus* : coagulase positive.

*S. epidermidis* : coagulase négative.



**Figure17** : Lecture de test de coagulase (photo originale,2025)

### 3 Répartition des souches bactériennes identifiées dans le cas du pied diabétique

Le **tableau 2** a mentionné les résultats obtenus à partir de 9 prélèvements révèlent la présence de diverses espèces bactériennes. Aucun germe n'a été isolé chez le premier patient. *Staphylococcus aureus* a été isolée dans quatre cas, suivie du *Staphylococcus epidermidis* détectée dans un seul. *Klebsiella pneumoniae* a été identifiée dans 3 échantillons, tandis que *Streptococcus pyogenes* a été isolé dans un seul prélèvement. Enfin, *Pseudomonas aeruginosa* a été identifiée dans deux prélèvements.

**Tableau 2** : Répartition des souches bactériennes identifiées

N° de patient	Souches bactériennes
01	Aucun germe
02	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>
03	<i>Staphylococcus aureus</i>
04	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
05	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
06	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
07	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
08	<i>Streptococcus pyogenes</i>
09	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>

Les résultats d'identification des échantillons prélevés chez les patients atteints du pied diabétique dans notre étude ont révélé la présence de plusieurs souches bactériennes pathogènes, notamment *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* et *Streptococcus pyogenes*. Ces espèces bactériennes sont parmi les plus fréquemment isolées dans les infections du pied diabétique, comme l'ont rapporté plusieurs études antérieures ( **Richard et al., 2011**; **Abdullahi & Lawal, 2024**), ont montré que *S. aureus* était l'agent pathogène principal, suivi par *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* en particulier dans les infections chroniques ou profondes (**Richard et al., 2011**). De même, **Shah et al. (2021)**, dans une étude épidémiologique menée sur 50 patients au India, ont confirmé la prédominance de ces trois espèces parmi les souches isolées. Nos résultats concordent avec ceux rapportés dans un mémoire antérieur (**Zenasni, 2019**), où les mêmes agents pathogènes ont été isolés à partir des échantillons similaires.

#### 4 Antibiogramme

Dans le but de comparer l'efficacité des huiles essentielles avec celle des antibiotiques conventionnels, l'activité de trois antibiotiques (chloramphénicol, gentamicine et ciprofloxacine) a été évaluée, *in vitro* contre les souches bactériennes isolées et les souches de

références. Le tableau ci-dessous présente les diamètres des zones d'inhibition (en mm) mesurés contre toutes les souches (sauvages et de référence).

**Tableau 3 :** Activité antibactérienne de trois antibiotique (Chloramphénicol(C), Gentamicine (GN), Ciprofloxacine (CIP)) cotre les souches bactériennes contre les souches suivant : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae* (S : sensible, R : résistante).

Bactérie	N° de patient	Chloramphénicol (mm)	Gentamicine (mm)	Ciprofloxacine (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	02	25 (S)	07 (R)	06 (R)
	03	26 (S)	08 (R)	06 (R)
	07	27 (S)	17 (R)	13 (R)
	09	22 (S)	08 (R)	06 (R)
	ATCC 29213	23 (S)	18 (R)	23 (S)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	06	32 (S)	11 (R)	06 (R)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	25 (S)	19 (R)	25 (S)
	04	17 (R)	16 (R)	37 (S)
	05	18 (R)	18 (R)	33 (S)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	08	17 (R)	06 (R)	12 (R)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	02	26 (S)	16 (R)	06 (R)
	03	27 (S)	13 (R)	06 (R)
	07	35 (S)	13 (R)	35 (S)
	ATCC 700603	25 (S)	11 (R)	12 (R)



**Figure18** : Zone d'inhibition de trois antibiotique (CN, C, CIP) contre *staphylococcus aureus* de patient 9 et 7 (photo originale,2025)

Les résultats dans le tableau 3 montrent une variabilité marquée de l'efficacité des trois antibiotiques testés contre les souches bactériennes isolées chez les patients atteints du pied diabétique. Le chloramphénicol s'est révélé le plus actif, en particulier contre *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*. En revanche, la gentamicine et la ciprofloxacine ont montré une efficacité plus faible, avec une résistance importante observée chez *Staphylococcus epidermidis* et *Streptococcus pyogenes*. Il est à noter que la ciprofloxacine n'a été efficace que contre les souches de *Pseudomonas aeruginosa*. Ces résultats soulignent l'importance de réaliser des tests de sensibilité avant toute prescription afin de limiter les échecs thérapeutiques et la propagation de la résistance bactérienne.

L'antibiogramme a été interprété selon les normes en vigueur, en distinguant les souches résistantes (R), sensibles (S), conformément aux recommandations de l'annexe 4.

## 5 Aromatogramme

Le tableau suivant montre les diamètres des zones d'inhibition (en mm) des différentes huiles essentielles testées contre les souches bactériennes trouvées chez des patients atteints du pied diabétique en comparant leur activité, vis-à-vis des souches de référence. Les valeurs correspondent aux moyennes obtenues pour chaque souche sont représentées dans le **tableau 4**.

**Tableau 4 :** Zone d'inhibition (mm) des huiles essentielles testées contre différentes souches bactériennes

Bactérie	N° de patient	<i>Artemisia herba-alba</i> Asso (mm)	<i>Mentha spicata</i> (mm)	<i>Rosmarinus officinalis</i> L (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	02	12±4.24	11 ±2.83	13.67±5.19
	03	11.33 ±1.89	10.67±1.70	14±0.0
	07	10±3.46	11.33±0.58	12±0.0
	09	9.67±0.58	10.67±1.15	12±0.0
	ATCC 29213	14±3.46	15±5.20	11±0.0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	06	14±5.20	16±0.0	19±1.73
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	6±0.0	6±0.0	6±0.0
	04	6±0.0	6±0.0	6±0.0
	05	6±0.0	6±0.0	6±0.0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	08	14.33±4.93	16±1	20±2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	02	9.67±1.15	11±1.73	10±0.0
	03	9.67±1.15	10.67±0.58	13.33±5.77
	07	11.33±0.58	13±0.0	11 ±0.0
	ATCC 700603	11.33±0.58	9±0.0	12±0.0



**Figure 19 :** Activité antibactérienne des trois huiles essentielles seul (M : *Mentha spicata*, A: *Artemisia herba –alba* Asso, R: *Rosmarinus officinalis* L) contre *S. pyogenes* (photo originale, 2025)

Les zones d'inhibitions montrent que les huiles essentielles testées ont une efficacité variable contre les souches bactériennes isolées chez les patients atteints du pied diabétique, avec une tendance générale indiquant que les souches de référence présentent une sensibilité plus élevée comparativement à certaines souches cliniques, telles que *Staphylococcus aureus* de référence a présenté une inhibition notable, particulièrement avec l'huile de *Mentha spicata* (21mm), tandis que certaines souches isolées ont montré une sensibilité réduite, avec des zones d'inhibition faibles, allant de 9 à 12 mm. Cela suggère que les bactéries cliniques peuvent développer des mécanismes de résistance suite à une exposition répétée aux agents antimicrobiens.

De même, *Staphylococcus epidermidis* isolé chez le sixième patient a montré une forte sensibilité, notamment face aux huiles d'*Artemisia herba-alba* Asso et de *Rosmarinus officinalis* L.

En ce qui concerne *Pseudomonas aeruginosa* les souches cliniques et de référence ont toutes affichées une résistance similaire, avec des zones d'inhibition faibles de 6 mm, reflétant la nature intrinsèquement résistante de cette bactérie et ses mécanismes de défense efficaces contre les agents antimicrobiens. Pour *Streptococcus pyogenes*, les résultats des souches cliniques des zones d'inhibition élevées atteignant 20mm, ce qui indique que cette bactérie reste sensible aux huiles essentielles.

Enfin, pour *Klebsiella pneumoniae* la réponse aux huiles essentielles était plus variable. Certaines souches cliniques ont montré une sensibilité moindre que la souche de référence, à l'exception notable d'une souche clinique pour laquelle l'huile de *Rosmarinus officinalis* L. a produit une inhibition de 20 mm. Cela laisse penser que l'efficacité dépend à la fois de la composition chimique de l'huile et des caractéristiques spécifiques de chaque souche bactérienne malgré qu'elles font partie de même espèce.

Ces comparaisons montrent que les souches de référence sont généralement plus sensibles que les souches cliniques, ce qui reflète la complexité du traitement en milieu réel. Ces différences soulignent l'importance de tester les huiles essentielles directement sur des isolats cliniques pour mieux évaluer leur efficacité thérapeutique dans des conditions réelles d'infection.

## 6 Activité synergique des huiles essentielles

Afin d'évaluer l'effet synergique potentiel des huiles essentielles testées, différentes combinaisons ont été appliquées sur les souches bactériennes isolées. Le **Tableau 5** présente les diamètres des zones d'inhibition (mm) pour chaque combinaison (S01 à S05), correspondant à des mélanges spécifiques d'huiles essentielles. Les résultats montrent une variation de l'activité antibactérienne selon les souches et les associations utilisées.

**Tableau 5 :** Zone d'inhibition(mm) observées pour différentes activités synergiques des huiles essentielles contre les souches bactériennes.

Bactérie	N° de patient	S01(mm)	S02(mm)	S03(mm)	S04(mm)	S05(mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	02	12±2	10,33±0,58	11,33±3,21	15,7±9,81	20±10,39
	03	15±8,66	16±8,66	18±12,12	16,67±9,81	21±16,46
	07	9,33±0,58	8,67±0,58	9,33±0,58	8±1,73	12±0,0
	09	11±3,46	10±1,73	11,67±2,89	11,67±4,62	15,67±8,08
	ATCC 29213	13,67±4,62	12,33±2,31	10,33±0,58	13,33±4,04	16±5,20
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	06	10,67±0,58	14±5,20	14,67±6,35	12±3,46	18,33±12,70
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	04	6±0,0	6±0,0	6±0,0	6±0,0	6±0,0
	05	6±0,0	6±0,0	6±0,0	6±0,0	6±0,0
	ATCC 27853	6±0,0	6±0,0	6±0,0	6±0,0	6±0,0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	08	9±1,73	13,33±4,04	13,67±6,35	9,67±2,89	18±10,39
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	02	10,33±0,58	10,67±1,15	11±1,73	10±1,73	12,67±2,89
	03	11±1,73	10,33±2,31	12±3,46	15±8,66	13,33±5,77
	07	10,67±1,15	11,33±0,58	12±1,73	12±0,0	14,67±1,15
	ATCC 700603	11±0,0	12±0,0	12±0,0	12,33±2,31	14,67±2,89

Les combinaisons des huiles essentielles :

S 1 : Mélange équimolaire (1V,1Vet 1V) des trois huiles (*Rosmarinus officinalis* L. + *Mentha spicata* L. + *Artemisia herba-alba* Asso).

S2 : Mélange (1V,1V) de (*Rosmarinus officinalis* L. + *Mentha spicata*)

S 3 : Mélange (1V,1V) de (*Rosmarinus officinalis* L. + *Artemisia herba-alba* Asso).

S 4 : Mélange (2V,1V) de (*Rosmarinus officinalis* L. + *Mentha spicata*).

S5 : Mélange (2V,1V) de (*Rosmarinus officinalis* L. + *Artemisia herba-alba* Asso).



**Figure 20:**Activité synergique des huiles contre *S. aureus* et *K. pneumoniae* (patient 2)  
(photo originale, 2025)

Les résultats dans le **tableau 5** montrent que l'activité antibactérienne varie en fonction de la nature et des proportions des huiles essentielles utilisées dans les mélanges. Les mélanges S4 et S5, contenant une concentration plus élevée en huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L., ont montré l'activité la plus marquée contre *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, avec des diamètres d'inhibition mesurés à 40mm et 33mm respectivement. Cela suggère que l'augmentation de la proportion de romarin renforce l'efficacité contre les bactéries à Gram positif.

En revanche, aucune activité n'a été observée contre *Pseudomonas aeruginosa* pour l'ensemble des mélanges (diamètre 6 mm), ce qui indique une résistance importante de cette souche. Concernant *Klebsiella pneumoniae* et *Streptococcus pyogenes*, l'activité reste modérée, probablement en raison de la complexité de la paroi cellulaire des bactéries à Gram négatif, qui limite la pénétration des composés bioactifs (Issabeagloo *et al.*, 2012).

### 7 Détermination de la CMI et de la CMB

La concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) ont été déterminées pour chaque souche bactérienne isolée dans le **Tableau 6**.

**Tableau 6:** Concentrations minimales inhibitrice et bactéricide de 3 huiles essentielles et de S 05

Bactérie	N° de patient	<i>Mentha spicata</i> L.		<i>Artemisia herba-alba</i> Asso		<i>Rosmarinus officinalis</i> L.		S 05	
		CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i>	P02	24±0,0	48±0,0	20±0,0	40±0,0	0,95±0,0	37,5±0,0	21,5±0,0	43,5±0,0
	ATCC 29213	24±0,0	48±0,0	3,8±0,0	7,5±0,0	19±0,0	37,5±0,0	1,63±0,0	3,3±0,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	P06	8,1±0,0	48±0,0	7,5±0,0	15±0,0	0,95±0,0	18,8±0,0	8,15±0,0	16,3±0,0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	P08	9±0,0	18±0,0	20±0,0	40±0,0	0,5±0,0	3,9±0,0	5,3±0,0	21,8±0,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	P07	24±0,0	48±0,0	25±0,0	40±0,0	6,2±0,0	12,5±0,0	27±0,0	43,5±0,0
	ATCC 700603	48±0,0	48±0,0	7,5±0,0	15±0,0	19±0,0	37,5±0,0	10,9±0,0	21,8±0,0

Les résultats de notre étude ont révélé une activité antibactérienne variable des huiles essentielles de *Mentha spicata*, *Artemisia herba-alba* Asso et *Rosmarinus officinalis* L vis-à-vis des souches bactériennes isolées chez des patients atteints du pied diabétique.

L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L s'est distinguée par son fort pouvoir inhibiteur et bactéricide, notamment contre *Streptococcus pyogenes* (CMI = 0,5 mg/ml, CMB = 3,9 mg/ml), traduisant une efficacité remarquable. Ces données sont en accord avec celles rapportées par **Issabeagloo et al. (2012)**, qui ont souligné une activité antibactérienne élevée de cette huile contre les bactéries à Gram positif.

L'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Asso a montré une bonne efficacité antibactérienne, avec des CMI de 20 mg/ml et des CMB de 40 mg/ml contre *S. aureus*, et une CMI de 7,5 mg/ml pour une CMB de 15 mg/ml contre *S. epidermidis*. Ces résultats confirment ceux de **Nasser et al., (2018)**, qui ont mis en évidence le potentiel de cette huile contre plusieurs souches bactériennes multirésistantes.

En ce qui concerne *Mentha spicata*, les résultats indiquent une activité antibactérienne modérée, avec des CMI relativement élevées (jusqu'à 24 mg/ml) et des CMB atteignant 48 mg/ml contre *S. aureus* et *K. pneumoniae*. Cette tendance a également été rapportée par **Muntean et al. (2019)**, qui ont observé une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 20mg/ml et une concentration minimale bactéricide (CMB) de 40 mg/ml pour l'huile essentielle de *Mentha spicata* contre *S. aureus*, y compris des souches multirésistantes

Face aux bactéries Gram-négatives, telles que *K. pneumoniae*, les trois huiles ont montré une efficacité réduite, avec des CMI et CMB atteignant respectivement 48 mg/ml. Cette faible sensibilité peut s'expliquer par la structure spécifique de la membrane externe des bactéries Gram-négatives. **Muntean et al. (2019)** ont également rapporté une CMI de 40 mg/ml pour la même huile contre *K. pneumoniae*, corroborant nos observations.

# *Conclusion*

Cette étude a permis de démontrer le potentiel antibactérien des huiles essentielles extraites de plantes utilisées traditionnellement dans le traitement des infections, notamment celles associées au pied diabétique. Les résultats obtenus mettent en évidence une activité significative de certaines huiles, en particulier *Rosmarinus officinalis* L, ainsi que l'intérêt des effets synergiques lorsqu'elle est combinée à d'autres huiles comme *Mentha spicata* et *Artemisia herba-alba* Asso avec des proportions bien déterminées.

Les mélanges S5 (2V de *Rosmarinus officinalis* L + 1V d'*Artemisia herba-alba* Asso), à forte teneur en huile de romarin, se sont révélés les plus efficaces contre les bactéries à Gram positif telles que *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, tandis qu'aucune activité n'a été observée contre *Pseudomonas aeruginosa*. Ces observations soulignent non seulement l'importance du choix des plantes, mais aussi des proportions utilisées dans les mélanges pour montrer l'effet synergique.

Ainsi, les huiles essentielles, seules ou en combinaison, représentent une piste prometteuse pour le développement d'alternatives naturelles aux antibiotiques classiques, en particulier contre la résistance bactérienne. Des études complémentaires, portant sur l'identification des composés actifs et l'évaluation *in vivo*, telles que des essais sur des modèles animaux diabétiques pour observer l'efficacité antibactérienne et la cicatrisation des plaies, seront nécessaires pour confirmer leur efficacité et leur sécurité d'utilisation surtout superficielle pour minimiser et même éviter les effets indésirables liés au longue durée de consommation des antibiotiques dans le cas des pied diabétiques.

# *Références*

Références

1. Abdullahi, B., & Lawal, F. B. (2024). Isolation, identification and antibiotic susceptibility patterns of bacteria associated with wound of patients attending Ahmadu Bello University Teaching Hospital, Shika, Zaria-Nigeria. *Science World Journal*, 19(3), Article 3.
2. Abou El-Hamd, M., El-Sayed, M. A., Hegazy, M. E., Helaly, S. E., Esmail, A. M., & Mohamed, N. S. (2010). Chemical Constituents and Biological Activities of. *Rec. Nat. Prod.*
3. Ahmed chaouch, C., & Benzoukh, A. (2020). *Etude rétrospective sur l'activité hémolytique et anti-hémolytique des huiles essentielles de quelques plantes médicinales* [PhD Thesis, UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA]. <https://dspace.univ-ouargla.dz/jspui/handle/123456789/29063>
4. Anbri, C. E., Eddaya, T., Boughdad, A., Chaimbault, P., & Zaid, A. (2022). Essential oil chemical diversity of Moroccan mint (*Mentha spicata* L.). *Moroccan Journal of Agricultural Sciences*, 3(3), Article 3. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8027394>
5. Angioni, A., Barra, A., Cereti, E., Barile, D., Coisson, J. D., Arlorio, M., Dessi, S., Coroneo, V., & Cabras, P. (2004). Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3530–3535. <https://doi.org/10.1021/jf049913t>
6. Aouchiche, M., & Kechkar, I. (2013). *Extraction et évaluations de l'activité antibactérienne et cicatrisante de l'huile essentielle d'artemisia herba alba* [Thesis, École Nationale Supérieure Vétérinaire]. <http://depot.ensv.dz:8080/jspui/handle/123456789/1454>
7. Armstrong, D. G., Boulton, A. J. M., & Bus, S. A. (2017). Diabetic Foot Ulcers and Their Recurrence. *New England Journal of Medicine*, 376(24), 2367–2375. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1615439>
8. Atmani–Merabet, G., & Belkhiri, A. (2018). *Huiles essentielles de trois espèces d'Eucalyptus d'Algérie* [PhD Thesis]. Université Frères Mentouri-Constantine 1.
9. Baali, F., Boumerfeg, S., Napoli, E., Boudjelal, A., Righi, N., Deghima, A., Baghiani, A., & Ruberto, G. (2019). Chemical Composition and biological activities of essential oils from two wild algerian medicinal plants: *Mentha pulegium* L. and *Lavandula*

- stoechas* L. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(3), 821–837.  
<https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1642800>
10. Badri, G., & Tahri, N. (2016). *Aspect bactériologique des infections du pied diabétique*. <http://oldspace.univ-tebessa.dz:8080/xmlui/handle/123456789/2059>
11. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.  
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
12. Benabdelhafid, S. (2020, October 15). *Isolement et pré-identification des bactéries responsables des infections du pied diabétique*.
13. Benmessaoud, A., & Chabane Chaouch, F. Z. (2015). *Activité antibactérienne des huiles essentielles de Thymus fontanessi, de Mentha spicata et de Mentha pulegium sur deux souches de Pseudomonas. Application sur la soupe de poisson*. [Université Mouloud Mammeri].
14. Benzidane, J., & Ibessaine, N. (2022). *Evaluation de la toxicité de deux huiles essentielles Basilic (Ocimum basilicum) et Romarin (Rosmarinus officinalis L) à l'égard des populations des moustiques Culex pipiens (Diptère: Culicidae)* [PhD Thesis, Université Mouloud Mammeri].  
<https://dspace.ummo.dz/bitstreams/a2177bdb-5b6e-4eca-a3fb-115039f1dd40/download>
15. Boutabia, L., Telailia, S., Bouguetof, I., & Guenadil, F. (2016). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85.
16. Carles, G., Germain, L., Alassas, N., El Guindi, W., Dallah, F., & Daigre, J.-L. (2010). Traitement du diabète gestationnel par hypoglycémiant oraux. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de La Reproduction*, 39(2), 139–143.  
<https://doi.org/10.1016/j.jgyn.2009.12.002>
17. Cattoir, V., & Leclercq, R. (2010). Les entérocoques résistants aux glycopeptides. *Médecine/Sciences*, 26(11), 936–942.
18. Chahbi, A. (2020). *Etude des propriétés biologiques et thérapeutiques des huiles essentielles de trois plantes aromatiques (Thymus vulgaris, Cinnamomum cassia et Origanum compactum): Applications pratiques en aviculture*.
19. Chidiac, C., Bru, J. P., Choutet, P., Decazes, J. M., Dubreuil, L., Leport, C., Lina, B., Perronne, C., Pouchain, D., & Quinet, B. (2007). Recommandations pour la pratique

- clinique Prise en charge du pied diabétique infecté Texte long. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 37, 26–50.
20. Denis, F., Cattoir, V., Martin, C., & Ploy, M.-C. (2016). *Bactériologie médicale: Techniques usuelles*. Elsevier Health Sciences.
  21. Doumbia, A. (2022). *Etude de la résistance aux antibiotiques des espèces de «Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter baumannii» ISOLEES DE JANVIER 2020 A DECEMBRE 2020 DANS UN LABORATOIRE PRIVEE A BAMAKO (SUR UNE PERIODE DE 12 MOIS)* [PhD Thesis, USTTB]. <https://bibliosante.ml/bitstream/handle/123456789/5384/22P13.pdf?sequence=1>
  22. Durand, A.-C. (2012). *La sixième complication du diabète*.
  23. Gérald, K. (2018). *Staphylococcus aureus se met transitoirement en dormance pour utiliser les acides gras de l'hôte et échapper à une inhibition par un anti-FASII: Quel signal active son réveil?* [PhD Thesis, Université Paris Saclay (COMUE)]. <https://theses.hal.science/tel-02937441/>
  24. Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Isamili, M. R., Houti, H., El Monfalouti, H., Benchakroun, K. H., Aberchane, M., Harki, L., Boukir, A., Chaouch, A., & Charrouf, Z. (2010). Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba L*) de la région de Guerçif (Maroc oriental). *Phytothérapie*, 8(5), 295–301. <https://doi.org/10.1007/s10298-010-0578-1>
  25. Golparvar, A. R., & Hadipanah, A. (2016). Diversity in chemical composition and yield of essential oil from two *Mentha* species. *Genetika*, 48(3), 1101–1110.
  26. González-Minero, F. J., Bravo-Díaz, L., & Ayala-Gómez, A. (2020). *Rosmarinus officinalis L* L. (Rosemary): An Ancient Plant with Uses in Personal Healthcare and Cosmetics. *Cosmetics*, 7(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/cosmetics7040077>
  27. Guidadou, F. zohra, & Kassoussi, D. (2022). *Activité antibactérienne des huiles essentielles de la plante Rosmarinus officinalis L. L.* <https://doi.org/06-2022>
  28. Guira, O., Tiéno, H., Traoré, S., Diallo, I., Ouangré, E., Sagna, Y., Zabsonré, J., Yanogo, D., Traoré, S. S., & Drabo, Y. J. (2015). Écologie bactérienne et facteurs déterminant le profil bactériologique du pied diabétique infecté à Ouagadougou (Burkina Faso). *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 108(5), 307–311. <https://doi.org/10.1007/s13149-015-0442-5>
  29. Hidar, S., Ghezlaoui-Bendi-Djelloul, B.-D., Abi-Ayad, L., & Benaradj, A. (2024). Ethnobotanical Study of an Asteraceae *Artemisia herba alba* (Asso.) in Chott El

- Gharbi (Western Algeria). *Annals of “Valahia” University of Târgoviște. Agriculture*, 16(1), 6–9. <https://doi.org/10.2478/agr-2024-0002>
30. Ikram, L., & Radia, L. (2020). *Étude de l’activité antibactérienne de l’huile essentielle de la plante médicinale Mentha rotundifolia. L vis-à-vis des souches pathogènes*.
31. Issabeagloo, E., Kermanizadeh, P., Taghizadieh, M., & Forughi, R. (2012). Antimicrobial effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L L.) essential oils against *Staphylococcus* spp. *African Journal of Microbiology Research*, 6(23), 5039–5042.
32. Joffin, J. N., & Leyral, G. (2006). *Microbiologie technique tome 1 dictionnaire des techniques. Bordeaux, France, Centre Régional de Documentation d’Aquitaine*.
33. Karen, R. (2010). *Catalase Test Protocol*. <https://asm.org/getattachment/72a871fc-ba92-4128-a194-6f1bab5c3ab7/catalase-test-protocol.pdf>
34. Khalifa, A. B. H., Moissenet, D., Thien, H. V., & Khedher, M. (2011). Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa*: Mécanismes et modes de régulations. *Annales de Biologie Clinique*, 69(4), 393–403.
35. Lipsky, B. A., Berendt, A. R., Cornia, P. B., Pile, J. C., Peters, E. J. G., Armstrong, D. G., Deery, H. G., Embil, J. M., Joseph, W. S., Karchmer, A. W., Pinzur, M. S., & Senneville, E. (2012). 2012 Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Diabetic Foot Infectionsa. *Clinical Infectious Diseases*, 54(12), e132–e173. <https://doi.org/10.1093/cid/cis346>
36. Mahendran, G., Verma, S. K., & Rahman, L.-U. (2021). The traditional uses, phytochemistry and pharmacology of spearmint (*Mentha spicata* L.): A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 278, 114266. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114266>
37. Meunier, L., Aguadé, A.-S., Verboux, D., Videau, Y., Gastaldi-Ménager, C., & Fagot-Campagna, A. (2019). Recours à l’insulinothérapie: Quels déterminants de l’instauration d’un traitement par pompe à insuline versus multi-injections ? *Revue d’Épidémiologie et de Santé Publique*, 67, S92. <https://doi.org/10.1016/j.respe.2019.01.058>
38. Mohamed, F. (2020). *Les bacteries anaerobies, quand et ou les chercher’*. <https://toubkal.imist.ma/handle/123456789/29534>
39. Monnier, L., & Colette, C. (2016). Échec des antidiabétiques oraux à doses maximales tolérées: Quels traitements injectables? *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 10(2), 121–130. [https://doi.org/10.1016/S1957-2557\(16\)30030-X](https://doi.org/10.1016/S1957-2557(16)30030-X)

40. Monnier, L., Fève, B., & Halimi, S. (2021). Classifications des diabètes qui surviennent chez l'adulte: Actualisation. *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 15(7), 687–692. <https://doi.org/10.1016/j.mmm.2021.10.001>
41. Muntean, D., M, L., E, A., I, P., C, J., V, B., Ca, D., R, G., F, H., D, H., & C, D. (2019). Evaluation of essential oil obtained from *Mentha piperita* L. against multidrug-resistant strains. *Infection and Drug Resistance*, 12. <https://doi.org/10.2147/IDR.S218141>
42. Nadia, B., M'hamed, B., Elkhansa, M., & Soumia, B. (2019). *Etude prospective de profil bactériologique des infections du pied diabétique dans la région de ouargla (sahara, algerie)*. <http://dspace.univ-ouargla.dz/jspui/handle/123456789/27343>
43. Nadjmaoui, H., amrani, N., & mahfoudi, A. (2021, 2022). *Contribution à l'étude ethnobotanique et caractérisation phytochimique de deux plantes médicinales (Rosmarinus officinalis L. et Cotula cinerea) cultivées dans la région d'Aougrout, Wilaya de Timimoun*. <https://www.theses-algerie.com>
44. Nasri, I. (2022). Diabète gestationnel, y a-t-il une différence entre le diabète gestationnel précoce et le diabète gestationnel non précoce? *Annales d'Endocrinologie*, 83(5), 355. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2022.07.205>
45. Nasser, H., Lara Hanna, W., & Nabil, N. (2018, April). *Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Artemisia herba-alba l asso., asteraceae*.
46. Prestinaci, F., Pezzotti, P., & Pantosti, A. (2015). Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon. *Pathogens and Global Health*, 109(7), 309–318. <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000030>
47. Richard, J.-L., Sotto, A., & Lavigne, J.-P. (2011). New insights in diabetic foot infection. *World Journal of Diabetes*, 2(2), 24.
48. Sabate, J.-M. (2022). *Recommandations sur la prise en charge du Syndrome de l'Intestin Irritable (SII)*.
49. Sanja, C.´avar Z., Šišková, J., Komzáková, K., De Diego, N., Kaffková, K., & Tarkowski, P. (2021). Phenolic compounds and biological activity of selected *Mentha* species. *Plants*, 10(3), 550.
50. Selka, M. A., Chenafa, A., & Achouri, M. Y. (2022). Mise au point et activité biologique d'une crème à base d'huile essentielle de clou de girofle. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 80(4), 507–518. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003450921001772>

51. Shah, P., Eswarawaka, M., Anne, D., Shah, P., & Srivastava, N. (2021). Bacteriological profile of diabetic foot. *Int Surg J*, 8(2), 704–709.
52. Smiline Giriya, A., & Vijayashree Priyadharsini, J. (2019). CLSI based antibiogram profile and the detection of MDR and XDR strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from urine samples. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*, 33, 3. <https://doi.org/10.34171/mjiri.33.3>
53. Souhila, T., & Ahmed, B. (2011). *L'activité antagoniste des bactéries lactiques (Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium bifidum et Lactobacillus bulgaricus) vis-à-vis de la souche Helicobacter pylori responsable des maladies gastroduodénales.*
54. Sue Katz, D. (2010). *Coagulase Test Protocol.* Sue Katz. <https://asm.org/asm/media/protocol-images/coagulase-test-protocol.pdf?ext=.pdf/1000>
55. Tchokponhoue Kpodekon, M., Boko, K. C., Mainil, J., Farougou, S., Sessou, P., Yehouenou, B., Gbenou, J., Duprez, J.-N., & Bardiau, M. (2013). Composition chimique et test d'efficacité in vitro des huiles essentielles extraites de feuilles fraîches du basilic commun (*Ocimum basilicum*) et du basilic tropical (*Ocimum gratissimum*) sur *Salmonella enterica* sérotype Oakland et *Salmonella enterica* sérotype Legon. *Journal de La Société Ouest-Africaine de Chimie*, 35 :48-41.
56. Tebbani, S., Tebbani, I., & Yahiouche, I. (2022, 2023). *Evaluation de l'activité antimicrobienne de quelques plantes médicinales: L'Artemisia herba-alba L, Thymus sp. Et Syzygium aromaticum.*
57. Wainsten, J.-P. (2009). *Le Larousse médical—Jean-Pierre Wainsten—Librairie Eyrolles.* <https://www.eyrolles.com/Loisirs/Livre/le-larousse-medical-9782035822925/>
58. Wens, J., Dirven, K., Mathieu, C., Paulus, D., Van Royen, P., & Group, B. D. P. (2007). Quality indicators for type-2 diabetes care in practice guidelines: An example from six European countries. *Primary Care Diabetes*, 1(1), 17–23.
59. *World Health Organization (WHO)*. (2013). <https://www.who.int>
60. Zenasni, N. (2019). *Isolement Et Identification Des Germes À Partir Des Plaies Infectées Chez Les Diabétiques.*

# *Annexes*

## Annexe 01 : Matériel utilisé

- ❖ Microscope optique
- ❖ Ecouvillons stériles
- ❖ Anse de platine
- ❖ Micropipette
- ❖ Boîtes de pétri
- ❖ Tubes à essais
- ❖ Lames et lamelles
- ❖ Etuve
- ❖ Bec bunsen
- ❖ Vortex
- ❖ Eau oxygénée
- ❖ Eau distillée
- ❖ Clevanger
- ✓ **Tests biochimiques**
- ❖ Galerie API20 E
- ✓ **Réactifs**
- ❖ Huile de paraffine
- ❖ Kovax
- ❖ TDA
- ❖ NIN
- ❖ VP 1 et VP 2
- ❖ ZYMA et ZYM B
- ❖ Nitrate réductase
- ❖ Rouge de phénol
- ❖ Violet de gentiane
- ❖ Lugol
- ❖ Fuchsine
- ❖ Ethanol

## Les milieux de culture

- Milieux de culture liquides
  - Bouillon nutritive

- Milieux de culture solides
  - Le milieu de sang cuit
  - Le milieu de Chapman
  - Le milieu au Cétrimide
  - Le milieu de Gélose Nutritive
  - Gélose Héктоèn
  - Milieu Muller Hinton

## **Annexe 02 : Milieux de culture**

### **Gélose nutritive**

- 1) Peptone 10g
- 2) Extrait de viande 5g
- 3) Chlorure de sodium 5g
- 4) Agar 10g
- 5) pH=7.3

### **Gélose Héктоèn**

- 1) Protéase peptone 12 g
- 2) Extrait de levure 3 g
- 3) Lactose 12 g
- 4) Sucrose 12 g
- 5) Salicine 2g
- 6) Mélange de sel biliaire 9 g
- 7) Chlorure de sodium 5 g
- 8) Thiosulfate de sodium 5 g
- 9) Citrate d'amminium ferrique 1.5 g
- 10) Fuchsine acide 0.1 g
- 11) Bleu de bromothymol 0.064 g
- 12) Agar 14 g
- 13) pH = 7.5

**Gélose au Sang frais**

Gélose nutritive additionné de sang

**Milieu de Chapman**

Extrait de viande 1g

Digestion pancréatique de caséine 5 g

Digestion peptique de u animal 5g

Chlorure de sodium 75 g

D - Mannitol 10 g

Agar 15g

Rouge de phénol 0,025g

pH=7,4

**Milieu Muller Hinton**

Infusion de viande de bœuf déshydraté 300 g

Hydrolysats de caséine 17.5 g

Amidon de maïs 5 g

Agar 13 g

Eau distillée 1000 ml

**Milieu Muller Hinton liquide**

Peptone 150g

Amidon 2,5g

Extrait de viande 8,75g

Eau distillée 500 ml

**Bouillon nutritif**

Tryptone 10g

Extrait de viande 5g

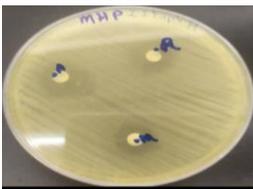
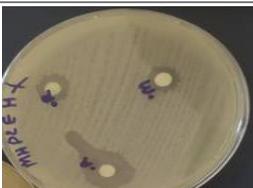
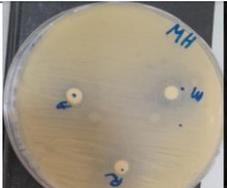
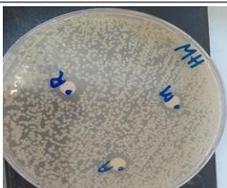
Chlorure de sodium 5g

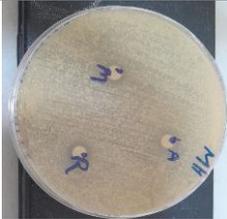
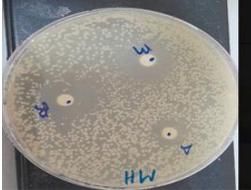
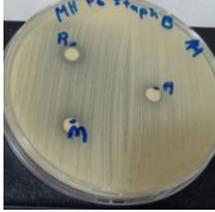
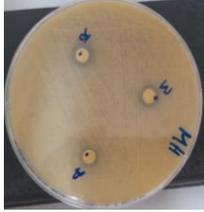
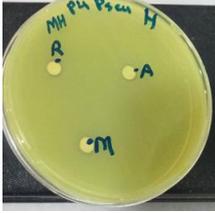
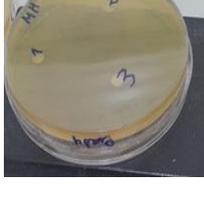
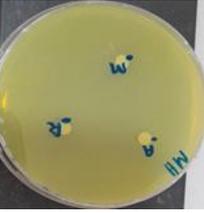
**Annexe 03 : Tableaux**

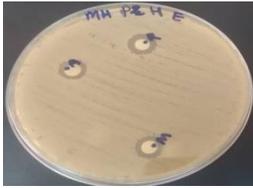
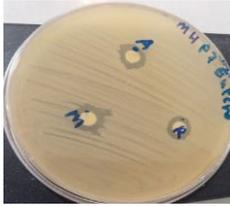
**Tableau 1:** les lieux où sont effectués des prélèvements

Patient 02	Patient 03	Patient 04	Patient 05
			

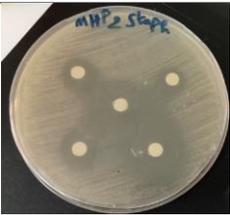
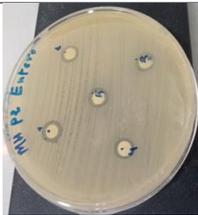
**Tableau 2:** photo des zones d'inhibition d'activité des huiles essentielles seul contre les souches bactériennes isolées et référencé.

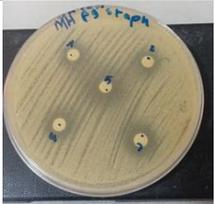
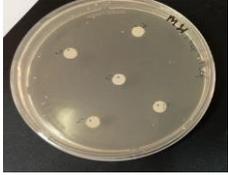
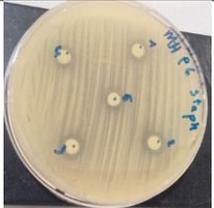
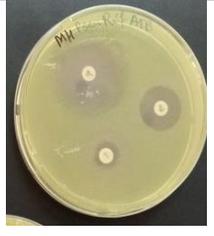
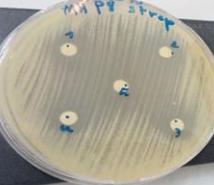
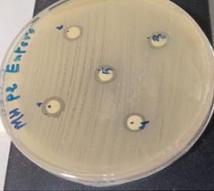
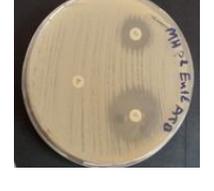
Bactérie	N° de patient	Premier activité	Répétition01	Répétition02
<i>Staphylococcus aureus</i>	02			
	03			
	07			

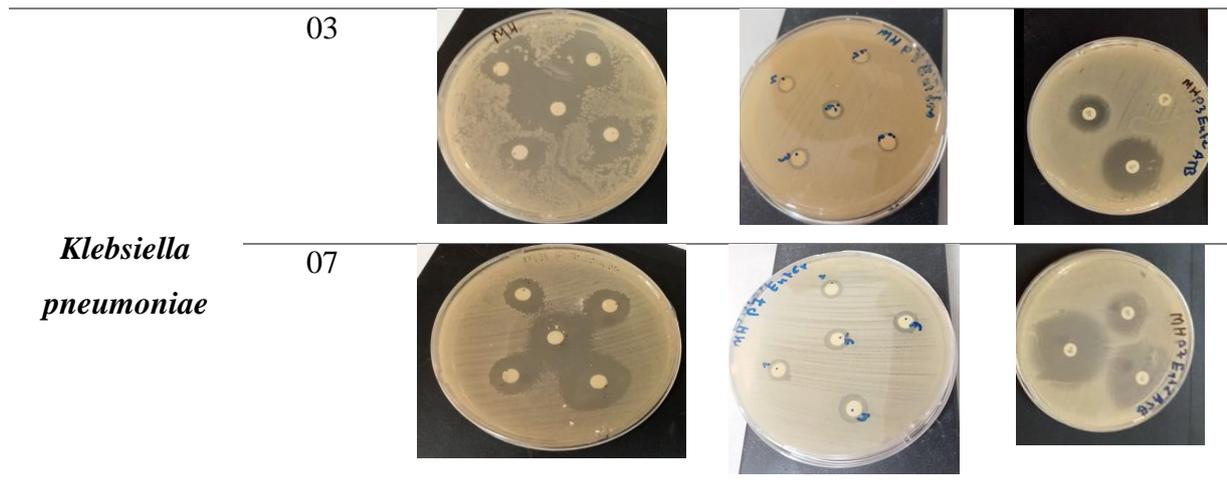
	09			
	ATCC 29213			
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	06			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	04			
	05			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853			
<i>Streptococcus pyogenes</i>	08			

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	02			
	03			
	07			

**Tableau 9 :** Zones d'inhibition (en mm) observées pour différentes combinaisons d'huiles essentielles (activité synergique) contre les souches bactériennes isolées et référencé.

Bactérie	N°de patient	Premier activité	Répétition01	Antibiogramme
<i>Staphylococcus aureus</i>	02			
	03			
	07			

	09			
	ATCC 29213			
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	06			
	04			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	05			
	ATCC 27853			
<i>Streptococcus pyogenes</i>	08			
	02			



**Tableau 10** : Les caractéristiques biochimiques des bactéries.

Bactérie	Coagulase	Gram	Oxydase	Catalase	Forme
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	-	+	Cocci
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	+	-	+	Cocci
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	+	+	Bacille
<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	+	-	-	Cocci
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	+	Bacille

Tableau3 : Tableau de la lecture de l'API 20E.

<b>TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E</b>						
Microtube	Substrat :	Caractère recherché	Révéléteur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	 Download
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Béta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de phénol	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Fe III	Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte		
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte	 	 
VP	Pyruvate de sodium	production d'acétoïne (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte		 
GEL	Gélatine	gélatinase	Particules de charbon	Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO <sub>2</sub> / N <sub>2</sub>	Nitrates (NO <sub>3</sub> )	Nitrate réductase		Lecture indirecte		

GEL	Gélatine charbon	+ gélatinase	Pas de diffusion du pigment noir	Diffusion du pigment noir
GLU	glucose	fermentation/oxydation	Bleu/Bleu-Vert	Jaune
MAN	mannitol	fermentation/oxydation	Bleu/Bleu-Vert	Jaune
INO	inositol	fermentation/oxydation	Bleu/Bleu-Vert	Jaune
SOR	sorbitol	fermentation/oxydation	Bleu/Bleu-Vert	Jaune
RHA	rhamnose	fermentation/oxydation	Bleu/Bleu-Vert	Jaune
SAC	sucrose	fermentation/oxydation	Bleu/Bleu-Vert	Jaune
MEL	melibiose	fermentation/oxydation	Bleu/Bleu-Vert	Jaune
AMY	amygdaline	fermentation/oxydation	Bleu/Bleu-Vert	Jaune
ARA	arabinose	fermentation/oxydation	Bleu/Bleu-Vert	Jaune
OX	oxydase	oxydase	Sans couleur/Jaune	Violet
<b>TEST</b>	<b>SUBSTRAT</b>	<b>REACTION TESTEE</b>	<b>RESULTAT Négatif</b>	<b>RESULTAT Positif</b>
ONPG	ONPG	beta-galactosidase	Sans couleur	Jaune
ADH	arginine	arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/Orange
LDC	lysine	lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/Orange
ODC	ornithine	ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/Orange
CIT	citrate	utilisation du citrate	Vert pâle /Jaune	Bleu-Vert/Bleu
H2S	Na thiosulfate	production d'H2S	Sans couleur/gris	Dépôt noir
URE	urée	hydrolyse de l'urée	Jaune	Rouge/Orange
TDA	tryptophane	désaminase	Jaune <b>(+réactif TDA)</b>	Marron-Rouge <b>(+réactif TDA)</b>
IND	tryptophane	production d'indole	Jaune <b>(+réactif JAMES)</b>	Rouge (2 min) <b>(+réactif JAMES)</b>
VP	Pyruvate de sodium	production d'acétoïne	Sans couleur <b>(+réactif VP1)</b> <b>(+réactif VP2)</b>	Rose/Rouge (10min) <b>(+réactif VP1)</b> <b>(+réactif VP2)</b>

Tableau 12 : fiche de patient.

Etablissement : Hôpital de trichine Ibrahim et Clinique Publique de Santé de Thénia										
Patient	Date	Sexe (M/F)	Age (Ans)	Diabète (Confirmant Par Médecin)	Catégorie		Duré de la maladie		Traitement	
					Pied Diabétique	Infection de Plaie chez un Diabétique	Diabète	Infection	Antidiabétique	Antibiothérapie
P1	06/02/2025	M	55	OUI	OUI	X	Depuis 25 ans	15 jours	- Insuline rapide - Insuline Lantus	-Ciprofloxacine 400mg/12h -Claforan 2g/6h -Flagyl 0,5/8h
P2	06/02/2025	M	40	OUI	X	OUI	Depuis 11 moins	10jours	- Glucophage 850mg/12h	-Tienam 500mg/6h - Flagyl 0,5/8h
P3	06/02/2025	M	63	OUI	OUI	X	Depuis 13 ans	20jours	Insuline	- Flagyl 0,5 - Ciprofloxacine 500mg
P4	12/02/2025	M	41	OUI	OUI	X	2 ans	4 moins	Insuline	-Flagyl 500mg -Gentamycine 80mg -Ciprofloxacine 500mg

<b>P5</b>	12/02/2025	F	38	OUI	X	OUI	1ans	8 jours	Insuline	?
<b>P6</b>	12/02/2025	M	40	OUI	OUI	X	5 moins	28 jours	Glucophage 500 mg	?
<b>P7</b>	12/02/2025	M	72	OUI	OUI	X	26 ans	35 jours	Insuline	- ? -
<b>P8</b>	12/02/2025	M	42	OUI	OUI	X	2 ans	4 moins	Insuline	- Flagyl 500mg - Gentamycine 80mg - Ciprofloxacine 500mg
<b>P9</b>	12/02/2025	M	39	OUI	OUI	X	6 ans	2ans	Insuline + Glucophage 500 mg	- Ciprofloxacine 500mg

## Annexe 04 : Les normes d'antibiogramme

Tableau 4: Entérobactérie

Antibiotiques Testés	Résistant ( $\leq$ )	Intermédiaire	Sensible ( $\geq$ )
Ampicilline (AM)	$\leq 13$	14 - 16	$\geq 17$
Amoxicilline (AMC)	$\leq 13$	14 - 17	$\geq 18$
Cefazoline (CZ)	$\leq 19$	20 - 22	$\geq 23$
Cefoxitine (FOX)	$\leq 14$	15 - 17	$\geq 18$
Cefotaxime (CTX)	$\leq 22$	23 - 25	$\geq 26$
Aztréonam (ATM)	$\leq 17$	18 - 20	$\geq 21$
Imipenème (IPM)	$\leq 19$	20 - 22	$\geq 23$
Ertapénème (ETP)	$\leq 18$	19 - 21	$\geq 22$
Amikacine (AK AN)	$\leq 14$	15 - 16	$\geq 17$
Gentamicine (CN)	$\leq 12$	13 - 14	$\geq 15$
Acide Nalidixique (NA)	$\leq 13$	14 - 18	$\geq 19$
Ciprofloxacine (CIP)	$\leq 21$	22 - 25	$\geq 26$
Chloramphénicol (C)	$\leq 12$	13 - 17	$\geq 18$
Colistine (CT)	-----	-----	-----
Fosfomycine (FF)	$\leq 12$	13 - 15	$\geq 16$

Tableau 5: Staphylococcus

Antibiotiques Testés	Résistant ( $\leq$ )	Intermédiaire	Sensible ( $\geq$ )
Pénicilline (P)	$\leq 28$	-----	$\geq 29$
Céfoxitine (FOX)	$\leq 21$	-----	$\geq 22$
Gentamicine (CN)	$\leq 12$	13 - 14	$\geq 15$
Amikacine (AK) S. aureus	$\leq 16$	-----	$\geq 18$
S.C.N	$\leq 19$	-----	$\geq 22$
Érythromycine (E)	$\leq 13$	14 - 22	$\geq 23$
Clindamycine (DA)	$\leq 14$	15 - 20	$\geq 21$
Vancomycine (VA)	-----	-----	-----
Ofloxacine (OFX)	$\leq 14$	15 - 17	$\geq 18$
Ciprofloxacine (CIP)	$\leq 15$	16 - 20	$\geq 21$
Lévofloxacine (LEV)	$\leq 15$	16 - 18	$\geq 19$
Rifampicine (RA)	$\leq 16$	17 - 19	$\geq 20$
Tétracycline (TE)	$\leq 14$	15 - 18	$\geq 19$
Chloramphénicol (C)	$\leq 12$	13 - 17	$\geq 18$
Acide fusidique (AF)	$\leq 24$	-----	$\geq 24$
Fosfomycine (FF)	$\leq 23$	-----	$\geq 23$

Tableau 6: *Streptococcus*

Antibiotiques Testés	Résistant ( $\leq$ )	Intermédiaire	Sensible ( $\geq$ )
Pénicilline (P)	-----		-----
Ampicilline (AMP)	-----		-----
Cefotaxime (CTX)	$\leq 25$		$\geq$
Érythromycine (E)	$\leq 15$		$\geq$
Clindamycine (DA)	$\leq 15$		$\geq$
Tétracycline (TE)	$\leq 18$		$\geq$
Ofloxacin (OFX)	$\leq$		$\geq$
Lév ofloxacin (LEV)	$\leq$		$\geq$
Rifampicine	$\leq$		$\geq$
Chloramphénicol (C)	$\leq$		$\geq$
Gentamicine (CN)	$\leq$		$\geq$

Tableau 7 : *Pseudomonas*

Antibiotiques Testés	Résistant ( $\leq$ )	Intermédiaire	Sensible ( $\geq$ )
Ticarcilline (TIC)	$\leq 15$	16–23	$\geq 24$
Tic + ac. clavulanique (TIM)	$\leq 15$	16–23	$\geq 24$
Pipéracilline (PRL-PIP)	$\leq 14$	15–20	$\geq 21$
Aztréonam (ATM)	$\leq 15$	16–21	$\geq 22$
Imipenème (IPM)	$\leq 15$	16–18	$\geq 19$
Amikacine (AK .AN)	$\leq 12$	15–16	$\geq 17$
Gentamicine (CN.HLG.GEN)	$\leq 12$	13 -14	$\geq 15$
Tobramycine (TOB)	$\leq 13$	13 -14	$\geq 15$
Ciprofloxacine (CIP)	$\leq 18$	19–24	$\geq 25$
Lév ofloxacin (LEV)	$\leq 14$	15–21	$\geq 22$
Fosfomycine (FF)	-----	-----	-----
Colistine (CT)	-----	-----	-----