



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université Abderrahmane MIRA de Béjaïa  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie

MEMOIRE

De

**Magister**

**OPTION : Microbiologie Appliquée**

*THEME*

*Effet des huiles essentielles d'Origanum  
glandulosum Desf. et d'Artemisia herba alba  
Asso. sur des bactéries multirésistantes.*

**Présenté par : M<sup>lle</sup> BEKKA Fahima**

**Soutenue le 25/05/2009 devant le jury :**

<b>Mlle LOUAILECHE H.</b>	<b>Professeur (UAMB)</b>	<b>Présidente</b>
<b>Mr BENALLAOUA S.</b>	<b>Professeur (UAMB)</b>	<b>Promoteur</b>
<b>Mme BENABDESSELLAM F.</b>	<b>M.Conf A (UAMB)</b>	<b>Co-promotrice</b>
<b>Mr KECHA M.</b>	<b>M.Conf A (UAMB)</b>	<b>Examineur</b>
<b>Mme ZAIDI R.</b>	<b>M.Conf A (UAMB)</b>	<b>Examinatrice</b>

**Année 2009**



## Remerciements

*Merci Allah de m'avoir appris, protégé, guidé tout au long de ma vie.*

*Je remercie d'autant que je ne remercie personne ma très chère mère et mon très cher père qui m'ont toujours soutenue. Mes remerciements, s'adressent également à mon très cher frère Fahem et ma très chère sœur Kahina qui ont su me soutenir.*

*Ce travail a été effectué au laboratoire de Biochimie Microbienne, au département de Microbiologie, à la faculté de Science de la Nature et de la Vie, sous la direction du Pr BENALLAOUA Saïd.*

*J'adresse mes remerciements à Mr BENALLAOUA S. pour m'avoir permis de travailler sur ce sujet et pour son aide, et de m'avoir appris les bases de la Microbiologie, qu'il trouve ici tout mon respect et ma gratitude.*

*Je remercie profondément M<sup>me</sup> BENADDESLLAM F. pour tout le soutien qu'elle m'a témoigné tout au long de cette étude, ses encouragements et ses conseils dans les moments difficiles.*

*Je tiens également à remercier très chaleureusement Mr TOUATI A. Aziz pour sa disponibilité au quotidien, son aide et pour ses conseils, et ses compétences scientifiques.*

*Je remercie chaleureusement M<sup>lle</sup> LOUAILECHE qui me fait l'honneur, de présider ce jury ainsi que M<sup>me</sup> ZAIDI et Mr KECHA qui me font l'honneur de juger ce travail.*

*Je remercie toute l'équipe du LMA, notamment Mr BELHADI D.*

*Je suis aussi très reconnaissante à Mr HOUARI H. forestier de la Direction de Conservation de Forêts pour son aide et ses conseils pertinents.*

*Je tiens également à remercier tout le personnel du Parc National de Gouraya.*

*Je remercie également M<sup>me</sup> AISSANI et M<sup>me</sup> BEZZI pour leurs aides inestimables.*

*Je remercie particulièrement Mr ADJAOUD, Mr BACHIR BEY, Mr BACHIR, Mr BENKHANOUCHE, Mr BEKDOUCHE et Mr SAHNOUN.*

*Je remercie particulièrement Mr MANKOU D., pour le montage du dispositif d'hydrodistillation.*

*Je remercie tous le personnel de l'hôpital Khelil Amrane notamment Mr BENKHAOUACHE S.*

*Je remercie également Mr AMROUCHE F., Mr DERICHE M., et Karima.*

*Je remercie le phytothérapeute Mr BESSAOU L. et tous les herboristes pour leurs aides inestimables.*

*J'exprime également ma gratitude à Mr LAOUER H. Maître de conférence à l'Université de Sétif, pour ses nombreux conseils, sa gentillesse et son aide illimité.*

*Je remercie Mr HADDAD et Mr BERRI de l'Université de l'USTHB.*

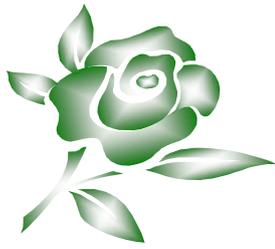
*Je tiens également à remercier Mr AMROUCHE Z. personnel à la CO.G.B.*

*Je remercie également tous les auteurs qui m'ont fourni la documentation, particulièrement Mr BENDJILALI B., et Mr TEP B.*

*Je tiens à remercier très chaleureusement Farida, Khadidja, Ibtissem, Samiha, Badria, Bettitra, Ghania, Khalida et Sabiha pour leurs aides inestimables.*

*Dans le souci de n'oublier personne, que ceux qui m'ont aidé de près où de loin, trouve dans ces lignes l'expression de ma gratitude.*





# DEDICACES



*A mes très chers parents que dieu les protège :*

*En témoignage de ma profonde affection, mon amour, qu'ils sachent que ce travail est en partie le fruit de leur soutien ; je leur suis très reconnaissante.*

*A mon adorable frère Fahem,*

*A mon adorable sœur Karina,*

*A mes chers grand parents particulièrement ma grande mère de coté maternel que j'aime beaucoup,*

*A toute ma famille,*

*A toutes mes amies : Farida, Fatiha, Habiba, Halima, Sabrina, Samia, particulièrement Khadidja,*

*A tous mes enseignants du primaire à ce jour,*

*A Cheikh BENFEDAL Ahmed et toutes les étudiantes de l'institut de Sidi Touati Hefd El Quran,*

*Au Post- Graduantes : Badria, Betittra, Ibtissem et Samiha,*

*A tous les miens.*



**FAHIMA**

# SOMMAIRE

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

**Introduction** 01

## **Chapitre 1 : Synthèse bibliographique**

I- Armoise blanche et Origan 03

I-1- Les plantes médicinales 03

I-2- Genre *Artemisia* L. (armoise) 03

    ❖ *Artemisia herba alba* Asso (Armoise blanche) 04

I-3- Genre *Origanum* « Zateur » 07

    ❖ *Origanum glandulosum* Desf. (Origan) 08

II- Généralités sur les huiles essentielles 11

II-1- Définition 11

II-2- Classification 11

II-3- Localisation des essences dans le végétal 12

II-4- Propriétés physiques des huiles essentielles 13

II-5- Composition chimique des huiles essentielles 13

    II-5-1- Terpénoïdes 14

        II-5-1-1- Monterpènes 15

        II-5-1-2- Sesquiterpènes 17

    II-5-2- Composés aromatiques 19

    II-5-3- Composés d'origines diverses 20

II-6- Rôle des métabolites secondaires dans les plantes; rôle des essences 21

II-7- Méthodes d'extraction des huiles essentielles 22

    II-7-1- Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau 22

    II-7-2- Extraction par les solvants 24

    II-7-3- Extraction par enfleurage 24

    II-7-4- Extraction par des gaz supercritique 24

II-7-5- Hydrodiffusion par miro-onde et à gravitation	25
II-8- Analyse des huiles essentielles	26
II-9- Conservation des huiles essentielles	27
II-10- Facteurs de variabilités des huiles essentielles	27
II-11- Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles et Aromathérapie	28
III- Aromatogramme et activité antibactérienne des huiles essentielles	30
III-1- Aromatogramme	30
III-1-1- Définition	30
III-1-2- Les principales techniques de l'aromatogramme	30
III-1-2-1- La technique de micro-atmosphère	30
III-1-2-2- Technique de l'aromatogramme qualitatif « milieu solide »	31
III-1-2-3- Technique de l'aromatogramme quantitatif « milieu liquide »	32
III-2- Activité antibactérienne et mécanisme d'action des huiles essentielles	33
III-3- Synergie entre les composants des huiles essentielles	36

## **Chapitre 2 : Matériel et Méthodes**

I- Matériel végétal	37
I-1- Identification des plantes	37
I-2- Echantillonnage	37
I-3- Séchage	39
II- Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation	39
III- Activité antibactérienne	42
III-1- Les souches bactériennes	42
III-2- Préparation de la suspension bactérienne initiale	43
III-3- Contrôle de la stérilité des huiles essentielles	43
III-4- Aromatogramme sur milieu solide (méthode des disques)	43
III-4-1- Préparation des dilutions des huiles essentielles	43
III-4-2- Evaluation de l'activité antibactérienne des différentes dilutions des huiles essentielles	44
III-5- Aromatogramme en micro-atmosphère	45
III-6- Aromatogramme en milieu liquide	46
IV- Analyse préliminaire des huiles essentielles par Chromatographie sur Couche Mince (CCM)	46

## **Chapitre 3 : Résultats et Discussion**

I- Séchage des plantes	48
I-1- Cinétique de séchage	48
I-2- Taux d'humidité	49
II- Les huiles essentielles	50
III- Activité antibactérienne	51
III-1- Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d' <i>Origanum glandulosum</i> et d' <i>Artemisia herba alba</i> sur milieu solide	51
III-1-1- Méthode des disques	51
III-1-1-1- Effet de différentes dilutions d'huile essentielle d'origan sur <i>S.aureus</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E.coli</i> , et <i>P.aeruginosa</i>	51
III-1-1-2- Effet de différentes dilutions d'huile essentielle d'armoise blanche sur <i>S.aureus</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E.coli</i> et <i>aeruginosa</i>	57
III-1-1-3- Comparaison de l'effet antibactérien d'huile essentielle d'origan et d'armoise blanche	61
III-1-2- Effet du temps de diffusion sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles	64
III-1-3- Activité bactéricide ou bactériostatique des molécules huiles essentielles diffusibles sur milieu solide	65
III-2- Quantités minimales Inhibitrices : effet des vapeurs d'huile essentielle	66
III-2-1- Effet antibactérien des vapeurs d'huile essentielle d'origan sur <i>K. pneumoniae</i> , <i>E.coli</i> et <i>S.aureus</i>	66
III-2-2- Effet antibactérien des vapeurs d'huile essentielle d'armoise blanche sur <i>K.pneumoniae</i> , <i>E.coli</i> et <i>S.aureus</i>	68
III-3- Détermination des Concentrations Minimales Inibitrices et Concentrations Minimales Bactéricides	71
III-4- Analyse préliminaire des huiles essentielles par Chromatographie sur Couche Mince (CCM)	74
<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>79</b>

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

### **Glossaire**

# Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> La composition chimique des huiles essentielles d' <i>Origanum glandulosum</i> Desf. de quelques régions d'Algérie	<b>10</b>
<b>Tableau II :</b> Composition de Monoterpènes	<b>15</b>
<b>Tableau III :</b> Caractéristiques et origines des souches testées	<b>42</b>
<b>Tableau IV :</b> Longueurs d'ondes maximales et nombre d'UFC/ml de chaque suspension bactérienne initiale	<b>Annexe C</b>
<b>Tableau V :</b> Gamme de dilution des huiles essentielles pour l'aromatogramme en milieu liquide	<b>Annexe C</b>
<b>Tableau VI :</b> Les coefficients de corrélation	<b>62</b>
<b>Tableau VII :</b> Effet du temps de diffusion des huiles essentielles sur l'activité antibactérienne	<b>65</b>
<b>Tableau VIII :</b> Effet Bactéricide ou bactériostatique des molécules des huiles essentielles diffusibles sur milieu solide	<b>66</b>
<b>Tableau IX :</b> Quantités Minimales Inhibitrices des huiles essentielles d'origan sur <i>K.pneumoniae</i> , <i>E.coli</i> et <i>S.aureus</i>	<b>67</b>
<b>Tableau X :</b> Quantités Minimales Inhibitrices des huiles essentielles d'armoise blanche sur <i>K.pneumoniae</i> , <i>E.coli</i> et <i>S.aureus</i>	<b>69</b>
<b>Tableau XI :</b> Résultats des dilutions correspondant aux Concentrations Minimales Bactéricides	<b>73</b>
<b>Tableau XII :</b> Chromatographie sur Couche Mince des huiles essentielles d' <i>Origanum glandulosum</i> d' <i>Artemisia herba alba</i>	<b>77</b>
<b>Tableau XIII:</b> Chromatographie sur Couche Mince des huiles essentielles de commerce et des standards utilisés	<b>78</b>

# Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Armoise blanche et différents organes de la plante	<b>05</b>
<b>Figure 02</b> : Les différents stades de développement de l'origan	<b>09</b>
<b>Figure 03</b> : Exemple d'appareil sécréteur	<b>12</b>
<b>Figure 04</b> : Structure de base des terpènes	<b>14</b>
<b>Figure 05</b> : Exemples de structures de sesquiterpènes et de lactones sesquiterpéniques	<b>18</b>
<b>Figure 06</b> : Exemples de composés aromatiques	<b>20</b>
<b>Figure 07</b> : Méthode d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation	<b>23</b>
<b>Figure 08</b> : Schéma de Clévenger	<b>23</b>
<b>Figure 09</b> : Hydrodiffusion à micro-onde et à gravitation	<b>26</b>
<b>Figure 10</b> : Illustration de la méthode des micro-atmosphères	<b>31</b>
<b>Figure 11</b> : Illustration de la méthode d'aromatogramme sur milieu solide	<b>32</b>
<b>Figure 12</b> : Hypothèse de mécanisme d'action du carvacrol	<b>34</b>
<b>Figure 13</b> : Cartes géographiques de deux régions de prélèvement	<b>38</b>
<b>Figure 14</b> : Dispositif d'hydrodistillation utilisé	<b>40</b>
<b>Figure 15</b> : Les huiles essentielles récupérées	<b>42</b>
<b>Figure 16</b> : Méthode des disques	<b>44</b>
<b>Figure 17</b> : Dépôt de l'inoculum lors de l'aromatogramme en micro-atmosphère	<b>46</b>
<b>Figure 18</b> : Cinétique de séchage des parties aériennes d'armoise blanche et d'origan	<b>48</b>
<b>Figure 19</b> : Effet du DMSO sur les souches testées	<b>51</b>
<b>Figure 20</b> : Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle d'origan sur <i>S.aureus</i>	<b>52</b>
<b>Figure 21</b> : Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle d'origan sur <i>K.pneumoniae</i>	<b>53</b>
<b>Figure 22</b> : Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle d'origan sur <i>E.coli</i>	<b>54</b>

<b>Figure 23 :</b> Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle d'origan sur <i>P.aeruginosa</i>	<b>55</b>
<b>Figure 24 :</b> Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle d'armoise blanche sur <i>S.aureus</i>	<b>58</b>
<b>Figure 25 :</b> Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle d'armoise blanche sur <i>E.coli</i>	<b>59</b>
<b>Figure 26 :</b> Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle d'armoise blanche sur <i>K.pneumoniae</i>	<b>60</b>
<b>Figure 27 :</b> Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle d'armoise blanche sur <i>P.aeruginosa</i>	<b>60</b>
<b>Figure 28 :</b> Les zones d'inhibition après 2 et 24 heures de diffusion	<b>64</b>
<b>Figure 29 :</b> Quantités Minimales Inhibitrices des vapeurs d'huile essentielle d'origan sur <i>K.pneumoniae</i> , <i>E.coli</i> , <i>S.aureus</i> et témoins de croissance après 24 heures, 48 heures et 6 jours d'incubation à 37°C	<b>68</b>
<b>Figure 30 :</b> Quantités Minimales Inhibitrices des vapeurs d'huile essentielle d'armoise blanche sur <i>K.pneumoniae</i> , <i>E.coli</i> , <i>S.aureus</i> et témoin de croissance après 24 heures, 48 heures et 6 jours d'incubation à 37°C	<b>70</b>
<b>Figure 31 :</b> Détermination des CMI sur milieu liquide	<b>72</b>
<b>Figure 32 :</b> Chromatogramme des huiles essentielles révélées avec de la vanilline	<b>75</b>
<b>Figure 33 :</b> Chromatogramme des huiles essentielles sous UV et après révélation chimique	<b>76</b>

# Liste des abréviations

**A.F.N.O.R.** : Association Française de la Normalisation

**Batt:** Battandier

**BLSE** :  $\beta$ -Lactamases à Spectre Elargi

**CCM** : Chromatographie sur Couche Mince

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide

**Coss et Dur** : Cosson et Durieu

**CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuse

**Desf** : Desfontaines

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**EDTA** : Ethylenediaminetetraacetic Acid

**HE** : Huile Essentielle

**UFC** : Unité Formant Colonie

**Rf** : Rapport frontal

# Introduction

## *Introduction*

La découverte du pouvoir thérapeutique des plantes est un concept traditionnel et ancien. Dans les années cinquante, et suite à l'introduction des antibiotiques synthétiques efficaces, l'utilisation des dérivés de plantes comme agents antimicrobiens est devenue presque inexistante (Cowan, 1999).

L'émergence de la résistance aux antibiotiques suit à l'utilisation massive et parfois abusive de ces derniers, est devenue un réel problème de santé publique (Cavallo *et al.*, 2004 ; Henriques *et al.*, 2006 ; Schelz *et al.*, 2006). Environ, 90-95% de souches de *Staphylococcus aureus* sont résistantes à la pénicilline et dans les pays asiatiques 70-80% de ces mêmes souches sont méticilline résistantes (Hemaiswarya *et al.*, 2008). Ces dernières ont connu une distribution à l'échelle mondiale en même temps qu'elles évoluaient vers la multirésistance aux antibiotiques.

La description récente de souches cliniques résistantes haut niveau aux glycopeptides par acquisition du gène *vanA*, renforce aujourd'hui les craintes d'une situation « d'impasse thérapeutique » pour la prise en charge des patients infectés par ces souches épidémiques (Minary-Dohen *et al.*, 2005). De même, le traitement des infections causées par *Pseudomonas aeruginosa* est devenu compliqué ; ce micro-organisme présente une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques (amoxicilline, céfotaxime, tétracyclines, cotrimoxazole) et des capacités importantes de résistance acquise (Richet, 2003 ; Depardieu *et al.*, 2007).

Certaines bactéries manifestent, en outre, un certain degré de résistance vis-à-vis des antibiotiques usuels, voire parfois une résistance totale à toute thérapeutique. D'où l'intérêt de rechercher de nouvelles substances d'origine naturelle incluant les plantes. Récemment, un grand intérêt est porté aux propriétés antimicrobiennes des extraits de plantes aromatiques, particulièrement aux huiles essentielles (Rasooli et Mirmostafa, 2003; Sartoratto *et al.*, 2004; Schelz *et al.*, 2006), parallèlement, ces propriétés ont été évaluées et rapportées dans la littérature (Dorman et Deans, 2000 ; Lahlou, 2004).

Plusieurs pays, dont l'Inde, la Palestine, l'Afrique, Honduras, la Jordanie, Cuba et l'Italie, ont soutenu des programmes de recherche pour confirmer l'activité antimicrobienne expliquée par la médecine traditionnelle (Sartoratto *et al.*, 2004) et l'évaluation de leurs propriétés *in*

*vivo* sont en cours d'exploitation (Ouräini *et al.*, 2005), mais peu de travaux ont été effectués sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des plantes aromatiques de la région de Bejaia (Sari *et al.*, 2006).

Ainsi, nous nous sommes proposés dans ce travail d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* Desf. et d'*Artemisia herba alba* Asso, deux plantes aromatiques de la région de Bejaia (Algérie), qui n'ont pas été rapportées jusqu'à présent malgré leur utilisation fréquente.

La présente étude s'intéresse à l'évaluation de l'effet antibactérien de leurs huiles essentielles sur quatre souches bactériennes, pathogènes et résistantes : *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Pour développer ces aspects, nous avons adopté la méthodologie suivante:

- Cueillette et séchage des plantes.
- Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.
- Etude de l'activité antibactérienne sur milieu solide par la méthode des disques.
- Etude de l'activité antibactérienne de la phase volatile.
- Etude de l'activité antibactérienne en milieu liquide.
- Analyse préliminaire des huiles essentielles par Chromatographie sur Couche Mince.

# **Chapitre 1: Synthèse bibliographique**

## I- Armoise blanche et Origan

### I-1- Les plantes médicinales

Environ 250 000 à 500 000 espèces de plantes dans le monde ont été répertoriées. Un pourcentage relativement faible de 1 à 10% de celles-ci a été utilisé comme aliment par les humains et les autres espèces animales (Cowan, 1999). Selon Lawrence, il y'aurait 17 500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles, ex. : *Asteraceae*, *Apiaceae*, *Lamiaceae* (*Labiés*), *Fabaceae*, *Rutaceae*, *Lauraceae*, *Cupressaceae*, *Pinaceae*, *Myrtaceae*, *Zingibéraceae* (Bruneton, 1999 ; Pauli, 2006).

En Algérie, on y trouve plus de 3000 espèces de plantes dont plus de 300 sont utilisées en médecine traditionnelle ou en médecine moderne (Blaidi et Hellal, 1996).

Environ 164 plantes médicinales ont été recensées dans la région de Bejaia et qui appartiennent aux familles botaniques suivantes : *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Rosaceae*, *Fabaceae*, *Apiaceae*, *Liliaceae*, *Solanaceae*, *Poaceae*, *Polypodiaceae*, *Rutaceae*, *Fagaceae*, *Plantaginaceae*, etc. (Laouer, 2004).

### I-2- Genre *Artemisia* L. (Armoise)

Le genre *Artemisia* L. appartient à la famille des *Asteraceae*. Il comporte environ 400 espèces (Bendjilali *et al.*, 1984a). Cette plante pousse dans l'hémisphère nord (Salido *et al.*, 2004 ; Haouari et Ferchichi, 2008). On en trouve surtout en Orient et en Afrique du Nord. Elle existe également dans l'hémisphère sud, au Chili (Fenardji *et al.*, 1974). Certaines espèces du genre *Artemisia* sont très rares dans les hautes montagnes. En revanche, d'autres sont très répandues et abondantes dans les régions steppiques et sahariennes (Quezel et Santa, 1963), ex : *Artemisia herba alba* (echih) (Baba Aissa, 1999).

En Algérie, et selon Quezel et Santa (1963), une dizaine d'armoises sont répertoriées :

- *Artemisia herba alba* Asso.
- *Artemisia absinthium* L.
- *Artemisia arborescens* L.
- *Artemisia judaica* L.
- *Artemisia atlantica* Coss et Dur.
- *Artemisia alba* Turra.

- *Artemisia campestris* L. ssp. *Eu-campestris* Briq et Cav.
- *Artemisia campestris* L. ssp. *glutinosa* (J. Gay) Batt.
- *Artemisia verlotorum* Lamotte.
- *Artemisia vulgaris*.

### ■ *Artemisia herba alba* Asso (armoïse blanche)

**Nom botanique :** *Artemisia herba alba* Asso

#### Noms locaux

- **en Arabe et en Kabyle :** شيح *chih*, شيحة *chiha*, شيبية *chiba*, ifsi, zézzaré (Quezel et Santa, 1963; Baba Aïssa, 1999), *Aysoum*, *Ghurayrah* (Marc *et al.*, 2008).
- **en Français :** armoïse blanche (Bendjilali *et al.*, 1984 a).
- **en Anglais:** white wormwood (Marc *et al.*, 2008).

#### ➤ Classification botanique

La classification d'*Artemisia herba alba* Asso est donnée comme suit :

**Règne :** Végétal

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédonae

**Sous classe :** Astéridae

**Ordre :** Astérales

**Famille :** *Compositae* (= *Asteraceae*)

**Genre :** *Artemisia*

**Espèce :** *Artemisia herba alba* Asso

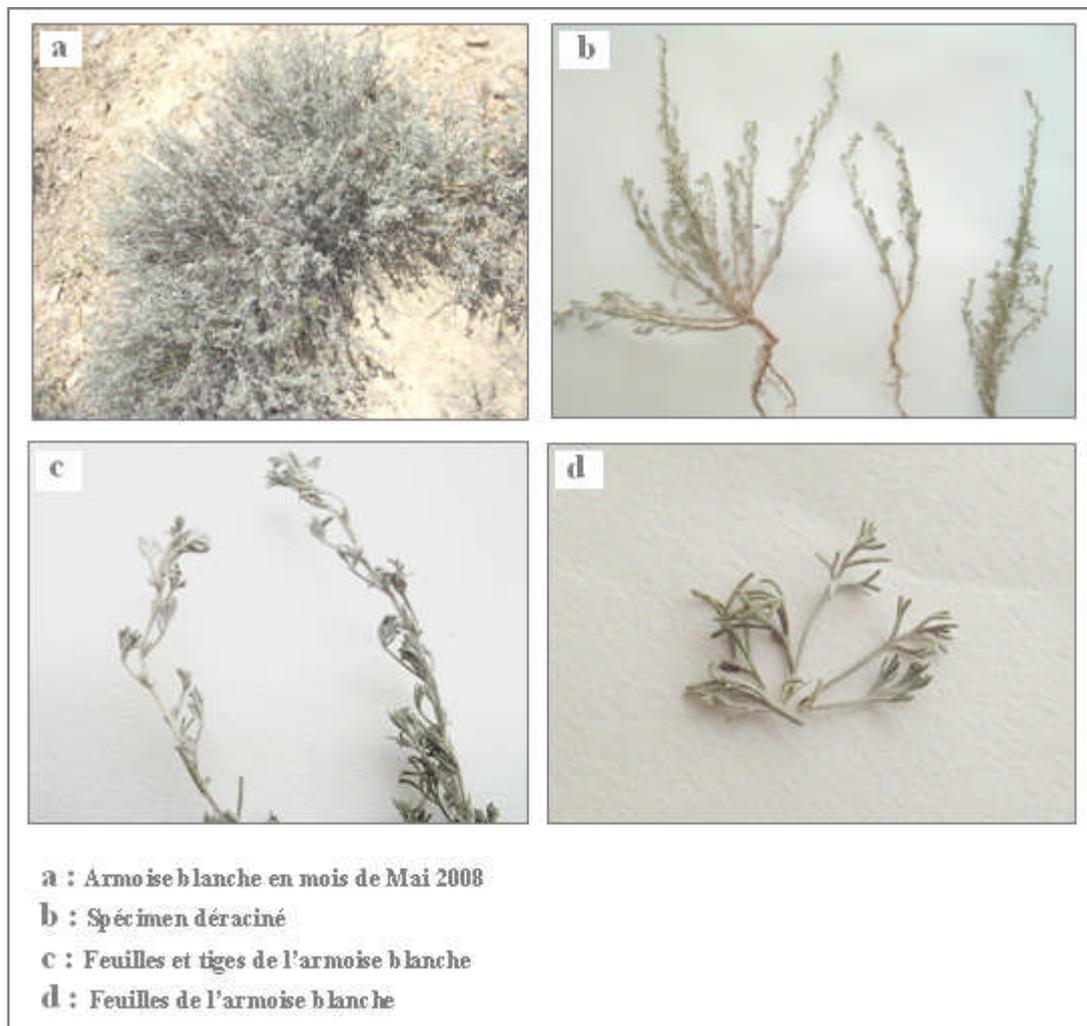
(Quezel et Santa, 1963; Gaussen *et al.*, 1982).

#### ➤ Description de l'espèce *Artemisia herba alba* Asso (armoïse blanche)

C'est une plante odorante vivace dressée, suffrutescentes à tiges nombreuses, tomenteuses, rigides et droites de 30-50 cm (figure 1 a).

- Les feuilles sont courtes, généralement pubescentes argentées à pinnatipartites (figure 1 ; b, c, d).
- Les bractées externes sont opaques et pubescentes et les intérieures sont oblongues, brillantes et glanduleuses.

- Capitules pauciflores en général, homogènes, à fleurs toutes hermaphrodites. Ils sont sessiles ou subsessiles (Quezel et Santa, 1963; Wright, 2002).



**Figure 1 :** Armoise blanche et différents organes de la plante

### ➤ Habitat

L'armoïse blanche, plante des hautes plaines steppiques du sud de l'Algérie occidentale, colonise progressivement les nappes alfatières. La sécheresse persistante et le rouissage naturel très long en absence d'exploitation rythmée ont contribué au remplacement de l'alfa (*Stipa tenacissima* L.) par l'armoïse blanche. Cette espèce présente une vaste répartition géographique couvrant, en Algérie, environ 4 millions d'hectares (Ayad *et al.*, 2007).

L'armoïse blanche se développe dans les steppes argileuses et les sols tassés relativement peu perméables. Elle se trouve sur les dayas, les dépressions et les secteurs plus ou moins humides (Ayad *et al.*, 2007).

### ➤ Aire de distribution de l'armoise blanche

Elle s'étend de l'Espagne, des Canaries à l'Egypte et l'Asie Occidentale. En Algérie, elle est particulièrement répandue dans les secteurs des Hauts-Plateaux algérois et oranais; secteur Hauts- Plateaux constantinois, et secteur de Sahara Septentrional (Zousfana, El Goléa, Hamada de Tinghert), assez rare dans l'oranais, le Tell constantinois, et le Sahara Central ou elle pousse en montagne (Quezel et Santa, 1963 ; Ozenda, 2004).

### ➤ Propriétés et usage

Très recherchée pour ses propriétés pharmacologiques, l'armoise blanche est utilisée pour traiter: les ulcères, les dyspepsies, les troubles hépatique; les aphtes, les mycoses, les piqûres d'insectes et de scorpion, et toutes les formes d'empoisonnement. La grande popularité, dont elle jouit, repose vraisemblablement sur les pouvoirs antiseptiques et antispasmodiques qu'elle possède et sur ses propriétés antitumorales, probablement liées aux principes amères (Bendjilali *et al.*, 1984 a ; Atoum *et al.*, 2006).

En plus de ces propriétés, les feuilles et les sommités fleuries de l'armoise blanche sont antigestifs, emménagogues, stomachiques, vermifuges (ascaris, oxyures) (Baba Aissa, 1999 ; Djerroumi et Nacef, 2004). Elle est également utilisée dans le traitement des blessures externes et dans le cas de désordre neurologique (tics, spasmes, convulsion...) et la maladie d'Alzheimer (Baba Aissa, 1999; Salah et Jäger, 2005a ; Salah et Jäger, 2005b). Au Sud-Est du Maroc, l'armoise blanche est utilisée dans le traitement de l'hypertension et du diabète (Tahraoui *et al.*, 2007). L'infusion de cette plante est conseillée pour le rhumatisme et l'arthrite (Marc *et al.*, 2008).

En Algérie, elle est utilisée par les riverains des massifs de Djebels Tafat, Anini et Migriss (Sétif) contre les nausées et les troubles hépato-gastriques. Elle est recommandée comme antispasmodique (douleurs abdominales, estomac, tube digestif et intestin) (Sari, 1999), et elle est utilisée en cas d'infection oculaire (El Goléa), de refroidissement, de l'obésité, et elle est aussi considérée comme helminthiases (Béni Abbés et à Ouargla) (Maiza *et al.*, 1993).

En alimentation, elle entre dans l'aromatisation de certaines boissons. Mais son emploi reste limité à cause de la toxicité des thuyones qu'elle en contient. Les Marocains ont la coutume de faire infuser de l'armoise dans le café. Exploitée industriellement, l'huile essentielle sert surtout en parfumerie et en cosmétologie (Bendjilali *et al.*, 1984 a).

## ■ Composition chimique

L'armoise blanche renferme des huiles essentielles (monoterpènes et sesquiterpènes) (Laid *et al.*, 2008), des flavonoïdes (flavones et flavonols) et des lactones sesquiterpéniques (eudesmanolides). L'eudesmanolides (taurine,  $\alpha$ -santonine, 8 $\alpha$ -hydroxy, 4 $\alpha$ , 5 $\alpha$ -epoxytaurine, herbalbine etc.) et germacranolides semblent être les types de lactones sesquiterpéniques les plus abondants trouvés chez cette espèce (Wright, 2002 ; Salah et Jäger, 2005a).

Les travaux sur l'armoise blanche, qui ont surtout porté sur la composition de l'huile essentielle, montrent l'extraordinaire diversité existant à l'intérieur de cette espèce. L'étude d'un grand nombre d'échantillons avait permis à Bendjilali et Richard (1980), de décrire quatre chémotypes dont les différences portent principalement sur les trois cétones,  $\alpha$ - et  $\beta$ -thuyone et camphre, représentant entre 60 et 80% de l'huile essentielle totale. Leurs proportions relatives permettent de classer les différents peuplements étudiés en :

- Chémotype  $\alpha$ - thuyone et camphre,
- Chémotype à camphre,
- Chémotype  $\alpha$ - thuyone,
- Chémotype  $\beta$ - thuyone (Bendjilali et Richard, 1980).

Deux nouveaux chémotypes d'*Artemisia herba alba*: l'un à davanone, dont la teneur, selon les échantillons analysés, varie de 30 à 70% de l'huile essentielle totale; l'autre à acétate de cis (-)-chrysanthenyle dont la teneur varie sensiblement dans les mêmes proportions ont été mis en évidence (Bendjilali *et al.*, 1982).

Des études restent à réaliser pour connaître les raisons de cet extraordinaire polymorphisme chimique (Bendjilali *et al.*, 1984a ; Salido *et al.*, 2004).

### I-3- Genre *Origanum* "Zateur"

Le genre *Origanum* (famille *Lamiaceae*) comporte environ 38 espèces qui sont répandues dans la région Méditerranéenne, Euro sibérienne et Irano Sibérienne. Cependant, la plupart des espèces, environ 75%, sont concentrées dans le pourtour méditerranéen, en particulier dans les régions méditerranéenne de l'Est (Şahin *et al.*, 2004). Le terme origan provient de deux mot grecs "oros" et "genos", c'est-à-dire " éclat des montagnes" (Kintzios, 2002). Parmi elles, *Origanum vulgare* ssp *glandulosum* (Desf.), synonyme *Origanum glandulosum* Desf., est une plante spontanée endémique, développant en Afrique du Nord (l'Algérie et la Tunisie) (Bendahou *et al.*, 2008).

En Algérie, il existe 3 espèces :

- *Origanum majorana* L.,
- *Origanum glandulosum* Desf.,
- *Origanum floribundum* Munby (Quezel et Santa, 1963).

### ■ *Origanum glandulosum* Desf. (origan)

**Nom botanique :** *Origanum glandulosum* Desf.

**Noms locaux**

- **en Arabe et en Kabyle :** زعتر *Zaâter*
- **en Français :** origan
- **en Anglais :** oregano

### ■ **Classification botanique**

La classification d'*Origanum glandulosum* Desf. est donnée comme suit :

**Règne :** Végétal

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédonae

**Sous classe :** Astéridae

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** *Lamiaceae*

**Genre :** *Origanum*

**Espèce :** *Origanum glandulosum* Desf.

(Quezel et Santa, 1963; Gaussen *et al.*, 1982).

### ■ **Description de l'espèce *Origanum glandulosum* Desf. (origan)**

L'espèce *Origanum glandulosum* est une plante à tiges toutes dressées (figure 2 a, b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>). L'inflorescence est en épis denses, à fleurs restant contiguës après la floraison. La corolle a une lèvre inférieure bien plus longue que la lèvre supérieure (figure 2 ; C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>).

### ■ **Habitat**

Broussailles, garrigues (Quezel et Santa, 1963).

### ■ **Aire de distribution de l'origan**

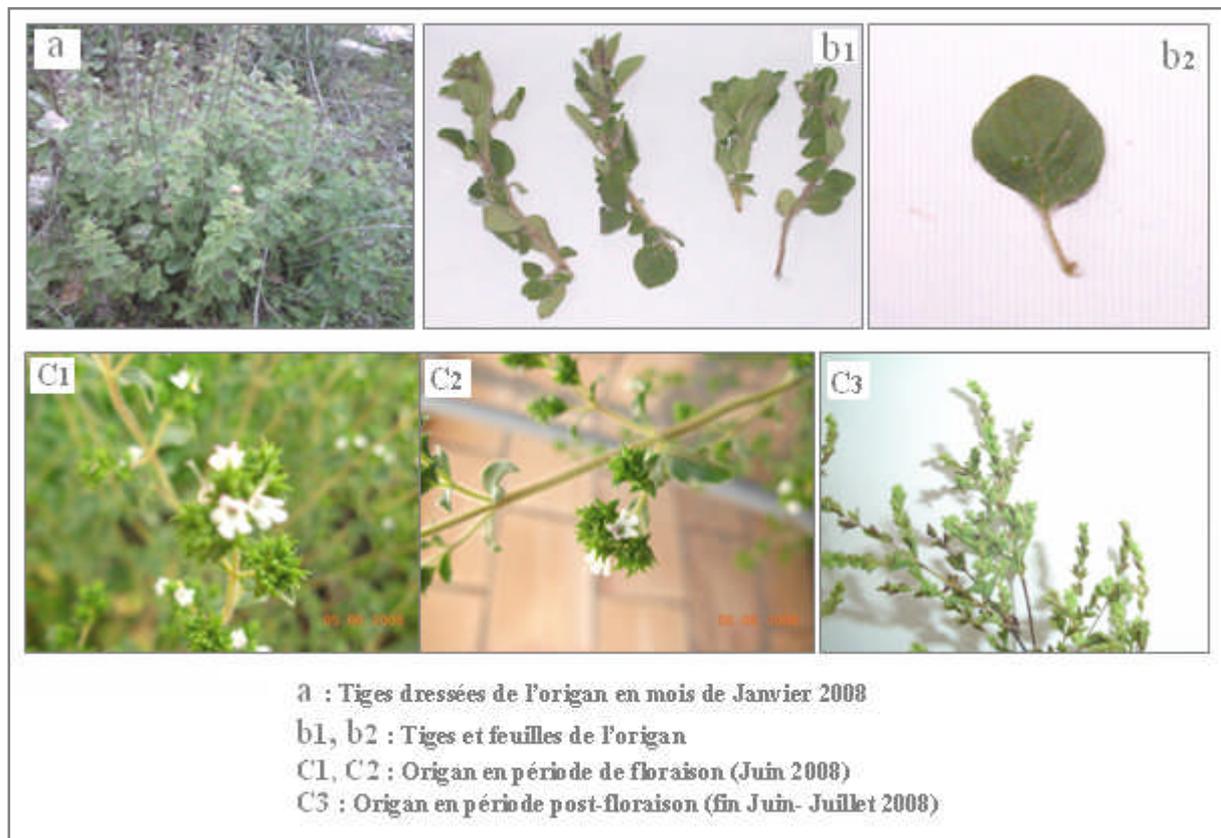
Commun dans tout le Tell (Quezel et Santa, 1963).

### ➤ Propriétés et usage

Action sédatrice, apéritive, antispasmodique, stomachique, carminative, expectorant, antiseptique.

L'origan est recommandé en cas de manque d'appétit, d'aérophagie, de bronchite chronique, de toux d'irritation, d'asthme, d'absence de règles, action antalgique, et parasiticide; utile contre la pédiculose, les rhumatismes et la cellulite (Dellile, 2007).

Les espèces d'*Origanum* sont largement connues comme herbe culinaire, pour assaisonner les produits alimentaires et les boissons alcooliques (Bendahou *et al.*, 2008).



**Figure 2 :** Les différents stades de développement de l'origan

### ➤ Composition chimique

L'origan renferme des huiles essentielles (Dellile, 2007), des polyphénols (flavonoïdes libres, quercétine, acide caféique et acide rosmarinique qui sont liés à 3- et 5- flavonoïdes hydroxylés) (Belhattab *et al.*, 2004).

L'étude faite par Sari *et al.* (2006) sur la variabilité chimique de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* récolté dans différentes régions de l'Est de l'Algérie (23

échantillons) montre qu'il existe trois chémotypes : chémotype à thymol, chémotype à carvacrol, et chémotype à thymol et à carvacrol. Les composés majoritaires identifiés sont : le thymol, le carvacrol, le *p*-cymène et le  $\gamma$ -terpinène. L'analyse chimique faite toujours par Sari *et al.* (2006) ont montré que les huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* récolté dans trois sites différents de la région de Bejaia ont des chémotypes variables. En revanche, l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* récolté dans la région de Tlemcen est de chémotype à thymol (tableau I) (Bekhechi *et al.*, 2008; Bendahou *et al.*, 2008).

**Tableau I :** La composition chimique des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* Desf. de quelques régions d'Algérie

<b>Bejaia</b> (Sari <i>et al.</i> , 2006)	<b>Taskriout</b>	0,7	0,7	0,1	1,3	1,6	17,3	0,6	13,7	tr	0,3	41,9	14,6
	<b>EL Kseur</b>	0,6	0,6	0,1	1,0	1,2	18,5	0,5	12,5	tr	0,1	44,6	13,8
	<b>Kheratta</b>	tr	0,1	tr	0,2	0,3	6,6	0,3	2,1	tr	0,1	42,0	41,9
<b>Setif</b> (Ruberto <i>et al.</i> , 2002)	<b>Tafat</b>	0,5	0,5	0,1	1,4	1,6	3,6	0,2	13,2	0,5	0,2	7,7	63,7
	<b>Anini</b>	0,6	0,6	0,1	0,8	0,7	18,8	0,2	4,8	0,1	0,5	10,7	53,2
	<b>Djebel Megriss</b>	0,3	0,5	0,1	1,0	1,2	15,8	0,2	11,6	0,6	0,5	37,8	22,6
	<b>Ouled Iyiche</b>	0,7	0,6	0,1	0,9	0,7	25,8	0,3	6,1	0,8	0,6	36,7	18,3
<b>Setif</b> (Khalfi <i>et al.</i> , 2008)		0,4	1,1	-	-	-	7,9	-	5,1	0,5	-	38,8	32,9
<b>Tlemcen</b> (Bekhechi <i>et al.</i> , 2008)		1,1	0,7	0,2	1,7	1,7	18,3	0,3	16,4	0,5	0,3	49,5	2,9
<b>Tlemcen</b> (Bendahou <i>et al.</i> , 2008)		1,0	0,7	0,2	2,0	2,8	17,1	0,6	27,0	0,1	0,2	41,6	2,2
<b>Constituants (%)</b>		$\alpha$ -Thujène	$\alpha$ -Pinène	$\beta$ -Pinène	Myrcène	$\alpha$ -Terpinène	<i>p</i> -Cymène	Limonène	$\gamma$ -Terpinène	Terpinène-4-ol	$\alpha$ -Terpinéol	Thymol	Carvacrol

## II- Les huiles essentielles

### II-1- Définition

Le terme "essentiel" dérive de "l'essence", qui signifie l'odeur ou le goût. La flaveur et l'odeur spécifique de beaucoup de plantes sont reliées aux propriétés de ces substances (Calsamiglia *et al.*, 2007). La fragrance de la plante est portée dans la "*Quinta essentia*", ou dans une fraction d'huile essentielle (Cowan, 1999).

Les huiles essentielles sont des composés complexes, naturels et volatiles, caractérisés par une odeur forte et qui sont synthétisés par des plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires (Bakkali *et al.*, 2008).

La norme AFNOR NF T 75-006 a donné la définition suivante d'une *huile essentielle* : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention ».

Cette définition est restrictive puisqu'elle ne cite pas les produits obtenus par extraction à l'aide de solvants ou ceux obtenus par tout autre procédé (gaz sous pression, enflourage) (Bruneton, 1999).

### II-2- Classification

On distingue deux types de classification des huiles essentielles (HE) :

***La première dépend de la composition chimique et se répartit en trois classes***

- les HE *hydrocarburées* qui sont les plus nombreuses.
- les HE *oxygénées* représentées par toutes les HE solides.
- les HE *sulfurées* retrouvées chez les *Liliaceae* et les *Brassicaceae*.

***La seconde repose sur la couleur de l'huile et comprend quatre classes***

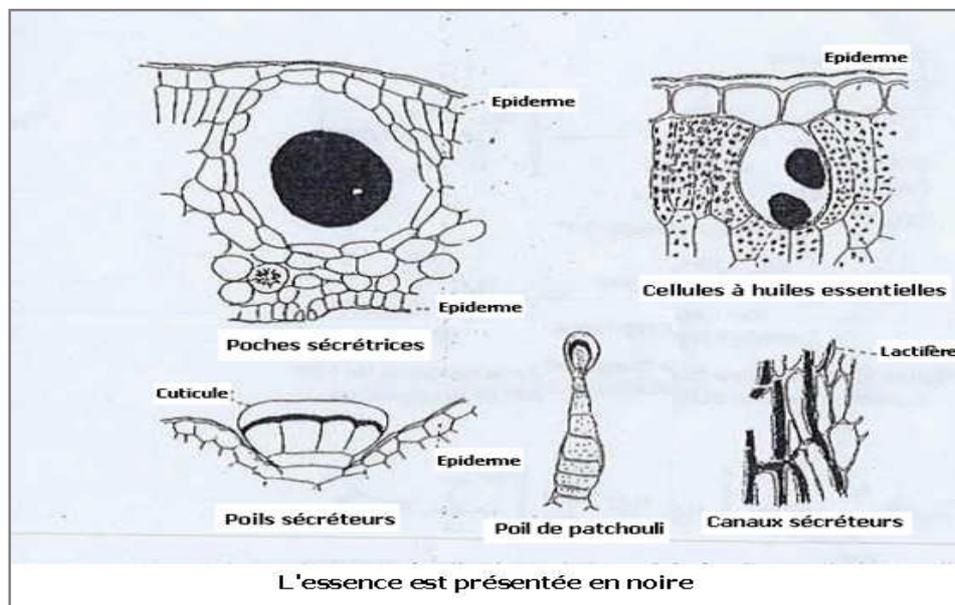
- les *incolores* qui sont dépourvues de résine et d'azulène.
- les *jaunes* qui renferment des résines.
- les *bleues* qui contiennent de l'azulène.
- les *jaune-vert* et *vert-brun* qui contiennent principalement de l'azulène mais aussi d'autres colorants (Charpentier *et al.*, 2004).

### II-3- Localisation des essences dans le végétal

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles et, bien que cela soit moins habituel, dans des écorces, des bois, des racines, des rhizomes, des fruits, et des graines (Bruneton, 1999). Dans une même plante, elles peuvent être présentes à la fois dans différents organes (fleurs, feuilles et tige), mais la composition des essences est alors variable d'un organe à l'autre, c'est le cas chez *Verbascum viedemannianum* (Iskender *et al.*, 2009).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante (figure 3) :

- **poches sécrétrices** des *Myrtaceae* ou *Rutaceae*,
- **cellules à huiles essentielles** des *Lauraceae* ou de *Zingiberaceae* situées sous l'épiderme,
- **poils sécréteurs** où l'huile s'accumule sous la cuticule ou poil de patchouli des *lamiaceae*,
- **canaux sécréteurs** (lactifères) des *Apiaceae*, des *Asteraceae* (Bruneton, 1999; Guignard, 2000), des Conifères ou des Ombellifères (Paris et Hurabielle, 1981).



**Figure 3** : Exemple d'appareil sécréteur (Guignard, 2000)

L'excrétion de l'huile essentielle dans la cavité des poches ou canaux est réalisée par exocytose (*Myrtaceae*) ou par lyse des cellules bordant la cavité (*Rutaceae*).

Sur le plan métabolique, cette localisation, au niveau des épidermes ou dans la lumière de poches et tubes, rend leur réutilisation exclue ou limitée (Guignard, 2000).

Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes, limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air; ces membranes étant lipophiles leur perméabilité vis-à-vis des gaz est extrêmement réduite (Teuscher *et al.*, 2005).

#### **II-4- Propriétés physiques des huiles essentielles**

Malgré leurs constitutions différentes, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques :

- Ce sont généralement des liquides à la température ordinaire.
- Leur volatilité les oppose aux « huiles fixes »; à cette volatilité des huiles essentielles sont liés leur caractère odorant et la possibilité de les obtenir par entraînement à la vapeur d'eau.
- Elles sont généralement incolores ou jaune pâle quand elles viennent d'être préparées. Il existe cependant quelques exceptions (ex. huiles essentielles à azulène, de coloration bleue),
- Leur densité est le plus souvent, inférieure à 1; seules trois huiles essentielles officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau : ce sont les huiles essentielles de Cannelle, de Giroflier et de Sassafras,
- Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire.
- Peu solubles dans l'eau, elles lui communiquent cependant leur odeur (eaux distillées aromatiques). Elles sont solubles dans les alcools de titres élevés, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques,
- Elles sont très altérables, sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas). Elles ont tendance à se polymériser en donnant lieu à la formation de produits résineux. Elles sont donc de conservation limitée (Paris et Hurabielle, 1981).

#### **II-5- Composition chimique des huiles essentielles**

La teneur des plantes en huile essentielle est généralement faible, de l'ordre de 1% à 1%. Il existe cependant quelques exceptions : ex. la Badiane de Chine, où la teneur en

essence est supérieure à 5%; «le clou de girofle » qui renferme plus de 15% d'essence (Paris et Hurabielle, 1981; Guignard, 2000).

Certaines huiles essentielles sont presque exclusivement constituées d'une seule molécule (Lamendin *et al.*, 2004), c'est le cas chez *Mentha pulegium*, par exemple, qui contient un pourcentage en pulegone supérieur à 83% (Bouchra *et al.*, 2003; Vian *et al.*, 2008), de deux ou trois molécules (*Salvia sclarea rosaedora*, *Citrus reticulata*, *Eugenia caryophyllus*), mais la plupart sont polymoléculaires (molécules de même famille chimique ou non) (Lamendin *et al.*, 2004) et peuvent contenir approximativement 20 à 60 composants à des concentrations complètement différentes. Elles sont caractérisées par deux ou trois composants majeurs à des concentrations moyennement élevées (20-70%) par rapport aux autres composants qui sont présents en faible quantité. Par exemple, le carvacrol (30%) et le thymol (27%) sont les composants majeurs de l'huile essentielle d'*Origanum compactum*, le menthol (59%) et la mentone (19%) ceux de l'huile essentielle de *Mentha piperita*. Ces composants majeurs déterminent, généralement, les propriétés biologiques des huiles essentielles (Bakkali *et al.*, 2008).

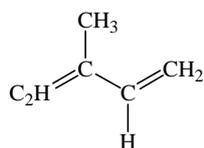
Ces constituants appartiennent à deux groupes distincts :

- le groupe des terpénoïdes
- le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (phénylpropanoïdes)

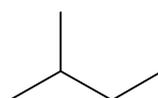
### II-5-1- Terpénoïdes

Les mélanges de terpènes (ou terpénoïdes) et leurs dérivés sont généralement responsables de la caractéristique aromatique de la matière végétale (Lamarti *et al.*, 1994; Reverchon *et al.*, 1995). Ils constituent un vaste groupe de métabolites secondaires (Judd *et al.*, 2002) avec plus de 30000 structures diverses (Julsing *et al.*, 2006).

Les terpènes peuvent être considérés comme des dérivés de l'isoprène (figure 4) : ce sont des *isoprénoïdes* (Guignard, 2000).



isoprène



unité isoprénique

**Figure 4** : Structure de base des terpènes

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue : les terpènes proprement dits ou *monoterpènes* en  $C_{10}$ , les *sesquiterpènes* en  $C_{15}$ , les *diterpènes* en  $C_{20}$ , les *triterpènes* ( $C_{30}$ ) (ex. *stéroïdes*), les *tetraterpènes* ( $C_{40}$ ) (ex. *caroténoïdes*), et les *polyterpènes* (Guignard, 2000 ; Liao *et al.*, 2006).

Les constituants d'huile essentielle sont principalement les mono- et sesquiterpènes (Julsing *et al.*, 2006); les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire est faible (Bruneton, 1999).

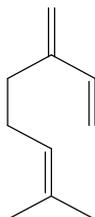
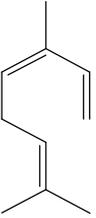
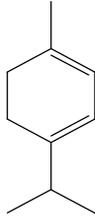
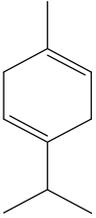
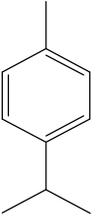
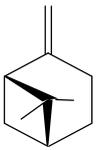
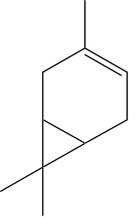
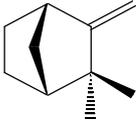
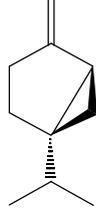
### II-5-1-1- Monoterpènes

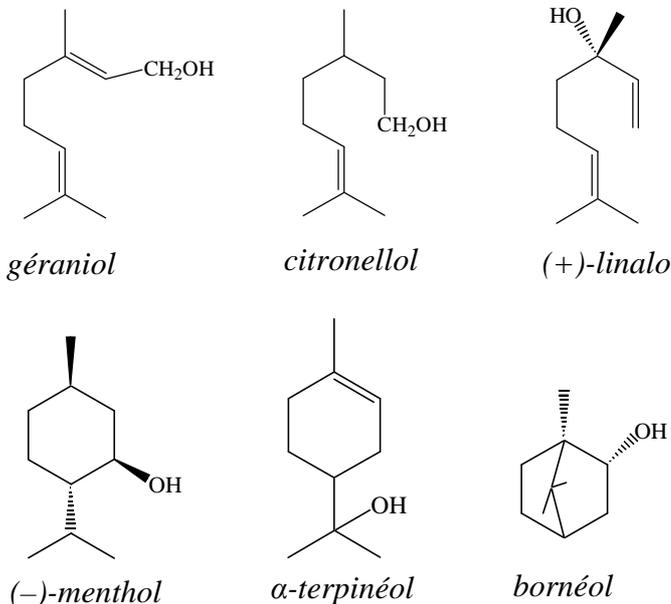
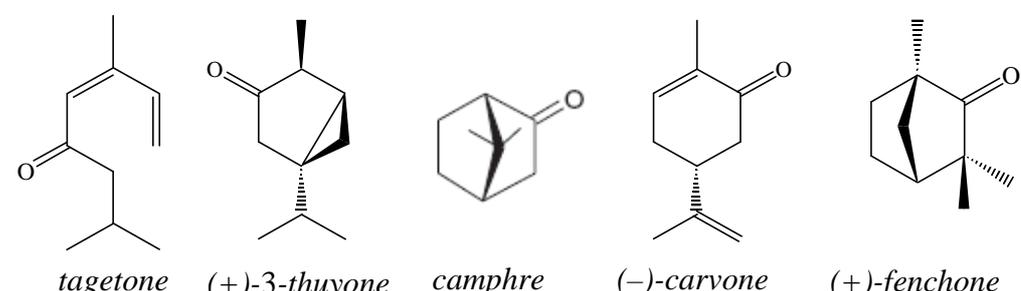
Les monoterpènes sont constitués par 10 atomes de carbone ou deux unités isopréniques. Ils sont volatils, entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des huiles essentielles (Lamarti *et al.*, 1994). Ils se composent de plusieurs fonctions (tableau II).

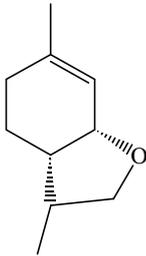
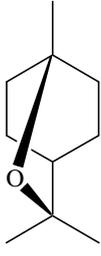
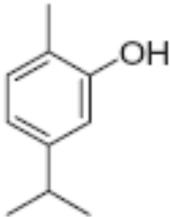
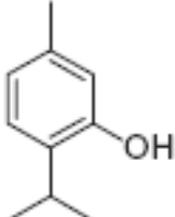
**Tableau II :** Composition de Monoterpènes (Bruneton, 1999; Kintzios, 2002; Julsing *et al.*, 2006 ; Bakkali *et al.*, 2008).

Composition de Monoterpènes	Conformations	Constituants
Carbures	Acycliques	Myrcène, ocimènes
	Monocycliques	$\alpha$ - et $\gamma$ -terpinène, <i>p</i> -cymène, phéllandrènes, etc.
	Bicycliques	Pinènes, $\Delta^3$ -carène, camphène, sabinène, etc.

				
<i>myrcène</i>	<i>ocimènes</i>	<i><math>\alpha</math>-terpinène</i>	<i><math>\gamma</math>-terpinène</i>	<i>p-cymène</i>
				
<i>(-)-<math>\alpha</math>-pinène</i>	<i>(+)-<math>\beta</math>-pinène</i>	<i>3-carène</i>	<i>(+)-camphène</i>	<i>(+)-sabinène</i>

<b>Alcools</b>	<b>Acycliques</b>	Géraniol, linalol, citronellol, lavandulol, nerol, etc.
	<b>Monocycliques</b>	Menthol, $\alpha$ -terpinéol, terpin-1-én-4-ol, carveol
	<b>Bicycliques</b>	Bornéol, fenchol, chrysanthenol, thyan -3- ol, etc.
 <p> <chem>CC(C)=CC/C=C/CO</chem>      <chem>CC(C)=CCCO</chem>      <chem>CC(C)=CC(O)C=C</chem>  <i>géraniol</i>      <i>citronellol</i>      <i>(+)-linalol</i> </p> <p> <chem>CC1(C)C(O)CC1</chem>      <chem>CC1(C)C(O)C=CC1</chem>      <chem>CC12C(O)C1C3C(C)CC23</chem>  <i>(-)-menthol</i>      <i><math>\alpha</math>-terpinéol</i>      <i>bornéol</i> </p>		
<b>Aldéhydes</b>	<b>Acycliques</b>	Géranial, néral, citronellal, etc.
<b>Cétone</b>	<b>Acycliques</b>	Tagétone, etc.
	<b>Monocycliques</b>	Mentone, isomentone, carveone, pulégone, piperitone, etc.
	<b>Bicycliques</b>	Camphre, fenchone, thuyone, etc.
 <p> <chem>CC(C)C(=O)C=C</chem>      <chem>CC1(C)C(=O)C2C1C3C(C)CC23</chem>      <chem>CC12C(=O)C1C3C(C)CC23</chem>      <chem>CC(C)C(=O)C=C</chem>      <chem>CC12C(=O)C1C3C(C)CC23</chem>  <i>tagetone</i>      <i>(+)-3-thuyone</i>      <i>camphre</i>      <i>(-)-carvone</i>      <i>(+)-fenchone</i> </p>		
<b>Esters</b>	<b>Acycliques</b>	Acétate ou propionate linalyle, acétate citronellyle, etc.
	<b>Monocycliques</b>	Acétate de menthyle, acétate d' $\alpha$ -terpinyle, etc.

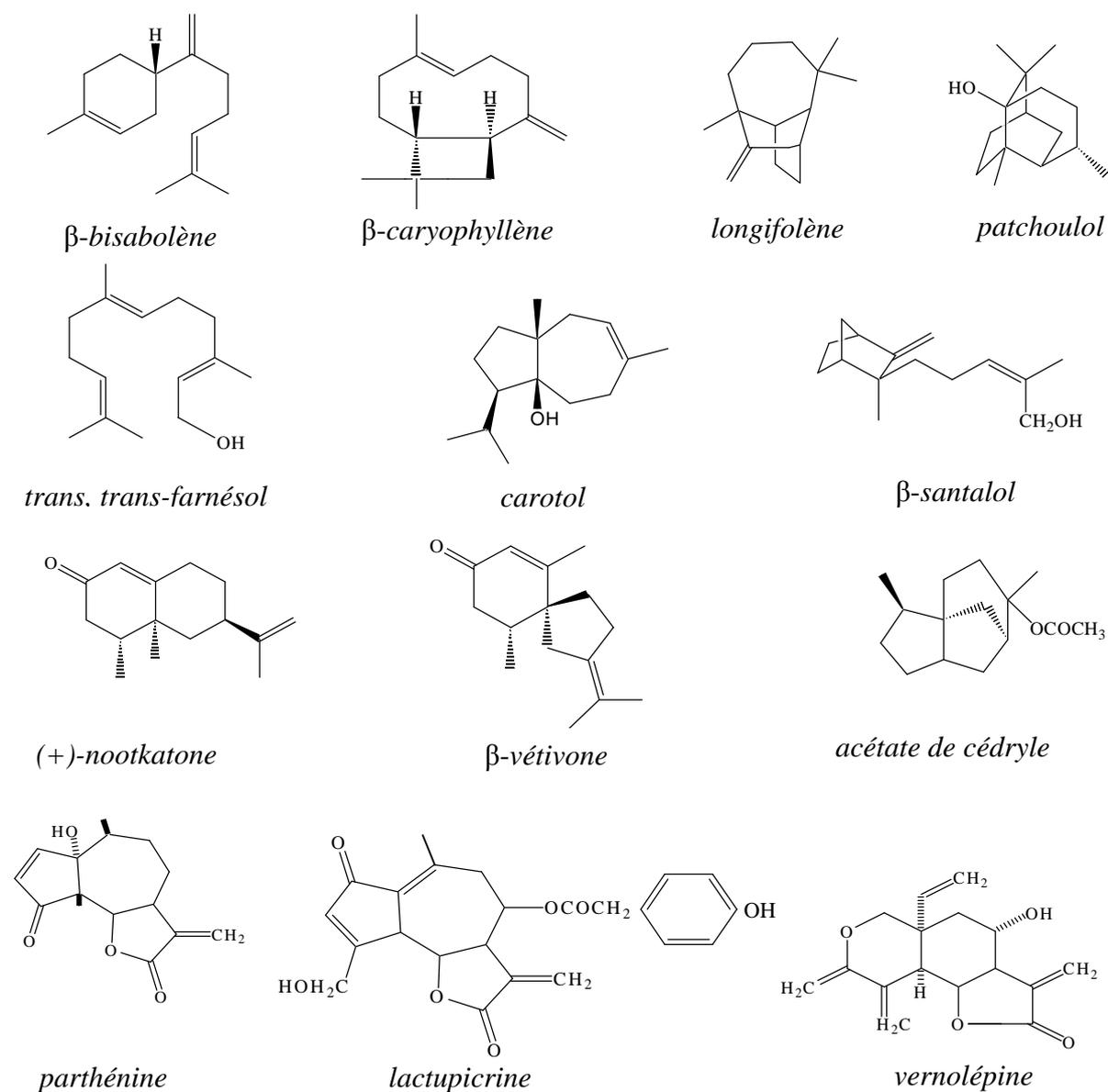
	<b>Bicycliques</b>	Acétate d'isobornyle, etc.
<b>Ethers</b>	1,8- cinéole (on dit aussi eucalyptol), <i>dill-éther</i> , etc.	
	 <i>dill-éther</i>	 <i>1,8-cinéole</i>
<b>Peroxydes</b>	Ascaridole, etc.	
<b>Phénols</b>	Thymol, carvacrol, etc.	
	 <i>carvacrol</i>	 <i>thymol</i>

### II-5-1-2- Sesquiterpènes

Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédent, carbures, alcools, cétones étant les plus fréquents (Bruneton, 1999). Ces constituants importants des huiles essentielles, trouvent beaucoup d'applications dans le domaine médical, mais également rentrent dans les formulations de savon et de parfum (Merfort, 2002). Sur la figure 6, quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles : carbures mono- ou polycycliques ( $\beta$ -bisabolène,  $\beta$ -caryophyllène, longifolène). Alcools (farnésol, carotol,  $\beta$ -santalol, patchoulol), cétones (nootkatone, *cis*-longipinane-2,7-dione,  $\beta$ -vétivone), aldéhydes (sinensals), esters (acétate de cédryle) (Bruneton, 1999).

Un autre type de terpénoïdes, où le groupement méthyle d'isopropyle est oxydé en groupement lactone (Merfort, 2002), les lactones sesquiterpéniques (figure 5), est surtout

connu chez les *Asteraceae* (où ces lactones sont diversifiés et utiles pour la taxonomie), mais on le trouve dans quelques autres familles, comme les *Apiaceae*, les *Magnoliaceae* et les *Lauraceae* (Judd *et al.*, 2002). Ces composés sont intéressants non seulement en point de vue chimique et chimiotaxonomique, mais également parce qu'un nombre important d'entre eux possède des activités biologiques et thérapeutiques (propriétés anti-inflammatoires, antitumorales, antimicrobiennes, etc.) (Merfort, 2002).



**Figure 5:** Exemples de structures de sesquiterpènes et de lactones sesquiterpéniques (Bruneton, 1999)

Ces deux groupes d'isoprénoïdes sont synthétisés séparément par l'intermédiaire de deux voies différentes :

- **Voie d'acide mévalonique cytosolique (MVA)**
- **Voie Phosphate érythritol méthylique (MEP)**

Ces deux voies sont localisées dans des compartiments subcellulaires différents : la voie de MVA prédomine dans le cytosol et la voie de MEP dans le plastide (Liao *et al.*, 2006).

Les sesquiterpènes, triterpènes, stérols et polyterpènes sont synthétisés dans le cytosol. Cependant, la biosynthèse d'isoprènes, monoterpènes, diterpènes et tetraterpènes, caroténoïdes, les hormones végétales et l'acide abscisique se produit dans les plastides (Mahmoud et Croteau, 2002, Yamasaki et Akimitsu, 2007).

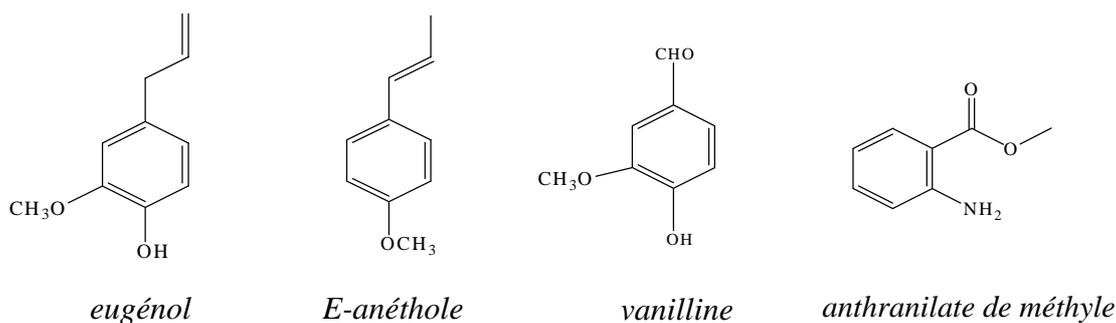
D'après Landmann *et al.* (2007), l'huile essentielle de la lavande (*Lavandula angustifolia*) contient principalement de mono et sesquiterpènes. La technique de la PCR permet de détecter deux monoterpènes synthétases et une sesquiterpène synthétase dans les fleurs et les feuilles (Yamasaki et Akimitsu, 2006).

Les monoterpènes sont synthétisés par une monoterpène synthétase. Souvent, la monoterpène synthétase simple catalyse la production des composés multiples, incluant les monoterpènes de types acycliques, monocycliques, et bicycliques (Yamasaki et Akimitsu, 2007).

### **II-5-2- Composés aromatiques**

Les phénylpropanoïdes sont beaucoup moins fréquents que les précédents, mais quelques plantes peuvent en avoir des proportions significatives. Le terme "phénylpropanoïdes" se rapporte à des composés avec une chaîne à trois carbones liée à un anneau aromatique de six carbones. Les phénylpropanoïdes dérivent principalement de la phénylalanine synthétisé par la voie métabolique de shikimate, qui est spécifique des micro-organismes et des plantes (Calsamiglia *et al.*, 2007).

Ce sont très souvent des allyl- et propénylphénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'*Apiaceae* (anis, fenouil, persil, etc. : anéthole, anisaldéhyde, etc.), mais aussi des cellules de girofle, de la muscade, de l'estragon, du basilic, de l'acore ou des cannelles (eugénol, safrole, asarones, cinnamaldéhyde, etc.). On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'antranilate de méthyle (figure 6) (Bruneton, 1999).



**Figure 6** : Exemples de composés aromatiques (Bruneton, 1999)

Généralement, les voies de biosynthèses concernant les terpènes et les phénylpropanoïdes sont indépendantes dans les plantes, mais peuvent co-exister dans certaines, avec une voie dominante (telle que l'huile de cinnamome avec cinnamaldéhyde comme constituant majeur et eugénol comme constituant mineur) (Bakkali *et al.*, 2008).

### II-5-3- Composés d'origines diverses

Il s'agit de produits résultants de la transformation de molécules non volatiles. Ces composés contribuent souvent aux arômes de fruits (Bruneton, 1999).

#### ✿ Composés issus de la dégradation d'acide gras

- La peroxydation des acides linoléique et  $\alpha$ -linoléique induit leur coupure, la formation d'acides en C<sub>9</sub> ou C<sub>12</sub> et, ultérieurement, celle d'alcools, d'aldéhydes et d'esters de faible masse moléculaire, ex. : (3Z)-hexén-1-ol, (2E)-hexénals et leurs isomères responsables de l'odeur "verte" des feuilles, octanal, décanal, acétate d'hexenyle, etc. (Bruneton, 1999).

- C'est également à partir d'acides gras que sont formés des composés comme les acides jasmoniques et leurs esters ou les  $\delta$ -jasmin-lactones : (-)-(R)-jasmin lactone du jasmin (*Jasminium grandiflorum* L.) ou (+)-(S)-jasmin-lactone de la tubéreuse (*Polianthes tuberosa* L.). L'un des mécanismes proposé pour expliquer la formation de ces produits est analogue à celui qui, chez les animaux, conduit aux prostaglandines (Bruneton, 1999).

#### ✿ Composés issus de la dégradation de terpènes

Les voies de dégradation des terpènes conduisent à l'obtention de divers composés:

- C<sub>13</sub>-norisoprénoïdes. Les principaux constituants de ce groupe – les ionones – proviennent de l'autoxydation des carotènes. Largement distribuées (ex. : violette), elles sont

fréquentes dans les arômes de fruits. Les damascénones (rose, géranium) et les damascones qui ont une origine voisine (caroténoïdes alléniques) (Bruneton, 1999).

- Irones. Ces cétones en C<sub>14</sub> sont également des produits de dégradation, caractéristiques de l'absolue d'iris, elles ne sont pas préformées, mais apparaissent lors du vieillissement du rhizome. Elles proviennent de l'oxydation de triterpènes bicycliques, les iridals (iripallidal, iriflorentinal, irigermanal libres ou estérifiés par des acides gras) (Bruneton, 1999).

## II-6- Rôle de métabolites secondaire dans les plantes : rôle des essences

Les plantes renferment une variété importante de métabolites qui peuvent être classés en deux groupes en se basant sur leur fonction. Les métabolites primaires (acides nucléiques, protéines, acides gras...) qui exercent des fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal (Guignard, 2000 ; Liao *et al.*, 2006). Les métabolites secondaires, bien que leur importance chez les plantes soit encore mal appréhendée, il semblerait qu'ils jouent un rôle dans l'interaction écologique entre les plantes et l'environnement et cela, en jouant des rôles dans l'attraction de pollinisateur, la défense et la communication plante plante (Liao *et al.*, 2006). Ils sont, soit des produits terminaux ou de déchet de métabolisme, soit des substances de réserve manifestant une mobilisation réorientée (Richter, 1993).

Ces métabolites secondaires des plantes trouvent leur origine dans des produits du métabolisme des glucides, des lipides et des acides aminés (Richter, 1993).

De nombreuses interactions entre les plantes qui les élaborent et leurs environnements ont été observées:

### Interactions plante- micro-organisme

Les plantes sont constamment exposées à une panoplie de micro-organismes pathogènes, notamment aux champignons, dont certains peuvent même infecter les plantes saines. Ces plantes utilisent les terpenoïdes (huiles essentielles) comme antibiotiques ; les phytoalexines antifongiques des terpènes les plus importantes sont les sesquiterpènes, tels que le capsidiol, synthétisé dans le tabac. De même, l'inhibition de la synthèse des phytoalexines sesquiterpéniques dans les tubercules de pomme de terre les rend plus prédisposés à la putrefaction douce par *Erwinia carotovora* (Edwards et Gatehouse, 1999).

### ✿ **Autres Interactions**

Les plantes établissent une interaction complexe avec les insectes; attraction des pollinisateurs et protection contre les prédateurs. Par exemple, les conifères sécrètent un mélange complexe des monoterpènes, des sesquiterpènes et des diterpènes, nommé oléorésine, en réponse à l'attaque par des prédateurs d'insecte. Cette sécrétion défensive peut contenir plus de 30 monoterpènes, y compris le limonène, le pinène et le myrcène, qui sont toxiques non seulement pour l'insecte mais aussi pour leurs champignons symbiotiques (Mahmoud et Croteau, 2002).

De même, les terpènes volatils et les composés aromatiques (lactones, aldéhydes et alcools) de beaucoup de fruits permettent d'attirer les animaux afin de disperser leurs graines. chez les agrumes, le limonène de monoterpène est un arôme puissant alors que chez la banane l'eugénol phénolique est le plus odorant (Edwards et Gatehouse, 1999). D'autres monoterpènes, tels que le linalol, le camphène et le cinéole, sont impliqués dans l'attraction et l'allélopathie de pollinisateur (Mahmoud et Croteau, 2002).

Les plantes qui possèdent des principes toxiques sont elles moins consommées (Guignard, 2000). Le ptaquiloside norsesquiterpénique trouvé dans la fougère provoque l'aveuglement et les cancers chez les bétails, tandis que le safrole, trouvé dans l'huile de sassafras est métabolisé au niveau du foie en un carcinogène efficace (Edwards et Gatehouse, 1999).

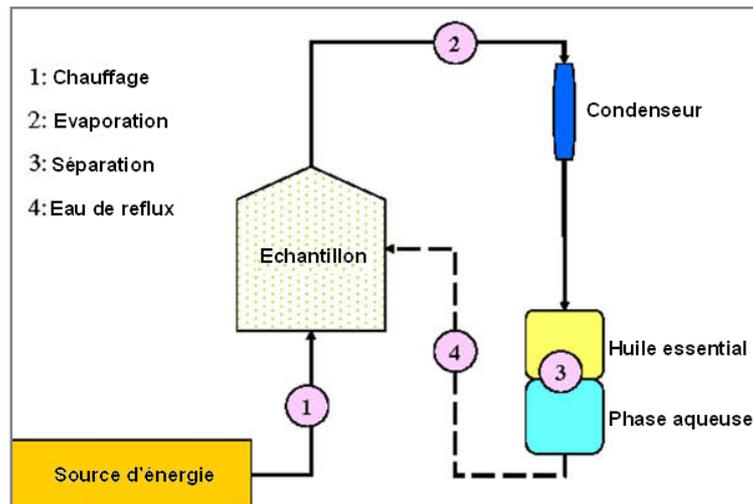
## **II-7- Méthodes d'extraction des huiles essentielles**

La distillation par la vapeur ou, hydrodistillation est le procédé le plus fréquemment appliqué pour extraire les huiles essentielles. Cependant, une distillation peut affecter la composition d'huile essentielle extraite, à cause de l'isomérisation, la saponification et d'autres réactions qui peuvent se produire durant la distillation. D'autres méthodes employées pour extraire les huiles essentielles peuvent également engendrer la modification de la composition. Par conséquent, dans la littérature, les différences trouvées dans la composition de certaines huiles essentielles, sont souvent dues en partie aux méthodes d'extraction (Scheffer, 1996).

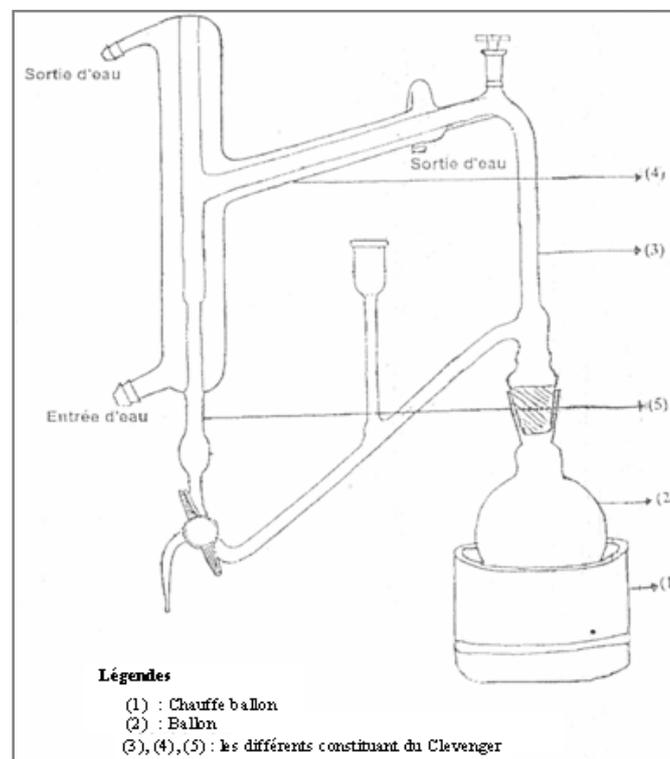
### **II-7-1- Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau**

✦ L'hydrodistillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont

condensées sur une surface froide. Les huiles essentielles se séparent par différence de densité (décantation), la phase huileuse ainsi récupérée est séchée avec du sulfate de sodium anhydre puis conservée à 4°C jusqu'à utilisation (figure 7). Dans beaucoup de cas l'appareil utilisé est de type Clévenger (figure 8) (Scheffer, 1996; Bruneton, 1999 ; Bendahou *et al.*, 2007).



**Figure 7:** Méthode d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation (cité par Bousbia *et al.*, 2009).



**Figure 8:** Schéma de Clévenger (cité par Laouer, 2004).

✦ Dans la distillation à vapeur saturée, le végétal n'est pas en contact avec l'eau : la vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées. Pour raccourcir le temps de traitement, limiter l'altération des constituants de l'huile essentielle et économiser l'énergie, il est possible de travailler en surpression modérée (1 à 3 bar). La conséquence de la surpression étant une augmentation de la température, la qualité du produit peut en souffrir (Bruneton, 1999).

✦ L'hydrodiffusion consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (0,02-0,15 bars) à travers la masse végétale, du haut vers le bas. La composition des produits obtenus est qualitativement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classiques. Le procédé permet un gain de temps et d'énergie (Bruneton, 1999).

### **II-7-2- Extraction par les solvants**

L'extraction proprement dite est généralement précédée d'une division de la drogue. Les solvants les plus utilisés –sous réserve de législations restrictives particulières- seront les hydrocarbures aliphatiques (éther de pétrole, hexane, propane ou butane liquide), les solvants halogénés (dérivés chlorés, et fluorés du méthane et de l'éthane) et l'éthanol, ce dernier étant surtout utilisé pour l'obtention d'absolues et de résinoïdes lavés. En fin d'opération, le solvant qui imbibe la masse végétale est récupéré par injection de vapeur d'eau dans celle-ci (Bruneton, 1999).

### **II-7-3- Extraction par enfleurage**

Ces procédés mettent à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Dans la technique dite de « l'enfleurage » l'extraction se fait par diffusion à froid vers le corps gras, alors que dans celle dite de la « digestion » elle se pratique à chaud, par immersion des organes végétaux fragiles (fleurs d'oranger, pétales de Rose) dans le corps gras fondu (enfleurage à chaud). Le produit obtenu est une *pommade florale* (Paris et Hurabielle, 1981; Bruneton, 1999).

### **II-7-4- Extraction par des gaz supercritiques**

Les techniques habituellement adaptées, telles l'entraînement à la vapeur d'eau et l'extraction par solvant, souffrent de plusieurs limitations dans l'extraction et la préservation de la composition des arômes naturels. Il peut se produire une dégradation de composés thermolabiles, hydrolyse et solubilisation dans de l'eau et une contamination par solvants.

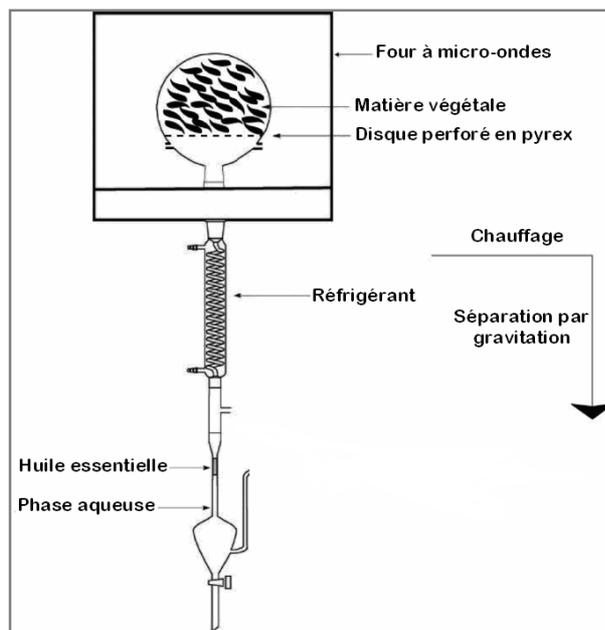
L'extraction par des gaz supercritiques CO<sub>2</sub> est proposée comme technique alternative (Reverchon *et al.*, 1995 ; Reverchon et De Marco, 2006), selon le principe suivant:

Au-delà du point critique, un fluide peut avoir la densité d'un liquide et la viscosité d'un gaz, d'où une bonne diffusibilité dans les solides et un bon pouvoir solvant. L'intérêt s'est porté initialement sur le dioxyde de carbone (produit naturel inerte chimiquement, ininflammable, strictement non toxique, facile à éliminer totalement, sélectif, aisément disponible, peu réactif chimiquement et peu coûteux). Le point critique se situe à P= 74 bars et T= 32 °C (Pourmortazavi et Hajimirsadeghi, 2007).

Les avantages de cette technique sont nombreux : capacité à fournir des extraits de composition très proche de celle des produits naturels, possibilité de faire varier la sélectivité, la viscosité, etc. en jouant sur la température et la pression (extraction et fractionnement simultanés), absence d'hydrolyse et de réarrangements. Ces avantages expliquent le développement actuel du procédé, et ce malgré la lourdeur de l'investissement (Bruneton, 1999).

#### **II-7-5- Hydrodiffusion à micro-onde et à gravitation**

Elle consiste à utiliser un four à micro-ondes (figure 9). L'interaction directe de four à micro-onde avec de l'eau biologique (vapeurs originaire de l'eau de la matière végétale fraîche) favorise le dégagement des huiles essentielles emprisonnées à l'intérieur des cellules de tissus de la plante. Un mélange de "jus brut" chaud et de vapeur d'eau se déplace ainsi naturellement en bas par la pesanteur de la terre en dehors de la cavité de micro-onde où elle se condense à l'intérieur de la spirale du réfrigérant. Le distillat récupéré est décanté et la phase huileuse ainsi récupérée est séchée par le sulfate de sodium anhydre puis conservée à 4°C jusqu'à utilisation (Vian *et al.*, 2008 ; Bousbia *et al.*, 2009).



**Figure 9 :** Hydrodiffusion à micro-onde et à gravitation  
(cité par Vian *et al.*, 2008)

## II-8- Analyse des huiles essentielles

Différents essais ont été prévus: évaluation de la miscibilité à l'éthanol, mesures physiques (indice de réfraction, angle de rotation optique, densité relative, parfois point de solidification), détermination des indices d'acide, d'ester, de carbonyle, etc. Une analyse de l'huile essentielle, par une technique chromatographique est aussi demandée. Bien que beaucoup moins performante que la CPG (Chromatographie en Phase Gazeuse), la CCM (Chromatographie sur Couche Mince) peut être utilisée en routine pour le contrôle de la qualité des huiles essentielles (Bruneton, 1999).

**Chromatographie sur Couche Mince (CCM) :** la chromatographie s'effectue sur des couches de 0,25mm de gel de silice G. Les systèmes de solvants utilisés peuvent être à la base d'éther diéthylique et d'éther de pétrole (30 :70) (Muir *et al.*, 1982), de toluène ou benzène, chloroforme et/ou acétate d'éthyle. La détection peut se faire sous UV ou par pulvérisation de réactifs spécifiques : acide sulfurique puis vanilline et chauffage, chlorure d'antimoine, etc. (Bruneton, 1999).

**Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) :** C'est la technique chromatographique la plus efficace pour séparer les mélanges volatiles, en raison de sa résolution élevée et l'universalité de la détection en utilisant un détecteur à ionisation de flamme (FID).

Généralement la colonne est constituée d'une phase non polaire de polysiloxane diméthylé (silicone méthylique) et d'une phase polaire de Carbowax 20M (Merfort, 2002).

La possibilité de coupler les chromatographes à divers spectrophotomètres (infrarouge à transformée de Fourier, SM) augmente considérablement la quantité et la qualité des informations obtenues (Bruneton, 1999).

## II-9- Conservation des huiles essentielles

La relative instabilité des molécules constitutives des huiles essentielles rend leur conservation difficile. Les risques sont multiples : photo isomérisation, photo cyclisation, coupure oxydative de propénylphénols, peroxydation des carbures et décomposition en cétones et alcools (limonène), thermo isomérisation, etc. (Bruneton, 1999).

Ces dégradations pouvant modifier les propriétés et/ou mettre en cause l'innocuité du produit, il convient de les éviter par certaines précautions telles que l'utilisation de flacons propres et secs en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté antiactinique, presque entièrement remplis et fermés de façon étanche (l'espace libre étant rempli d'azote ou d'un autre gaz inerte), stockage à l'abri de la chaleur et de la lumière (Bruneton, 1999, Sharma et Tripathi, 2008).

## II-10- Facteurs de variabilité des huiles essentielles

Le rendement et la composition de l'huile essentielle sont fortement influencés par la méthode d'extraction (Bendahou *et al.*, 2007). Le profil chimique des huiles essentielles produites diffère en nombre de molécules mais aussi en type stéréochimique des molécules extraites ; la comparaison de la composition de l'huile essentielle de lavande produite par la méthode des gaz supercritiques d'une part et par hydrodistillation d'autre part montre des différences majeures entre les deux produits, notamment dans la composition en acétate linalyl trouvée à des taux respectifs de 34,7% et de 12,1%. Cette différence peut être attribuée à l'hydrolyse d'une partie de ce composé durant l'hydrodistillation (Reverchon *et al.*, 1995). D'autre part le but d'utilisation est déterminant dans le choix de la méthode d'extraction.

Le produit d'extraction peut varier également en qualité, en quantité et en composition en fonction (Bakkali *et al.*, 2008) du matériel génétique (Sartoratto *et al.*, 2004), des conditions climatiques (Baydar *et al.*, 2004), géographiques (Viljoen *et al.*, 2004; Van Vuuren *et al.*, 2007), saisonnières (Jordán *et al.*, 2006; Van Vuuren *et al.*, 2007), la période de cycle végétatif (Hudaib *et al.*, 2002 ; Rasooli et Mirmostafa, 2003), la période de moisson (variation

journalière) (Angelopoulou *et al.*, 2002) et la nature de l'organe végétal (Vokou et Margaritis, 1986 ; Eyob *et al.*, 2007).

## II-11- Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles et Aromathérapie

L'emploi des huiles essentielles dans la pathologie digestive fait appel à leurs propriétés: anti-infectieuse, anti-inflammatoire, spasmolytique, sédative, ce qui permet d'obtenir une action dans différents domaines (Goetz, 2007).

Les principales propriétés des plantes aromatiques sont:

- ✦ Propriétés appétentes et digestives (Teuscher *et al.*, 2005),
- ✦ Propriétés carminatives, spasmolytiques et sédatives (Teuscher *et al.*, 2005),
- ✦ Propriétés anti-inflammatoires (Peano *et al.*, 2002 ; Đorđević *et al.*, 2007),
- ✦ Propriétés anticarcinogènes et antitumorales (Atoum *et al.*, 2006 ; Ghaly *et al.*, 2008),
- ✦ Propriétés hormonales (Teuscher *et al.*, 2005; Hu *et al.*, 2007)
- ✦ Propriétés antioxydantes et antiradicalaires (Tepe *et al.*, 2006),
- ✦ Propriétés antivirales (Sinico *et al.*, 2005 ; Koch *et al.*, 2008),
- ✦ Propriétés antifongiques (Amvam Zollo *et al.*, 1998 ; Daferera *et al.*, 2003 ; Duarte *et al.*, 2005 ; Giordani *et al.*, 2008 ),
- ✦ Propriétés antibactériennes (Hammer *et al.*, 1999 ; Ozturk et Ercisli, 2007),
- ✦ Propriétés insecticides (Lamiri *et al.*, 2001 ; Pavela, 2005 ; Khalfi *et al.*, 2008). etc.

Le terme aromathérapie fut créé pour la première fois dans les années 20 par le chimiste Français, René-Maurice Gattefossé en se référant spécifiquement à l'utilisation des huiles essentielles pour traiter les dommages (Brahms, 2004); s'étant brûlé au cours d'un accident du laboratoire, il versa par erreur de l'huile de la lavande sur la plaie et constata que la blessure guérissait vite, sans laisser de cicatrice (Harding, 2005).

**Aromathérapie** : arôme (odeur, parfum, goût) et thérapie (traitement). L'aromathérapie peut se définir comme une thérapie naturelle alternative ou complémentaire utilisant des parfums ou l'un de leurs constituants volatils pour le traitement, à titre préventif ou curatif, des infections, des maladies physiques et psychosomatiques par l'intermédiaire d'inhalation ou massage (Betts, 2003 ; Lahlou, 2004 ; Edris, 2007 ; Hur *et al.*, 2007 ; Lardry et Haberkorn, 2007).

### ➔ Inhalation

L'inhalation des huiles essentielles ou leurs terpènes de façons individuelles présente un rôle significatif dans le contrôle du système nerveux central. Par exemple, l'inhalation de l'arome d'huile essentielle de *Storax pill* et preinhalation d'huile essentielle de rhizome d'*Acorus gramineus* sont utilisées en médecine Chinoise dans le traitement de l'épilepsie. Les composés aromatiques, *cis*-jasnone et méthyle jasmonate, qui sont caractéristiques de l'arome de *Jasminum grandiflorum* sont un tranquillisant du cerveau après inhalation. De même l'inhalation d'huile essentielle de lavande a démontré une activité antalgique intéressante. L'action de l'huile est principalement due à l'activité antimicrobienne de ses composants volatils. Les vapeurs des huiles essentielles de cannelle et du clou de girofle ont également montré une inhibition de différentes bactéries pathogènes Gram (+) et Gram (-) (Edris, 2007).

### ➔ Massage

Les maladies inflammatoires, telles que l'allergie, rhumatisme et arthrite sont souvent soulagées, par l'intermédiaire de massage. Les huiles essentielles utilisées pour cette application sont habituellement diluées dans une huile douce. L'application cutanée de l'huile essentielle de géranium par le biais de massage traite les symptômes inflammatoires dus à l'accumulation de neutrophiles dans l'œdème (Edris, 2007).

Utilisé en tant qu'élément de massage, l'huile en question, absorbée par la peau passe rapidement aux organes internes, en particulier au cerveau. D'où son utilisation dans plusieurs troubles touchant le cerveau (Belaiche, 1979 ; Edris, 2007).

L'utilisation clinique des huiles essentielles et leurs composants volatils par l'intermédiaire d'inhalation ou de massage a augmenté dans le monde entier (Edris, 2007).

### **III- Aromatogramme et activité antibactérienne des huiles essentielles**

#### **III-1- Aromatogramme**

##### **III-1-1- Définition**

L'aromatogramme est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles essentielles. C'est une méthode inspirée de l'antibiogramme qui permet de déterminer l'activité inhibitrice de la croissance des huiles essentielles par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque chargé d'huile essentielle (De Billerbeck, 2007; Kaloustian *et al.*, 2008). Son principe a été mis au point, en 1949, pour la première fois par Schroeder et Missing (Belaiche, 1979).

La technique de détermination du pouvoir antimicrobien des HE et composés aromatiques a une grande influence sur les résultats. Les difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants des HE dans l'eau, de leur volatilité, de la nécessité de les tester à des faibles concentrations et des problèmes de standardisation des méthodes (Hulin *et al.*, 1998).

##### **III-1-2- Les principales techniques de l'aromatogramme**

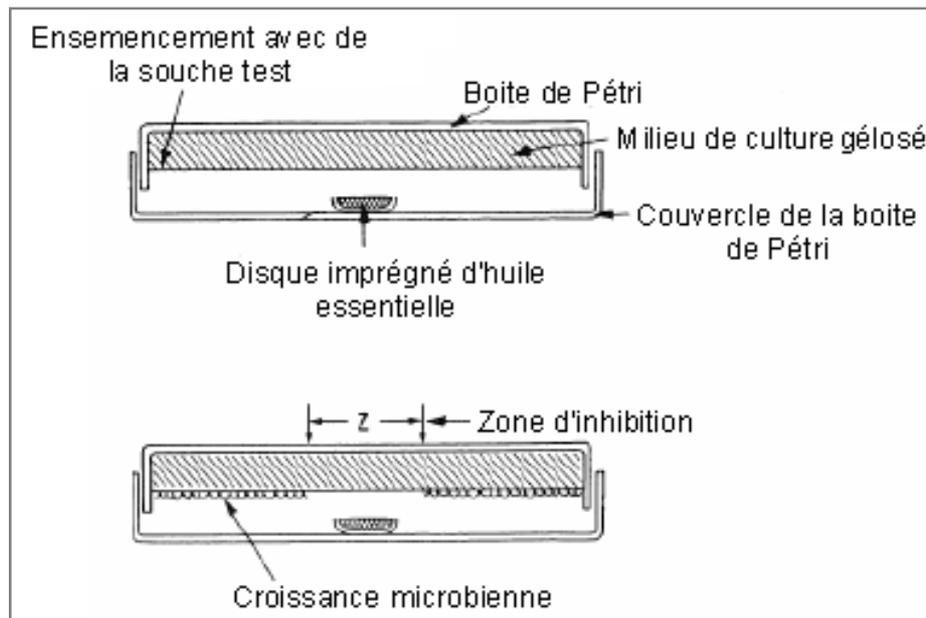
Les principales techniques d'aromatogramme sont celles réalisées :

- Sur gélose (milieu solide)
- Sur bouillon (milieu liquide)
- En miro atmosphère (milieu gazeux) (Belaiche, 1979)

###### **III-1-2-1- Technique de micro atmosphère**

Cette méthode consiste à déposer un disque de papier filtre imprégné d'HE au centre du couvercle d'une boîte de Pétri, sans que l'huile entre en contact avec la géloseensemencée par les micro-organismes. La boîte est hermétiquement fermée.

Il se produit une évaporation des substances volatiles dans l'enceinte de la boîte et les cellules sensibles sont inhibées. Cette méthode ne quantifie par l'activité antimicrobienne réelle des HE, elle montre seulement l'activité des constituants volatils à la température d'incubation (figure 10) (Hulin *et al.*, 1998).



**Figure 10 :** Illustration de la méthode des micro-atmosphères (Pibiri, 2005)

### III-1-2-2- Technique de l'aromatogramme qualitatif "milieu solide"

Pour cette technique, un des tests les plus simples est basé sur la diffusion en milieu gélosé. Ce test est réalisé par dépôt de l'HE, à l'aide de disques de cellulose imprégnés d'une quantité connue d'HE (figure 11) (antibioaromatogramme) ou des puits creusés dans la gélose additionné de tween 80 à 10% et rempli d'HE. Après incubation, la lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenues sur gélose ensemencée de micro-organisme.

Cette méthode sert en général à la présélection de l'activité antimicrobienne des HE car :

- le diamètre d'inhibition n'est pas une mesure direct de l'activité antimicrobienne des HE, les différents constituants ne se diffusant pas de la même manière dans le milieu gélosé ;
- le diamètre d'inhibition varie en fonction de la densité de l'inoculum et de l'épaisseur du milieu de culture. Il est donc nécessaire de standardiser ces conditions pour pouvoir comparer les résultats, ce qui n'est pas toujours le cas dans les différentes études réalisées sur le sujet (Belaiche, 1979; Hulin *et al.*, 1998).



un effet dépréciateur de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles. Selon les détergents, les solvants et selon les concentrations auxquelles ils sont employés, les CMI et les CMB varient et pour résoudre ces problèmes une méthode de dispersion des huiles essentielles sans détergents ni solvants a été mise au point. Son principe est de rendre le milieu légèrement visqueux ou colloïdal par une solution d'agar-agar à 0,2%. À cette concentration, elle donne au milieu une viscosité capable d'empêcher les constituants des huiles essentielles de se réassocier après agitation.

### III-2- Activité antibactérienne et mécanisme d'action des huiles essentielles

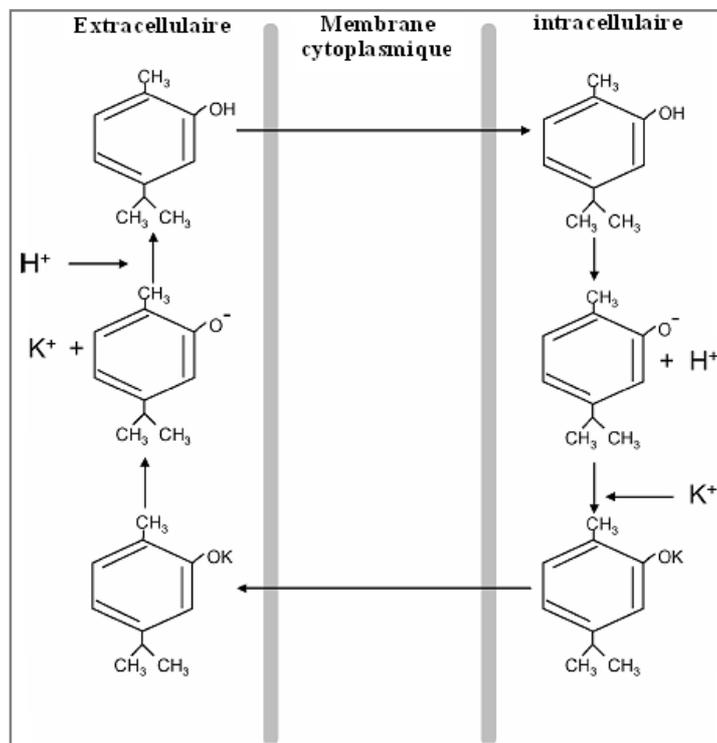
Bien que les effets antimicrobiens des huiles essentielles soient bien établis, le mécanisme d'action de tels composés est mal compris (Lambert *et al.*, 2001) mais il semble probable que les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes agissent au niveau de la membrane cellulaire des bactéries en provoquant sa dislocation (Cowan, 1999 ; Calsamiglia *et al.*, 2007). L'activité est due à la nature hydrophobe des hydrocarbures cycliques, qui leur permet d'agir avec la membrane cellulaire en s'accumulant dans la bicouche lipidique. Cette interaction engendre des changements conformationnels de la structure membranaire, en provoquant sa fluidification et sa dilatation. La déstabilisation de la membrane a pour conséquence la fuite des ions à travers la membrane cellulaire qui diminue ainsi le gradient ionique. Dans la plupart des cas, les bactéries peuvent équilibrer le gradient et cela, en employant des pompes ioniques et la mort cellulaire ne se produit pas, mais les énergies détournées pour faire fonctionner celles-ci ralentissent la croissance cellulaire. En général, l'activité antimicrobienne est due aux hydrocarbures cycliques et aux phénols telles le thymol et le carvacrol dont lesquels les groupements hydroxyle et les électrons forment des interactions avec de l'eau en établissant des ponts hydrogène comme site actif qui les rend actifs contre les micro-organismes. Un autre mécanisme alternatif a été proposé et qui admet que le groupement hydroxyle des phénols réagit en tant que porteur transmembranaire des cations monovalents et protons (Calsamiglia *et al.*, 2007).

#### Carvacrol

Le carvacrol non dissocié (portant le proton) diffuse à travers la membrane cytoplasmique vers le cytoplasme et se dissocie, en libérant de ce fait les protons apportés dans le cytoplasme (figure 12).

Le carvacrol postérieur et non dissocié retourne en portant un ion de potassium (ou un autre ion) du cytoplasme au milieu extracellulaire. Le Carvacrol libère cet ion dans le

milieu extracellulaire et récupère un hydrogène supplémentaire pour fermer le cycle (Calsamiglia *et al.*, 2007).



**Figure 12 :** Hypothèse de mécanisme d'action du carvacrol (Calsamiglia *et al.*, 2007)

Ultee *et al.* (1999) ont montré que l'exposition de *Bacillus cereus* au carvacrol mène à une diminution de la concentration interne en ATP. Cependant aucune augmentation proportionnelle de l'ATP externe n'a été observée. D'après ces auteurs, le carvacrol n'augmente pas la perméabilité de la membrane pour l'ATP ; en conséquence l'épuisement de la concentration interne en ATP résulte de la réduction du taux de synthèse de l'ATP ou par augmentation de l'hydrolyse de l'ATP.

### 🚩 Eugénol

L'eugénol est le composant majoritaire (85%) de l'huile essentielle de clou de girofle. Des concentrations sub-létales de l'eugénol se sont avérées pour inhiber la production de l'amylase et des protéases chez *Bacillus cereus*. La détérioration de la paroi cellulaire et un degré élevé de lyse de cellules ont été également notés (Burt, 2004).

## ✚ Carvone

A des concentrations supérieures au CMI, le carvone affecte le gradient de pH et le potentiel membranaire des cellules. Le taux spécifique de croissance d'*E. coli*, *Streptococcus thermophilus* et *Lactococcus lactis* diminue avec l'augmentation des concentrations de carvone, ce qui suggère qu'il agit en perturbant le statut métabolique d'énergie des cellules. En revanche, une autre étude a montré que le carvone était inefficace sur la membrane externe de *E. coli* et de *Salmonella typhimurium* et n'a pas affecté le taux intracellulaire en ATP (Burt, 2004).

Le mécanisme d'action de l'huile essentielle de l'arbre de thé (*Melaleuca alternifolia*) est partiellement élucidé. Le traitement de *Staphylococcus aureus* avec de l'huile essentielle de l'arbre de thé provoque la fuite des ions potassium et des molécules absorbant à 280 nm et empêche la respiration. Le traitement avec cette huile a également sensibilisé cette bactérie au chlorure de sodium, et l'observation sous microscope électronique montre des changements morphologiques. Cependant, aucune destruction de la cellule entière n'est observée par spectrophotomètre ou microscope électronique. En outre, aucune atteinte de la membrane cytoplasmique n'est détectée en utilisant la lactate déshydrogénase, seulement une prise modeste de l'iodure de propidium a été observée (Cox *et al.*, 2000 ; Carson *et al.*, 2006). Contrairement à l'absence de lyse cellulaire entière chez *S.aureus* traitée par l'huile essentielle de l'arbre de thé, une lyse cellulaire chez *E.coli* s'est produite suite au traitement par cette huile et cet effet est aggravé par le co-traitement avec l'EDTA. Tous ces effets confirment que cette huile affecte l'intégrité structurelle et fonctionnelle des membranes bactériennes (Carson *et al.*, 2006).

L'étude de mécanisme d'action de l'huile essentielle de l'arbre de thé sur *Pseudomonas aeruginosa* n'a pas conduit aux observations citées précédemment. Pour cela, la recherche s'est concentrée sur la façon dont l'organisme tolère des concentrations élevées de cette huile et/ou de composants. Ces études montrent que la tolérance est associée à la membrane externe. Le traitement de *P.aeruginosa* par le nonapeptide B polymixine ou l'EDTA provoque la perméabilisation de la membrane. De ce fait, les cellules deviennent plus susceptibles aux effets bactéricides de l'huile essentielle de l'arbre de thé, terpinen-4-ol, ou  $\gamma$ -terpinène (Cox *et al.*, 2001 ; Carson *et al.*, 2006).

Schelz *et al.* (2006) ont confirmé l'importance de l'huile essentielle de peppermint et le menthol comme agent antimicrobien par leur activité antiplasmidique.

En général, l'activité cytotoxique des huiles essentielles est due à la présence de phénols, d'aldéhydes et d'alcools dans leurs structures (Bakkali *et al.*, 2008).

Cette propriété cytotoxique est d'une grande importance dans les applications des huiles essentielles non seulement contre certains microbes pathogènes ou parasites humains ou animaux mais également pour la conservation des produits agricoles et halieutiques (de la mer) (Bakkali *et al.*, 2008).

### III-3- Synergie entre les composants des huiles essentielles

Les huiles essentielles étant des mélanges complexes de nombreuses molécules, les effets biologiques observés peuvent résulter de la synergie de l'action de toutes les molécules ou être dues uniquement aux molécules majoritaires présentes à des concentrations élevées ; l'huile essentielle d'arbre de thé se révèle moins active sur *P.aeruginosa* et *S.aureus* que le terpinen-4-ol seul. En outre, l'effet d'huile essentielle d'arbre de thé est semblable au mélange de terpinen-4-ol et  $\gamma$ -terpinène (50%/ 50%) (Cox *et al.*, 2001 ; Bakkali *et al.*, 2008). De même, le carvacrol se montre plus actif sur *E. coli O157:H7* que l'huile essentielle d'origan.

Les fonctions synergiques de diverses molécules contenues dans une huile essentielle, par rapport à l'action d'un ou de deux composants principaux de l'huile, apparaissent incertaines (Bakkali *et al.*, 2008); Il semble que la nature antimicrobienne d'huile essentielle de *Filipendula vulgaris* peut être attribuée aux interactions synergiques de composés constituant l'huile plutôt qu'à la présence d'un agent inhibiteur simple (Radulović *et al.*, 2007), *p*-cymène combiné avec le carvacrol, est un antibactérien efficace contre *B. cereus*, mais *p*-cymène seul s'avère inefficace. L'incorporation de *p*-cymène dans la bicouche lipidique facilite très probablement le transport du carvacrol à travers la membrane cytoplasmique (Burt, 2004). Cependant, il est possible que l'activité des composants principaux soit modulée par d'autres molécules mineures. Dans ce sens, et pour des buts biologiques, il est plus instructif d'étudier une huile entière plutôt que certains de ses composants parce que le concept de synergie semble être plus significatif (Bakkali *et al.*, 2008).

# **Chapitre 2 : Matériel et Méthodes**

## I- Matériel végétal

Notre étude a porté sur deux plantes médicinales aromatiques de la région de Bejaia, qui sont : l'espèce *Origanum glandulosum* Desf. et l'espèce *Artemisia herba alba* Asso.

### I-1- Identification des plantes

L'identification des plantes a été faite en se referant à la Flore d'Algérie (Quezel et Santa, 1963) au Laboratoire de Physiologie Végétale et d'Ecologie à l'Université de Bejaia et au Laboratoire de Biologie Végétale à l'Université de Sétif.

### I-2- Echantillonnage

Les parties aériennes (feuilles et tiges) d'*Origanum glandulosum* Desf. (origan) et d'*Artemisia herba alba* Asso. (armoïse blanche) sont cueillies au mois de Mai 2008 dans la région de Barbacha (36°35'43.74"N; 4°59'10.81"E) et de Semaoun (36°35'54.82" N; 4°50'01.48" E) respectivement ; les sites de prélèvement sont présentés en ellipse (figure 13).

La cueillette est effectuée par temps sec et non orageux, après le lever du soleil et la disparition de la rosée (9h00-12h00) à l'aide d'un sécateur.

Mentionnons, que sur un même peuplement, trois prélèvements pour l'armoïse blanche (EchA1, EchA2, EchA3) et trois prélèvements pour l'origan (EchO1, EchO2, EchO3) ont été effectués à des emplacements différents.



Figure 13 : Cartes géographiques de deux régions de prélèvement

### I-3- Séchage

Après cueillette des parties aériennes, les grandes tiges sont éliminées manuellement et seules les parties recouvertes de feuilles, débarrassées de la poussière et d'éventuelles impuretés ont été utilisées.

Les parties aériennes (feuilles et tiges) des deux plantes sont séchées en les étalant de façon homogène sur les paillasses de laboratoire (endroit ombré et aéré).

Le séchage est effectué à la température ambiante (19-21°C) et durant toute la période de séchage, les parties aériennes sont retournées régulièrement.

Une cinétique de séchage de 100 g de parties aériennes de chaque espèce a été effectuée.

Les parties aériennes séchées sont conservées dans des sacs de papier ou dans des boîtes en carton dans un endroit sec et à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

## II- Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

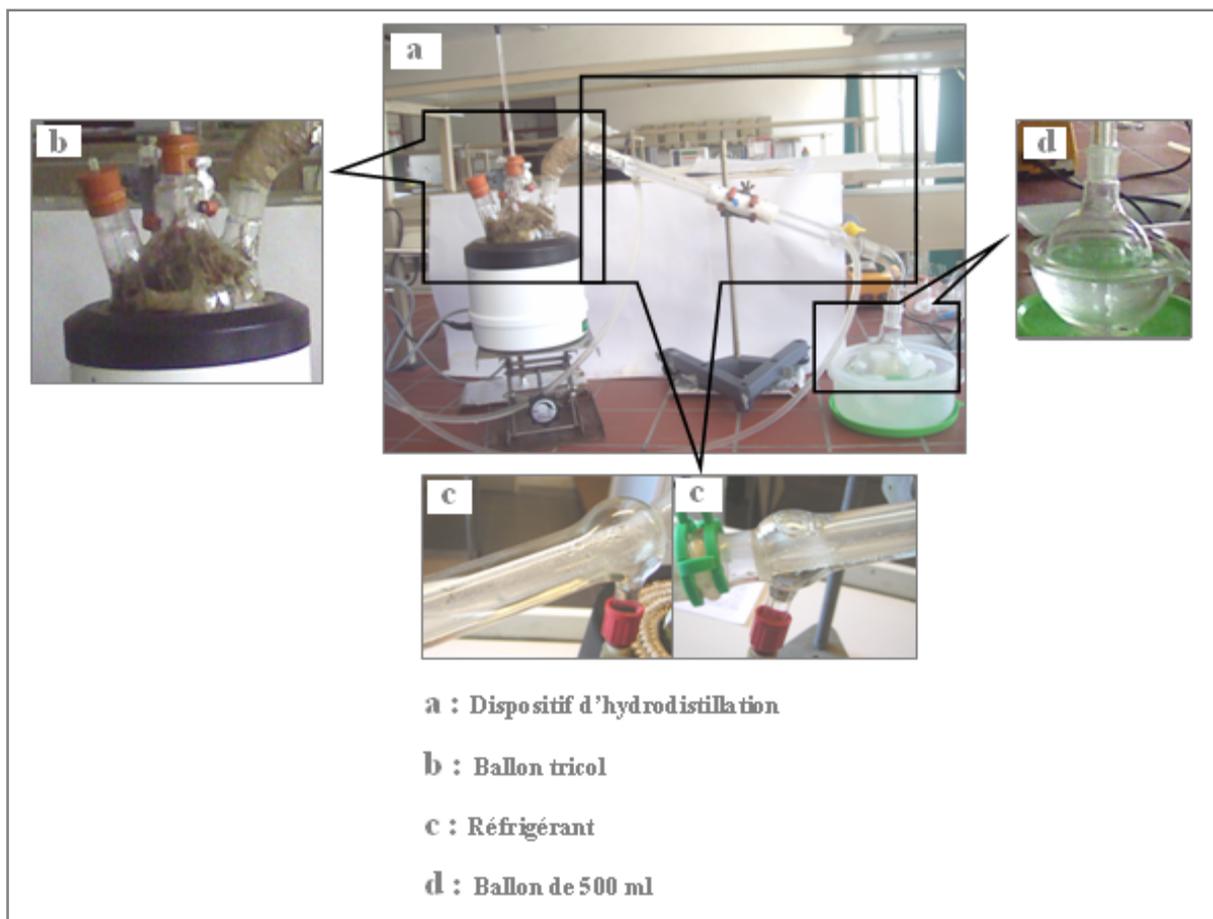
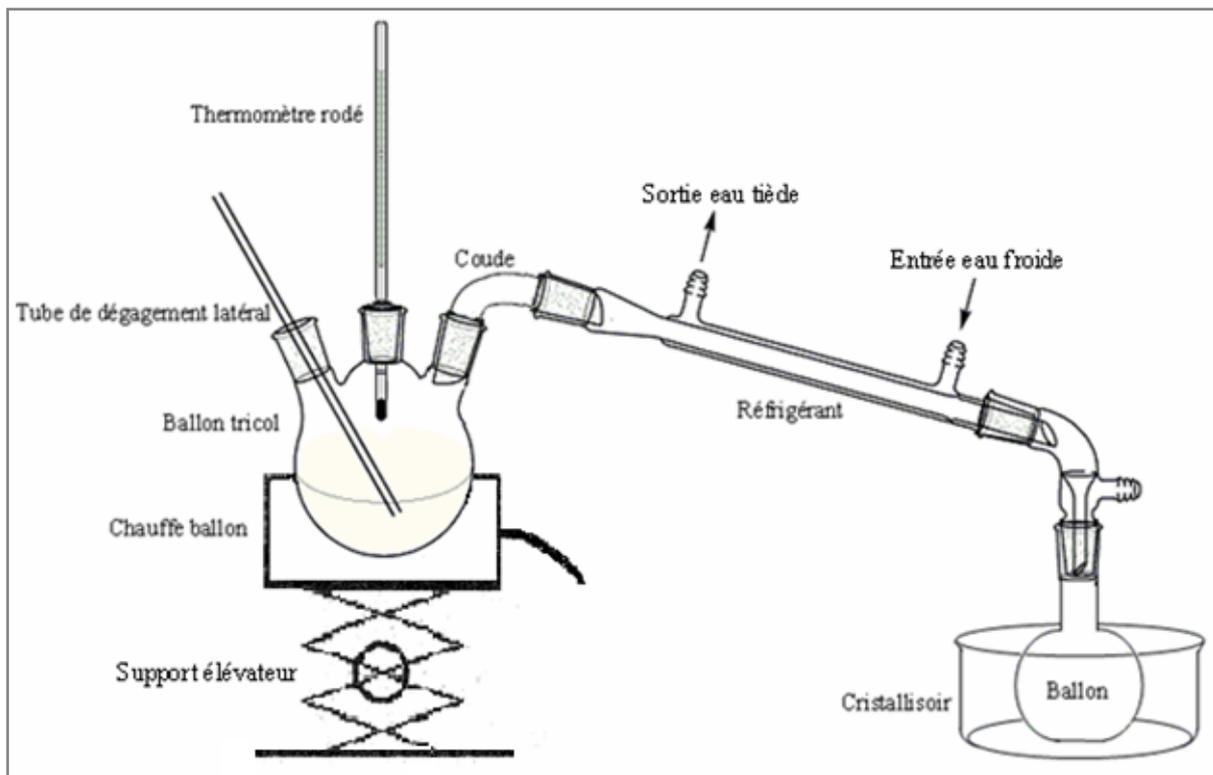
### *Description du montage d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation*

Le dispositif d'extraction des huiles essentielles est constitué de :

- Un ballon tricol : capacité 1 litre,
- Un système de refroidissement (réfrigérant),
- Un ballon de cinq cent millilitres.

Tout le chemin parcouru par la vapeur d'eau, de la sortie du ballon jusqu'à l'entrée du réfrigérant est isolé du milieu ambiant par une épaisse couche d'alun de verre recouverte du papier aluminium.

L'isolation du coude liant le ballon au réfrigérant de l'installation est indispensable. En effet, sans isolation, la vapeur d'eau risque de se condenser dans le ballon avant d'atteindre le réfrigérant (figure 14).



**Figure 14** : Dispositif d'hydrodistillation utilisé

### ***Extraction des huiles essentielles***

Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation, selon le protocole de Baydar *et al.* (2004) modifié.

Le ballon tricol contenant 500 ml d'eau de la source et 50 g de matière végétale sèche est chauffé dans un chauffe ballon. Lorsque la température du thermomètre affiche 80°C, le chauffe ballon est réglé au minimum. Après 1 heure d'hydrodistillation, un apport d'eau à travers le tube de dégagement latéral est effectué progressivement; le volume atteint à la fin de l'hydrodistillation est de 800 ml pour 50 g de matière végétale.

Les vapeurs chargées d'huile essentielle (distillat), en traversant le réfrigérant se condensent et chutent dans le ballon de 500ml mis dans un cristalliseur rempli de glaçons. Après 3 heures, l'hydrodistillation est arrêtée.

Le distillat récupéré est formé de deux phases, une phase aqueuse majoritaire et quelques gouttes formant la phase huileuse claire surnageante. Ces deux phases sont intimement mélangées avant décantation.

Un nettoyage de dispositif avec de l'éthanol absolu suivi d'un rinçage à l'eau distillée est effectué après chaque utilisation et cela afin d'éviter la contamination de l'huile par les traces d'huile essentielle restant de l'autre plante.

#### **✦ *Décantation et déshydratation***

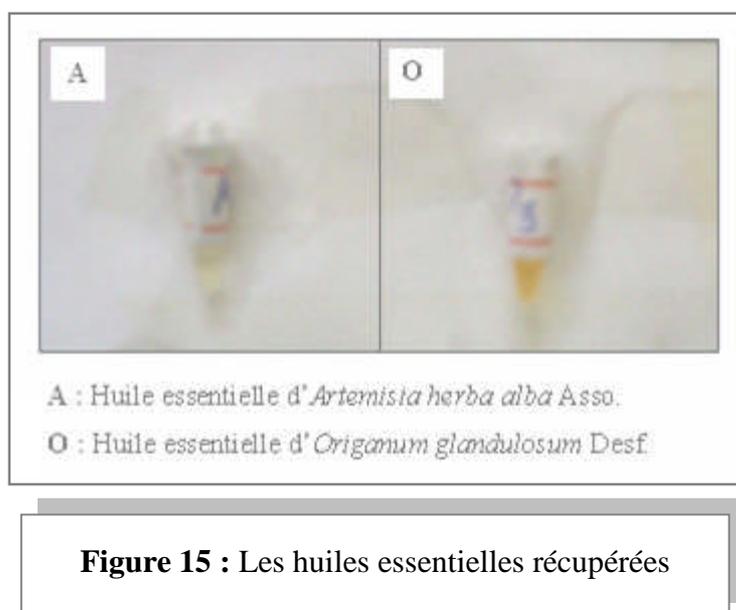
Le distillat décanté pendant environ 3 heures. A la fin de la décantation il y'aura formation de deux phases, une phase supérieure contenant l'huile essentielle et une phase inférieure correspondant à l'eau aromatique.

La phase huileuse récupérée est déshydratée par du sulfate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Après environ 15 min de contact, elle est récupérée par micropipette (figure 15).

Le rendement est calculé par rapport au poids sec de la matière végétale; le rendement en huile essentielle est exprimé par la quantité d'huile (en g) obtenue pour 100 g de matière végétale sèche (m/m) (Salamci *et al.*, 2007).

#### **✦ *Conservation***

Les huiles essentielles récupérées sont conservées à 4°C dans des fioles teintées scellées hermétiquement jusqu'à utilisation.



### III- Activité antibactérienne

#### III-1- Les souches bactériennes

Quatre souches (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa*) ont été choisies pour leur pathogénicité et leurs résistances et qui sont souvent incriminées dans les infections nosocomiales. Ces souches bactériennes appartiennent à la collection du Laboratoire de Biochimie microbienne, Université de Bejaia.

Les caractéristiques et l'origine de chaque souche sont reportées sur le tableau III, et les profils de résistance sont cités en Annexe A.

**Tableau III:** Caractéristiques et origines des souches testées

Souches	Origine	Résistance aux antibiotiques
<i>Staphylococcus aureus</i> (S220) (Gram positif)	Urine	Souche sensible à la ceftazidime
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (610) (Gram négatif)	Expectorations	Souche résistante à l'imipénème (IMP) par le mécanisme d'imperméabilité (la perte de la porine D2)
<i>Escherichia coli</i> (Gram négatif)	Urine	Souche résistante aux quinolones et aux fluoroquinolones.
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (E47) (Gram négatif)	Urine	Souche productrice de $\beta$ -lactamase à spectre élargie (BLSE)

### III-2- Préparation de la suspension bactérienne initiale (inoculum)

L'inoculum (suspension bactérienne initiale) préparé durant tout le travail est standardisé à  $10^8$ UFC/ml.

Les souches conservées à 4 °C sont repiquées sur un milieu neuf (Cœur cerveau) (Annexe B), puis incubées à 37°C pendant 24 heures.

#### ➤ Détermination de la longueur d'onde maximale de chaque souche

Une suspension bactérienne de quelques colonies d'une culture fraîche (18 à 24 heures) préparée dans de l'eau physiologique est soumise à un balayage entre 380-780 nm. Les longueurs d'onde maximale ont été déterminées pour chaque souche (tableau IV, Annexe D).

La longueur d'onde maximale de la souche à tester est introduite dans le spectrophotomètre et une suspension bactérienne initiale correspondant à une absorbance de 0,5 est préparée.

A partir de la suspension bactérienne initiale une série de dilutions décimales est effectuée. 0,1 ml de chaque dilution ainsi que la suspension bactérienne initiale servent ensuite pour l'ensemencement de la gélose Cœur cerveau à l'aide d'un râteau étaleur. Un dénombrement est alors effectué après incubation à 37°C pendant 24 heures.

### III-3- Contrôle de la stérilité des huiles essentielles

La stérilité de nos huiles essentielles a été confirmée comme suit :

Des disques de papier Whatman N°01 déposés sur la gélose de Mueller Hinton stérile sont chargés avec 5µl de chaque huile essentielle. Un autre test a été effectué avec un mélange gélose huiles essentielles. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les boîtes ne montrant aucun contaminant, les huiles essentielles sont stériles.

### III-4- Aromatogramme sur milieu solide (méthode des disques)

Pour la mise en place de l'aromatogramme (méthode des disques) nous nous sommes inspirés des protocoles suivis par plusieurs auteurs : Belaiche (1979), Rassoli et Mirmostafa (2003), et Gachkar *et al.* (2006).

#### III-4-1- Préparation des dilutions des huiles essentielles

Nous avons choisi le diméthylsulfoxyde comme solvant des huiles et nous avons par ailleurs montré son innocuité sur les souches comme suit :

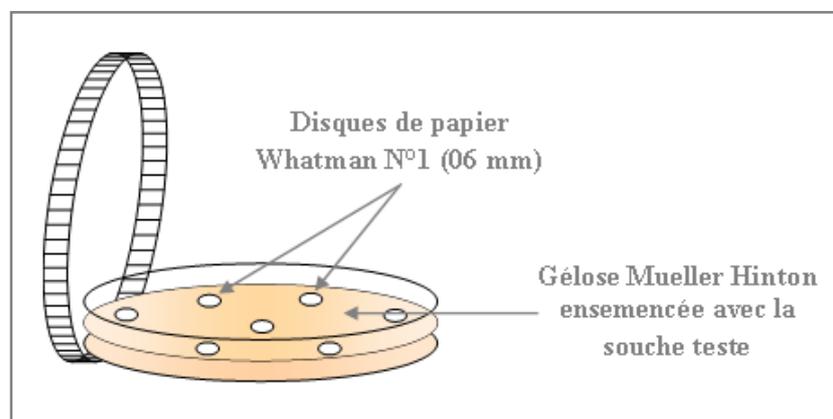
Un écouvillon stérile trempé dans une suspension bactérienne à  $10^8$ UFC/ml (Rasooli et Mirmostafa, 2003) sert à ensemercer des géloses Mueller-Hinton coulées dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre avec une épaisseur d'au moins de 4mm (Belaiche, 1979).

Des disques de papier Whatman N°01 stériles, déposés sur les géloses de Mueller Hinton préalablement ensemençées, sont imprégnés avec 5 $\mu$ l de diméthylsulfoxyde (DMSO) stérile. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, le DMSO ne présente aucune activité antibactérienne.

Différentes dilutions des huiles essentielles (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256) ont été préparées.

### III-4-2- Evaluation de l'activité antibactérienne des différentes dilutions des huiles essentielles

- Des disques de papier Whatman stéril (N°1, diamètre est de 06 mm) sont disposés à égale distance les uns des autres (6 disques par boîte) et de telle façon à éviter le chevauchement des zones d'inhibition sur la gélose préalablement ensemençée par écouvillonnage avec la souche test (figure 16). Une légère pression sera exercée sur chaque disque afin d'obtenir une bonne adhérence,
- Sur chaque disque 5  $\mu$ l des dilutions de chaque huile essentielle préparées dans du DMSO (1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32) ainsi que l'huile essentielle non ont été déposés,
- 5  $\mu$ l du solvant de dilution (DMSO) sont ajoutés aux disques déposés sur la gélose des boîtes témoins,
- les boîtes laissées à 4°C pendant 2 h sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Les diamètres de zones d'inhibition entourant le disque sont mesurés en millimètre. Les essais sont faits en triples, le résultat étant la moyenne des trois.



**Figure 16 : Méthode des disques**

Pour l'étude de l'effet du temps sur la diffusion des huiles essentielles, la diffusion est suivie pendant 2 heures et 24 heures.

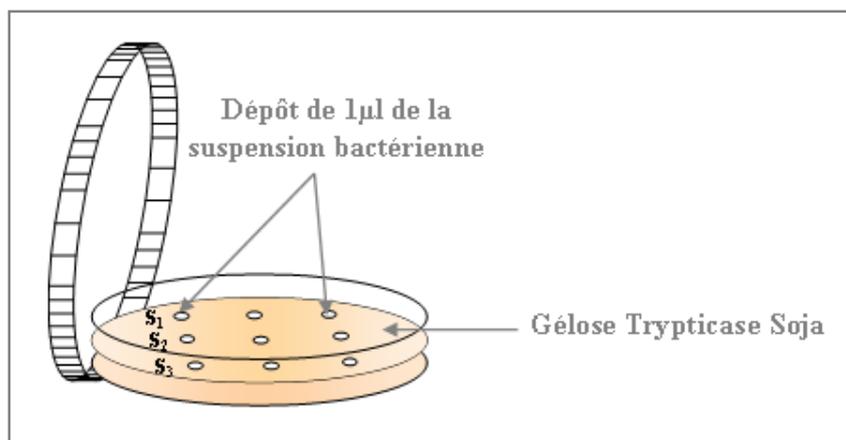
Afin de déterminer si l'huile essentielle possède une activité bactéricide ou bactériostatique, un prélèvement de la zone d'inhibition est transféré dans un tube contenant un bouillon Cœur cerveau qui, par la suite incubé à 37°C pendant 18 heures, est examiné à l'œil nu. Un milieu trouble indique un pouvoir bactériostatique, tandis qu'un milieu clair indique un pouvoir bactéricide de l'huile testée (Laouer *et al.*, 2003).

### **III-5- Aromatogramme en micro atmosphère : Détermination des Quantités Minimales Inhibitrices (QMI) sur les bactéries (effet des vapeurs des huiles essentielles)**

La détermination des QMI a été réalisée sur la base de la technique en micro atmosphère dérivées de la méthode originale de Kelner et Kober (1955), décrites par Bendjilali *et al.* (1984 b), et Laouer (2004).

L'intérêt de cette technique repose sur l'évaluation de l'activité inhibitrice de la croissance des huiles essentielles sous forme de "vapeurs naturelles", c'est-à-dire libérées à température ambiante.

- Des boîtes de Pétri sont préparées extemporanément par dépôt de 20ml de milieu Trypticase Soja gélosé en surfusion,
- L'inoculation est effectuée en surface, sous forme de trois dépôts de 1µl de suspensions bactériennes ( $10^8$  cellules/ml), soit  $10^5$  cellules/dépôt. Les 3 souches sont testées dans la même boîte de Pétri (figure 17),
- Après séchage des dépôts dans la hotte à flux laminaire, un papier filtre est placé au fond du couvercle de chaque boîte de Pétri juste avant la fermeture de la boîte, l'huile essentielle est déposée au centre du papier. Pour chaque huile, les dépôts sont de 0 (témoin de croissance), 10, 20, 40 et 80 µl. Immédiatement, les boîtes fermées sont retournées (dépôt d'huile essentielle en position inférieure, sur le couvercle de la boîte de Pétri).
- Les géloses sont incubées à 37°C. La croissance est observée pendant 6 jours. Les valeurs de QMI sont déterminées comme étant les plus petites quantités d'huile essentielle déposées avec absence visible de croissance à chaque temps de lecture.



**Figure 17 :** Dépôt de l'inoculum lors de l'aromatogramme en micro-atmosphère

### III-6- Aromatogramme en milieu liquide

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle ont été déterminées selon la méthode rapportée par Gachkar *et al.* (2006) et légèrement modifiée par nous au niveau des dilutions. Tous les essais ont été effectués avec du bouillon Cœur cerveau (BHI) additionné de tween 80 (0,5%). La Concentration Minimale Inhibitrice en milieu liquide (bouillon) est déterminée comme suit :

- 40 µl de diverses dilutions des huiles essentielles (tableau V, Annexe D) ont été ajoutés à 4,5 ml de bouillon Cœur cerveau, suivi d'une homogénéisation au vortex pendant 2 minutes,
- ajout de 0,5 ml de la suspension bactérienne ( $10^8$ UFC/ml),
- homogénéisation au vortex,
- Les tubes ont été incubés dans un bain marie agitateur à 37°C pendant 24 heures,
- 0,1 ml de bouillon de chaque tube est ensemencé sur gélose Cœur cerveau en double.

### IV- Analyse préliminaire des huiles essentielles par Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

Les composants majoritaires de nos huiles essentielles ont été identifiés par CCM en s'inspirant du protocole préconisé par Vardar-Ünlü *et al.* (2003).

#### IV-1- Etalons (témoins)

N'ayant pas pu disposer d'étalons de références purs, nous avons utilisé des huiles essentielles de commerce (Phytosunarôme, Phytofrance) et des standards fournis par le laboratoire de chimie de L'USTHB.

Pour l'origan, les huiles essentielles de commerce utilisées comme standard sont les suivantes :

- huile essentielle de *Satureja montana* (riche en carvacrol ),
- huile essentielle de *Thymus saturoïdes* (17% de carvacrol),
- huile essentielle d'*Origanum majorana* (50% de monoterpénol et 22% de terpine-1-ol-4).

Pour l'armoise blanche, 3 produits destinés à la parfumerie renfermant chacun, un composant majoritaire ont été utilisés comme standard :

- Produit 1 : phytol,
- Produit 2 : terpinéol,
- Produit 3 : carvone,

#### IV-2- Système d'élution

Le système d'élution utilisé est composé d'éther de pétrole et d'éther diéthylique (3 : 1 v/v) (Vardar-Ünlü *et al.*, 2003). La cuve est d'abord saturée en vapeurs d'éluant.

#### IV-3- Développement et révélation

1,5 µl de chaque échantillon des huiles essentielles de commerce et de notre échantillon, et 15µl des produits destinés à la parfumerie qui sont dilués dans du méthanol sont déposés sur un trait horizontal à environ de 1cm du bas de la plaque de CCM. La migration est effectuée pendant 1 heure.

Après migration la plaque est séchée sous la hotte, puis révélée selon deux procédures :

##### ❖ *Visualisation sous UV*

Pour visualiser les différentes taches, les plaques sont placées sous une lampe UV à 254 nm (chambre noire). La plaque apparaît en vert fluorescent et les produits qui absorbent les UV apparaissent sous forme de taches sombres.

##### ❖ *Révélation chimique*

Les plaques sont vaporisées avec une solution composée d'acide sulfurique à 5 % et de la vanilline à 1% (dans de l'éthanol) (Vardar-Ünlü *et al.*, 2003).

**Traitement complémentaire** : après vaporisation, la plaque est chauffée à 120°C jusqu'à ce que des taches colorées apparaissent (Vardar-Ünlü *et al.*, 2003).

Chaque tache est déterminée par son rapport frontal (Rf).

# **Chapitre 3 : Résultats et Discussion**

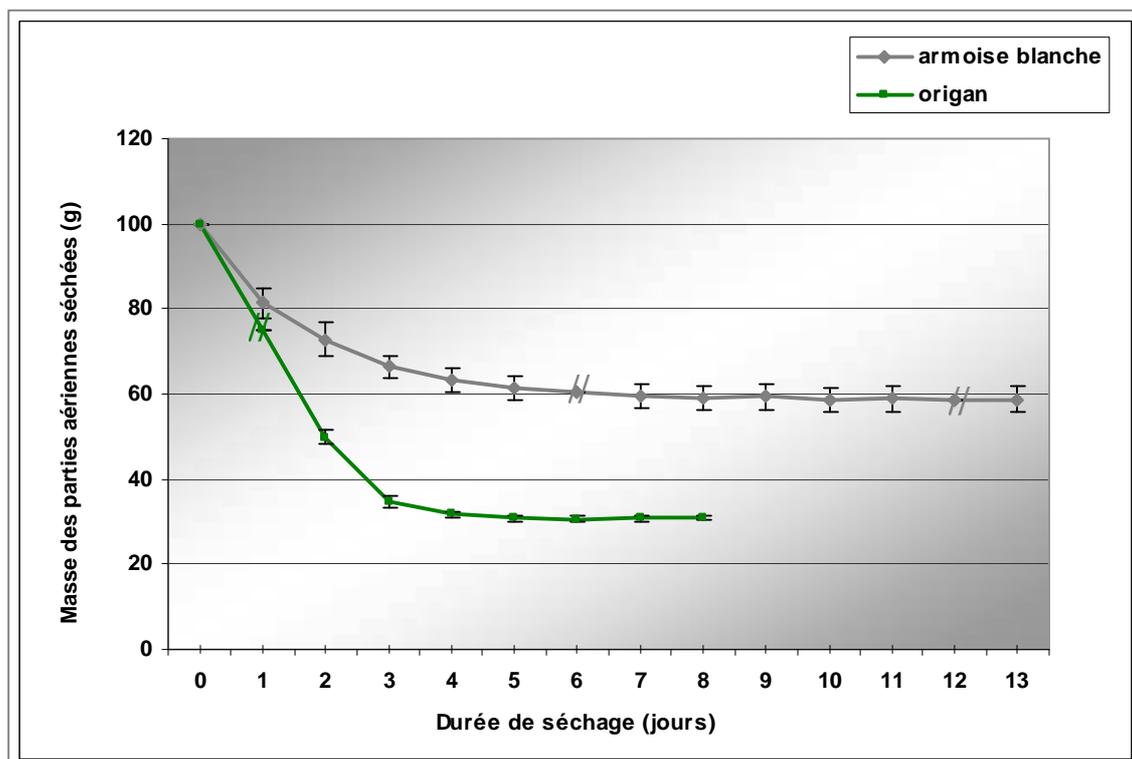
## I- Séchages des plantes

### I-1- Cinétique de séchage

Le suivi des cinétiques de séchage permet d'estimer la durée de séchage de chaque plante.

Les courbes présentées sur la figure 18, nous renseignent sur la durée optimale du séchage des trois échantillons d'origan (Ech O1, Ech O1, Ech O1) et des trois échantillons d'armoise blanche (Ech A1, Ech A1, Ech A1).

Pour l'origan, une perte importante d'humidité a été observée entre le 1<sup>er</sup> et le 4<sup>ème</sup> jour alors que l'optimum de séchage est atteint au bout de 4 jours. Cependant, pour l'armoise blanche l'optimum de séchage est atteint au 5<sup>ème</sup> jours après une diminution progressive de l'humidité.



**Figure 18 :** Cinétique de séchage des parties aériennes d'origan et d'armoise blanche

## I-2- Taux d'humidité

Le taux d'humidité est déterminé par la relation suivante :

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = \frac{(m_1 - m_2) \times 100}{m_1}$$

$m_1$  : masse de l'échantillon avant séchage

$m_2$  : masse de l'échantillon après séchage

Le taux d'humidité est calculé dans le but d'évaluer la teneur en eau des plantes étudiées. Les échantillons d'origan montrent un taux d'humidité est de  $69,2 \pm 0,59$  % et celui d'armoise blanche est de  $40,99 \pm 2,95$  %.

L'extraction du principe actif qui sont les huiles essentielles d'origan et d'armoise blanche a été effectuée sur le matériel végétal (parties aériennes) séché à l'ombre:

Le séchage est le procédé le plus fréquemment utilisé pour conserver les plantes médicinales, ainsi que les semences qui se conservent intactes pendant de longues années. Le séchage doit donc se faire soigneusement afin de préserver la qualité d'huile essentielle contenue dans la plante (Laouer, 2004).

Les études faites par Jacobs sur l'effet de diverses conditions de séchage sur le contenu du romarin et autres plantes aromatiques montrent que le séchage direct au soleil provoque des pertes en huiles essentielles allant jusqu'à 24%, tandis que le séchage à l'ombre provoque des pertes en huile essentielle variant de 2 à 10% (Abdelhafez *et al.*, 1965).

Asekun *et al.* (2006) ont remarqué que le mentone est le composé majoritaire d'huile essentielle de des feuilles de *Mentha longifolia L. subsp. Capensis*. séchées à l'ombre et au soleil, le pulégone est le composé primordial de l'huile essentielle des feuilles fraîches. Tandis que, l'huile essentielle des feuilles séchées au four renferme le limonène comme composé majoritaire, le mentone et le pulégone n'ont pas été détectés; ce mode de séchage provoque des pertes significatives des composés principaux (mentone, pulégone et 1,8-cinéole). De ce fait, l'extraction des huiles essentielles doit se faire uniquement sur la matière végétale fraîche, séchées à l'ombre et au soleil.

## II- Les huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation des plantes sèches. La formation de la 1<sup>ère</sup> goutte d'huile essentielle est observée après 20 minutes de chauffage. Une fois la température stabilisée à 100,15°C et au bout de 3 heures d'hydrodistillation, nous récupérons environ 350 ml de distillat.

### ➔ Rendement en huile essentielle

Le rendement est défini comme étant le rapport de la masse d'huile essentielle sur la masse de matière végétale sèche :

$$R\% = \frac{m_{H.E}}{m_{M.V.S}}$$

$m_{H.E}$  (g) : masse d'huile essentielle.

$m_{M.V.S}$  (g) : masse de la matière végétale sèche.

$R\%$  : rendement en huile essentielle.

Les rendements moyens en huiles essentielles ont été calculés par rapport à la matière végétale sèche. Les échantillons d'origan ont fourni un taux d'environ  $1,21 \pm 0,13\%$ , et celui obtenu pour l'armoise blanche est de  $0,65 \pm 0,065\%$ .

L'étude phytochimique effectuée par Belhattab *et al.* (2005), sur la même espèce *Origanum glandulosum*, poussant dans la région de Sétif, leur a permis d'obtenir des rendements en huiles essentielles de l'ordre de 2,7 %. Ruberto *et al.* (2002) ont noté que les rendements en huiles essentielles de cette espèce récoltée dans différentes stations de la région de Sétif sont variables allant de 2,3 à 5 %. Bekhechi *et al.* (2008) ; et Bendahou *et al.* (2008) ont obtenu des rendements en huiles essentielles, espèce d'*Origanum glandulosum* récoltée dans différentes stations de la région de Tlemcen, variant de 3,53 % à 4,8 %. L'extraction des huiles essentielles à partir de cette même espèce récoltée dans différentes stations de la région Est de l'Algérie, a permis à Sari *et al.* (2006) d'obtenir des rendements en huiles essentielles allant de 0,8 à 3 %. Le rendement en huile essentielle obtenu avec *Origanum glandulosum* récolté dans trois stations de la région de Bejaia varie de 1 à 2,5 %, ce qui correspond à nos résultats.

Pour l'armoise blanche, le rendement obtenu correspond à ceux rapportés par Salido *et al.* (2004) qui ont noté un rendement variant de 0,41% à 2,30%.

Ces variations de rendement, peuvent dépendre de nombreux facteurs (stade de croissance, conditions climatiques, technique d'extraction, etc.).

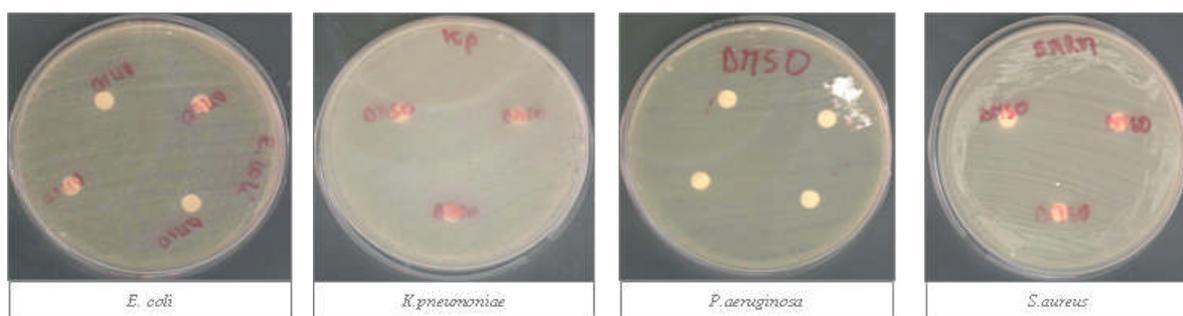
### III- Activité antibactérienne

#### III-1- Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* et d'*Artemisia herba alba* sur milieu solide

##### III-1-1- Méthode des disques

###### ◆ Effet du DMSO (Diméthylsulfoxyde) sur les souches bactériennes testées

Après 24 heures d'incubation à 37°C, le DMSO ne présente aucune activité antibactérienne (figure 19).



**Figure 19 : Effet du DMSO sur les souches testées**

##### III-1-1-1- Effet de différentes dilutions d'huile essentielle d'origan sur *S.aureus*, *K.pneumoniae*, *E.coli* et *P.aeruginosa*

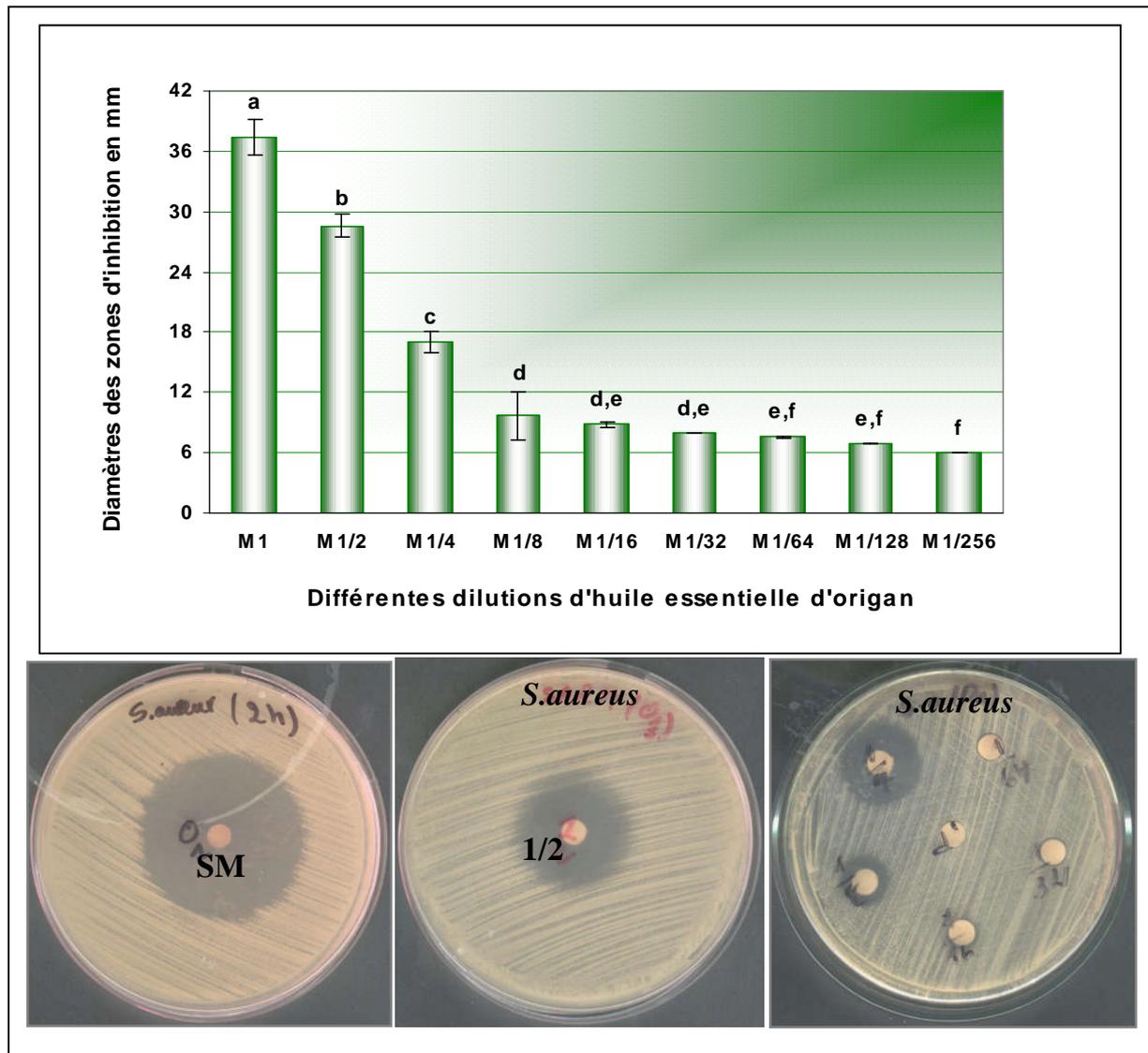
Les diamètres des zones d'inhibition en fonction de différentes dilutions d'huile essentielle d'origan sont présentés sur les figures 20 -23.

L'huile essentielle non diluée d'origan (SM : Solution Mère) s'est avérée très active contre *S. aureus*, *E. coli* et *K. pneumoniae*, et avec des zones d'inhibitions respectives de  $37,33 \pm 1,69$  mm,  $21,77 \pm 1,71$  et  $21,11 \pm 1,96$  mm (figures 20, 21, 22). Elle est en revanche, moins active contre *P.aeruginosa* ( $09,00 \pm 0,66$  mm) (figure 23).

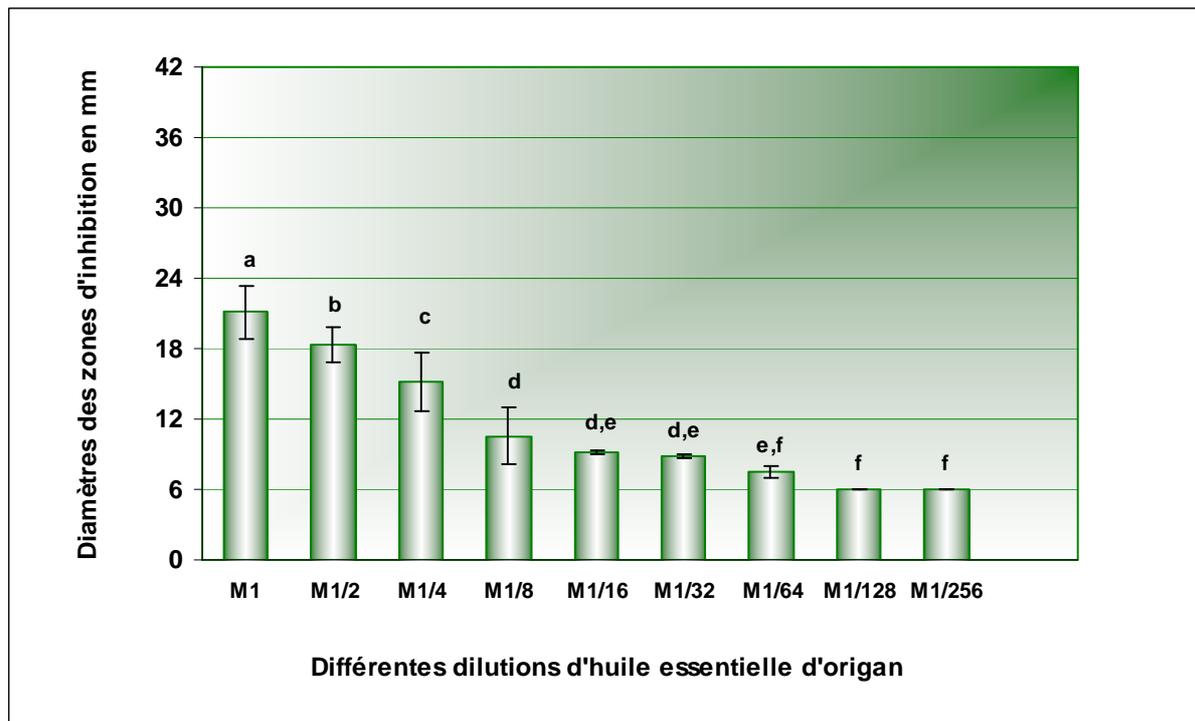
Les dilutions 1/2 et 1/4, se révèlent toujours actives avec des diamètres des zones d'inhibition supérieures à 10 mm.

Les dilutions 1/256 et 1/128 n'exercent aucune activité sur *S.aureus*, *E.coli* et *K.pneumoniae* respectivement.

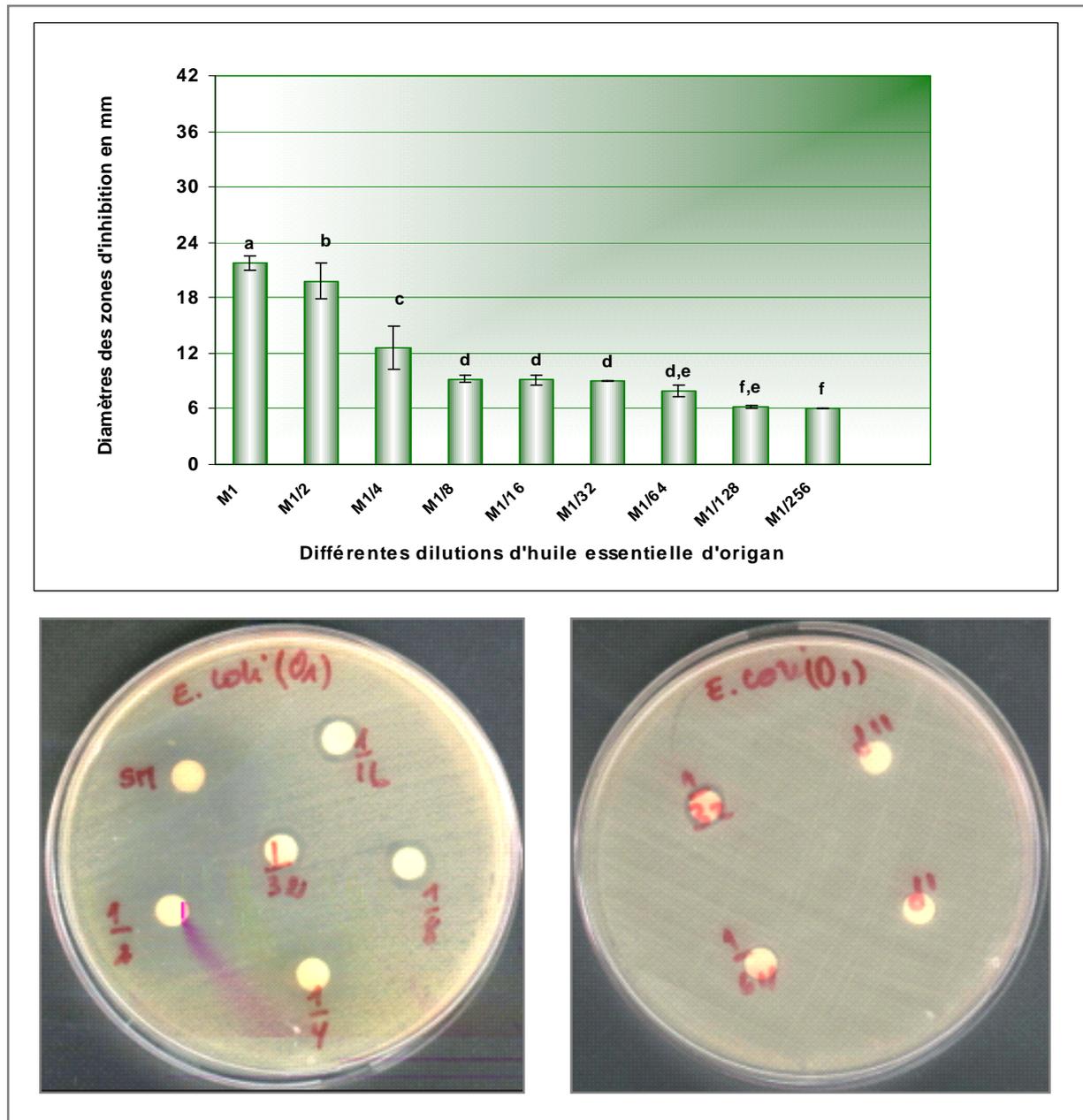
Les dilutions portant des lettres différentes pour la même souche présentent des effets antibactériens statistiquement différents (analyse de la variance ANOVA).



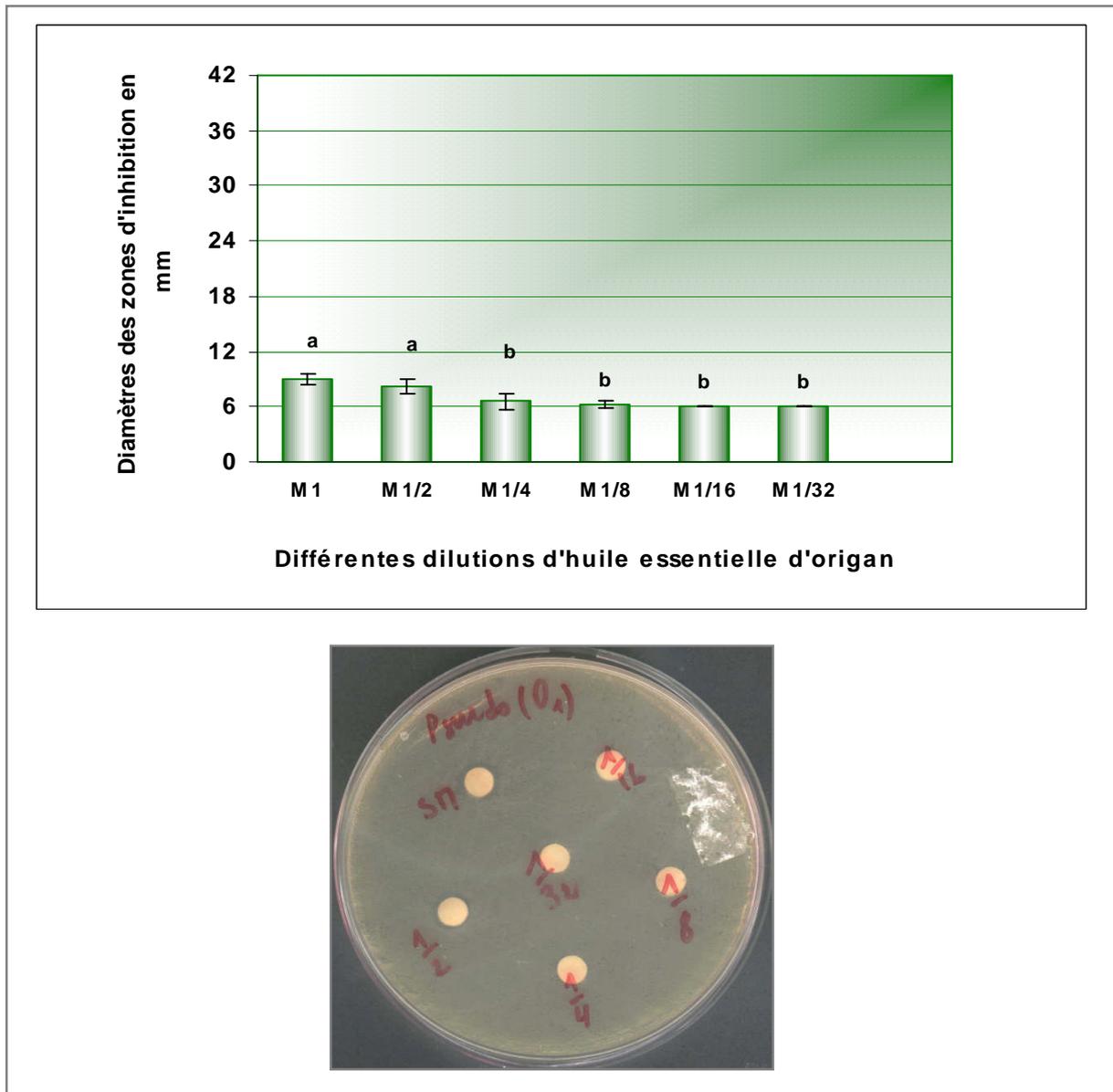
**Figure 20 :** Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle d'origan sur *S.aureus*



**Figure 21 :** Diamètre des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle d'origan sur *K pneumoniae*



**Figure 22 :** Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle d'origan sur *E.coli*



**Figure 23 :** Diamètres des zones d'inhibitions de différentes dilutions d'huile essentielle d'origan sur *P.aeruginosa*

L'effet antibactérien de l'huile essentielle non diluée d'origan d'une part et de sa dilution 1/2 d'autre part sur les quatre souches testées (analyse de la variance ANOVA ; test LSD) est similaire pour *K. pneumoniae* et *E. coli*. Cependant, l'effet diffère significativement pour *S.aureus*.

La dilution 1/8 ne montre aucune différence significative de l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'origan contre *K. pneumoniae*, *E. coli*, et *S.aureus*. Donc, à partir de cette dilution, il est bien clair que le degré d'efficacité de l'huile essentielle d'origan est le même sur ces trois souches.

Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'une huile essentielle a une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 12 mm (Sağdıç, 2003) ou à 10 mm (Benouda *et al.*, 1988 ; Cimanga *et al.*, 2002 ; Fu *et al.*, 2007). Donc, nous pourrions conclure que l'huile essentielle d'origan et leurs dilutions 1/2 et 1/4 présentent une activité antibactérienne contre *S. aureus*, *K. pneumoniae* et *E. coli*. En revanche, *P.aeruginosa* se montre résistante même à l'huile essentielle non diluée.

D'après Sari *et al.* (2006), toutes les souches microbiennes utilisées (bactéries Gram positif, Gram négatif et levures) montrent un degré de sensibilité assez semblable (les zones d'inhibition variant de 09 à 15mm) aux huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* récolté dans la région de Bejaia (Kerrata, El Kseur, et Teskriout).

Par ailleurs, nous avons comparé nos résultats à ceux de Bendahou *et al.* (2008) qui ont étudié l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* (Tlemcen) sur plusieurs souches, notamment *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, trois souches d'*Echerichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, deux souches de *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, et *Salmonella typhimurium*. Ils ont enregistré une activité proche sur toutes les souches testées. Nous avons obtenu presque les mêmes résultats pour *P. aeruginosa* (P1) (08mm), *P. aeruginosa* (P2) (07mm); en revanche ils ont enregistré une faible activité pour *Klebsiella pneumoniae* (08mm) et une faible activité pour *S.aureus* (23 mm) par rapport à nos résultats.

D'autres travaux montrent que les huiles essentielles du genre *Origanum* présentent une activité antibactérienne intéressante. L'huile essentielle d'*Origanum minutiflorum* (Turquie), présente une activité sur les 15 souches testées (*Aeromonas hydrophila*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. brevis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* (Baydar *et al.*, 2004), en plus elle a agit sur les 22 souches de *Campylobacter ssp.* résistant à la ciprofloxacine (Aslim et Yucel, 2007).

D'autre part, les huiles essentielles d'*Origanum minutiflorum*, *Origanum onites*, *Thymbra spicata* L. *Satureja cuneifolia* Ten. sont très actives, et leurs activités peuvent être attribuées, à la présence très probablement du carvacrol, *p*-cymène et  $\gamma$ -terpinène (Baydar *et al.*, 2004). L'activité antimicrobienne élevée des huiles essentielles riche en phénols comme le carvacrol et le thymol est souvent rapportée par plusieurs auteurs (Laouer *et al.*, 2003 ;

Baydar *et al.*, 2004 ; Amarti *et al.*, 2008 ; Bekhechi *et al.*, 2008 ; Bendahou *et al.*, 2008). D'après Bagamboula *et al.* (2004), le carvacrol et à un degré moindre le thymol ont montré une activité antibactérienne très forte contre *Shigella sonnei* et *Shigella flexnerila*. L'estragol et le linalol ont montré une activité antibactérienne très faible, tandis que le *p* - cymène n'a montré aucune activité antibactérienne même à une concentration très élevée.

De même, l'activité antimicrobienne élevée de l'huile essentielle d'*Origanum minutiflorum* ainsi que celle des composés majoritaires, carvacrol et *p*-cymène, montrant que le carvacrol est responsable de l'activité antimicrobienne observée. Toutefois aucune activité n'a été observée à l'encontre de *P.aeruginosa* (Vardar-Ünlü *et al.*, 2007).

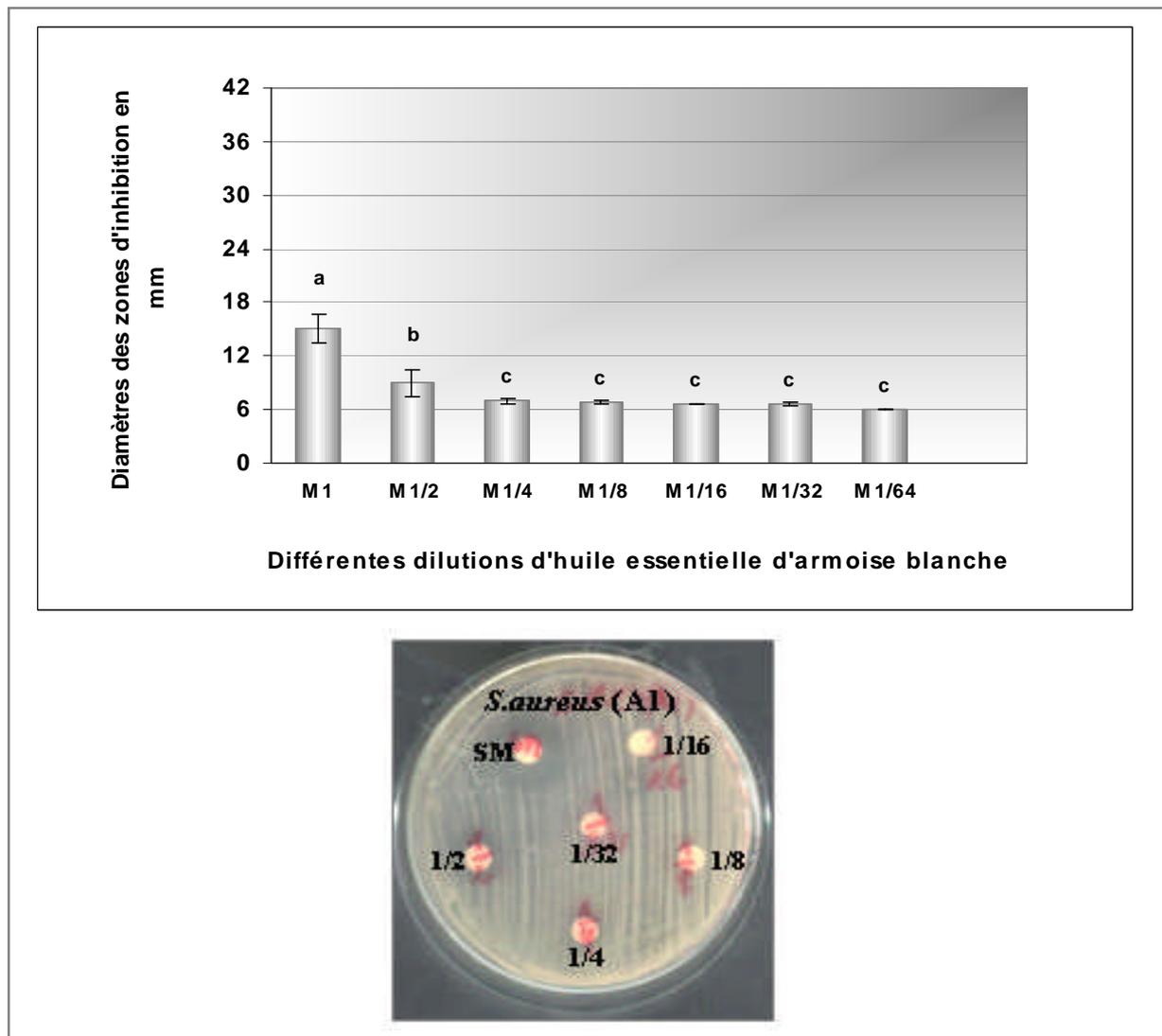
Dorman *et al.* (2000) ont testé un grand nombre de composés purs parmi lesquels les composants probables de l'huile essentielle d'origan (carvacrol, thymol,  $\alpha$ -terpinéol,  $\gamma$ -terpinène, *p*-cymène) sur 25 genres de bactéries et ils ont démontré que le thymol est le composé qui possède le plus large spectre d'activité antibactérienne, suivi du carvacrol et de l' $\alpha$  -terpinéol. Ces auteurs ont montré également que la différence de l'efficacité antimicrobienne observée entre le thymol et le carvacrol est due à la position du groupement hydroxyle sur la structure phénolique des deux molécules.

Lambert *et al.* (2001) ont montré que *P. aeruginosa* se montre moins sensible à l'effet du mélange thymol et carvacrol que *S.aureus*. Ils ont également constaté que ces mélanges (thymol et carvacrol), ne présentent ni un effet synergique ni antagoniste contre les deux micro-organismes testés. La comparaison de l'activité du mélange thymol carvacrol à celle de l'huile essentielle entière, explique l'inhibition observée pour cette huile. Ça suggère que l'activité antibactérienne de notre huile essentielle de l'espèce *Origanum glandulosum* peut être attribuée principalement à ses constituants majoritaires : les phénols.

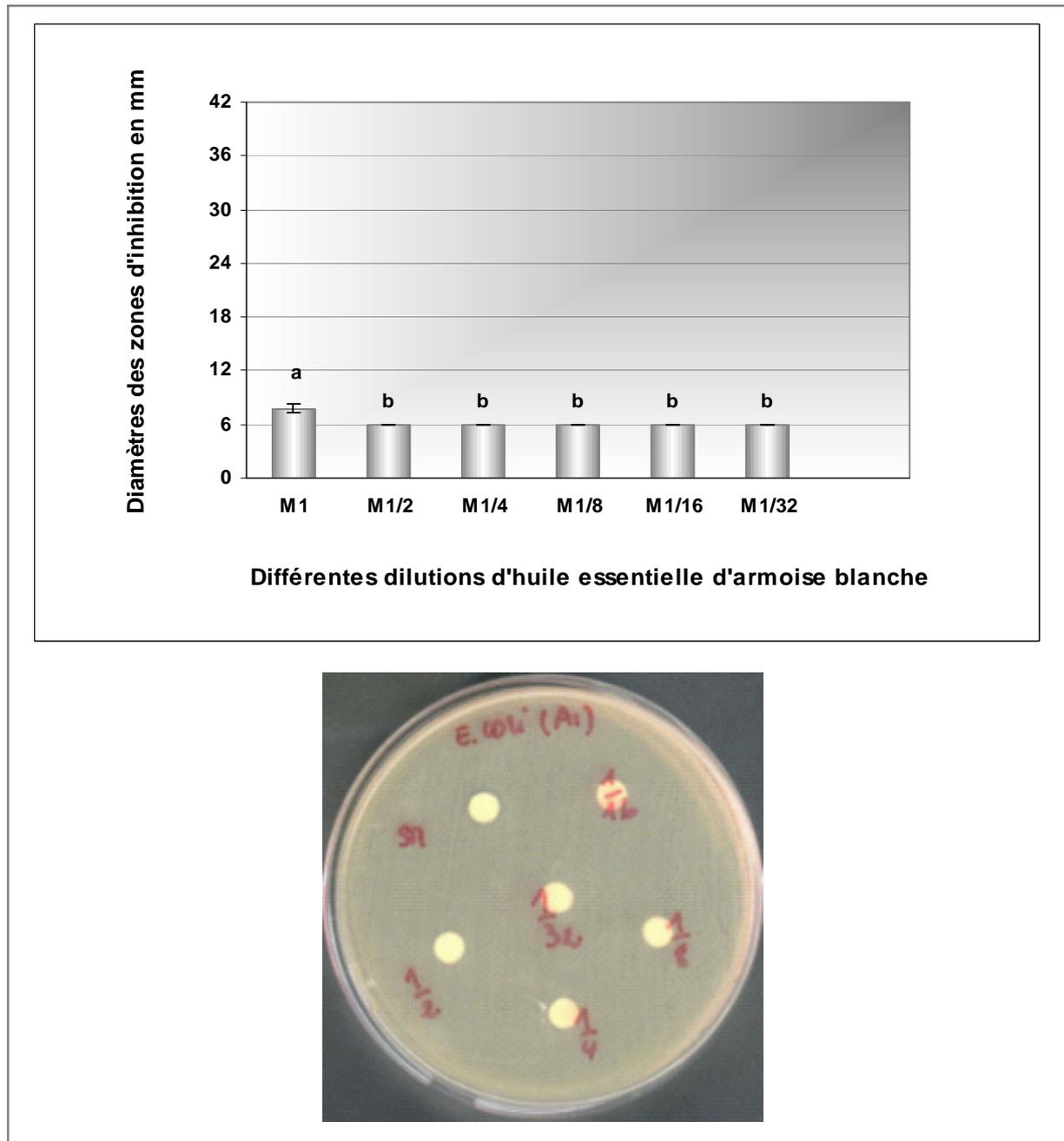
### **III-1-1-2- Effet de différentes dilutions d'huile essentielle d'armoise blanche sur *S.aureus*, *K.pneumoniae*, *E.coli* et *P.aeruginosa***

Pour l'armoise blanche, l'huile essentielle non diluée présente une activité antibactérienne contre *S. aureus* avec une zone d'inhibition de  $15,11 \pm 2,37$ mm (figure 24), *E.coli*, *K.pneumoniae*, et *P.aeruginosa* se montrent résistantes (figure 25, 26, 27) ; une légère activité antibactérienne a été enregistrée contre *E.coli*, *K.pneumoniae* ( $08 \pm 00$  mm;  $07,88 \pm 0,93$  mm) et pas d'activité contre *P.aeruginosa*.

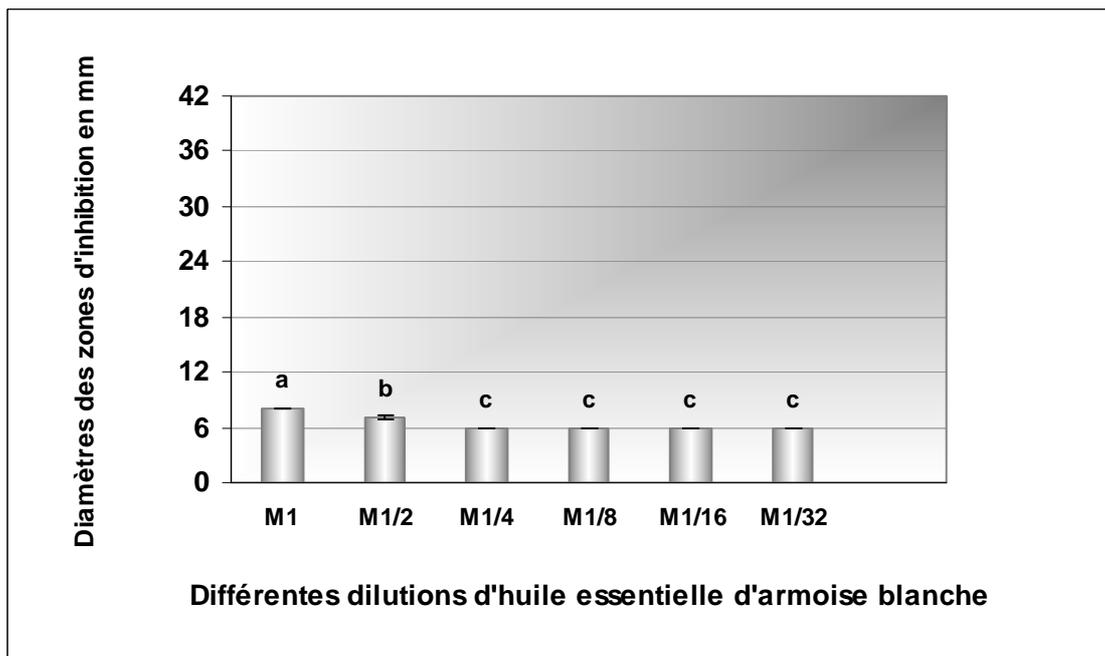
Les dilutions portant des lettres différentes pour la même souche présentent des effets antibactériens statistiquement différents (analyse de la variance ANOVA).



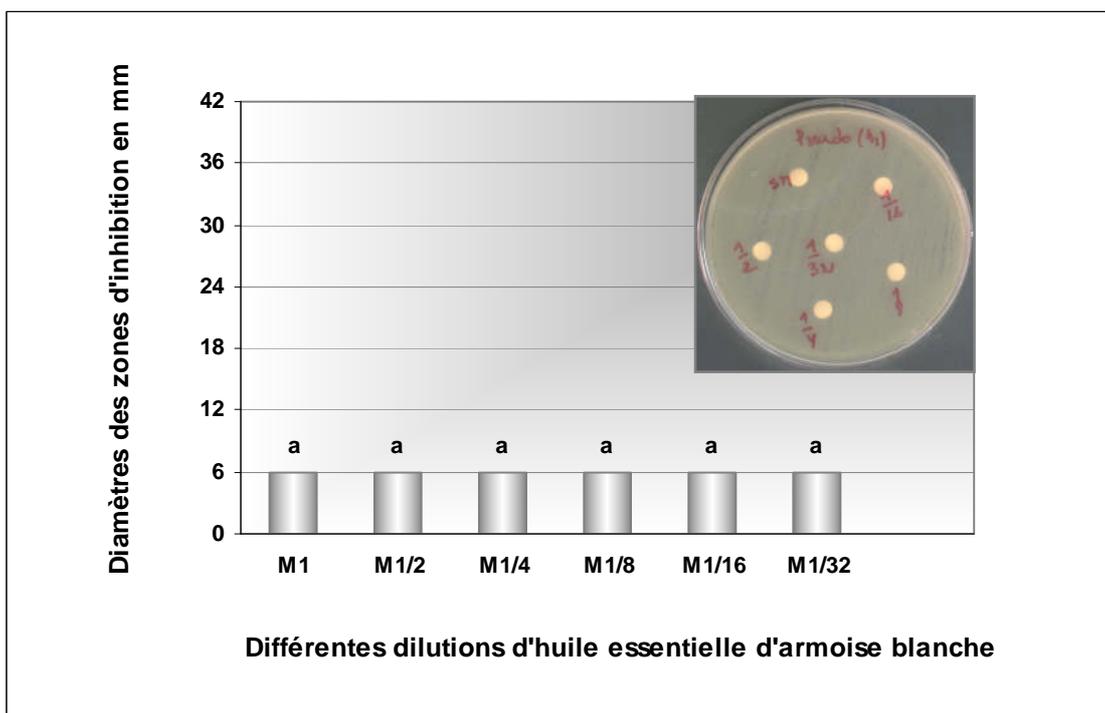
**Figure 24 :** Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle d'armoise blanche sur *S. aureus*



**Figure 25 :** Diamètres des zones d'inhibitions de différentes dilutions d'huile essentielle d'armoise blanche sur *E.coli*



**Figure 26 :** Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle d'armoise blanche sur *K pneumoniae*



**Figure 27 :** Effet des différentes dilutions d'huile essentielle d'armoise blanche sur *P.aeruginosa*

L'analyse de la variance (ANOVA : test LSD) ne révèle pas de différence significative de l'effet antibactérien de l'huile essentielle non diluée d'armoise blanche sur *K. pneumoniae*, et *E. coli*. En revanche, sur *S. aureus* l'effet se montre différent.

D'après les résultats obtenus, nous constatons que l'huile essentielle d'armoise blanche présente une activité antibactérienne, particulièrement intéressante contre *S. aureus*. Ce qui correspond aux résultats attribués par Benouda *et al.* (1988).

L'étude faite par ces auteurs sur l'activité antibactérienne de quatre chémotypes d'armoise blanche : armoise à  $\alpha$ - thuyone, armoise à  $\beta$  - thuyone, armoise à camphre, et armoise à  $\alpha$ - thuyone et à camphre a révélé des valeurs de zones d'inhibition variant de 13 à 22 mm pour les trois souches de *S. aureus*, de 10 à 12 mm pour les deux souches de *Klebsiella sp.* Cependant pour les deux souches d'*E. coli*, ils ont obtenus des diamètres inférieurs à 10 mm et des diamètres atteignant 13 mm, la souche *P. aeruginosa* s'est avérée résistante à tous les chémotypes d'armoise blanche.

Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition de notre huile essentielle de l'espèce *Artemisia herba alba* sont du même ordre que celles obtenues par ces auteurs, elle se concorde, particulièrement, avec celles de l'armoise blanche à chémotype  $\alpha$ - thuyone et camphre.

La comparaison des résultats est assez difficile pour diverses raisons : les souches bactériennes utilisées ne sont pas toujours les mêmes, les méthodes utilisées (en particulier la charge en H.E.) sont aussi très variables, sans parler des H.E. Cependant Benouda *et al.* (1988) ont réalisé leur travail dont les conditions expérimentales très proches des nôtres (méthode de disque, quantité en HE de 6 $\mu$ l).

### III-1-1-3- Comparaison de l'effet d'huile essentielle d'origan et d'armoise blanche

Les résultats obtenus sur milieu solide, montre que l'effet antibactérien est proportionnel à la dilution ; les diamètres des zones d'inhibition augmentent avec la concentration en huile essentielle.

Les coefficients de corrélation entre les diamètres des zones d'inhibition et les différentes dilutions d'huile essentielle d'origan ainsi que son huile essentielle non diluée d'une part, et celles d'armoise blanche d'une autre part sont rapportés sur le tableau VI et en Annexe C.

**Tableau VI : Les coefficients de corrélation**

Souches	Coefficients de corrélation	
	Origan	Armoise blanche
<i>S.aureus</i>	0,98 ***	0,97 **
<i>E.coli</i>	0,94 **	
<i>K.pneumoniae</i>	0,93 **	0,97 **
<i>P.aeruginosa</i>	0,97 **	

\*\* : très significative

\*\*\* : très hautement significative

L'étude statistique (test T de Student) montre que l'effet d'huile essentielle d'origan diffère significativement de celui d'armoise blanche et quelle que soit la souche testée, l'huile essentielle d'origan est toujours la plus efficace que celle de l'armoise blanche.

La sensibilité des souches testées aux deux huiles essentielles est variable, et certaines souches se distinguent par une sensibilité plus élevée, c'est le cas de *S.aureus*. D'autres, au contraire, présentent une certaine résistance, tel est le cas, en particulier, de *P.aeruginosa*.

Nos résultats, confirment l'activité antibactérienne importante des huiles essentielles sur les bactéries à Gram positif. Plusieurs auteurs, ont remarqué également que les bactéries à Gram positif sont globalement plus sensibles que les Gram négatif (Đorđević *et al.*, 2007 ; Longaray Delamare *et al.*, 2007 ; Yu *et al.*, 2007 ; Lei *et al.*, 2008).

Il est à noter que *P.aeruginosa* est une souche qui résiste non seulement à l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* (Bekhechi *et al.*, 2008 ; Bendahou *et al.*, 2008, Sahraoui *et al.*, 2007), mais aussi à d'autres huiles essentielles. Plusieurs auteurs rapportent la faible, voire l'absence de l'activité des huiles essentielles contre cette souche, c'est le cas de l'huile essentielle d'*Origanum syriacum* L var *bevanii* (Tepe *et al.*, 2004), de *Thymus pubescens*, *Thymus serpyllum*, de *Thymus kotschyanus* et de *Thymus persicus* (Rasooli et Mirmostafa, 2002 ; Rasooli et Mirmostafa, 2003), *Syzygium aromaticum* (L.) et *Rosmarinus officinalis* L. (Fu *et al.*, 2007). Ce qui a été confirmé par la résistance de notre souche aux huiles essentielles d'origan et d'armoise blanche. Cependant, quelques huiles essentielles se révèlent actives sur *P.aeruginosa*, c'est le cas des huiles essentielles d'*Eucalyptus camadulensis* (riche

en 1,8-Cinéole) et d'*Eucalyptus teriticornis* (*p*-cymène et en cryptone) avec des zones d'inhibition respectives de 15,5 mm et 16mm (Cimanga *et al.*, 2002).

D'après Bendjilali *et al.* (1986), quelque soit l'espèce de bactérie testée, l'HE de thym est toujours de loin la plus efficace, viennent ensuite les huiles essentielles de quatre chémotypes d'armoise blanche. En effet, l'huile essentielle de thym testée est très phénolée (environ 80% du carvacrol), alors que celles de l'armoise blanche comportent entre 84 et 94% de cétones ( $\alpha$ -thuyone,  $\beta$ -thuyone et camphre). Or, il est bien connu que les phénols sont plus efficaces que les cétones.

Certaines études ont montré que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles peut être supérieure à celle de leurs composés majoritaires testés séparément (alcoolique, phénolique, terpénique ou cétonique). Cette dominance d'activité des huiles essentielles sur celle d'un composant majoritaire confirme bien l'effet de synergie que pourrait apporter les composants minoritaires à l'activité des huiles essentielles (Lahlou, 2004).

D'après Benouda *et al.* (1988), l'origine de l'huile essentielle (espèce botanique) semble jouer un rôle capital dans son efficacité antibactérienne : chacune des trois huiles (armoise, thym et eucalyptus) possède son propre spectre d'activité.

Par contre la différenciation en chémotypes à l'intérieur d'une même espèce ne semble avoir pratiquement aucun effet sur l'efficacité relative contre les différents germes testés. Le classement est pratiquement le même pour les 4 chémotypes d'armoise ; la différenciation d'armoise en chémotype n'influe pas beaucoup sur l'efficacité des huiles essentielles, et ne change pas la nature de l'huile essentielle. Il s'agit toujours d'essences cétoniques (Benouda *et al.*, 1988).

Il est à souligner qu'une telle variation aurait pu être attribuées à un problème de reproductibilité de la méthode. Mais des essais doubles à partir d'un même inoculum nous semblent infirmer une telle hypothèse (Benouda *et al.*, 1988).

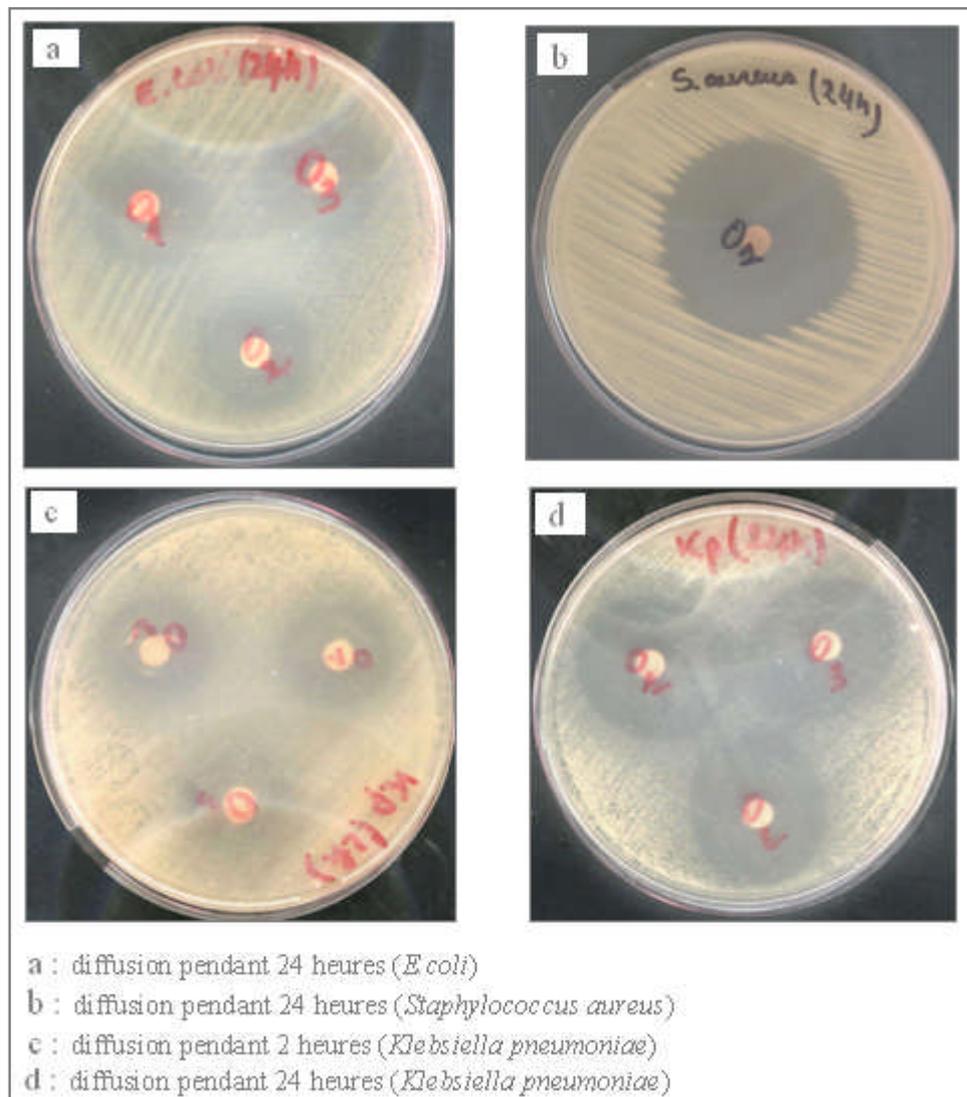
Les activités antiseptiques et antimicrobiennes présentent les activités les plus importantes des huiles essentielles (Calsamiglia *et al.*, 2007).

Les composés d'huile essentielle de *Nigella sativa* ont une activité antibactérienne élevée vis-à-vis des bactéries à Gram positif et Gram négatif (Toama *et al.*, 1974 ; Ghedir, 2006) et les huiles essentielles du thym, ont montré un effet antilisterial plus marqué que l'action de la nisine (Rassoli *et al.*, 2006). Les huiles essentielles de fleur d'oranger, de

rhizome de gingembre, de *Lavandula angustifolia*, de camomille, et d'écorce de cannelle, ont des propriétés bactéricides sur *Helicobacter pylori* (Bergonzelli *et al.*, 2003 ; Goetz, 2007).

### III-1-2- Effet du temps de diffusion sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles

Les résultats obtenus montrent que la prolongation de la durée de diffusion des huiles essentielles non diluées de 2 heures à 24 heures a entraîné une augmentation des diamètres des zones d'inhibition avec *K.pneumoniae*. Pour *E.coli* une légère différence a été observée. Cependant, la diffusion n'a pas d'influence sur les autres souches (figure 28, tableau VII).



**Figure 28:** Les zones d'inhibition après 2 et 24 heures de diffusion

**Tableau VII :** Effet du temps de diffusion des huiles essentielles sur l'activité antibactérienne

Diamètres des zones d'inhibitions incluant le diamètre de disque (6 mm)									
Effet antibactérien des huiles essentielles correspondant aux microorganismes :									
Plantes	Ech	<i>E.coli</i>		<i>K.pneumoniae</i>		<i>S.aureus</i>		<i>P.aeruginosa</i>	
		2h	24h	2h	24h	2h	24h	2h	24h
<i>Origanum glandulosum</i> Desf.	O1	23	24	22	30	40	40	08	08
	O2	21	24	23	29	ND	ND	07	08
	O3	22	25	23	28	ND	ND	08	08
<i>Artemisia herba alba</i> Asso	A1	08	09	09	09	14	15	06	06
	A2	08	09	09	09	ND	ND	06	06
	A3	08	09	09	09	ND	ND	06	06

ND : Non Déterminé

Après 2 heures d'incubation, nous observons, une zone d'inhibition très claire autour de la zone d'inhibition, et cela pour *K.pneumoniae*, ce qui peut s'expliquer par la différence de diffusibilité des molécules à l'intérieur de la même huile essentielle (Belaiche, 1979).

Cet effet peut être attribué à l'action des molécules diffusant loin en même temps que la croissance bactérienne ; action des molécules qui nécessite une durée prolongée pour leurs diffusion, ce qui explique en fait l'activité antibactérienne obtenue sur *K.pneumoniae* après 24 heures de diffusion.

### III-1-3- Activité bactéricide ou bactériostatique des molécules des huiles essentielles diffusibles sur milieu solide

L'absence de trouble dans le bouillon ensemencé à partir de la zone d'inhibition signifie que l'effet des huiles essentielles est bactéricide, par contre la présence de trouble indique un effet bactériostatique (tableau VIII).

Nos résultats montrent que l'effet des molécules diffusibles d'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* sur milieu solide est bactéricide sur *E.coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, il est en revanche, bactériostatique sur *S.aureus*. Ce qui correspond aux résultats obtenus par Laouer *et al.* (2003), avec l'huile essentielle de l'espèce *Ammoïdes pusilla* (Brot) Breistr riches en thymol. Pour l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* quant à elle montre un effet bactériostatique sur *S.aureus*.

**Tableau VIII** : Effet bactéricide ou bactériostatique des molécules des huiles essentielles diffusibles sur milieu solide

Huiles	Souches	Effets
Origan	<i>E.coli</i>	Bactéricide
	<i>K. pneumoniae</i>	Bactéricide
	<i>P. aeruginosa</i>	Bactéricide
	<i>S.aureus</i>	Bactériostatique
Armoise blanche	<i>S.aureus</i>	Bactériostatique

### III-2- Quantités Minimales Inhibitrices (QMI) : effet des vapeurs d'huile essentielle

Les résultats obtenus par la technique en micro atmosphère fondée sur l'activité des substances volatiles sont résumés dans les tableaux IX et X.

#### III-2-1- Effet antibactérien des vapeurs d'huile essentielle d'origan sur *K.pneumoniae*, *E.coli* et *S.aureus*

Après une durée d'incubation de 24 heures, l'évolution de la croissance a été suivie pendant 6 jours. La lecture des résultats a permis de déterminer la QMI, la plus faible concentration en huile essentielle pour laquelle nous n'observons pas de croissance visible à l'oeil nu sur le milieu solide.

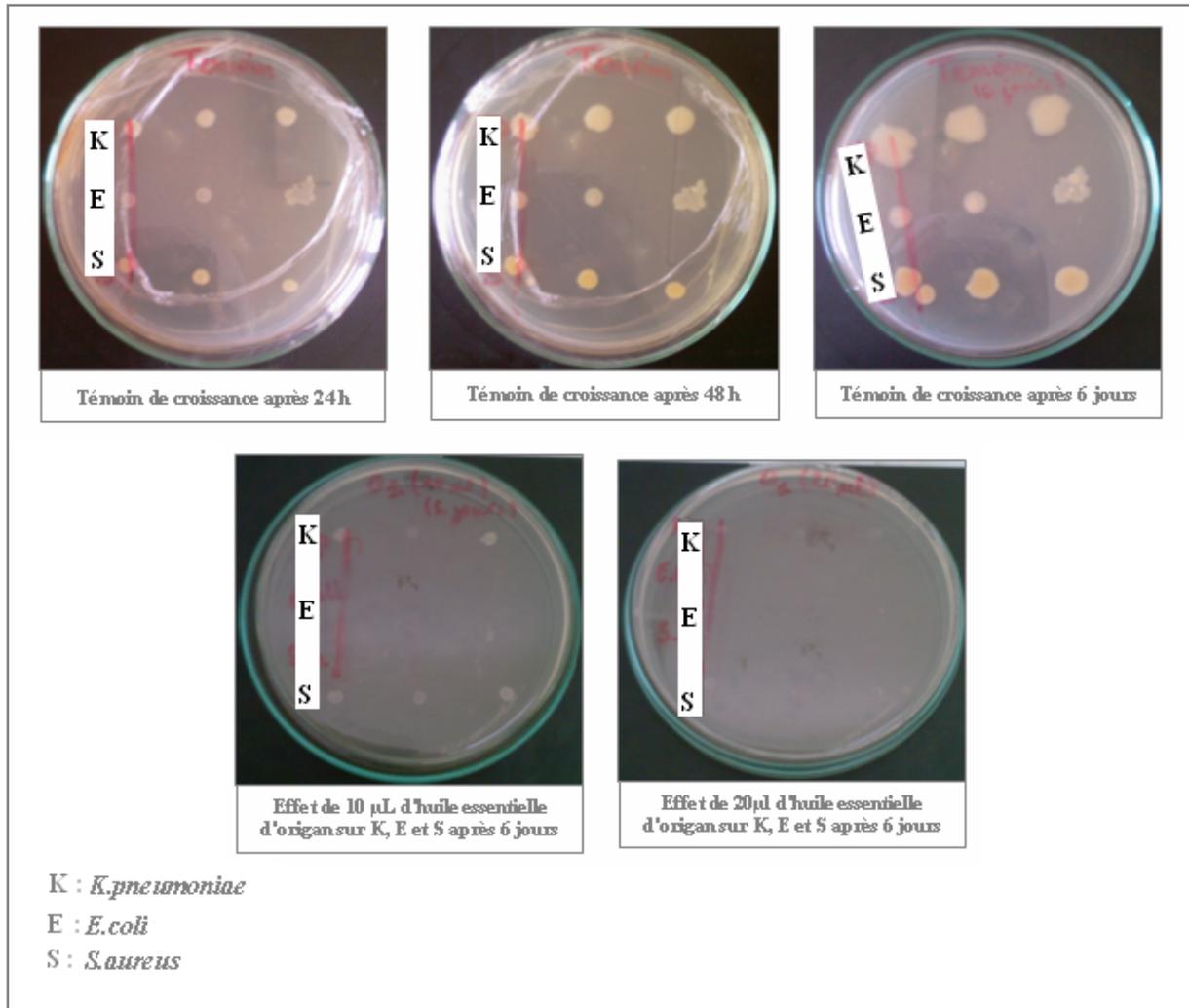
La Quantité Minimale Inhibitrice QMI après 24h d'incubation des vapeurs d'huile essentielle d'origan sur *E.coli* est inférieur ou égale à 10  $\mu\text{l}$  ( $0,026\mu\text{l}/\text{cm}^3$ ). Toutefois, elle est égale à 20  $\mu\text{l}$  ( $0,052\mu\text{l}/\text{cm}^3$ ) sur *K.pneumoniae* et *S.aureus* (tableau IX).

Après 48h, l'effet des vapeurs d'huile essentielle d'origan a persisté et ceci pour les trois souches testées. Cependant, une légère croissance a été enregistrée après 6 jours d'incubation (figure 29).

**Tableau IX :** Quantités Minimales Inhibitrices d'huile essentielle d'origan sur *K.pneumoniae*, *E.coli* et *S.aureus*

Origan										
Souches	Quantité	Ech O1			Ech O2			Ech O3		
		24h	48h	6 jours	24h	48h	6 jours	24h	48h	6 jours
<i>K.pneumoniae</i>	10µl	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20µl	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	(+)
	40µl	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	(+)
	80µl	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	(+)
<i>E.coli</i>	10µl	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	(+)
	20µl	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	(+)
	40µl	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	(+)
	80µl	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	(+)
<i>S.aureus</i>	10µl	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20µl	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	(+)
	40µl	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	(+)
	80µl	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	(+)

- : pas de croissance ; + : croissance faible, (+) : croissance très faible



**Figure 29 :** Quantités Minimales Inhibitrices des vapeurs d'huile essentielle d'origan sur la croissance de *K.pneumoniae*, *E.coli* et *S.aureus* et témoins de croissance après 24 heures, 48 heures et 6 jours d'incubation à 37°C.

### III-2-2- Effet antibactérien des vapeurs d'huile essentielle d'armoise blanche sur *K.pneumoniae*, *E.coli* et *S.aureus*

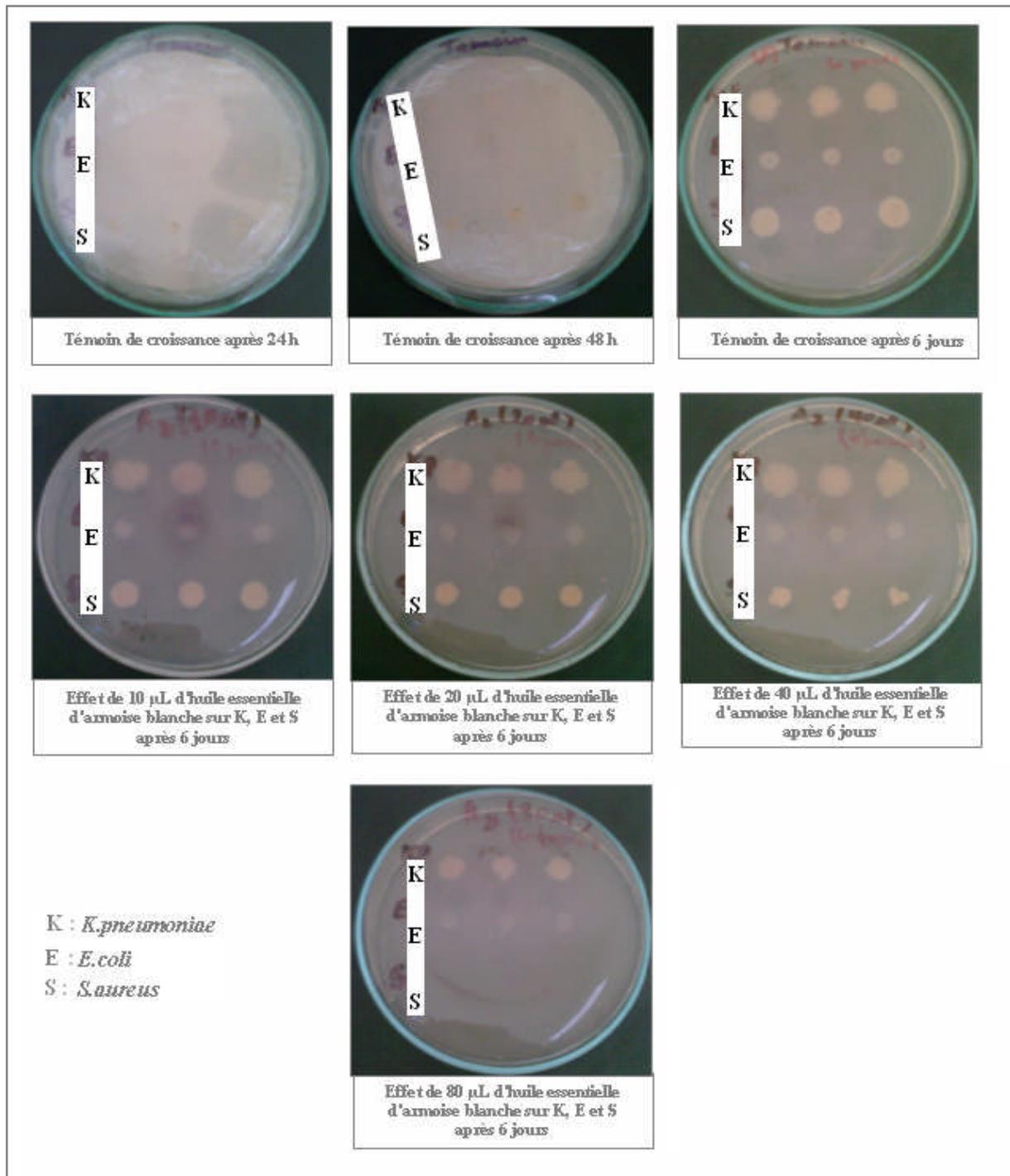
Les quantités minimales inhibitrices QMI après 24h d'incubation des vapeurs d'huile essentielle d'armoise blanche sur *E.coli*, *K.pneumoniae* et *S.aureus* sont représentées dans le tableau X.

Seul *Staphylococcus aureus* a été inhibé avec une quantité d'huile essentielle de 80 µl (0,21 µl/cm<sup>3</sup>). L'effet bactéricide persiste durant les 6 jours d'incubation. A cette concentration, nous notons une légère inhibition de la croissance d'*E.coli* et de *K.pneumoniae*. Cependant, un effet modéré sur *S.aureus* est observé à 40µl (0,105 µl/cm<sup>3</sup>) (figure 30).

**Tableau X :** Quantités Minimales Inhibitrices d'huile essentielle d'armoise blanche sur *K.pneumoniae*, *E.coli* et *S.aureus*

Armoise blanche										
Souches	Quantité	Ech A1			Ech A2			Ech A3		
		24h	48h	6 jours	24h	48h	6 jours	24h	48h	6 jours
<i>K.pneumoniae</i>	10µl	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	20µl	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	40µl	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	80µl	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>E.coli</i>	10µl	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	20µl	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	40µl	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	80µl	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>S.aureus</i>	10µl	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	20µl	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	40µl	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	80µl	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : pas de croissance ; ++ : croissance moyenne ; +++ : croissance abondante



**Figure 30 :** Quantités Minimales Inhibitrices des vapeurs d'huile essentielle d'armoise blanche sur la croissance de *K.pneumoniae*, *E.coli* et *S.aureus* et témoins de croissance après 24 heures, 48 heures et 6 jours d'incubation à 37°C.

Les vapeurs d'huile essentielle d'origan sont plus actives que ceux d'huile essentielle d'armoise blanche. Ces dernières sont efficaces contre *S.aureus* à des concentrations élevées

(80 $\mu$ l) ; ces résultats peuvent s'avérer intéressants à condition que l'huile essentielle à cette concentration ne soit pas toxique pour les cellules eucaryotes.

Les activités antibactériennes observées sont différentes suivant la méthode utilisée (disques ou micro atmosphère). Pour les huiles essentielles d'origan, la méthode en micro atmosphère ne confirme pas les résultats obtenus avec la méthode d'aromatogramme sur milieu solide. L'activité des vapeurs d'huile essentielle d'origan n'est pas proportionnelle à l'activité de cette même huile essentielle sur milieu solide. Cependant, pour l'huile essentielle d'armoise blanche l'activité des deux phases sont proportionnelles.

Les différences retrouvées pour ces deux méthodes sont dues au fait qu'un composé volatil donné présent dans l'huile essentielle, responsable de l'inhibition d'un microorganisme par contact direct, ne réagit pas de la même manière que dans la phase vapeur (Bekhechi *et al.*, 2008).

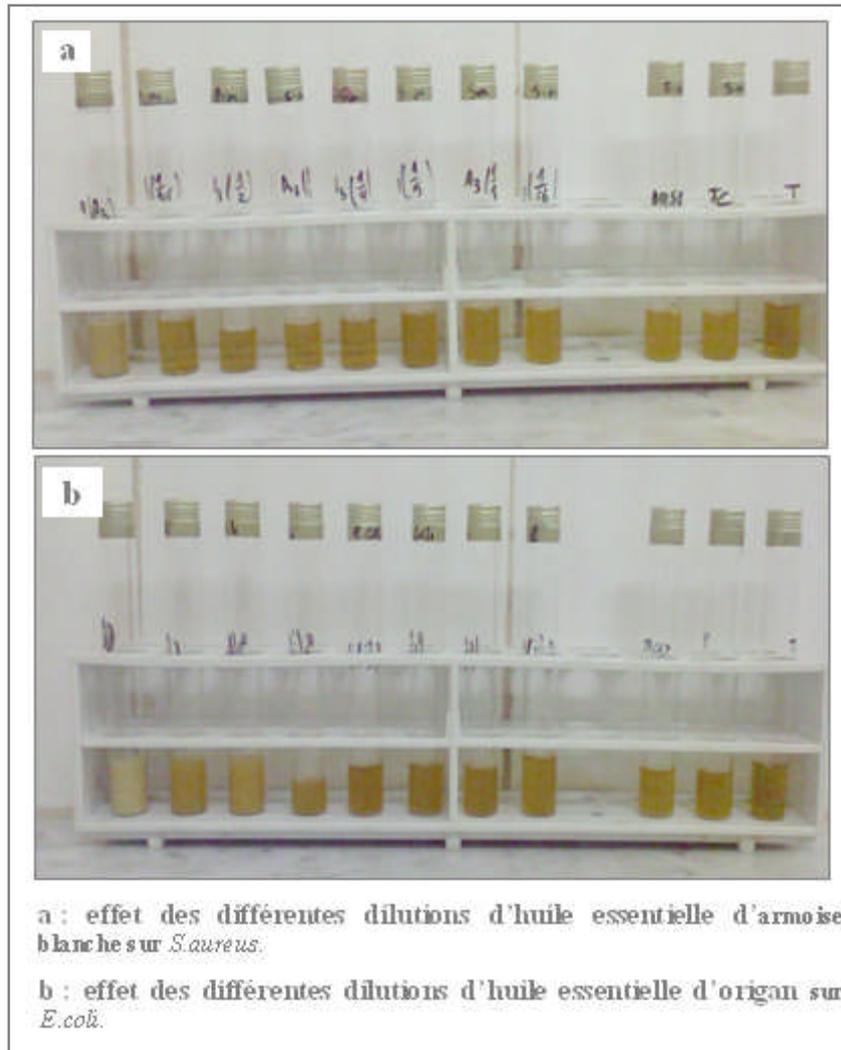
La composition de la phase volatile est différente de la phase liquide. En effet, quelques composants trouvés faiblement dans la phase liquide, sont plus importants dans la phase volatile, comme le  $\alpha$ -pinène et le camphène dans le chémotype de l'armoise blanche, *p*-cymène et  $\gamma$ -terpinène dans le thym.

La faible concentration de phénols dans la phase volatile peut être prise en considération ; le carvacrol comme composant majoritaire est remplacé par le  $\gamma$ -terpinène, qui est moins actif, et par le *p*-cymène, plus actif que ce dernier (Bendjilali *et al.*, 1984 b).

Les huiles essentielles des espèces *Syzygium aromaricum* et *Pimenta racemosa* (82% et 60% d'eugénol, respectivement) apparaissent plus actives par contact direct que dans l'atmosphère. Un composé donné peut être inhibiteur lorsqu'il est en contact avec le micro-organisme, mais peut présenter une faible activité lorsqu'il est testé en phase vapeur à cause de sa faible volatilité, la faible tension de la vapeur de l'eugénol peut être responsable des différents résultats obtenus (Bendjilali *et al.*, 1984b).

### **III-3- Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et des Concentrations Minimales Bactéricides (CMB)**

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est la dilution la plus importante (concentration faible) capable d'inhiber une croissance visible à l'oeil nu (figure 31) (Rassoli et Mirmostafa, 2003).



**Figure 31** : Détermination des CMI sur milieu liquide

Pour l'huile essentielle d'armoise blanche, la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est la dilution 1/4 qui est révélée capable d'inhiber une croissance visible à l'oeil nu

La détermination de la CMI pour l'huile essentielle d'origan était difficile du faite que l'émulsionnant huile essentielle bouillon favorise la formation d'un trouble qui gêne la détection de la croissance bactérienne à l'œil nu.

Sur le milieu liquide, l'inhibition de la croissance bactérienne se traduit par l'absence totale de la croissance après ensemencement sur un milieu neuf. Pour la recherche de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) 0,1ml de chaque tube est réensemencé sur gélose Cœur-cerveau pour confirmer l'absence ou la présence de la croissance. La CMB est définie

comme la plus faible concentration de l'huile essentielle pour laquelle il y a absence totale de croissance bactérienne (en comparaison avec le tube témoin) (tableau XI).

**Tableau XI : Résultats des dilutions correspondant aux Concentrations Minimales Bactéricides**

Souches	Dénombrement		
	<i>E. coli</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.aureus</i>
<b>Suspension bactérienne initiale</b>	83.10 <sup>6</sup> UFC/ml	109.10 <sup>6</sup> UFC/ml	27.10 <sup>7</sup> UFC/ml
<b>Témoin</b>	44.10 <sup>7</sup> UFC/ml	102.10 <sup>7</sup> UFC/ml	26.10 <sup>8</sup> UFC/ml
<b>Origan dilution 1/2</b>	0 UFC/ml (absence)	0 UFC/ml (absence)	Croissance moyenne
<b>Origan dilution 1/2,5</b>	Croissance moyenne	0 UFC/ml (absence)	Croissance
<b>Origan dilution 1/3</b>	Croissance	Croissance	Croissance
<b>Origan dilution 1/4</b>	Croissance	Croissance	Croissance
<b>Origan dilution 1/5</b>	Croissance	Croissance	Croissance
<b>Origan dilution 1/8</b>	Croissance	Croissance	Croissance
<b>Armoise blanche huile essentielle non diluée</b>	-	-	24 UFC/ml
<b>Armoise blanche dilution 1/1,5 ; 1/2 ; 1/3 ; 1/4.</b>	-	-	Croissance

La plus faible CMB a été obtenue avec l'huile essentielle d'origan sur *K.pneumoniae* qui est de 3,2 µl/ml, de 4 µl/ml sur *E.coli*, et probablement supérieure à 4µ/ml pour *S.aureus*. Pour cette dernière souche, l'huile essentielle d'armoise blanche montre une CMB supérieure à 8µl/ml.

En milieu liquide l'huile essentielle d'origan se montre active sur *K.pneumoniae*, ce qui peut s'expliquer par un effet synergique entre les composants de la phase volatile et ceux de la phase liquide.

D'après Bendjilali *et al.* (1986), la détermination de la CMI permet, contrairement à la technique de micro atmosphère, de tester, par contact direct avec le micro-organisme, l'huile essentielle dans sa globalité et non pas uniquement les constituants de la phase volatile.

La valeur de la CMB obtenue pour *K.pneumoniae* est très faible par rapport à celles obtenues avec les autres souches, ce qui confirme la variabilité des activités obtenues par différentes techniques ; cette valeur obtenue avec l'huile essentielle d'origan permet d'estimer l'activité antibactérienne dans sa globalité.

Pour *S.aureus* à une concentration de 4 µl/mL, nous notons une légère croissance, ce qui s'explique par un effet partiellement bactéricide de l'huile essentielle d'origan. Cet effet partiel peut expliquer l'effet bactériostatique d'huile essentielle d'origan observé sur milieu solide.

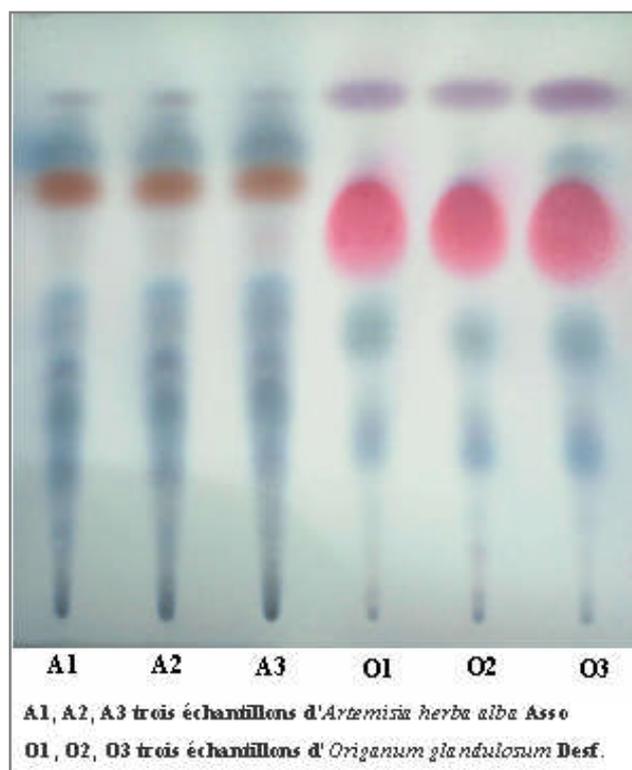
L'huile essentielle d'armoise blanche se montre partiellement bactéricide à une concentration de 8µl/ml. Sur milieu solide l'effet observé était bactériostatique, l'effet bactéricide est probablement dû à une synergie entre les composants de la phase volatile et ceux de la phase liquide.

#### **III-4- Analyse préliminaire des huiles essentielles par Chromatographie sur Couche Mince**

Les trois extraits d'*Origanum glandulosum* Desf. (EchO1, EchO2, EchO3) montrent le même profil chromatographique.

Il en est de même pour les 3 extraits d'*Artemisia herba alba* Asso (EchA1, EchA2, EchA3) (figure 32).

Par contre, les profils obtenus montrent que les huiles essentielles extraites d'*Origanum glandulosum* présentent une composition différente de celles d'*Artemisia herba alba*.

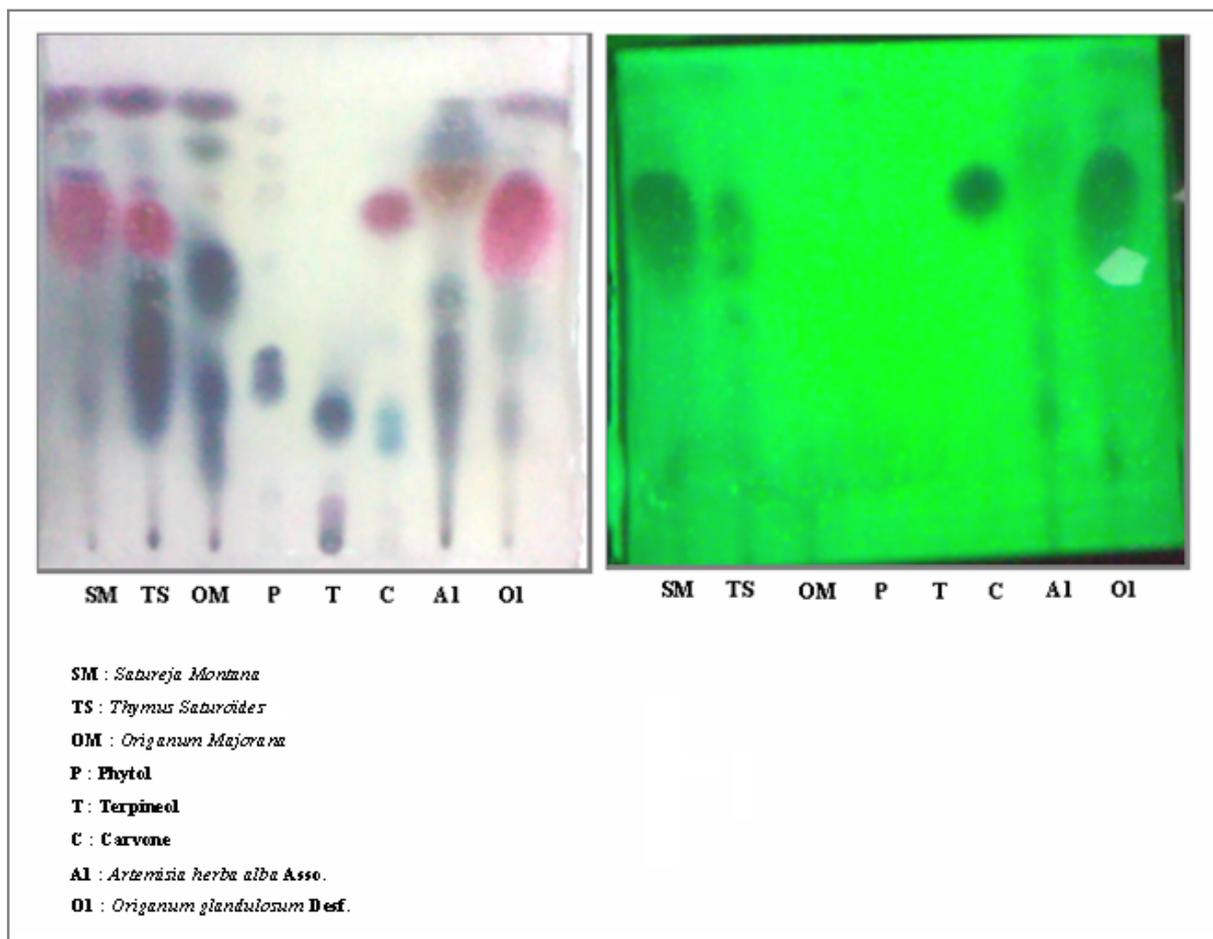


**Figure 32 :** Chromatogramme des huiles essentielles révélées avec de la vanilline

L'analyse chromatographique des huiles essentielles a révélé la présence de plusieurs taches pour chaque type d'huile essentielle.

Après révélation sous UV et révélation chimique, deux composés de Rf respectifs de 0,65 et 0,9 apparaissent dans l'huile essentielle d'origan et dans les témoins *Satureja montana* et *Thymus saturoïdes*. Les couleurs respectives observées après révélation chimique sont rose et violette.

En ce qui concerne les huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* nous notons la présence de deux taches importantes de couleur brique et bleue foncée correspondant à des Rf de 0,73 et 0,79 respectivement et une tache violette avec un Rf de 0,9 (tableau XII, XIII et figure 33).



**Figure 33 :** Chromatogramme des huiles sous UV et après révélation chimique

En comparant les Rf des huiles essentielles du commerce avec ceux des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* et d'*Artemisia herba alba* et en se référant à la composition chimique *Satureja montana* et d'*Artemisia herba alba* rapportée dans la littérature, les taches de Rf 0,65 et de 0,9 semblent correspondre au carvacrol et au *p*-cymène (Prieto *et al.*, 2007), les taches avec des Rf 0,73 et 0,79 correspondent probablement au Chémotype  $\alpha$ - thuyone et camphre (Bendjilali et Richard, 1980).

La composition de nos huiles essentielles aurait pu être déterminée plus précisément si nous disposions des témoins adéquats. Toutefois, cette analyse par CCM nous permet d'avoir une idée sur la composition probable de nos huiles essentielles et nous a permis de définir le meilleur système d'éluion et même d'aboutir à une meilleure séparation.

**Tableau XII** : Chromatographie sur Couche Mince des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* et d'*Artemisia herba alba*

	<b>Taches</b>	<b>couleurs</b>	<b>Révélation sous UV</b>	<b>Rf</b>
<i>Origanum glandulosum</i> Desf.	<b>Tache 01</b>	Rose	Tache sombre	0,65
	<b>Tache 02</b>	violette	Tache légèrement sombre	0,9
<i>Artemisia herba alba</i> ASSO.	<b>Tache 01</b>	Maron brique	Tache légèrement sombre	0,73
	<b>Tache 02</b>	Bleue foncée	Pas de révélation	0,79

**Tableau XIII** : Chromatographie sur Couche Mince des huiles de commerce et des standards utilisés

Témoins	Spots	couleurs	Révélation sous UV	Rf		
<b>HUILES ESSENTIELLES DE COMMERCES</b>	<i>Satureja montana</i>	<b>Tache 01</b>	Rose	Tache sombre	0,65	
		<b>Tache 02</b>	violette	Tache légèrement sombre	0,9	
	<i>Thymus saturoïdes</i>	<b>Tache 01</b>	Bleue nuit	Pas de révélation	0,2	
		<b>Tache 02</b>	Rose	Tache sombre	0,65	
		<b>Tache 03</b>	violette	Tache légèrement sombre	0,9	
	<i>Origanum majorana</i>	<b>Tache 01</b>	Bleue nuit	Pas de révélation	0,24	
		<b>Tache 02</b>	Bleue nuit	Pas de révélation	0,36	
		<b>Tache 03</b>	Bleue nuit	Pas de révélation	0,56	
		<b>Tache 04</b>	Verte	Pas de révélation	0,82	
		<b>Tache 05</b>	violette	Tache légèrement sombre	0,9	
	<b>STANDARDS</b>	<i>Phytol</i>	<b>Tache 01</b>	Bleue violette	Pas de révélation	0,35
		<i>Terpinéol</i>	<b>Tache 02</b>	Bleue violette	Pas de révélation	0,28
		<i>Carvone</i>	<b>Tache 03</b>	Rose violette	Tache très sombre	0,69

**Système d'élution** : éther de pétrole : éther diéthylique (3 :1)

# Conclusion et perspectives

## *Conclusion*

L'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* Desf. et d'*Artemisia herba alba* Asso. a été évaluée sur trois souches bactériennes multirésistantes (*K.pneumoniae*, *E.coli* et *P.aeruginosa*), et une souche de *S.aureus* sensible à la céfoxitine. Les infections dues à ces bactéries sont en progression constante de par le monde.

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* Desf. présente à l'inverse de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* Asso. une activité antibactérienne élevée autant par contact direct (méthode des disques) que par micro atmosphère.

Les huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* et d'*Artemisia herba alba* ainsi que leurs différentes dilutions présentent des activités antibactériennes variables, elles agissent différemment selon la souche bactérienne. Les huiles essentielles des deux plantes montrent des zones d'inhibition variant de 06,22 mm à 37,33 mm.

L'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* ainsi que les dilutions 1/2 et 1/4 se sont avérées très active contre *S. aureus*, *K. pneumoniae* et *E. coli* avec des diamètres des zones d'inhibition supérieurs à 10 mm. En revanche, *P.aeruginosa* se montre résistante même à l'huile essentielle non diluée.

En ce qui concerne *Artemisia herba alba*, c'est uniquement l'huile essentielle non diluée qui présente une activité antibactérienne et contre *S. aureus* uniquement.

Le meilleur effet d'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* sur *K.pneumoniae* est obtenu après 24 heures de diffusion, cela peut s'expliquer par la différence de diffusibilité des molécules à l'intérieur de la même huile essentielle.

L'action des molécules diffusibles sur milieu solide peut être soit bactériostatique c'est le cas de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* et d'*Artemisia herba alba* sur *S.aureus*, soit bactéricide, ce qui est observé pour l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* sur *K.pneumoniae* et *E.coli*.

La détermination des Quantités Minimales Inhibitrices (QMI) des vapeurs des huiles essentielles par la technique d'aromatogramme en micro atmosphère a montré une activité antibactérienne des vapeurs d'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* avec une QMI de 20

$\mu\text{l}$  pour *S.aureus*, *K.pneumoniae*. et une QMI inférieure ou égale à 10  $\mu\text{l}$  pour *E. coli*. Par contre, les vapeurs d'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* présentent uniquement une activité sur *S.aureus*, avec une QMI de 80 $\mu\text{l}$ .

Concernant, les activités variables observées avec l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* Desf., selon la méthode utilisée (méthode des disque et méthode en micro-atmosphère), peuvent s'expliquer par la composition de la phase liquide et volatile qui sont probablement différentes ; les composés trouvés dans les deux phases ne réagissent pas de la même manière.

La Concentration Minimale Bactéricide de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* est de 4 $\mu\text{l}/\text{ml}$  sur *E.coli* et de 3,2 $\mu\text{l}/\text{ml}$  sur *K.pneumoniae*. Cependant, elle est supérieure à 4 $\mu\text{l}/\text{ml}$  pour *S.aureus*. La Concentration Minimale Bactéricide de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* est supérieure à 8 $\mu\text{l}/\text{ml}$  sur *S.aureus*.

Les huiles essentielles que nous avons testées sont de nature et de composition différentes ce qui a été confirmé par l'analyse qualitative par Chromatographie sur Couche Mince (CCM). Cette analyse révèle la présence probable de phénols (carvacrol) pour l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum*, le camphre et l' $\alpha$ - thuyone pour l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*.

L'activité antibactérienne importante d'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* peut s'expliquer par sa richesse en phénols ; dans notre cas il s'agit probablement du carvacrol. Cependant, la faible, voire l'absence d'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* riche en composés cétoniques (camphre et  $\alpha$ - thuyone) peut s'expliquer par son profil chimique pauvre en composés connus pour leur pouvoir antimicrobien comme certains alcools monoterpéniques et les phénols.

La comparaison de l'efficacité des huiles essentielles entre différentes études est difficile en raison de plusieurs paramètres incontrôlables. La composition des huiles essentielles dépendent des conditions climatiques, de l'aire géographique, du génotype, etc. De ce fait, les propriétés antimicrobiennes peuvent varier au sein de la même espèce.

Ces résultats préliminaires avec *Origanum glandulosum* peuvent s'avérer prometteurs dans l'élargissement de l'arsenal des plantes douées de propriétés antibactériennes.

Toutefois ces résultats peuvent être approfondis en vue d'une meilleure exploitation par :

- la multiplication de nombre d'essais *in vitro* vis-à-vis d'autres espèces de bactéries multirésistantes,
- l'identification et l'isolement de ou des principe(s) actif(s) avec des méthodes plus appropriées (HPLC, CPG et spectrophotométrie de Masse)
- l'étude de la cytotoxicité des extraits, car de très nombreuses substances naturelles montrent une activité antibactérienne résultant d'une forte toxicité et sont donc inutilisables en pratique.

La grande activité inhibitrice de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* sur le développement bactérien laisse entrevoir des perspectives d'application dans plusieurs domaines industriels : pharmaceutique, cosmétique, alimentaire, etc. Cependant, pour l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*, à activité antibactérienne moyenne, d'autres effets pharmacologiques devraient être exploités tels qu'un pouvoir antioxydant ou anti-inflammatoire que cette plante pourrait présenter.

L'activité antiseptique de la phase volatile de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum*, peut rendre son utilisation dans la désinfection de l'ambiance notamment des salles opératoires et limiter ainsi la propagation des germes microbiens pathogènes.

Par ailleurs et à l'issue de ce travail, nous émettons quelques réflexions et recommandations sous forme de perspectives pour l'amélioration et une meilleure exploitation des plantes médicinales en médecine moderne.

- Etude approfondie des bactéries multirésistantes ainsi que le mécanisme de résistance,
- Sélection des huiles essentielles qui possèdent des activités même à des faibles dilutions, mais avec le diluant adéquat, qui ne présente pas de toxicité pour l'utilisateur,
- Etude comparative de la composition chimique et de l'effet antimicrobien des huiles essentielles de différentes saisons afin de pouvoir optimiser l'activité antibactérienne,
- Etude comparative de la composition chimique et de l'effet antimicrobien des huiles essentielles de la même espèce poussant dans différentes stations de la région de Bejaia et même des autres Wilayas,
- Etablir des inventaires régionaux et des cartes géographiques afin de localiser la situation de chaque espèce pour faciliter la tâche aux chercheurs en médecine traditionnelle,
- Protection des espèces rares durant l'échantillonnage,

- Evaluation de la qualité des deux phases, volatile et liquide, afin de les exploiter de façon optimale,
- Fraction des huiles essentielles par chromatographie sur colonne et évaluation de l'activité antibactérienne des fractions récupérées par bio autographie,
- Essai de la détermination de mécanisme d'action des huiles essentielles,
- Etudes des autres activités telle que l'activité antivirale, antifongique anticancéreuse, anti-inflammatoire, etc.

# Références bibliographiques



## Références bibliographiques

### A

- Amarti, F., Satrani, B., Aafi, A., Ghanmi, M., Farah, A., Aberchane, M., El Ajjouri, M. El Antry, S. et Chaouch. A. (2008).** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc. *Phytothérapie*. **6** : 342–347.
- Amvam Zollo, P.H., Biyiti, L., Tchoumboungang, F., Menut, C., Lamaty, G. et Bouchet, Ph. (1998).** Aromatic Plants of tropical Central Africa. Part XXXII. Chemical Composition and Antigungal Activity of Thirteen Essential Oils from Aromatic Plants of Cameroon. *Flavour and France Journal*. **13** : 107-114.
- Asekun, O.T., Grierson, D.S. et Afolayan, A.J. (2006).** Effects of drying methods on the quality and quantity of the essential oil of *Mentha longifolia L. subsp. Capensis*. *Food Chemistry*. **101**: 995–998.
- Aslim, B. et Yucel, N. (2007).** *In vitro* antimicrobial activity of essential oil from endemic *Origanum minutiflorum* on ciprofloxacin-resistant *Campylobacter* spp. *Food Chemistry*. **107**: 602–606.
- Angelopoulou, D., Demetzos, C et Perdetzoglou, D. (2002).** Diurnal and seasonal variation of the essential oil labdanes and clerodanes from *Cistus monspeliensis L.* leaves. *Biochemical Systematics and Ecology*. **30**: 189–203.
- Atoum, M., Al-Charchafchi, F. et Modallal, N. (2006).** Biological activity and antimutagenicity of Water Soluble Phytotoxins from *Artemisia herba alba* Asso. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. **9**: 1774-1778.
- Ayad, N., Hellal B. et Maatoug, M-H. (2007).** Dynamique des peuplements d'*Artemisia herba-alba* Asso dans la steppe du Sud oranais (Algérie occidentale). *Sécheresse*. **18 (3)** : 193-198.

### B

- Baba Aissa, F. (1999).** *Encyclopédie des plantes utiles: flore d'Algérie et du Maghreb*. Librairie Moderne, Rouïba, 368p.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. et Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. **46**: 446–475.

- Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M. et Debevere. J. (2004).** Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology*. **21**: 33–42.
- Baydar, H., Sagdic, O., Ozkan, G. et Karadogan, T. (2004).** Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*. **15** : 169–172.
- Bekhechi, C., Atik-Bekkara, F. et Abdelouahid, D. (2008).** Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie*. **6** : 153-159.
- Belaiche, P. (1979).** *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie : l'aromatogramme*. Maloine, Paris, 204 p.
- Belhattab, R., Larous, L., Kalantzakis, G., Boskou, D. et Exarchou, V. (2004).** Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf. extracts. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. **1**: 69-73.
- Belhattab, R., Larous, L., Figueiredo, A. C., Santos, P. A. G., Barroso, J. G. et Pedro, L. G. (2005).** *Origanum glandulosum* Desf. grown wild in Algeria: essential oil composition and glycosidic bound volatiles. *Flavour and Fragrance Journal*. **2**: 209-212.
- Bendahou, M., Benyoucef, M., Benkada, D., Soussa Elisa, M.B.D., Galvão, E.L., Marques, M.M.O., Muselli, A., Desjobert, J.M., Bernardini, A.F. et Costa, J. (2007).** Influence of the Processes Extraction on Essential Oil of *Origanum glandulosum* Desf. *Journal of Application Sciences*. **7 (8)** : 1152-1157.
- Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, J-M., Bernardini, A-F. et Costa, J. (2008).** Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry*. **106**: 132–139.
- Bendjilali, B. et Richard, H. (1980).** Etude de quelques peuplements d'Armoise blanche du Maroc *Artemisia herba-alba*. *Rivista Italiana EPPOS*. **62** : 69–74.
- Bendjilali, B., Sarris, J. et Richard, H. (1982).** Nouveaux Chemotypes d'*Artemisia herba alba*. *Sciences des Aliments*. **2** : 515-527.
- Bendjilali, B., Richard, H. et Liddle P. (1984 a).** *Chémotypes d'armoïse Blanche du Maroc : Artemisia herba alba*. 131-151p.

- Bendjilali, B., Tantaoui-Elaraki, A-G., Ayadi, A. et Ihlal, M. (1984 b).** Method to Study Antimicrobial Effects of Essential Oils: Application to the Antifungal Activity of Six Moroccan Essences. *Journal of Food Protection*. **47 (10):** 748-752.
- Bendjilali, B., Tantaoui-Elaraki, A-G., Ismaili-Alaoui, M. et Ayadi, A. (1986).** Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes médicinales et phytothérapie*. **20** : 155-167.
- Benouda, A., 1 Benjilali, B. et Hassar, M. (1988).** Les Propriétés Antiseptiques des Huiles Essentielles In Vitro, Testées Contre des Germes Pathogènes Hospitaliers. **59** : 115-119.
- Bergonzelli, G.E., Donnicola, D., Porta, N. et Corthésy-Theulaz, I.E. (2003).** Essential Oils as Components of a Diet-Based Approach to Management of *Helicobacter* infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **47 (10):** 3240-3246.
- Betts, T. (2003).** Use of aromatherapy (with or without hypnosis) in the treatment of intractable epilepsy—a two-year follow-up study. *Seizure*. **12** : 534–538.
- Blaidi, F. et Hellal, H. (1996).** Plantes médicinales et phytothérapie. *Santé plus*. **51**: 1-52.
- Bouchra, C., Achouri, M., Idrissi Hassani L.M. et Hmamouchia, M. (2003).** Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr. *Biochemical Systematics and Ecology*. **35**: 813- 820.
- Bousbia, N., Vian, M.A., Ferhat, M.A., Petitcolas, E., Meklati, B.Y. et Chemat, F. (2009).** Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food Chemistry*. **114**: 355–362.
- Brahms, J. C. (2004).** Symposium abstracts: Aroma, touch and well-being: following the mind to wellness. *International Journal of Cosmetic Science*. **26** : 168–170.
- Bruneton, J. (1999).** Terpènes et stéroïdes. In *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. 3<sup>ème</sup> éd. Tec & Doc, Paris, pp. 461 -769.
- Burt, S., (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*. **94 (3):** 223-253.

## C

- Calsamiglia, S. Busquet, M. Cardozo, P. W. Castillejos, L. et Ferret.A. (2007).** Invited Review : Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. *Journal of Dairy Science*. **90 (6):** 2580–2595.

- Carson, C. F., Hammer, K. A. et Riley T. V. (2006).** *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clinical Microbiology Reviews*. **19** (1): 50–62.
- Cavallo, J.-D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C. et Garrabé, E. (2004).** Bêtalactamines. EMC-Maladies Infectieuses. **1** : 129–202.
- Charpentier, B., Hamon, F., Harlay, A., Huard, A., Ridoux, L. et Chansellé, S. (2004).** *Guide du préparateur en pharmacie*. 2<sup>ème</sup> éd. Masson, Paris, pp. 1312.
- Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totté, J., Pieters, L. et Vlietinck, A.J. (2002).** Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*. **79** : 213–220.
- Comité de l'Antibiogramme de la Societe Francaise de Microbiologie. (2007).** Sociétés Francaise de Micobiologie.
- Cowan, M.M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*. **12** (4): 564–582.
- Cox, S.D., Mann, C.M., Markham, J.L. Bell, H.C., Gustafson, J.E., Warmington, J.R. et Wyllie, S.G. (2000).** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*. **88**: 170-175.
- Cox, S.D., Mann, C.M. et Markham, J.L. (2001).** Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Microbiology*. **91**: 492-497.

**D**

- Daferera, D. J., Ziogas, B.N. et Polissiou, M.G. (2003).** The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.* and *Clavibacter michiganensis* subsp. michiganensis. *Crop Protection*. **22** : 39-44.
- De Billerbeck V.-G. (2007).** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*. **5** : 249-253.
- Dellile, L. (2007).** *Les plantes médicinales d'Algérie*. Berti, Alger, 240p.
- Depardieu, F., Podglajen, I., Leclercq, R., Collatz, E. et Courvalin, P. (2007).** Modes and Modulations of Antibiotic Resistance Gene Expression. *Clinical Microbiology Reviews*. **1**: 79–114.
- Djerroumi, A. et Nacef, M. (2004).** *100 plantes médicinales d'Algérie*. Palais du Livre, Algérie, 159p.

- Dorđević, S., Petrović, S., Dobrić, S., Milenković, M., Vučićević, D., Žižić, S. et Kukić, J. (2007).** Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*. **109**: 458-463.
- Dorman, H.J.D. et Deans, S.G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. **88**: 308–316.
- Duarte, M.C.T., Figueira, G.M., Sartoratto, A., Rehder, V.L.G. et Delarmelina, C. (2005).** Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. **97**: 305–311.

### E

- Edris, A.E. (2007).** Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and Their Individual Volatile Constituents: A Review. *Phytotherapy Research*. **21**: 308-323.
- Edwards, R. et Gatehouse, J.A. (1999).** Secondary metabolism. In *Plant Biochemistry and Molecular Biology*. Lea P.S., Leegood R.C., 2<sup>ème</sup> éd. John Wiley Sons, pp. 193-218.
- Eyob, S., Appelgren, M., Rohloff, J., Tsegaye, A. et Messele, G. (2007).** Traditional medicinal uses and essential oil composition of leaves and rhizomes of korarima (*Aframomum corrorima* (Braun) P.C.M. Jansen) from southern Ethiopia. *South African Journal of Botany*. **74**: 181–185.

### F

- Fenardji, F., Klur, M., Furlon, Mme C. et Ferrando, R. (1974).** Contribution à l'étude de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba* L.). *Rcv. Elev. Méd. vét. Pays trop.* **27 (2)**: 203-206.
- Abdelhafez, F.A., Abdelbaki, M.M., Elwarraki, A.G. et Abbas, S. (1965).** Studies on the essential oil of rosemary. *Annals of Agric. Sciences*. **10 (1)**: 137-155.
- Fu, Y.J., Zu, Y.G., Chen, L.Y., Shi, X.G., Wang, Z. Sun, S. et Efferth, T. (2007).** Antimicrobial Activity of Clove and *Rosemary* Essential Oils Alone and in Combination. *Phytotherapy Research*. **21**: 989-994.

### G

- Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A. et Rasooli, I. (2006).** Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*. **102** : 898-904.
- Gaussen, H., Leroy, J.-F. et Ozenda, P. (1982).** *Précis de botanique; végétaux supérieurs*. 2<sup>ème</sup> éd. Tome II. Masson, Paris, 579 p.

- Ghaly, I.S., Said, A. et Abdel-Wahhab, M.A. (2008).** *Zizyphus jujuba* and *Origanum majorana* extracts protect against hydroquinone-induced clastogenicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. **25** : 10–19.
- Ghedir, K. (2006).** La nigelle cultivée : *Nigella sativa* L. (*Ranunculaceae*). *Phytothérapie*. **5**: 220-226.
- Giordani, R., Hadeif, Y. et Kaloustian, J. (2008).** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*. **79** : 199–203.
- Goetz, P. (2007).** Aromathérapie en pathologie digestive. *Phytothérapie*. **1** : 21–24.
- Guignard, J-L. (2000).** *Biochimie végétale*. 2<sup>ème</sup> éd. Dunod, Paris, 274 p.

### H

- Hammer, K.A., Carson, C.F. et Riley, T.V. (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*. **86** : 985-990.
- Harding, J. (2005).** *Bienfaits des herbes et des plantes : un guide pour la culture et l'utilisation des herbes aromatiques et des plantes médicinales*. Parragon, Paris, 256 p.
- Haouari, M. et Ferchichi, A. (2008).** Study of genetic polymorphism of *Artemisia herba-alba* from Tunisia using ISSR markers. *African Journal of Biotechnology*. **7 (1)**: 044-050.
- Hemaiswarya, S., Kruthiventi, A.K. et Doble, M. (2008).** Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine*. **15**: 639–652.
- Henriques, I.S., Fonseca, F., Alves, A., Saavedra, M.J. et Correia, A. (2006).** Occurrence and diversity of integrons and  $\beta$ -lactamase genes among ampicillin-resistant isolates from estuarine waters. *Research in Microbiology*. **157**: 938–947.
- Hu, Y., Hou, T-T., Xin, H-L., Zhang, Q-Y., Zheng, H-C., Rahman, K. et Qin, L-P. (2007).** Estrogen-like activity of volatile components from *Vitex rotundifolia* L. *Indian Journal Medicine Research*. **126**: 68-72.
- Hudaib, M., Speroni, E., Di Pietra, A.M. et Cavrini, V. (2002).** GC/MS evaluation of *thyme* (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **29**: 691-700.
- Hulin, V., Mathot, A-G., Mafart, P. et Dufossé, L. (1998).** Les propriétés anti-microbiennes des huiles essentielles et composées d'arômes. *Sciences des Aliments*. **18**: 563-582.
- Hur, M-H., Park, J., Maddock-Jennings, W., Oak Kim, D. et Soo Lee M. (2007).** Reduction of Mouth Malodour and Volatile Sulphur Compounds in Intensive Care Patients using an Essential Oil Mouthwash. *Phytotherapy Research*. **21** : 641– 643.

I

- Iserin, P. (2001).** *Encyclopédie des plantes médicinales: identification, préparations, soins.* Larousse, Paris, p. 335.
- Iskender, N.Y., Yayli, N., Yildrum. N., Cansu, T.B. et Terzioğlu, S. (2009).** The Volatile Constituents of the Flower, Leaf, and Steam of *Verbascum viedemannianum* Grown in Turkey. *Journal of Oleo Science.* **58 (3):** 117-121.

J

- Jordán, M.J., Martínez, R.M., Goodner, K.L., Baldwin, E.A. et Sotomayor J.A. (2006).** Seasonal variation of *Thymus hyemalis* Lange and Spanish *Thymus vulgaris* L. essential oils composition. *Industrial Crops and Products.* **24:** 253–263.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A. et Stevens, P. (2002).** Les arguments taxonomiques : caractères structuraux et biochimiques. In *Botanique systematique: une perspective phelogenetique.* De Boeck, Paris, pp. 45-88.
- Julsing, M.K., Koulman, A., Woerdenbag, H.J., Quax, W.J. et Kayser. O.(2006).** Combinatorial biosynthesis of medicinal plant secondary metabolites. *Biomolecular Engineering.* **23:** 265–279.

K

- Kaloustian, J. Chevalier, J. Mikail, C. Martino, M. Abou, L. et Vergnes, M.-F. (2008).** Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie.* **6 :** 160–164.
- Khalfi, O., Sahraoui, N., Bentahar, F. et Boutekedjiret, C. (2008).** Chemical composition and insecticidal properties of *Origanum glandulosum* (Desf.) essential oil from Algeria. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* **88:** 1562–1566.
- Kintzios, S.E. (2002).** *Oregano: The genera Origanum and Lippia* Taylor & Francis, London and New Yor, 267p.
- Koch, C. Reichling, J., Schneele, J. et Schnitzler, P. (2008).** Inhibitory effect of essential oils against herpes simplex virus type 2. *Phytomedicine.* **15:** 71-78.

L

- Laid, M., Hegazy, M.E.F., Ahmed, A.A., Ali, K., Belkacemi, D. et Ohta, S. (2008).** Sesquiterpene lactones from Algerian *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry Letters.* **1 (2):** 85-88.

- Lahlou, M. (2004).** Methods to Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential Oils. *Phytotherapy Research*. **18** : 435–448.
- Lamarti, A., Badoc, A., Deffieux, G. et Carde, J.-P. (1994).** Biogenèse des monoterpènes. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. **133** : 79-99.
- Lamiri, A., Lhaloui, S., Benjilali, B. et Berrada, M. (2001).** Fumigant Toxic Activity of Essential Oils on *Sitophilus granarius* (Linné). *Phys. Chem:News*. **1**: 101-105.
- Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote P.J. et Nychas, G.-J.E., (2001).** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*. **91**: 453-462.
- Lamendin, H., Toscano, G. et Requirand, P. (2004).** Phytothérapie et aromathérapie buccodentaires. *EMC-Dentisterie*. **1**: 1179–192.
- Landmann, C., Fink, B., Festner, M., Dregus, M., Engel, K-H. et Schwab, W. (2007).** Cloning and functional characterization of three terpene synthases from lavender (*Lavandula angustifolia*). *Archives of Biochemistry and Biophysics*. **465**: 417–429.
- Longaray Delamare, A.P., Moschen-Pistorello, I.T., Artico, L., Atti-Serafini, L. et Echeverrigaray S. (2007).** Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chemistry*. **100**: 603–608.
- Laouer, H., Zerroug, M.M., Sahli, F., Cker, A.N., Valentini, G., Ferretti, G., Grande, M. et Anaya, J. (2003).** Composition and Antibacterial Activity of *Ammoides pusilla* (Brot) Breistr. Essential Oil. *Journal of Essential Research*. **15** : 135-138.
- Laouer, H. (2004).** *Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de sétif, de Béjaia, de M'sila et de Djelfa. Composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Ammoides pusilla (Brot) Breistr. et de Magydaris pastinacea (Lamk) Paol.* Thèse de Doctorat. Université de Sétif. 119 p.
- Lardry, J-M. et Haberkorn, V. (2007).** L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Review*. **61**: 14-17.
- Lei, J., Yu, J., Yu, H. et Liao, Z. (2008).** Composition, cytotoxicity and antimicrobial activity of essential oil from *Dictamnus dasycarpus*. *Food Chemistry*. **107**: 1205-1209.
- Liao, Z-H., Chen, M., Gong, Y-F, Miao, Z-Q., Sun, X-F. et Tang, K-X. (2006).** Isoprenoid Biosynthesis in Plants: Pathways, Genes, Regulation and Metabolic Engineering. *Journal of Biological Sciences*. **6 (1)**: 209-219.

**M**

- Mahmoud, S.S. et Croteau, R. (2002).** Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science*. 8 p.
- Mann, C.M. et Markham, J.L. (1998).** A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of Applied Microbiology*. **84**: 538-544.
- Marc, E-B., Nelly, A., Annick, D-D. et Frederic, D. (2008).** Plants used as remedies antirheumatic and antineuralgic in the traditional medicine of Lebanon. *Journal of Ethnopharmacology*. **120** : 315–334.
- Maiza, K., Brac de la Perrière E.A. et Hammiche. V. (1993).** Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentrional. *Médicaments et Aliments : L'Approche Ethnopharmacologique*. pp.169-171.
- Muir, A.D., Cole, A.L.J. et Walker, J.R. (1982).** Antibiotic Compounds from New Zealand Plants. *Ptanta. Medica*. **44 (3)**: 129-133.
- Merfort, I. (2002).** Review of the analytical techniques for sesquiterpenes and sesquiterpene lactones. *Journal of Chromatography A*. **967**: 115–130.
- Minary-Dohen, P., Floret, N., Bailly, P., Dohen, R., Bertrand, X. et Talon. D. (2005).** Le staphylocoque doré résistant à la méticilline dans les services et établissements de moyen séjour : quelle stratégie proposer ?. *Pathologie Biologie*. **53** : 105–110.

**O**

- Ouraini, D., Agoumi, A., Alaoui, M.I., Alaoui, K., Cherrah, Y., Benlemlih, M. et Alaoui Belabbas, M. (2005).** Approche thérapeutique des dermatophyties par les huiles essentielles de plantes aromatiques marocaines. *Phytothérapie*. **1**: 3-12
- Ozenda, P. (2004).** *Flore et Végétation du Sahara*. 3<sup>ème</sup> éd. CNRS, Paris, 662 p.
- Ozturk, S. et Ercisli. S. (2007).** Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides*. *Food Control*. **18**: 535–540.

**P**

- Paris, M. et Hurabielle, M. (1981).** *Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) : Généralités – Monographie*. 3<sup>ème</sup> ed. Tome 1. Masson, Paris, 365 p.
- Pauli, A. (2006).** Anticandidal LowMolecular Compounds from Higher Plants with Special Reference to Compounds from Essential Oils. *Medicinal Research Reviews*. **26 (2)**: 223-268.

- Pavela, R. (2005).** Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Fitoterapia*. **76**: 691– 696.
- Peana, A.T., D'Aquila, P. S., Panin, F., Serra, G., Pippia, P. et Moretti, M.D.L. (2002).** Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*. **9** :721–726.
- Pibiri, M-C. (2005).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat N° 3311. Ecole Polytechnique. Fédérale de Lausan. 177 p.
- Pourmortazavi, S.M. et Hajimirsadeghi, S.S. (2007).** Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *Journal of Chromatography A*. **1163**: 2–24.
- Prieto, J.M., Iacopini, P., Cioni, P. et Chericoni, S. (2007).** *In vitro* activity of the essential oils of *Origanum vulgare*, *Satureja montana* and their main constituents in peroxynitrite-induced oxidative processes. *Food Chemistry*. **104** : 889–895.

## Q

- Quezel, P. et Santa, S. (1963).** *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Tome II. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, pp. 571-1170.

## R

- Radulović, N., Mišić, M., Aleksić, J., Đoković, D., Palić, R. et Stojanović, G. (2007).** Antimicrobial synergism and antagonism of salicylaldehyde in *Filipendula vulgaris* essential oil. *Fitoterapia*. **78**: 565–570.
- Rasooli, I. et Mirmostafa, S. A. (2002).** Antibacterial properties of *Thymus pubescens* and *Thymus serpyllum* essential oils. *Fitoterapia*. **73** : 244-250.
- Rasooli, I. et Mirmostafa, S. A. (2003).** Bacterial Susceptibility to and Chemical Composition of Essential Oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **51**: 2200-2205.
- Rassoli, I., Bagher Rezaei, M. et Allameh, A. (2006).** Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of Thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. **10**: 236-241.
- Remmal, A., Bouchikhi, T., Rhayour, K., Ettayebi, M. et Tantaoui-Elaraki, A. (1993).** Improved Methode for the Determination of Antimicrobial Activity of Essantial oils in Agar Medium. *Journal Essential oil Research*. **5**: 179-184.

- Reverchon, E., Della Porta, G. et Senatore, F. (1995).** Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction and Fractionation of *Lavender* Essential Oil and Waxes. *Journal Agriculture Food Chemistry*. **43** : 1654-1658.
- Reverchon, E. et De Marco, I. (2006).** Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *J. of Supercritical Fluids*. **38**: 146–166.
- Richter, G. (1993).** *Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie*. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne, 526 p.
- Richet, H. (2003).** Prise en charge d'une épidémie à *Pseudomonas aeruginosa*. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. **22** : 544–547.
- Ruberto, G., Tiziana Baratta, M., Sari, M. et Kaabeche M. (2002).** Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour and fragrance journal*. **4**: 251-254.

## S

- Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M. Agar, G. et Özer, H. (2004).** Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*. **15**: 549–557.
- Sahraoui, N., Hellal, A., Boutekdjiret, C., Bentahar, F. et Bessière. J. M. (2007).** Antimicrobial activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *International Journal of Essential Oil Therapeutics*. **1**: 83-90.
- Sağdıç, O. (2003).** Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* **36**: 467–473.
- Salah, S. M. et Jäger, A. K. (2005a).** Two flavonoïds from *Artemisia herba-alba* Asso with *in vitro* GABAA-benzodiazepine receptor activity. *Journal of Ethnopharmacology*. **99**: 145–146.
- Salah, S. M. et Jäger, A. K. (2005b).** Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. *Journal of Ethnopharmacology*. **97**: 145-149.
- Salamci, E., Kordali, S., Kotan, R., Cakir, A. et Kaya, Y. (2007).** Chemical compositions, antimicrobial and herbicidal effects of essential oils isolated from Turkish *Tanacetum aucheranum* and *Tanacetum chiliophyllum* var. *chiliophyllum*. *Biochemical Systematics and Ecology*. **35**: 569-581.

- Salido, S., Valenzuela, L.R., Altarejos, J., Nogueras, M., Sánchez, A. et Cano, E. (2004).** Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain. *Biochemical Systematics and Ecology*. **32** : 265–277.
- Sari, M. (1999).** *Etude Ethnobotanique et pharmacopée traditionnelle dans le tell Setifien*. Thèse de Magister. Université de Sétif. 85 p.
- Sari, M., Biondi Daniela M., Kaabeche, M., Mandalari, G., D'arrigo, M., Bisignano, G., Saija, A., Daquino, C. et Ruberto, G. (2006).** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour and Fragrance Journal*. **6**: 890-898.
- Sartoratto, A., Machado, A.L.M., Delarmelina, C., Figueira, G.M., Duarte, M.C.T. et Rehder, V.L.G. (2004).** Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils From Aromatic Plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. **35**: 275-280.
- Scheffer, J.J.C. (1996).** Various Methods for the Isolation of Essential Oils. *Phytotherapy Research*. **10**: S6-S7.
- Schelz, Z., Molnar, J. et Hohmann, J. (2006).** Antimicrobial and antiplasmodial activities of essential oils. *Fitoterapia*. **77**: 279–285.
- Sharma, N. et Tripathi, A. (2008).** Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. *Microbiological Research*. **163**: 337-344.
- Sinico, C., De Logu, A., Lai, F., Valenti, D., Manconi, M., Loy, G., Bonsignore, L. et Fadda, A.M. (2005).** Liposomal incorporation of *Artemisia arborescens* L. essential oil and *in vitro* antiviral activity. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. **59**: 161-168.
- T**
- Tahraoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z.H. et Lyoussi. B. (2007).** Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (*Errachidia province*). *Journal of Ethnopharmacology*. **110** : 105-117.
- Teuscher, E., Anton, R. et Lobstein, A. (2005).** *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 522 p.
- Tepe, B., Daferera, D. Sökmen, M., Polissiou, M. et Sökmen, A. (2004).** The *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and various extracts of

*Origanum syriacum* L var *bevanii*. Journal of the Science of Food and Agriculture. **84**: 1389–1396.

**Tepe, B., Akpulat, H.A., Daferera, M., Sokmen D., Yumrutas, O., Aydin, E., Polissiou, M. et Sokmen, A. (2006).** Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of *Pimpinella anisetum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey. Food Chemistry. **97**: 719–724.

**Toama, M.A., El-Alfy, T.S. et El-Fatary H.M. (1974).** Antimicrobial Activity of the Volatile Oil of *Nigella sativa* Linneaus Seeds. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. **2**: 225-226.

### U

**Ultee, A., Kets, E. P. W. et Smid, E. J. (1999).** Mechanisms of Action of Carvacrol on the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*. Applied and Environmental Microbiology. **65** (10): 4606–4610.

### V

**Van Vuuren, S.F., Viljoen, A.M., Özek T., Demirci, B. et Başer, K.H.C. (2007).** Seasonal and geographical variation of *Heteropyxis natalensis* essential oil and the effect there of on the antimicrobial activity. South African Journal of Botany. **73**: 441–448.

**Vardar-Ünlü, G., Candan, F., Sökmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, M., Dönmez, E. et Tepe, B. (2003).** Antimicrobial and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Methanol Extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. Var. *pectinatus* (*Lamiaceae*). Journal of Agriculture Food Chemistry. **51**: 63-67.

**Vardar-Ünlü, G., Ünlü, M., Dönmez, E. et Vural. N. (2007).** Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Origanum minutiflorum* O Schwarz & PH Davis. Journal of the Science of Food and Agriculture. **87**: 255-259.

**Vian, M.A., Fernandez, X., Visinoni, F. et Chemat, F. (2008).** Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. Journal of Chromatography A. **1190**: 14–17.

**Viljoen, A.M., Subramoney, S., Van Vuuren, S.F., Başer, K.H.C. et Demirci, B. (2004).** The composition, geographical variation and antimicrobial activity of *Lippia javanica* (*Verbenaceae*) leaf essential oils. Journal of Ethnopharmacology. **96**: 271–277.

**Vokou, D. et Margaritis, N.S. (1986).** Variation of Volatile Oil Concentration of Mediterranean Aromatic Shrubs *Thymus capitatus* Hoffmag et Link, *Satureja thymbra*

L., *Teucrium polium* L. and *Rosmarinus officinalis*. International Journal of Biometeor. **30 (2)**: 147-155.

*W*

**Wright, C.W. (2002).** *Artemisia*. Taylor & Francis, London and New York, 359 p.

*Y*

**Yamasaki, Y. et Akimitsu, K. (2007).** In situ localization of gene transcriptions for monoterpene synthesis in irregular parenchymic cells surrounding the secretory cavities in rough lemon (*Citrus jambhiri*). Journal of Plant Physiology. **164**: 1436-1448.

**Yu, J.Q., Liao, Z.X., Cai, X.Q., Lei, J.C. et Zou, C.L. (2007).** Composition, antimicrobial activity and cytotoxicity of essential oils from *Aristolochia mollissima*. Environmental Toxicology and Pharmacology. **23** : 162-167.

# Annexes

## Annexes

## Antibiogramme des souches testées

Souches		Antibiogramme	
<i>E.coli</i>		<b>β-lactamines</b> (Céftazidime, Cefotaxime)	<b>S</b>
		<b>Quinolones</b> (Acide nalidixique)	<b>R</b>
		<b>Fluoroquinolones</b> (Ciproflaxacine, Ofloxacin, Norfloxacin)	<b>R</b>
<i>K.pneumoniae</i> (E47)	<b>β-lactamines</b>	Cefotaxime	<b>S</b>
		Céftazidime	<b>I</b>
		Cefoxitine	<b>I</b>
		Pipéracilline + Tazobactam	<b>I</b>
		Ticarcilline + clavulanate	<b>R</b>
		Amoxicilline + clavulanate	<b>R</b>
		Ticarcilline, Pipéracilline, Céfuroxime, et Céfamandole.	<b>R</b>
<i>P.aeruginosa</i> (610)		<b>β-lactamines</b> (Imipénème)	<b>R</b>
		<b>Aminosides</b> (Gentamicine, Kanamycine)	<b>R</b>
		<b>Quinolones</b> (Acide nalidixique) et <b>Fluoroquinolones</b> (norfloxacin)	<b>R</b>
		<b>Sulfamide</b> (Triméthorpime, Triméthorpime-Sulfaméthoxazole)	<b>R</b>
		<b>Autre</b> (Tétracycline, Chloramphénicol)	<b>R</b>
<i>S.aureus</i> (S220)		Cefoxitine	<b>S</b>
		Erythromycine	<b>S</b>
		Vancomycine	<b>S</b>
		Tétracycline	<b>S</b>
		Triméthorpime-Sulfaméthoxazole	<b>S</b>

**R** : Résistance**I** : Résistance Intermédiaire**S** : Sensibilité

## Diamètres des zones édités par le CFA – SFM, 2007

Antibiotiques	Abreviation	S	R	
Cefotaxime	CTX	≥ 21	< 15	
Céftazidime	CAZ	≥ 21	< 15	
Céfamandole	MA	≥ 22	< 15	
Céfuroxime	CXM	≥ 22	< 15	
Cefoxitine	FOX	≥ 22	< 15	
Imipénème	IMP	≥ 21	< 17	
Pipéracilline	PIP	≥ 20	< 12	
Pipéracilline + Tazobactam	TZP	≥ 21	< 14	
Amoxicilline + clavulanate	AMC	≥ 21	< 14	
Ticarcilline	TIC	≥ 22	< 18	
Ticarcilline + clavulanate	TCC	≥ 22	< 18	
Gentamicine	GM	≥ 16	< 14	
Chloramphénicol	C	≥ 23	< 19	
Triméthorpime-Sulfaméthoxazole	SXT	≥ 16	< 10	
Ciproflaxacine	CIP	≥ 22	< 19	
Acide nalidixique	NA	≥ 20	< 15	
Oflaxacine	OFX	≥ 25	< 22	
Norfloxacine	NOR	≥ 25	< 22	
Triméthorpime	TMP	≥ 16	< 12	
Kanamycine	K	≥ 17	< 15	
Tétracycline	TET	≥ 19	< 17	
<i>Staphylococcus</i> <i>ssp</i>	Cefoxitine	FOX	≥ 27	< 25
	Erythromycine	E <sub>15</sub>	≥ 22	< 17
	Vancomycine	Va	≥ 17	-

Composition et préparation des milieux de cultures (pour 1 litre d'eau distillée)

**Gélose Mueller Hinton** (milieu de culture déshydraté)

Extrait de viande .....	<b>3 g</b>
Hydrolysate acide de caséine.....	<b>17,5 g</b>
Amidon .....	<b>1,5 g</b>
Agar.....	<b>20 g</b>
pH.....	<b>7,3</b>

**Préparation**

Dissoudre 42 g de poudre gélose Mueller Hinton dans un litre d'eau distillée. Autoclaver 20 min à 120°C.

250 g de poudre permettent de préparer 5,9 l de milieu.

**Diluant** (eau physiologique stérile)

Chlorure de sodium.....	<b>9 g</b>
Eau distillée.....	<b>1000 ml</b>

**Coeur-Cerveau**

Protéose-peptone.....	<b>10,0 g</b>
Infusion de cervelle de veau .....	<b>12,5 g</b>
Infusion de coeur de boeuf.....	<b>5,0 g</b>
Glucose .....	<b>2,0 g</b>
Chlorure de sodium.....	<b>5,0 g</b>
Hydrogénophosphate de sodium.....	<b>2,5 g</b>
pH.....	<b>7,4</b>

**Tableau IV :** Longueurs d'ondes maximales et nombre d'UFC/ml de chaque suspension bactérienne initiale

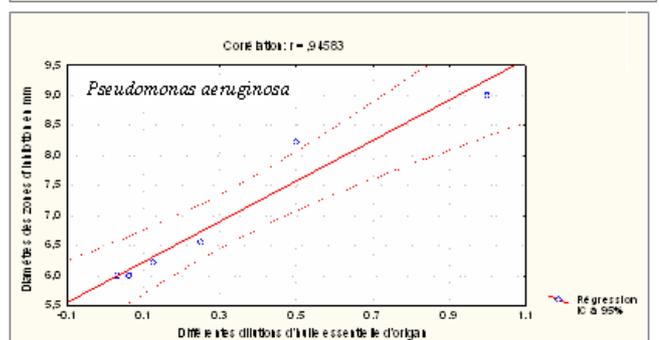
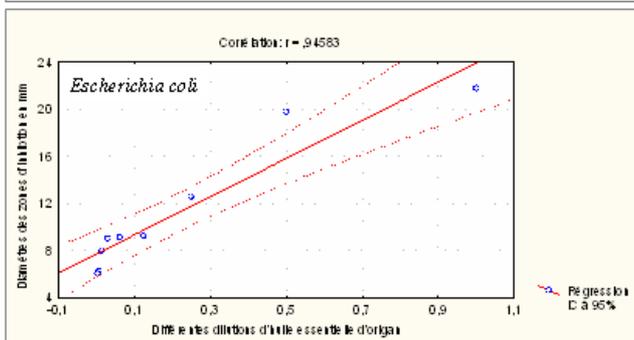
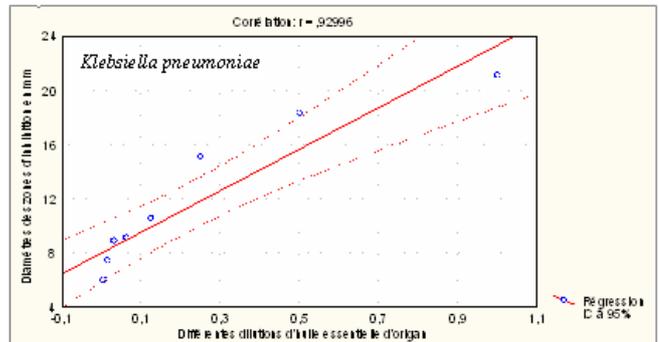
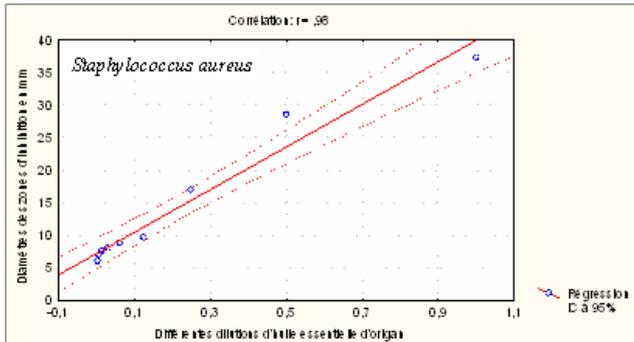
Souches	Longueurs d'ondes maximales ( $\lambda_{\max}$ )	Absorbance de la suspension bactérienne initiale	Nombre d'UFC/ml de la SM
<i>E.coli</i>	448 nm	0,5	$31.10^7$
<i>K. pneumoniae</i>	448 nm	0,5	$63.10^7$
<i>P. aeruginosa</i>	448 nm	0,5	$30.10^7$
<i>S. aureus</i>	555 nm	0,6	$11. 10^7$

**Tableau V :** Gamme de dilution des huiles essentielles utilisées pour l'aromatogramme en milieu liquide

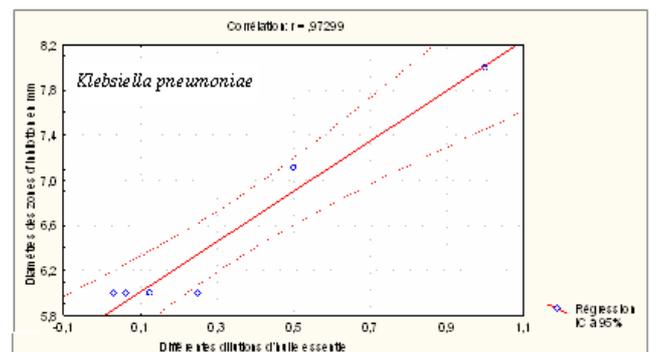
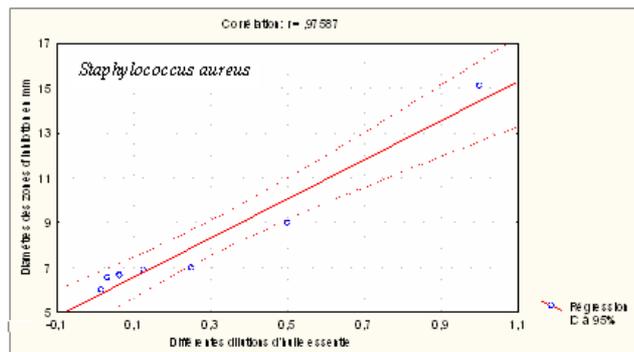
	Dilution									
Dilutions	1	1/1,5	1/2	1/2,5	1/3	1/4	1/5	1/6	1/8	1/16
HE d'origan	-	-	20 $\mu$ l	16 $\mu$ l	13 $\mu$ l	10 $\mu$ l	8 $\mu$ l	7 $\mu$ l	5 $\mu$ l	2,5 $\mu$ l
HE d'armoise blanche	40 $\mu$ l	27 $\mu$ l	20 $\mu$ l	16 $\mu$ l	13 $\mu$ l	10 $\mu$ l	8 $\mu$ l	7 $\mu$ l	5 $\mu$ l	2,5 $\mu$ l
DMSO	0 $\mu$ l	13 $\mu$ l	20 $\mu$ l	24 $\mu$ l	27 $\mu$ l	30 $\mu$ l	32 $\mu$ l	33 $\mu$ l	35 $\mu$ l	37,5 $\mu$ l

## Coefficients de corrélation

## 1) Huile essentielle d'origan



## 2) Huile essentielle d'armoise blanche



## Glossaire

La plupart de définitions des termes ont été prise à partir du dictionnaire "Le petit Larousse" et "Larousse : encyclopédie des plantes médicinales "

### Glossaire botanique

#### A

**Absolue** : Produit ayant une odeur caractéristique, obtenu à partir d'une concrète, d'une pommade florale ou d'un résinoïde par extraction à l'éthanol à température ambiante. La solution éthanolique obtenue est généralement refroidie et filtrée dans le but de supprimer les cires; l'éthanol est ensuite éliminé par distillation.

**Acore** : Plante des marais originaire d'Asie de Sud-Est et de l'Inde, aussi appelée *roseau aromatique*. (Famille des *Aracées*).

**Aromatique** : Se dit d'une plante odorante, à huile essentielle le plus souvent.

**Azulène** : Hydrocarbure aromatique à la belle fluorescence bleue, utilisé dans les lessives comme azurant (blanchissant).

#### B

**Badiane** : Arbuste originaire du Viêt Nam, dont le fruit est appelé anis étoilé, contient une essence odorante utilisée pour la fabrication de boissons anisées (Famille des magnoliacées).

**Bractée** : (latin : bractea, feuille de métal) : feuille plus ou moins modifiée associée à la fleur ou à l'inflorescence, mais n'appartenant pas à la fleur elle-même.

**Broussailles** : Végétation formée d'arbustes et de plantes épineuses, caractéristique des sous-bois et des terres incultes.

#### C

**Calice** : (latin : calyx) : enveloppe florale la plus externe constituée par les sépales, ayant un rôle de protection.

**Capitule** : Inflorescence à fleurs sessiles ou subsessiles et serrées en tête sur un réceptacle,

**Composée** : Se dit d'une feuille dont le limbe est divisé en folioles.

**Corolle** : (latin : corolla, petite couronne) : enveloppe florale composée de pétales, placée entre le calice et les pièces fertiles, ayant généralement un rôle d'affichage, c'est-à-dire d'attraction des pollinisateurs.

**Concrètes** : extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir d'une matière première fraîche d'origine végétale, par extraction au moyen d'un solvant non aqueux, suivie de l'élimination de ce solvant par un procédé physique.

#### D

**Dayas** : sont des cuvettes d'extension limitée, au fond en général argileux dans les quelles l'eau de ruissellement peut s'accumuler.

*E*

**Epis** : sorte de grappe dont les fleurs sont sessiles ou subsessiles sur un axe simple.

**Exocytose** : Mécanisme permettant d'expulser hors d'une cellule le contenu des granules qui sont entourés d'une membrane.

**Étamine** : Organes mâles de la fleur, situés entre la corolle et le pistil et composés du filet et de l'anthere.

*F*

**Fragrance** : Odeur suave, parfum agréable.

*G*

**Garrigues** : Formation végétale secondaire (chênes verts mélangés des buissons et des plantes herbacées) qui apparaît sur les sols calcaires après destruction de la forêt, dans les pays méditerranéens).

*H*

**Halieutique** : Qui concerne la pêche.

**Hermaphrodites** : (grec : Hermaphrodite, nom mythique) : se dit d'une fleur portant androcée et gynécée fonctionnels, c'est-à-dire bisexuée.

**Huiles fixes** : Huile non volatile contenue dans les plantes. Huile obtenue par pression à chaud ou à froid

*I*

**Iris** : Plante de l'hémisphère Nord tempéré, souvent cultivée pour ces fleurs ornementale et odorante, et dont le rhizome est parfois employé en parfumerie. (Familles des iridacées).

*L*

**Lactifère** : Se dit d'un canal qui conduit le lait.

*O*

**Ombellifères** : **Ombelle** : (latin : umbella, parasol) : inflorescence dont les pédoncules floraux, égaux entre eux, naissent tous du même point et portent des fleurs, ou des ombellules, sur un même plan.

*P*

**Pétale** : Pièce colorée constituant la corolle, appareil d'affichage de la fleur.

**Pauciflores** : Qui porte peu de fleurs.

**Phytoalexines** : Composés toxiques produits par les plantes supérieures, en réponse à l'attaque par des micro-organismes pathogènes et à d'autres stress. Parfois désigné sous le nom des antibiotiques de plante, mais plutôt non spécifique, ayant une action fongicide et bactéricide générale.

**Phytol** : Alcool hydrophile, C<sub>20</sub>H<sub>40</sub>O,

**Pinnatipartites** : Se dit d'une feuille penninerve dont chaque moitié latérale est découpée en lobes nombreux, dont les sinus atteignent presque la nervure moyenne.

**Plastoquinones** : Ubiquinone (transporteur d'électrons) des chloroplastes.

**Pommade florale** : Corps gras parfumé obtenu à partir de fleurs soit par "enfleurage à froid" (c'est la diffusion des constituants odorants des fleurs dans le corps gras), soit par "enfleurage à chaud" (c'est la digestion ou immersion des fleurs dans le corps gras fondu).

**Pubescentes** : Garni de poils fins, mous, courts et peu serrés.

## R

**Résine** : Substance solide ou visqueuse, translucide et insoluble dans l'eau, que secrètent certaines espèces végétales, notamment les conifères.

**Résinoïdes** : Extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir d'une matière sèche d'origine végétale, par extraction à l'aide d'un solvant non aqueux, suivi de l'élimination de ce solvant par procédé physique.

**Rhizome** : Tige souterraine ou à ras de terre, ressemblant à une racine.

## S

**Sassafras** : Arbre de l'Amérique du Nord, dont le bois est utilisé en ébénisterie et en construction légère, et dont les feuilles sont employées comme condiment. (Genre *Sassafras* ; Famille des lauracées.).

**Sessiles ou subsessiles** : Se dit d'une feuille ou d'une fleur ayant une implantation fixe dépourvue de pétiole ou de pédoncule.

**Steppique** : Formé de steppes.

**Steppe** : Formation discontinue de végétaux de petites tailles, adaptés aux milieux secs, souvent herbacés, des régions méditerranéennes subarides, des régions tropicales ou de celles de climat continental à hivers très froids et à étés très secs.

**Suffrutescentes** : Frutescentes : adjectif correspondant à arbrisseau.

## T

**Tubercule** : Renflement des axes végétaux, surtout souterrains (racine, rhizome), riches en substances de réserves.

**Tubéreuse** : Plante originaire du Mexique cultivée pour ses belles grappes fleurs blanche à odeur suave et pénétrante. (Genre *Polianthes* ; famille des Agavacées).

## V

**Vivace** : Se dit d'une plante qui vit plusieurs années et fructifie plusieurs fois.

## Lexique thérapeutique

## A

**Aérophagie** : Déglutition d'air entraînant une aérogastrite lorsqu'elle est excessive.

**Allélopathiques** : Ensemble des interactions biochimiques directes ou indirectes, positives ou négatives, d'une plante sur une autre au moyen de métabolites secondaires tels les acides phénoliques, les flavonoïdes, les terpénoïdes et les alcaloïdes.

**Antalgique** : Qui soulage les douleurs.

**Anthelminthique** : Qui combat les vers intestinaux.

**Antiactinique** : Matière protectrice contre les rayons solaires.

**Anti-inflammatoire** : Qui fait dégonfler, et diminuer l'irritation. La plupart des anti-inflammatoires sont aussi des antidouleurs.

**Antibiotique** : (grec : anti, contre ; biotikos, qui concerne la vie) : inhibe le développement de diverses micro-organismes.

**Antiseptique** : (grec : anti, contre ; sepein, pourrir) : prévient les infections en détruisant les microbes.

**Antispasmodique ou Spasmolytique** : (grec : anti, contre ; spasmos, tirer) : empêche les contractions musculaires involontaires (fibres musculaires de l'intestin et des voies urinaires).

**Appétitif** : (latin : aperire, ouvrir) : stimule l'appétit.

**Aphtes** : Ulcération superficielle mais douloureuse de la muqueuse buccale (joues, gencives, langue, lèvres) ou génitale.

**Arthrite** : Inflammation aiguë ou chronique des articulations.

**Asthme** : Maladie de cause souvent allergique, caractérisée par des accès de gêne expiratoire, due à un spasme bronchique.

**Antioxydant** : Prévient l'oxydation et l'altération des tissus

### **B**

**Bronchite** : Inflammation des bronches. *Bronchite chronique* : maladie respiratoire, souvent due au tabagisme, et évoluant vers l'insuffisance respiratoire.

### **C**

**Carminatif** : Qui fait expulser les gaz d'estomac.

**Cellulite** : Inflammation du tissu sous-cutané, qui se voit dans un certain nombre de maladies : lymphangite, infections locales bactériennes le plus souvent, etc.

### **D**

**Dyspepsies** : Sensations inconfortables ressenties au niveau de la partie haute de tube digestif (estomac, oesophage).

### **E**

**Emménagogue** : Qui provoque ou régularise les règles.

### **H**

**Halieutiques** : Ensemble des techniques, des disciplines de la pêche.

**Helminthiases** : Maladies parasitaires causées par un helminthe.

**Hémostatique** : (grec : haima, sang ; stasis, arrêt) : favorise la coagulation du sang.

### **M**

**Mycoses** : Toute infection (candidose, par ex.) due à un champignon inférieur parasite.

O

**Oédème** : (grec : oïdéma, tumeur), accumulation anormale de liquide provenant du sang dans les espaces intercellulaires d'un tissu.

**Oxyures** : Ver nématode, parasite de l'intestin de l'homme (genre *Enterobiums*), du cheval et des ruminants (genre *Oxyuris*), responsable de l'oxyurose.

P

**Pédiculose** : Affection causée par des insectes hématophages de la famille des Pediculidae, les poux.

S

**Sédatif** : Qui calme l'organisme.

**Spasmes** : contractions soudaines et involontaires d'un muscle.

**Stéroïde** : Substance chimique d'origine animale ou végétale ayant une puissante action hormonale

**Stomachique** : Propre à rétablir le fonctionnement de l'estomac.

T

**Tics** : Contraction brusque et rapide de certains muscles, surtout de ceux du visage, involontaire et stéréotypée.

U

**Ulcères** : Perte de substance d'un revêtement épithélial, cutané ou muqueux, s'étendant plus ou moins aux tissus sous-jacents.

V

**Vermifuge** : Se dit d'un remède propre à faire évacuer les vers intestinaux.

## RESUME

L'activité antibactérienne des huiles essentielles d'origan (*Origanum glandulosum* Desf.) et d'armoise blanche (*Artemisia herba alba* Asso.) sur quatre souches bactériennes (*S.aureus*, *K.pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) a été étudiée. L'aromatogramme en milieu solide (méthode des disques) a été utilisé pour évaluer l'inhibition de la croissance de diverses concentrations des huiles essentielles de ces deux plantes aromatiques. L'huile essentielle de l'origan s'est avérée efficace sur les quatre souches testées avec une activité plus prononcée sur *S.aureus*, et une activité très faible à l'égard de *P. aeruginosa*. En revanche, l'huile essentielle d'armoise blanche inhibe uniquement la croissance de *S. aureus*. La détermination des Quantités Minimales Inhibitrices (QMI) de la phase volatile par la technique d'aromatogramme en micro-atmosphère a été effectuée. Les résultats obtenus montrent une activité antibactérienne de la phase volatile d'origan avec des QMI de 20 µl sur *S.aureus*, *K.pneumoniae*. et une QMI inférieur ou égale à 10 µl sur *E. coli*. Par contre, la phase volatile d'armoise blanche présente uniquement une activité sur *S.aureus* et avec des QMI de 80µl.

Les Concentrations Minimales Bactéricides de l'huile essentielle d'origan sur *E.coli* est 4µl/ml, elle est de 3,2µl/ml pour *K.pneumoniae*. Cependant, elle est supérieure à 4µl/ml pour *S.aureus*. La Concentration Minimale Bactéricide de l'huile essentielle d'armoise blanche est supérieure à 8µl/ml pour *S.aureus*.

L'analyse des huiles essentielles par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) a révélé des profils différents pour l'huile essentielle d'origan et d'armoise blanche ; présence d'une tache importante de couleur rose pour l'huile essentielle d'origan avec un Rf de 0,65 et deux taches de couleur brique et bleue foncée correspondant à des Rf de 0,73 et 0,79 respectivement pour celles de l'armoise blanche.

**Mots clés :** Huiles essentielles; *Origanum glandulosum* Desf.; *Artemisia herba alba* Asso.; aromatoigramme; activité antibactérienne.

## ABSTRACT

Antibacterial activity of the essential oils extracted from oregano (*Origanum glandulosum* Desf.) and white wormwood (*Artemisia herba alba* Asso.) against four bacterial strains (*S.aureus*, *K.pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) were studied. The disk diffusion method was used to evaluate the antibacterial activity of the various concentrations of the essential oils of each aromatics plant. The essential oil from oregano was found efficiency against the four strains tested with antibacterial activity pronounced against *S.aureus*, and weakest activity against *P. aeruginosa*. However, the essential oil from white wormwood inhibits only the growth of *S. aureus*. The determination of the Inhibiting Minimal Quantities (IQM) of the volatil phase was effectuated. The volatile phase of oregano shows an antibacterial activity on *S.aureus*, *K.pneumoniae* (IQM are equal to 20 µl) and *E. coli* (IQM inferior or equal to 10 µl). On the other hand, the volatil phase of white wormwood presents only an activity on *S.aureus* with I QM equal to 80µl.

Bactericidal Minimal Concentrations of the essential oil of oregano on *E.coli* is 4µl/ml, it is 3,2µl/ml for *K.pneumoniae*. However, it is higher than 4µl/ml for *S.aureus*. The Bactericidal Minimal Concentration of the essential oil of white wormwood is higher than 8µl/ml for *S.aureus*. Thin Layer Chromatography (TLC) essential oils analysis revealed different profils for essential oil from oregano and of white wormwood; presence of an important spot of pink color for the oil essential of oregano with FR of 0, 65, and two spots of dark brick color and blue corresponding to FR of 0, 73 and 0, 79 respectively for those of the white wormwood.

**Key words:** Essential oil; *Origanum glandulosum* Desf.; *Artemisia herba alba* Asso., disc diffusion method; antibacterial activity.

## المخلص

بحثنا اقتصر على دراسة مفعول مضاد البكتيري للزيوت العطرية لعشبتين طبييتين وهما الزعتر البري (اوريجانوم غلندلوزوم) و الشيح (ارتيمزيا اربا ألبا) ضد أربعة بكتريا (*S.aureus*, *K.pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) مقاومة للمضادات الحيوية. لدراسة حساسية البكتريا تجاه هذه الزيوت، أجرينا عدة اختبارات منها : اختبار الأقراص، اختبار دراسة التركيز واختبار مفعول العناصر الطيارة.

نتائج التحاليل أظهرت أن الزيت العطري الزعتر البري له مفعول قوي ضد *S.aureus*, *K.pneumoniae*, *E. coli* بينما أظهرت *P. aeruginosa* مقاومة له. أما الزيت العطري للشيح فلم يظهر الا مفعول ضد *S.aureus*.

النتائج الابتدائية لتحاليل مكونات الزيوت العطرية للزعتر البري و الشيح كشفت عن اختلاف في تركيبهما الكيميائي.

**الكلمات المفتاحية :** الزيت العطري، اوريجانوم غلندلوزوم، ارتيمزيا اربا ألبا، اختبار الأقراص، مفعول مضاد البكتيري.