



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Appliquée



MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologie appliquée à la santé et à l'environnement.

Thème

Evaluation du potentiel antibactérien des extraits bioactifs des plantes

Présentée par :

Melle. HARRACHE Djouhaina

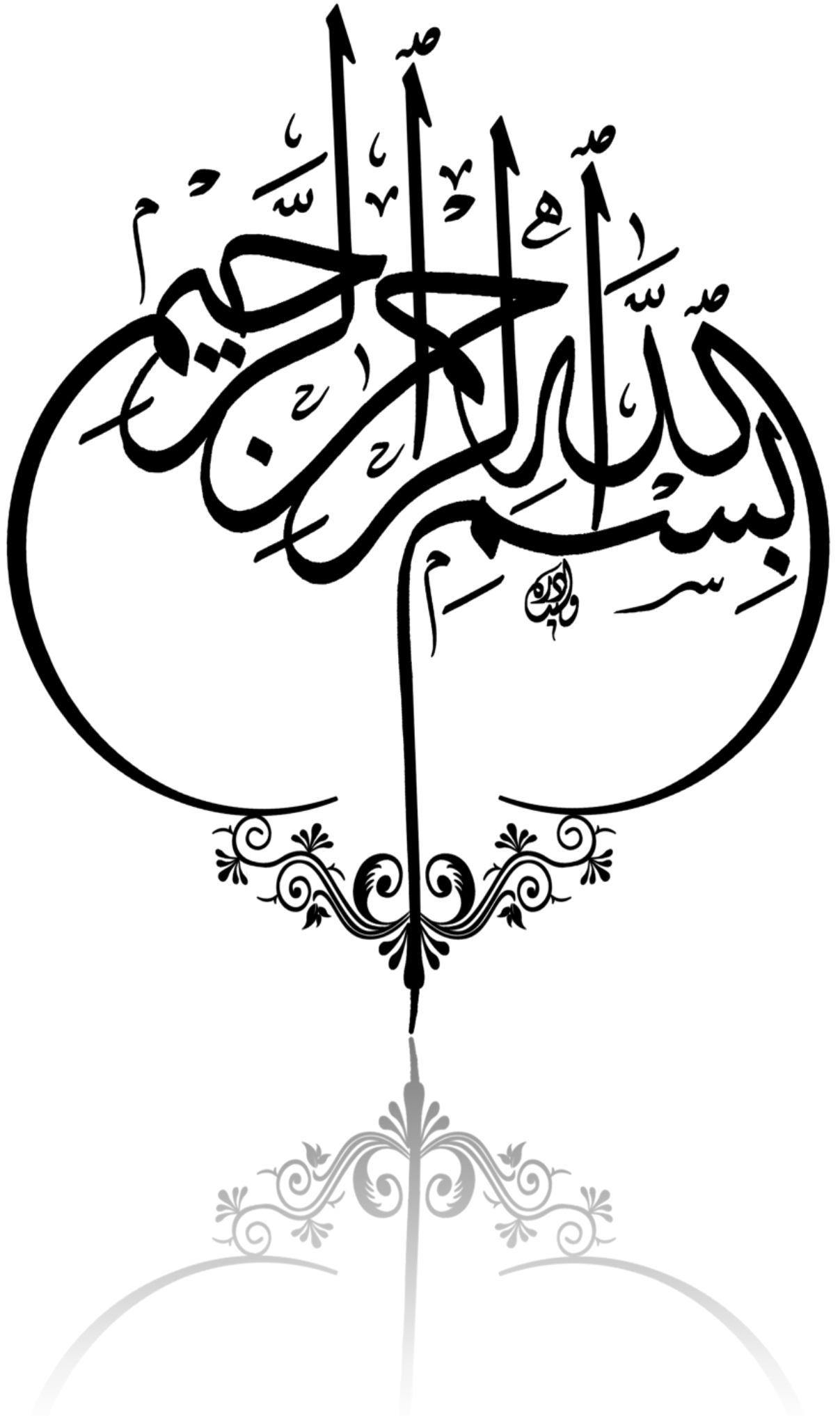
Melle. BOURAS Hanane

Soutenu le : 08/06/2021

Devant le jury

Dr. MENASRIA Taha	M.C.B	Université de Tébessa	Président
Dr. ZOUAOUI Nassim	M.C.B	Université de Tébessa	Examineur
Dr. BOUKOUCHA Mourad	M.C.A	Université de Tébessa	Rapporteur

Année universitaire :2020/2021



Remerciement

*Nous remercier tout d'abord DIOU le tout puissant pour avoir données
La patience, la santé, la volonté pour réaliser ce modeste travail.*

Nous exprime nos remerciements à :

*Notre promoteur Dr. BOUKOUCHI Mourad. Maitre de conférence à la faculté
De biologie, Université de Elarbi Tébessi-Tébessa.*

Pour avoir encadré et dirigé notre travail

Nous adressons nos sincère remerciement à Dr. MENASRIA T.

*Maitre de conférence à la faculté De biologie, Université de Elarbi Tébessi-Tébessa
D'avoir accepté de présider le jury.*

Nous exprimées vifs remerciement à Mr. ZOUAOUI N.

*Maitre de conférence à la faculté De biologie, Université de Elarbi Tébessi-Tébessa
L'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire*

Nous leur exprimons notre respect et notre profonde sympathie

*A toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement
à la réalisation de ce travail.*

. Dédicace

Je dédie ce travail,

*À mes chers parents, à ma mère et mon père .pour leur patience
leur amour ,leur soutien et leur encouragement tout au long de ma vie.*

*À mon frère **NASER EDDINE***

À mes sœurs, à tous mes proches

Djouhaina

Dédicace

*A l'aide de dieu le tout puissant ,qui m'a tracé le chemin de ma vie ,j'ai pu réaliser ce travail
que je dédie:*

*A l'homme de ma vie ,mon exemple éternel ,mon soutien moral et matériel tout au long de ma
vie ,dans les moments difficiles et dans mes années d'études, ma source de joie et de bonheur
,celu qui s'est toujours sacrifié pour ma ressite .que Dieu te procure une bonne santé et une
longue vie mon très cher Papa **AL HAFSI***

*A ma mère **HADJIRA***

*Pour son affection , sa patience, sa compréhension sa disponibilité ,son écoute permanente
et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie.*

*Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous **MES CHERS PARENTS** que je dois, que
DIEU VOUS GARDE*

*Mon frère **OMER***

Qui lui donne le courage la force et tous ce que je veux, Dieu tu protège mon cher.

*A mes sœurs **YASSMINE NOURE EL HOUDA ,ISRA** et ma petite **MARJA***

*A mon binome **Djohaina***

*qui a partagée avec moi les moments difficiles et agréables passés ensemble duré ce travail
ainsi qu'à toute sa famille.*

Hanane

ملخص

تعتبر النباتات الطبية مصدرا للجزيئات النشطة بيولوجيا ذات الأهمية المتعددة في الطب البشري , حيث الزيوت من ضمن هذه المستخلصات النباتية الأكثر استعمالا في العلاج . دراستنا ركزت على الزيوت الطيارة لثلاثة نباتات تجارية في تبسة (شرق الجزائر) *Cinnamomum zeylanicum*, *Organium vulgare L*, *Syzgium aromaticum* استخلاص هذه الزيوت كان بطريقة التقطير بالبخار من نوع clevenger حيث كان المردود يقدر ب % 3.86 هذه الزيوت , 2%, 1.4% على التوالي , دراسة النشاط المضاد للبكتيري على الوسط الزراعي الصلب (Aromatogramme) وإيجاد التركيز الأدنى المثبط (CMI) و التركيز الأدنى القاتل (CMB) في الوسط الزراعي السائل على مستوى الصفيحة الميكروسكوبية من أجل تقييم النشاط المضاد للبكتيريا حيث كان جيد بالنسبة لزيت المستخرج من *Cinnamomum zeylanicum* , والمستخرج من *Organium vulgare L* ضد سلالة ($CMB \geq 1/32$, $CMI \geq 1/32$) و *Staphylococcus aureus* (30-33mm) ومع سلالة ($CMI \geq 1/32$, $CMB \geq 1/32$) و *Echerichia coli* (30-32mm), وكانت نتائج متوسطة مع زيت ($CMI=1/16$, $CMB=1/8$) *Syzgium aromaticum* (12-14mm) ومن جهة النشاط المثبط لسلالة *Pseudomonas aeruginosa* لوحظ فقط مع الزيت المستخرج من *Cinnamomum zeylanicum* حيث كانت النتيجة ($CMI \geq 1/32$, $CMB \geq 1/32$) , دراسة النشاط المثبط للبكتيريا بطريقة Atmosphérogramme (عن بعد) تمكن من تقييم القدرة المثبطة بالمكونات الطيارة لثلاثة زيوت أساسية غياب النشاط كان ملحوظ مع *l'organium vulgare L* مع سلالة *Pseudomonas aeruginosa* و مستخلص *Syzgium aromaticum* مع كل السلالات المختبرة . هذه النتائج تسمح بالاستغلال هذه الزيوت وخاصة زيت *Cinnamomum zeylanicum* و زيت *l'Oganium vulgare L* مثل مصدر طبيعي مضاد للبكتيريا .

الكلمات المفتاحية : زيوت أساسية, نشاط مضاد بكتيري, Aromatogramme , CMI , Atmosphérogramme

Abstract:

Medicinal plants have been considered as a source of bioactive molecules of multiple interest in human medicine. Oils are one of the plant extracts most used in the field of therapy. In this context, our study focused on essential oils of three plants marketed in Tébessa (East-Algeria), *Cinnamomum zeylanicum*, *Syzygium aromaticum* and *Origanum vulgare L.* The extraction of these EOs was carried out by Clevenger type hydrodistillation, the recorded yields are: 3.86%, 2%, 1.4% respectively. The study of the antibacterial activity on solid medium (Aromatogram) and the determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) and bactericidal (MBC) in liquid medium in microplate made it possible to appreciate an interesting antibacterial activity of EOs extracted from *Cinnamomum zeylanicum* and *Origanum vulgare L.* aimed at strains *Staphylococcus aureus* (12-14mm) (MIC \geq 1/32, MBC \geq 1/32) and *Escherichia coli* (30-32mm) (MIC \geq 1/32, MBC \geq 1/32) and moderate with the essential oil extracted from *Syzygium aromaticum* (12-14mm) (MIC=1/16, MBC=1/8). For its part, the inhibitory activity of *Pseudomonas aeruginosa* was observed only with the essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* (22-24mm, MIC \geq 1/32, MBC \geq 1/32). The study of antibacterial activity by atmospherogram technique made it possible to evaluate the inhibitory power of the volatile molecules of the three essential oils, a loss of activity was observed for *Origanum vulgare L.* with regard to *Pseudomonas aeruginosa* and *Syzygium aromaticum* is aimed at all of the bacterial strains tested. These results make it possible to exploit these oils and especially those of *Cinnamomum zeylanicum* and *Origanum vulgare L.* as a natural source of antibacterial.

Keywords: Essential oils, antibacterial activity, aromatogram, MIC, atmospherogram.

Résumé

Les plantes médicinales ont été toujours considérées comme une source de molécules bioactifs à intérêt multiple en médecine humaine. Les huiles constituent un des extraits de plantes les plus utilisés dans le domaine de la thérapie. Dans ce contexte, notre étude s'est concentrée sur les Huiles essentielles de trois plantes commercialisés à Tébessa (Est-Algérie): *Cinnamomum zeylanicum*(cannelle), *Syzygium aromaticum*(clou de girofle) et *Origanum vulgare* L(origan). L'extraction de ces HES a été réalisée par hydrodistillation de type Clevenger, les rendements enregistrés sont : 3.86%, 2%, 1.4% respectivement. L'étude de l'activité antibactérienne sur milieu solide (Aromatogramme) et la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide(CMB) en milieu liquide en microplaque ont permis d'apprécier une activité antibactérienne intéressante des HES extraites à partir de *Cinnamomum zeylanicum* et d'*Origanum vulgare* L visé à vis de *Staphylococcus aureus* (30-33mm)(CMI \geq 1/32,CMB \geq 1/32) et *Eschirechia coli* (30-32mm)(CMI \geq 1/32 ,CMB \geq 1/32) et modérée avec l'HE extraite à partir de *Syzygium aromaticum* (12-14mm)(CMI=1/16 , CMB= 1/8). De son côté l'activité inhibitrice de *Pseudomonas aeruginosa* a été observée uniquement avec l'huile essentielle de *Cinnamomum zeylanicum*(22-24mm , CMI \geq 1/32,CMB \geq 1/32).L'étude de l'activité antibactérienne par technique atmosphérogramme a permis d'évaluer le pouvoir inhibiteur des molécules volatiles des trois huiles essentielles, une perte de l'activité a été essentiellement observée avec l'*Origanum vulgare* L à l'égard de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Syzygium aromaticum* visé à vis de l'ensemble de souches bactériennes testées. Ces résultats permettent d'exploiter ces huiles et surtout celles de *Cinnamomum zeylanicum* et d'*Origanum vulgare* L comme une source naturelle antibactérienne.

Mots clés : Huiles essentielles, activité antibactérienne, aromatoigramme, CMI, atmospherogramme.

Liste Des Tableaux

Tableau N°	Titre	pages
01	les espèces des PMs de familles les plus utilisées	04
02	les caractéristiques physico-chimique des huiles essentielles	12
03	classification botanique de <i>cinnamomum zeylanicum</i>	22
04	classification de clou de girofle	23
05	classification du l'espèce <i>origanum vulgare L</i>	24
06	:les souches microbienne testées	24
07	Rendement et caractéristiques organoleptiques des trois HEs de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> , <i>Origanum vulgare L</i> et <i>Syzgium aromaticum</i>	36
08	Activité antibactérienne des HEs extraites à partir de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> , <i>Syzgium aromaticum</i> et <i>Origanum vulgare. L</i> sur les différentes souches bactériennes (Aromatogramme)	36
09	Atmosphérogramme des trois huiles essentielles extraites à partir de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> , <i>Syzgium aromaticum</i> et <i>Origanum vulgare. L</i> sur les différentes souches bactériennes (Atmosphérogramme)	38
10	Resultats obtenues par le test CMB/CMI de trois souches bactérienns de références ATCC	40

Liste Des Figures

figures:	Titres	Page
01	Les formes de consommation de <i>Nigella Sativa</i>	06
02	Les structures chimiques de différentes classes des composées phénoliques	07
03	La structure chimique d'acide phénolique	08
04	La structure chimique de principales classes de flavonoïdes	08
05	La structure chimique de tanins	09
06	La structure chimique de quelques coumarines	10
07	Présentation des différents structures chimiques des stérols	10
08	La structure chimique d'anthocyane.	11
09	Présentation structural des alcaloïde	11
10	Structures chimique de mono terpènes	14
11	Structure chimique se quelques Sesquiterpènes	14
12	Structure de quelques composés aromatique	15
13	Principales localisations des sites d'action des constituants des HE	16
14	Cannelle pour l'extraction	22
15	<i>Syzygium aromaticum</i> après broyée	23
16	Plante <i>origanum vulgare L</i> séché	24
17	Le milieu de culture liquide et solide utilisées	25
18	Montage de hydro-distillation	26
19	La récupération et la conservation de huile essentielle	27
20	La préparation de pré cultures	28
21	L'ensemencement de suspension bactérienne sur milieu muller-Hinton	28
22	Un schéma représentant la méthode d'antibiogramme	29
23	Préparation de teste aromatogramme	30
24	Schéma représentent le protocole de test CMI	30
25	Préparation de teste micro-atmosphère	31
26	Incubation les boîtes de teste micro-atmosphère	31
27	Protocole de micro dilution sur milieu liquide	32

28	Manipulation de test CMI	33
29	Différentes culture fraiches des isolats bactériens	35
30	Zones d'inhibition de la croissance bactérienne (Aromatogramme)	37
31	Zones d'inhibition de la croissance bactériennes (Atmosphérogramme)	39
32	Résultat de la détermination de la CMI.	41

Liste des abréviations

ADP	Acide Diphosphate
ARN	Acide ribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
ATCC	American type culture collection
ATP ase	Enzyme dégradé l'Adinosine Triphosphate
C,zeylanicum	cinamomum zeylanicum
CMB	consentration minimale bactericide
CFI	concentration minimale inhibitrice
DMSO	diméthylsulfoxyde
E,coli	Escherichie coli
g	Gramme
GN	gélose nutritive
H	Heure
HE s	huiles essentielles
HK	Hektoen
K+	Potassium
MH	milieu de mueller Hinton
min	Minute
mm	Millemètre
NACL	Chlorure de sodium
OMS	organisation mondiale de la santé
P. aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
S. aromaticum	Szygenum aromaticum
S. aureus	Staphylococcus aureus
UFC	Unité fonctionnelle de colonies

Table des matières

Remerciement	
Dédicace	
ملخص	
Abstract	
Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Table de matières	
Introduction.....	01

Partie Bibliographique

I. Les plantes médicinales et leurs composés bioactifs.....	03
I.1. les plantes médicinales.....	03
I. 1.1. L'utilisation des plantes médicinales dans la phytothérapie.....	05
I.2. Les composants bioactifs des plantes médicinales.....	06
I.2.1.Les composés phénolique.....	06
1.2.1.1. Les acides phénoliques.....	07
I.2.1.2. Les flavonoïdes.....	08
I.2.1.3. Les tanins.....	08
I.2.1.4. les coumarines.....	09
I.2.2. Les stérols.....	10
I.2.3. Les anthocyanes.....	10
I.2.4. Les alcaloïdes.....	11
I.2.5. Les huiles essentielles.....	11
I.3. Les caractères physico-chimique.....	11
I.4. Les compositions chimiques.....	12
I.5. Le Mode d'action	15
I.6. Les méthodes d'extraction.....	15
I.7. Les activités biologiques	17

Partie Expérimentale

II. LES MATERIELS ET METHODES.....	21
---	-----------

II.1. La Présentation de lieu de l'étude expérimentale	21
II. 2. Le Cadre et objectifs de l'étude.....	21
II. 3. Les Matériels.....	21
II.3.1. Le Matériel végétale.....	21
II.3.1.1 .La Présentation des plantes médicinales utilisées.....	21
II.3.2. Matériel microbien.....	24
II.3.3. Matériels de laboratoire.....	25
II.3.3.1. Matériel biologique.....	26
II. 3.3.2. Matériel non biologique.....	26
II.4. Extraction des huiles essentielles.....	26
II.4.1. Détermination du rendement en huiles essentielles.....	27
II.5. Etude des activités antibactérienne.....	27
II. 5.1. Préparation de pré-cultures.....	27
II 5.2. Ensemencement.....	28
II.6. L'aromatogramme (méthode de diffusion par disque.....)	29
II.7. Méthode de micro- atmosphère.....	30
II.7.1. Expression des résultats.....	32
II. 8. Méthode de micro-dilution en milieu liquide	32

III. Résultats

III.1. Isolement et purification des différentes souches bactériennes	35
III.2. Rendement de l'extraction des huiles essentielles.....	35
III.3. Activité antibactérienne des trois huiles essentielles sur les différentes souches bactériennes "Aromatogramme".....	36
III.2. Activité antibactérienne des trois huiles essentielles sur les différentes souches bactériennes "Atmosphérogramme".....	38
III.4. Concentration minimale inhibitrice et concentration minimale bactéricide	39

IV. Discussion

IV. Discussion.....	42
Conclusion	43
Références bibliographiques.....	45

Annexes

A decorative scroll-like frame with a black outline and a white fill. The frame has a vertical strip on the left side and a small circular detail at the top right corner. The word "Introduction" is written in a bold, black, serif font in the center of the frame.

Introduction

INTRODUCTION

Le regain d'intérêt aux plantes médicinales et leurs extraits telles les huiles essentielles ,vient essentiellement d'une prise de conscience des malades et de leur désir profond de revenir aux moyens naturels et efficaces ,car les plantes offrent un espoir de guérison dans les domaines des maladies contemporaines .d'un autre coté le besoin d'information sur les nouveaux produits phytothérapies s'accroît .le malade tend de plus en plus à fuir des substances chimiques et à éviter les dangers qu'elles peuvent induire **(Benzeggouta N,2005)** .Depuis l'antiquité, l'homme utilise les plantes qui poussent autour de lui pour se nourrir et se soigner. Il est temps de redécouvrir ces végétaux trop longtemps oubliés, dont nous pouvons mettre à profit les multiples vertus dans notre vie quotidienne .Durant des siècles, nos ancêtres ont accumulé un véritable savoir sur les vertus médicinales des plantes

(Belgaid & Chikhoun,2013).

En effet, le règne végétale est une source jugée inépuisable de molécules pouvant présenter un intérêt thérapeutique. Dans ce contexte, une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude des métabolites secondaires qui constituent souvent des principes actifs des plantes médicinales et l'évaluation de leur valeur thérapeutique sur la quelle l'industrie pharmaceutique s'appuie largement pour le développement de nouveaux médicaments **(Belgaid & Chikhoun,2013).**

Les huiles essentielles et les aromes consistent dans ce contexte la majeure partie des composés aromatiques naturels qui sont aujourd'hui de plus en plus utilisés dans différents domaines .Ces extraits sont obtenus par distillation .Ils possèdent un large éventail d'activités biologiques (antioxydant , antimicrobienne ,anti-cancérogène ,etc)

(Mnayer D,2014).Dans ce sens et afin de valoriser certaines plantes médicinales et surtout en matière de potentiel antibactérien ,notre travail a été proposé et qui a pour objectifs : Extraire les huiles essentielles de trois plantes commercialisées *Cinnamomum zeylanicu*(cannelle), *Syzygium aromaticum* (clou de Girofle),*Origanum vulgare L* (Zaatar), évaluer le rendement de l'extraction et apprécier leur potentiel antibactérien avec différentes techniques.

Ainsi ce mémoire est structuré en deux parties ,initié par une partie recherche bibliographique et une partie pratique comportant le matériel et méthodes suivies, des résultats obtenus et leur discussion et enfin notre travail s'achève par une conclusion générale.



**Synthèse
bibliographique**

.I. Les plantes médicinales et leurs composés bioactifs :

I.1. les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des plantes qui possèdent des activités biologiques à usage thérapeutique, cette activité est due à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissant sur l'organisme humain. Elles sont utilisées en médecine humaine et vétérinaire, en cosmétologie, ainsi que dans la confection des boissons, soit nature ,soit en core sous forme de principes actifs pour l'obtention de médicaments (**Chikhoun, 2013**), les extraits de plantes potentiellement bioactifs contre les bactéries et les moisissures dans les applications agroalimentaire, et d'autres composés sont souvent responsables des propriétés antiseptiques tels que: (le thymol, le carvacol, le cinnamaldéhyde, l'eugénol) (**Bencheqroun et al., 2012**).

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine. Dans l'égyptiens ont constitué la première législation des plantes médicinales en pharmacopée , et plus particulièrement en chine qui sont le premier à étudier la phytothérapie ,dans l'Inde et l'époque romaine ,les arabes furent ,eux aussi de grands connaisseurs de plantes (**Bounihi, 2016**). Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la majorité des infections, Malgré les progrès de la pharmacologie, l'usage de ces derrières par les populations rurale et urbaine en Afrique et représentent le principal moyen par laquelle les individus se soignent, Les plantes médicinales est très présentes aussi dans certains pays du monde et surtout les pays développés (**Hamel et al., 2014**).

La recherche en phytothérapie et les plantes médicinales a permis de sélectionner les plantes les plus actives et les plus efficaces contre les maladies et les infections (**Tableau 01**), La pharmacognosie ouvre la porte à de nouvelles utilisations des végétaux par exemple dans la lutte contre les infections microbienne et conter le cancer et d'autres maladies (**Bounihi A, 2016**).

Tableau 01. Les espèces de plantes médicinales les plus utilisées en phytothérapie

Nom scientifique	Parties utilisées	Propriétés biologiques	Substances Actives
<i>Allium cepas</i>	Le bulbe	Les composés sulfuriques ont des propriétés anti--inflammatoires, diurétiques et cicatrisantes. (Iburg, 2006)	Les flavonoïdes du sélénium de fructosane Des composés surfés dérivés de la cystéines. (Iburg, 2006)
<i>Matricaria Recutica</i>	Les feuilles	utiliser contre inflammatoire, anti-allergique, antispasmodique, relaxant, favorise l'expulsion des gaz; légèrement appétit (Iserin,2013)	L'huile essentielle contient proazulènes ,farnésine,alphabisabolol, spiroéther, chamazulène. Flavonoïdes (anthémidine, lutéoline ,rutine) (Iserin,2013)
<i>Artemisia absinthium</i>	Les fleurs	Substance amères aromatique stimule les sécrétion biliaires -Anti-inflammatoire -vermifuge -soulage les maux d'estomac -léger antidépresseur, (Iserin ,2013)	Huile essentielle -lactones sesquiterpéniques -flavonoïdes -composés phénoliques -lignanes (Iserin,2013)
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	L'écorce	L'huile essentielle aide à prévenir la prolifération des bactéries et les mycoses Stimule le transit intestinal (Iburg, 2006)	Les huiles essentielles Mucilage Des tannins L'eugénol Thymol Des coumarines (Iburg, 2006)
<i>Citrus limon</i>	Les fruits	La vitamine c renforce les défenses de l'organisme Les huiles essentielles stimulent l'appétit et la digestion Une activités antibactériens (Iburg, 2006)	Vitamine c Flvonglycoside Vitamine c Les Huiles essentielles (Iburg, 2006). monoterpènes Coumarines mucilage (Iserin, 2013)
<i>Zingiber officinale</i>	Rhizome	le gingembre renforce les défenses immunitaires de l'organisme et est un excellent remède contre le rhume comme l'ail le gingembre est	L'huile essentielle, gingérol, Sesquiterpénols Oléorésine (Iserin, 2013)

		un médicament efficace contre le cholestérol et l'hypertension (Iburg, 2006)	
<i>Nigella sativa</i>	Les graines	La nigellone (huile essentielle) soulage les spasmes des bronches et la thymochinone stimule la sécrétion de bile l'acide gamma-linoléique, en usage externe ou interne, est efficace contre les maladies de la peau, (Iburg, 2006).	Les huiles essentiels et grasses, tannins, amers et saponines (Iburg 2006)
<i>Lavandula angustifolia</i>	Les feuilles	Utilise dans le stress, brulures, douleurs, soins de la peau et démangeaisons, piqures d'insectes, contractures musculaires (Iserin, 2013)	Monoterpénols, huile essentielle, des tannines Flavonoides des phytostéroles les coumarines (Iburg, 2006)

I. 1.1. L'utilisation des plantes médicinales dans la phytothérapie

L'usage des plantes médicinales basés sur deux principes, le premier est la loi de la similitude (soigner le mal par quelques chose de similaire au mal), et le deuxième pour choisir le bon traitement en fonction du terrain du malade (**Chabrier, 2010**), la phytothérapie permet d'isolement des principes actifs de plantes pour étudier leurs propriétés, l'utilisation des plantes médicinales dans la phytothérapie représenté deux types (usage traditionnelle, usage clinique) (**Iburg, 2014**).

A. Usage traditionnelle (la phytothérapie traditionnelle) : selon l'OMS, la médecine traditionnelle est l'ensemble des connaissances et pratique utilisées pour diagnostique, prévenir ou éliminer un déséquilibre, en se fondant exclusivement sur les connaissances acquise ou transmise de génération à l'autre (**Bellamine, 2017**).

B. Usage clinique (la phytothérapie clinique) : c'est une thérapeutique vienne pour compléter ou renforcer le traitement allopathique classique, son mode d'action est basé sur un traitement à long terme (**Bellamine, 2017**).

Les plantes médicinales sont consommées en plusieurs formes pour le traitement

- a) **Huiles** :Elles sont obtenues à partir des plantes médicinales séchées par méthode d'extraction, elles sont liquifiées, utilisées pour un usage externe et interne.
- b) **Poudres** : elles sont obtenues à partir de plantes séchées puis et sont destinées à un usage interne, pour une meilleure efficacité. Pour usage externe
- c) **Décoctions** : sont obtenues en faisant bouillir une plante dans l'eau.
- d) **Infusions** : c'est la préparation la plus connue. Versez de l'eau chaude sur les plantes et laissez infuser 10 minutes, dans la plupart des cas. Avant de boire, filtrez la préparation et ajoutez du sucre ou du miel (**Figure01**) (**Guadrin, 2014**).



Figure 01. Formes de consommation de *Nigella sativa* (**Guignard,2001**)

I.2. Les composants bioactifs des plantes médicinales :

Les principales substances actives contenues dans les plantes médicinales ont été étudiées par la science moderne, mais il reste encore de nombreuses inconnues. Maintenant il est accepté que la molécule isolée n'est pas la même action que celle intégrée à toute la plante, c'est pour cette raison que les plantes médicinales sont aujourd'hui encore intégrées avec précaution à la médecine moderne, basées sur la preuve scientifique (**Iburg,2006**). Les groupes chimiques bioactifs de plantes médicinales sont plusieurs composants mais les principales sont : les composés phénoliques, les stérols, les anthocyanes, les saponines, les alcaloïdes et les huiles essentielles (**Lardry, 2007**).

I. 2.1.Les composés phénolique.

Les poly-phénols constituent les principes actifs de nombreuses plantes, ils ont la capacité de moduler l'activité d'un grand nombre d'enzyme, on distingue (les acides phénolique, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines,...etc) (**Figure 02**) (**Fettah, 2019**).

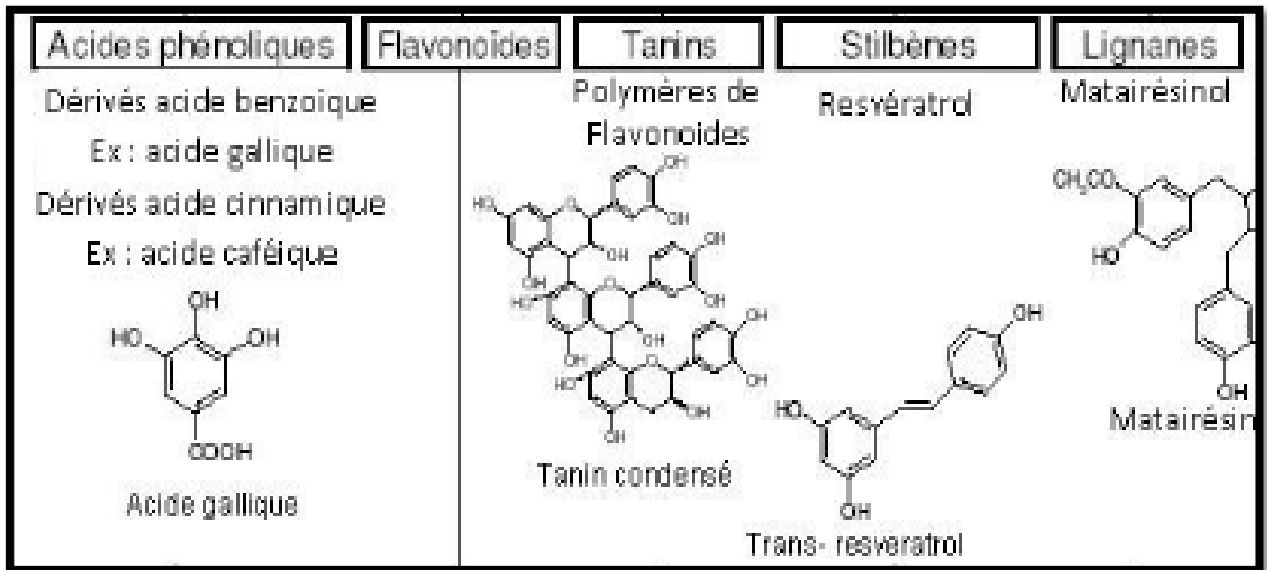
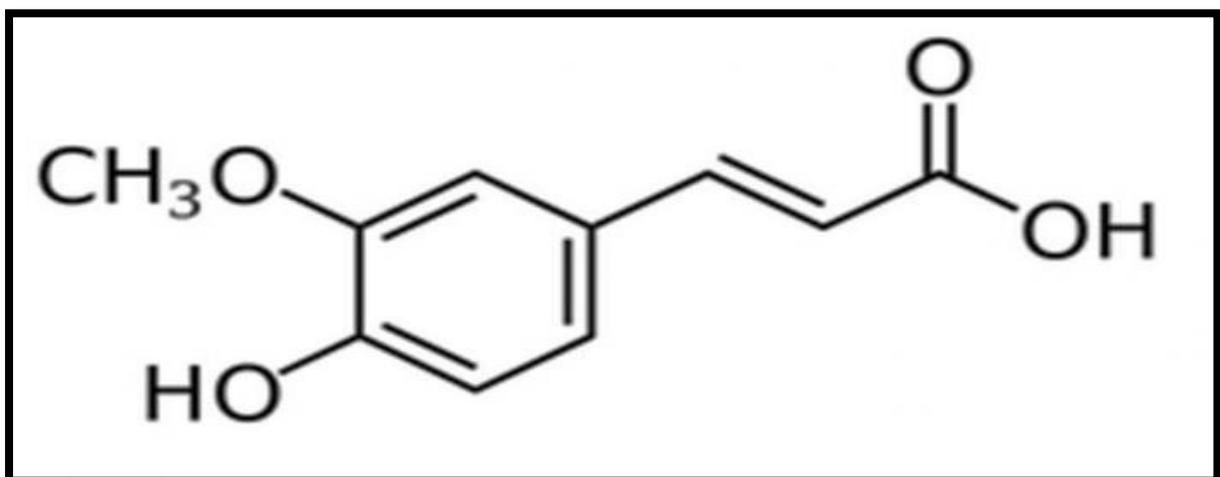


Figure 02. Les structures chimiques de différentes classes des composés phénoliques (Bessas, 2008)

I. 2.1.1. Les acides phénoliques

Des substances phytochimiques ayant au moins un groupe carboxyle et un groupe hydroxy-phénolique (**Figure 03**) (Fettah, 2019), ils sont des composés poly phénoliques non flavonoïdes présents beaucoup plus dans les fruits, les légumes et un certain nombre de plantes agricoles et médicinales, ils sont formés d'un squelette à sept et neuf (7 et 9) atomes de carbone et regroupent deux types principaux, les acides hydroxy benzoïques et les acides



hydroxy cinnamiques (Mennai I, 2019).

Figure 03. Structure chimique d'acide phénolique (Karbouche, 2010)

I.2.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (Fettah, 2019), Présents dans la plupart des plantes, sont des pigments poly phénolique qui contribuent à la coloration des fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales (Iserine, 2013). Ces substances sont enzymatiquement fabriquées à partir des sécrétions de bourgeons de nombreux arbres comme le *Bouleau l'aulne* (Messai, 2011), ils se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont : les flavones, les flavanones, les flavonols, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones, les anthocyanes et les tanins (Figure04) (Mennai, 2019).

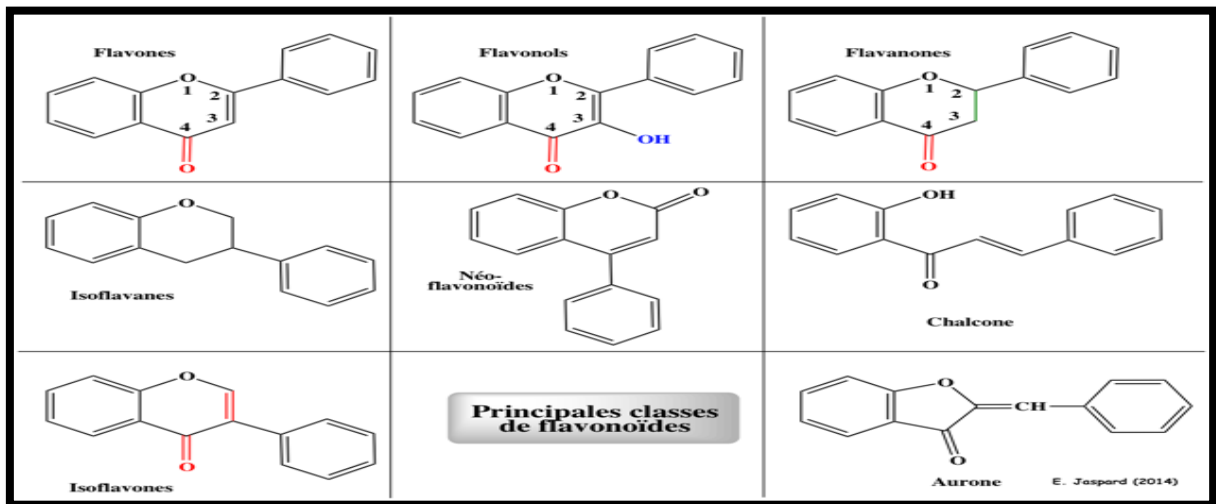


Figure 04. Structure chimique de principales classes de flavonoïdes (Bruneton,1999)

I.2.1.3. Les tanins

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé .ceux-ci donnent un gout amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail. Les tanins sont des composants poly phénoliques (Figure 05) qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections (Iserine,2013), ils sont caractérisées par leur astringence (sensation de dessèchement en bouche), par exemple les pépins de raisins sont très riche en tanins (Messai, 2019)

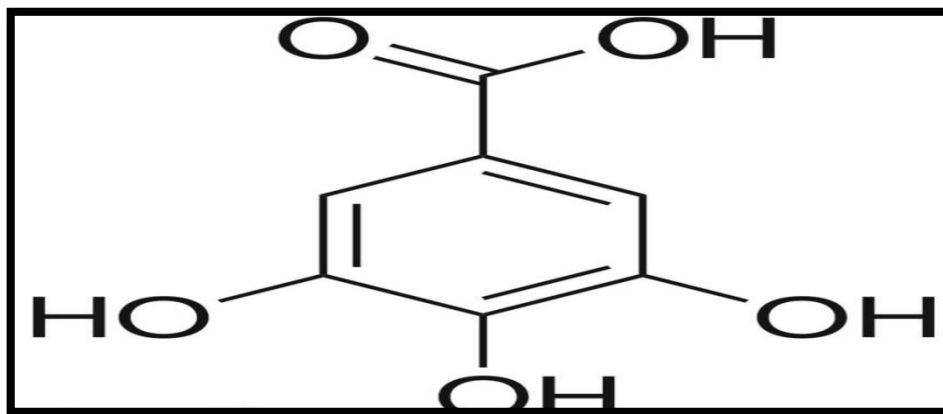


Figure 05. Structure chimique de Tanin (acide gallique) (Brunton,2009)

I.2.1.4. les coumarines

Les coumarines trouvent de différents types dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses (Fettah, 2019), ils sont capable de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyyles, super oxydes et peroxydes, ils existent sous forme libre ou encore liée à des sucres (hétérosides) dans la plupart des familles de dicotylédones incluant la famille Abiaceae. Elles se localisent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits. Il y a plusieurs classes chimique de coumarine (Figure06) (Benmansour, 2016).

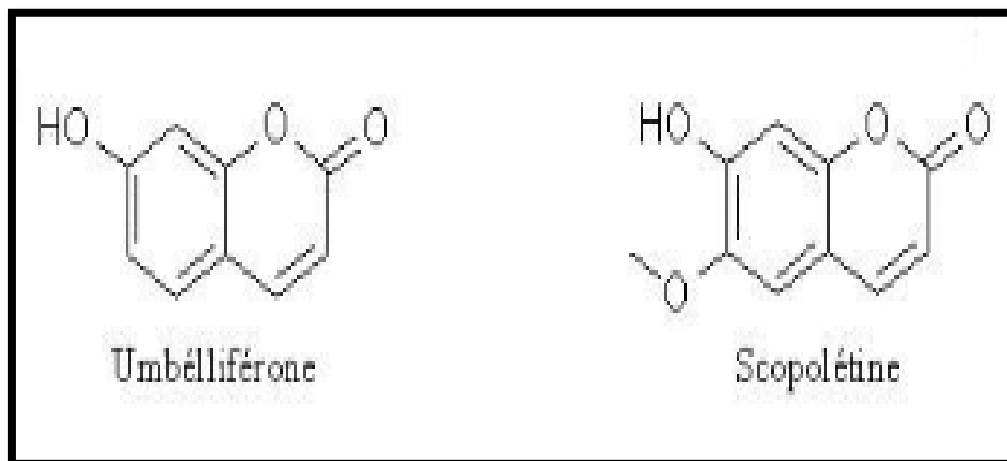


Figure 06. Structure chimique de quelques coumarine (Bessas, 2008).

I.2.2. Les stérols

Les stérols possèdent une structure chimique proche de celle du cholestérol, sont des substances naturelles stéroïdiques caractérisées par un noyau polycyclique portant une fonction alcool (Fettah, 2019), ils sont classées en cinq sous classes :

- a) Les stérols et dérivés ; cholestérol, phytostérol et stérides
- b) Les stéroïdes : oestrogènes, androgènes, gluco-et minéralocorticoïdes
- c) Les sécostéroïdes : vitamine D
- d) Les stéroïdes conjugués (Figure08) (Amari, 2016)

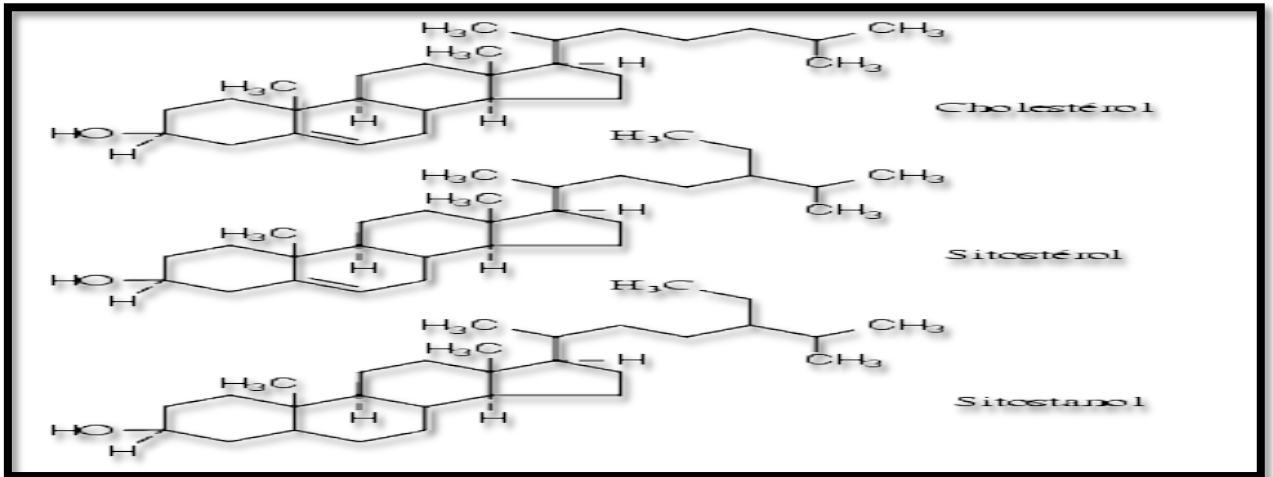


Figure 07. Présentation des différentes structures chimiques des stérols (Clarke,2008)

I.2.3. Les anthocyanes

Les anthocyanes sont issus de l'hydrolyse des anthocyanidines (flavonoïdes proches des flavones) (Figure 08), qui donnent aux fleurs et aux fruits leurs teintes bleue, rouge, ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres, ils maintiennent une bonne circulation, notamment dans les régions du cœur, des mains des pieds et des yeux (Benmansour, 2016).

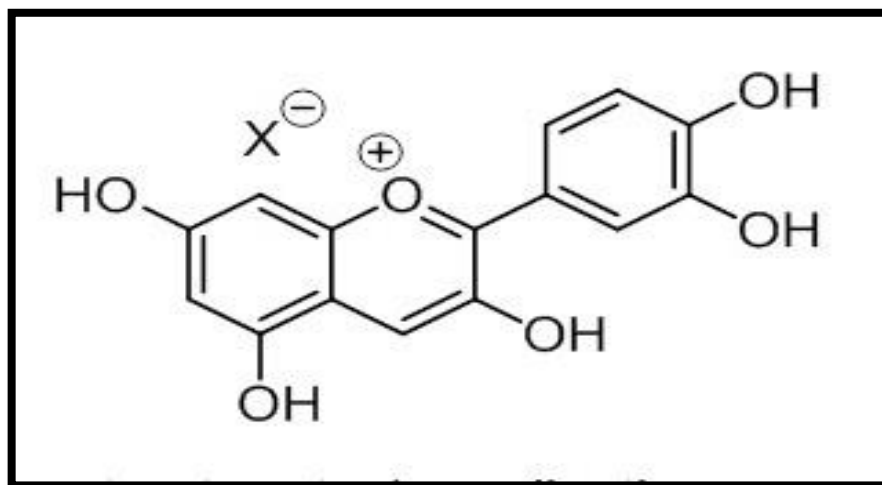


Figure 08. Structure chimique d'anthocyanane (Bruneton,1999)

I.2.4. Les alcaloïdes

Des substances végétales, renferme toujours du carbone de hydrogène et de l'azote (**Figure09**) (**Messai, 2011**), ils sont à la base des poisons végétaux et leur utilisation doit être supervisée par un médecin, les alcaloïdes peuvent avoir un effet positif sur le pouvoir guérisseur des plantes, en général, ils présentent des propriétés vasodilatatrices, antispasmodiques (**Iburg, 2006**).

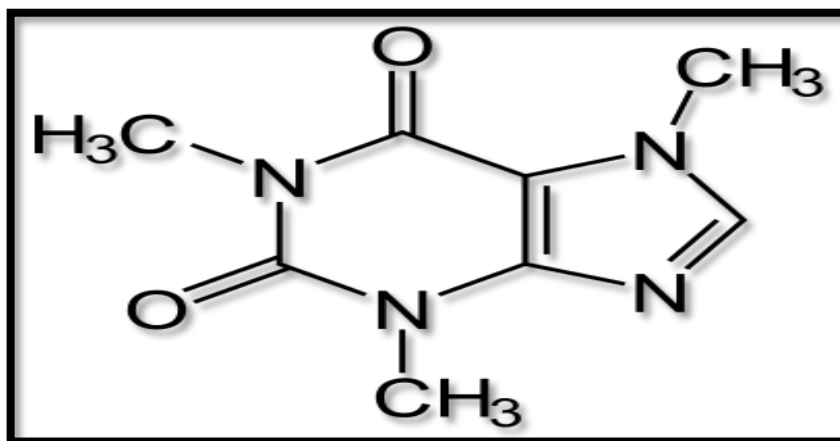


Figure09. Présentation structural d'alcaloïde (**Wang & Massa,2002**)

I.2.5. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires, odorantes, volatiles huileuse, contenues dans les plantes (**Lardry & Haberkorn, 2007**). Le terme <<huile>> vient du fait qu'elle est hydrophobe et qu'elle se soluble dans les graisses, Le mot <<essentiel>> est en rapport avec l'odeur que dégage, ils peuvent localisées dans tous les organes végétaux : les feuilles (*Torilis arvensis*), les racines (*Hercaleum persicum*), les bois (*Satalum album*), les écorces (*cinnamomoum*), les rihzomes (*zingember officinale*), les fruits (*Daucus carot*), les fleurs (*Ferulago*) (**Bouguerra N, 2019**). Les huiles essentielles jouent un rôle très important dans le plante, un effet répulsif contre les herbivores, un effet allélopathique (inhibition de la croissance d'autres organismes) ils sont caractérisés par des activités biologiques prouvées par la communauté scientifique, parmi lesquelles on peut citer l'activité antimicrobienne, antioxydant, anti-inflammatoire (**Khedis et al ., 2020**).

I.2.5.1. Les caractères physico-chimique

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante, volatiles, elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques (**Abbas & Mouches, 2008**). Elles

présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau et un indice de réfraction élevé, les huiles essentielles sont la plupart colorées (**Tableau 02**) : exemple: jaune pâle pour les huiles de sauge sclarée et de romarin officinal, elles sont altérables et sensibles à l'oxydation, par conséquent leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité. De ce fait, l'utilisation de flacons en verre opaque (**Lobstein, 2013**)

Tableau 02. Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles
(**Bensalem, 2015**)

Paramètres physico-chimiques	Caractéristiques
Etat naturel et aspect	Solide ou liquide, cela dépend du nombre de carbone et d'insaturation qu'il contient
Solubilité	Diminue avec la longueur de la chaîne hydrocarbonée et augmente avec l'insaturation pour une température donnée
Point de fusion (point de solidification)	Permet d'apprécier le degré de pureté S'élève avec la longueur de la chaîne hydrocarbonée
Densité	Dépend de la composition chimique, T Augmente avec l'augmentation d'indice d'iode et indice saponification
Viscosité	Dépend de la composition chimique et la Température. Augmente avec l'augmentation du poids moléculaires et diminue avec l'augmentation de la Température
Indice d'iode	Permet de calculer l'insaturation totale de la graisse
Indice de peroxyde	Renseigne sur le degré d'oxydation et le nombre d'AG constituants
Indice d'acide	Permet la neutralisation des corps gras

I.2.5.2. Les compositions chimiques

Les huiles essentielles contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes, appartiennent à deux groupes : terpènes et terpénoïdes (isoprénique, monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes et triterpènes) (**Clarke, 2008 ; Baser & Buchbauer, 2010**). D'une part le groupe de composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part, Elles peuvent également contenir des hydrocarbures (alcools, ester; éthers , aldéhydes, cétones ,phénols et éthers de phénol) (**Bruneton, 2009**).

A. Les terpènes

Les composé de type terpénique sont largement rencontrés dans les HEs, ils sont formés d'un multiple pair ou impair d'unités de 2-méthylbuta-1,3-diène ou appelé encore isoprène (C_5H_8) on distingue ainsi selon le nombre d'entités isoprènes le groupe des monoterpènes ($C_{10}H_{16}$) les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$) et les tétraterpènes de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes et les polyterpène ($C_{40}H_{64}$) (Hernandez-Ochoa, 2005).

a) Monoterpènes

Les monoterpènes sont les molécules les plus représentatives, constituant 90% des HEs et permettent une grande variété de structure, ils sont formés par le couplage de deux unités isopréniques ($C_{10}H_{16}$) (Figure 11). Ces composés peuvent être: mono terpènes acycliques (myrcène, ocimène), monoterpènes monocycliques ou mono terpènes bicyclique (Padua et al., 1999).

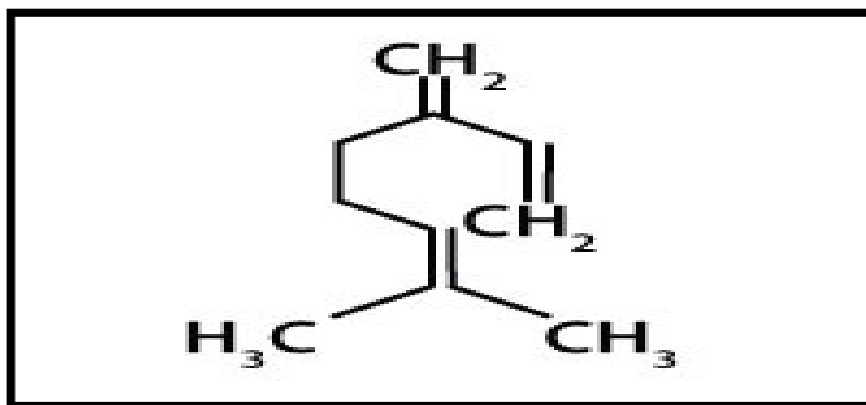


Figure 10. Structure chimique de monoterpène (Boutamani, 2013)

b) Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont formés par l'assemblage de trois unités isopréniques ($C_{15}H_{24}$) (Figure 11) l'extension de la chaîne augmente le nombre de cyclisation qui permet une grande variété de structures : acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques (Chouitah, 2012).

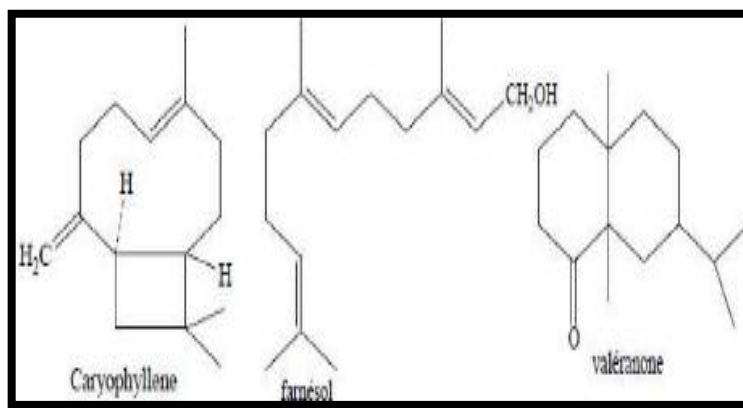


Figure 11. Structures chimiques de quelques Sesquiterpènes (Boutamani, 2013)

B. Composés aromatique dérivés du phénylpropane

Ils sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les composés terpéniques (Figure12), ils comprennent :

- Aldéhydes << cinnamaldehyde >> ex : **huile essentielle de cannelle**
- Alcool : << cinnamic alcohol >>
- Phénols : << chavicol >> ex : **huile essentielle de clou de girofle (eugénol)**
- Dérivés méthoxy : << anéthole >> << élémicine >> << estragole >> , ex : **huile essentielle de fenouil (anéthole)**.
- Composés de méthylène dioxy : << apiolé >> , << myristicine >> , << safrole >> ex : huile essentielle de persil (apiolé) (Chouitah, 2012).

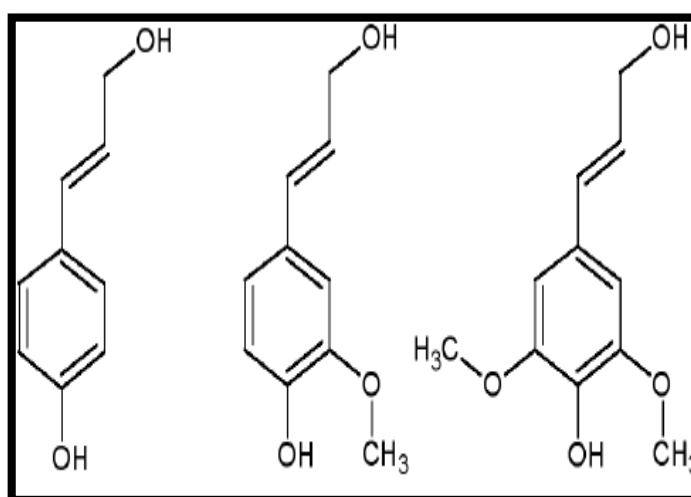


Figure 12. Structure de quelques composés aromatique (Bessas, 2008)

I.2.5.3. Mode d'action

Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs (**Figure 13**), en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidiques de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chimio-osmotique et une fuite d'ions (K^+): ce mécanisme a été observé avec l'huile de *Melaleuca alternifolia* sur les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et Gram négatif (*Escherichia coli*) et levure (*Candida albicans*) in vitro (**Toure, 2015**). Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP (**Kanbloch et al., 1989**). Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN des protéines et des polysaccharides (**Zani et al., 1991**). Le mode d'action des huiles essentielles dépend aussi du type de microorganismes : en général les bactéries Gram à négatif sont plus résistantes que les Gram à positif grâce à la structure de leur membrane externe (**Toure, 2015**).

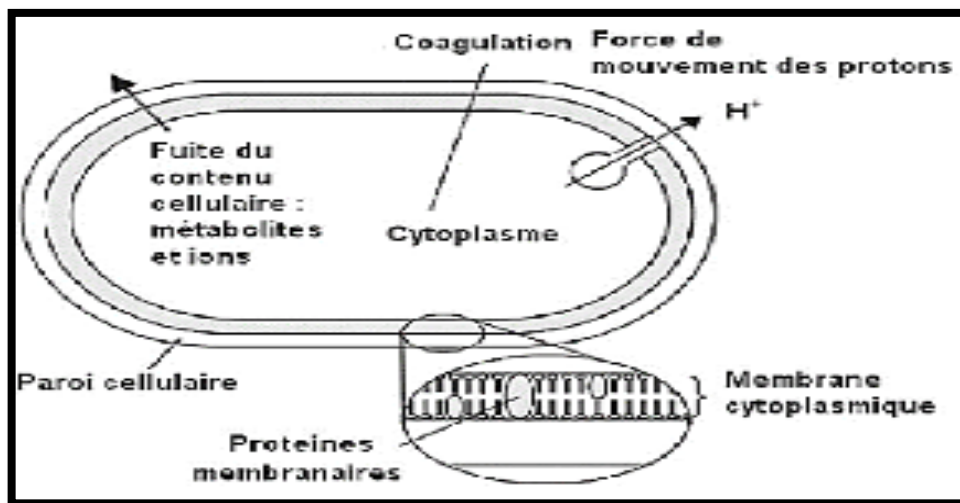


Figure 13. Principales sites d'action des HEs (Bella & El fartas, 2016)

I.2.5.4. Les méthodes d'extraction

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles, les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de nature de matière végétale à traiter, des

caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction (**Abbes, 2014**).

A. L'hydrodistillation

Le principe de l'hydro distillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans le ballon rempli d'eau, que l'on porte ensuite à ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. c'est à dire que la pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du corps pur (**Chatouitah, 2012**). Cette méthode est simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage coûteux. Cependant à cause de l'eau, de l'acidité, de la température du milieu, il peut se produire des réactions d'hydrolyse, de réarrangement, de racémisation d'oxydation, d'isomérisation, etc. qui peuvent très sensiblement conduire à une dénaturation (**Chatouitah, 2012**).

B. Extraction par expression à froid

Il s'agit du procédé d'extraction le plus limité. C'est une méthode artisanale qui est totalement abandonnée. Les plantes sont pressées à froid (notamment les agrumes : citron orange etc.) de l'écorce ou des fruits, cette technique consiste à briser mécaniquement les poches oléifères de zeste frais d'agrumes pour libérer leur contenu aromatique. Le produit obtenu se nomme <<essence>> et non huile essentielle, car aucune modification chimique liée à des solvants ou à la vapeur d'eau n'a lieu (**Lakhder, 2015**).

C. Enfleurage

Celles-ci sont mises en contact avec de la graisse absorbante qui se sature en essences au bout de quelques jours. la graisse enrichie en essences sont également extraites avec de l'alcool. Les produits libérés sont dissous dans le solvant. Ce procédé est plus rapide que les systèmes classiques d'extraction et les huiles obtenues sont de bonne qualité (**Bouguerra, 2019**).

D. Extraction au CO₂

Dans cette technique, un courant de CO₂ à forte pression sur la matière végétale fait éclater les poches à essence et entraîne les huiles que l'on récupère en l'état. L'extraction se fait à la température de liquéfaction du gaz (**Obame Engonga, 2009**).

E. Extraction au solvant

Extrait à l'aide de (pentane, hexane, éther de pétrole), ils sont choisis en fonction de la solubilité des composés que l'on désire obtenir, la matière végétale est soumise à macération pendant quelques heures (**Obame, 2009**).

F. Percolation

Dans cette technique, la vapeur d'eau générée est envoyée de haut en bas dans l'extracteur. Elle présente l'avantage d'être très rapide mais le distillat est chargé de substances non volatiles donnant ainsi des "essences de percolation" (**Bouguerra, 2019**).

G. Extraction par micro-onde

Elle utilise une source de rayonnement micro-onde. Le matériel végétal est immergé dans un solvant perméable aux micro-ondes. Celles-ci provoquent un réchauffement de l'eau contenue dans le matériel végétal et par distension fait éclater les poches à essences. Les produits libérés sont dissous dans le solvant. Ce procédé est plus rapide que les systèmes classiques d'extraction et les huiles obtenues sont de qualité (**Bouguerra, 2019**).

I.2.5.5. Les activités biologiques

A. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des HEs s'exerce sur un large spectre de bactéries, la structure de paroi de bactérie à gram positive est plus sensible à l'action des HEs parce que, la structure de la paroi cellulaire des bactéries à gram négatives contient une membrane plasmique externe hydrophile empêche la pénétration des molécules hydrophobes composant la majorité des HEs, cette caractéristique confère aux bactéries négatives une résistance à l'huile et même aux antibiotiques (**Bouزيد, 2018**). Les phénols, dont le thymol et l'eugénol sont responsables de l'activité bactéricide. Les alcools sont responsables de l'activité bactériostatique (**Lakhder, 2015**).

B. Activité antifongique

L'activité antifongique est estimée à la grande complexité de la composition des HEs, les phénols sont plus antifongiques que les aldéhydes et elle décroît selon le type de la fonction chimique (**Bouguerra, 2019**). Les composés phénoliques des HEs modifient la perméabilité

cellulaire fongique en interagissant avec les protéines de la membrane. Cela provoque la déformation de la structure cellulaire, et perturbe la fonctionnalité aboutissant alors à la perte des macromolécules conduisant à inhibition de la croissance fongique, chez les levures, l'HE établit un potentiel membranaire en perturbant la production d'ATP, ce qui conduit à la lyse cellulaire (Bouزيد, 2018).

C. Activité antioxydant

Les huiles essentielles possédaient une capacité antioxydant en convertissant les radicaux libres en produits stables et en inhibant l'activité dégénérative de certains enzymes de la peau, l'activité antioxydant des huiles essentielles dépend de la disposition des groupes fonctionnels autour de la structure nucléaire, la configuration, la substitution et le nombre totale des groupes hydroxyles qui influencent les différents effets antioxydants des radicaux et la chélation des métaux (Bouزيد, 2018).

D. Activité anticancéreuse

Les activités anticancéreuse des HEs ont été établit sur différentes cellules tumorales, ainsi il a été démontré que l'huile essentielle de *Myria gale* exerce un effet inhibiteur sur la croissance des cellules cancéreuses des poumons et du colon, dans la même optique l'huile essentielle de *Cymbopogon flexuosus* induisent l'apoptose des cellules cancéreuses du sang, en effet il a été démontré que les HEs de l'origan ; de différentes variétés présentent une forte cytotoxicité sur des cellules humaines cancéreuses (Chenikhar H, 2019). L'HE de *Pistacia leutiscus* est inhibé la prolifération des cellules cancéreuses mousles et ces collaborateurs ont montré que le cancer pulmonaires de leuis exposé à l'HE, extraite de la gamme de *P leutiscus* ont provoqué une altération en fonction du temps de l'expression de gènes 925 (Labeled, 2015)

E. Activité antimutagène

Les plantes médicinales sont présentées une activité antimutagène comme *Pistacia leutiscus* contre l'aflatosine B1 (AFB1) avec diminution du nombre de révertants de la *Salmonella thyphymurium* par plaque de manière significatif (Labeled, 2015).

F. Activité antiulcéreuse

L'ulcération de la paroi gastrique apparait comme le résultat d'une interaction d'une composante génétique et de facteurs environnementaux comme l'alimentation, l'alcool, le café

stimulant la sécrétion gastrique , les plats épices: mais aussi le tabac, les médicament anti-inflammatoire ,depuis quelques années une bactérie est mise en cause dans l'ulcère (*Helicobacter pylori*), la cannelle agit à la fois comme producteur de la muqueuse et comme antibactérien sur (*Helicobacter pylori*) **(Fabienne, 2004)**.



**Partie
expérimentale**

II. MATERIEL ET METHODES

1. Cadre et objectifs de l'étude

1.1. Cadre de l'étude

Notre étude s'est déroulée en une période de trois mois (février, Mars et avril 2021), au niveau du laboratoire microbiologique de l'université (LarbiTébessi), Faculté des sciences exactes de la nature et de la vie.

1.2. Objectifs de l'étude

- ❖ Déterminer le rendement d'extraction par hydrodistillation de trois plantes médicinales.
- ❖ Etude de l'activité antibactérienne de trois huiles essentielles sur des souches bactériennes par diffusion sur milieu solide (**Aromatogramme**).
- ❖ Etude de l'activité antibactérienne de trois huiles essentielles sur des souches bactériennes par méthode (**Atmospherogramme**).
- ❖ Détermination de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide des trois huiles essentielles vis-à-vis des bactéries testées.

2. Matériel

2.1. Matériel végétale

Les plantes médicinales objet de notre étude ont été achetées à partir d'un herboriste de la région de Tébessa sous forme séchées. Il s'agit de trois plantes commercialisées : *Cinnamomum zeylanicum* (cannelle), *Syzgium aromaticum* (Girofle), *Origanum vulgare L* (Zaatar)

2.1.1. Présentation des trois plantes médicinales

a. ***Cinnamomum zeylanicum***: *Cinnamomum Zeylanicum* (Arbre à cannelle) aussi appelé cannelier domestique (Clémence, 2014) (Tableau 03).

Tableau 03. Classification botanique de *Cinnamomum zeylanicum* (Clémence, 2014)

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Magnoliidae</i>
Ordre	<i>Lauraceae</i>
Famille	<i>Lauraceae</i>
Genre	<i>Cinnamomum</i>
Espèce	<i>cinnamomum</i>



Figure14. Forme séché de de *Cinnamomum zeylanicum* (cannelle)

b. *Syzygium aromaticum*

Le clou de girofle provient d'une plante appelée giroflier (*Syzygium aromaticum*), qui est un arbre tropical appartenant à la grande famille des Myrtacées, chaque bouton floral de cette plante est un clou de girofle (**Banouh,2019**)(Tableau04)

Tableu04.Classification de clou de girofle.(**Banouh &Azzouz,2019**)

Règne	<i>Plantae</i>
Classe	<i>Angiosperme</i>
Sous-classe	<i>Tiporées</i>
Ordre	<i>Myrtales</i>
Famille	<i>Myrtaceae</i>
Genre	<i>Syzygium</i>
Espèce	<i>Syzygiumaromaticum</i>



Figure15. Forme séché de *Syzygiumaromaticum* (Girofle)

C. *Origanum vulgare*. L

L'*Origanum vulgare*. L (ZAATAR), est une herbacée vivante de la classe des dicotylédones qui mesure de 30 à 80cm de haut ,au feuillage et aux fleurs odorantes quand on les froissent, Elle est ainsi reconnaissable à son odeur et à sa saveur phénolé épicée et chaude(Mahfouf,2018)(Tableau05).

Tableau05. Classification du l'espèce *Origanum vulgare*. L (Mahfouf,2018)

Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Sous-classe	<i>Gamopétales</i>
super ordre	<i>Tubiflorales</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Sous-famille	<i>Népétoïdées</i>
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Origanumvulgare</i> . L



Figure 16. Forme séché d'*Origanumvulgare*. L(Zaatar).

2.2. Souches bactériennes

Pour évaluer l'activité antibactérienne des trois huiles essentielles extraites de trois plantes :*Origanumvulgare* L,*Cinnamomumzeylanicum* et *Syzgiumaromaticum*des souches bactériennes ont été utilisées.

Trois souches bactériennes de référence : (American Type Culture Collection) *E.coli*ATCC25922,*Pseudomonas aeruginosa* 27853 ; *Staphylococcus aureus*ATCC29213.

*Trois souches bactériennes d'origine clinique :*Escherichia coli*, *pseudomonasaerogenosa* et *Staphylococcus aureus*.

2.3. Milieux de culture solide et liquide

- ✓ **Milieu Hektoen:** Milieu sélectif pour entérobactéries.
- ✓ **Milieu Chapman :** Milieu sélectif pour *Staphylococcus* sp.
- ✓ **Milieu Muller Hinton :** Milieu pour étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.
- ✓ **Bouillon nutritif :** Milieu liquide sans agent de solidification

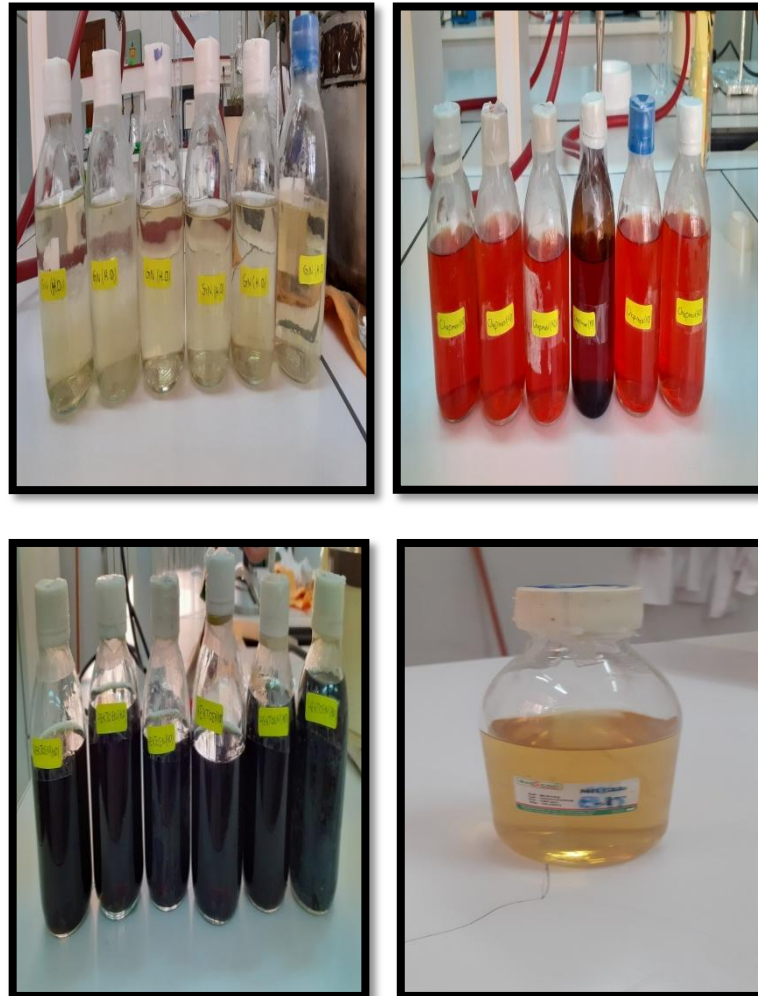


Figure17. Les milieux de culture (liquide et solide) utilisés
(photo personnelle,2021)

2.4.Appareillage

- ✓ **Hydrodistillateur(Clevenger):** appareil utilisée pour l'extraction des huiles essentielles des plantes
- ✓ **Etuve Bactériologique :** incubation des bactéries.
- ✓ **Réfrigérateur :** pour conserve les huiles essentielles.

- ✓ **Spectrophotomètre** :pour déterminer la densité optique bactérienne.
- ✓ **Balance** : pour la mesure des poids.
- ✓ **Agitateur magnétique** :utilise dans le cas de préparation des milieux de culture
- ✓ **Autoclave** :pour autoclave les milieux de culture, leseaux, les tubes de conservation.
- ✓ **Stérilisateur (four pasteur)**: pour stériliser les matériaux (en métallique ou en verre) généralement demi- heure à 120°.

2.5. Verrerie et petit consommable

- Ecouillons bactériologique
- Pipettes pasteurs
- Boites de pétris plastique
- Papier wattman
- Microplaques en plastiques



Figure 18. Microplaque pour évaluation de la CMI(photos personnelle,2021)

3. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par d'hydrodistillation au moyen d'un dispositif d'extraction type *Clevanger*. L'hydrodistillation du matériel végétal séchées et pulvérisées a été menée **2 heures** à partir du début d'ébullition selon le protocole opératoire suivant, une masse végétale (**50g**) a été introduite dans un ballon en verre de (**1000ml**),puis on ajouter une quantité suffisante d'eau distillée (**500ml**) sans pour autant remplir le ballon.



Figure 19. hydrodistilateur type Clevenger(photo personnelle,2021)

Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans tube rempli auparavant d'eau distillée. L'HE de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière. Le distillat (huile + eau) recueilli est transvasé dans une ampoule à décanter. La phase organique contenant l'HE ainsi obtenue est récupérée et conservée dans des flacons opaques bien scellés à température basse ($4 - 5^{\circ}\text{C}$)



Figure21. Récupération des huiles essentielles(photo personnelle,2021)



Figure 20. Conservation des huiles essentielles

3.1. Détermination du rendement en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport de la masse de l'huile essentielles et la masse du matériel végétal utilisé pendant l'extraction. il est calculé selon la formule suivante (**Bertella, 2019**).

$$\text{RHE} = (\text{MHE}) / (\text{MPS}) \times 100$$

- a) **RHE:** Rendement en Huile Essentielle (%)
- ❖ **MHE:** Masse de l'Huile Essentielle obtenue (g).
- ❖ **MPS:** Masse de la Plante Sèche traitée (g).

4. Etude de l'activité antibactérienne

4.1. Préparation de la culture bactérienne fraîche

L'étude de l'activité antibactérienne doit être réalisée sur des cultures jeunes de (18 à 24 heures). La réactivation des souches est effectuée par ensemencement de la souche bactérienne sur un milieu solide. Les bactéries utilisées ont été cultivées sur des milieux sélectifs Hektoen et Chapman pour les souches ensemencées sont incubées à 37°C pendant 18 heures.

4.2. Aromatogramme "méthode de diffusion par disque"

L'Aromatogramme est une méthode qui se réalise in vitro, basée sur une technique utilisée en bactériologie médical, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques (Abesset *al.*,2019). La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés de différentes substances à tester, puis déposée la surface d'une gélose uniformément ensemencées avec une suspension de la souche bactériennes à étudier.après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible à la substance testée, plus il est petit plus la souche est résistante. Cependant, on peut exprimer cette activité soit en indiquant directement le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre, soit en traduisant croix le degré d'activité (Abesset *al.*,2019).

❖ Protocole expérimentale

L'activité antibactérienne a été étudiée par la technique de diffusion par disque, 1ml d'un suspension (ajustée a une densité bactérienne de $1.5 \text{ Mac farlnd}(1.10^8 \text{ UFC})$)a été étalé sur une boîte de pétri contenant la gélose Mueller-Hinton par écouvionnage, puis un disque de papier filtre de type watman (6 mm de diamètre) a été déposé aseptiquement au centre de la boîte, sur lequel $10\mu\text{l}$ d'huile essentielle ont été ajoutés. Les boîtes ont été laissées pendant 15 min à température ambiante (trois huiles dans une boîte pour chaque souche selon les huiles étudiées),puis incubées à 37°C pendant 24h. Les zones d'inhibition ont été mesurées en millimètre au l'utilisation de pied à coulisse.

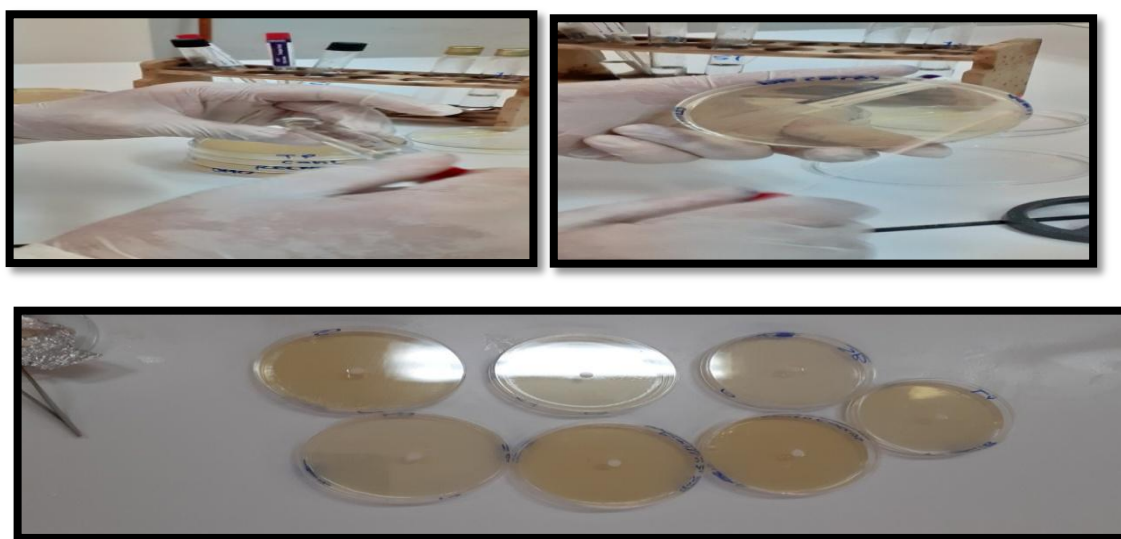


Figure22. Test aromato-gramme(photo personnelle,2021)

4.3. Atmosphèrogramme

Technique consiste à adapter un disque de papier filtre imprégné d'HE au centre du couvercle d'une boîte de pétri, sans que l'HE entre en contact avec la gélose ensemencée par les microorganismes. La boîte est hermétiquement fermée. Il se produit une évaporation des substances volatiles dans l'enceinte de la boîte et les cellules sensibles de l'inoculum (Farhat, 2009).

Cette méthode ne quantifie pas l'activité antimicrobienne réelle des HEs, elle montre seulement l'activité des constituants volatiles à la température d'incubation. On considère que l'espace occupé par l'air est très petite (le disque occupé par l'air est très petite (le disque imprégné d'HE est près d'environ 5 mm de la surface de l'agar) (Farhat, 2009).



Figure 23. Méthode micro-atmosphère (photo personnelle, 2021)

❖ Le protocole expérimentale

La diffusion des composés volatils actifs de l'huile essentielle a été évaluée par la méthode de micro-atmosphère décrite. Après étalement de **100 μ l** de suspension bactérienne (**1.5 Mac faralnd (1. 10⁸ UFC)**) sur boîte de gélose Mueller-Hinton, un disque de papier filtre stérilisé de 6 mm a été déposé au centre du couvercle de boîte puis **20 μ l** de l'huile essentielle ont été placés sur ce disque. Les boîtes ont été ensuite scellées à l'aide du para-film et incubées à **37°C** pendant **24 h**. après incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés par le Pied à coulisse.



Figure 24. Préparation et l'incubation des boîtes de test micro-atmosphère

4.4. Expression des résultats

La lecture des résultats se fait par la mesure de la zone de diamètre qui est représentée par une auréole formée autour de disque ou aucune croissance n'est observée.

La sensibilité à l'huile a été classée par le diamètre des zones d'inhibition:

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm
- Sensible (+) : diamètre compris entre 6 à 14 mm
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm
- Extrêmement (+++) : diamètre > 20 mm (Abesset *al.*, 2019)

4.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en microplaque

Définie comme étant la plus faible concentration de l'extrait capable d'inhiber toute croissance visible à l'œil nu du germe. Elle mesure donc, un effet bactériostatique et ne renseigne pas sur l'état de la population bactérienne, ne permettant notamment pas de préciser si elle a été tuée en partie ou totalement ou si elle a seulement cessé de se multiplier. La turbidité de chaque puits est appréciée à la lumière du jour (Beddou, 2015).

4.6. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

Correspond à la plus faible concentration en extrait capable de tuer plus de l'inoculum bactérien initial (soit moins de 0.01% de survivants). Elle définit l'effet bactéricide d'un échantillon donné. Des prélèvements sont effectués dans le puits témoin et dans chacun des puits

dépourvus de culot bactérien puis déposés en spots sur gélose Muller- Hinton .les boites ensemencées sont ensuite incubées à **37°C** pendant **24 h** (Beddou,2015).

❖ **Protocole opératoire**

Les huiles essentielles étudiés sont dissouts dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) à une concentration de 20mg /200µl puis dilués avec 100 ml de bouillon nutritif. La concentration finale en DMSO est 10%. 200 µl de la solution préparée sont transférés dans une microplaque à 96 puits et une gamme de concentration de chaque huiles est effectuée par des dilutions au demi dans les milieux de culture.

A partir d'une culture microbienne de 24 h d'incubation une pré-culture pour atteindre la phase exponentielle de croissance microbienne est préparée. Une fois sa densité optique obtenue **0.08 à 0.1** cette pré- culture est utilisée pour préparer un inoculum de **0.5 Mac Ferland** ($1.10^8 UFC$). 100µl de cet inoculum sont homogénéisés dans chaque puits de la gamme de concentration préalablement préparée puis incubée à 37 pendant 24h. Deux puits représentent les témoins négatifs : le milieu de culture et inoculum et (DMSO+ les huiles).



Résultat

III.1. Isolement et purification des différentes souches bactériennes :

L'isolement des souches bactériennes choisies pour être testés sur différents milieux spécifiques à partir des tubes de conservation a permis l'obtention des souches fraîches et de s'assurer de leur puretés après une phase de conservation longue(**figure29**).

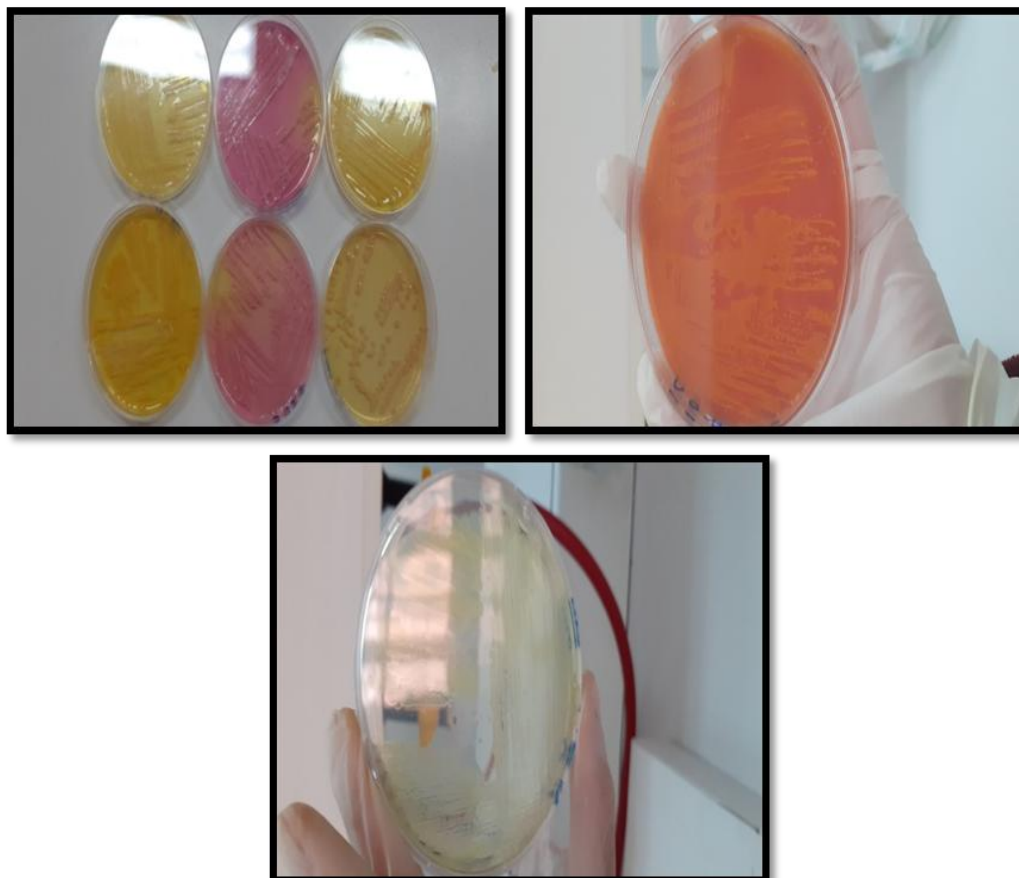


Figure 29. Différentes culture fraîches des isolats bactériens et fongique
(Photos personnel, 2021).

III.2. Rendement de l'extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles à partir de trois plantes avec hydrodistillateur de type *Clevenger* a permis de récupérer nos huiles essentielles avec des rendements et des caractéristiques organoleptiques divers (**Tableau07**).

Tableau 07. Rendement et caractéristiques organoleptiques des trois HES de *Cinnamomum zeylanicum*, *Origanum vulgare* L et *Syzygium aromaticum*.

Huile essentielle	Caractéristiques organoleptique			Rendement (%)
	Aspect	Couleur	Odeur	
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Liquide	Jaune foncé	forte	3.86
<i>Syzygium aromaticum</i>	Liquide	Blanc	forte	2
<i>Origanum vulgare</i>	Liquide	Orangé	forte	1.4

Le calcul du rendement de chaque extraction spécifique à chaque HE a permis de signaler un important rendement avec la plante *Cinnamomum zeylanicum* (3.8 %) par rapport à celui de *Syzygium aromaticum* (2 %) et *Origanum vulgare* (1.4 %).

III.3. Activité antibactérienne des trois huiles essentielles sur les différentes souches bactériennes "Aromatogramme"

L'application des trois huiles essentielles sur les différents isolats (Aromatogramme) a permis d'enregistrer les résultats suivants (Tableau 08) (Figure 30).

Tableau 08. Activité antibactérienne des HES extraites à partir de *Cinnamomum zeylanicum*, *Syzygium aromaticum* et *Origanum vulgare* L sur les différentes souches bactériennes (Aromatogramme)

Souches bactériennes	Diamètres (mm)		
	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	<i>Origanum vulgare</i>	<i>Syzygium aromaticum</i>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	32	30	14
<i>Pseudomonasaeruginosa</i> ATCC 27853	22	8	8
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	30	33	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24	7	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	36	27	14
<i>Escherichia coli</i>	32	26	12

- ❖ **Validation du test Aromatogramme :** Après la lecture du témoin positif et négatif on a enregistré une absence de zones d'inhibition avec les disques contenant uniquement le DMSO et avec le disque sec (Témoin -). D'un autre coté un diamètre (20_3mm) de Ciprofloxacin (Témoin +) ce qui a permis de valider notre test et faire la lecture (figure 32)

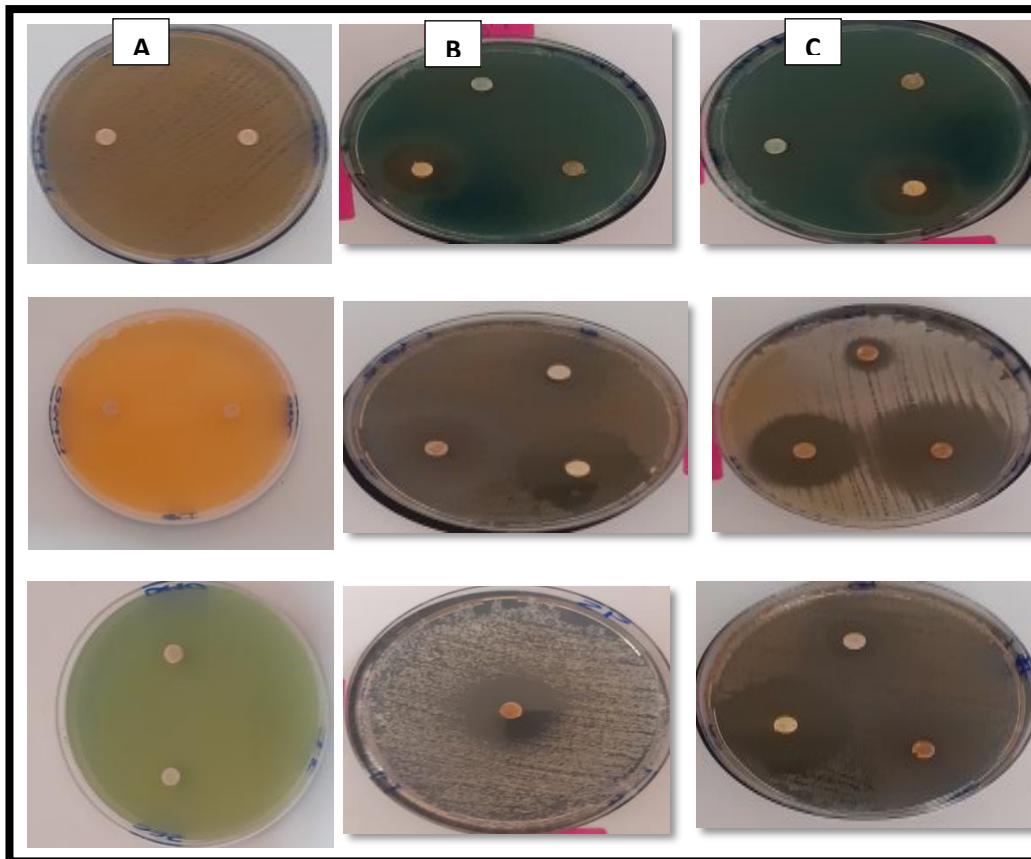


Figure 30. Zones d'inhibition de la croissance bactérienne (Aromatogramme)

L'activité inhibitrice de la croissance bactérienne évaluée avec des diamètres d'inhibition montre clairement que *Cinnamomum Zeylanicum* (cannelle) possède la meilleure activité par rapport aux deux autres huiles essentielles testées avec des diamètres allant de (22 à 47 mm). De son côté l'*Origanum vulgare* L a montré une activité remarquable avec diamètres enregistrés de (7mm à 33mm). En dernier lieu *Syzygium aromaticum* a enregistré une activité modérées et moins importante que celle enregistrée avec les deux autres avec des diamètres allant de (7 à 22 mm).

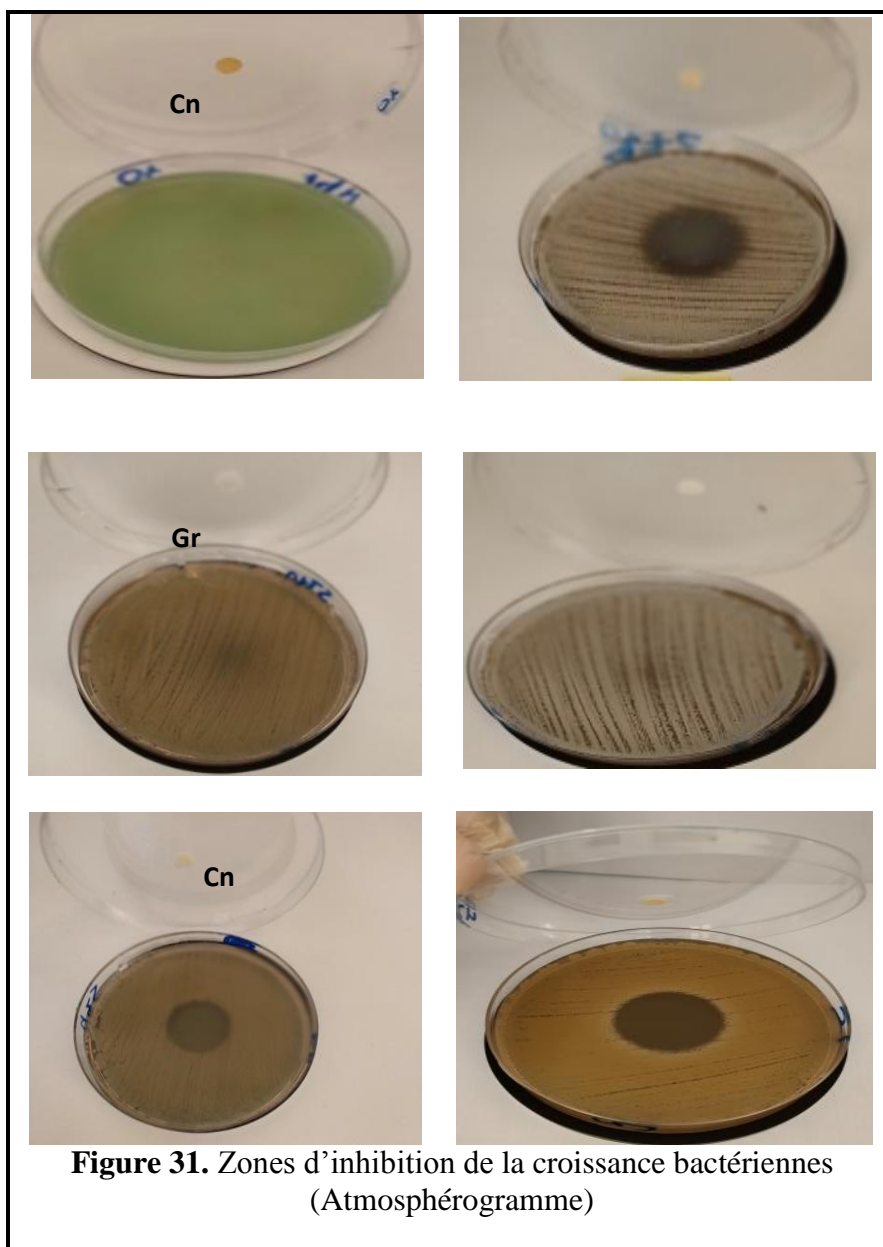
III.2. Activité antibactérienne des trois huiles essentielles sur les différentes souches bactériennes "Atmosphérogramme"

L'application des différents Huiles essentielles sur les différents isolats selon la méthode Atmosphérogramme a permis d'enregistrer les résultats suivants (**Tableau 09**) (**Figure 31**).

Le résultat de l'Atmosphérogramme montre clairement que l'activité inhibitrice de la croissance de *Cinnamomum Zeylanicum* (cannelle) persiste toujours vis à vis de toutes les espèces testés. De son côté l'*Origanum vulgare* possède une activité sur toute les souches bactériennes à l'exception de *Pseudomonas aérorogenosa*. En dernier lieu *Syngium aromaticum* a perdu l'activité inhibitrice de la croissance vis à vis de toute les souches testés à l'exception d'*Escherichia coli* ATCC 25956.

Tableau09. Atmosphérogramme des trois huiles essentielles extraites à partir de *Cinnamomum zeylanicum*, *Syngium aromaticum* et *Origanum vulgare*. L sur les différentes souches bactériennes (Atmosphérogramme).

Souches bactériennes	Diamètres (mm)		
	<i>Cinnamomum Zeylanicum</i>	<i>Origanum vulgare</i>	<i>Syngium aromaticum</i>
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	31	29	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	11	00	00
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC29213	27	35	00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15	00	00
<i>Staphylococcus aureus</i>	36	29	00
<i>Escherichia coli</i>	24	27	00



III.4. Concentration minimale inhibitrice et concentration minimale bactéricide

La détermination de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide des trois huiles essentielles sur les différents isolats a permis d'enregistrer les résultats suivants (**Tableau 10**) (**Figure 32**).

Tableau 10. Résultats obtenues par le test CMB/CMI de trois souches bactériennes de références ATCC

Souches bactériennes	Concentration minimale inhibitrice (CMI) v/v et bactéricide (CMB) v/v		
	<i>Cinnamomum Zeylanicum</i>	<i>Origanum vulgare</i>	<i>Syzygium aromaticum</i>
<i>Esherichia coli</i> ATCC25922	CMI $\geq 1/32$ CMB $\geq 1/32$	CMI $\geq 1/32$ CMB $\geq 1/32$	CMI=1/16 CMB=1/8
<i>Pseudomonasaeruginosa</i> ATCC 27853	CMI $\geq 1/32$ CMB=1/16	CMI $\leq 1/2$ CMB $\leq 1/2$	CMI $\leq 1/2$ CMB $\leq 1/2$
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC29213	CMI $\geq 1/32$ CMB $\geq 1/32$	CMI $\geq 1/32$ CMB=1 /32	CMI=1/16 CMB=1/8

La mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI), montre qu'elle est plus faible pour les deux huiles *Cinnamomum Zeylanicum* (cannelle) et *Origanum vulgare* L (CMI $\geq 1/32$) que celle de *Syzygium aromaticum* qui est de (CMI=1/16) vis à vis des deux souches bactériennes *Esherichia coli* ATCC25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 27853.

La CMI mesurée des différents huiles essentielles vis à vis de *Pseudomonas aerogenosa* a été faible avec *Cinnamomum Zeylanicum* (cannelle) (CMI $\geq 1/32$). Par contre on a noté une résistance de *Pseudomonas aerogenosa* à toutes les concentrations (V/V) utilisés dans cette série de dilution (CMI $\leq 1/2$).

La mesure de la concentration minimale bactéricide est faible avec les deux huiles essentielles *Cinnamomum Zeylanicum* (cannelle) et *Origanum vulgare* vis à vis d'*Esherichia coli* ATCC 25956 et *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (CMB $\geq 1/32$).

La CMB est plus forte observée avec les trois huiles vis à vis de *Pseudomonas aerogenosa* (CMB $\leq 1/2$) et (CMB = 1/16). Le *Syzygium aromaticum* (CMB = 1/8) enregistré avec *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 et *Esherichia coli* ATCC 25922.

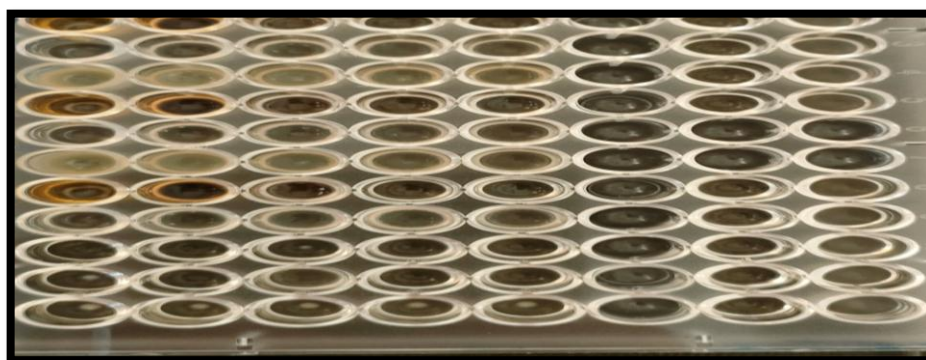


Figure32. Résultat de la détermination de la CMI

A decorative scroll-like frame with a black outline and a white fill. The frame has a vertical strip on the left side that looks like a scroll edge, and the top and bottom edges are slightly curved. The word "Discussion" is centered within the frame in a bold, black, serif font.

Discussion

I V.1. Rendement des huiles essentielles

Nous rappelons que les rendements des huiles essentielles de *Cinnamomun zeylanicum*(cannelle) et *Syzgium aromaticum*(Girofle) et l'huile essentielle de *Organum vulagar* L.(Origan)., sont des rendements généralement acceptés, mais il y a déférence entre les quantités des huiles obtenu pour chaque plante de chaque espèce, il est toute à fait normale, puisqu'il de depend des plusieurs facteurs à savoir l'espèce(la géographie, la périodede récolte, les pratique culturale et la technique d'extraction (**Chemloul,2014**).

La séparation des huiles essentielles de *Cinnamomun zeylanicum* et *syzgium aromaticum* ,après sa distillation, est très difficile à cause de la miscible des ces huiles avec l'eau, nous avons remarqué durant l'étape de récupération des huiles essentielles à partir de l'hydrolysat, ces derniers contient toujours des gouttelettes d'eau, mais avec le temps nous utilisons autre méthode pour extrait le maximum des huiles essentielles, mais l'huile de *Organum vulagar* L,il est séparé facilement sans se mélanger à l'eau.

I V.2. Activités antibactérienne

La méthode de diffusion de disque sur milieu solide nous a permis de mettre en évidence la pouvoir antibactérienne et antifongique des huiles essentielles d de *Cinnamomun zeylanicum* et *syzgium aromaticum* et de *Organum vulagar* L,vis-à-vis les souches bactérienne et fongique testées, selon la classification de (Abess&Mouche,2019)toute les souches sont sensible à les trois huiles essentielles étudiés, sauf *P.aeuroginosa* pars qu'elle résistée à l'activité antibactérienne des huiles désinentielles de *Cinnamomun zeylanicum* et *syzgium aromaticum*, et de *syzgium aromaticum*.

L'huile essentielle de *syzgium aromaticum*, n'a pas montre une activité antibactérienne intéressante, cette faible efficacité est due probablement aux pertes des composées volatils durant le stockage et/ou l'extraction et pourrait être aussi due au fait qu'au cours de la période d'incubation, quelques composants volatils de huiles essentielles peuvent s'évaporer des milieux de cultures ce qui diminuerait sa concertation et par la suite son activités antibactérienne(**Lagurnez,2006**).

L'activité des composés volatils de *Cinnamomun zeylanicum* et de *Organum vulagar* L, sur le *E. coli* et *Staphylococcus aeurus* elle été une activité importante mais avec le *Pseudomonas aeruginosa* est moins importante, que celle exercée en contacte directe avec les souches

testées, l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* est moins importante avec *E.coli*, *S.aerues*, *C.albicans*, et l'absence d'activité avec *P.aeruginosa*.

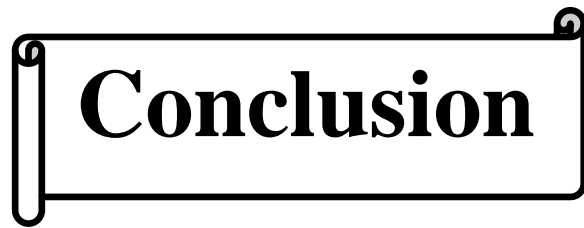
La différence entre l'activité antibactérienne par la technique de diffusion sur disque et la technique micro atmosphère est : la première est une méthode directe qui dépend de la diffusibilité et de la solubilité de l'huile essentielle, contrairement à la méthode de micro atmosphère qui dépend de la volatilité des composés de l'huile essentielle (Bertella, 2019), il a été déjà prouvé que l'activité antibactérienne et antifongique des composés volatils de l'action de la vapeur directe sur les microorganismes, et l'effet indirecte à travers le milieu que absorbe la vapeur de même cette action est beaucoup plus efficace quand les microorganismes sont exposés à une forte concentration pendant une courte période de temps.

La concentration minimale inhibitrice et bactéricide CMI et CMB des huiles essentielles est plus faible avec *E.coli* et *Staphylococcus aureus* ($\leq 0.25 \text{ mg/ml}$), mais le *Pseudomonas aeruginosa* a été une forte concentration ($\geq 4 \text{ mg/ml}$). En revanche nos huiles essentielles possèdent des effets bactéricides vu son rapport de CMI/CMB < 4 .

Le pouvoir antibactérien des huiles essentielles peut être attribué à leurs composants majoritaires tels que les alcools terpéniques qui sont solubles dans les cellules microbiennes et ils sont connus par leurs effets bactéricides beaucoup plus que bactériostatiques (Bertella, 2019).

Nous constatons que la bactérie *Staphylococcus aureus* est la bactérie la plus sensible à ces trois huiles essentielles étudiées, avec des zones d'inhibition 30 mm avec l'huile de *Cinnamomum zeylanicum* et 33 mm avec l'huile de *Organum vulgare*, 14 mm avec l'huile de *Syzygium aromaticum*, ceci pourrait être expliqué par le fait que les bactéries à Gram (+) possèdent des dispositifs structuraux qui sont plus susceptibles aux huiles essentielles, dans la présente étude la bactérie à Gram (-), (*P.aeruginosa*), se révèle la plus résistante, elle montre des zones d'inhibition 22 mm avec l'huile essentielle *Cinnamomum zeylanicum* et 7 mm avec l'huile de *Organum vulgare*, 7 mm avec l'huile de *Syzygium aromaticum*, la souche de levure testée (*Candida albicans*) a été sensible à ces trois huiles essentielles avec des zones d'inhibition 47 mm avec l'huile essentielle *Cinnamomum zeylanicum* et 33 mm avec l'huile de *Organum vulgare*, 22 mm avec l'huile de *Syzygium aromaticum*, les entérobactéries aussi sensibles à ces huiles avec des zones d'inhibition dérivées entre 12 à 32 mm.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles serait liée aux conditions de manipulation (la méthode d'extraction et le stockage ... etc), et aussi liée principalement à la composition chimique de l'huile essentielle et la souche bactérienne testée (Djoubani et al., 2017).

A decorative scroll-like frame with a black outline and a white fill. The frame has a vertical bar on the left side and a small circular flourish at the top right corner. The word "Conclusion" is written in a bold, black, serif font inside the frame.

Conclusion

Conclusion

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a eu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie, ce regain d'intérêt vient d'une part, du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances de composés naturels bioactifs et d'autre part, du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Notre travail porte sur trois espèces commercialisées *O. vulgare L*, *C.zeylanicum* et *S. aromaticum* de trois familles connues Lamiacées, Lauracées, Myrtacées.

L'extraction de ces trois HEs a été faite par la méthode hydrodistillation de type *Clevenger*, la calcul du rendement donne 1,4% pour *O.vulgare L*, 3.86 % pour *C.zeylanicum* et 2% pour

Selon le test aromatochrome (diffusion par disque) dans un milieu solide, les trois HEs ont une activité antibactérienne forte sur les souches testées, sauf la souche de *Pseudomonas aeruginosa* qui est résistante vis-à-vis des deux huiles de *O. vulgare L*, *S. aromaticum*. Le résultat était 7mm par contre avec le *C.zeylanicum* le résultat était moyen environ 24 mm dans ce cas *P aeruginosa* était sensible à cette huile.

Parmi les trois HEs l'huile de *S. aromaticum* n'a pas réussi par rapport aux autres huiles de sur les bactéries testées, les résultats de cette huile étaient environ entre (14 mm et 7mm) et l'effet antimicrobien de l'huile *O,vulgare L* a moins d'activité que *C.zeylanicum*, ce dernier a marqué la plus forte activité antimicrobienne, les souches avec la cannelle deviennent très sensibles lorsque les résultats atteignent jusqu'à 47mm le maximum.

Par le test de micro atmosphère les résultats positifs montrent la présence des molécules volatiles dans les HEs et confirment le pouvoir de vapeur qui est capable de tuer (effet bactéricide) ou d'inhiber la croissance bactérienne (effet bio statique) à distance (disposition de disque dans le couvercle), le dernier test de CMI et CMB montre l'effet des trois huiles essentielles qui est un effet bactéricide vis à vis des trois souches testées (les souches de références).



**Les références
bibliographique**



A

Abbas, M & Mouche , R (2018). Etude chimique des huiles essentielles de *Cuminum yuminum* et *Cinnamomum zeylaleum*, test de synergisme antibactérien contre des microorganismes liés à l'alimentation. (Mémoire de master. Université de Blida1) 50pages.

Abbes, A (2014). Evaluation de l'activité antioxydant des huiles essentielles d'*Ammoides Verticilata* de la région de Tlemcen. (Thèse de doctorat. Université de Tlemcen).65pages.

Amari, S (2016). Etude phytochimique et évaluation d'action antibactérienne et antioxydant de deux extraits plantes de zingibre officinale . (Mémoire présentée pour obtention du diplôme de master . Université de boubaker belkaid-tlemcen).45pages.

B

Banouh, R & Azzouz ,A (2019), Evaluation de l'activité antibactérienne, antifongique et activité antioxydant de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*). (Mémoire de master, Biochimie appliquée . Université Akli Mohand Oulhadj-Bouira). p8-11.65pages.

Baser, K. H. C & Buchbauer, G (2010). Handbook of essential oils: science, technology ,and applications .Taylor and Francis Group, LLC,USA.994pages.

Beeddou, F (2015). Etude photochimique et activités biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vasicarius* L.et *Anuillea Radiata* .(Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en biologie cellulaire et biochimique. Université Aboubeker belkaid-telmcen).143pages.

Bessas , A (2008). Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien.(Mémoire de magister. Université Djillali Liabes-sidi belabbes).Mémoire online. <https://www.memoireonline.com>

Bella, I & Elfartas, K (2016). Investigation des propriétés antimicrobienne(in vitro),anti-inflammatoire et antispasmodique (in vivo)de l'essence de romarin(*rosmarinus officinalis* L.)de la région de bouira ,Mémoire de master, Université de Saad Dahleb.p25.Mémoire onligne. <https://www.memoireonline.com>

(consulté le 23mai 2021).

Bensalem, G (2015). L'huile de lentisque (*Pistacia Lentiscus* L) dans l'est algérien caractéristiques physico-chimique et composition en acide gras.(Mémoire de master. Université de constantine 01).117pages.

Bellamine, k (2017). La phytothérapie clinique dans affections dermatologiques.(Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Mohamed V-RABAT).221pages

Bencheqroun, H., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A & chaouch, A (2012). Activité antimicrobien des huiles essentielles d'*Artimisia mesatantica* , plante endémique du Maroc .Bulletin de la société royal des sciences de liège, vol (81).

Benlahcen, K., Bertella, A., Sidaoui, A., Mamer, K & Kihal, M (2018). Artemisia herba-alba Asso.essential oil activity and acute toxicity Industrial corps and Product 116 (2018)137-143

Belgaid, S & Chikhoun, L (2013). Etude de l'activite antimicrobienne et antifongique des extraits du phlomis bovei de noe-préparation d'une forme pharmaceutique-Mémoire de master ,spécialité chimie pharmaceutique ,Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou , p1, 59pages

Benmansour ,N (2016). Etude des activités antioxydants et antibactérienne de *l'Artemisia judaica* L. par les composes du métabolisme secondaire.(Thèse de doctorat ,Biologie moléculaire et cellulaire .Université de Abou-Bakerbelkaid – Tlemcen) .p47.2016 pages

Benzaine, M (2007). Screening phytochimique de la plante *Ruta Montana*. Extraction de huile essentielle de routine .(Mémoire présentée pour l'obtention diplôme de magister .Université d'oran).86pages.

Benzeggouta, N (2005). Etude de l'activité antimicrobienne des huiles influées de quatre plantes médicinales commues comme aimants.(thèse de doctorat.Université de costontine).p39.118pages.

Bertella, A (2019). Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydant des huiles essentielles *d'Artemisia herba-alba, Artemisia campestris* et *Rosmarnus tournefortii*. (Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de doctorat. Université d'oran).139pages.

Beyret, N (2013). Prise en charge des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie. (Thèse de doctorat. Université Toulouse III Paul Sabatier).195 pages

Bikaffi, F., Allico,J., Nathalie,G., Rapheal,O & Mareille,D (2014). Effect of geographical location and antibacterial activities of essebtiel oils from Ivoirian chromoleana odorata(L) R.M.king (Asteraceae).vol (6).pp 70-78.

Bouchkrit, M (2018). Etude de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentiels de deux Apiaceae *Elaeoselinum asclepium (L) Bertol .et margotia gummifera*. (Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1).p10

Bougaoucha, W & Boudelaa, Y (2010). L'examen cyto bactériologique des urines. (Mémoire de magister , Université de skikda). Mémoire online. <https://www.memoireonline.com> (consulté le 23 mai 2021).

Bouguerra, N (2019). Efficacité comparée des extraits de deux plantes, *Thymus Vulgaris* et *Origanum vulgare* à l'égard d'une espèce de moustique, culeux pipiens: composition chimique, toxicité, biochimie et biomarqueures. (Thèse de doctorat. Université de chikh el arbi tebessi-tbessa).134pages.

Bouhdid, S., Abrini, J., Baudoux, D., Manresa, A & Zhiri, A (2012). Essential oils of oregano compact and cinnamon:antibactrial potency and mechanism of action.J pharm clim 2012 :31 (3):141-8.

Bouزيد, D (2018), Evaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysum italicum* (Roth) G.DON. (Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas sétif 1) p11-16

Bouzouia, K (2016). Enquête auprès des pharmaciens officinaux d'oujda.(Thèse de doctorat ,Université Mohamed V-rabat)

Boutamani, M (2013). Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du curcuma longa et myristica fragrans en fonction du temps et de la technique utilisée, Mémoire de master ,Spécialité chimie du médicament ,Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene Alger ,p5,Mémoire online

Bruneton , j (2009). Menthe in: pharmacognosie ,phytochimie, plantes médicinales. Tec et Doc,Paris,631-638

Bruneton , J (1999) , Pharmacognosie, 3^e édition ,Tec et Doc ,Paris ,310,316,619,620.

C

Cazau- Beyre, N (2013). Prise en charge des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie. (Thèse de doctorat faculté des sciences pharmaceutiques .Université toulouse III Paul Sabatier).p13.857 pages

Chabrier, J (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie .(Thèse présentée pour obtenir le diplôme d'état de doctorat en pharmacie, Université Henri poincare-Nancy 1).172pages.

Chamloul, F (2014). Etude d'activité antibactérienne de huile essentielle de *Lavandula officinalis* de région de telmcen.(Mémoire de master. Université de Aboubaker belkaide).50pages.

Chaibeddra, Z (2014). Etude comparative des substances bioactives chez *Ruta montona*L .et *Ruta tuberculata* Forsk.:point de vue phytochimique et pharmacologique.(Mémoire de magister .Université d' oum elbaoughi).88pages.

Chenikhar , H (2019). Etude de la toxicité de deux pesticides et l'effet protecteur des huiles essentielles d'une plantes médicinale (Thèse de doctorat .Université de Larbi tébessi – Tébessa-).147pages.

ConsoGlobe. (2021). L'huile de nigelle pour se soigner avec douceur.<https://www.consoglobe.com> (consulté le 26.05.2021).

Chenikhar, H., Djabri, B., Salmi, A., Taibe, Ch & Roubhi, R (2018). Hepatotoxicity induced by chlorpyrifos in 'wistar Rats'.Tunisian journal of plant protection vol.13,sl,2018.

Chouiteh, O (2012). Composition chimique et activité antibactérienne dans des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*.(Thèse de doctorat Es-science. Université d'orane).P17,132pages

Chouiteh, O., Meddah, B., Aoues, A & Sonnet, P (2011). Chemical composition and antimicroil activities of the essentiel oil from *Glycyrrhiza glabra* L eaves.Jeopb 14 (3) 2011 pp284-288.

Clarke, S (2008). Chemistry of essential oil. 1st edition. British, pp 302

Clémence, B (2014). L'huile essentielle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*). (Thèse de doctorat. Université de Picardie Jules Verne), p 10-13. 83 pages.

Chikhoun, L & Belgaid, S (2013). Etude de l'activité antimicrobienne et antifongique des extraits du phloème de *Bovei* de Noël - préparation d'une forme pharmaceutique - (Mémoire de master, spécialité chimie pharmaceutique, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou) 41 pages.

D

Djahra, A., Boudjba, O. & Benkharara, S (2011). Activité antibactérienne des flavonoïdes d'une plante médicinale spontanée *Marrubium vulgare* de la région d'Arf (nord-est algérien). *rev. sci. techno* L, synthèse 24-2937).

Dris, D (2008). Influence d'extraits végétaux (*Thymelaea hirsuta* et *Sonchus maritimus*) sur la méthanogène et la digestibilité ruminale in vitro. (Mémoire présentée pour l'obtention du diplôme de magister. Université de Chikh el Arbi Tébessi-Tébessa). p 16. 95 pages.

F

Fabienne, E (2004). La cannelle de Ceylan et ses activités biologiques. (Thèse présentée pour l'obtention de diplôme de doctorat, Université de Joseph Fourier). 307 pages.

Fadi, F (2011). Le romarin, *Rosmarinus officinale* le bon procédé d'extraction pour un effet thérapeutique optimal. (Thèse pour l'obtention de diplôme de doctorat en pharmacie. Université Mouhamed V-Rabat). 165 pages.

Fettah, A (2019). Etude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydant-antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium L* sous espèce thymoides de la région Beni Souik, Biskra. (Thèse de doctorat, Chimie organique et phytochimie. Université Mohamed Khider Biskra). p 6-18. 104 pages

G

Germann-Gudrun, P (2014), plantes d'aromathérapie, L'univers des arômes guérisseurs, Paris. Denis-Armand canal. p 62-113. 208 pages

Guerraud, M (2018). Réglementation des huiles essentielles, un besoin de sécurité. Elsevier Masson SAS (n° 580)

Guignard J. J (2000)- Biochimie végétale. 2ème Ed. De l'abrégé Dunod, Paris, pp, 177-185.

Ghestem A, Seguin E, Paris M, Orecchioni AM (2001). Le préparateur en pharmacie dossier 2ème Ed Techniques et documentation. Paris, p. 275.

Grotewold, E (2006), The science of flavonoids. Springer Science + Business Media, Inc

Guignard, J .L. In :Botanique systématique moléculaire .12ème Edition Masson .Paris. 2001.304.

H

Hamel, T., Sadu ,S., Seridi ,R & Boulem, A (2013). Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsules de l'edough (nord-est algérien).Ethnopharmacologie

Hernandez-Ochoa, L (2005). Substitutions des solvants et matières actives de synthèse par combiné 'solvant /actif .d'origine végétale.(Thèse de doctorat. Institut national polytechnique de Toulouse. france).225pages.

I

Iburg , A (2006). Les plantes médicinales: les petites encyclos ,édition paris Grund. P19-21.284 pages

Iserin , P (2013). Larousse des plantes médicinales (2nd édition).p 14-16.335 pages.

K

Kahlouche, F (2014). Evaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie,(Thèse présentée en vue de l'obtention du doctorat en science .Université de costantine 01).p3,104pages.

Karbouche, L (2010). Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de quelques plantes médicinales des famille de labiacées et de cupressacées.(Mémoire de mater .Université de blida).65pages.

Kreif, S (2003), Métabolisme secondaires et des plantes et comportement animal (Thèse de doctorat ,écologie et chimie des substances naturelles ,muséum nationale d'histoire naturelle). p29.346pages

L

Laifaoui, A & Assoui ,M (2019). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région sud de la wilaya de bouira (sour elgzlene et bordjou khriss).(Mémoire présentée pour l'obtention le diplôme de master .Unversitéde Akli mohaned oudhdadj-bouira).50pages.

Lakhder, L (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles Marocaines sur Aggregatibacter Actinomycètes. (Thèse de doctorat. Université de RABAT-maroc).164pages.

Latri, N & Latri, Z (2019). Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales sur un trasect M'sila-djelfa.(Mémoire présentée pour l'obtention du diplôme master. Universit de Mohamed Boudaif -M'sila).69pages.

Lardry,J & Haberkorn ,V (2007). L'aromathérapie et les huiles essentielles. Kinesither Rev 2007:(61):14-17

Labed, I (2015). Composition chimique et évaluation des activités biologiques des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* et *Ferula vesceritensis* et synthèse catalytique de nouveaux dérivés pipéridiques.(Thèse de doctorat .Université des frères mentouri-constantine).p191pages.

Lobstein, A (2013). Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine .Actualités pharmaceutique (2013) :52 (525): p18-21

Louis-Clément, O., Kaadou, J., Chalchat, J & Bassolé,I (2007). Antioxidant and antimicrobial activities of canarium schweinfurthii Engl .Essentiel oil from centrafrican republic.african journal of biotechnologyvol.6 (20).pp2319-2323

M

Mahfouf, N (2018), Etude de l'espèce *Origanum vulgare* L. (Thèse de doctorat ,écotoxicologue ,Environnement et santé. Université Chadli Benhedid-El tarf) p3.1399 page

Messai, L (2011), Etude photochimique d'une plante médicinale de l'est algérien (*Artemisia herba Alba*). (Thèse de doctorat ,chimie organique .Université Mentouri Constantine) p7-22.96pages

Mnayer, D (2014). Eco-Extraction des huiles essentielles et des aromes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens ,Thèse de doctorat ,spécialité chimie ,Université d'avignon et des pays de vaucluse ,p2-3.142 pages.

Mennai , I (2019). Recherche et détermination structurale de molécules bioactives de plantes sahariennes –activités biologiques, (En ligne).(Thèse de doctorat ,Chimie pharmaceutique ,Université Frères Mentouri constantine 1) p(18)p(21).226 pages

N

Nassar, M (2017). Activités biologiques des molécules bioactives extraites de quelques plantes médicinales. (Thèse de doctorat. Université de frères mentouri constantine).106pages.

Nassar, M.,Zerizar, S.,Kabouche, Z., Kabouche, A & Bechkri, S (2015). Antioxidant and the immunomodulatory activities exhibited by three plants from Lamiaceae family .International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences, vol 7,issue 0975-1491.

S

Sari, M (2011). Etude biologique et phytochimique de l'origan (*Origanum vulgare* L .*sppglandulosum* (Desf) Letswaart)Espèce endémique s'Algerie-Tunisie. (Thèse de doctorat, biologie végétale. Université Ferhat Abbas-setif) p3-7.74pages

Souilah, N (2018). Etude de la composition chimique et des propriétés thérapeutiques traditionnelles et modernes des huiles essentielles et des composés phénoliques de quelques espèces du Nord-est algérien.(Thèse de doctorat ,Chimie organique, Université des frères Mentouri Constantine). p20-25.188 pages .

T

Toure, D (2019). Etude chimique et biologique des plantes médicinales des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de coté d'ivoire.(Thèse présentée pour l'obtention du doctorat ,université de Flix houphouet -biogny).p7-17,94pages.

W

Wang J. and Mazza G (2002). Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor α in LPS/IFN- γ -activated RAW 266.7 macrophages. Journal of agricultural and food Chemistry.50,4183_4189



Annexes

Annexe 01:caractéristique des milieux de cultures utilisées

1.Bouillon nutritif: est un milieu largement utilisé pour la culture des microorganismes peu exigeants .Il a la meme formulation que l'agar nutritive ,seule la agar a été omis(pas de solidification).

Peptones	10.0g
Hydrolysant de caséine	5.0g
Chlorure de sodium	5.0g

préparation

-mettre en solution 20.0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.

-Agiter lentement jusqu'à dissolution complète

-Répartir en tubes ou en flacons

Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes -

2.Gélose nutritive: la gélose nutritive ou gélose nutritive ordinaire (GNO) ou encore gélose ordinaire est un milieu d'isolement non-sélectif.

Composition:

les compositions de gélose nutritive sont organisent dans le tableau suivant.

Extrait de viande	1.0g
Extrait de levure	2.5g
Peptone	5.0g
Chlorure de sodium	5.0g
Agar	15.0g
PH	7.0

Préparation :

Mettre 28g de poudre en suspension dans un litre d'eau purifiée ,bien mélanger

Chauffer sous agitation et laisser bouillir pendant 1 minutes

Stériliser à l'autoclave à 118°C pendant 15 minutes

3. Gélose Mueller –Hinton:

Composition:

Peptone de viande (Bovin)	2g
Peptones de caséine (Bovin)	17.5g
Fécule de pomme de terre (amidon)	1.5g
Ca++	45 à 75mg/l
Mg++	20 à 35mg/l
Agar	17g

Préparation :

-Mettre 38g de poudre en suspension dans un litre d'eau purifiée, bien mélanger.

Chauffer sous agitation et laisser bouillir pendant 1 minute.-

-Autoclave à 118°C pendant 15 minutes.

Saccharose	1.8%
Dextrose	15.0%
Autres sucres	3.8%
Matières azotées	4.6%
Matières minérales	1.5%
Eau	2.0%

4.Milieu de l'hekoen:

Préparation:

Mettre 75.1g de poudre dans un 1000ml d'eau distillé stérilisé, mélanger bien. -

-Chauffer sous agitateur a 100°C .

Couler après refroidir le milieu, directement sans autoclavage.-

La composition de l'hektoen:

Protéase peptone	12g
Extrait de levure	3g
Chlorure de soduim	5g
Thiosulfate de soduim...	5g
Sels biliars	9g
Citrate de fer III et d'amonium	1.5g
Salicine	2g
Lactose	12g
Saccharose	12g
Fuscgine acide	0.1g
Bleu de bromothymol....	0.065g
Eau distillé	1000 ml

5.Milieu de Chapman:

Préparation: Mettre 111 grammes de milieu déshydraté dans un litre d'esu distillée stéril.

Mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène .

Chauffer lentement en agitant fréquemment ,puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète .stériliser à l'autoclave à 121° C pendant 15 minutes.

Composition:

Peptone	10.0g
Extrait de viande	1.0g
Chlorure de sodium	75.0g
Mannitol	10.0g
Rouge de phénol	0.025g
Agar	15.0g
PH	7.5g
Eau distillée	1L

Solution préparées:

1.l'eau physiologique:

L'eau physiologique est une solution à 9%

9g de Nacl pour litre d'eau distillée.

Après préparation ,stériliser cette solution de la conservation à 4

Annexe02:les matériels de laboratoire

Petit matériaux	Autres matériels
Les tubes à essai stériles	Microplaques
Les flacons stérile	Pied à coulisse
Erlenmeyer	Les boîtes pétries
Les fioles haugés	Le micropipettes et les pipettes pasteur
Les Béchers	Les écouvillons et papi-film
	Les disques et le pince
	Les eppendorphes et les empots