



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique
TEBESSA – جامعة العربي التبسي – تبسة –
UNIVERSITE LARBI TEBESSI –
Faculté Des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée

MEMOIRE

Pour L'obtention Du Diplôme De Master Académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème

**Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante de différentes huiles
essentielles**

Présenté Par :

BAHI Souhir

SIOUANE Amani

Devant le jury :

Dr. Smaali Saoussene

MCA Université de Larbi Tébessi de Tébessa

Présidente

Dr. Benhadj Mabrouka

MCA Université de Larbi Tébessi de Tébessa

Rapporteuse

Dr. Toumi Nassima

MCB Université de Larbi Tébessi de Tébessa

Examinatrice

Promotion :2021/2022

DEDICACES

Tout d'abord, nous tenons à remercier Allah, le clément et le miséricordieux de nous avoir donné la santé et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Nous dédions ce travail à :

Notre cher parent qui nous a entouré d'amour, d'affection et qui fait tout pour notre réussite, Que dieu la garde ;

A mes frères et sœurs

A notre grande famille.

A mon encadreur Dr. BELHAJ Mebrouka

A tous mes enseignants.

A tous notre amis de promotion.

BAHI Souhir & SEOUANE Amani.

REMERCIEMENT

Ce travail est l'aboutissement d'un dur labeur et de beaucoup de sacrifices ; mes remerciements vont d'abord au Créateur de l'univers ALLAH qui nous a doté d'intelligence, et nous a maintenu en santé pour mener à bien cette année d'étude. Nous tenons aussi à adresser mes remerciements à mes familles, et plus précisément mes parents, DERBAL MALIKA et BAHY LAKHDER, les parents, les frères et les soeurs de mon binôme pour leur soutien matériel, financier, moral et psychologique, mais particulièrement pour l'amour qu'ils me portent le long de nos études. Nous adressons aussi mon remerciement à ma sœur et frères Selma, SAIF EDDINE, MOHAMED Ce présent travail a pu voir le jour grâce à leur soutien.

Nous exprimons notre sincères gratitude et remerciements à notre encadreur académique Dr. BENHADJ Mebrouka pour ses conseils précieux, son aide dans le cheminement de cette étude et pour la peine qu'il s'est donnée tout au long de ce travail afin de faire de ce document ce qu'il représente.

Nous voudrions remercier tous notre professeur pour leurs précieux efforts durant notre période de notre formation académique. Nous tenons à remercier notre professeur Dr. TOUMI Nassima et Dr. SMAALI Saoussne pour avoir accepté de participer à la soutenance de notre mémoire de Master.

Nous tenons à remercier toute personne qui a, de près ou de loin, contribué d'une manière ou d'une autre au succès de ce travail, et spécialement ceux dont les noms ne sont pas mentionnés, mais qui sont présents dans notre esprit et dans notre cœur.

Liste des figures
Liste des tableaux
Liste des abréviations
Résumé
Abstract
ملخص

Table des matières

Titre	Pages
Introduction	01
Chapitre I : Les plantes médicinales et aromatiques	
1. Généralité sur les plantes médicinales et aromatiques	03
1.1. Définition	03
1.1.1. Les plantes médicinales	03
1.1.2. L'aromathérapie	03
1.1.3. Intérêt thérapeutique et pharmacologique	03
2. Les parties utilisées et mode de récolte	04
3. L'utilisation des plantes médicinales	04
4. Les modes d'utilisation des plantes médicinales	05
4.1. L'infusion	05
4.2. Les décoctions	05
4.3. Les macérations	05
4.4. Cataplasme	05
5. Les plantes médicinales en Algérie	06
6. Monographie des plantes étudiées	06
6.1. La plante de <i>Thymus vulgaris</i>	06
6.1.1. Définition	06
6.1.2. Description morphologique	07
6.1.3. Classification taxonomique	08
6.1.4. Habitat et culture	08
6.1.5. Répartition géographique	09
6.1.5.1. Dans le monde	09
6.1.5.2. En Algérie	09
6.1.6. Propriétés du Thym	09
6.1.7. Principales utilisations et mode d'emploi du Thym	10

6.2. La plante <i>Ruta graveolens</i>	10
6.2.1. Présentation de plante	10
6.2.2. Description botanique	11
6.2.3. Position systématique	12
6.2.4. Répartition géographique	13
6.2.5. Utilisations de la plante <i>Ruta graveolens</i>	13
6.2.5.1. Dans le domaine médical	13
6.2.5.2. Dans le domaine alimentaire	13
6.3. La plante <i>Peganum harmala</i>	14
6.3.1. Présentation de la plante <i>Peganum harmala</i>	14
6.3.2. Nomenclature et appellation	14
6.3.3. Caractéristiques botaniques	15
6.3.4. Classification botanique	17
6.3.5. Répartition géographique	17
6.3.6. Utilisation traditionnelle de la plante	18
6.3.7. Autre utilisations	18
6.4. La plante <i>Artemisia</i>	19
6.4.1. Généralités	19
6.4.2. Présentation de la plante <i>Artemisia</i>	19
6.4.3. Nomenclature	19
6.4.4. Origine	19
6.4.5. Description botanique	20
6.4.6. Classification de l' <i>Artemisia</i>	20
6.4.7. Habitat et distribution	21
6.4.8. Intérêt de la plante	21
6.4.8.1. Industriel	21
6.4.8.2. Médicinale	21
6.4.8.3. Culinaire	22
Chapitre II : LES HUILES ESSENTIELLES	
1. Définition des huiles essentielles	23
2. Répartition	23
3. Localisation	23

4. Composition chimique	24
4.1. Les Terpénoïdes	24
4.1.1. Les Monoterpènes	24
4.1.2. Les sesquiterpènes	24
4.2. Les composés aromatiques	24
5. Propriétés physico-chimiques	26
6. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	26
6.1. Distillation et entraînement à la vapeur	26
6.2. Hydrodistillation	27
6.3. Extraction par solvants volatils	28
6.4. Extraction par enfleurage	28
7. Conservation des huiles essentielles	29
8. Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle	29
9. Mécanisme d'action antibactérienne des huiles essentielles	30
Chapitre III : Usages et activités biologiques des huiles essentielles	
1. Domaines d'utilisation des huiles essentielles	31
1.1. En pharmacie	31
1.2. En cosmétologie	32
1.3. En industries agroalimentaires	32
1.4. En agriculture	32
2. Les activités biologiques des huiles essentielles	32
2.1. L'activité antibactérienne	33
2.1.1. Les bactéries	33
2.1.1.1. Introduction	33
2.1.1.2. Structure des bactéries	33
2.1.2. Les antibiotiques	34
2.1.2.1. Définition des antibiotiques	34
2.1.2.2. Effet des Antibiotique	34
2.1.2.3. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques	34
2.2. L'activité antifongique	35
2.2.1. Généralité sur les champignons	35
2.2.2. Les antifongiques	36

2.2.2.1. Mécanismes d'action antifongiques	36
2.2.3. Rôle des plantes médicinales dans la lutte contre les champignons	37
2.3. L'activité antioxydante	37
2.3.1. Stress oxydant	37
2.3.2. Les radicaux libres	38
2.3.3. Les antioxydants	38
Partie expérimentale	
I. Matériel et méthodes	41
1. Extraction des huiles essentielles	41
1.1. Matériel	41
1.1.1. Matériel végétal	41
1.1.2. Matériel d'extraction	42
1.2. Méthodes	42
1.2.1. Séchage des plantes	42
1.2.2. Extraction des huiles essentielles	44
1.2.2.1. Principe	44
1.2.2.2. Mode opératoire	44
1.2.3. La conservation des huiles essentielles	46
1.2.4. Rendement	46
2. Étude de l'activité antimicrobienne	46
2.1. Matériel	46
2.1.1. Matériel et produits	46
2.1.2. Mode opératoire	47
2.1.3. Matériel biologiques	47
2.1.3.1. Souches testées	47
2.2. Méthodes	48
2.2.1. Milieu de culture	48
2.2.2. Préparation des boîtes de Pétri	49
2.2.3. Préparation des suspensions	49
2.2.4. Ensemencement	49
2.2.5. Préparation des disques et l'ajoute d'HEs	50
2.2.6. Incubation	50

2.2.7. Lectures	51
3. Evaluation de l'activité antioxydante	51
3.1. Test d'activité DPPH	51
3.1.1. Principe	51
3.1.2. Matériel et réactifs	52
3.1.3. Mode opératoire	52
3.1.4. Détermination de la concentration inhibitrice IC50%	53
II. Résultats et discussions	54
1. Rendement en huile essentielle	54
1.1. Rendement d'huile de <i>Thymus vulgaris</i>	55
1.2. Rendement d'huile de <i>Ruta graveolens</i>	55
1.3. Rendement d'huile de <i>Peganum harmala</i>	55
1.4. Rendement d'huile de l' <i>Artemisia</i>	56
2.1. <i>Thymus vulgaris</i>	56
2.2. <i>Ruta graveolens</i>	59
2.3. <i>Peganum harmala</i>	61
2.4. <i>Artemisia</i>	63
3. Activité antifongique	65
3.1. <i>Thymus vulgaris</i>	65
4. Champignons filamenteux	73
2. Etude comparative des HEs	79
2.1. L'activité antibactérienne	79
2.2. L'activité antifongique	79
2.2.1. Sur les levures	79
2.2.2. Sur les champignons filamenteux	80
5. L'activité antioxydante	81
5.1. Activité antioxydante de l'huile essentielle de l' <i>Artemisia</i>	81
5.1.1. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH	81
Conclusion	85
Références bibliographiques	86
Annexe	

Liste des figures

Titre de la figure	Page
Figure 01 : Les plantes médicinales et aromatiques.	04
Figure 02 : La plante de <i>Thymus vulgaris</i> région Cheria Wilaya de Tébessa.	07
Figure 03 : Aspect morphologique de <i>Thymus vulgaris</i> .	07
Figure 04 : Représentation de la plante <i>Ruta graveolens</i> région Boulhaf Dir Wilaya de Tébessa.	11
Figure 05 : Feuilles et fleurs de <i>Ruta graveolens</i> .	12
Figure 06 : Les fleurs et feuilles de la plante <i>Peganum harmala</i> .	16
Figure 07 : Les fruits et les graines de la plante <i>Peganum harmala</i> .	16
Figure 08 : La plante de <i>Artemisia</i> région Hammamat wilaya de Tébessa.	20
Figure 09 : Structures histologiques des plantes.	24
Figure 10 : Les classes des constituants chimiques des huiles essentielles.	25
Figure 11 : Schéma de distillation des huiles essentielles à échelle industrielle par entraînement à la vapeur d'eau.	27
Figure 12 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation.	28
Figure 13 : Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle.	29
Figure 14 : Les sites d'action des constituants des huiles essentielles sur les bactéries.	30
Figure 15 : L'utilisation des plantes médicinales et de leurs huiles essentielles.	31
Figure 16 : comparaisons des enveloppes des bactérie gram+ et gram –.	34
Figure 17 : Différents mécanismes de résistance des bactéries.	35
Figure 18 : Equilibre entre les oxydants et les antioxydants (état physiologique).	38
Figure 19 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants.	39
Figure 20 : Les sites de récolte des plantes étudiées (Cheria, Boulhaf Dir, Ouenza, Hammamet).	42
Figure 21 : La plante (a) <i>Thymus vulgaris</i> , (b) <i>Ruta graveolens</i> , (c) <i>Peganum harmala</i> , (d) <i>Artemisia</i> .	43
Figure 22 : Les feuilles sèches (a) <i>Thymus vulgaris</i> , (b) <i>Ruta graveolens</i> , (c) <i>Peganum harmala</i> , (d) <i>Artemisia</i> .	44
Figure 23 : Dispositif d'extraction des huiles essentielles de type Clevenger.	45

Figure 24 : La récupération de l'huile essentielle obtenue.	45
Figure 25 : méthode de diffusion sur disque (milieu gélosé).	48
Figure 26 : (a) suspension bactérienne préparer, (b) ensemencement.	50
Figure 25 : Application de HEs sur les disques.	50
Figure 26 : Réaction de test DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl).	52
Figure 27 : Rendement en huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> , <i>Ruta graveolens</i> , <i>Peganum harmala</i> et <i>Artemisia</i> .	54
Figure 28 : Inhibition totale de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> sur des souches bactériennes testées.	58
Figure 29 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> sur des souches bactériennes testées.	60
Figure 30 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de <i>Peganum harmala</i> sur des souches bactériennes testées.	62
Figure 31 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de l' <i>Artemisia</i> sur des souches bactériennes testées.	64
Figure 32 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> sur des souches fongiques testées.	66
Figure 33 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> sur des souches fongiques testées.	68
Figure 34 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de <i>Peganum harmala</i> sur des souches fongiques testées.	70
Figure 35 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de l' <i>Artemisia</i> sur des souches fongiques testées.	72
Figure 36 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> sur des souches fongiques testées.	74
Figure 37 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> sur des souches fongiques testées.	76
Figure 38 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de l' <i>Artemisia</i> sur des souches fongiques testées.	78
Figure 39 : Les diamètres d'inhibition des HEs en fonction des bactéries.	79
Figure 40 : Les diamètres d'inhibition des HEs en fonction des levures.	80
Figure 41 : Les diamètres d'inhibition des HEs en fonction des champignons filamenteux (Dose = 5).	80

Figure 42 : Les diamètres d'inhibition des HEs en fonction des champignons filamenteuses (Dose = 10).	81
Figure 43 : Pourcentage de piégeage de radical DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique et de l'HE.	82
Figure 44 : Comparaison de l'IC50% de l'HE et l'A. Ascorbique.	83

Liste des tableaux

Titre du tableau	Page
Tableau 01 : Classification botanique de <i>Thymus vulgaris</i> .	08
Tableau 02 : Utilisations traditionnelles du Thym.	10
Tableau 03 : La position systématique de la plante <i>Ruta graveolens</i> .	12
Tableau 04 : Usages médicaux de <i>Ruta graveolens</i> sur côte amalfitaine (Province de Salerne, Italie).	14
Tableau 05 : La classification de <i>Peganum harmala</i> .	17
Tableau 06 : Classification de l'armoise blanche.	21
Tableau 07 : Liste de matériels végétales avec la région de récolte, la durée de récolte et la partie utilisée.	41
Tableau 08 : Liste d'appareils, verreries et produits utilisés pour l'extraction.	42
Tableau 09 : Liste de matériels et produit utilisés pour l'activité antimicrobienne et antifongique.	46
Tableau 10 : Souches bactériennes et fongique utilisées.	47
Tableau 11 : Protocole de préparations des Milieux de culture utilisées.	48
Tableau 12 : Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre du halo d'inhibition.	51
Tableau 13 : Liste d'appareils et réactifs utilisés pour l'activité anti-DPPH.	52
Tableau 14 : Les quantités et les rendements en huile essentielle des plantes utilisées.	54
Tableau 15 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> contre certaines souches microbiennes.	57
Tableau 16 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> contre certaines souches microbiennes.	59
Tableau 17 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de <i>peganum harmala</i> contre certaines souches microbiennes.	61
Tableau 18 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de l' <i>Artemisia</i> contre certaines souches microbiennes.	63
Tableau 19 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> contre (<i>LCP, LCK, LRM, L23, L43</i>).	65
Tableau 20 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> contre (<i>LCP, LCK, LRM, L23, L43</i>) et autre essai contre <i>LRM</i> et <i>L23</i> .	67

Tableau 21 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de <i>Peganum harmala</i> contre (<i>LCP, LCK, LRM, L23, L43</i>).	69
Tableau 22 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de l' <i>Artemisia</i> contre (<i>LCP, LCK, LRM, L23, L43</i>).	71
Tableau 23 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> contre (<i>F. PALIL, F. FSO, FRH Ory</i>).	73
Tableau 24 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> (<i>F. PALIL, F. FSO, FRH Ory</i>).	75
Tableau 25 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de l' <i>Artemisa</i> contre (<i>F. PALIL, F. FSO, FRH Ory</i>).	77

Liste des abréviations

- **AFNOR** : Association Française de Normalisation.
- **ATCC** : American Type Culture Collection.
- **BN** : Bouillon nutritive.
- **C°** : Degré Celsius.
- **Cm** : Centimètre.
- **D** : Diamètre.
- **DMSO** : Diméthylsulfoxyde.
- **DMSO** : Diméthylsulfoxyde.
- **DO** : densité optique.
- **DO** : Densité Optique.
- **EB** : Extrait Brut.
- **Ec** : Escherichia coli.
- **EP** : Extrait polaire.
- **g** : gramme.
- **g** : gramme.
- **H** : Hydrogène.
- **HE** : Huile essentielle.
- **HEs** : Huiles essentielles.
- **ISO** : Organisation internationale de normalisation.
- **l** : litre.
- **M** : masse.
- **M-H** : Muller Hinton.
- **MH** : Muller-Hinton.
- **min** : Minute.
- **ml** : Millilitre.
- **Mm**: Millimètre.
- **NaCl** : chlorure de sodium.
- **PDA** : Potato Dextrose Agar.
- **RHE** : Rendement d'huile essentielle.
- **UFC** : Unité Formant Colonie.
- **µl** : Microlitre.

Résumé

Les plantes ont depuis longtemps présenté un rôle très important pour l'humanité, car elles peuvent synthétiser un grand nombre de molécules organiques complexes dotées souvent d'activités biologiques potentielles. Dans ce contexte, nous avons conduit cette étude qui avait pour objectif d'investiguer les effets antioxydant, antibactérien et antifongique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens*, *Peganum harmala* et l'*Artemisia*.

L'extraction de l'HE a été réalisée par l'hydrodistillateur de type Clevenger, l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé MH sur cinq souches bactériennes : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et l'activité antifongique a été réalisée aussi par la méthode de diffusion mais en milieu gélosé Sabouraud sur : cinq levures (*LCP*, *LCK*, *LRM*, *L23*, *L43*) et trois champignons filamenteux (*F. PALIL*, *F. FSO*, *FRH Ory*), l'activité antioxydante de l'*Artemisia* a été réalisée par le test de DPPH.

Les rendements des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens*, *Peganum harmala*, et *Artemisia* sont 2.95 %, 1.63%, 1.45%, 2.54% respectivement, les résultats obtenus montrent que toutes les HES testées ont une activité antibactérienne et antifongique sur la plupart des souches avec des diamètres qui varient entre 20 mm à une inhibition totale, dont la meilleure activité a été marquée par l'HE de *Thymus vulgaris*. En addition, l'HE de l'*Artemisia* possède une capacité antioxydante, mesurée par la méthode au DPPH, très importante IC 50 = 31.94.

Au bout de cette étude, nous retiendrons que les huiles essentielles de nos plantes exercent un fort effet antibactérien et antifongique sur les souches étudiées et pourrait par conséquent être utilisé dans le traitement des maladies infectieuses et l'activité antioxydante testée par le DPPH sur des antioxydants uniques dans des solutions aqueuses, des aliments, des boissons, des extraits de plantes.

Mots clés : *Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens*, *Peganum harmala*, *Artemisia*, huile essentielle, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

Abstract

Plants have long presented a very important role for humanity, as they can synthesize a large number of complex organic molecules often endowed with potential biological activities. In this context, we conducted this study which aimed to investigate the antioxidant, antibacterial and antifungal effects of essential oils of *Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens*, *Peganum harmala* and *Artemisia*.

The extraction of HE was carried out by the Clevenger type hydrodistiller, the antibacterial activity was carried out by the method of diffusion in MH agar medium on five bacterial strains: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and the antifungal activity was also achieved by the diffusion method but in Sabouraud agar medium on: five yeasts (*LCP*, *LCK*, *LRM*, *L23*, *L43*) and three filamentous fungi (*F. PALIL*, *F. FSO*, *FRH Ory*), the antioxidant activity was performed by the DPPH test.

The yields of the essential oils of *Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens*, *Peganum harmala*, and *Artemisia* are 2.95%, 1.63%, 1.45%, 2.54% respectively, the results obtained show that all the essential oils tested have antibacterial and antifungal activity on most of the strains with diameters that vary between 20 mm to total inhibition, the best activity of which was marked by HE from *Thymus vulgaris*. In addition, the EO of *Artemisia* has a very high antioxidant capacity, measured by the DPPH method, $IC_{50} = 31.94$.

At the end of this study, we will retain that the essential oils of our plants exert a strong antibacterial and antifungal effect on the strains studied and could therefore be used in the treatment of infectious diseases and the antioxidant activity tested by the DPPH on antioxidants unique in aqueous solutions, foods, beverages, plant extracts.

Keywords : *Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens*, *Peganum harmala*, *Artemisia*, essential oil, antimicrobial activity, antioxidant activity.

ملخص

لطالما وُدمت النباتات دو راً مه مَّاجَ دَا للبشرية، حيث يتم كنزها نخ لبق عدد كبير من الحزبات العضوية المعودة غ البَا

ما تمتع بأشطة بيولوجية محملة. في هذا السياق، أجرينا هذه الدراسة التي هدنت إلى التحقق من التأثيرات المضادة

لأكسدة والبكتيريا والفطريات للزيوت الأساسية من *Thymus vulgaris* و *Ruta Gravalens* و *Peganum*

Harmala Artemisia

نم إجراء استخالص HE بواسطة جهاز التظير المائي من نوع Clevenger ، ونم إجراء النشاط المضاد

للبيكتيريا عن طريق طريقة النشرار في وسط أجار MH على خمس سالالت بيكتيرية *Bacillus subtilis* ،

Pseudomonas ، *Escherichia coli* ، *Micrococcus luteus* ، *Staphylococcus aureus*

antifungalosa saeruginosa نم نحقق النشاط أيضا من خلال طريقة النشرار ولكن ني وسط أجار

Sabouraud على: خمس خمائر *LCP* ، *LCK* ، *LRM* ، *L23* ، *L43* وثالثة فطريات خيطية *F. PALIL* ،

F. FSO ، *FRH Ory* ، نم إجراء النشاط المضاد لأكسدة بواسطة اختبار DPPH .

محصول الزيوت الأساسية من *Thymus vulgaris* و *Ruta Gravalens* و *Peganum Harmala* و

Artemisia هي 2.95% و 1.63% و 1.45% و 2.54% على التوالي، وأظهرت النتائج أن جميع الزيوت العطرية

المختبرة لها نشاط مضاد للجراثيم ومضاد للفطريات في معظمها بأقطار تتراوح بين 20 مم إلى تثبيط نام. السالالت

التي تميز أفضل نشاط لها بـ HE من *Thymus vulgaris* بالإضافة إلى ذلك، يحتوي EO الخاص بالـ

Artemisia على ودرة عالية ج دَا من مضادات الأكسدة، تقاس بطريقة DPPH ، $IC_{50} = 31.94$.

في نهاية هذه الدراسة، سوف نحفظ بأن الزيوت الأساسية لنباتانزا لها تأثير قوي مضاد للجراثيم ومضاد

لفطريات على السالالت المدروسة وبالتالي يمكن استخدماها ني عالج الأمراض المعدية والنشاط المضاد لأكسدة

الذي نم اختباره بواسطة DPPH على مضادات الأكسدة الفريدة في المحاليل المائية والأطعمة والمشروبات

والمستخلصات النباتية.

الكلمات المفتاحية: *Thymus vulgaris* ، *Ruta Gravalens* ، *Peganum Harmala* ، *Artemisia* ، زيت

عطري، نشاط مضاد للميكروبات، نشاط مضاد لأكسدة.



Introduction

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'homme utilise les plantes trouvées dans la nature pour traiter et soigner des maladies (**Sanago, 2006**). L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt auprès du public, selon l'organisation mondiale de la santé (**O.M.S., 2003**) environ 65- 80% de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (**Ma et al., 1997**).

La phytothérapie est la science des plantes médicinales ou la médication par les plantes, c'est l'une des sources de traitement des maladies qui demeurent basées sur l'observation ou l'analyse vient confirmer ce qu'on observe depuis déjà des millénaires (**Provost, 1991, Beloud, 2001**).

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remède à diverses maladies humaines. Ces plantes doivent leur pouvoir thérapeutique à des substances, dites alors actives, qu'elles renferment. Pour l'évaluation de l'activité biologique de ces plantes, il est impératif de recourir à des tests biologiques appropriés et à des méthodes de screening chimique (**Tyihák et al., 2007**).

Le climat méditerranéen en Algérie favorise la croissance des plantes sauvages, mais malheureusement, parmi les différentes espèces de la flore algérienne, jusqu'à présent, peu d'entre elles sont étudiées. La valorisation de ces ressources naturelles végétales passe essentiellement par l'extraction de leurs huiles essentielles (**Haoui et al., 2015**).

Les huiles essentielles et les arômes constituent 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 hydrodistillation et possèdent un large éventail d'activités biologiques.

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse (**Boudjouref, 2011**). De plus, au cours de ces dernières années, les médicaments à base de plantes sont devenus de plus en plus populaires dans certaines régions du monde, alors que dans d'autres parties, il a toujours été un élément essentiel dans le système de santé (**Djeddi et al., 2015**).

Bien qu'on dispose aujourd'hui de médicaments antifongiques, le traitement des mycoses reste difficile d'une part du fait du nombre limité de principes réellement efficaces et de leur coût très élevé, et d'autre part lié à l'émergence de souches résistantes à certains antimycosiques usuels.

Ces différentes difficultés ont suscité notre intérêt pour la recherche d'autres substances fongitoxiques pouvant être l'ébauche d'enrichir l'arsenal thérapeutique actuel (**Rex et al., 1995, Dzoyem, 2010**).

L'objectif général de ce travail est d'étudier l'activité antibactérienne et antifongique et antioxydante des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens*, *Peganum harmala* et *Artemisia* sur les bactéries et les champignons. Notre manuscrit est basé sur deux parties :

Une première partie consacrée à la revue bibliographique qui englobe et rassemble des données théoriques constitue de trois chapitres :

- Le premier chapitre sur les plantes médicinales et aromatiques.
- Le deuxième portera sur les huiles essentielles.
- Le troisième sur les activités biologiques.

Une deuxième partie qui va concerner le matériel et les méthodes utilisés, résultats et leurs discussions, enfin on termine par une conclusion.

Chapitre I Les plantes médicinales et aromatiques

1. Généralité sur les plantes médicinales et aromatiques

1.1. Définition

1.1.1. Les plantes médicinales

Depuis longtemps, les plantes ont été utilisées comme remèdes pour traiter les maladies humaines car elles contiennent des composants à valeur thérapeutique (**Figure 01**). La capacité de guérison des plantes est due aux effets de leurs métabolites secondaires, qui interviennent dans la défense contre les bactéries pathogènes (**Touré, 2015**).

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (**Sofowora, 2010**).

1.1.2. L'aromathérapie

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise des extraits de plantes aromatiques. Elle se diffère de la phytothérapie qui utilise tous les éléments contenus dans les plantes (**Lakhdar, 2015**). L'aromathérapie attire de plus en plus de patients et les publications scientifiques sur les propriétés thérapeutiques des huiles essentielles ne cessent de fleurir. Malgré ses origines naturelles, l'aromathérapie a des effets puissants, il est donc essentiel de comprendre la notion de la dualité « efficacité-toxicité » et de maîtriser les nombreuses précautions d'emploi (**Da Silva, 2010**).

1.1.3. Intérêt thérapeutique et pharmacologique

La phytothérapie est l'utilisation de tous les éléments des plantes à des fins thérapeutiques. Actuellement de nos jours, elle connaît un renouveau remarquable et exceptionnel en occident, notamment dans le traitement des maladies chroniques telles que l'asthme ou l'arthrite. Les traitements à base de plantes reçoivent une attention renouvelée alors que l'efficacité de médicaments tels que les antibiotiques, considérés comme une solution quasi universelle aux infections graves, a diminué. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se tournent vers des traitements moins agressifs pour leur organisme.

Une citation de **Galien** déclare : « La meilleure médecine, c'est la nature car elle guérit les trois quarts de toutes les maladies » (**Kahlouche-riachi, 2014**).



Figure 01 : Quelques plantes médicinales et aromatiques.

2. Les parties utilisées et mode de récolte

Des études scientifiques permettent de déterminer le meilleur moment de la récolte.

Ainsi, sont récoltées de préférence : (**Anton ,1999**)

- Les racines lorsque la plante est au repos (automne, hiver).
- La partie aérienne, le plus souvent à la floraison.
- Les feuilles, juste avant la floraison.
- Les fleurs épanouies, voir bourgeons (aubépine).
- Les graines lorsqu'elles perdent la majeure partie de leur humidité naturelle.

3. L'utilisation des plantes médicinales

Les plantes utilisées en médecine traditionnelle sont une source importante de nouveaux principes actifs, et bon nombre des remèdes prescrits par des milliers de personnes dans le monde sont d'origine naturelle, découverte grâce à la recherche sur l'utilisation des plantes en médecine traditionnelle. (**Cheriti et al., 1995**). En plus d'être nos principales sources alimentaires (comme le maïs, le riz et le blé), les plantes sont également utilisées pour produire de nombreuses boissons (**Heller et al., 2010**).

Les produits naturels présentent un grand intérêt en tant que matières premières pour différents secteurs d'activité tels que : cosmétique, pharmaceutique, agro-alimentaire, phytosanitaire et l'industrie (**Selles, 2012**).

Avant l'utilisation des plantes médicinales, il est nécessaire de savoir les cinq points principaux suivants :

- ✓ L'identification de la plante (qui est basée sur l'observation des fleurs, des feuilles, des fruits, mais aussi sur l'odeur et le goût...)
- ✓ Le mode de préparation (type et dosage de la préparation et la partie de la plante à utiliser).
- ✓ La posologie c'est-à-dire la quantité de préparation à absorber par jour.
- ✓ La durée du traitement.
- ✓ Les restrictions, contre-indications et précautions à respecter.

4. Les modes d'utilisation des plantes médicinales

Selon (**Hosttman ,1997**), les plantes médicinales peuvent être utilisées sous plusieurs formes :

4.1. L'infusion

L'infusion c'est la méthode la plus simple ; elle consiste à verser de l'eau bouillante sur la plante, couvrez et laissez à infuser pendant 5 à 10 minutes, puis le filtre (**Kothe et al., 2007**).

4.2. Les décoctions

La décoction permet d'extraire les principes actifs de l'écorce ou de la racine ; faire bouillir une partie de la plante dans de l'eau chaude pendant quelques minutes (10 à 30 minutes) trempé à basse température puis filtré (**Kothe et al., 2007**).

4.3. Les macérations

Elle consiste à mettre la plante ou partie de plante dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou d'huile végétale (macération huileuse) pendant des heures ou des jours, permettant aux principes actifs de bien diffuser (**Kraft et Hobbs, 2004**).

Cette méthode est utilisée pour conserver le plus possible les principes actifs pour certaines plantes qui ne supportent pas les températures élevées (**Kothe et al., 2007**).

4.4. Cataplasme

Ce sont des plantes médicinales préparées et appliquées sur la peau, les cataplasmes sont utilisés pour apaiser les douleurs musculaires et les névralgies, soulager les entorses et les fractures et permettre la plupart extraits de plaies infectées, d'ulcères et de furoncles (**Iserin et al., 2001**).

5. Les plantes médicinales en Algérie

En Algérie, les plantes médicinales ont encore des indications thérapeutiques dans le traitement de nombreuses maladies, grâce au climat diversifié du pays, qui permet à ces plantes de prospérer dans les régions côtières, montagneuses et sahariennes. Ces plantes constituent des remèdes naturels potentiels qui peuvent être utilisés à la fois pour des traitements curatifs et préventifs (**Beloued A., 2005**).

Selon (**Baba Aïssa, 1991**). La richesse et l'originalité des études floristiques algériennes présentent un intérêt scientifique fondamental dans le domaine des connaissances de la pharmacopée traditionnelle et de la valorisation des substances naturelles. La diversité et la fertilité des sols des différentes régions d'Algérie influencent la qualité et la composition chimique des plantes médicinales, qui leur confèrent des caractéristiques spécifiques.

Dans ce cas, les plantes médicinales peuvent être classées comme ressource naturelle renouvelable, c'est-à-dire que leur apparition et leur disparition se produisent périodiquement et de manière continue selon les saisons fixées par la nature. Ces ressources subissent une dégradation irréversible, comme on peut le voir en Algérie aujourd'hui (**Mokkadem, 1999**).

6. Monographie des plantes étudiées

6.1. La plante de *Thymus vulgaris*

6.1.1. Définition

Le nom "*Thymus*" provient du mot grec « *Thymon* » qui signifie "parfum" à cause de l'odeur agréable que la plante dégage naturellement ou lorsqu'on la fait brûler (**Zeghib, 2013**). L'espèce la plus connue parmi les *Lamiaceae* est sans conteste *Thymus vulgaris* (**Amiot, 2005**), nommé ainsi par **Carl Von Linné** en **1753** et reste le nom utilisé par toutes les nomenclatures scientifiques. Elle renferme des qualités aromatiques et de nombreuses propriétés médicinales (**Tamert et al., 2017**). En français et en anglais par exemple, on emploie fréquemment le nom du genre ("thym" et "thyme" respectivement) pour désigner l'espèce *Thymus vulgaris*. Elle est connue en Algérie sous le nom de "*zaatar*" (**Teuscher et al., 2005**) (**Figure 02**).

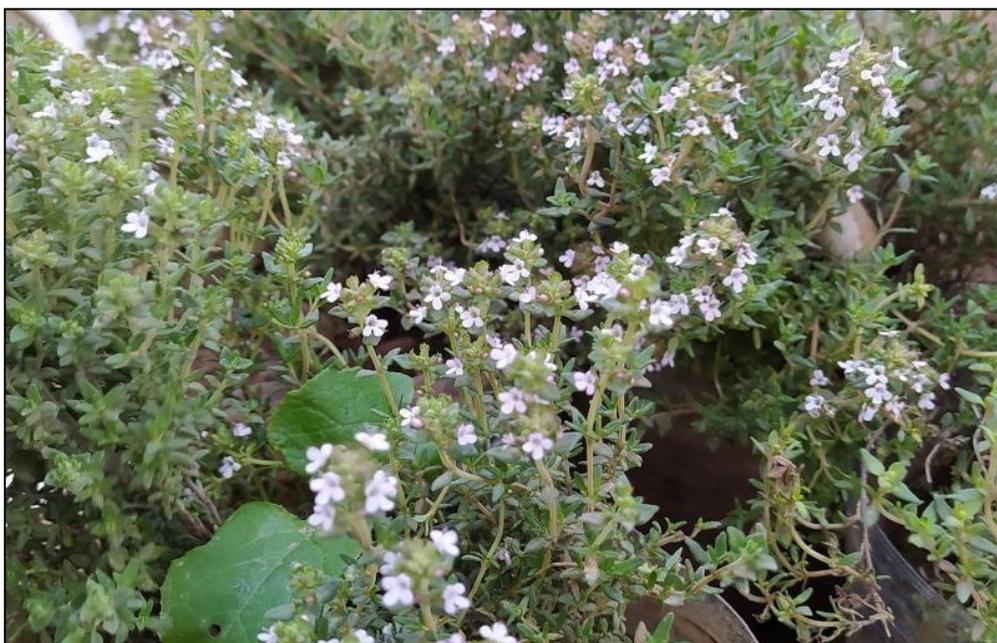


Figure 02 : La plante de *Thymus vulgaris* région Cheria Wilaya de Tébessa.

6.1.2. Description morphologique

Thymus vulgaris (**Figure 03**) est un sous-arbrisseau touffu, vivace et aromatique pouvant atteindre de 20 à 30 cm de hauteur (**Benbouali, 2006**). Ses tiges ligneuses à la base, herbacées supérieurement sont presque cylindriques. Ses feuilles sont très petites, ovales, à bord roulé en dessous, à nervures latérales distinctes, aux pétioles extrêmement courts et blanchâtres à leur face inférieure. Ses fleurs presque roses ou blanches, font de 4 à 6 mm de longueur, et sont pédicellées et réunies ordinairement au nombre de trois à l'aisselle des feuilles supérieures (**Cheurfa, 2015**).

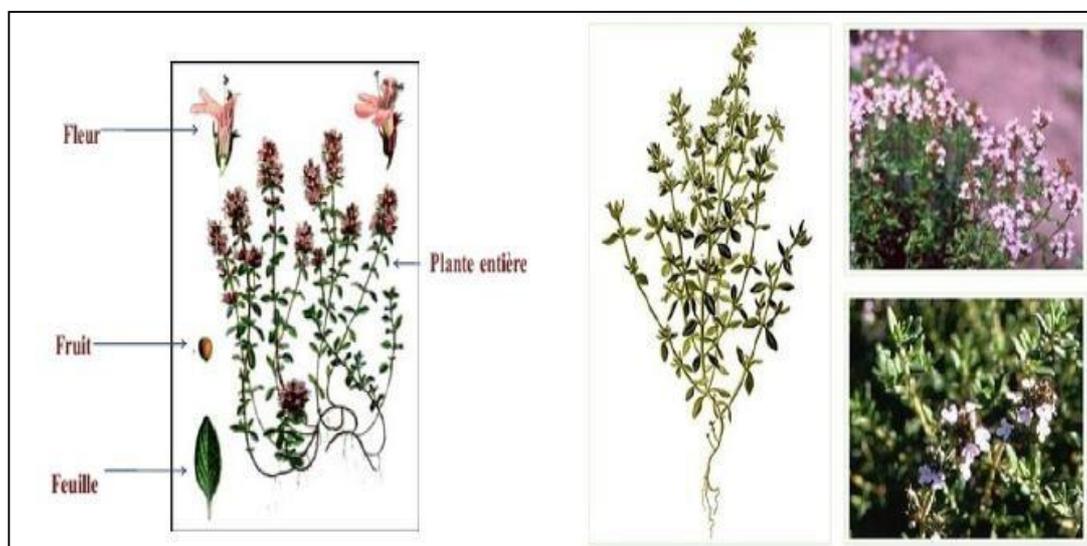


Figure 03 : Aspect morphologique de *Thymus vulgaris* (**Iserin, 2001**).

6.1.3. Classification taxonomique

La situation botanique de l'espèce *Thymus vulgaris* est donnée dans le **Tableau 01**.

Tableau 01 : Classification botanique de *Thymus vulgaris* (Goetz et Ghédira, 2012).

Règne :	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Sous-embranchement	<i>Magnoliophytina</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris</i>

6.1.4. Habitat et culture

Thymus vulgaris est une plante typique des garrigues, qui s'accommode particulièrement dans les zones calcaires et rocailleuses, ne dépassant pas 2500 m d'altitude (Pitman, 2004 ; Polese, 2006). Elle préfère les sols légers, perméables, secs ou bien drainés, légèrement alcalins, constamment ensoleillés et quelque peu riches en matières organiques et en éléments minéraux fertilisants (Rey, 1990 ; Small et Deutsch, 2001 ; Peter, 2004).

Elle ne survit pas longtemps dans un sol lourd et détrempé. Sa croissance tolère un pH allant de 4.5 à 8.0 et pousse dans n'importe quel climat ayant une température moyenne annuelle de 7 à 20°C (Small et Deutsch, 2001 ; Peter, 2004).

6.1.5. Répartition géographique

6.1.5.1. Dans le monde

Le thym est réparti entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée. Il est très répandu dans le nord-ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte.

Il se trouve également en région Macaronésienne (îles Canaries, Madère et les Açores) et en Himalaya. Il peut même atteindre les limites de la région tropicale et du Japon (**Abdelli, 2017**).

La région de l'ouest méditerranéen est considérée comme étant le centre de l'origine du genre *Thymus* ; l'espèce *Thymus vulgaris* provient particulièrement du sud de l'Europe, de l'Espagne à l'Italie (**Morales, 1997 ; Peter, 2004**). Le thym est maintenant très cultivé au Portugal, France, Allemagne, Espagne, Italie, Algérie, Maroc, Tunisie, Egypte, Turquie, Chine, Russie, Angleterre et les Etats-Unis d'Amérique (**Wilson, 2002 ; Raghavan, 2006**).

6.1.5.2. En Algérie

Le thym est représenté par plus de 300 espèces à travers le monde dont 12 sont localisées en Algérie et 9 d'entre elles sont endémiques. Ces espèces sont réparties le long du territoire national, du Nord algérois à l'Atlas saharien, et du constantinois à l'oranais (**Abdelli, 2017**).

6.1.6. Propriétés du Thym

Le thym est souvent utilisé dans l'assaisonnement des aliments et des boissons ; et aussi antiseptique, et comme désinfectant dermique et c'est un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoire supérieur. Les principaux constituants du thym montrent également des propriétés vermifuges et vermicide (**Bazylko et Strzelecka, 2007**) et des propriétés antivirales, antifongique, anti-inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoïque et hexaniques des parties aériennes de *Thymus vulgaris* inhibent la croissance de *mycobacterium tuberculosis* ; et aussi Propriétés anthelminthique ; (**Al-Bayati, 2008**) et des propriétés anti oxydantes qui lui permette d'être utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons *Thymus vulgaris* durant leur stockage (**Selmi et Sadok, 2008**).

6.1.7. Principales utilisations et mode d'emploi du Thym

L'utilisation traditionnelle de *Thymus vulgaris* ainsi que leur mode d'emploi et les parties utilisés sont montrés dans le **Tableau 02**.

Tableau 02 : Utilisations traditionnelles du Thym.

Parties utilisés	Indications	Mode d'emploi	Références
Plante entière	Fièvre Rhumes grippes Maladies broncho-pulmonaires	De l'eau avec la plante, mettre une serviette sur la tête, et inhaler les vapeurs dégagées. Ensuite, boire une tasse de cette décoction filtrée avant de se coucher.	Rasooli et al., 2006.
Racines	Diarrhée	Décoction	Pina-Vaz et al., 2004.
Feuilles	Fièvre, la toux, les blessures, infection	Utilisées comme poudres ou en infusions.	El Bouzidi et al., 2013.
Feuilles et fleurs	Condiment culinaire	Employée pour donner de saveur à la viande. Conserve plus longtemps les aliments et empêche la formation des moisissures.	Miura et al., 2002.
Plante entière	Antiseptiques Antispasmodiques Antimicrobiennes	Décoction ou infusion	Nickavar et al., 2005 ; Pirbalouti, 2013.

6.2. La plante *Ruta graveolens*

6.2.1. Présentation de plante

Ruta graveolens appelée habituellement rue fétide, rue officinale, herbe de grâce, rue des jardins ou rue commune. C'est un arbrisseau de la famille des *Rutaceae* et du genre *Ruta* (Doerper, 2008). Le *Ruta* est connu aussi par rue (nom français) et par « Ρύτη » (nom grec) (Benkiki, 2006). Le mot *graveolens* arrive du latin "gravis" qui signifie fort et de verbe "olere" qui veut dire sentir, ce à dire odeur forte et désagréable (Boumediene, N. & Agha, O., 2014). Le rue est une plante herbacée vivace, originaire de la région méditerranéenne. Il est maintenant cultivé dans de nombreuses régions du

monde (Asgarpanah, 2012). *Ruta graveolens* est bien connu pour ses utilisations aromatiques et médicinales (Parray et al., 2012). La rue est toxique à fortes doses (Iserin, 2001).

Appelée vulgairement en Algérie : *fidjlet el-djbel* (نبيلة الجبل) ou *Fidjel* (نيجل) et aussi *Fidjen* (فدجن) (ABDULBASSET et ABDE TAWAB, 2008). A une odeur fétide très intense, se trouve sur les coteaux arides et dans les endroits secs et pierreux de la région méditerranéenne (Baba Aissa, 1999). La plante de *Ruta graveolens* étudiée est de la région Boulhaf Dir wilaya de Tébessa. (Figure 04).



Figure 04 : Représentation de la plante *Ruta graveolens* région Boulhaf Dir Wilaya de Tébessa.

6.2.2. Description botanique

Ruta graveolens est un petit sous-arbuste à feuilles persistantes ou une plante vivace semi-ligneuse 0,6 à 0,9 m de haut et presque aussi large (Asgarpanah, 2012). C'est une plante très ramifiée. Ses feuilles d'un vert terne (Doerper, 2008). Les feuilles de 7,6 à 12,7 cm de long sont disséquées penné en forme de forme oblongue ou cuillère segments (Asgarpanah, 2012). *Ruta graveolens* se caractérise par une odeur forte, acre et pénétrante émise par les huiles contenues dans les poches schizolysogènes à la surface des feuilles (Doerper, 2008). Les fleurs sont petites et de couleur jaune (Malik et al., 2017). Ses fleurs ont les mêmes nombres sépales et pétales qui vont de 4 à 5 et de 8-10 étamines (Figure 05). La floraison s'étend de mai à août (Doerper, 2008). Les fruits sont secs, durs et arrondis, 4 ou 5 lobés au sommet brun grisâtre et rugueux. Les graines sont ovoïdes, arrondies sur le dos, aplaties à l'avant (Parray et al., 2012). La plante est hermaphrodite et entomogame (Doerper, 2008).



Figure 05 : Feuilles et fleurs de *Ruta graveolens* (Asgarpanah, 2012).

6.2.3. Position systématique

La position systématique de la plante *Ruta graveolens* est donnée dans le **Tableau 03**. (wiart, 2006 ; Bonnier, 1999 ; Takhtajan, 2009).

Tableau 03 : La position systématique de la plante *Ruta graveolens*.

Règne :	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta (plantes vasculaires)</i>
Super division	<i>Spermatophyta (plantes à graine)</i>
Division	<i>Magnoliophyta (plantes à fleurs)</i>
Sous division	<i>Angiospermae</i>
Classe	<i>Magnoliopsida (dicotylédons)</i>
Sous classe	<i>Rosidae</i>
Super ordre	<i>Rutanae</i>
Ordre	<i>Sapindales</i>
Famille	<i>Rutaceae</i>
Genre	<i>Ruta</i>
Espèce	<i>Ruta graveolens</i>

6.2.4. Répartition géographique

La rue fétide est une espèce méditerranéenne, relativement commune dans toute l'Algérie septentrionale, au nord-est de l'Afrique, au sud de l'Europe et au sud-ouest de l'Asie (**Baba aissa, 1999**). Selon **Mioulane (2004)**, cette plante fréquente les lieux stériles des provinces méridionales, les endroits secs et ensoleillés, les pentes rocheuses, et les prairies sèches. Elle est aussi cultivée dans les jardins.

6.2.5. Utilisations de la plante *Ruta graveolens*

6.2.5.1. Dans le domaine médical

La rue est prescrite pour régulariser l'apparition des règles, car elle a un effet stimulant sur les muscles de l'utérus. En Europe, elle sert à soigner des pathologies aussi diverses que l'hystérie, l'épilepsie, le vertige, la colique, les parasites intestinaux, l'empoisonnement et les affections des yeux. Dans ce dernier cas, on utilise la rue en infusion, que l'on applique sur les yeux cernés ou fatigués, mais également pour « améliorer la vue » (**Iserin, 2001**).

On prescrit aussi la rue contre la sclérose en plaques et la paralysie de Bell. La rutine a pour particularité de renforcer les parois des vaisseaux sanguins et d'abaisser la tension (**Iserin, 2001**).

Il a été démontré que les extraits de rue ont une puissante activité anticancéreuse, manifestée par de puissants effets antiprolifératifs et anti-survie sur les cellules cancéreuses (**Mancuso et al., 2015**).

- Utilisations médicinales en médecine traditionnelle

- L'utilisation locale de ce médicament avec du miel est un bon traitement pour la paralysie, les tremblements, les articulations douleur et troubles nervins (**Parray et al., 2012**).
- La décoction de *Ruta graveolens* lorsqu'elle est utilisée comme lavement soulage la colite, les flatulences et les flatulences colite (**Parray et al., 2012**).
- L'infusion de feuilles de *Ruta graveolens* est utilisée sous forme de goutte nasale pour traiter la paralysie infantile (**Parray et al., 2012**).

6.2.5.2. Dans le domaine alimentaire

En gastronomie, la rue est utilisée pour son arôme piquant typique et le goût très amer de ses parties aériennes, principalement pour aromatiser certaines préparations de viande et d'œufs et pour préparer une boisson alcoolisée traditionnelle (*grappa alla ruta*) populaire dans le nord de l'Italie et en Croatie (**Mancuso et al., 2015**).

Tableau 04 : Usages médicaux de *Ruta graveolens* sur côte amalfitaine (Province de Salerne, Italie)
d'après de (Feo et Senatore, 1993).

Partie utilisée de la plante	Formulation	Usages interne ou externe	Utilisation populaire
Fruits	Jus	Externe	Hémostatique, anti-infectieux oculaire
Parties aériennes	Infusion	Interne	Appétant, tonique, laxatif modéré, contre les rhumatismes et les maux de tête accompagnés de vertiges
Parties aériennes	Décoction	Interne	Vermifuge, abortif, vasorégulateur périphérique, antidote pour poison
Parties aériennes	Décoction	Externe	« halt subcutaneous bleeding » décongestionnant de la peau, contre les rhumatismes
Feuilles séchées	Poudre	Externe	Antiparasitique

6.3. La plante *Peganum harmala*

6.3.1. Présentation de la plante *Peganum harmala*

Peganum harmala est une plante de la famille des *Zygophyllaceae*, les plantes appartenant à cette famille, sont très reconnaissables à l'aspect de ses herbes, arbustes, ou arbres. Dans la classification de Sheahan et Chase, (1996) constituent une famille avec environ 285 espèces, qui se subdivisent en cinq sous-familles et 27 genres. Elles sont largement distribuées dans les régions arides, semi-arides, les terrains salés, et les pâturages désertiques (Tahrouch et al., 1998 ; Asgarpanah et Ramezanloo, 2012). Le genre *Peganum* tient son nom du grec et est attribué aux espèces de la rue, alors que le nom de l'espèce *harmala* dérive de celui de la ville Libanaise Hermel (Mars, 2009).

6.3.2. Nomenclature et appellation

Nom latin : *Peganum harmala*

Nom commun : Rue sauvage ; Rue verte ; Pégane (Lamchouri et al., 2000).

Nom vernaculaire :

- Harmel ; Armel ; L'harmel (L'Afrique du Nord) (Mahmoudian et al., 2002).

- Pégane et Rue sauvage (en France) (**Asgarpanah et Ramezanloo, 2012**).
- Harmel Sahari (**en Algérie**).
- Bender tiffin (en Maroc) (**Achour et al., 2012**).
- Bizr el harmel (en Egypte) (**Arab, 2000**).
- Espand, Espand (Iran) (**Mina et al., 2015**).
- African Rue, Mexican Rue ou Turkish Rue (Etats-Unis) (**Mahmoudian et al., 2002**).
- yüzerlik or üzerli (en Turquie) (**Frison et al., 2008**).

6.3.3. Caractéristiques botaniques

Plante herbacée vivace, à tiges ordinairement peu rameuses, de 30 à 90 cm de haut, à entre nœuds assez courts, densément feuillés.

- ✓ **Les tiges** dressées, très rameuses, qui disparaissent à l'hiver, portent des feuilles alternes, découpées en lanières étroites. A leur extrémité, s'épanouissent les fleurs solitaires, assez grandes (25 à 30 mm) (**Figure 06**).
- ✓ **Les feuilles** : sont allongées et irrégulièrement divisées en multiples lanières très fines pouvant atteindre 5x5 cm. Les feuilles supérieures ne dépassent pas 1,5 mm de largeur (**Figure 06**).
- ✓ **Les fleurs** : La plante présente des fleurs assez grandes (25 à 30 mm), d'un blanc-jaunâtre veinées de vert avec cinq sépales inégaux persistants qui dépassent la corolle et des pétales crème lavés de rose-orangé à nervures jaunes, oblongs et subsymétriques (**Figure 06**). Elles sont monoïques dotées de dix à quinze étamines à anthères longues de 8 mm à filets très élargis et plat dans leur partie inférieure, et à gynécée de 8-9 mm de longueur ; des ovaires globuleux de trois à quatre loges et des stigmates à 3 carènes insensiblement atténués en style (**Chopra et al., 1960 ; Maire, 1993 ; Ozenda, 1991**).



Figure 06 : Les fleurs et feuilles de la plante *Peganum harmala* (Weckesser, 2013).

- ✓ **Les fruits** sont des petites capsules sphériques avec trois chambres de 6 à 10 millimètres de diamètre qui se tient droit sur sa tige et déprimées au sommet. (Yousefi et al., 2009). Les capsules contiennent plus de 50 petites graines triangulaires (Asghari et al., 2004 ; Moloudizargari et al., 2013), (Figure 07).
- ✓ **Les graines** nombreuses, petites, anguleuses, subtriangulaires, de couleur marron foncé, dont le tégument externe est réticulé, ont une saveur amère (Figure 07), (Chopra et al., 1960).



Figure 07 : Les fruits et les graines de la plante *Peganum harmala* (Weckesser, 2013).

- ✓ **La racine** est oblongue, dure et garnie de fibres. Elle peut atteindre plus de 3m de profondeur (Quézel et Santa, 1963). De nouvelles pousses peuvent se développer à partir des racines latérales (Roche, 1991 ; Parsons et Cuthbertson, 1992).

6.3.4. Classification botanique

Bien qu'il appartienne à la famille des *Zygophyllaceae* mais sa position taxonomique est encore discutable et on a proposé une famille séparée *Nitrariaceae* pour ce genre (Shehan et chase, 1996).

Tableau 05 : La classification de *Peganum harmala* selon (Ozenda, 1991).

Règne :	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Spermatophytes</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Sous classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Sapindales</i>
Famille	<i>Zygophyllaceae</i>
Genre	<i>Peganum</i>
Espèce	<i>Peganum harmala L</i>

6.3.5. Répartition géographique

Cette plante est largement distribuée à travers le monde. Elle est particulièrement répandue dans les zones arides et sèches méditerranéennes dans les sols sableux et légèrement nitrés (Iserin, 2001).

- ✓ En Europe, elle est très commune dans les zones sèches, de l'Espagne à la Hongrie jusqu'aux steppes de la Russie méridionale.
- ✓ En Asie, elle est répandue dans les steppes de l'Iran et du Turkestan jusqu'au Tibet.
- ✓ Aux Etats-Unis, on la trouve en Arizona et au Texas ou on la nomme « Mexican rue ».
- ✓ En Afrique, elle est, particulièrement, abondante dans les zones arides méditerranéennes du Moyen-Orient au Nord de l'Afrique (Tunisie, Sahara septentrional et central en altitude, Hauts-Plateaux algériens et Oranie, Maroc oriental) (Hammiche et al., 2013).
- ✓ En Algérie, *Peganum harmala L* est commune aux hauts plateaux, au Sahara septentrional et méridional, et aux montagnes du Sahara central. Il est réputé pour les terrains sableux, dans les lits d'oued et à l'intérieur des agglomérations (Ozenda, 1991).

6.3.6. Utilisation traditionnelle de la plante

L'Harmel est très utilisé en médecine traditionnelle algérienne et maghrébine pour traiter différents troubles :

- **Gynécologiques** : emménagogue, abortif, stérilité féminine.
- **Généraux** : hypnotique, antipyrétique, antalgique, antitussif.
- **Digestifs** : coliques, troubles digestifs (**Goel et al., 2009**).
- **Cutanés** : antiseptique et cicatrisant, dermatoses (eczémas) et brûlures, conjonctivites purulentes et blépharites, alopecie (**Monsif et al., 2004**).
- **Infectieux** : tétanos néonatal ; anthelminthique ; antipaludique ; oreillons (**Idrissi Hassani L. M. et Hermas J., 2008**).

Et aussi utilisé contre autres maladie tel que : diabète, hypertension artérielle, empoisonnement, venins de serpent, le rhumatisme et les problèmes nerveux. L'harmine permet d'atténuer les tremblements de la maladie de Parkinson (**Iserin, 2001**). Quelques formes en usage au Maghreb sont rapportées ci-dessous :

- **Usage externe** : La plante fraîche soit hachée et employée en cataplasmes, soit après extraction du suc pour la composition d'un liniment à base de graisse de mouton, ou bien utilisé la plante sèche ou les graines sous forme de fumigations. Les huiles des graines obtenues par décoction des graines dans l'huile d'olive sont très efficaces. La plante séchée, ou bien les graines, pulvérisée et tamisée pour donner la poudre de l'Harmel et aussi la décoction de racines (**Boufek, 1982**).
- **Usage interne** : Des graines : une cuillère à café, soit environ 2,5 g, avalées telles quelles avec un verre d'eau ou mélangées au miel ou pilées avec de l'huile d'olive, plante fraîche hachée et bouillie dans l'huile, ou bien les feuilles sèches en décoction (**Boufek, 1982**).

6.3.7. Autre utilisations

La plante *Peganum harmala* est active sous forme de vapeur, où elle est efficace contre les algues, dans de concentrations plus élevées pour les animaux d'eau et mortel pour les moisissures, les bactéries et les parasites intestinaux (**Chopra et al., 1986**).

6.4. La plante *Artemisia*

6.4.1. Généralités

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des *Asteraceae* : c'est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille ; il contient un nombre variable d'espèces allant jusqu'à 400 espèces (Mucciarelli et Maffei., 2002).

Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les acides cafféoylquinic, les coumarines, les huiles essentielles, les stérols et les acétylènes (Kundan et Anupam., 2010).

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés thérapeutiques, elles sont non seulement utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (Mirjalili et al., 2007).

6.4.2. Présentation de la plante *Artemisia*

Est une plante caractérisée par son arôme pénétrant, agréable et fort, tandis que le goût est extrêmement amer (Fleisher et al., 2002). La période de floraison est généralement entre mai et juin jusqu'en octobre dans certaines régions (Vernin et al., 1995). Cette espèce a une croissance végétative en automne (grandes feuilles) puis à la fin de l'hiver jusqu'au printemps (petites feuilles) (Mohamed et al., 2010).

6.4.3. Nomenclature

- **Nom scientifique** : *Artemisia herba-alba* synonyme *Artemisia herba-alba* Asso ou *Artemisia incultadel* (Quezel et Santa, 1963).

- **Noms vernaculaires** : *Wormwood* (Anglais) (Aouadhi, 2010) ; Armoise blanche (Français) ; Chih (Arabe) dans toute l'Afrique du Nord et en Moyen-Orient et dans d'autres régions sous le nom d'Ifsi et Zezzare (Quezel et Santa, 1963).

6.4.4. Origine

L'*Artemisia* est le nom de guerre des armoises, il provient de celui de la déesse grec de la chasse Artémis, la diane des romains, patronne des vierges à cause des bienfaits de cette herbe. Herba alba signifie herbe blanche.

Plusieurs noms sont attribués à l'armoise blanche tels le thym des steppes, absinthe du désert. En Afrique du nord et en moyen orient, on l'appelle communément "Shih" ou "Chih".

6.4.5. Description botanique

Artemisia (Armoise blanche) (**Figure 08**) est une espèce du genre *Artemisia* qui appartient à la famille des *Asteraceae* (**Baba Aissa, 2000**). C'est une plante herbacée à tiges ligneuses, ramifiées et tomenteuses de 30 à 50 cm de long ; les feuilles sont courtes, sessiles, pubescentes et argentées ; les capitules sont groupés en panicules de petite taille de 1,5 à 3 mm allongés et étroits contenant de 3 à 6 des fleurs jaunâtres ; les bractées externes de l'involucre sont orbiculaires et pubescentes ; les fruits sont des akènes, la croissance végétative de l'armoise blanche prend lieu en automne la floraison commence en juin et se développe essentiellement à la fin de l'été (**Ghrabi et Sand, 2005**).



Figure 08 : La plante de *Artemisia* région Hammamat wilaya de Tébessa.

6.4.6. Classification de l'*Artemisia*

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des composés, il comprend environ 400 espèces regroupées en quatre sections : *Abrotanum*, *Absinthium*, *Seriphidium* et *Dracunculus*.

La classification de l'*Artemisia* la plus utilisée dans la systématique du genre *Artemisia* est celle donnée par **Quenzel et Santa** et que nous pouvons résumer comme suit dans le **Tableau 06**.

Tableau 06 : Classification de l'armoise blanche.

Règne :	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Phanérogames</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones gamopétales</i>
Sous classe	<i>Gamopétal épiqueyne isostermes</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Synanthérées ou composées</i>
Sous famille	<i>Tubuliflores</i>
Tribu	<i>Anthemidées</i>
Genre	<i>Artémisia</i>
Espèce	<i>Artémisia herba alba</i>

6.4.7. Habitat et distribution

L'*Artemisia* est un arbuste largement répandu dans les zones semi-arides à arides autour du bassin méditerranéen (Quezel et Santa, 1962 ; Nabli, 1989), les steppes de la région irano-turaniennne, de la péninsule ibérique, l'Afrique du nord (Algérie, Maroc et Tunisie) et le Moyen-Orient. En Algérie, elle est abondante dans les larges steppes des hauts plateaux et le désert du Sahara (Quezel et Santa, 1962 ; Djebaili, 1984).

6.4.8. Intérêt de la plante

6.4.8.1. Industriel

Les extraits de ses huiles essentielles sont utilisés comme arômes, son intérêt économique c'est un pâturage permanent de certaines zones désertiques, son odeur caractéristique la rend très prisée par le cheptel ovin. (Aidoud, 1984).

6.4.8.2. Médicinale

Les racines d'Armoise blanche ont été employées avec succès en Allemagne contre l'épilepsie. (Hatier, 1989).

L'armoise blanche est utilisée comme une plante amère, aromatique, digestive et anticonvulsive, mais son action est un peu plus faible que celle des autres armoises (**Grund, 1983**).

La médecine populaire l'utilise contre les troubles nerveux, les insomnies et dans les soins des maladies féminines.

Elle est considérée Comme une plante antidiabétique adjuvant dans les soins du diabète. (**Grund,1983**).

6.4.8.3. Culinaire

A la maison l'armoise blanche est utilisée comme un remède pour calmer les douleurs abdominales, le foie sous forme de tisane.

Elle est vermifuge (élimine le vers : oxyures et ascaris). Elle facilite la digestion, elle est aussi utilisée comme remède contre les troubles intestinaux, la rougeole et les faiblesses musculaires (**Institut National Agronomique El Harrach,1988**).

Chapitre II LES HUILES ESSENTIELLES

1. Définition des huiles essentielles

Une huile essentielle (HE) selon la pharmacopée est un produit de composition complexe renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux. (AFNOR).

Les huiles essentielles appelées aussi essence végétale, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal : elles sont odorantes et très volatiles, c'est -à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air (Pardini et Lucheroni, 1996).

Selon La Norme ISO 9235, elle désigne un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des plantes contenant des citrals, soit par distillation sèche.

2. Répartition

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les huiles essentielles sont réparties dans une cinquantaine de familles dont beaucoup sont des *Lamiaceae*, des *Myrtaceae*, des *Rutaceae*, des *Asteraceae*, mais aussi des *Apiaceae*. Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : sommités fleuries des *Lamiacées* (lavande vraie, sauge officinale), graines (ambrette), racines (vétiver), rhizome (gingembre), fruits (anis, fenouil), bois (santal), feuille (eucalyptus), oléorésines (myrrhe), encens et du baume de tolu (Franchomme et Pénoël, 1990).

3. Localisation

Selon (Bakkali et al., 2008), Les HEs peuvent être synthétisées par tous les organes de la plante, notamment les bourgeons, les fleurs, les feuilles, les tiges, les rameaux, les graines, les fruits, les racines, le bois ou l'écorce. Les huiles essentielles localisées dans les cellules sécrétoires, les cavités, les canaux, les cellules épidermiques ou les trichomes glandulaires.

Les teneurs en HE sont généralement très faibles, à l'exception de celle du bouton floral de giroflier où le rendement en HE atteint largement les 15% (Makhlouf, 2002).

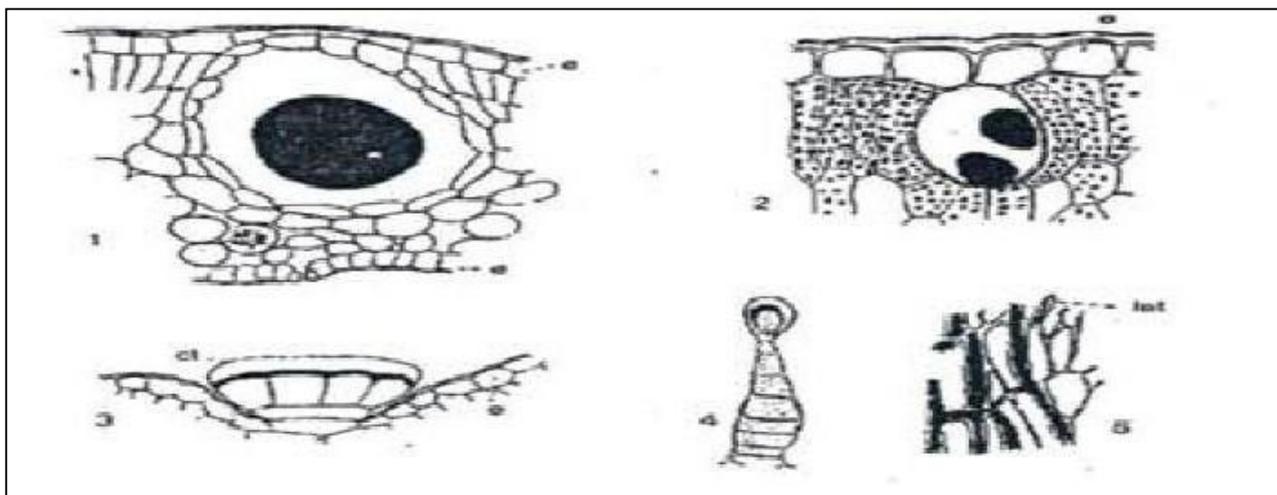


Figure 09 : Structures histologiques des plantes (Guignard, 1996).

4. Composition chimique

Les huiles essentielles ont une composition assez complexe, contenant de nombreuses espèces chimiques, (Degryse et al., 2008). Et peut varier selon l'organe, les facteurs climatiques, la nature du sol, les pratiques culturales et le mode d'extraction. Les HE sont un mélange de constituants qui appartiennent à trois catégories de composés terpéniques, aromatiques et variés. (Guignard J, 1996).

4.1. Les Terpénoides

Les terpènes sont une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Ce sont des composants majeurs de la résine et de l'essence de térébenthine produite à partir de résine. (Padua, 1999). Ce sont les plus volatiles ils ont la masse moléculaire la moins élevée on distingue les monoterpènes et les sesquiterpènes. (Wichtl et Anton, 1999).

4.1.1. Les Monoterpènes

Ils sont cycliques ou monocycliques ou bicycliques, ils contribuent parfois plus de 90% de l'huile essentielle, (Bruneton, 1993).

4.1.2. Les sesquiterpènes

L'allongement de la chaîne accroît le nombre de cyclisation possibles. Ainsi, plus d'une centaine de squelettes différents ont été décrits, (Couderc, 2001).

4.2. Les composés aromatiques

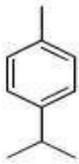
Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Kurkin, 2003).

Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol l'anéthole, l'estragole et bien d'autres (Bruneton, 1999).

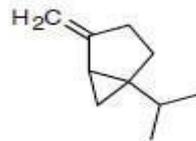
1. Terpenes

-Monoterpenes

Carbure monocyclic
Cymene ("y") or p.cymene



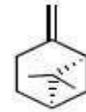
Sabinene



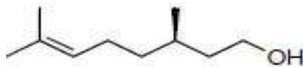
Carbure bicyclic
Alpha-pinene



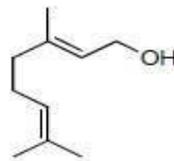
Betapinene



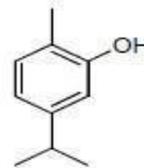
Alcohol acyclic
Citronellol



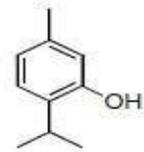
Geraniol



Phenol
Carvacrol

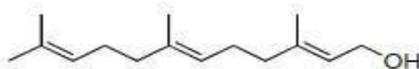


Thymol

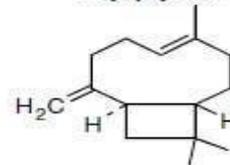


-Sesquiterpenes

Carbure
Farnesol

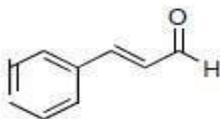


Alcohol
Caryophyllene

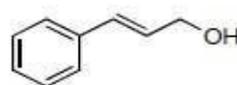


2. Aromatic compounds

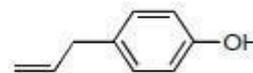
Aldehyde
Cinnamaldehyde



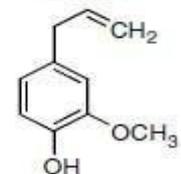
Alcohol
Cinnamyl alcohol



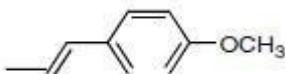
Phenol
Chavicol



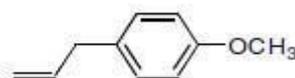
Phenol
Eugenol



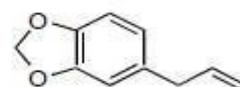
Methoxy derivative
Anethole



Methoxy derivative
Estragole

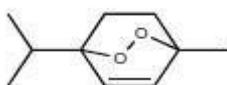


Methylene dioxy compound
Safrole



3. Terpenoides (Isoprenoides)

Ascaridole



Menthol

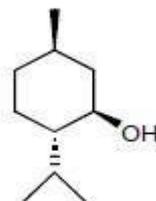


Figure 10 : Les classes des constituants chimiques des huiles essentielles (Touré, 2015).

5. Propriétés physico-chimiques

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène (**Bernard et al., 1988 ; Bruneton, 1993**). Les principales caractéristiques sont :

- Liquides à température ambiante.
- N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.
- Volatiles et très rarement colorées.
- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes.
- Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse.
- Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau.
- Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques.
- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air.

6. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales (**Sallé, 2004**). Les HE sont obtenus à partir des plantes naturelles par plusieurs méthodes d'extraction, telles que la distillation à la vapeur d'eau, l'enfleurage. (**Li et Chemat, 2014**).

Le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), de la nature des composés (les flavonoïdes ou les tanins), qui détermine la qualité des huiles essentielles. (**Tongnuanchan et Benjaku, 2014**).

6.1. Distillation et entraînement à la vapeur

Dans ce type de distillation, le matériel végétal est placé sur une grille perforée à travers laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. (**Bassereau et al., 2007**).

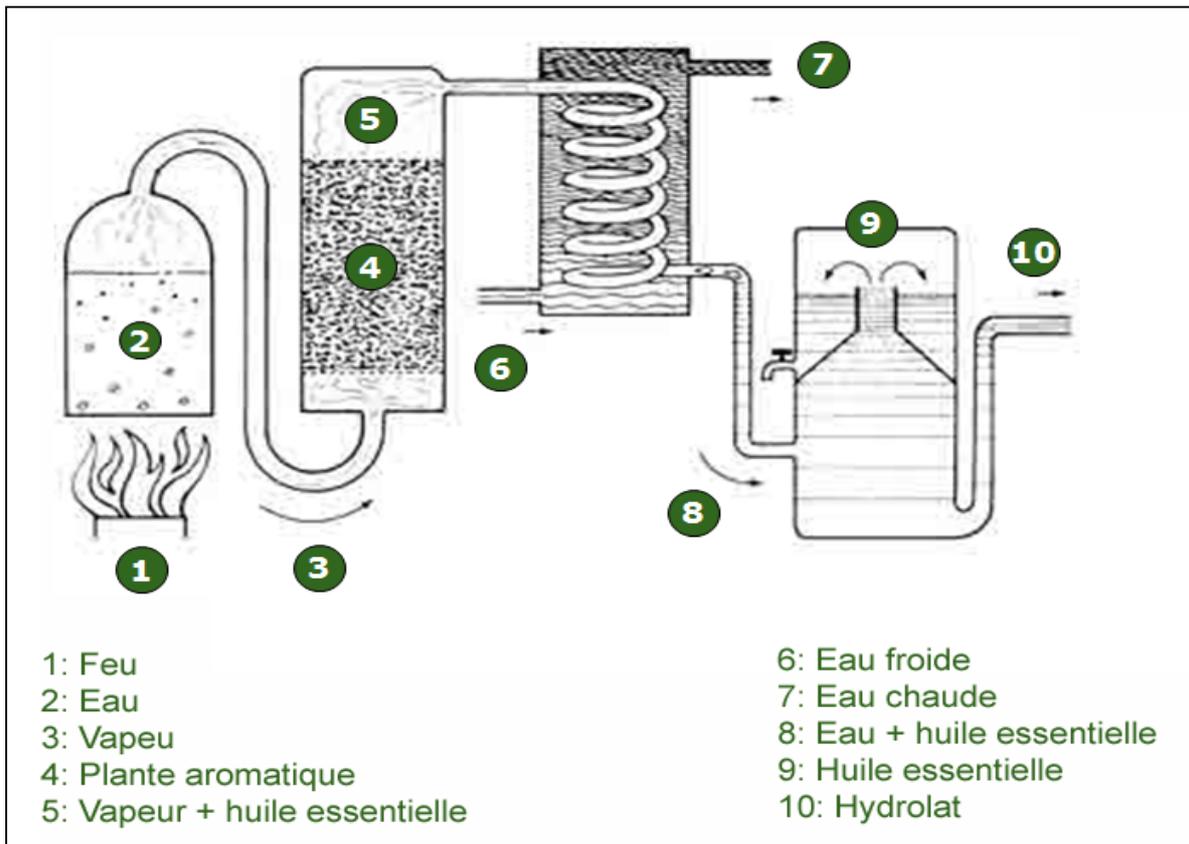


Figure 11 : Schéma de distillation des huiles essentielles à échelle industrielle par entraînement à la vapeur d'eau. (Bassereau et al., 2007).

6.2. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple et de ce fait, la plus anciennement utilisée. Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. Cependant, l'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (Li et Chemat, 2014).

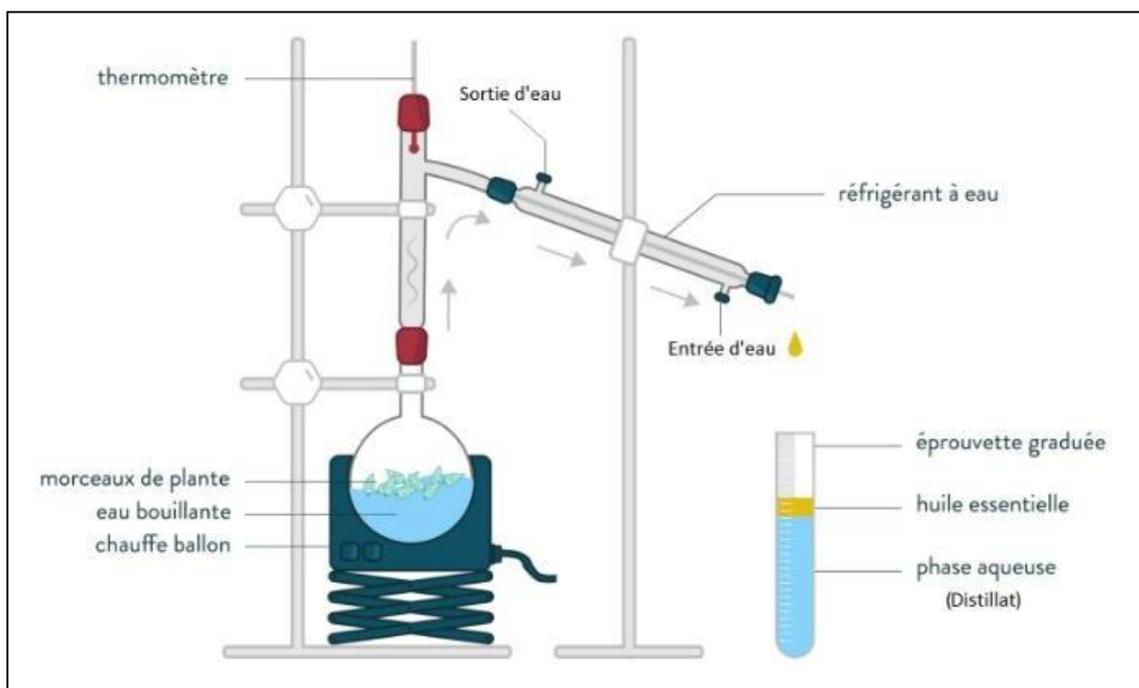


Figure 12 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation.

6.3. Extraction par solvants volatils

C'est une méthode qui est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation. Elle est basée sur le pouvoir qu'ont certains solvants organiques à dissoudre les composants des huiles essentielles.

Dans ce procédé un épuisement des plantes est effectué à l'aide d'un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé « concrète ». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à « l'absolu » (Belaiche, 1979 ; Duraffourd *et al.*, 1990).

Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques : sélectivité, stabilité, inertie chimique, température d'ébullition pas trop élevée pour permettre son élimination totale et pas trop faible pour éviter les pertes, sécurité de manipulation c'est-à-dire non toxique ou inflammable (Bruneton, 1999).

6.4. Extraction par enfleurage

Cette technique est réservée aux fleurs fragiles (jasmin, rose) ne supportant pas les températures élevées (cependant la rose de Damas peut être distillée dans un but thérapeutique). Les fleurs mises dans un corps gras pendant plusieurs jours, le saturent en essence et produisent des pommades aromatiques. Les préparations obtenues peuvent être dissoutes dans de l'alcool à 35 °C et évaporées sous vide afin de donner des absolus (Larousse, 2014).

7. Conservation des huiles essentielles

La conservation des huiles essentielles est difficile, ceci est dû à l'instabilité de leurs molécules. De ce fait, les possibilités de dégradation sont nombreuses. Il est possible de limiter celles-ci en utilisant des flacons de faible volume en aluminium, en acier inoxydable ou en verre brun, entièrement remplis et fermés de façon étanche, stockés à basse température, ou conservés sous atmosphère d'azote (Bruneton, 1993).

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque cinq ans, sauf les essences de Citrus qui se garde un peu moins longtemps (Raynaud, 2006).

Selon les (Norme AFNOR NF T 75-001, 1996), Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles, ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HEs.

8. Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origines végétales restent identiques quel que soit le « type » d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale, les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation.

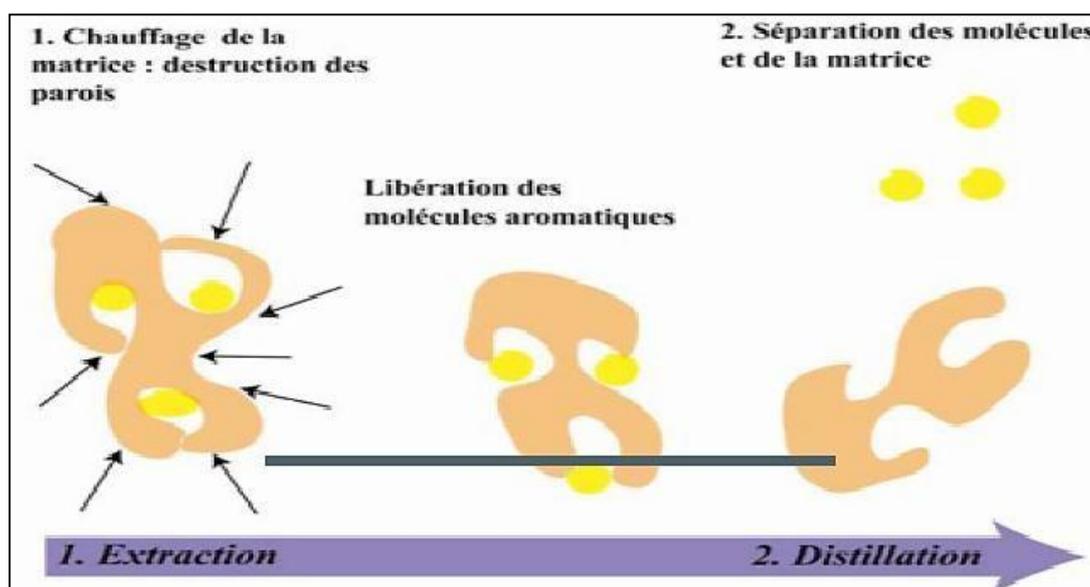


Figure 13 : Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle (MARIE ELISABETH et LUCCHESI, 2005).

9. Mécanisme d'action antibactérienne des huiles essentielles

Les principaux mécanismes et sites d'action des différents constituants des essentielles sont :

- L'altération de la paroi cellulaire.
- La dégradation de la membrane cytoplasmique et l'altération des protéines membranaires.
- La fuite du contenu cellulaire et la coagulation du cytoplasme.
- L'épuisement de la force de mouvement des protons (Goetz&Ghedira, 2012).

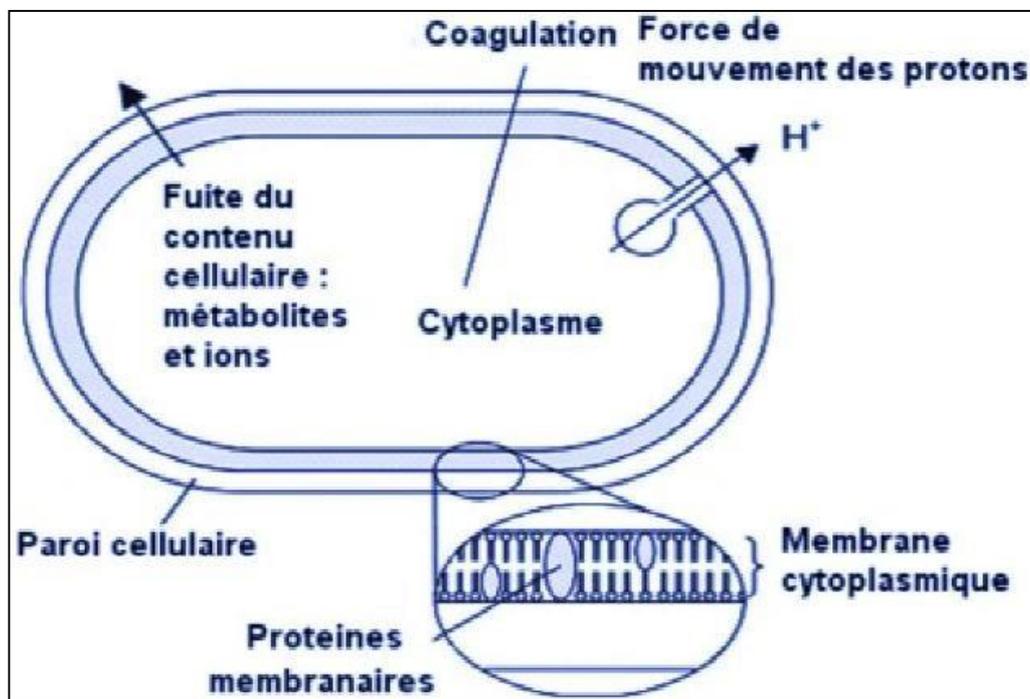


Figure 14 : Les sites d'action des constituants des huiles essentielles sur les bactéries (Goetz&Ghedira, 2012).

Chapitre III Usages et activités biologiques des huiles essentielles

1. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

En raison de leurs diverses propriétés, les plantes médicinales et leurs essences présente un grand intérêt, en Alimentation (par leur activité anti-oxydante et aromatisant), en pharmacie (par leur pouvoir antiseptique, analgésique...etc), en parfumerie et en cosmétique (par leur propriété odoriférante), Et en agriculture. Les HEs sont devenues une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance.



Figure 15 : L'utilisation des plantes médicinales et de leurs huiles essentielles.

1.1. En pharmacie

Les huiles essentielles sont majoritairement destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses administrées par voie orale (**Bruneton, 1999**). De même, elles peuvent être utilisées pour leur activité antiseptique, en particulier dans le milieu hospitalier (**Edris, 2007**).

Les propriétés pharmacologiques des HE leurs confèrent un pouvoir antiseptique contre les bactéries, champignons et levures, en plus des propriétés bactériostatiques, bactéricides, vermicide, fongicides, antiseptique, insecticides.

En pharmacie On distingue nombreux produits tels que les pommades, les crèmes et les gels à base d'huiles essentielles permettraient de faciliter l'administration des médicaments par voie transdermique et grâce à la propriété de ces huiles à pénétrer aisément dans la peau. Généralement ces

produits sont destinés à soulager les entorses, les courbatures, les allergies articulaires ou musculaires (**Razafindrakoto, 1988 ; Dethier, 1996 ; Edris, 2007**).

1.2. En cosmétologie

Dans le domaine cosmétologie, les HEs sont employés en tant qu'agent conservateurs grâce à leurs propriétés antimicrobiennes qui permettent d'augmenter la durée de conservation du produit. Et grâce à leurs caractéristiques odorantes en raison de leur forte volatilité permet de ne laisse pas de trace grasse. Ils ont utilisé dans la formulation de parfums de produits d'entretien personnels ou ménagers domestiques ou industriels (**Aburjai et natsheh, 2003**).

1.3. En industries agroalimentaires

Selon (**Conner, 1993**), les HEs possèdent des profils de composition chimique différents, elles sont utilisées comme agents naturels de conservation des aliments. Leur utilisation comme agents de conservation est due à la présence de composés ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes.

Elles sont utilisés comme agents aromatisants naturels, les HEs dans l'aromatisation ne cesse de croitre au dépend des composés aromatiques de synthèse (**Bruneton,1993**).

1.4. En agriculture

Dans ce contexte environnemental, les pesticides naturels basés notamment sur les huiles essentielles, représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons (**Isman, 2000 ; Dayan et al., 2009**). D'après (**Regnault- Roger et Hamraoui, 1995**), Les modes d'application sont très variés soit par fumigation, attractif ajouté aux pièges à phéromones, répulsif ou par contact.

Les HEs présentent d'autres caractéristiques qui en font des produits adaptés dans la lutte contre les nuisibles. Parmi celles-ci (leur prix faible et approvisionnement assurés par une production mondiale importante pour de nombreuses huiles essentielles, leurs multiples modes et sites d'action sur les insectes, leur faible toxicité pour les mammifères, leur faible persistance dans l'environnement due à leur volatilité (**Isman et al., 2010**).

2. Les activités biologiques des huiles essentielles

Le rôle physiologique des huiles pour le règne végétal est encore inconnu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et propriétés biologiques (**Touré ,2015**).

2.1. L'activité antibactérienne

2.1.1. Les bactéries

2.1.1.1. Introduction

L'organisme humain, est constamment exposé à une multitude de microbes (bactéries, virus, parasites, champignons). Il possède un système complexe de défense qui lui permet de rencontrer ou d'héberger ces microbes sans leur permettre d'envahir ses tissus. Cependant, dans certaines conditions, l'infection peut entraîner une maladie infectieuse grave. (Lu Q *et al.*, 2013).

Les infections bactériennes sont responsables de maladies allant de l'angine bénigne aux épidémies de choléra et de peste. Les bactéries sont des micro-organismes remarquablement adaptables, à l'origine de maladies graves ou de simple colonisation de la peau.

2.1.1.2. Structure des bactéries

Les bactéries sont des cellules procaryotes, leur ADN n'étant pas localisé dans un noyau. Beaucoup contiennent des structures circulaires d'ADN extra-chromosomique appelées plasmides. Il n'y a pas d'autres organites dans le cytoplasme que les ribosomes, qui sont de plus petite taille que ceux des cellules eucaryotes. A l'exception des mycoplasmes, les bactéries sont entourées par une paroi complexe, différente selon que la bactérie est à Gram positif ou négatif. De nombreuses bactéries possèdent des flagelles, des pili, ou une capsule à l'extérieur de la paroi. Dans une cellule bactérienne, on peut distinguer des éléments constants, trouvés chez toutes les espèces bactériennes et des éléments inconstants présents chez certaines espèces seulement. (Perron K *et al.*, 2010).

- **Notion Gram+/Gram-**

Paroi des bactéries à Gram positif : Elle est homogène, épaisse, et comporte le PG (90% de la paroi) lié aux acides teichoïques qui sont des unités répétées sucre, et aux acides lipoteichoïques. Paroi des bactéries à Gram négatif : Elle a une structure complexe, elle est plus fine que celle des Gram (+), elle constituée d'une fine couche de PG et une couche externe de la paroi dite membrane Externe est essentiellement une bicouche lipidique liée à des macromolécules rejetées vers l'extérieur appelées lipopolysaccharide (LPS) (Davies J *et Davies D.*, 2010). Sur le plan physiopathologique, le LPS, extrêmement toxique, représente l'endotoxine des bactéries à Gram négatif (Davies *et Davies*, 2010) On retrouve ces différences sur la figure ci-dessous. (Figure 16).

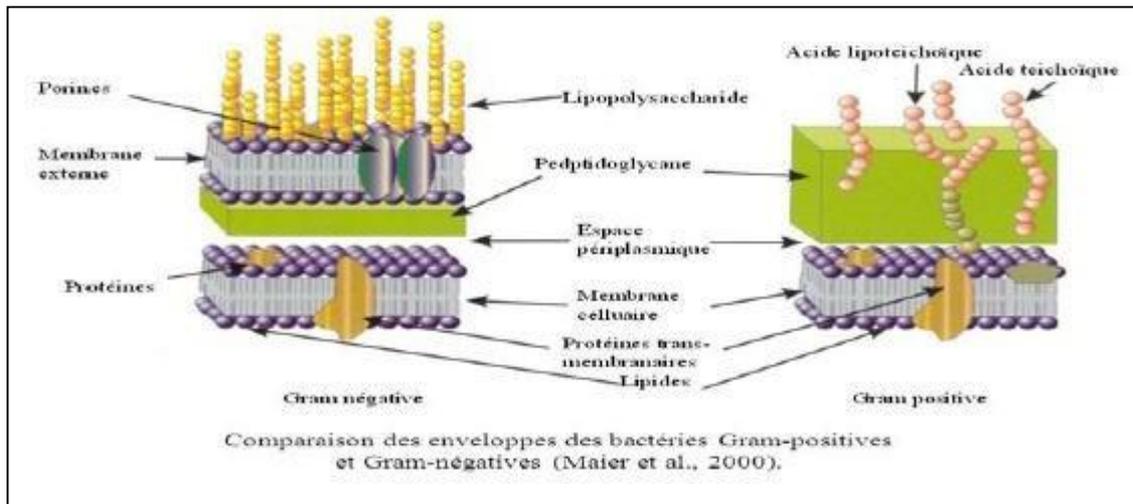


Figure 16 : comparaisons des enveloppes des bactérie gram+ et gram – (Maie et al., 2000).

2.1.2. Les antibiotiques

2.1.2.1. Définition des antibiotiques

Un antibiotique est une substance antibactérienne naturelle ou synthétique d'origine microbienne ou synthétisée chimiquement, capable d'inhiber spécifiquement la croissance d'autres micro-organismes par un mécanisme particulier jouant sur les mécanismes vitaux du germe (Gogny et al., 2001). Pour qu'il soit actif, un antibiotique doit pénétrer dans la bactérie, sans n'être détruit ni n'être modifié, se fixer sur une cible et perturber la physiologie bactérienne (Ogwara, 1981).

2.1.2.2. Effet des Antibiotique

Les antibiotiques exercent un effet bactéricide, ou bien à un effet bactériostatique. C'est la notion du bactériostase. Qui consiste en un ralentissement de la croissance bactérienne pouvant aller jusqu'à une absence de croissance. Donc c'est le pouvoir de destruction d'une partie de la souche bactérienne.

2.1.2.3. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration élevée de cet antibiotique (Lavigne, 2007). Alors ces micro-organismes ont développé trois types de mécanismes de résistance.

- Le premier est la production d'enzymes inactivatrices des antibiotiques
- Le deuxième est la modification des cibles des antibiotiques empêchant l'action de ces derniers, comme par exemple la résistance aux fluoroquinolones par modification des topoisomérases de classe II.
- Le troisième mécanisme est la réduction des concentrations intracellulaires d'antibiotique. Ce phénomène peut être dû à un transport actif vers l'extérieur de la cellule via des transporteurs

membranaires appelés pompes d'efflux et/ou à une imperméabilité (**Figure 17**) une même bactérie peut présenter plusieurs de ces mécanismes de résistance (**Bevilacqua, 2011**).

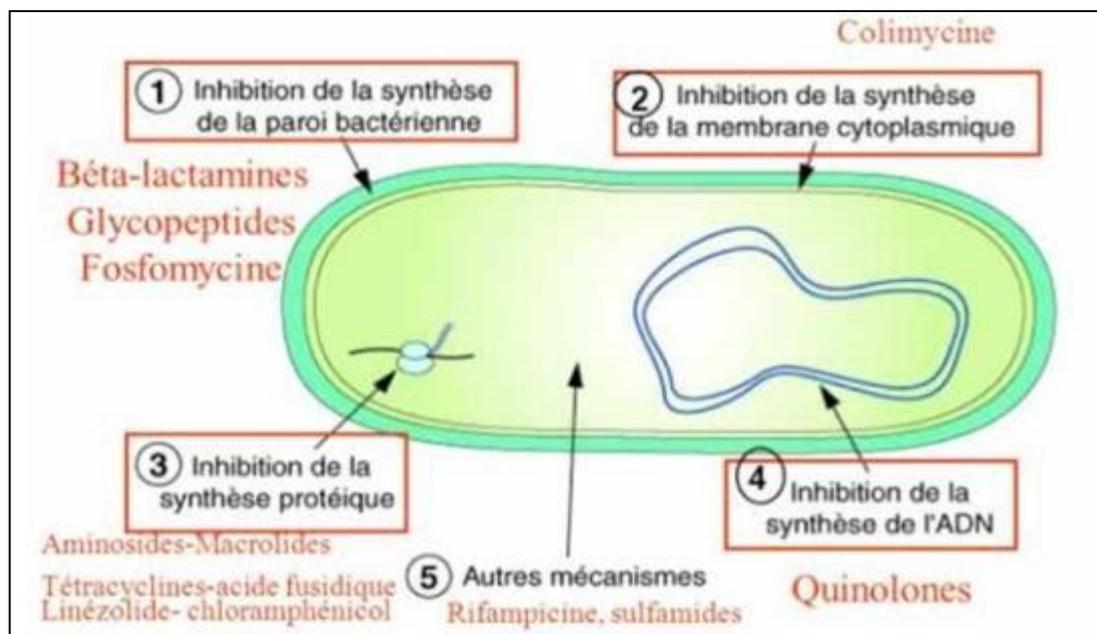


Figure 17 : Différents mécanismes de résistance des bactéries (**Bevilacqua, 2011**).

2.2. L'activité antifongique

2.2.1. Généralité sur les champignons

Les champignons sont des organismes filamenteux (moisissures) ou constitués d'une seule cellule (levures), capables de se développer sur la plupart des milieux, en particulier sur les aliments. On les trouve dans le sol, l'air, sur les revêtements de l'homme, des animaux, des plantes... etc. Les champignons ont tendance à apparaître comme des intrus (contaminants) sur les boîtes de Pétri dans les laboratoires de microbiologie, où ils sont immédiatement reconnaissables par leur aspect cotonneux. (**Jean et al., 2007**).

a) Les moisissures

Les moisissures se développent en quelques jours sur de nombreux aliments qui deviennent impropres à la consommation (exemples le pain et les fruits moisis). Par contre, leur développement sur ou dans les fromages est nécessaire pour l'affinage de nombre d'entre eux (camembert, roquefort et autres fromages à pâte persillée). Elles se reconnaissent facilement par leur végétation filamenteuse ou duveteuse appelée mycélium. Le mycélium est constitué par l'assemblage de très nombreux filaments : les hyphes. Ces filaments contiennent les éléments de structure déjà observés dans une cellule eucaryote : - des noyaux bien identifiés, entourés d'une membrane, une membrane plasmique, un cytoplasme avec des mitochondries, des ribosomes et des substances de réserve (en particulier du

glycogène). Ils sont entourés d'une paroi constituée essentiellement de chitine (substance constituant la carapace de certains insectes). Les filaments sont cloisonnés (les cloisons sont alors percées de pores) ou non cloisonnés. (**Jean et al., 2007**).

b) Les levures

Elles se présentent sous la forme de petites cellules (environ 10 µm dans la plus grande dimension) de forme variable mais souvent ovoïde. L'organisation cellulaire est de type eucaryote avec une paroi semblable à celle des autres champignons. Elles se multiplient par bourgeonnement. Les levures sont responsables de la fermentation alcoolique et interviennent donc dans la fabrication du vin, de la bière, du cidre, mais aussi du pain. Elles jouent un rôle non négligeable dans l'affinage des fromages. Les levures du genre *Candida*, en particulier l'espèce *Candida albicans*, sont pathogènes pour l'homme et responsables de lésions de la peau et des muqueuses, mais aussi d'infections profondes. Le muguet est une mycose à *Candida*, fréquente chez l'enfant, il se caractérise par le développement de *Candida albicans* sur l'ensemble de la muqueuse buccale. (**Jean et al., 2007**).

2.2.2. Les antifongiques

2.2.2.1. Mécanismes d'action antifongiques

➤ Inhibition de la formation de paroi cellulaire

La paroi cellulaire fongique est principalement constituée de β -glucanes. Si la synthèse de ces composés est inhibée, l'intégrité de la paroi cellulaire va se perturber (**Kim et al., 2001**).

➤ Rupture de la membrane cellulaire

Les ergostérols sont essentiels pour la membrane cellulaire. Si ces stérols sont liés par des médicaments antifongiques, ou si leur synthèse est inhibée par des inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol, l'intégrité de la membrane cellulaire va se rompre. La membrane devient alors étanche (**Kim et al., 2001**).

➤ Dysfonctionnement de la mitochondrie fongique

L'inhibition du transport d'électrons mitochondrial entraînera une réduction du potentiel membranaire mitochondrial. L'inhibition peut se produire via l'inhibition des pompes à protons dans la chaîne respiratoire, entraînant une réduction de la production d'ATP et la mort cellulaire subséquente (**Kim et al., 2001**).

➤ **Inhibition de la division cellulaire**

L'inhibition de la division cellulaire peut se produire par l'inhibition de la polymérisation des microtubules, inhibant ainsi la formation du fuseau mitotique (**Kang et al., 2010**).

➤ **Inhibition de la synthèse ARN / ADN ou synthèse protéique**

Si l'agent antifongique pénètre dans la cellule, par exemple via un transport actif sur des ATPases, et interfère avec l'ARN, il peut provoquer une synthèse d'ARN défectueuse et une inhibition de la transcription de l'ADN. L'inhibition de la synthèse des protéines est également une cible antifongique connue (**Kang et al., 2010**).

➤ **Inhibition des pompes d'efflux**

Les pompes à efflux sont présentes dans toutes les cellules vivantes et leur fonction est de transporter des substances toxiques hors de la cellule (**Kang et al., 2010**). Ce transport inclut souvent le transport du médicament accumulé hors de la cellule fongique. La surexpression des pompes d'efflux peut conduire à une pharmacorésistance. En inhibant les pompes d'efflux, on pense que la résistance aux médicaments peut être réduite (**Kang et al., 2010**).

2.2.3. Rôle des plantes médicinales dans la lutte contre les champignons

L'augmentation de la résistance fongique aux médicaments classiques et le fait que la plupart des médicaments antifongiques n'ont qu'une activité fongistatique, justifient la recherche de nouvelles stratégies de lutte contre les infections fongiques.

2.3. L'activité antioxydante

2.3.1. Stress oxydant

Selon **Wiseman et Halliwell (1996)** ; **Peltier et al., (2004)** ; **Bloomer et Fisher-Wellman (2008)** ; **Browne et al., (2008)** ; **Powers et al., (2010)** ; **Roede et Jones (2010)**, le stress oxydant est d'un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants (**Figure 18**). Il y a des accumulations à la suite d'une production excessive des radicaux libres qui peuvent être neutralisées par les systèmes antioxydants. Dans le cas normal avec une faible concentration d'espèces réactives, le déséquilibre est de courte durée qui sera suivi par un rééquilibrage (**Delattre et al. 2007**). Des altérations intracellulaires peuvent-être générés comme l'oxydation de l'ADN, des lipides et des protéines (**Davies, 2004**).

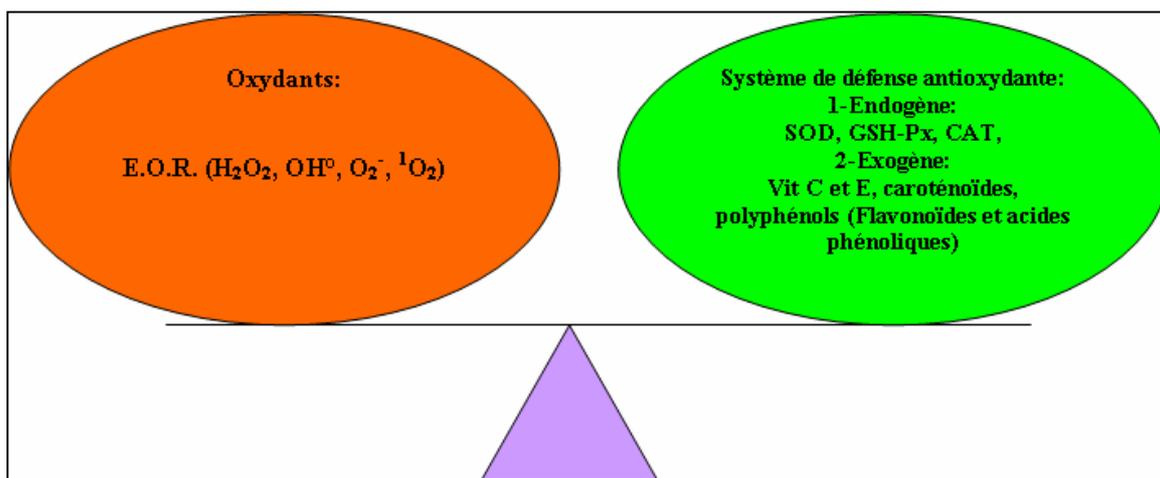


Figure 18 : Equilibre entre les oxydants et les antioxydants (état physiologique) (Prior et Gu, 2005).

2.3.2. Les radicaux libres

Un radical libre (RL) est une substance chimique qui possède un électron non apparié sur son orbitale externe ce qui leur confère une haute réactivité et une instabilité. Les radicaux libres agissent comme des accepteurs d'électrons et les arrachent donc à d'autres molécules pour atteindre la stabilité. Ce phénomène correspond une oxydation des molécules donneuses d'électron (Cossu et al., 1997 ; Gilgun-Sherki et al., 2001).

Selon Migdal et al., (2011), les RL se divisent en deux familles : les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les espèces réactives de l'azote (ERN).

2.3.3. Les antioxydants

Compte tenu de la toxicité des ERO, l'organisme dispose de plusieurs systèmes de défense antioxydants (Figure 19). Un antioxydant correspond à une substance capable, à concentration relativement faible, de retarder ou empêcher l'oxydation des substances c-a-d empêcher la formation de radicaux libres. (Halliwell et al., 1990 ; Zielinski et Portner, 2000 ; Mates et al., 1999 ; Comhair, 2002).

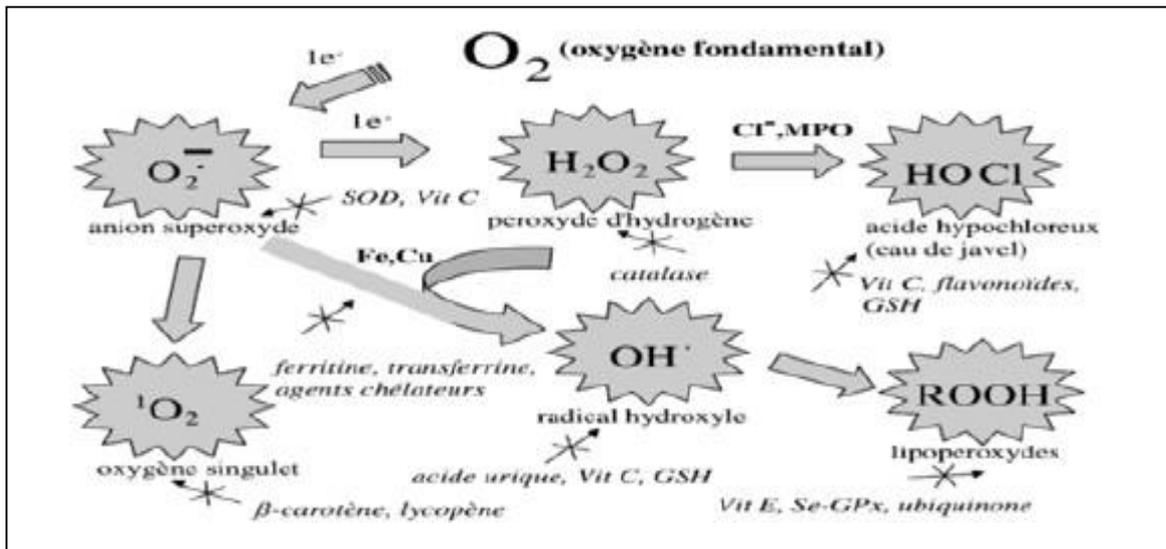


Figure 19 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Milbury et Richer, 2008).

Partie

Expérimentale

I. Matériel et méthodes

L'ensemble de ce travail a été effectué au sein du laboratoire de microbiologie du département de Biologie appliquée de la faculté des sciences exacte et science de la nature et de la vie, de l'Université Laarbi Tbessi de Tébessa pendant une durée de cinq (4) mois (Janvier – Avril 2022).

Le but de ce travail consiste à l'étude (in vitro) de :

- L'activité antibactérienne de quatre huiles essentielles (*Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens*, *Peganum harmala*, *Artemisia*) sur cinq souches bactériennes.
- L'activité antifongique de quatre huiles essentielles (*Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens*, *Peganum harmala*, *Artemisia*) sur huit souches fongiques.
- L'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Artemesia* par le test de DPPH.

1. Extraction des huiles essentielles

1.1. Matériel

1.1.1. Matériel végétal

Le **Tableau 07** représente le matériel végétal utilisé, la région de récolte, la durée de récolte et la partie utilisée de la plante.

Tableau 07 : Liste de matériel végétal avec la région de récolte, la durée de récolte et la partie utilisée.

Le matériel végétal	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Ruta graveolens</i>	<i>Peganum harmala</i>	<i>Artemisia</i>
La région de récolte	Cheria -Tébessa-	Boulhaf Dir -Tébessa-	Ouenza -Tébessa-	Hammamet -Tébessa-
La durée de récolte	-Novembre 2021 -Mars 2022	-Février 2022	- Janvier 2022	-Avril et Mai 2022
La partie utilisée	Aérienne	Aérienne	Aérienne	Aérienne

Les sites de récolte des plantes médicinales étudiées sont représentés dans la carte géographique **Figure 20**.



Figure 20 : Les sites de récolte des plantes étudiées (Cheria, Boulhaf Dir, Ouenza, Hammamet).

1.1.2. Matériel d'extraction

Le **Tableau 08** représente les différents matériel et les instruments utilisés pour la procédure d'extraction.

Tableau 08 : Liste d'appareils, verreries et produits utilisés pour l'extraction.

Appareils	Verreries et autres	Solvants et soluté
<ul style="list-style-type: none"> - Balance de précision - Hydro-distillateur de type Clevenger : <ul style="list-style-type: none"> • Chauffe-ballon • Ballon en verre pyrex 2000 ml • Une colonne • Un réfrigérant • Un collecteur 	<ul style="list-style-type: none"> - Eprouvette de 1000 ml - Flacon en verre du 5 ml - Pissette - Entonnoir - Bécher de 400 ml - Papier aluminium 	<ul style="list-style-type: none"> - Eau distillé - Acétone

1.2. Méthodes

1.2.1. Séchage des plantes

Les feuilles de *T. vulgaris*, *Ruta graveolens*, *Peganum harmala*, et de l'*Artemisia* fraîchement récoltées, ont été séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré loin de la lumière et de l'humidité pendant 21 jours. Une fois séchées (**Figures 21, 22**), elles ont été récupérées dans des sacs en papier,

puis transportées au laboratoire de biologie végétale afin de commencer les procédés d'extraction (Yakhlef, 2010 ; Medjekane, 2017).

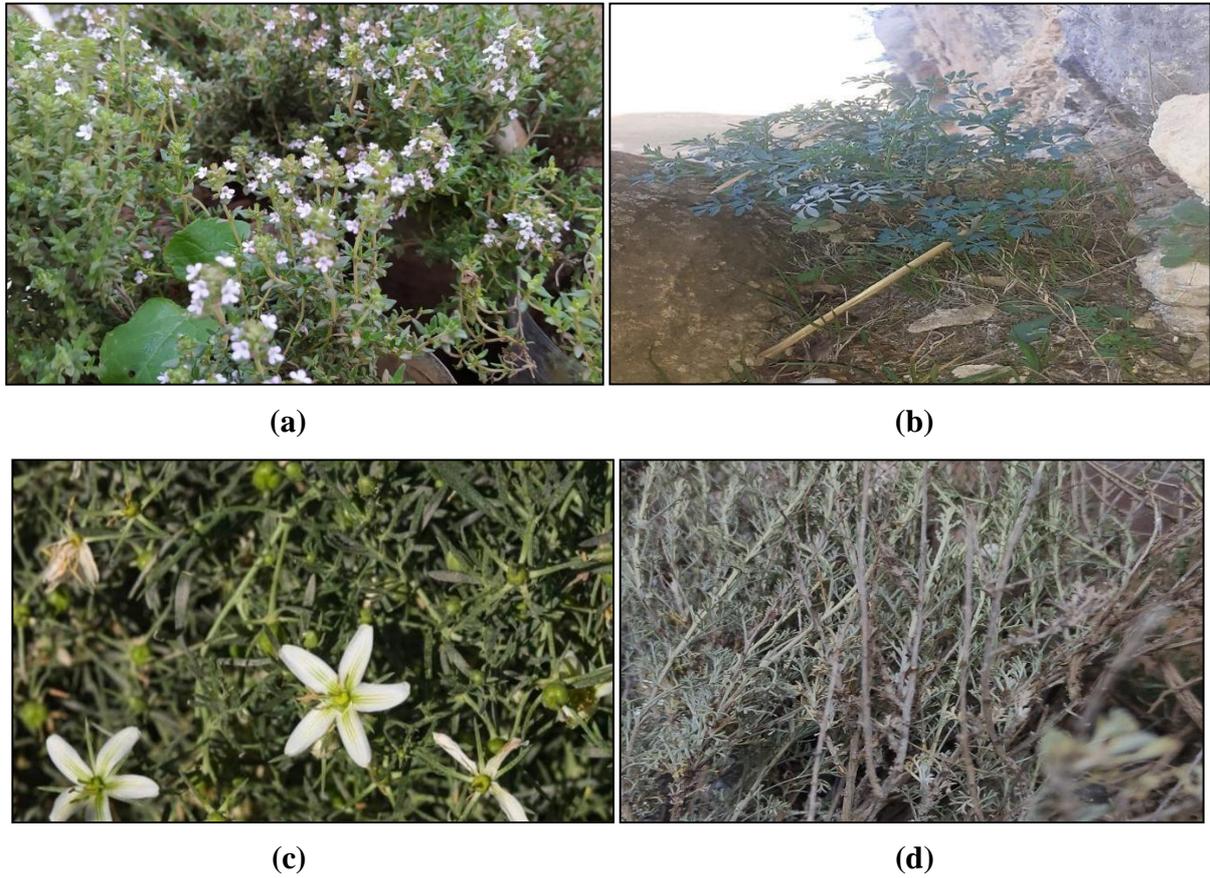


Figure 21 : La plante (a) *Thymus vulgaris*, (b) *Ruta graveolens*, (c) *Peganum harmala*, (d) *Artemisia*.





(c)

(d)

Figure 22 : Les feuilles sèches (a) *Thymus vulgaris*, (b) *Ruta graveolens*, (c) *Peganum harmala*, (d) *Artemisia*.

1.2.2. Extraction des huiles essentielles

Le même protocole d'extraction a été effectué pour les quatre plantes.

1.2.2.1. Principe

L'hydrodistillation (*water distillation*) est la méthode la plus simple et de ce fait, la plus anciennement utilisée (Mebarki, 2010 ; Abdelli, 2017).

Le principe consiste à porter à ébullition dans un ballon, un mélange d'eau et de plante dont on souhaite extraire l'huile essentielle. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont alors entraînées par la vapeur d'eau créée. Elles passent par un réfrigérant à eau où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un récipient (Bruneton, 1999).

1.2.2.2. Mode opératoire

L'extraction des huiles essentielles de partie aérienne de *Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens*, *Peganum harmala*, *Artemisia* a été effectuée à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Avant l'emploi, l'appareil a été rincé avec de l'acétone et l'eau distillée afin d'éliminer les poussières et les graisses probablement présentes dans l'appareil pour éviter toute contamination de l'huile au cours de l'extraction.

Cette méthode consiste à introduire 100 g de matériel végétal dans un ballon de 2 L contenant 1 L d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 2 h 30 min à 3 h à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle, traversent le réfrigérant et se condensent ainsi avant de chuter

dans une ampoule de décantation, l'huile se sépare par la suite de l'eau par différence de densité (Figure 23).

Après extraction, le volume d'huile essentielle obtenu a été mesuré puis conservé dans un petit flacon stérile (Figure 24). Le flacon a été couvert d'un papier aluminium à l'abri de la lumière puis conservé dans un réfrigérateur à 4°C jusqu'à son usage pour les tests biologiques.

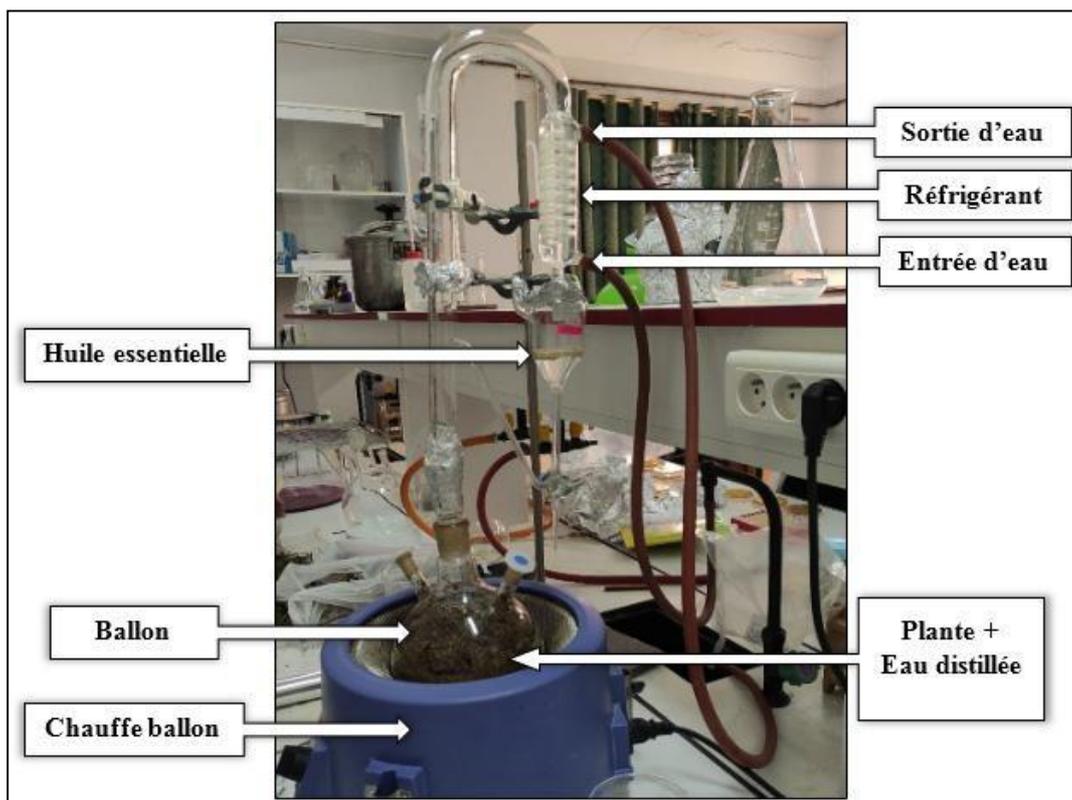


Figure 23 : Dispositif d'extraction des huiles essentielles de type Clevenger.



Figure 24 : La récupération de l'huile essentielle obtenue.

1.2.3. La conservation des huiles essentielles

Une fois l'HE est obtenue, elle est conservée dans un flacon en verre avec l'étiquetage qui porte le nom de la plante et enveloppé de papier d'aluminium fermé hermétiquement, à une température comprise entre 4 et 6°C pour la préserver de l'air et de la lumière et éviter toute dégradation.

1.2.4. Rendement

Selon la norme **AFNOR (1986)**, le rendement en huile essentielle (RHE), est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction (MHE) et la matière végétale utilisée (MS), (**Benbouali, 2006**). Il est donné par la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = \text{MHE} / \text{MS} \cdot 100$$

RHE : Rendement de l'huile essentielle de chaque plante (*T. vulgaris*, *R. graveolens*, *P. harmala*, *Artemisia*) en %.

MHE : Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme.

MS : Masse en gramme de la matière végétale sèche.

2. Étude de l'activité antimicrobienne

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel et produits

L'ensemble des matériels et produits utilisés pour réaliser cette étude sont résumés dans le **Tableau 09**.

Tableau 09 : Liste de matériel et produit utilisés pour l'activité antimicrobienne et antifongique.

Appareils	Verreries et autres	Réactifs et autres	Solvants et solutés
- balance de précision - Micropipette - Plaque chauffante / agitateur magnétique - Etuve à 30 °C - Autoclavage - Bec benzène	- Tubes à vis 16 x 160 mm et portoir. - Erlenmeyer 250 ml - 04 flacons - Spatule - Papier aluminium - Anse de platine - Pipette pasteur - Ecouvillon stérile - Boîtes de pétrie - Disques stériles/Pince - Embouts jaunes	- Milieu solide Muller-Hinton - Milieu solide Sabouraud - Huiles essentielles de : <ul style="list-style-type: none">• <i>Thymus vulgaris</i>• <i>Ruta graveolens</i>• <i>Peganum harmala</i>• <i>Artemisia</i>	-Eau physiologique stérile - Eau distillé - Eau de javel - Ethanol

2.1.2. Mode opératoire

Pour l'évaluation de l'activité biologique de nos huiles essentielles de *Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens*, *Peganum harmala*, *Artemisia* nous avons adopté la méthode de diffusion sur disque.

C'est une méthode de diffusion en milieu gélosé spécifique (MH, Sabouraud). Cette technique va nous permet de détecter la présence d'une substance inhibitrice, indiqué par une zone translucide au niveau de la zone de diffusion du composé antimicrobien ou antifongique. Alors que partout ailleurs, le développement des microorganismes est visible (**Figure 25 a, b**) (Meddour et al., 2013).

2.1.3. Matériel biologiques

2.1.3.1. Souches testées

Dans notre travail, nous avons utilisé les souches indiquées dans le **Tableau 10** octroyées du laboratoire de Microbiologie Appliquée de l'Université de Tébessa.

Tableau 10 : Souches bactériennes et fongique utilisées.

	Souches	Classification	Références
Souches bactériennes	<i>Bacillus subtilis</i>	Gram +	ATCC 6633
	<i>Micrococcus luteus</i>	Gram +	DSM 1790
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +	Isolat Clinique
	<i>Escherichia coli</i>	Gram -	Isolat Clinique
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram -	Isolat Clinique
Souches fongiques	<i>LCP candida sp</i>	Levure	Isolat Clinique
	<i>LCK candida sp</i>	Levure	Isolat Clinique
	<i>LRM candida sp</i>	Levure	Isolat Clinique
	<i>L23 candida sp</i>	Levure	Isolat Clinique
	<i>L43 candida sp</i>	Levure	Isolat Clinique
	<i>Paecilomyces sp.</i> <i>F.PALIL</i>	Champignon filamenteuse	Isolat Clinique
	<i>Fusariau sp. F.FSO</i>	Champignon filamenteuse	Isolat Clinique
	<i>Rhizopus sp. FRH Ory</i>	Champignon filamenteuse	Isolat Clinique

2.2. Méthodes

Nous avons travaillé selon le protocole expérimental représenté par les étapes décrites ci-dessous.

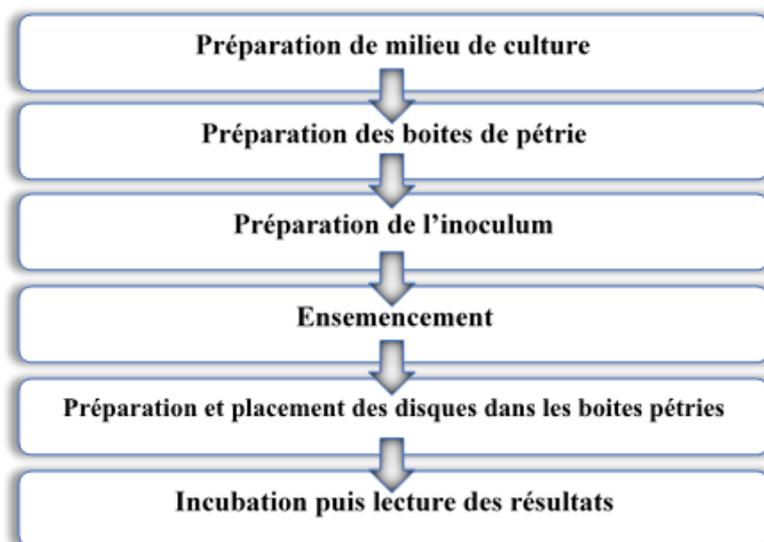


Figure 25 : méthode de diffusion sur disque (milieu gélosé).

2.2.1. Milieu de culture

Pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes et fongique traitées notre HEs nous avons utilisé :

- Milieu Muller-Hinton pour l'étude de l'activité antibactérienne.
- Milieu Sabouraud pour étude de l'activité antifongique.

Les compositions et les étapes de la préparation de nos milieux de culture sont données en **Tableau**.

Tableau 11 : Protocole de préparations des Milieux de culture utilisées.

Milieux de culture	MH	Sabouraud
Ingrédients	15.2 g MH en poudre + 400 ml d'eau distillée.	30 g sabouraud en poudre+500ml d'eau distillée.
Techniques de préparation	<ul style="list-style-type: none">✓ Le mélange poudre-eau distillée est chauffé sur plaque chauffante avec agitation à l'aide d'un barreau magnétique pendant 20 min (afin d'assurer une bonne dissolution des cristaux).✓ Ensuite les milieux réparés sont repartis dans des flacons stériles, avant d'être autoclavé pendant 20 min à 120°C.	

2.2.2. Préparation des boîtes de Pétri

Pour préparer les boîtes de Pétri il faut :

- Ramener la gélose à une température de 42-45°C avant l'utilisée (MH ou Sabouraud).
- La gélose prête est coulée dans des boîtes de pétri stériles.
- L'épaisseur de la gélose est de 4mm uniformément pour tous les boîtes ; ces dernières doivent être bien séchées près du bec benzène avant leur utilisation.

2.2.3. Préparation des suspensions

À partir d'une culture sur milieu de repiquage, racler à l'aide d'une anse de platine stérile quelques colonies (3-5) bien isolées et parfaitement semblables.

On Décharge ces colonies une par une à l'aide d'une anse de platine stérile dans des tubes contenant 5 ml d'eau physiologique stérile.

On homogénéise la suspension de façon à obtenir visiblement une opacité équivalente à 0.5 Mac Ferland. La suspension doit être ensemencé dans les 15 min qui suivent sa préparation. En refait cette étape pour toutes les bactéries et les champignons du test.

2.2.4. Ensemencement

L'ensemencement se fait d'après la méthode de Kirby-Bauer (2004), par écouvillonnage.

- Après l'immersion d'un écouvillon stérile dans notre suspension (figure 24). On doit essorez l'écouvillon doucement sur la paroi du tube.
- Chaque milieu de culture préalablement préparés, doit être ensemencés par étalement, à l'aide d'un écouvillon stérile imbibé de la suspension (bactérie/champignons) déjà préparée une par une.
- L'opération est répétée 3 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et de passer l'écouvillon sur la périphérie de la gélose
- L'ensemencement s'effectue de t'elle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries et champignons sur les milieux.

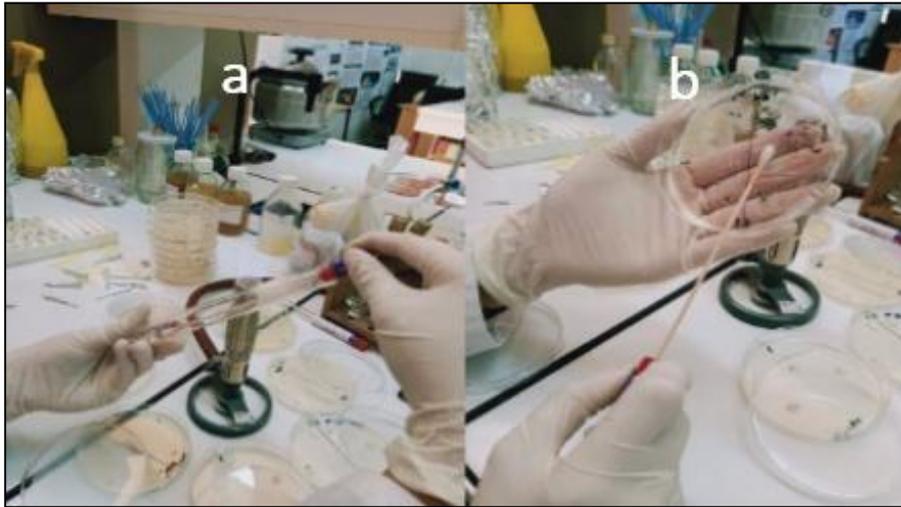


Figure 26 : (a) suspension bactérienne préparer, (b) ensemencement.

2.2.5. Préparation des disques et l'ajoute d'HEs

- Stérilisation des disques de papier wattman de 6mm de diamètre, à 120°C pendant 20 min par autoclavage.
- Sur chaque boîte de pétri ensemencée, on dispose à l'aide d'un pince un disque dont son contact avec la surface doit être étroit.
- Ensuite les boîtes de pétri doivent rester à côté du bec benzène pour quelque seconde pour assurer une bonne diffusion des HEs testés dans les milieux ensemencés.



Figure 25 : Application de HEs sur les disques.

2.2.6. Incubation

L'incubation se fait pendant 24 à 48 h dans une étuve réglée préalablement à une température 30 C.

2.2.7. Lectures

Les activités biologiques (antimicrobiennes, antifongiques) sont déterminées en mesurant avec précision les diamètres des zones d'inhibition, qui sont apparues autour chaque disque. A l'aide d'une règle et sur un fond sombre.

Une huile essentielle est considérée actif lorsqu'on mesure une zone d'inhibition autour de chaque disque dont le diamètre est supérieur à 8 mm, les résultats expérimentaux sont représentés dans le **Tableau 12**.

Tableau 12 : Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre du halo d'inhibition (**Duraffourd et Lapraz, 2002**).

Diamètre du halo d'inhibition (X)	Degré de sensibilité des germes	Résultat
$X \leq 8 \text{ mm}$	Résistante	-
$8 \text{ mm} < X < 14 \text{ mm}$	Sensibilité limitée	+
$14 \text{ mm} < X < 20 \text{ mm}$	Sensibilité moyenne	++
$X \geq 20 \text{ mm}$	Très sensible	+++

3. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité anti-radicalaire d'huile essentielle de l'*Artemisia* a été évaluée dans ce travail par la méthode de piégeage du radical (2,2- diphenyl-1- picrylhydrazyle DPPH).

3.1. Test d'activité DPPH

3.1.1. Principe

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α , α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (**Blois, 1958 ; Brand-Williams et al., 1995**). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. L'efficacité d'un antioxydant est proportionnelle à la réduction de la coloration bleue, (**Figure 26**) due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotometrie à 517 nm.



DPPH : 2.2 diphényle- 1- picryl-hydrazyl

AH : un composé capable de céder un H au radical DPPH A : le composé oxydé après la réduction de DPPH

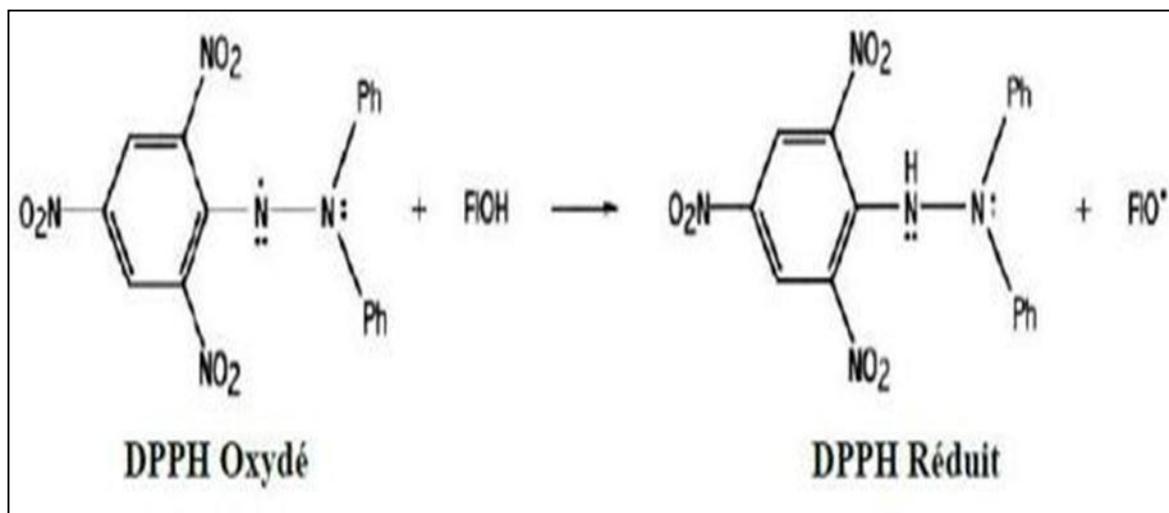


Figure 26 : Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl) (Amié, 2003).

3.1.2. Matériel et réactifs

Les différents matériel et les réactifs utilisés sont résumés dans le tableau 13.

Tableau 13 : Liste d'appareils et réactifs utilisés pour l'activité anti-DPPH.

Appareils	Verreries et autres	Réactifs et autres	Solvants et solutés
<ul style="list-style-type: none"> - Spectrophotométrie UV- Line - Balance de précision - Micropipettes : 100ul-1000ul 10ul-100ul 	<ul style="list-style-type: none"> - Eprouvette graduée - Tubes à hémolyse avec un portoir - Les embouts jaunes et bleus - Papier aluminium 	<ul style="list-style-type: none"> - Le DPPH (2.2 diphenyle- 1- picryl hydrazyl) - Huiles essentielles de <i>L'Artemisia</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Méthanol - Eau distillée

3.1.3. Mode opératoire

Le test antioxydant a été réalisé avec la méthode au DPPH. 25µl de chaque solution méthanolique d'huile à différentes concentrations (200µg/ml, 400µg/ml, 600, µg/ml, 800 µg/ml et 1000µg/ml) sont ajoutés à 2.5 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,004%) qui est préparée par la solubilisation de 0,004g de DPPH poudre dans 100ml de Méthanol. Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 25µl de méthanol avec 2.5 ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à 515 nm après 30 min d'incubation et à la température ambiante.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Tous les essais ont été effectués en triple. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%).

$$I\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test) / Abs\ contrôle] \times 100$$

Abs contrôle : absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai) Abs test : absorbance d'extrait.

Les valeurs de l'IC50 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire.

3.1.4. Détermination de la concentration inhibitrice IC50%

La valeur IC50 est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH (couleur), ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigée pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constitué de méthanol et de DPPH. Les valeurs IC50 ont été calculées par la régression linéaire où l'abscisse est représentée par la concentration des composés testés et l'ordonnée par le pourcentage d'inhibition (I%). (**Mensor et al., 2001**).

II. Résultats et discussions

1. Rendement en huile essentielle

L'huile essentielle des quatre plantes obtenue par hydrodistillation est un liquide visqueux, limpide, d'une coloration jaunâtre et odeur forte. Le rendement des extraits des quatre plantes (*Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens*, *Peganum harmala*, *Artemisia*) est exprimé en pourcentage massique (g/100g) par la matière sèche (Tableau 14).

Tableau 14 : Les quantités et les rendements en huile essentielle des plantes utilisées.

Plantes	Quantité de la matière végétale (g)	Rendement
<i>Thymus vulgaris</i>	439.74 g	$12.97\text{g}/439.74\text{g}\times 100 = 2.95\%$
<i>Ruta graveolens</i>	350 g	$5.72\text{g}/350\text{g}\times 100 = 1.63\%$
<i>Peganum harmala</i>	100 g	$1.45\text{g}/100\text{g}\times 100 = 1.45\%$
<i>Artemisia</i>	395 g	$10.05\text{g}/395\text{g}\times 100 = 2.54\%$

Les valeurs indiquant la moyenne des rendements en huiles essentielles des quatre plantes étudiées sont illustrées par la Figure 27.

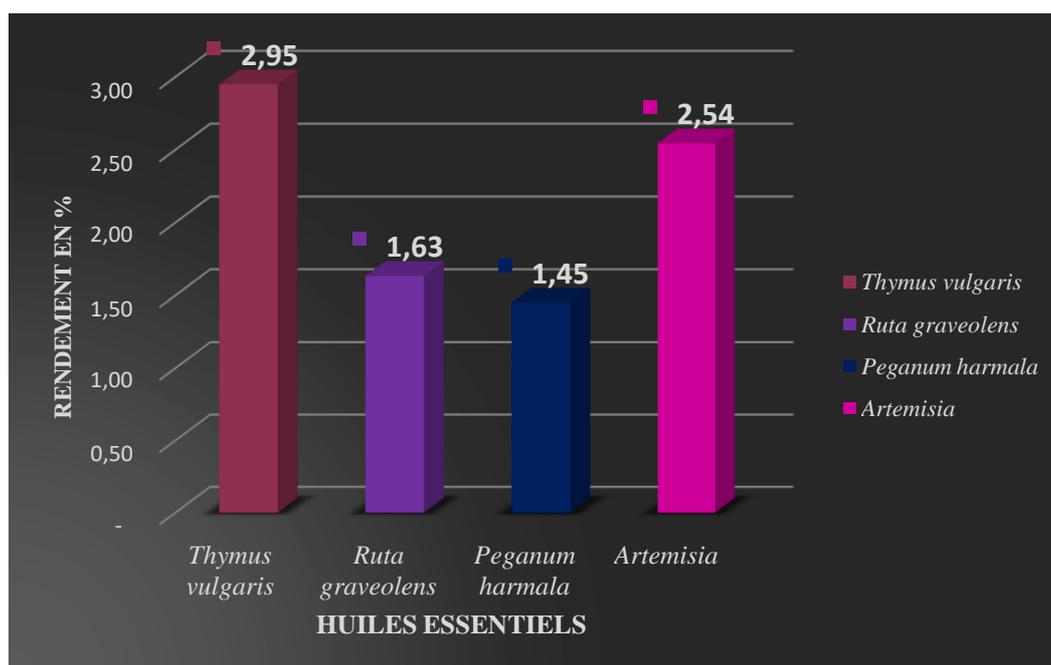


Figure 27 : Rendement en huile essentielle de *Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens*, *Peganum harmala* et *Artemisia*.

1.1. Rendement d'huile de *Thymus vulgaris*

Le rendement obtenu en huile essentielle des feuilles sèches du *T. vulgaris* est de 2.95%, comme le montre les résultats de la **Figure 27**.

Le genre *Thymus* est réputé pour son taux élevé et riche en huile essentielle par rapport à beaucoup d'autres plantes. En effet, une étude réalisée en **2017** par **Abdelli**, a permis d'obtenir des rendements moyens en huiles essentielles à partir des feuilles sèches de *T. vulgaris* de Tlemcen et de Mostaganem allant respectivement de 4.2 à 2.2%. Le rendement de notre huile essentielle de *T.vulgaris* est pris entre les deux valeurs (2.95%) c'est supérieure à celle de Mostaganem.

Une autre étude faite par (**Bouguerra et al., (2017)**) sur la plante *T. vulgaris* de Blida a donné un taux de 1.58%. **Benbouali** a trouvé en 2015 la valeur de 1.13% comme rendement en huile essentielle de *T. vulgaris* récolté en printemps. Ce résultat est inférieur du notre (2.95%).

En dehors de l'Algérie, une étude faite par (**Jordán et al., 2006**) sur *T. vulgaris* d'Espagne a donné des résultats proches à nôtres (de 2.17 à 4.73%). Un rendement plus élevé en huile essentielle a été noté par (**Badi et al., 2004**) pour le thym de Jordanie (5.40%). Tandis que des concentrations plus faibles ont été rapportées en Iran (1.87%) (**Kazemi et al., 2012**), au Mexique (1.7%) (**Soto-Medivil et al., 2006**), au Maroc (1.0%) (**Imelouane et al., 2009 ; El-Akhal et al, 2015**) et en Inde (0.3%) (**Syamasundar et al., 2008**).

1.2. Rendement d'huile de *Ruta graveolens*

On a obtenu un rendement en huiles essentielles **1,63%** pour *Ruta graveolens*. Cette valeur est conforme aux normes AFNOR (0,5-2). Ce résultat est supérieur à ceux rapportés à Annaba situé dans l'est Algérie (0,01%) par (**Haddouchi et al., 2013**). Cette différence du rendement pourrait être dû à une différence de conditions climatiques entre les deux sites et la période de récolte (**Ndomo et al., 2009**). Le même *R. graveolens* a été récoltée en Italie a un rendement de 0,74% (**De Feo et al., 2002**) et un rendement variant entre 0,30 % et 0,10 % signalé dans la région de Jemmel en Tunisie (**Ben Hadj Fredj et al., 2007**).

1.3. Rendement d'huile de *Peganum harmala*

D'après les résultats (**Figure 27**), le rendement en huile essentielle obtenu est de **1,45%**, cette valeur est supérieure au norme. Généralement la teneur des plantes en huiles essentielles est faible et parfois très faible de l'ordre de 1% à 1%. A l'exceptions du Badiane de Chine avec une teneur en essence est supérieure à 5% ; et Clou de girofle qui renferme plus de 15% d'essence (**Benouali, 2016**). Ce

rendement le plus important pourrait être expliquée par le bon choix de la période de récolte (avril stade végétatif de *Peganum harmala*), selon (Laëtitia, 2015) dans cette période les plantes produites une teneur maximale en essence donc pour un rendement optimal, la récolte de l'essence doit être s'effectuer pendant le stade végétatif propre à chaque plante aromatique. De plus la composition en HEs, extraite par hydrodistillation, peut être influencé par la quantité en eau, mise dans le ballon de distillation, car certains composés tels que : le terpinèn-4-ol, l' α - terpinéol et le cinéol sont peu solubles dans l'eau (Williams et Lusunzi, 1994). Toutefois, il est difficile de comparer les résultats du rendement avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée.

1.4. Rendement d'huile de l'*Artemisia*

Le rendement en huile essentielle atteint un maximum de **2.54%**. Il semble donc que le rendement obtenu de notre huile essentielle de l'*Artemisia* représente une valeur très élevée et supérieur à ceux rapportés à des rendements comparables qui sont obtenus chez les échantillons d'armoise blanche de différentes régions en Algérie (de 0.2% à 0.95%) (Bezza et al., 2010 ; Belhattab et al., 2012).

Les mêmes variations du rendement d'huile essentielle d'armoise blanche ont été notées en Espagne (0,41% à 2,30%) (Salido et al., 2004).

En Tunisie (0.68% à 1.93%) (Mohsen et Ferchichi, 2009) et En Jordanie (1.3%) (Hudaib et Aburjai, 2006).

Les variations du rendement des huiles essentielles peuvent être liées au choix de la période de récolte car elle est primordiale en termes de rendement et de qualité de l'huile essentielle. D'autres facteurs peuvent également influencer tels que la zone géographique de collecte, le climat, la génétique de la plante, l'organe utilisé, le stade de développement, le degré de fraîcheur, la période de séchage, la méthode ainsi que le matériel d'extraction utilisés (Benbouali, 2006 ; Touré, 2015 ; Abdelli, 2017).

2. Activité antimicrobienne

2.1. *Thymus vulgaris*

Les résultats du test de l'activité antimicrobienne montrée par la détermination du diamètre de la zone d'inhibition de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur des souches bactériennes sont présentés dans le **Tableau 15**.

Tableau 15 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* contre certaines souches microbiennes.

Bactérie	Diamètre des zones d'inhibition (mm)	Diamètre des zones d'inhibition (mm) (Autre essai)
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Inhibition totale	Disque 1 = 53.5 Disque 2 = 50.5
<i>Micrococcus luteus</i> DSM 1790	Inhibition totale	/
<i>Staphylococcus aureus</i> Isolât clinique	Inhibition totale	Disque 1 = 53 Disque 2 = 50
<i>Escherichia coli</i> Isolât clinique	Inhibition totale	/
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Isolât clinique	Inhibition totale	/

Les résultats montrent que le *Thymus vulgaris* possède une forte activité antibactérienne remarquable sur toutes les souches étudiées. D'après la **Figure 27**, on constate que les zones d'inhibition de *Thymus vulgaris* sont importantes ce qui montre leur pouvoir antibactérien. Notre huile essentielle pure du a montré une très forte activité envers les cinq souches (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), dont aucune croissance bactérienne n'a été observée. Ces résultats sont confirmés en présence d'une boîte témoin, alors qu'avec une dose différente de l'huile sur *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* a marqué des zones d'inhibition sur deux disques avec des diamètres de 53,5 mm, 50,5 et 53 mm, 50 mm respectivement, qui montrent une très forte activité antibactérienne de notre HE de *Thymus vulgaris*.

Nous remarquons que toutes les souches bactériennes ont été inhibées par l'huile essentielle extraite respectivement des feuilles sèches de *T. vulgaris*. Elles ont toutes montrées une très forte sensibilité à l'HE.



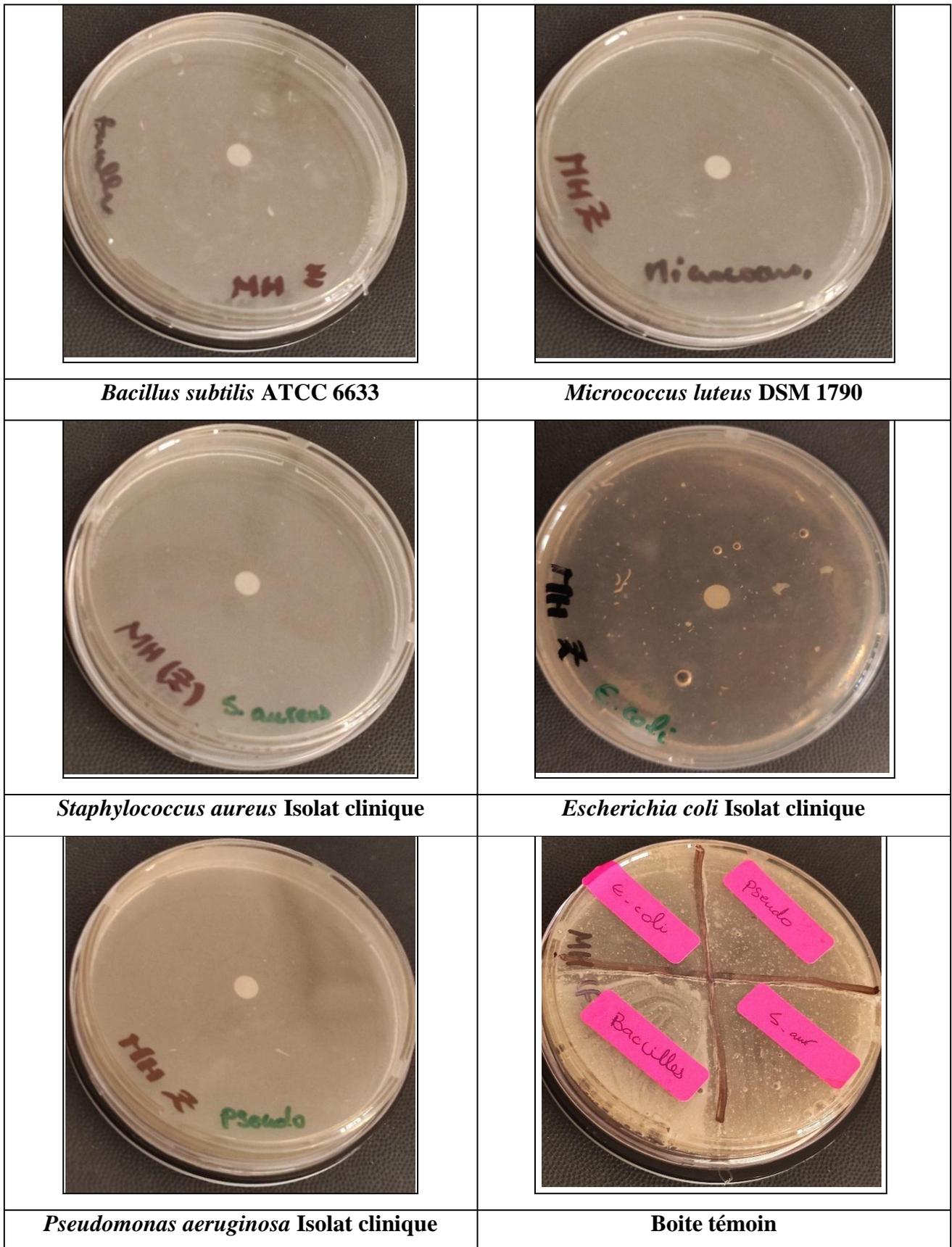


Figure 28 : Inhibition totale de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur des souches bactériennes testées. (Photo personnelle)

2.2. *Ruta graveolens*

Les résultats du test de l'activité antimicrobienne montrée par la détermination du diamètre de la zone d'inhibition de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* sur des souches bactériennes sont présentés dans le **Tableau 16**.

Tableau 16 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* contre certaines souches microbiennes.

Bactérie	Diamètre des zones d'inhibition (mm)
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	50
<i>Micrococcus luteus</i> DSM 1790	45
<i>Staphylococcus aureus</i> Isolat clinique	-
<i>Escherichia coli</i> Isolat clinique	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Isolat clinique	-

L'huile essentielle de *Ruta graveolens* à l'extrait pur montre une activité fortement inhibitrice vis - à - vis de *Bacillus subtilis* et *Micrococcus luteus* dont le diamètre d'inhibition est de 50 mm, 45 mm respectivement contrairement à *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, qui ne présentent aucune activité inhibitrice dont les zones d'inhibition sont absentes (**Figure 29**). Un témoin négatif a été comparé à ces résultats dont un tapis bactérien a été observé. L'absence d'activité antibactérienne pourrait s'expliquer par la résistance développée des souches bactériennes.

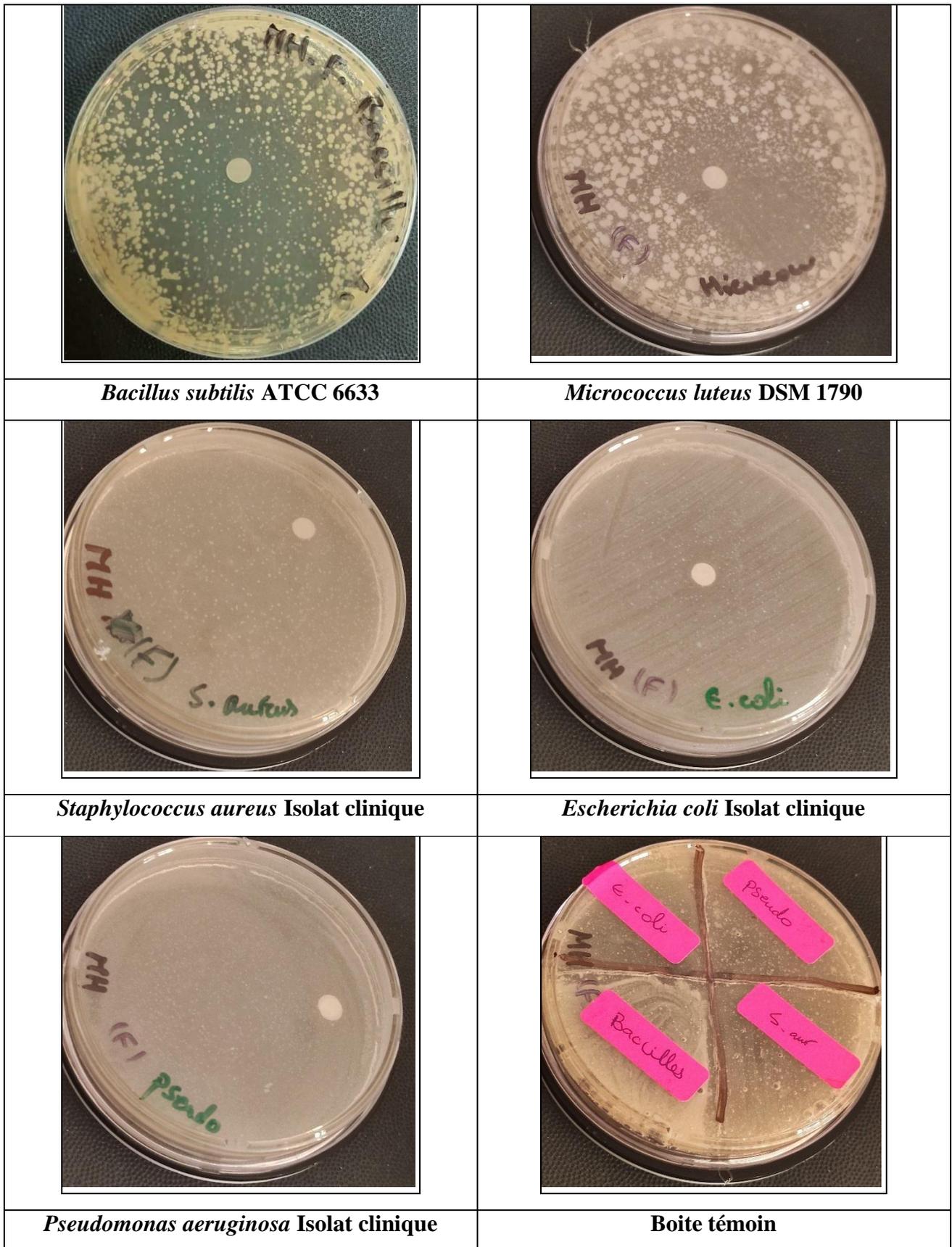


Figure 29 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* sur des souches bactériennes testées. (Photo personnelle)

2.3. *Peganum harmala*

Les résultats du test de l'activité antimicrobienne montrée par la détermination du diamètre de la zone d'inhibition de l'huile essentielle de *Peganum harmala* sur des souches bactériennes sont présentés dans le **Tableau 17**.

Tableau 17 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de *peganum harmala* contre certaines souches microbiennes.

Bactérie	Diamètre des zones d'inhibition (mm)
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	-
<i>Micrococcus luteus</i> DSM 1790	-
<i>Staphylococcus aureus</i> Isolat clinique	18
<i>Escherichia coli</i> Isolat clinique	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Isolat clinique	Inhibition totale

Les résultats obtenus (**Figure 30**) montrent une très forte activité inhibitrice vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* dont aucune croissance bactérienne n'a été observée, ce qui explique que notre huile a inhibé totalement la souche bactérienne, et une légère activité inhibitrice a été observé sur la souche *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de 18 mm ce qui explique une sensibilité moyenne de la souche envers notre huile essentielle. Tandis que les souches bactériennes *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, ne marquent aucune zone inhibitrice où un tapis bactérien a été observé et *Escherichia coli* a marqué une contamination l'absence d'activité pourrait s'expliquer par la résistance développée des souches.

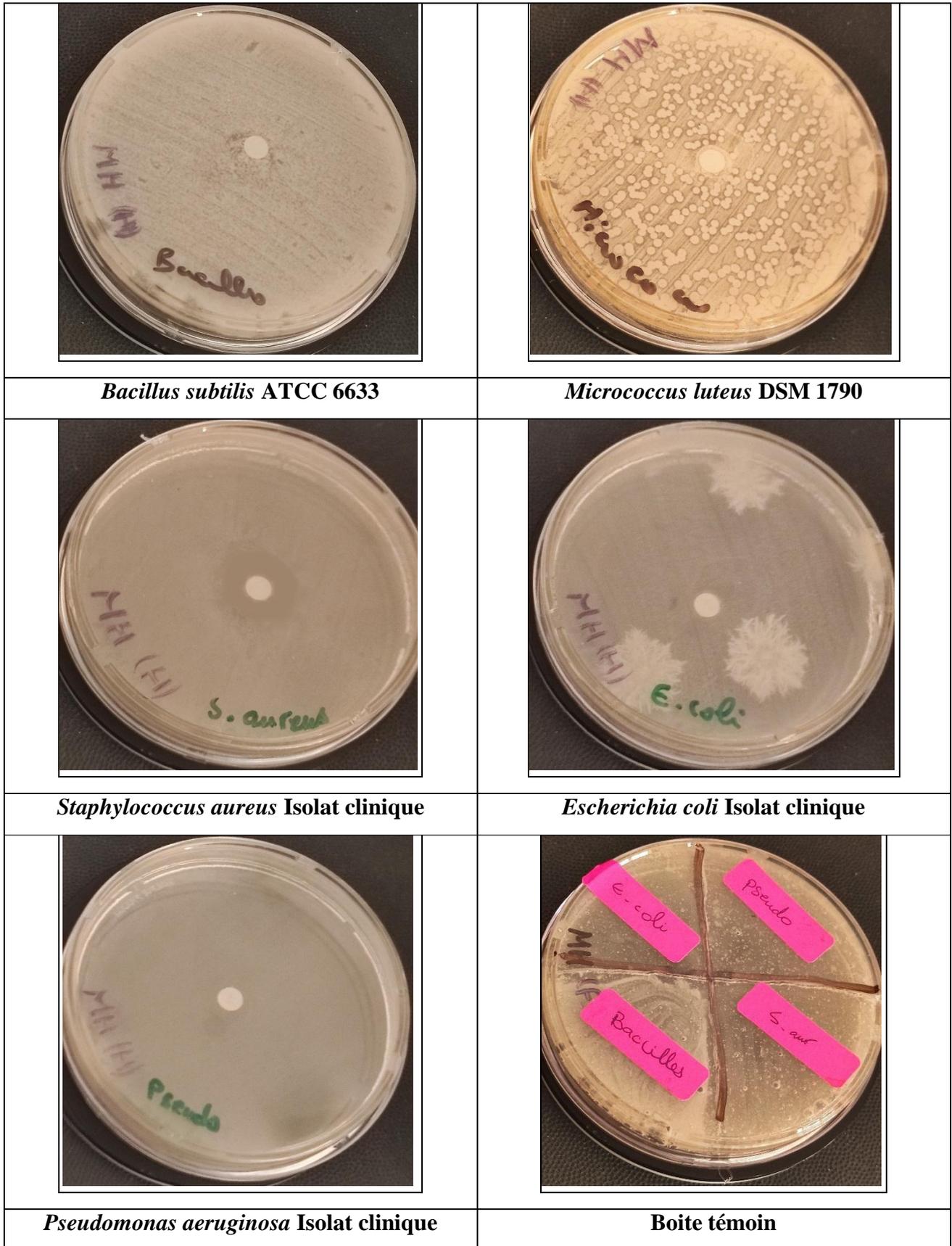


Figure 30 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Peganum harmala* sur des souches bactériennes testées. (Photo personnelle)

2.4. *Artemisia*

Les résultats du test de l'activité antimicrobienne montrée par la détermination du diamètre de la zone d'inhibition de l'huile essentielle de l'*Artemisia* sur des souches bactériennes sont présentés dans le **Tableau 18**.

Tableau 18 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de l'*Artemisia* contre certaines souches microbiennes.

Bactérie	Diamètre des zones d'inhibition (mm)
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	7.5
<i>Micrococcus luteus</i> DSM 1790	54
<i>Staphylococcus aureus</i> Isolat clinique	24
<i>Escherichia coli</i> Isolat clinique	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Isolat clinique	45

L'huile essentielle d'*Artemisia* a un effet important sur *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa* qui sont inhibé avec des diamètres allant de 24 mm, 54 mm et 45mm respectivement, nous remarquons que les souches sont très sensibles à notre HE alors que *Escherichia coli* a marqué une contamination. Par contre la bactérie *Bacillus subtilis* présente une zone d'inhibition de 7.5 mm, ce qui représente la résistance de la souche à notre huile (**Figure 31**).

Nos résultats sont supérieurs à l'étude de **Kahlouche (2014)** sur la même plante étudiée avec un diamètre de 13.66 mm pour *S. aureus* et de 7.33 mm pour *E. coli*.

Cette activité antibactérienne spécifique des huiles essentielles pourrait être expliquée par les composants bioactifs des HE (effet synergique entre les composants). Ils agissent en particulier au niveau de la membrane et du cytoplasme, et dans certains cas, modifient complètement la morphologie des cellules (**Bouyahya et al., 2017**).

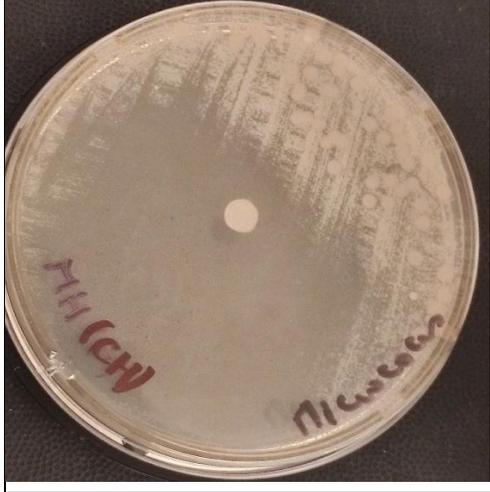
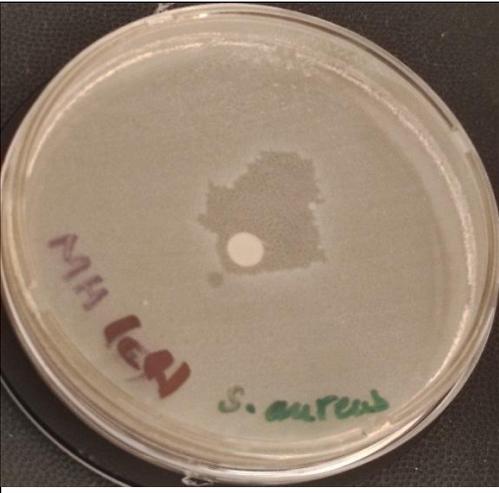
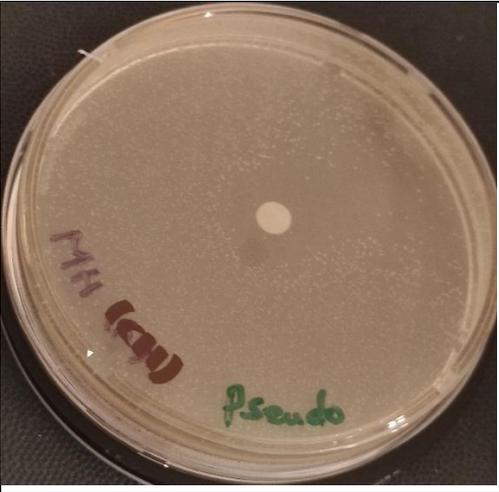
	
<p><i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633</p>	<p><i>Micrococcus luteus</i> DSM 1790</p>
	
<p><i>Staphylococcus aureus</i> Isolat clinique</p>	<p><i>Escherichia coli</i> Isolat clinique</p>
	
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> Isolat clinique</p>	<p>Boite témoin</p>

Figure 31 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de l'*Artemisia* sur des souches bactériennes testées. (Photo personnelle)

3. Activité antifongique

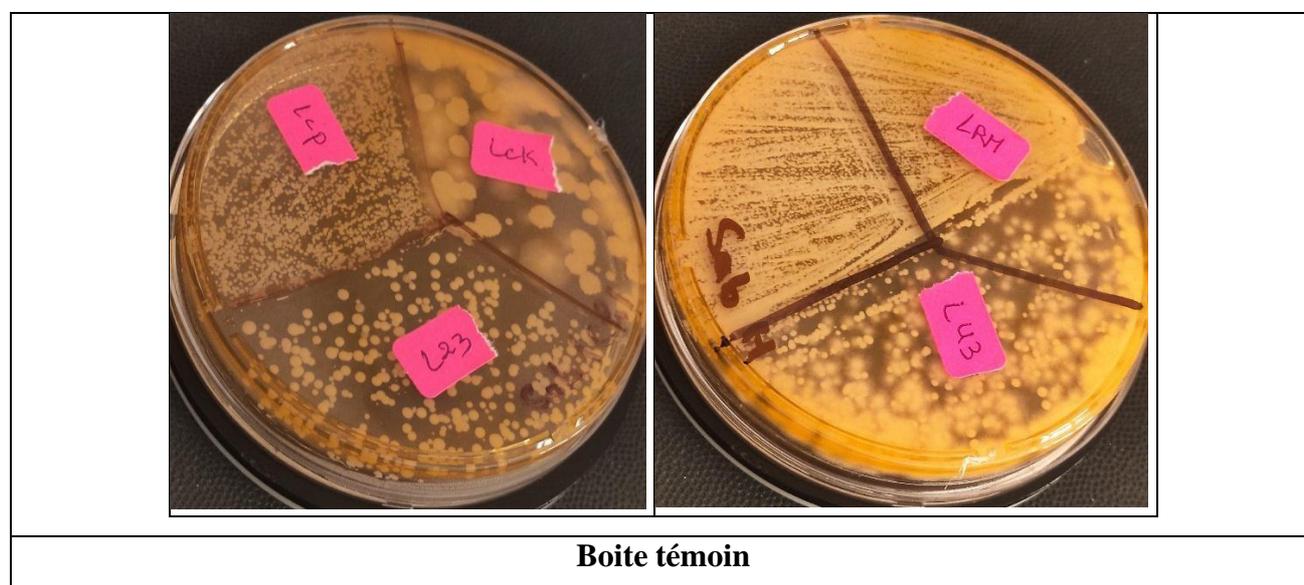
3.1. *Thymus vulgaris*

Les résultats du test de l'activité antifongique montrée par la détermination du diamètre de la zone d'inhibition de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur des souches fongiques sont présentés dans le **Tableau 19**.

Tableau 19 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* contre (*LCP*, *LCK*, *LRM*, *L23*, *L43*).

Levures	Diamètre des zones d'inhibition (mm)
<i>LCP candida sp</i>	Inhibition totale
<i>LCK candida sp</i>	Inhibition totale
<i>LRM candida sp</i>	Inhibition totale
<i>L23 candida sp</i>	Inhibition totale
<i>L43 candida sp</i>	Inhibition totale

Les résultats obtenus montrent que l'HE de *Thymus vulgaris* présente une activité antifongique importante puisqu'elles inhibent la croissance de toutes les levures étudiées (*LCP*, *LCK*, *LRM*, *L23*, *L43*), pour lesquelles aucune zones d'inhibition n'a été observée ce qui explique ce qui explique la sensibilité intense des souches fongiques testées à notre huile essentielle (**Figure 32**).



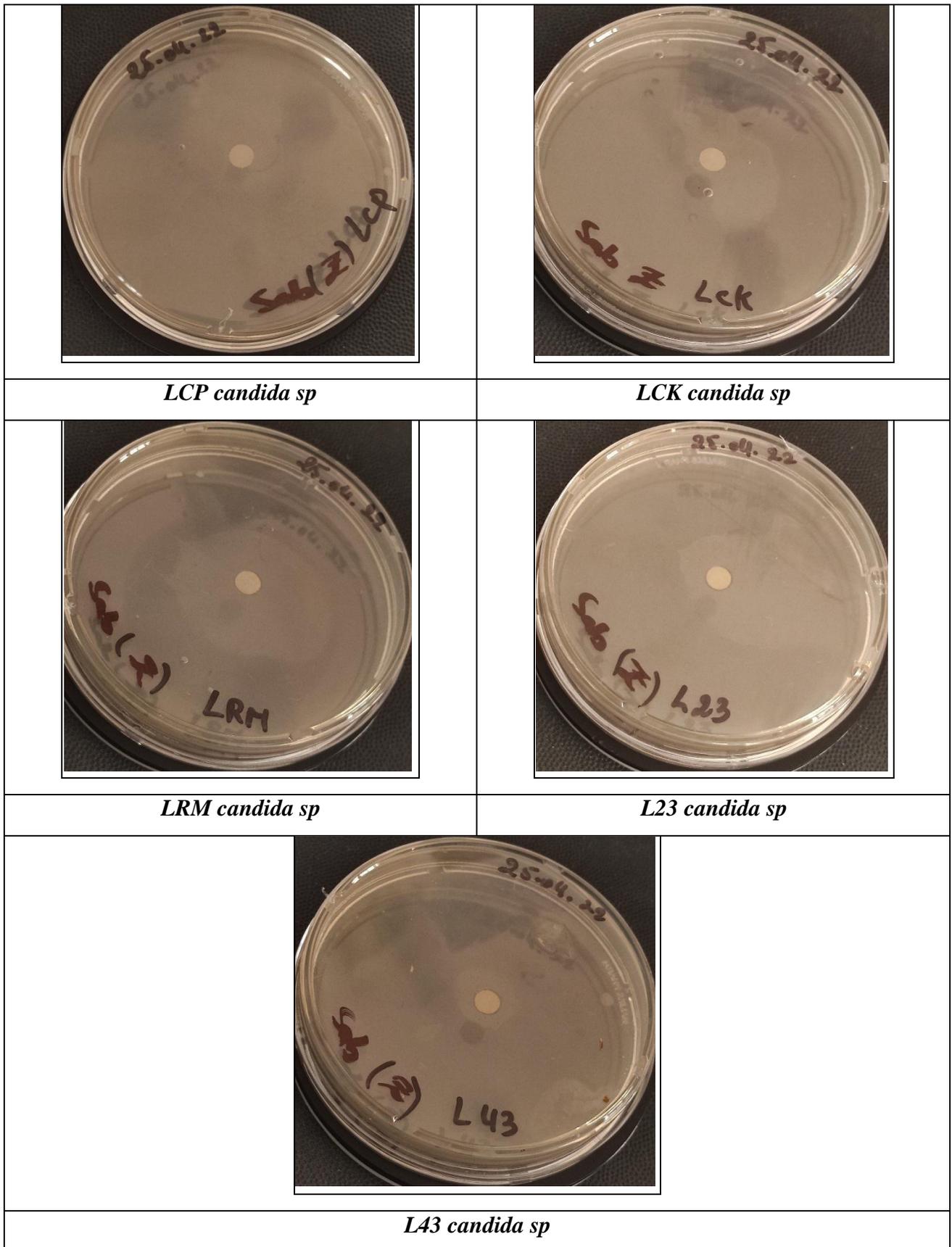


Figure 32 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur des souches fongiques testées. (Photo personnelle)

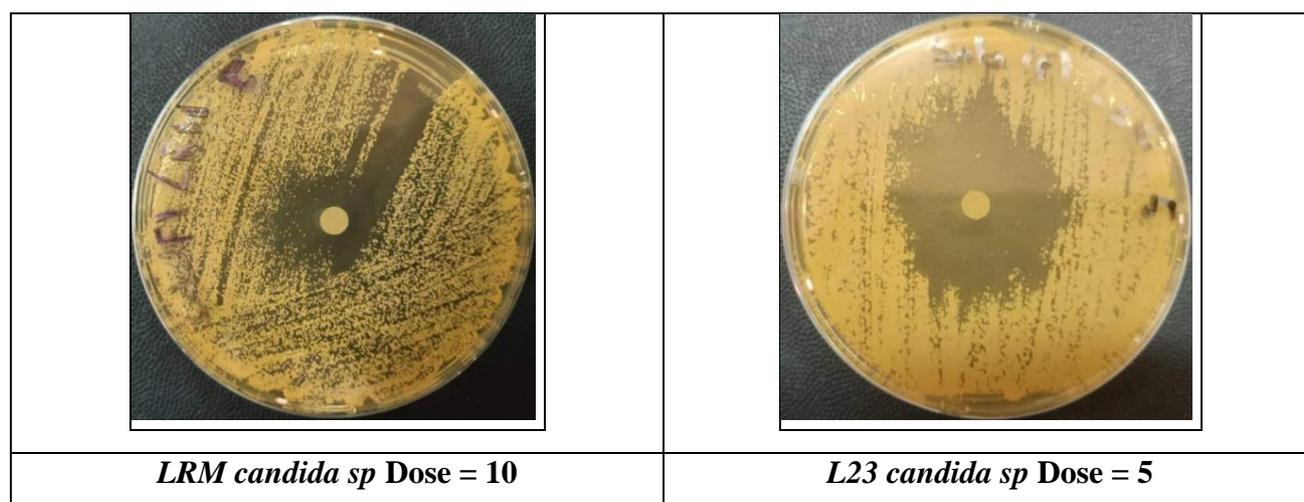
3.2. *Ruta graveolens*

Les résultats du test de l'activité antifongique montrée par la détermination du diamètre de la zone d'inhibition de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* sur des souches fongiques sont présentés dans le **Tableau 20**.

Tableau 20 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* contre (*LCP*, *LCK*, *LRM*, *L23*, *L43*) et autre essai contre *LRM* et *L23*.

Levures	Diamètre des zones d'inhibition (mm)	Diamètre (mm) (autre essai)
<i>LCP candida sp</i>	73	/
<i>LCK candida sp</i>	62	/
<i>LRM candida sp</i>	71.5	42.5
<i>L23 candida sp</i>	70	40
<i>L43 candida sp</i>	57.5	/

L'huile essentielle de *Ruta graveolens* a un effet important sur toutes les levures testées (*LCP*, *LCK*, *LRM*, *L23*, *L43*) qui sont inhibé avec des diamètres allant de 73 mm, 62 mm ; 71.5 mm, 70 mm et 57.5 mm respectivement (**Figure 33**), nous remarquons que les souches fongiques sont extrêmement sensibles et que notre huile essentielle de *Ruta graveolens* possède une forte activité antifongique sur toutes les souches étudiées, nous avons testé notre HE sur les souches (*LRM* et *L23*) avec des doses différentes et il est marqué aussi une activité fortement inhibitrice avec des diamètres de 42.5 mm et 40 mm respectivement ce qui explique la sensibilité intense des souches à notre HE de *Ruta graveolens*.



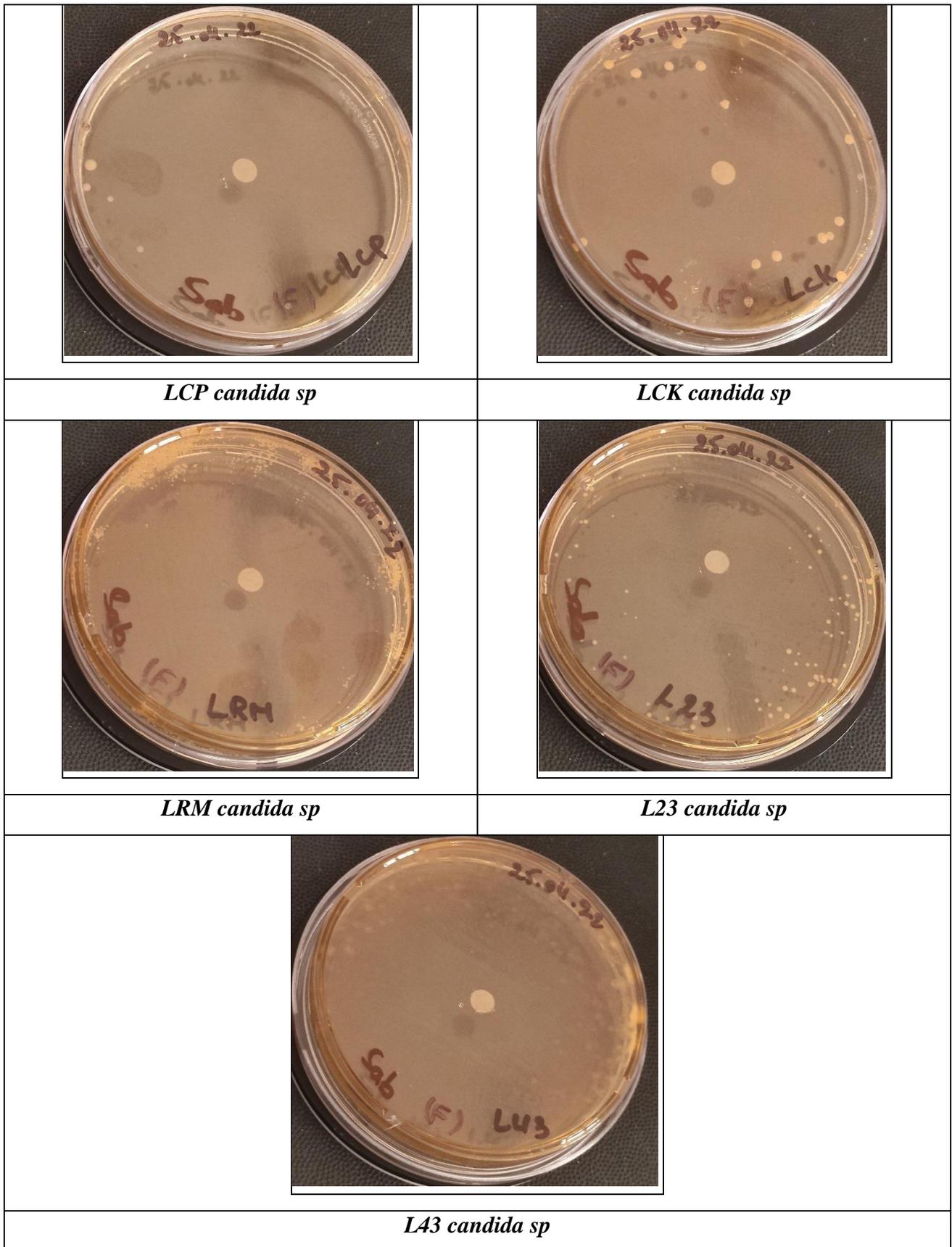


Figure 33 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* sur des souches fongiques testées. (Photo personnelle)

3.3. *Peganum harmala*

Les résultats du test de l'activité antifongique montrée par la détermination du diamètre de la zone d'inhibition de l'huile essentielle de *Peganum harmala* sur des souches fongiques sont présentés dans le **Tableau 21**.

Tableau 21 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de *Peganum harmala* contre (*LCP*, *LCK*, *LRM*, *L23*, *L43*).

Levures	Diamètre des zones d'inhibition (mm)
<i>LCP candida sp</i>	22.5
<i>LCK candida sp</i>	61
<i>LRM candida sp</i>	19
<i>L23 candida sp</i>	42.5
<i>L43 candida sp</i>	57.5

L'huile essentielle *Peganum harmala* a un effet important sur *LCP*, *LCK*, *L23*, *L43* qui sont inhibé avec des diamètres allant de 22.5 mm, 61 mm, 42.5 mm et 57.5 mm respectivement, nous remarquons que les souches fongiques sont très sensibles à notre huile. Tandis que la levure *LRM* présente une zone d'inhibition de 19 mm, ce qui représente une sensibilité moyenne de cette souche à notre huile de *P. harmala* (**Figure 34**).

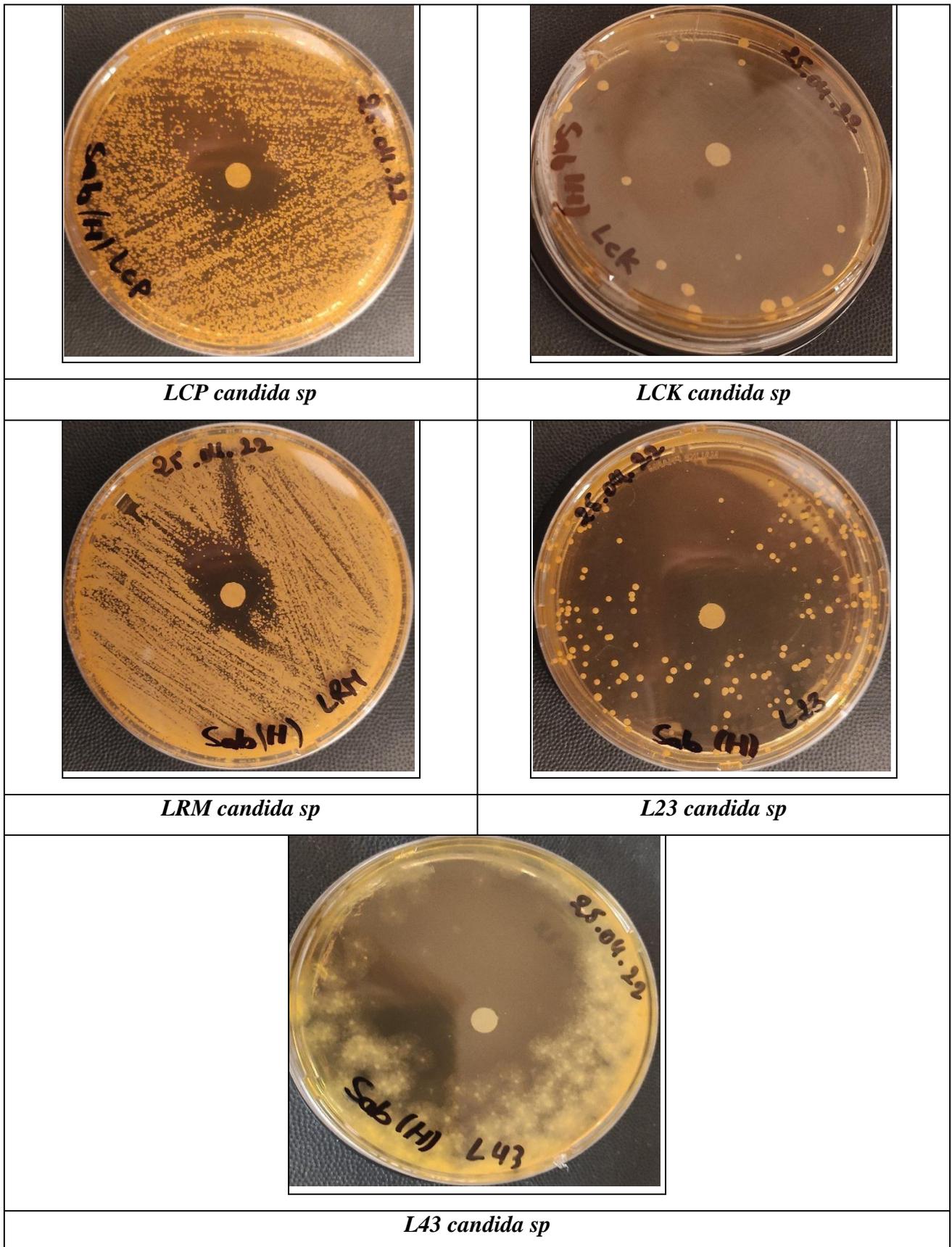


Figure 34 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Peganum harmala* sur des souches fongiques testées. (Photo personnelle)

3.4. *Artemisia*

Les résultats du test de l'activité antifongique montrée par la détermination du diamètre de la zone d'inhibition de l'huile essentielle de l'*Artemisia* sur des souches fongiques sont présentés dans le **Tableau 22**.

Tableau 22 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de l'*Artemisia* contre (*LCP, LCK, LRM, L23, L43*).

Levures	Diamètre des zones d'inhibition (mm)
<i>LCP candida sp</i>	36.5
<i>LCK candida sp</i>	67.5
<i>LRM candida sp</i>	71
<i>L23 candida sp</i>	57
<i>L43 candida sp</i>	68

L'huile essentielle d'*Artemisia* possède une activité antifongique très importante sur toutes les souches fongiques (*LCP, LCK, LRM, L23, L43*) qui sont inhibé avec des diamètres allant de 36.5 mm, 67.5 mm ; 71 mm et 57 mm et 68 mm respectivement, nous remarquons que les souches sont très sensibles à notre huile essentielle (**Figure 35**).

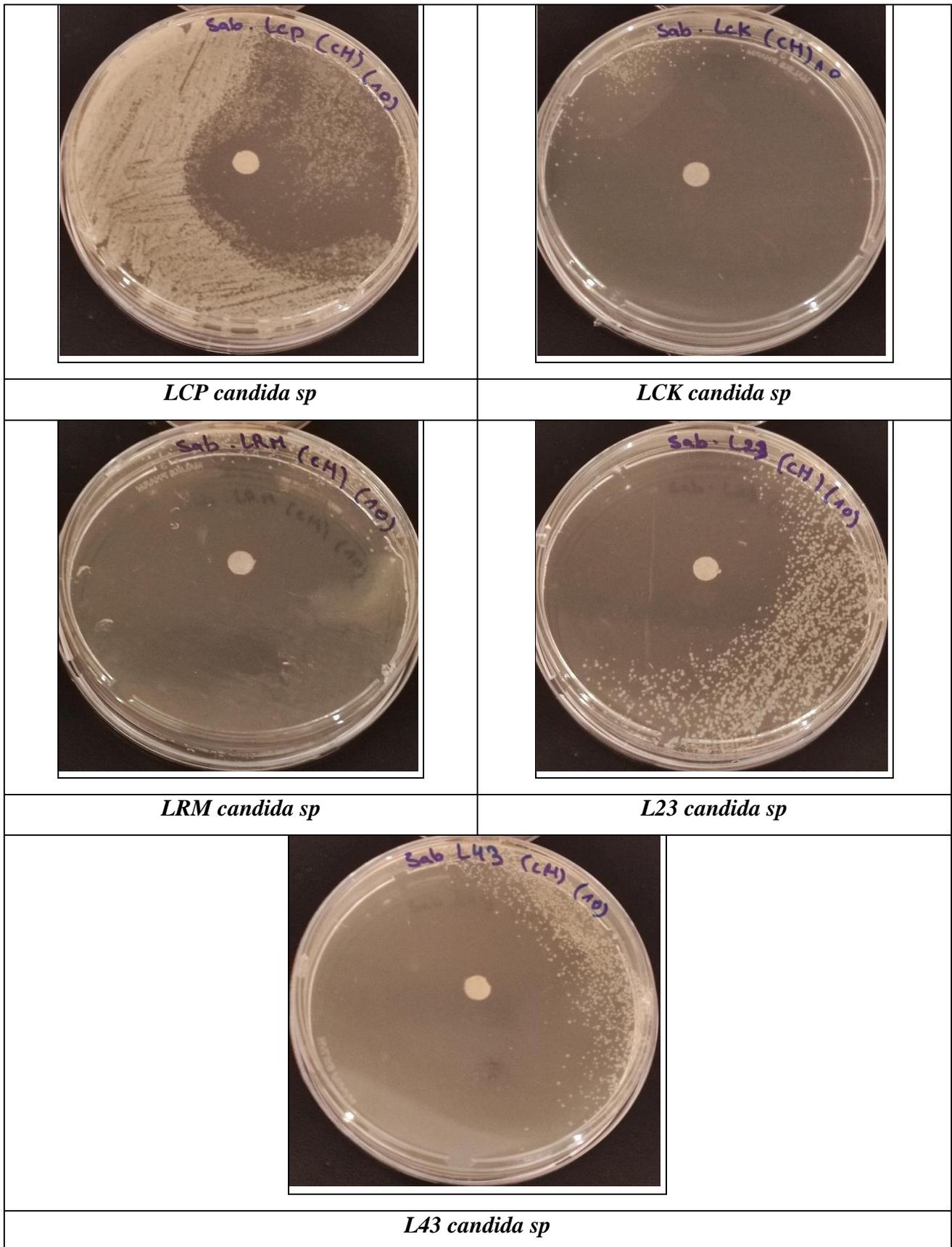


Figure 35 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de l'*Artemisia* sur des souches fongiques testées.

(Photo personnelle)

4. Champignons filamenteuses

La croissance des champignons (*F. PALIL*, *F. FSO*, *FRH Ory*) a été évaluée en présence de deux différentes concentrations de l'huile essentielle (*Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens*, *Artemisia*).

4.1. *Thymus vulgaris*

Les résultats du test de l'activité antifongique montrée par la détermination du diamètre de la zone d'inhibition de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur des souches fongiques sont présentés dans le **Tableau 23**.

Tableau 23 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* contre (*F. PALIL*, *F. FSO*, *FRH Ory*).

Champignons filamenteuses	Diamètre des zones d'inhibition (mm) Dose = 5 μ l	Diamètre des zones d'inhibition (mm) Dose = 10 μ l
<i>Paecilomyces sp. F.PALIL</i>	30	Inhibition totale
<i>Fusariau sp. F.FSO</i>	Inhibition totale	Inhibition totale
<i>Rhizopus sp. FRH Ory</i>	30	49

Nous remarquons que toutes les souches fongiques ont été inhibées par l'huile essentielle des feuilles sèches de *T. vulgaris*. Les résultats obtenus (**Figure 36**) montrent une inhibition totale des deux souches *F. PALIL*, *F. FSO* à 10 μ l et *F. FSO* à 5 μ l par l'HE de *T. vulgaris* dont aucune zone d'inhibition n'a été observé, alors qu'une zone d'inhibition a été marqué sur la souche *FRH Ory* à 10 μ l avec un diamètre de 49 mm et à 5 μ l notre huile a un effet important sur *F. PALIL*, *FRH Ory* qui sont inhibé avec des diamètres 30 mm dont on observe une meilleure inhibition à concentration 10 μ l qu'à 5 μ l.



Boite témoin

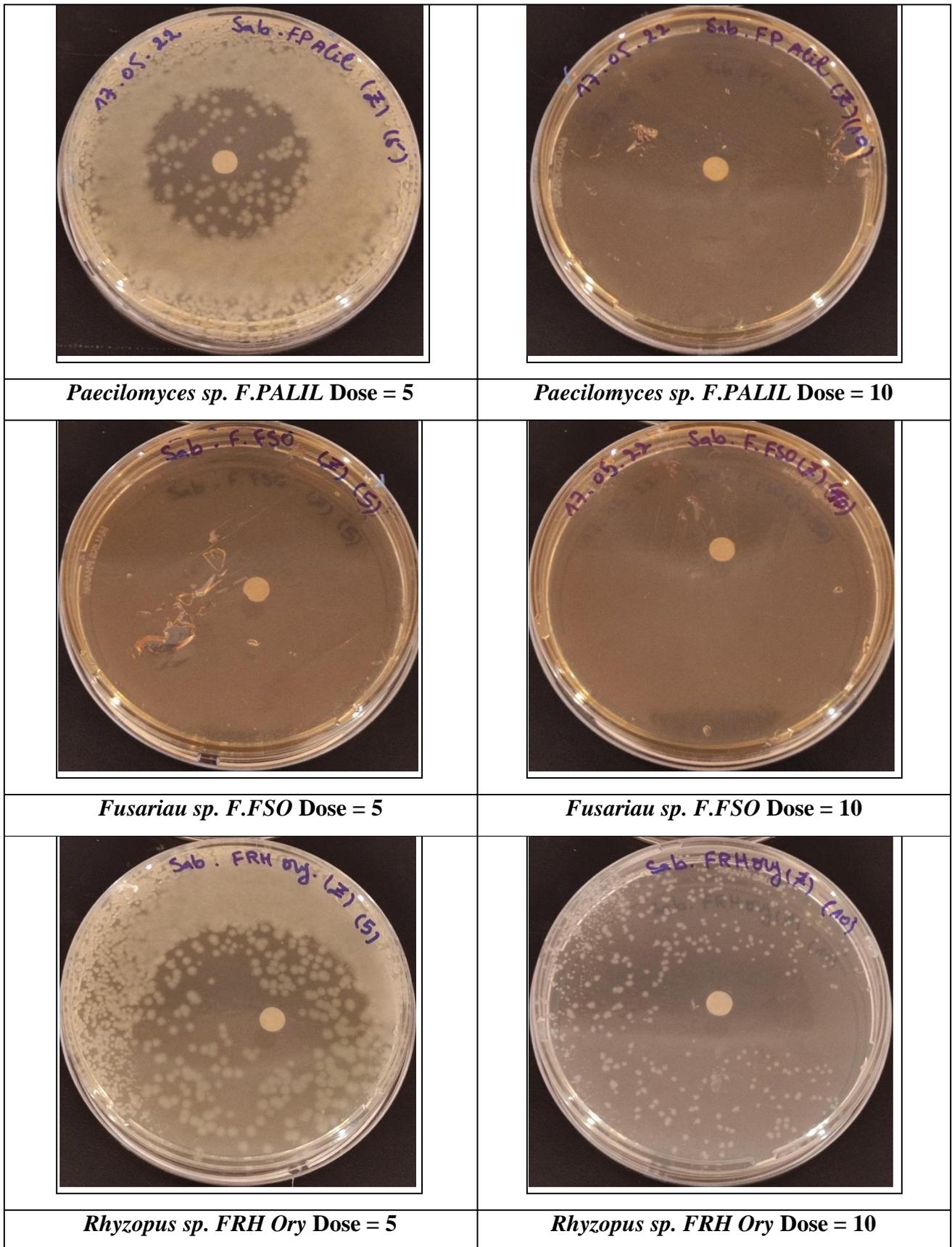


Figure 36 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur des souches fongiques testées. (Photo personnelle)

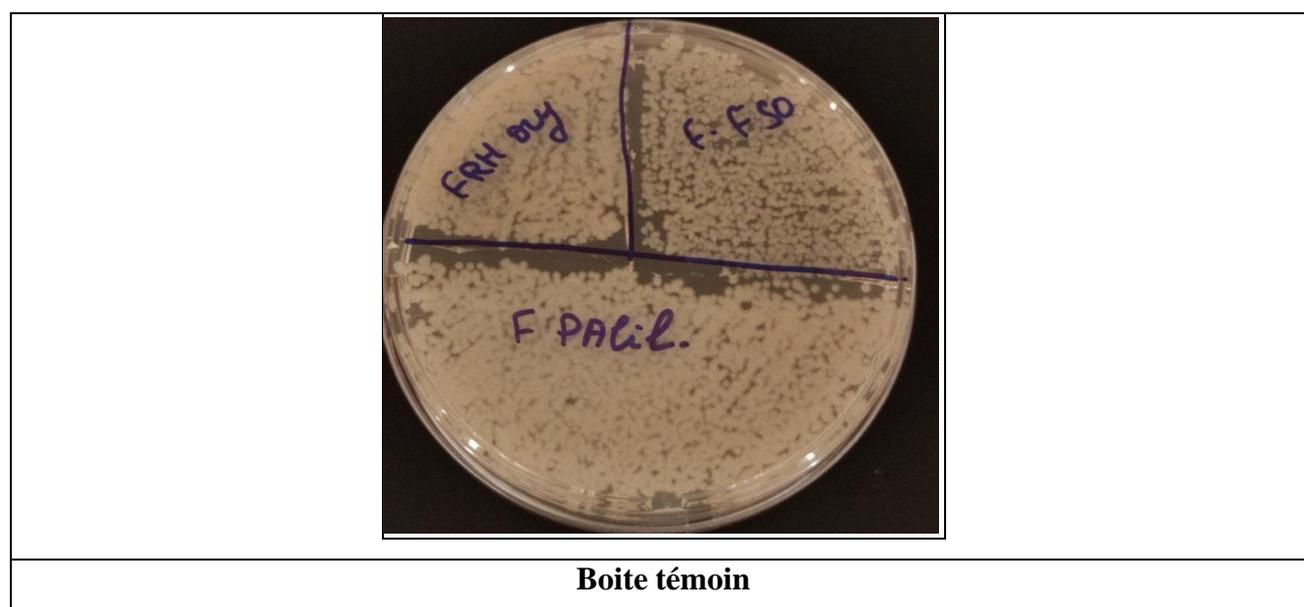
4.2. *Ruta graveolens*

Les résultats du test de l'activité antifongique montrée par la détermination du diamètre de la zone d'inhibition de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* sur des souches fongiques sont présentés dans le **Tableau 24**.

Tableau 24 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* (F. PALIL, F. FSO, FRH Ory).

Champignons filamenteuses	Diamètre des zones d'inhibition (mm) Dose = 5 µl	Diamètre des zones d'inhibition (mm) Dose = 10 µl
<i>Paecilomyces sp. F.PALIL</i>	21	67.5
<i>Fusariau sp. F.FSO</i>	31.5	55
<i>Rhyzopus sp. FRH Ory</i>	40.5	48

L'huile essentielle de *Ruta graveolens* a un effet important sur toutes les souches testées (F. PALIL, F. FSO, FRH Ory) qui sont inhibé à 5 µl avec des diamètres allant de 21 mm, 31.5 mm, 40.5 mm respectivement, et à 10 µl avec des diamètres allant de 67.5 mm, 55 mm, 48 mm (**Figure 37**) nous remarquons que les souches fongiques sont extrêmement sensibles et que notre huile essentielle de *Ruta graveolens* possède une forte activité antifongique sur toutes les souches étudiées.



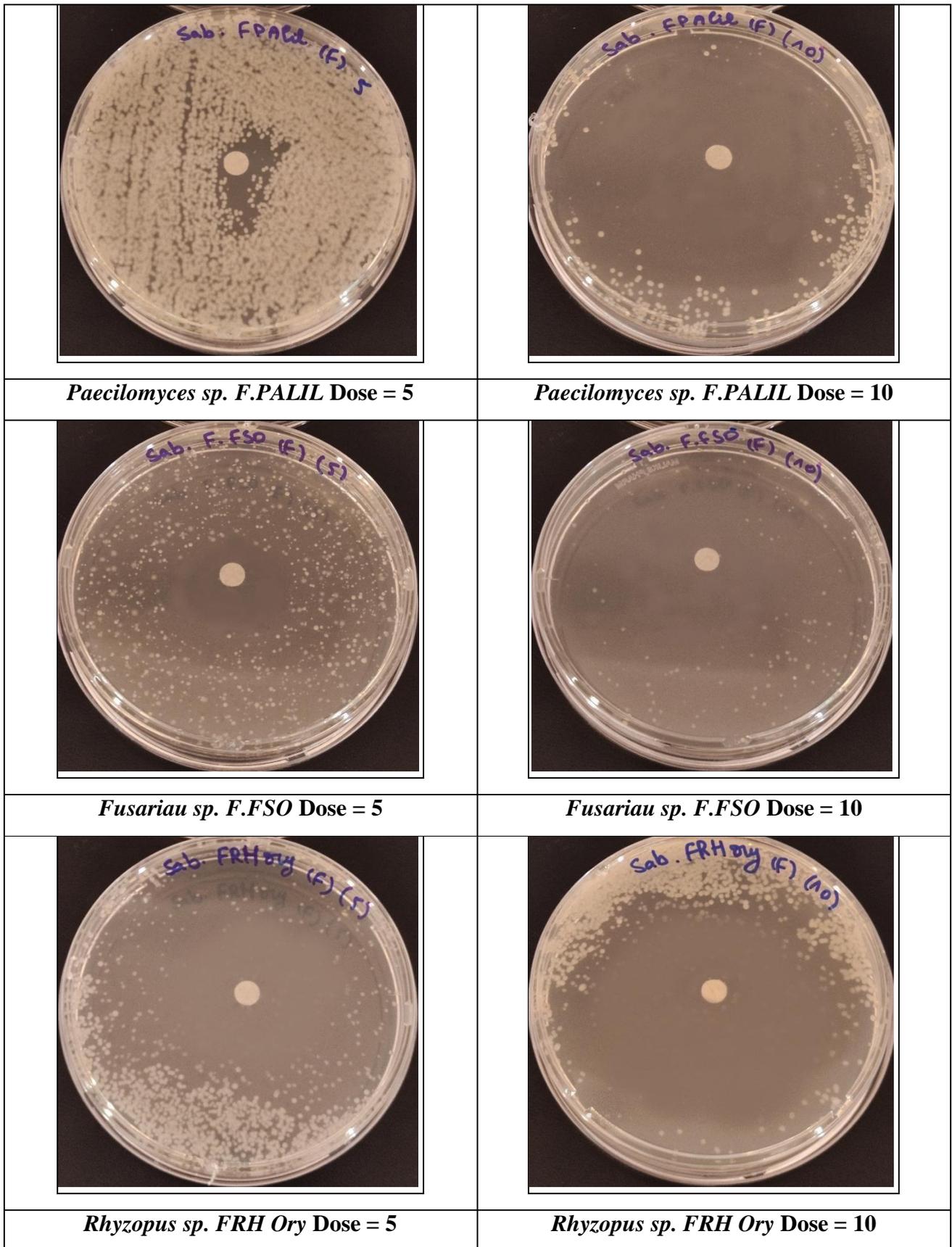


Figure 37 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* sur des souches fongiques testées. (Photo personnelle)

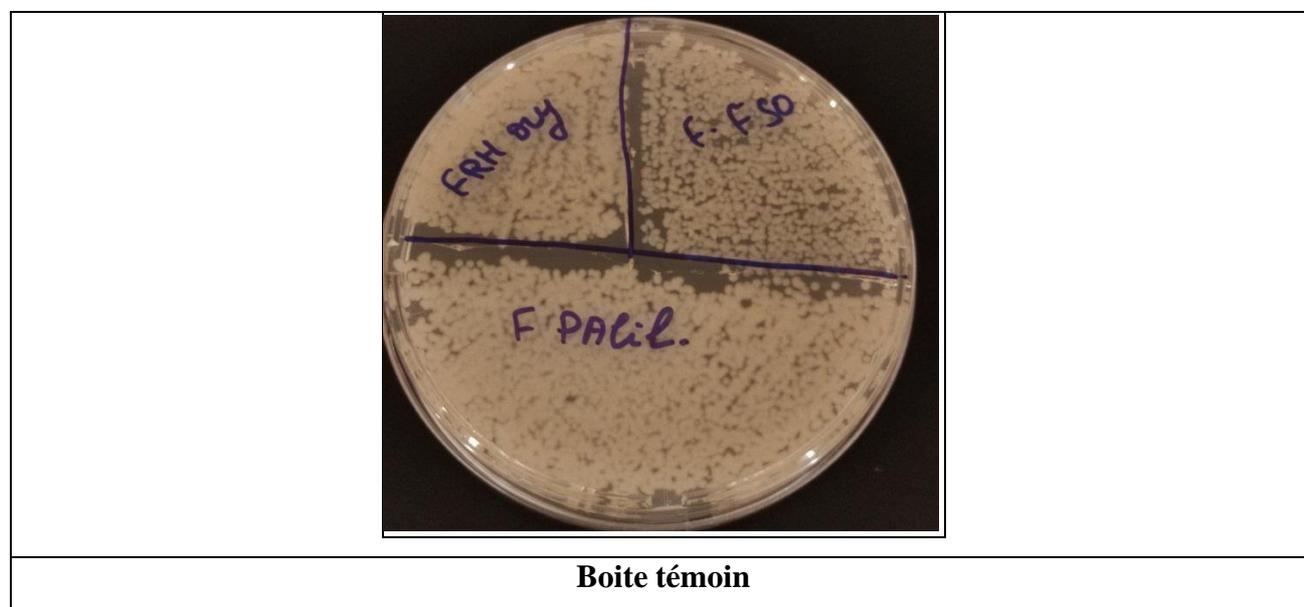
4.3. *Artemisia*

Les résultats du test de l'activité antifongique montrée par la détermination du diamètre de la zone d'inhibition de l'huile essentielle de l'*Artemisia* sur des souches fongiques sont présentés dans le **Tableau 25**.

Tableau 25 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de l'*Artemisia* contre (*F. PALIL*, *F. FSO*, *FRH Ory*).

Champignons filamenteux	Diamètre des zones d'inhibition (mm) Dose = 5 μ l	Diamètre des zones d'inhibition (mm) Dose = 10 μ l
<i>Paecilomyces sp. F.PALIL</i>	12.5	18.5
<i>Fusariau sp. F.FSO</i>	15.5	40.5
<i>Rhyzopus sp. FRH Ory</i>	11.5	41

L'huile essentielle d'*Artemisia* a une légère inhibition de la croissance des souches (*F. PALIL*, *F. FSO*, *FRH Ory*) dont on observe une meilleure inhibition à une concentration de 5 μ l qu'à 10 μ l qui sont inhibé avec des diamètres allant de 12.5 mm, 15.5 mm et 11.5 mm respectivement à 5 μ l, alors qu'à 10 μ l *F. PALIL* est modérément inhibé avec un diamètre de 18.5 mm ce qui explique la sensibilité moyenne de la souche à notre huile, tandis que les souches *F. FSO* et *FRH Ory* sont fortement inhibé avec des diamètres allant de 40.5 mm à 41 mm respectivement ce qui montre une sensibilité intense de ces souches à notre HE (**Figure 38**).



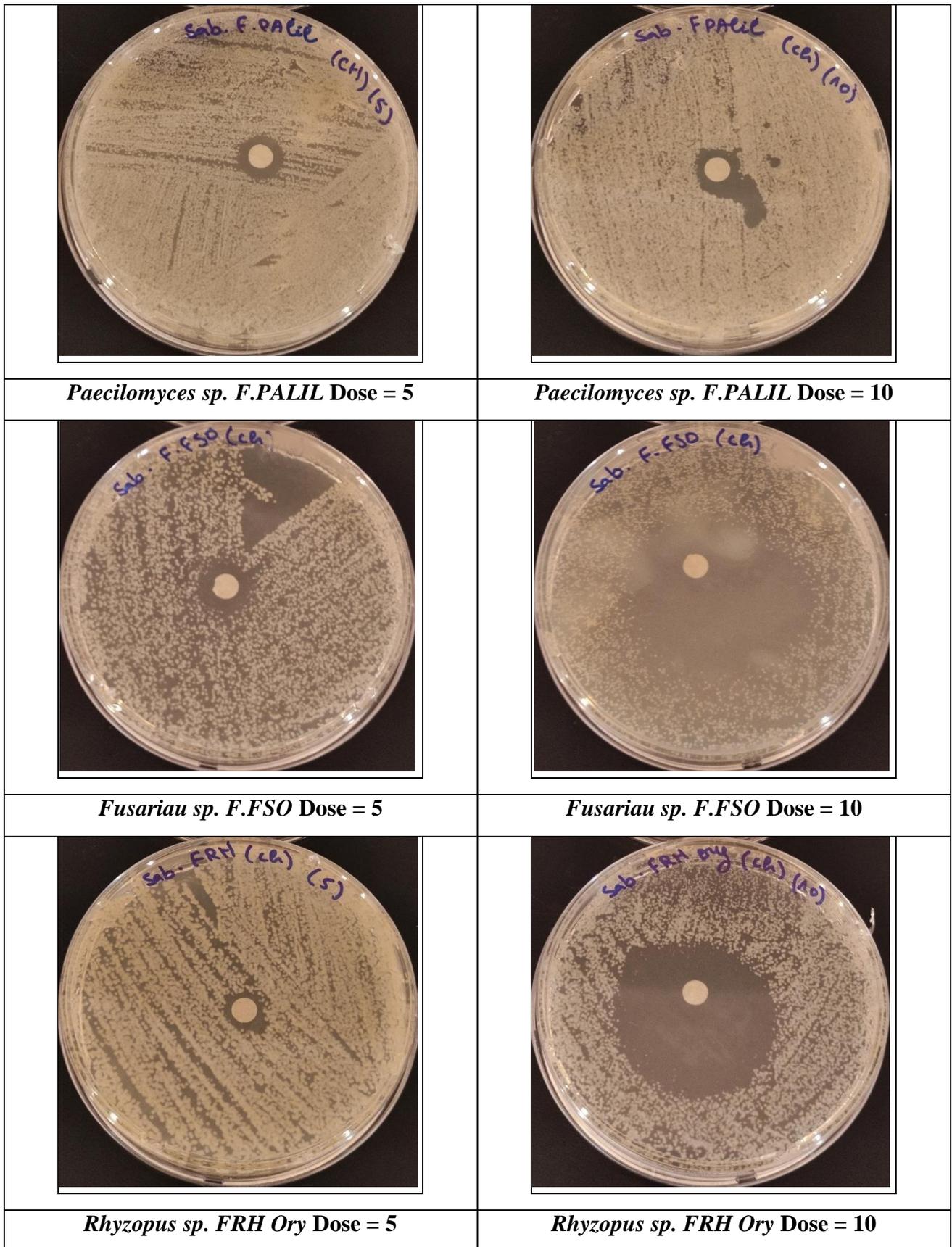


Figure 38 : Zones d'inhibition de l'huile essentielle de l'*Artemisia* sur des souches fongiques testées.

(Photo personnelle)

5. Etude comparative des HEs

5.1. L'activité antibactérienne :

D'après la **Figure 39** les résultats montrent que toutes les HEs étudiées ont une activité antibactérienne contre toutes les souches testées mais il semble que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a la meilleure activité antibactérienne par rapport aux autres HEs parce qu'il a inhibé totalement toutes les souches bactériennes.

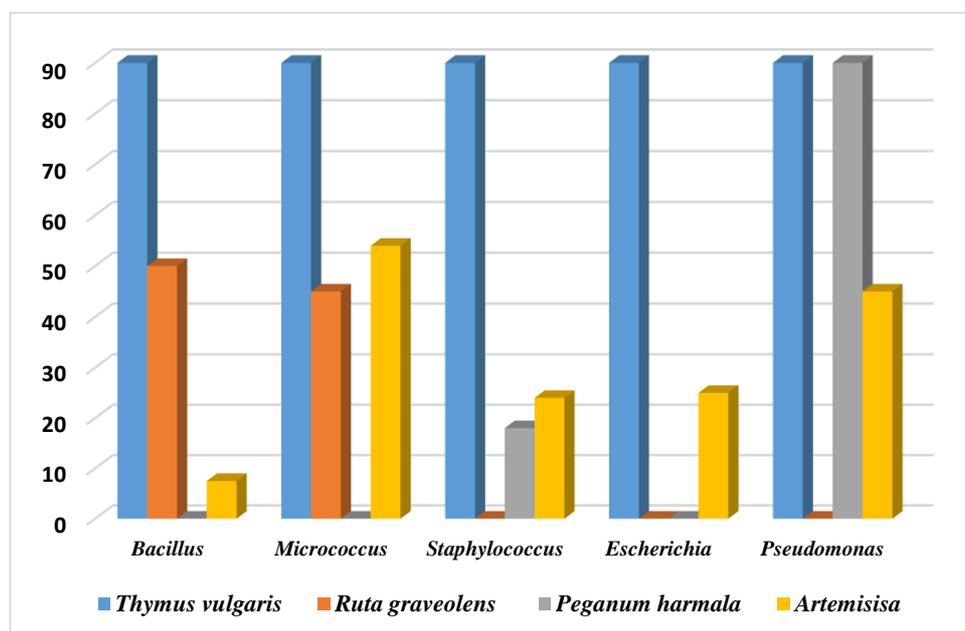


Figure 39 : Les diamètres d'inhibition des HEs en fonction des bactéries.

5.2. L'activité antifongique

5.2.1. Sur les levures

Les résultats de la **Figure 40** montrent que toutes les HEs ont des diamètres presque très proches les uns aux autres ce qui signifie une sensibilité intense des souches fongiques testées (levures) par nos huiles essentielles, et surtout l'HE de *Thymus vulgaris* qui a la meilleure activité antifongique par rapport aux autres HEs.

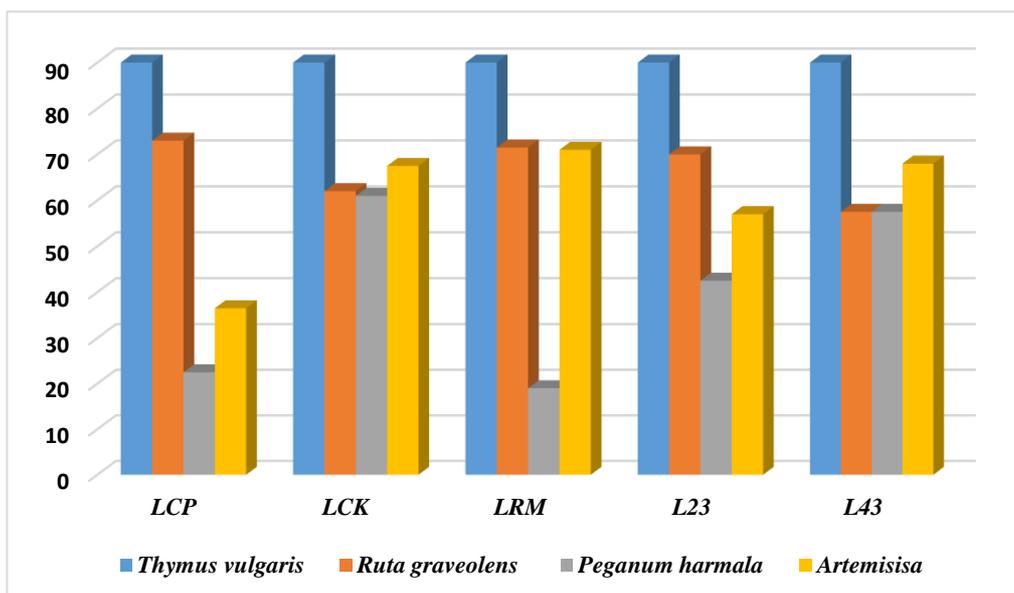


Figure 40 : Les diamètres d'inhibition des HEs en fonction des levures.

5.2.2. Sur les champignons filamenteux

La **Figure 41** montre que toutes les HEs ont une activité antifongique modérément à forte inhibitrice à une dose de 5 μ l sur toutes les champignons filamenteux testées mais il semble que l'HE de *Thymus vulgaris* a le meilleur effet antifongique par rapport aux autres.

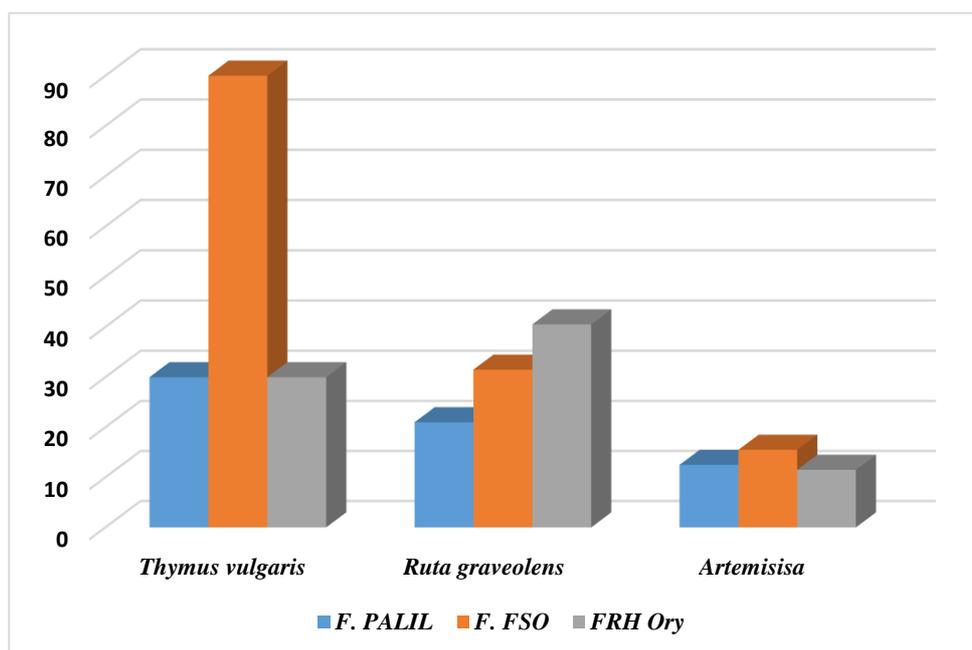


Figure 41 : Les diamètres d'inhibition des HEs en fonction des champignons filamenteuses (Dose = 5).

Les résultats montrés dans la **Figure 42** présentent une forte activité antifongique de nos HEs vis-à-vis les champignons filamenteux testés à une dose de 10 µl et il semble que le *Thymus vulgaris* a le meilleur effet antifongique par rapport aux autres HEs.

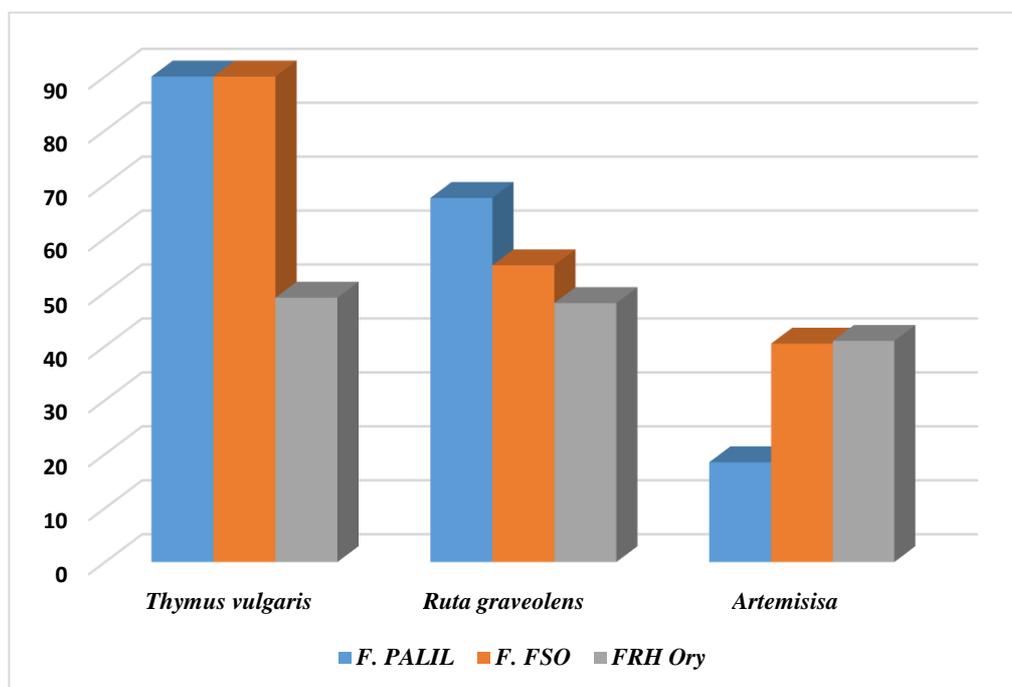


Figure 42 : Les diamètres d'inhibition des HEs en fonction des champignons filamenteuses (Dose = 10).

On observe que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation des concentrations (une activité anti radicalaire dose dépendante) que ce soit pour l'huile essentielle ou pour l'acide ascorbique.

6. L'activité antioxydante

6.1. Activité antioxydante de l'huile essentielle de l'*Artemisia*

6.1.1. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été examiné pour chaque concentration (**Figure 39**). D'après ces résultats, on observe que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation des concentrations (une activité anti radicalaire dose dépendante) que ce soit pour l'huile essentielle ou pour l'acide ascorbique. Pour une concentration donnée, on observe que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH enregistré pour l'*Artemisia* est inférieur à celui de l'acide ascorbique ce qui signifie une activité anti - radicalaire plus importante.

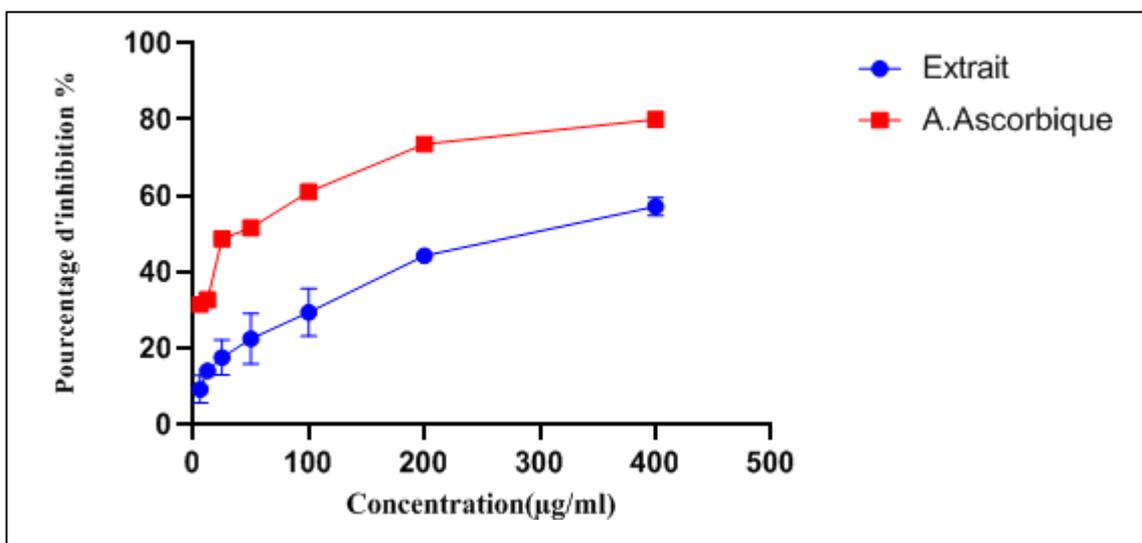


Figure 43 : Pourcentage de piégeage de radical DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique et de l'HE.

Les résultats montrent que le radical DPPH présente une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons suivie de l'apparition de la coloration jaune. Ce changement met en évidence le pouvoir antioxydant d'huile de l'*Artemisia* par sa capacité à piéger le radical libre. Aussi ces résultats, montrent une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile totale ce qui a permis l'obtention des courbes logarithmiques (**Figure 39**), cela indique que l'huile totale possède une activité antioxydante importante avec une IC 50 de 0.30 µg / ml.

6.1.2. Détermination de l'IC50 (Concentration inhibitrice 50 %)

Dans le but de mettre en évidence le pouvoir anti radicalaire de la plante l'*Artemisia* on a testé leur pouvoir avec le radicale DPPH, et pour bien élucider ce pouvoir on a calculé l'IC50 de cette plante et nous l'avons comparée avec un contrôle (acide Ascorbique). Ce qui permet d'exprimer la quantité de la plante nécessaire pour neutraliser 50 % du radical libre DPPH l'IC50 est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé. Cela veut dire qu'une valeur plus faible de l'IC50 indique une activité antioxydante plus élevée.

Les valeurs d'IC50 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations de chacun des composés testés comme c'est illustré dans les (**Figure 40**). Concernant l'*Artemisia*, l'IC50 est de 303.1 µg / ml et l'IC50 de l'acide Ascorbique était de 31.94 µg / ml. D'après ces résultats on prouve que l'acide ascorbique reste l'antioxydant le plus efficace par rapport à notre huile essentielle.

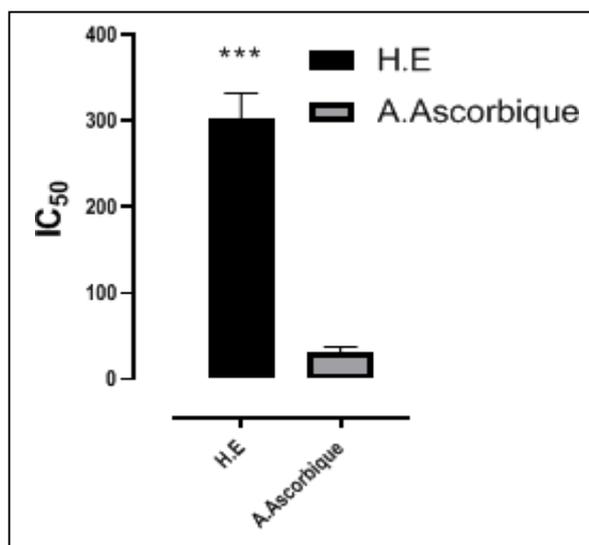


Figure 44 : Comparaison de l'IC₅₀% de l'HE et l'A. Ascorbique.

Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature. Dans une étude réalisée sur certaines plantes médicinales algériennes y compris *Artemisia herba alba*, il a été noté que ces plantes sont de forts piègeurs de radicaux et peuvent être considérées comme une bonne source d'antioxydant naturel à des fins médicinales et commerciales (Mohamed et al., 2010). Abid et al., (2007) ont comparé les effets à long terme de la décoction d'armoise blanche avec la décoction du thé vert ou noir, préparée sans sucres, sur les processus antioxydants chez les rats. Les résultats obtenus ont montré que l'armoise blanche pourrait constituer un bon adjuvant pour lutter contre l'obésité, l'hyperglycémie, l'hypercholestérolémie et le stress oxydatif.

Le pouvoir de piégeage du radical libre DPPH par les HE est généralement présenté par la valeur IC₅₀. Elle est définie comme étant la concentration de l'antioxydant nécessaire pour piéger 50% du DPPH présent dans la solution d'essai. On a déduit graphiquement la concentration correspond à 50% d'inhibition (IC₅₀).

L'HE et l'acide Ascorbique ont exercé une activité anti radicalaire avec des valeurs d'IC₅₀ de 303.1 µg/ml et 31.94 µg/ml respectivement. En comparaison avec l'antioxydant standard (acide Ascorbique), l'HE testée a montré une forte activité anti oxydante, Il est intéressant de noter que l'acide Ascorbique est une substance chimique pure, alors que l'HE d'A. *Herba alba* utilisée se compose de plusieurs substances naturellement actives dont l'une ou quelques-unes d'entre elles doivent posséder ce pouvoir antioxydant, c'est donc une valeur qui attribue à notre HE, qui est biologique et naturelle, un pouvoir anti-radicalaire très intéressant. Ce résultat nous encourage encore à donner plus d'importance aux substances naturelles dans le domaine des additifs, des traitements divers de stabilité et de la lutte biologique.

L'effet anti radicalaire est aussi remarqué dans les travaux de **Khelifi et al. (2013)** qui ont rapporté que l'extrait d'*Artemisia herba alba* a montré une activité anti oxydante mais avec une IC50 inférieure que la nôtre qui est de 20.64 mg/l (l'équivalent de 20,64 µg/ml).

On rappelle que plus la valeur de la IC50 est faible plus l'HE est puissante vis-à-vis des radicaux libres. En outre, il convient de noter que la valeur de la IC50 dépend de plusieurs paramètres : le rapport entre la quantité de l'HE et la quantité de solution de DPPH utilisée dans le mélange, la concentration de la solution du DPPH et le temps d'incubation (**Akrout et al., 2010**).

Les résultats obtenus dans ce test ont indiqué que l'HE et l'acide Ascorbique réduisent d'une manière très significative le radical DPPH. L'HE d'*A. Herba alba* s'est avérée efficace quelle que soit la dose utilisée.

L'activité anti radicalaire de l'HE de l'armoise blanche pourrait être attribuée à sa teneur élevée en monoterpènes oxygénés (**El Massry et al., 2002 ; Akrou et al., 2010 ; Riahi et al., 2010**). En revanche, le camphre, prédominant dans l'HE d'*Artemisia herba alba* de la région de sidi Ahmed, est doté d'un pouvoir antioxydant considérable (**Teixeira da Silva, 2004 ; Bourkhiss et al., 2010**).

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens*, *Peganum harmala* et l'*Artemisia*, vis-à-vis de souches bactériennes Gram positives et Gram négatives (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) et des champignons (*LCP candida sp*, *LCK candida sp*, *LRM candida sp*, *L23 candida sp*, *L43 candida sp*, *Paecilomyces sp*, *F. PALIL*, *Fusariau sp*, *F.FSO*, *Rhizopus sp*, *FRH Ory*).

Le rendement de l'HE de *Thymus vulgaris* présente le meilleur rendement. Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne et antifongique montrent que toutes les HEs testées ont une activité sur la plupart des souches bactériennes et fongiques dont la meilleure activité a été marquée par l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* par rapport aux autres huiles. L'HE d'*Artemisia* possède une capacité antioxydante, mesurée par la méthode au DPPH.

Les résultats de notre travail ne constituent qu'une première étape de la recherche d'un remède naturel ayant des propriétés antimicrobienne et antifongique et antioxydante. Nos résultats peuvent trouver des applications dans les domaines en relation avec le traitement des infections microbiennes notamment.

En perspective, il serait important d'approfondir les recherches sur une large gamme de souches microbiennes et d'identifier les constituants actifs responsables de ces activités antibactériennes et antifongiques, Ainsi que leur mode d'action.

Références bibliographiques

- **Abdelli W., (2017).** *Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de Juniperus phoenicea et de Thymus vulgaris.* Thèse de doctorat 3ième cycle LMD, Microbiologie Appliquée, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, 1-2 ; 15-16 ; 31-35 ; 70-72 ; 80 ; 90 ; 104p.
- **Abdelli W., (2017).** *Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de Juniperus phoenicea et de Thymus vulgaris.* Thèse de doctorat 3ième cycle LMD, Microbiologie Appliquée, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, 1-2 ; 15-16 ; 31-35 ; 70-72 ; 80 ; 90 ; 104p.
- **ABDULBASSET M.E.S.et ABDE TAWAB A.H. (2008).** *Médicinal Herbal Guide.* Ed: ALFA – PUBLISHING; p: 428 - 429.
- **Abid Z.B, Fekir M., Hédhili A, AND Hamdaoui M.H, (2007).** *Artemisia herba-alba Asso(Asteraceae) has equivalent effects to green and black tea decoctions on antioxydant processes and some metabolic parameters in rats.* Ann. Natr. Metab ; 51(3): 216-222.
- **Achour S, Aadi H, Turcent A, Banani A, Mokhtari A, Soulaymani A, Soulaymani Bencheikh R. (2012).** *Intoxication au Peganum harmala L. et grossesse : deux observations marocaines. Peganum harmala L. poisoning and pregnancy: two cases in Morocco.* Med. Sante. Trop 22 : 84-86.
- **AFNOR. (1989).** *Normes des huiles essentielles.* Ed. AFNOR. Paris.
- **Aidoud, A. (1983).** *Contribution à l'étude des écosystèmes steppiques du Sud oranais : Phytomasse, productivité primaire et applications pastorales.* Thèse doct. 3°cycle. USTHB. Alger. 180 p.
- **Akrout, A, H. el-janil, S. Amouri M, Neffati, (2010).** *Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of Artemisia campestris L., Artemisia herbaalbaAsso, & thymus capitatus Hoff. and Link Growing wild in the southern of Tunisia.* Rec Res Sci Tech., 2: 29-39.
- **Al-Bayati F. A. (2008).** *Synergistic antibacterial activity between Thymus vulgaris and Pimpinella anisum essential oils and methanol extracts.* Journal of Ethnopharmacology., 166 (3) : 403-406p.
- **Amié, D., Davidovié-Amié, D., Bešlo, D. et Trinajstic, N. (2003).** *Structure radical scavenging activity relationships of flavonoids.* Croatica chemical acta, 76(1): 55-61.

- **Amiot J., (2005).** *Thymus vulgaris, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaire.* Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de Montpellier. *antioxidant activity.* Lebensmittel-Wissenschaft und -Technology, 28, 25–30.
- **Anton R., 1999.** *Plantes thérapeutiques : traduction, pratique officinale, science et thérapeutique.*
- **Aouadhi S. (2010).** *Etude de 57 plantes recommandées par les herboristes.* Mémoire de Master spécialisé en toxicologie, faculté de médecine, Tunis, p 191.
- **Asgarpanah J, Ramezanloo F. Harmala L. African J (2012).** *Chemistry, pharmacology and medicinal properties of Peganum.* *Pharmacy and Pharmacology*; 6:1573-1580.
- **Asgarpanah, J., (2012).** *Phytochemistry and pharmacological properties of Ruta graveolens L.* *Journal of Medicinal Plants Research* [En ligne]. Vol. 6(23), pp.3942-3949. <http://www.academicjournals.org/JMPR>
- **Asghari G, Saidfar G, Mahmudi S.(2004).** Biotransformation of aromatic aldehydes by cell cultures of *Peganum harmala* L. and *Silybum marianum* (L.) Gaertn. *Iran. J. Pharm. Res* 2 : 127-130.
- **Avlessi F., Alitonou G.A., Djenontin T S., Tchobo F., Yèhouéno B., Menut C., SohounhlouéD., (2012).** *Chemical composition and biological activities of the Essential oil extracted from the Fresh leaves of Chromolaena odorata (L. Robinson) growing in Benin.* *ISCA Journal of Biological Sciences*, 1(3) : 7-13.
- **Baba Aissa F. (2000).** *Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident.* Edition librairie moderne, Rouïba.
- **Baba Aissa, F. (1991)** *Les plantes médicinales en Algérie, coédition Bouchene et ad. Diwan,* Alger, 29.
- **BABA IASSA F. (1999) .** *Encyclopédie des Plantes Utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb ;* Ed : LIBRAIRIE MODERNE – ROUIBA ; p : 243 - 244.
- **Badi, H. N., Yazdani, D., Ali, S. M., & Nazari, F. (2004).** *Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, Thymus vulgaris L. Industrial crops and products, 19(3), 231-236.*
- **Bakkali F., Averbeck S. and Averbeck D., Idaomar M., (2008).** *Biological effects of essential oils- A review. Food and Chemical Toxicology*, 46, 446-475.
- **Bassereau M., Chaintreau A, Duperrex S, Joulain D, Leijs H, Loesing G , OWEN N , Sherlock A , Schippa C , Thorel PJ , VEY M. , (2007).** *GC MS Quantification of suspected*

volatile allergens in fragrances. Data treatment strategies and method performances . J Agric Food Chem ; .55 : 25-31.

- **Bazylko A. et Strzelecka H. 2007.** *A HPTLC densitometry determination of lutéoline in Thymus vulgaris and its extracts. Fitoterapia.*, 78 : 391-395p.
- **Belaiche, P. (1979).** *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie : Les maladies infectieuses* (Maloine). p. 9-20.
- **Belhattab R., Amor L., Barroso J.G., Pedro L.G. et Figueiredo A.C., (2012).** *Essential oil from Artemisia herba-alba Asso grown wild in Algeria: Variability assessment and comparison with an updated literature survey.* Arabian Journal of Chemistry.
- **Beloued A., 2005.** *Plantes médicinales d'Algérie.* Office des publications universitaires. Alger.
- **Ben Saadi H., Guemmouda S. (2017).** *Etude de l'activité antioxydante, Et antibactérienne d'extrait de Suaeda fruticosa.* Mémoire master académique.
- **Benbouali M., (2006).** *Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de "Mentha rotundifolia et Thymus vulgaris".* Magister, Génie chimique, Université Hassiba BEN BOUALI –CHLEF, 6-10 ; 17 ; 20-24 ; 29-37 ; 68-73p.
- **Benkiki, N. (2006).** *Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : Ruta montana, Matricaria pubescens et hypericum perforatum [En ligne].* Thèse de Doctorat En chimie. Université El hadj Lakhdar Batna. 12p.
- **Benouali d. (2016).** *Extraction identification des huiles essentielles.* Mémoire de master.
- **Bernard T., Periau F., Brav O., Delmas M. & Gaset A., (1988).** *Extraction des huiles essentielles. Chimie et Technologie.* Information chimie.
- **Bevilacqua S, Demoré B, Erpelding ML, Boschetti E, May T, May I, Rabaud C, Thilly N. (2011).** *Effects of an operational multidisciplinary team on hospital antibiotic use and cost in France: a cluster-controlled trial.* Int J Clin Pharm. Jun;33(3):521-8.
- **Bezza L., Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou L., HadjMinaglon F. et Kaloustian J., (2010).** *Chemical composition of the essential oil of Artemisia herba alba from the region of Biskra (Algeria).* Phytotherapy, 8: 277-281.
- **Blois. M.S. (1958)** *Antioxidant determinations by the use of stable free radical.* Nature, 181, 1199 –
- **Bouguerra, N., Tine-Djebbar, F., & Soltani, N. (2017).** *Algerian Thymus vulgaris essential oil: chemical composition and larvicidal activity against the mosquito Culex pipiens.* International Journal of Mosquito Research, 4(1), 37-42.

- **Boukef K. (1982).** *Pharmacopée tunisienne traditionnelle : Harmel. Le pharmacien du Maghreb.* 2, 38-40.
- **Boumediene, N. & Agha, O. (2014).** *Contribution à l'étude de l'activité biologique d'une espèce du genre Ruta de Djebel Tessala (Algérie occidentale) et à la faisabilité d'un Plan de conservation [En ligne]. Mémoire du diplôme de Master II, option d'Amélioration de la Production Végétale.* Université de Abou Beker Belkaid Tlemcen. 30p.
- **Bourkhiss M., Hnach M., Paolini J., Costa J., Farah A. et Satrani B., (2010).** *Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des HE des différentes parties de tetraclinisarticulata(vahl) masters du Maroc.* Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège ; Vol. 79, 141 – 154.
- **Brand-Williams. W., Cuvelier M.E. et Berset C. (1995).** *Use of a free radical method to evaluate*
- **Browne. RW., Bloom MS., Schisterman. EF., Hovey. K., Trevisan. M., Wu. C, Liu. A et Wactawski-Wende. J. (2008).** Analytical and biological variation of biomarkers of oxidative stress during the menstrual cycle. *Biomarkers*, 13: 160-183.
- **Bruneton J, (1993).** *Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 2ème édition, Tec & Doc. Lavoisier.* Paris, 915p
- **Bruneton J., (1999).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Ed.* Paris: Tec & Doc Lavoisier, P. 207-211.
- **Bruneton, J. (1993).** *Pharmacognosie : Phytochlppppppimie Plantes Médicinales, Technique Et Documentation.* Ed, Lavoisier, Paris, 218.
- **Cheriti A., Rouissat A., Sekkoum., Balansard G., 1995.** *Plantes de la pharmacopée traditionnelle dans la région d'El-Bayadh (Algérie), Fitoterapia, vol. LXVI, (6) : 525- 537.*
- **Cheurfa M., (2015).** *Intérêt des biomolécules d'origine végétale sur la santé.* Thèse de doctorat LMD, sciences alimentaires et nutrition, Université Hassiba BEN BOUALI – Chlef, 4-7 ; 12 ; 19 ; 27-41p.
- **Chopra C, Abrol BK, Handa KL. (1960).** *Les plantes médicinales des régions arides. Recherche sur les zones arides.* Ed UNESCO, Rome ,97p.
- **Chopra R N, Nayar S L, Chopra L C. (1986).** *Glossary of Indian medicinal plants.* New Delhi: Council of Scientific and Industrial Research.
- **Comhair, S.A et Erzurum, S.C. (2002).** *Antioxidant responses to oxidant mediated lung diseases.* *Am. J. Physiol.* 283 : L 246- L 255.

- **Conner D.E., Beuchat L.R. (1984).** *Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts.* J Food Sci, 49, 429-434p
- **Cossu, C., Doyotte, A., Jacquin, M.C., Babut, M., Exinger, A et Vasseur, P. (1997).** *Glutathione reductase, selenium-dependent glutathione peroxidase, glutathione levels, and lipid peroxidation in freshwater bivalves, Unio tumidus, as biomarkers of aquatic contamination in field studies.* Ecotoxicol Environ Saf 38, 122-131.
- **Couderc V.L. (2001).** *Toxicité des huiles essentielles.* Thèse de doctorat pour l'obtention du grade de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse. P 84.
- **Da Silva F., (2010).** *Utilisation des huiles essentielles en infectiologie orl.* Thèse de Doctorat, Pharmacie, UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1, 6 ; 26 ; 29 ; 45p.
- **Davies MJ. (2004).** *Reactive species formed on proteins exposed to singlet oxygen.* Photochem Photobiol Sci; 3: 17-25.
- **Davies MJ. (2004).** *Reactive species formed on proteins exposed to singlet oxygen.* Photochem Photobiol Sci; 3: 17-25.
- **Dayan F.E., Cantrell C.L., Duke S.O, (2009).** *Natural products in crop protection.* *Bioorganic & Medicinal Chemistry.*17, 4022-4034p
- **De Billerbeck V.G., Roques C., Vaniere P., ET Marquier P., (2002).** *Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles.* Rev. Hygiène, 10(3) : 248-254.
- **De Feo V, Senatore F. (1993).** *Medicinal plants and phytotherapy in the Amalfitan Coast, Salerno Province, Campania, Southern Italy.* Journal of Ethnopharmacology 39: 39-51.
- **Delattre, J., Beaudoux, J.-L. et Bonnefont-Rousselot, D. (2007).** *Radicaux libres et stress oxydant : Aspects biologiques et pathologiques.*
- **Dethier Tordeur, M. (1996).** *Contribution à l'étude des plantes aromatiques du Burundi (Montpellier 2).* 182p.
- *differentially regulated during development and by hyperoxia.* Am. J. Physiol. 280: 1212-1217.
- **Djebaili S., (1984).** *Steppe Algérienne. Phytosociologie et Ecologie,* Office des Publications Universitaires Algérie. Pp 178.
- **Doerper, S., (2008).** *Modification de la synthèse des furocoumarines chez Ruta graveolens L. par une approche de génie métabolique [En ligne].* Thèse, spécialité En Sciences Agronomiques. Université de Lorraine. 32-34p.

- **Duraffourd C., D'Hervicourt L. et Lapraz J. C. (1990).** *Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galéniques. Eléments thérapeutiques synergiques.*, 2^{ème} éd. Masson, Paris. Edition 3^{ème}. Tec & Doc. pp.7.
- **Edris, A. E. (2007).** *Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review, Phytotherapy Research.* International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 21, 308-323.
- **El Bouzidi, L., Jamali, C. A., Bekkouche, K., Hassani, L., Wohlmuth, H., Leach, D., Abbad, A., 2013.** *Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils obtained from wild and cultivated Moroccan Thymus species.* Industrial Crops and Products, 43, 450-456.
- **El-Akhal F., Greche H., Ouazzani Chahdi F., Guemmouh R., El Ouali Lalami A. (2015).** *Composition chimique et activité larvicide sur Culex pipiens d'huile essentielle de Thymus vulgaris cultivées au Maroc.* J. Mater. Environ. Sci, 6(1), 214- 219.
- **El-Massry, K.F., A.H. El-Ghorab & A. Farouk. (2002).** *Antioxidant activity and volatile components of Egyptian Artemisia Judaica.* L. Food Chem., 79 : 331–336.
- *Fitoterapia* 71: 50-54.
- **Fleisher Z., Fleisher A., Nachbar R. B., (2002).** *Chemovariation of Artemisia herba - alba Asso . Aromatic Plants of the Holy Land and the Sinai.* Part XVI. J. Essent . Oil Res . , 14 , 156- 160 .
- **Folliard, T. (2014).** *Le petit Larousse des huiles essentielles.* Larousse. Paris – 8 vol., p447.
- **Franchomme, P., Jollois, R., Pénéol, D. & Mars, J. (1990).** *L'aromathérapie exactement : encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles : fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle* (R. Jollois). Limoges. 445.
- **Frison G, Favretto D, Zancanaro F, Fazzin G, Ferrara SD. (2008).** *A case of β -carboline alkaloid intoxication following ingestion of Peganum harmala seed extract.* Forensic. Sci. Int 179, e37–e43.
- **Ghrabi Z. S., (2005).** *A Guide to Medicinal Plants in North Africa.* IUCN Centre for Mediterranean Cooperation, Malaga, Spain. P43.
- **Gilgun-Sherki, Y., Melamed, E., et Offen, D. (2001).** *Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier.* Neuropharmacology 40: 959-975.

- **Goel N., Singh N., and Saini R. (2009).** *Efficient in vitro multiplication of Syrian Rue (Peganum harmala L.) using 6 benzylaminopurine pre-conditioned seedling explants.* Nature and Science. **7(7)**, 1545-0740.
- **Goetz P., et Ghédira K., (2012).** *Phytothérapie anti-infectieuse.* Springer Science & Business Media, 394p
- **Goetz, P. Ghedira, K. (2012).** *Phytothérapie anti-infectieuse.* Springer Science & Business Media. 394.
- **Gogny M. (2001).** *Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire.* Edition le point vétérinaire. 165-168.
- **Guignard J-L. (1996).** *Métabolites secondaires-Biochimie végétal.* Edition MASSON. 169-231 p.
- **Halliwell, B. et Gutteridge, J. M. (1990).** *Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview.* Methods Enzymol 186: 1-85.
- **Hammiche V, Merad R, Azzouz M. (2013).** *Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen.* Paris, Springer, 447P.
- **Haoui, I. E., Derriche, R., Madani, L., & Oukali, Z. (2015).** *Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian Inula viscosa (L.) Aiton.* Arabian Journal of Chemistry, 8(4), 587-590.
- **Heller, J.D., Kuo, J., Wu, T.C., Kast, W.M., Huang, R.C., 2001.** *Tetra-O-methyl nordihydroguaiaretic acid induces G2 arrest in mammalian cells and exhibits tumoricidal activity in vivo.* Cancer Res. 61, 5499–5504.
- **Hosttman, K.A., Marston, A.1997.** *Chemistry and Pharmacognosy of natural product,* Cambridge University Press, Combridge, UK, 1995.
- **Hudaib M.H. et Aburjai T.A., (2006).** *Composition of the essential oil from Artemisia herba alba grown in Jordan.* Journal of essential oil research. Volume 18, Issue 3.Pp. 301-304.
- **Idrissi Hassani L. M. et Hermas J., (2008).** *Effets de l'alimentation en Peganum harmala L. (Zygophyllaceae) sur le tube digestif du criquet pèlerin Schistocerca gregaria Forsk. (Orthoptera, Acrididae).* Zool. Baetica., 19 : 71-84
- **Imelouane B., Amhamdi H., Wathelet J.P., Ankit M., Khedid K., El Bachiri A. (2009).** *Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of thyme (Thymus vulgaris) from Eastern Morocco.* International Journal of Agriculture & Biology, 11(2), 205-208.
- **Iserin P., Masson M., Restellini J.P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Delesalle-Feat T., Biaujeaud M., et al., (2001).**

Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Edition Larousse. Paris, 335p.

- **Iserin, P. (2001).** *Encyclopédie des Plantes Médicinales*. 2^{ème} édition. Belge. 264-265p.
- **Iserin, P., Moulard, F., Rachel, R., Biaujeaud, M Ringuet., J Bloch. J Ybert. E Vican., P Masson, M. (2001).** *La rousse : encyclopédie des plantes médicinales ; identification, préparation, soins*, 2, 155-291.
- **Isman M.B, (2000).** *Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protection*. 19, 603-608p.
- **Isman M.B., Miresmailli S., Machial C, (2010),** *Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. Phytochemistry Reviews*, DOI: 10.1007/s11101-010-9170-4
- **Jean.F., Guy.L et Michéle.T. (2007).** *Microbiologie générale et appliquée. delevrage*. Paris : saint-amand-Montrond.p285p.2-206-03328-3(2).
- **Jean.F., Guy.L et Michéle.T. (2007).** *Microbiologie générale et appliquée. delevrage*. Paris: saint-amand-Montrond.p285p.2-206-03328-3(2).
- **Jordán, M. J., Martínez, R. M., Goodner, K. L., Baldwin, E. A., & Sotomayor, J. A. (2006).** *Seasonal variation of Thymus hyemalis Lange and Spanish Thymus vulgaris L. essential oils composition. Industrial crops and products*, 24(3), 253-263.
- **Kahlouche-Riachi F., (2014).** *Evaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie*. Thèse de Doctorat, Sciences Vétérinaires, UNIVERSITE DE CONSTANTINE 1, 1 ; 14 ; 19-23 ; 39 ; 104p.
- **Kang, K., Pulver, S.R., Panzano, V.C., Chang, E.C., Griffith, L.C., Theobald, D.L., Garrity, P.A. (2010).** *Analysis of Drosophila TRPA1 reveals an ancient origin for human chemical nociception. Nature* 464(7288): 597--600.
- **Kazemi, M., Mousavi, E., & Bandrez, N. (2012).** *Chemical compositions and antibacterial activity of the essential oils of Thymus vulgaris and Tanacetum parthenium. Res. J. Soil Biol*, 4, 21-31.
- **Khelifi D., Sghaier R.M., Amouri S., Laouini D., Hamdi M. and Bouajila J., (2013).** *Composition and antioxidant, anticancer and anti-inflammatory activities of Artemisia herba alba, Rutachalpensis L. and Peganumharmala L. Food and chemical toxicology*; 55: 202-208.
- **Kim, H.S., Kang, S.W., Rhee, S.G et Clerch, L.B. (2001).** *Rat lung peroxiredoxins I and II*.
- **Kothe, A. (2007).** *1000 plantes aromatiques et médicinales*. Ed : Terre édition. P7- 13V.

- **Kundan S., and Anupam S. (2010).** *The Genus Artemisia: A Comprehensive Review.* *J. Pharm. Biol.*pp:1-9.
- **Kurkin, V. (2003).** *Phenylpropanoids from medicinal plants: distribution, classification, structural analysis, and biological activity,* *Chemistry of natural compounds*, 39, 123-153.
- **Laëtitia M. (2015).** *Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant.* Thèse doctorat en pharmacie, 45.
- **Lakhdar L., (2015).** *Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur Aggregatibacter Actinomycetemcomitans : Etude in vitro.* Thèse de doctorat, Sciences Odontologiques, Université Mohammed V de Rabat, 6 ; 38-45p.
- **Lamchouri F, Settaf A, Cherrah Y, Hasser M, Zemzami M, Arif N, Nadori EB, Zaid A, Lyoussi B. (2000).** *In vitro cell toxicity of Peganum harmala alkaloids on cancerous cell lines.*
- **Lavigne J.P., (2007).** *Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance. MB7 : Bactériologie B6 -Antibiotiques et résistance.* Faculté de Médecine Montpellier -Nîmes. 3 p.
- **Li, Y., Fabiano-Tixier, A.-S. & Chemat, F. (2014)** *Essential oils as reagents in green chemistry.* Springer International Publishing.p. 9-20.
- **Lu Q, Yang L, Zhao HY, et al. (2013).** *Protective effect of compounds from the flowers of Citrus aurantium L. Against carbon tetrachloride-induced hepatocyte injury.* *Food Chem Toxicol.* 62:432–5.
- **Mahmoudian M, Jalipour H, Dardashti, PS, J. Pharmacol. (2002).***Toxicity of Peganum harmala: review and a case report.* Iran. 1, 1-4.
- **Maier AG, et al. (2000).** *Binding of coatomer by the PEX11 C-terminus is not required for function.* *FEBS Lett* 484(2):82-6.
- **Maire R. (1993).** *Etudes sur la flore et la végétation du Sahara central. Mémoire de la société d'histoire naturelle de l'Afrique du nord, n°3,* Mission du Hoggar II, Alger, 361 p.
- **Makhlouf, H. (2002).** *Les Huiles Essentielles Du Romarin Et Du Clou De Girofle: Approche Analytique Et Activité Antioxydante Sur Une Huile Alimentaire,* Mémoire D'ingénieur., Ina. El-Harrach.
- **Malik, S., Coutinho Moraes, D. F., Mendonça do Amaral, F. M. & Sousa Ribeiro M. N. (2017).** *Ruta graveolens: Phytochemistry, Pharmacology, and Biotechnology.* Springer International Publishing Switzerland [En ligne]. 177-204. DOI 10.1007/978-3-319-28669-3_4.

- **Mancuso, G., Borgonovo, G., Scaglioni, L. & Bassoli, A. (2015).** *Phytochemicals from Ruta graveolens Activate TAS2R Bitter Taste Receptors and TRP Channels Involved in Gustation and Nociception. Molecules [En ligne].* 18907-18922. Doi :10.3390/molecules201018907.
- **MARIE ELISABETH LUCCHESI. (2005).** *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles.* P : 17 ; 23, 52.
- **Mars Brigitte (2009).** *The Desktop Guide to Herbal Medicine.* Publisher ReadHowYouWant,
- **Mates, J.M., Perez-Gomez, Cet Nunez De Castro, I. (1999).** *Antioxidant enzymes and humain diseases.* Clin. Biochem. 32 : 595-603.
- **Mebarki N., (2010).** *Extraction de l'huile essentielle de Thymus fontanesii et application à la formulation d'une forme médicamenteuse – antimicrobienne.* Magister, Génie des procédés chimiques et pharmaceutiques, Université M'hamed Bougara Boumerdes, 1 ;14 ; 29-31 ; 51 ; 107p.
- **Medjekane M., (2017).** *Prévalence de l'infection à Helicobacter pylori et son inhibition par des molécules bioactives.* Thèse de Doctorat, Nutrition humaine, Université Hassiba Benbouali de Chlef.
- **Mensor, L.L., Menezes, F.S., Leitão, G.G., Reine, A.S., Santos, T.C., Coube, C.S et Leitão, S.G., (2001).** *Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant isoactivity by the use of DPPH free radical method.* Phy-tother.Res 15, 127-130.
- **Migdal, C. et Serres, M. (2011).** *Reactive oxygen species and oxidative stress.* Med Sci (Paris) 27(4): 405-412.
- **MILBURY P., RICHER A., 2008.** *Understanding the Antioxidant Controversy.* Ed. Praeger: 81p.
- **Mina CN, Mohammad H F, Gholamreza. (2015).** *Medicinal properties of Peganum harmala L. in traditional Iranian medicine and modern phytotherapy: a review.* J. Tradit. Chin. Med 35(1): 104-109.
- **Mioulane P., (2004).** *Encyclopédie Universelle des 15000 plantes et fleurs de jardins,* Larousse. Ed. Protea: 7-50.
- **Mirjalili. M.H., Tabatabaei S.M.F., Hadian J., Nejad S.E.,and Sonboli. A. (2007).** *Phenological Variation of the essential oil of Artemisia scopariafrom Iran. J. Essent. OilRes.* 19 : 326–329
- **Miura, K., Kikuzaki, H., Nakatani, N. , 2002.** *Antioxidant activity of chemical components from sage (Salvia officinalis L.) and thyme (Thymus vulgaris L.) measured by the oil stability index method.* Journal of agricultural and food chemistry,50(7), 1845-1851.

- **Mohamed A.H., El-Sayed M.A. and Mohamed N.S., (2010).** *Chemical constituents and biological activities of Artemisia herba alba*. Records of natural products; 4: 1-25.
- **Mohsen H. et Ferchichi A., (2009).** *Essential Oil Composition of Artemisia herba-alba from Southern Tunisia*. Molecules, 14 : 1585-1594.
- **Mokkadem, A. (1999)** Cause de Dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie, *Revue Vie et Nature*, 24-26.
- **Moloudizargari M, Mikaili P, Aghajanshakeri S, Hossein A M, Shayegh J. (2013).** Pharmacological and therapeutic effects of *Peganum harmala* and its main alkaloids. *Pharmacogn. Rev* 7(14) : 199–212.
- **Monsif H. R., Ghobadi A. and Iranshahi M. (2004).** *Antinociceptive effects of Peganum harmala L. alkaloid extract on mouse formalin test*. J Pharm Pharmaceu Sci. 7(1), 65-69.
- **Morales R., (2002).** *The history, botany and taxonomy of the genus Thymus*. In: *Thyme: Thegenus Thymus (coordonné par E Stahl-Biskup., F Saez)*, pp 1-43. Taylor & Francis, London
- **Moreira, M. R., Ponce, A. G., Del Valle, C. E., & Roura, S. I. (2005).** *Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen*. LWT-Food Science and Technology, 38(5), 565-570.
- **Mucciarelli M and Maffei M. (2002).** *Artemisia: Introduction to the Genus Vol. 18 Ed Colin W.W. in Taylor & Francis*. Ed. London and New York. pp: 10-16.
- **Nabli A., (1989).** Essai de synthèse sur la végétation et la phyto - écologie tunisienne. Programme flore et végétations tunisiennes. 193 p.
- **Nickavar, B., Mojab, F., Dolat-Abadi, R., 2005.** *Analysis of the essential oils of two Thymus species from Iran*. Food Chemistry, 90(4), 609-611.
- **Ogawara H. (1981).** *Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria with special reference to betalactam antibiotics*. Microbial. Rev ; 45(4) : 591-619.
- **Ozenda P. (1991).** *Flore et végétation du Sahara 3ème édition, augmentée*. Ed CNRS, Paris, 662 p.
- **Padua, L.S. (1999).** *Bunyapraphatsara, R.H.M.J. Lemmens*, Plant Resources of South- East Asia, 1.
- **Pardini F., Lucheroni M. T (1996).** *Le grand livre des Huiles essentielles*. Ed. de Vecchi.
- **Parray, S. A., Bhat, J., Ahmad, G., Jahan, N., Sofi, G., Faisal Iqbal, S. M. (2012).** *Ruta graveolens: from Traditional System of Medicine to Modern Pharmacology: an Overview*. American Journal of PharmTech Research [En ligne]. 22(2). 2249-3387. www.ajptr.com

- **Parsons WT, Cuthbertson EG.** (1992). *Noxious Weeds of Australia*. Ed Inkata Press, Melbourne, 692p.
- **Peltier, J.-B., Ytterberg, A.J., Sun, Q et Wijk, K.J.** (2004). *New functions of the thylakoid membrane proteome of Arabidopsis thaliana revealed by a simple, fast, and versatile fractionation strategy*. *J. Biol. Chem.* 279, 49367–49383.
- **Perron K, Schrenzel J, Linder P.** (2010). *Des bactéries et des homes de la santé au développement durable*. [Brochure]. 3ème journée de microbiologie, septembre. Disponible sur www.unige.ch/public.
- **Peter K.V.,** (2004). *Handbook of herbs and spices*. Elsevier, 376p
- Photobiol Sci; 3: 17-25.
- **Pina-Vaz C, Gonsalves Rodrigues A, Pinto A, Costa-de-Oliveira S, Tavares C, Salgueiro L, Cavaleiro C, Gonsalves MJ, Martinez-de-Oliveira J** 2004. *Antifungal activity of Thymus pils and their major compounds*. *J Eur Acad Dermatol* 18: 73-78.
- **Pitman V.,** (2004). *Aromatherapy: A practical approach*. édition Nelson Thornes, 364p
- **Polese J.M.,** (2006). *La culture des plantes aromatiques*. Edition Artemis, 93p.
- **Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I.** (2003). *Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard*. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.
- **Powers. SK., Smuder. AJ., Kavazis. AN et Hudson. MB.** (2010). *Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance*. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*; 20: 2-14.
- **Prior R. L et Gu L.,** (2005). *Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet*. *Phytochemistry*, 66, 2264-2280 cité par céspedes *et al.*, 2008.
- **Provost, M.** (1991). *Des plantes qui guérissent Ed bibliothèque Québécoise*, Canada p13.
- **Quezel P, Santa S.** (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. 2 Vol, CNRS, Paris, 1170p.
- **Quezel P. et Santa S.** (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions méridionales*. Tome 2. Édition, CNRS Paris ,1170 p.
- **Quezel P., Santa S.,** (1962). *Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales*. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, Tome I. 565 p.
- **Raghavan S.,** (2006). *Handbook of spices, seasonings, and flavorings. 2nd edition, CRC Press*, 330p

- **Rasooli, I., Rezaei, M. B., & Allameh, A., (2006).** *Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on Listeria monocytogenes.* International journal of infectious diseases, 10(3), 236-241
- **Raynaud, J. (2006).** *Prescription et conseil en aromathérapie.* Tec & Doc. 16.
- **Razafindrakoto B.S, (1988).** *Huiles essentielles d'Eucalyptus de Madagascar ; Variabilité de la composition et du rendement en fonction de la période de récolte ; essais de classement chemotaxonomique et propriétés pharmacodynamiques.* Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, France, 225p
- **Regnault-Roger C., Hamraoui A, (1995).** *Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on Acanthoscelides obtectus (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (Phaseolus vulgaris L.). J. Stored Prod. Res, 31, 291-299p*
- **Rey C., (1990).** *La culture du thym en Suisse.* Revue horticole suisse, 63 : 20-22.
- **Riahi L., Chograni H., Elferchichi M., Zaouali Y., Zoghalmi N., et Mliki A., (2010).** *Variations in Tunisian wormwood essential oil profiles and phenolic contents between leaves and flowers and their effects on antioxidant activities.* Industrial Crops and Products 46 : 290-296.
- **Roché C., (1991).** African rue (*Peganum harmala* L.). In Weeds, A Pacific Northwest Extension Publication, Washington State University Cooperative Extension, Oregon State University Extension Service, University of Idaho Cooperative Extension System, USDA, PNW369.
- **Roede J.R. et Jones D.P. (2010).** *Reactive species and mitochondrial dysfunction: mechanistic significance of 4-hydroxynonenal.* Environmental and Molecular Mutagenesis. 51, 380-390.
- *role in inflammatory disease and progression to cancer.* Biochem J 313 (Pt 1), 17-29.
- **Salido S., Valenzuela L.R., Altarejos j., Noguerras M., Sánchez A. et Carro E., (2004).** *Composition and infraspecific variability of Artemisia herba alba from southern Spain.* Biochemical Systematics and Ecology, 32 : 265-277.
- **Sallé, J. L., & Pelletier, J. (1991).** *Les huiles essentielles : synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie.* Ed. Frison-Roche, 168.
- **Sanago R., (2006).** *Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle.* Université Bamako(Mali): 53.
- **Selles C., (2012).** *Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen: Anacyclus pyrethrum L, Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H2SO4 0.5M.* Thèse de pharmacie. 214p.

- **Selmi S. et Sadok S. 2008.** *The effect of natural antioxidant (Thymus vulgaris Linnaeus) on flesh quality of tuna (Thunnus Linnaeus) during chilled storage.* Pan– American Journal of aquatic sciences. 3 (1) : 36-45p.
- *Sex, Training Status, and Dietary Intake.* Gender Medicine, 2008; 5: 218-228.
- **Sheahan MC, Chase M. (1996).** *A phylogenetic analysis of Zygophyllaceae R. Br. based on*
- **Small E., Deutsch G., (2001).** *Herbes culinaires pour nos jardins de pays froid.* NRC ResearchPress, 193p
- **Sofowora A., (2010).** *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique.* Académie suisse des sciences naturelles : Karthala.
- **Syamasundar, K. V., Srinivasulu, B., Stephen, A., Ramesh, S., & Rao, R. R. (2008).** *Chemical composition of volatile oil of Thymus vulgaris L. from Western Ghats of India.* Journal of Spices and Aromatic Crops, 17(3), 255-258.
- **Tahrouch S, Rapier S, Belahsen Y, Bessiere JM, Andary C. (1998).** *Volatile constituents of*
- **Tamert A., Latreche A.,Aouad L., (2017).** *Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Extracts of Thymus serpyllum and Thymus vulgaris from the Mount of Tessala (Western Algeria).*Pharmacognosie, **15**: 384-394.
- **Teuscher E., Anton R., Lobstein A., (2005).** *Plantes aromatiques Epices, aromates, condiments et huiles essentielles.* Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 521p.
- **Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014).** *Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation.* Journal of food science, 79(7), R1231-R1249.
- **Touré D., (2015).** *Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d’ivoire.* Thèse de doctorat, Biochimie, Université Félix HOUPHOUËT- BOIGNY, 5-15 ; 41 ; 49 ; 81p.
- **Touré D., (2015).** *Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d’ivoire.* Thèse de doctorat, Biochimie, Université Félix HOUPHOUËT- BOIGNY, 5-15 ; 41 ; 49 ; 81p.
- **Tyihák, E., Móricz, Á. M., & Ott, P. G. (2008).** *Biodetection and determination of biological activity of natural compounds Thin Layer Chromatography in Phytochemistry* (pp. 214-235): CRC Press.
- **Weckesser W. (2013).** *First record of Peganum harmala (Zygophyllaceae) in Val Verde County, Texas, and subsequent eradication treatment.* Phytoneuron 71 : 1–5.
- **WIART C. (2006).** *Medicinal Plants of the Asia – Pacific: Drugs for the future.* Ed : WORLD SCIENTIFIC. p : 401 - 416.

- **Wichtl, M., & Anton, R. (1999).** Plantes thérapeutiques, Ed. *TEC & DOC Lavoisier, Paris*, 270-9.
- **Wilson R., (2002).** *Aromatherapy: Essential oils for vibrant health and beauty*. Penguin edition, 340p
- **Wiseman, H et Halliwell, B. (1996).** *Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species:*
- **Yakhlef G., (2010).** *Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de Thymus vulgaris l. et Laurus nobilis l.* Magister, Biochimie Appliquée. UNIVERSITE EL HADJ LAKHDAR – BATNA, 10 ; 43-44p.
- **Yousefi R, Ghaffarifar F, Dalimi A. (2009).**The effect of *Alkanna tinctoria* and *Peganum harmala* extracts on *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER) *in vitro*. *Iran. J. Parasitol* 4 : 40-47.
- **Zeghib A., (2013).** *Etude phytochimique et activités antioxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huiles essentielles de quatre espèces endémiques du genre Thymus.* Thèse de doctorat en sciences, chimie organique, Université de Constantine 1, 2-10p.
- **Zielinski, S, Portner, H.O. (2000).** *Oxidative stress and antioxidative defense in cephalopods: a function of metabolic rate or age?* *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 125, 147-160.

Annexe I : Enquête sur les quatre plantes étudiées.

Noms scientifiques Catégories	<i>Thymus Vulgaris</i>	<i>Ruta Graveloens</i>	<i>Peganum Harmala</i>	<i>Artemisia</i>
Noms communs	Thym, Farigoule	Rue officinale	Harmel	Armoise
Nom local	Zaetar	Fidjel	Harmel	Chih
Famille	Lamiacées (<i>Lamiaceae</i>)	Rutacées (<i>Rutaceae</i>)	Zygophyllacées (<i>Zygophyllaceae</i>)	Astéracées (<i>Asteraceae</i>)
Propriétés	<ul style="list-style-type: none"> - Une grande variété d'affections respiratoires et intestinales, - Un anti-infectieux à largespectre, un stimulant de l'immunité, - Antiseptique et antifongique, - Vertus spasmolytiques 	<ul style="list-style-type: none"> - Anti-inflammatoires, - Antimicrobienne set antifongiques, - vertus toniques et stimulantes facilitant la digestion 	<ul style="list-style-type: none"> - Anti-infectieuses - Thérapeutiques vermifuges et emménagogues, abortive et hypnotique, antalgiques et antitussives ainsi qu'antiseptiques. 	<ul style="list-style-type: none"> - Un excellent stimulant digestif, - Antispasmodique, -anti-inflammatoire, diurétique, - antifongique et un puissant antibactérien.
Maladies traités	<ul style="list-style-type: none"> - Toux, bronchite, pleurésie, la sphère pulmonaire, l'asthme - Intestinaux : diarrhée, ballonnements, flatulences, colopathies diverses - Soulage les inflammations de la sphère buccopharyngée, caries, soins dentaires divers, sous forme de bains de bouche. Diminue les sécrétions nasales ou rhinorrhées. - mycoses, des plaies, de la gale, de l'herpès 	<ul style="list-style-type: none"> - Entorses - Douleurs des luxations, tendinites, lombalgies - Surmenage oculaire - Otite et sécrétion. - Contre les maux du ventre. - Les maux du ventre, Hypnotique. 	<ul style="list-style-type: none"> - Traiter différents troubles gynécologiques comme la stérilité féminine. - L'impuissance esexuelle. - Sédatif, soporifique (nourrissons ou enfants insomniaques) - Traiter certains problèmes cutanés, dermatoses (eczémas) et brûlures, 	<ul style="list-style-type: none"> - Coliques, diarrhées chroniques, douleurs viscérales, sensations de distension, flatulences. - Favorisant ainsi l'appétit - Élimine les vers intestinaux - Soulage les maux de ventre, les douleurs thoraciques et les contractions musculaires - stimule la circulation sanguine
Etat de l'utilisation	Sèche ou fraîche	Sèche ou fraîche	Sèche ou fraîche	Sèche ou fraîche
Partie utilisée	Les feuilles	La partie aérienne sèche ou fraîche	Feuilles, graines	Toute la plante
Mode de préparation	Infusions, macération, décoction, huiles essentielles, sirops et teintures	Infusions, macération, décoction, huiles essentielles	Infusions, macération, décoction, huiles essentielles	Infusions, moxas, gélules, huiles essentielles, cataplasmes, poudres, emplâtres, diffusions atmosphériques
Mode d'administration	Oral, Massage, Rinçage	Oral, Massage	Oral, Massage	Oral, Massage, Rinçage
Efficacité	Moyen	Moyen	Moyen	Moyen