

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحي- جيجل

Université Mohamed Seddik Ben Yahia-Jijel-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département: Microbiologie Appliquée et
des Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم
التغذية

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme: Master Académique en Biologie

Option: Microorganismes et pathogénécité

Thème

**Étude de l'activité antibactérienne d'huile
essentielle de *Rosmarinus officinalis* cultivée à Jijel**

Membres de Jury:

Présidente: M^{me}. Benhamada W.

Examinatrice: M^{me}. Bourzama G.

Encadreur: Dr. Laggoune S.

Présenté Par:

M^{me}. Bourita Amel

M^{elle}. Boubelli Khadidja

Année universitaire 2016-2017

Numéro d'ordre (bibliothèque):.....

Remerciements

Nous remercions *Allah*, le Clément, le Miséricordieux qui nous a donné la patience, l'énergie et la volonté afin de finaliser ce travail.

D'abord, nous tenons vivement à exprimer notre profonde reconnaissance et gratitude à notre encadreur Dr. *Laggoune Souheïla*, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, ainsi que pour sa grande patience et sa gentillesse jusqu'à la fin de ce mémoire.

Nous adressons notre sincère remerciement à *M^{me} Benhamada* d'avoir accepté la présidence de ce jury.

Nos vifs remerciements à *M^{me} Bourzama* pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Un merci spécial à tous les techniciens du laboratoire de biologie pour leur aide plus particulièrement *M^{me} Zine H.*

Merci à tous les enseignants qui nous ont suivis tout au long de notre formation.

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

Khadija et Amel.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

Aux deux êtres les plus chers au monde, qui ont souffert nuit et jour pour nous couvrir de leur amour, mes parents.

A mon père "Larbi" pour sa patience avec moi et son encouragement.

A ma source de bonheur, la prunelle de mes yeux, ma mère "Rachida".

Que le bon ALLAH vous garde en bonne santé.

Je dédie également ce modeste travail

A

Mes très chers frères et sœurs;

A

Tous les membres de ma famille;

A

Toutes mes amies et camarades;

A

Toutes personnes qui m'ont encouragé et aidé tout au long de mes études.

A

Toute la promotion microorganismes et Pathogénécité 2017.

A

Tous ceux que j'aime et que je respecte.

Khadija

DEDICACE

*C'est avec un énorme plaisir, un cœur ouvert
et une immense joie,*

Que je dédie mon travail :

*A mes chers parents, ma mère "Fatima" et
mon père "Aïssa"*

*Pour leur patience, leur amour, leur soutien et
leur encouragement*

*A mon mari "Abd elmalek", mes frères, mes
sœurs, et toute ma famille.*

A mes amies et mes camarades.

*Ainsi qu'à toutes les personnes qui m'ont
encouragé et aidé tout au long de mes études*

Amel

Liste des abréviations

Abréviations	Désignations
µg	Microgramme
ADH	Arginine Di-Hydrolase.
ADN	Acide Désoxyribonucléique
ADP	Adénosine Diphosphate
AFNOR	Normes Afnor Recueil Des Normes Françaises
AFSAPS	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
ARN	Acide Ribonucléique
ATP	Adénosine Triphosphate
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
ECBU	Examen Cytobacteriologique des Urines
EPH	Etablissement Public Hospitalier
GN	Gélose Nutritive.
H.E.C.T	Les Huiles Essentielles Chémotypée
Hes	Les Huiles Essentielles
LDC	Lysine Décarboxylase.
ODC	Ornithine Décarboxylase.
ONPG	Ortho-Nitro-Phenyl-β-Galactoside.
RM	Rouge de Méthyle.
ROS	Reactive Oxygen Species
SM	Solution Mère
TSI	Triple Sugar Iron.
UV	Ultra Violet.
VP	Vogues-Proskauer.

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
Figure II.01	<i>Rosmarinus officinalis</i> (Jijel).....	11
Figure II.02	Aspects morphologiques du romarin.....	12
Figure II.03	La structure chimique des constituants d'huile essentielle du romarin.....	15
Figure III.01	Montage d'hydrodistillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle.....	19
Figure III.02	Huile essentiel de <i>Rosmarinus officinalis</i>	20
Figure III.03	Les étapes d'extraction d'huile essentielle.....	20
Figure III.04	Appareil de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.....	21
Figure III.05	Méthode de diffusion sur disque.....	26
Figure IV.01	Les observations microscopiques.....	31

Liste des Tableaux

Tableaux	Titres	Pages
Tableau III.01	Les appareils de laboratoire utilisés.	18
Tableau III.02	L'origine des souches bactériennes étudiées.	18
Tableau III.03	Les différentes dilutions de la solution mère.	27
Tableau IV.01	Caractéristiques organoleptiques de l'HE de <i>Rosmarinus Officinalis</i>.	29
Tableau IV.02	Composition chimique d'HE du romarin de la région de Jijel.	30
Tableau IV.03	Les observations microscopiques.	30
Tableau IV.04	Résultats de confirmation de l'identification des bactéries.	32
Tableau IV.05	Les zones d'inhibition d'HE sur les souches bactériennes utilisées.	33
Tableau IV.06	CMI en ($\mu\text{g/ml}$) d'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> avec les souches bactériennes étudiées	33

Sommaire

Remerciement

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I. Généralités sur les huiles essentielles

I.1. L'histoire des huiles essentielles.....	3
I.2. Définition.....	3
I.3. La répartition.....	4
I.4. Localisation dans la plante.....	4
I.5. L'activité biologique.....	4
I.5.1. Activité antibactérienne.....	4
I.5.2. Activité antifongique.....	5
I.5.3. Activité antioxydante.....	5
I.5.4. Activité antivirales.....	6
I.5.5. Activité anti-inflammatoires.....	6
I.5.6. Activité cicatrisantes.....	6
I.5.7. Activité circulatoires.....	6
I.5.8. Activité digestives.....	7
I.5.9. Activité antiparasitaires.....	7
I.5.10. Activité de régulation métabolique.....	7
I.5.11. Activité antispasmodiques.....	7
I.6. Propriétés physiques.....	7
I.7. Les caractères biochimiques des huiles essentielles.....	8
I.7.1. Les terpènes.....	8
I.7.2. Les composés aromatiques.....	8
I.7.3. Les composés d'origines divers.....	8
I.8. Les grandes utilisations des huiles essentielles.....	8
I.8.1. La parfumerie.....	8
I.8.2. Cosmétiques.....	9
I.8.3. Agro-alimentaire.....	9
I.8.4. Pharmaceutiques.....	9
I.8.5. Lutte biologique.....	9
I.9. Conservation des huiles essentielles.....	9

Chapitre II. Généralité sur le romarin

II.1. Définition.....	10
II.2. Origine du nom.....	10
II.3. Description botanique.....	10
II.4. Classification.....	11
II.5. Habitat	11
II.6. Utilisation.....	12
II.7. Propriété du romarin.....	12
II.7.1. Usage interne.....	12
II.7.2. Usage externe.....	12
II.8. Indications.....	13
II.8.1. Par voie interne.....	13
II.8.2. Par voie externe.....	13
II.9. Composition chimique.....	13
II.9.1. Huile essentielle.....	13
II.9.2. Phénols diterpéniques.....	14
II.9.3. Dérivés de l'acide cinnamique.....	14
II.9.4. Flavonoïdes.....	14
II.9.5. Triterpènes et stérols.....	14
II.10. Chémotypes du romarin.....	15
II.10.1. H.E.C.T du <i>Rosmarinus officinalis</i> à camphre.....	15
II.10.2. H.E.C.T du <i>Rosmarinus officinalis</i> à 1,8 cinéole.....	15
II.10.3. H.E.C.T du <i>Rosmarinus officinalis</i> à verbénone.....	15

Chapitre III. Matériel et méthodes

III.1. Matériel.....	16
III.1.1. Matériel végétal.....	16
III.1.2. Matériel du laboratoire.....	16
III.1.3. Milieux de culture utilisés.....	16
III.1.4. Les appareils.....	16
III.1.5. Matériel bactériologique.....	17
III.2. Méthodes.....	17
III.2.1. La méthode d'extraction de l'huile essentielle de <i>R. officinalis</i>	18
III.2.1.1. Technique de l'hydrodistillation.....	18
III.2.1.2. Procédé d'extraction.....	18
III.2.1.3. Plan d'extraction.....	19
III.2.1.4. Détermination du rendement d'extraction.....	20
III.2.1.5. Détermination de la composition chimique de l'HE par GC/MS....	20
III.2.2. L'étude de l'activité antibactérienne de <i>R. officinalis</i>	21
III.2.2.1. Étude bactériologique.....	21
III.2.3. Étude d'activité antibactérienne d'HE.....	25
III.2.3.1. l'aromatogramme par diffusion sur milieu gélosé.....	25
III.2.3.4. Détermination de la CMI en milieu solide.....	27

Chapitre IV. Résultats et discussion

IV.1. Résultats	28
IV.1.1. Caractéristiques organoleptiques	28
IV.1.1.1. Calcul du rendement	28
IV.1.1.2. La composition chimique de l'HE	28
IV.1.2. Identification des souches bactériennes	29
IV.1.2.1. Caractérisation microscopique des souches bactériennes étudiées	29
IV.1.2.2. Caractérisation macroscopique des souches bactériennes étudiées	30
IV.1.2.3. Résultats des tests biochimiques	31
IV.1.3. Résultats de l'activité antibactérienne	31
IV.1.3.1. Résultats de l'aromatogramme	32
IV.1.3.2. Détermination de la CMI	32
IV.2. Discussion des résultats	33
Conclusion	35
Références bibliographiques	36
Glossaire	
Annexes	

Depuis l'antiquité et sur tous les continents les plantes ont toujours tenu une place prépondérante dans l'art de guérir. Selon les cultures et les époques, elles ont été exploitées sous différentes formes, de diverses manière et pour les usages les plus variés. L'aromathérapie appartient à cet univers. Elle a su exploiter les arômes de ces substances naturelles que sont les végétaux à des fins médicales ou esthétiques, pour parfumer, conserver les aliments ...etc. [Buronzo, 2008].

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. L'isolement de principes actifs datant du XIX^{ème} siècle, en améliorant la connaissance des structures, a fait progressivement se séparer et parfois s'opposer une phytothérapie traditionnelle souvent empirique avec une thérapeutique officielle incluant les principes chimiques et végétaux dont la pharmacologie était mieux connue. Cette thérapeutique officielle accepte parfois avec une certaine méfiance l'emploi de végétaux ou d'extraits complexes de végétaux dont l'action est confirmée par l'usage sans être attribuée de façon certaine à une molécule type [Bahorun, 1997].

Le Romarin, « *Rosmarinus officinalis* », plante commune à l'état sauvage, est, sans doute, l'une des plantes les plus populaires en Algérie, puisqu'on le trouve dans tous les jardins et les parcs en bordure odorante. Il fait l'objet des récentes recherches dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires. C'est une herbe aromatique de la famille des Labiées, appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques, emménagogues et anti-tumorales, largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle [Atik et al., 2007].

En effet, les métabolites secondaires font et reste l'objet de nombreuses recherches *in-vivo* comme *in-vitro*, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels les composés phénoliques, les saponosides et les huiles essentielles [Bahorun, 1997].

Les huiles essentielles ont à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner [Robert, 2000]. Puis progressivement, ses huiles essentielles se font connaître pour leurs vertus thérapeutiques et deviennent alors des remèdes courants des médecines traditionnelles [Buchbauer et al., 1993].

Les huiles essentielles apparues en Occident sous le doux nom de « parfums d'Arabie », sont des extraits végétaux de composition complexe, renferment des produits volatils, obtenu à partir d'une matière première végétale (feuilles, fleur, bois, racine, écorce, fruit ou autre) par distillation à la vapeur d'eau ou par extraction mécanique. L'utilisation médicale des huiles essentielles est désignée aromathérapie, nom donnée pour la première fois au début des années 1930 par René-Maurice Gattefossé [Renoul, 2014].

Le présent travail est consacré à la détermination du rendement, la composition chimique et des propriétés antibactériennes de l'huile essentielle extraite de la plante *Rosmarinus officinalis*, récoltée dans la région de Jijel (Algérie).

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est de mettre en évidence l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

Notre étude sera répartie en quatre chapitres, initiés par une recherche bibliographique où nous apporterons dans le premier chapitre une généralité sur les huiles essentielles, leurs compositions, activités biologiques et pharmacologiques ainsi que leurs utilisations... etc.

Dans le second chapitre nous effectuerons une présentation botanique de la famille lamiacées et l'espèce *Rosmarinus officinalis*, sa localisation géographique dans le monde, et son utilisation... etc.

Le troisième chapitre présentera les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail à savoir:

- ✚ L'extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*;
- ✚ Détermination de la composition chimique de l'HE;
- ✚ Les tests biochimiques;
- ✚ Tests de sensibilités des bactéries *vis-à-vis* de notre huile essentielle (l'aromatogramme et la CMI).

Le quatrième chapitre abordera les différents résultats et leurs discussions. Enfin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

I.1. L'histoire des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HEs) sont connues et utilisées à des fins diverses, depuis l'antiquité, quand l'homme a découvert les méthodes simples permettant de les extraire [Bauer et Dorothea, 1985].

En effet environ quatre mille ans avant l'ère chrétienne, les égyptiens, les grecs, les hébreux, les perses, les indiens, les chinois et les romains exploitaient leurs propriétés en parfumerie et leurs diverses vertus médicinales [Ouamba, 1988].

Au XVI^e siècle, Paracelse, alchimiste et médecin suisse, décrit la théorie des signatures qui fournit des indications précises dans le choix des remèdes. Les HEs voient leur popularité croître et les propriétés de plus d'une centaine d'entre elles sont alors connues. De nombreuses préparations contiennent d'ailleurs des plantes aromatiques, comme l'eau de mélisse toujours utilisée de nos jours. Avec l'avènement de la civilisation industrielle, les HEs tombent toute fois en désuétude jusqu'à la fin du XIX^e siècle au profit de la chimie de synthèse. Vers 1880, la chimie initie le retour en grâce des HEs, en permettant l'isolement de leurs composés chimiques et l'étude de leur activité thérapeutique [Faucon et Lobstein, 2015].

En 1928, le scientifique René Maurice Gattefossé formule pour la première fois le terme «d'aromathérapie». Il découvre les propriétés de HE de *Lavande aspic* par accident quand, lors de ses recherches, il se brûle la main. Gattefossé la trempe aussitôt dans un récipient contenant l'huile en question et affirme en ressentir un soulagement immédiat. Il constate par la suite une cicatrisation rapide de sa plaie. Le chercheur publie alors en 1937 son ouvrage «aromathérapie» dans lequel il codifie précisément les propriétés des HEs [Faucon et Lobstein, 2015].

I.2. Définition

Les HEs étaient des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation [Bruneton, 2009]. Il s'agit des produits parfumés et volatiles, composé de molécules secrètes par certaines arbres et certaines plantes qui lui confèrent un parfum spécifique.

En général les principes aromatiques des plantes sont des gouttes minuscules qui se forment dans les chloroplastes des feuilles, c'est-à-dire les organites dans lesquelles s'effectue la photosynthèse. Elles se combinent par la suite avec du glucose et sont transportées dans tout les parties de la plante. Une HE est donc une sécrétion naturelle qui s'effectue dans une partie du végétal: la feuille, l'écorce ou la fleur [Buronzo, 2008].

I.3. La répartition

Les HEs n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les HEs sont répartis dans un nombre limité de familles. (ex: Apiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Poaceae, Rutaceae, ...).

Les HEs peuvent être accumulées dans tous les types d'organes végétaux par exemple des fleurs (oranger, rose, lavande) mais aussi des feuilles (*Citronnelle*, *Eucalyptus*, *Laurier noble*) et, bien que cela soit moins habituel, dans des écorces (Cannelier), des bois (bois de rose, camphrier, santal), des racines (vétiver), des rhizomes (curcuma, gingembre), des fruits secs (anis, badiane, persil), des graines (muscade).

Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière (qualitative et quantitative) peut varier selon sa localisation dans la plante.

La biosynthèse et l'accumulation des molécules aromatiques sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées (cellules à essence, poches sécrétrices, canaux sécréteurs...), souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante [AFSSAPS, 2008].

I.4. Localisation dans la plante

Les HEs sont produites dans le protoplasme cellulaire des plantes aromatiques et représentent les produits du métabolisme cellulaire dit "secondaire" [Mann, 1987]. La synthèse et l'accumulation de ces métabolites dans un organe sont associées à la présence de structures histologiques spécialisées qui selon l'espèce botanique peuvent être des cellules sécrétrices, des poches sécrétrices, des poils sécréteurs ou des canaux sécréteurs [Deysson, 1979].

I.5. L'activité biologique

L'activité biologique d'une HE est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques [Dorman, 2000].

Plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques des plantes aromatiques et médicinales, en particulier certaines de ces activités.

I.5.1. Activité antibactérienne

Plusieurs recherches ont démontré le pouvoir antimicrobien de certaines essences sur une large palette de micro-organismes, y compris sur des bactéries résistantes aux antibiotiques.

Néanmoins, le mécanisme d'action des HEs sur les cellules bactériennes et fongiques reste difficile à cerner, compte tenu de la composition complexe des huiles volatiles [Burt, 2004].

La variabilité des constituants des huiles suggère qu'elles agissent sur plusieurs sites d'action dans les micro-organismes, étant donné que chaque composé possède son propre mode d'action [Guinoiseau, 2010].

Les caractéristiques des HEs sont attribuées aux dérivés terpénoïdes et phénylpropanoïdes dont elles sont constituées. L'activité de ces molécules bioactives dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées [Guinoiseau, 2010].

Les terpènes ainsi que les flavonoïdes peuvent pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne et induire sa rupture. Le contenu cytoplasmique est déchargé à l'extérieur de la cellule impliquant sa destruction [Wendakoon et Sakaguchi, 1995]. Egalement, une perturbation chémo-osmotique et une fuite de potassium intra-cytoplasmique peuvent survenir, suivi de la libération d'acides nucléiques, de L'ATP, et du phosphate inorganique [Tsuchiya *et al.*, 1996].

D'après Masson et Wasserman (1987), les composés phénoliques et les aldéhydes possèdent un mécanisme similaire, avec une efficacité inhibitrice proportionnelle à leur degré d'hydrophobicité. Certains composés phénoliques des HEs interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP [Knobloc *et al.*, 1989]. La synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides peuvent être inhibés par les HEs [Johansen *et al.*, 1997].

I.5.2. Activité antifongique

Les HEs agissent sur un large spectre de moisissure et de levure en inhibant la croissance des levures et la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures. Comme pour l'activité antibactérienne, le pouvoir antifongique est attribué à la présence de certaines fonctions chimiques dans la composition des HEs. Plusieurs travaux ont révélé que le pouvoir inhibiteur était essentiellement dû à la réactivité de la fonction aldéhyde avec le groupement thiol des acides aminés impliqués dans la division cellulaire [Kurita *et al.*, 1979].

D'autres auteurs ont démontré que la formation d'un complexe entre le donneur d'électrons et l'aldéhyde induit un changement de l'état ionique de la membrane traduisant par un déséquilibre d'échange avec le milieu extérieur. Ce déséquilibre entraîne la mort cellulaire [Kurita *et al.*, 1979].

I.5.3. Activité antioxydante

Les antioxydants sont des substances capables de protéger l'organisme contre les effets du stress oxydatif [Beirão et Bernardo-Gil, 2006].

On distingue trois types d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques, les enzymes de réparation, et les antioxydants non enzymatiques. Les substances naturelles dont les HEs sont classées entant qu'antioxydants non enzymatiques. L'activité antioxydante peut être primaire ou préventive (indirecte), cette dernière est capable de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction d'oxygène [Madhavi *et al.*, 1996].

Par contre les antioxydants à action directe sont capables de donner des électrons à l'oxygène radicalaire afin qu'ils puissent le piéger, empêchant ainsi la destruction des structures biologiques. Ils peuvent agir comme agents réducteurs capables de passer leurs électrons aux ROS et les éliminer [Kohen et Nyska, 2002].

Quelques travaux ont rapporté que certaines HEs sont plus efficaces que les antioxydants synthétiques. Les effets antioxydants d'HEs et d'extraits de plante sont dus principalement à la présence des groupes d'hydroxyle dans leur structure chimique [Hussain *et al.*, 2010].

I.5.4. Activité antivirales

Les virus sont sensibles aux molécules aromatiques contenues dans les HEs, ce qui confère à ces dernière la capacité de combattre certaines pathologie virales, les HEs arrêtent le développement des virus et facilitent l'élimination du mucus tout en stimulant le système immunitaire [Buronzo, 2008].

I.5.5. Activité anti-inflammatoires

Les aldéhydes contenus dans un grand nombre d'HEs ont la propriété de combattre les inflammations. La menthe poivrée est en mesure d'anesthésier les douleurs au niveau du coude « tennis-elbow », tandis que la citronnelle, le romarin ou l'eucalyptus sont efficaces en cas de piqûres d'insectes [Buronzo, 2008].

I.5.6. Activité cicatrisantes

Les HEs présentent des propriétés cicatrisantes reconnues depuis l'antiquité et utilisées en temps de guerre pour soigner les blessés. En effet, elles ont le pouvoir de régénérer les tissus qui ont été abîmés et de favoriser la cicatrisation des blessures.

Leur pouvoir antiseptique leur permet de désinfecter en même temps les plaies, en protégeant l'organisme des processus de décomposition, des microbes et de leur éventuel déchet nocif [Buronzo, 2008].

I.5.7. Activité circulatoires

Un grand nombre d'HEs sont de puissants soutiens pour notre système circulatoire. Elles ont la capacité d'activer la circulation sanguines, de réduire les hémorroïdes et de soulager les jambes lourdes. Il ne faut pas oublier leur efficacité quand il si agit de combattre la cellulite. Parmi les HEs qui ont une action circulatoire, nous retrouvons ente autres celles de cyprès, de citron, de lemon-grass, de genièvre, de menthe poivrée et de sauge [Buronzo, 2008].

I.5.8. Activité digestives

Les HEs ont à une action manifeste sur le système digestif. Elles sont efficace contre la formation de gaz au niveau abdominal (HE de basilic, de sarriette, d'anis) et elles favorisent la formation des sucs gastriques nécessaires à une bonne digestion (HE de cumin, d'estragon, de menthe poivrée) [Buronzo, 2008].

I.5.9. Activité antiparasitaires

Les HEs de géranium, de citronnelle, de menthe ou de lavande diffusées dans l'air sont efficaces pour protéger des attaques des insectes, en particulier des moustiques. Elles tiennent à distance tous ces petits indésirables (poux, mites...) mais, pour une protection plus sûre, il vaut mieux les appliquer directement sur le corps (elles devront alors être diluées) ou sur les vêtements (elles peuvent être utilisées pures) [Buronzo, 2008].

I.5.10. Activité de régulation métabolique

Les glandes de l'organisme humain peuvent être comparées aux musiciens d'un orchestre qui jouent une musique parfaite et sont capables de s'adapter à toutes les situations extérieures, même perturbantes. Les HEs ont la capacité de réguler l'action de nos glandes. Les mécanismes subtils mis en jeu par ces dernières étant véritablement complexes, il vaut toujours mieux demander les conseils d'un expert en aromathérapie, même si l'on sait par exemple que la sauge est une amie de l'appareil féminin et que le pin sylvestre ou le basilic agissent sur les glandes surrénales [Buronzo, 2008].

I.5.11. Activité antispasmodiques

Les HEs de marjolaine, de lavande ou de mélisse peuvent arrêter les spasmes, c'est-à-dire les contractions qui se manifestent de façon involontaire dans le corps, aussi bien au niveau rénal qu'au niveau des viscères (coliques, hoquet ...) [Buronzo, 2008].

Dans l'air, des propriétés désodorisantes et purifiantes a la maison comme au bureau, les HEs diffusées régulièrement dans l'atmosphère parfument et assainissent l'air que nous respirons. Quelques gouttes suffisent pour désodoriser un lieu. Un grand nombre d'HE présentent les critères nécessaires pour accomplir cette tâche: lavande, eucalyptus, romarin, bois de cèdre, orange, thym, citron [Buronzo, 2008].

I.6. Propriétés physiques

Liquides à température ambiante, les HEs sont volatiles, ce qui les différencie des huiles « fixes ». Elles ne sont que très rarement colorées. leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (les HEs de saffras, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions). Elle ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Solubles dans les solvants organique usuels, elles sont liposolubles.

Entrainables à la vapeur d'eau, elles sont très peu solubles dans l'eau. Elles le sont toutefois suffisamment pour communiquer à celle-ci une odeur. Cette eau est une « eau distillée florale »

une préparation voisine est obtenue par mise en solution d'arômes dans de l'eau purifiée : on parle alors « d'eau aromatisée florale » [Bruneton, 2009].

I.7. Les caractères biochimique des huiles essentielles

Ce sont des mélanges complexes et variables de constituants appartenant de façon quasi exclusive à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpénoides d'une part et le groupe des composés aromatique dérivés du phénypropane beaucoup moins fréquent d'autre part. Le poids moléculaire des composés est assez faible, généralement compris entre 150 et 200 Da [Bruneton, 1993].

I.7.1. Les terpénoides

Dans le cas des HEs, celles seront rencontrés les terpènes les plus volatils: mono-et sesquiterpènes.

A- Monoterpènes

Constituants les plus simples de la série, les monoterpènes sont issus du couplage de deux unités (isoprénique). Ils peuvent être acyclique, monocycliques ou bicycliques. Ils constituent par fois plus de 90% de HE (citrus...) [Bruneton, 1999].

B- Sesquiterpènes

L'allongement de la chaîne des sesquiterpènes accroît le nombre de cyclisations possible aussi, plus d'une certaines de squelettes différents à été décrit [Bruneton, 1993].

I.7.2. Les composés aromatiques

Dérivés du phénylpropane (C₆-C₃), ils sont beaucoup plus moins fréquents que les précédents. Un noyau aromatique est couplé à une chaîne de trois carbones...) [Bruneton, 1993].

I.7.3. Les composés d'origines divers

Lors de la préparation des huiles essentielles, certains composés aliphatiques, de faible masse moléculaire, sont entraînés lors de l'hydrodistillation (carbures, acides, alcools, aldéhydes esters...) [Bruneton, 1993].

I.8. Les grandes utilisations des huiles essentielles

Les HEs ont servi de matières premières à beaucoup d'industries notamment:

I.8.1. La parfumerie

Beaucoup de grandes marques de parfums sont faites à partir d'HEs naturelles [Randriamiharisoa, 1996].

I.8.2. Cosmétiques

Les savons, les crèmes, lotions parfumées et autres comme le gel de savons de douche ou les désinfectants, les nettoyants industriels sont caractéristiques d'un parfum naturel [Randriamiharisoa, 1996].

I.8.3. Agro-alimentaire

Dans toutes les boissons, on utilise des arômes différents. Dans les huiles essentielles effectivement, on a toute une gamme utilisée pour aromatiser les produits courants: yaourts, boissons alcoolisées ou non, biscuits, charcuterie, tabacs. Dans cette gamme on parle surtout des arômes de fruits naturels, des épices.... ect. [Randriamiharisoa, 1996].

I.8.4. Pharmaceutiques

Utilisation des HEs spécifiques (soins par les plantes aromatiques):

- + Aromathérapie: cure d'amaigrissement (soins esthétiques);
- + Préparations pharmaceutiques [Randriamiharisoa, 1996].

I.8.5. Lutte biologique

Insecticides naturels (protection des végétaux) largement utilisés pour le développement de l'agriculture biologique. Ces utilisations nous amènent à dire que les HEs continuent toujours d'être recherchées sur le marché international. Elles sont produites par des pays comme l'Indonésie, la Chine, Madagascar, Sri Lanka, Egypte, Comores, Réunion. Les pays qui les importent sont principalement la France, et les autres pays d'Europe [Randriamiharisoa, 1996].

I.9. Conservation des huiles essentielles

Les HEs sont des substances très délicates, et s'altèrent facilement, ce qui rend leur conservation difficile. Les risques de dégradation sont multiples: photoisomérisation, photocyclisation coupure oxydative propénylphénols, peroxydation des carbures et décomposition en cétones et alcools (limonene) [Bruneton, 1999].

Ces dégradations peuvent modifier leurs propriétés si elle ne sont pas en fermées dans des flacons propres et secs en aluminium, en acier inoxydable ou en ver teinté à l'abri de la lumière et de la chaleur [Bruneton, 1999; Valnet, 2000].

II.1. Définition

Le *Rosmarinus officinalis*, plante très connue, (Figure 01) dont le nom rose de mer vient simplement du fait qu'il pousse spontanément au bord de la mer [Iserin *et al.*, 2007]. C'est un arbrisseau de 50cm à 1 mètre et plus, toujours vert, très aromatique, très rameux, très feuillé, son écorce s'écaille sur les branches les plus âgées et son odeur est extrêmement odorante et tenace [Delille, 2007]. Le romarin est en effet considéré comme une plante tonique, revigorante, stimulante: autant de vertus que reflète sa saveur aromatique bien particulière [Larousse, 2001].



Figure II.01: *Rosmarinus officinalis* (Jijel)
a: le romarin avec les fleurs, b: le romarin sans fleurs

II.2. Origine du nom

Rosmarinus du latin Rose de la mer. Cette étymologie est controversée: en fait "ros" viendrait d'un nom du latin dérivant de rhus "rhous=sumac" qui rappelle l'aspect d'arbrisseau de la plante [Delaveau, 1987].

- **Le nom vernaculaire arabe:** klil, Hatssa, louban, Hassalban.
- **Nom targui ou berbère:** lazir, Aziir, Ouzbir, Touzala [Beloued, 2005].

II.3. Description botanique

Sous-arbrisseau touffu, xérophYTE, fortement rameux et toujours vert, à racine pivotant, à tiges ligneuses, généralement érigées, pouvant atteindre jusqu'à 2m de haut.

Les feuilles, portés par des rameaux sub-arrondis, sont opposées et sessiles, étroites et lancéolé, de 4cm de long sur 5mm de large; leur port est raide, leur texture dure et coriace, leur limbe épais, cassant, vert foncé sur la face supérieure et chagriné, blanchâtre car finement tomenteux sur face inférieure; ses bords sont enroulé sur le dessous et la nervure médiane est saillante [Anton et Lobstein, 2005].

Les fleurs sont regroupées en petite grappes axillaires terminales, disposées à l'aisselle des feuillées; le calice bilabié a la forme d'une clochette ovale duveteuse; il est persistant et comporte une lèvre supérieure formée de 3 sépales et une lèvre inférieure à 2 lobes lancéolés; la corolle est longuement tubuleuse, de 1,2cm de large, bleu pâle, lilas ou blanche mais souvent maculées de petites taches violettes; elle est divisée en 2 pétales dorsaux soudés; la lèvre antérieure elle-même est divisée en 3 lobes dont celui du milieu est large concave; 2 étamines fertiles, munies à la base d'une petite dent et terminées par une anthère à 2 loges, se dressent hors de la corolle; le gynécée qui repose sur un disque nectarifère, est formé de 2 carpelles soudés; l'ovaire est super divisé en 2 loges chacune 3 ovules le fruit est un tétrakéne, de 2,3mm de long (Figure II.02) [Anton et Lobstein, 2005].

II.4. Classification [Quezel et Santa, 1963]

Règne: Plantes.

Embranchement: Spermaphytes.

Classe: Dicotylédones.

Ordre: Lamiales (labiales).

Famille: *Lamiaceae* .

Genre: *Rosmarinus*.

Espèce: *Rosmarinus officinalis*.



Figure II.02: Aspects morphologiques du romarin [Quezel et Santa, 1963].

II.5. Habitat

Originaire des régions méditerranéennes, le romarin pousse spontanément dans le sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chauds, modérément secs [Larousse, 2001].

II.6. Utilisation

Grace à ses capacités de stimulation de l'organisme humain, l'HE du romarin est avant tout énergétique, avec son parfum camphré, vigoureux, chaud et pénétrant, elle se révèle être tonifiante sur le plan cérébral et stimulante pour le système nerveux central: elle est utile pour soulager les personnes souffrant de pertes de mémoire, de maux de tête et de stress émotif, et elle leur redonne clarté mentale et concentration [**Buronzo, 2008**].

Tonique cardiaque et veineux, l'huile essentielle du romarin est efficace pour stimuler la circulation et le métabolise.

Elle étend son action sur les systèmes digestif et respiratoire: elle possède une action antiseptique en cas de diarrhée ou d'infection intestinale; elle combat la bronchite, la toux quinteuse, l'asthme, le rhume et la sinusite [**Buronzo, 2008**].

Elle se prête aux massages pour réactiver et de réguler les fonctions du système hépatique, désintoxiquer le foie, drainer et fluidifier la bile, et décongestionner la vésicule biliaire.

En cosmétique, elle est utilisée pour lutter contre la sécheresse de la peau, stopper la chute des cheveux, leur donner de la vigueur et éliminer les pellicules [**Buronzo, 2008**].

II.7. Propriété du romarin

II.7.1. Usage interne

Le romarin est préconisé pour de nombreux maux:

- Stimulant général (comme menthe, mélisse, sauge, thym) et cardio-tonique, stimulant des cortico-surrénales,
- Hypertenseur (Caujolle, cazal),
- Stomachique,
- Antiseptique pulmonaire et béchique,
- Antidiarrhérique, antifermentescible,
- Carminatif,
- Antirhumatismal et antinévralgique,
- Antigoutteux,
- le volume de la sécrétion biliaire: chabrol expérimentations par tubages duodénaux de parturier et rousselle),
- Emménagogue,
- Céphalique,
- Diurétique et sudorifique [**Valnet, 1990**].

II.7.2. Usage externe

Toutes les applications externes lui conviennent (en diffusion, utilisé en synergie):

- Cicatrisant des plaies et brûlures, résolutif;
- Parasiticide [**Valnet, 1990**].

II.8. Indications

II.8.1. Par voie interne

Sont utilisées afin de lutter contre:

- Affections du système nerveux : hystérie, épilepsie, séquelles de paralysies,
- Rhumatisme, goutte,
- Asthme, bronchites chroniques, coqueluche, grippe,
- Asthénies (faiblesse générale),
- Surmenage physique et intellectuel,
- Hypotension,
- Impuissance,
- Chlorose, adénites, lymphatisme,
- Infections intestinales, colites, diarrhées,
- Flatulences,
- Hépatisme, cholécystites, ictères par hépatite et par obstruction, cirrhoses, lithiase biliaire,
- Hypercholestérolémie,
- Dyspepsies atonique (digestions difficiles), douleurs gastriques,
- Disménorrhées (règles douloureuses) et leucorrhées,
- Migraines, alzheimer,
- faiblesse des membres,
- Troubles cardiaques nerveux,
- Vertiges, syncopes [Valnet, 1990].

II.8.2. Par voie externe

Elles sont également utilisées pour remédier aux:

- Plaies, brûlures,
- Douleurs musculaires,
- Rhumatismes,
- Pertes blanches,
- Pédiculose, Gale,
- Fatigue générale, débilité des enfants, faiblesse de la vue (bains) [Valnet, 1990].

II.9. Composition chimique

II.9.1. Huile essentielle

HE du romarin (1 à 3 % dans la plante), sa composition dépend fortement des chimiotypes ainsi que du degré de développement de la plante. Ses principales constituants peuvent être de 1,8-cinéole (teneur entre 3 et 60%), de l' α -pinène (1 à 57%), du camphre (1 à 57%), du bornéol (1 à 18%), de l'acétate de bornyle (1 à 21%), de la verbénone (0 à 28%), du ρ -cymène (0.5 à 10%), ou du myrcène (0.5 à 12 %); ils peuvent être accompagnés de β -caryophyllène, de limonène, de linalol, de β -pinène, de sabinène, de γ -terpinène, d' α -terpinéol et de terpinéol-4 la

présence d'octan-3-one (teneur allant jusqu'à 10% contestée) (Figure II.03) [Anton et Lobstein, 2005].

II.9.2. Phénols diterpéniques

Constitués principalement d'acide carnosolique ($\approx 0.35\%$) qui se dégrade facilement en carnosol (picrosalvine) et en rosmanol; il est accompagné d'isorosmanol, de rosmadial, de rosmaridiphénol, de rosmariquinone (miltirone) et de 7-méthoxyrosmanol [Anton et Lobstein, 2005].

II.9.3. Dérivés de l'acide cinnamique

(Tanins de lamiacées): $\approx 3.5\%$, constitués principalement d'acide rosmarinique (≈ 1.1 à 2.5%) [Anton et Lobstein, 2005].

II.9.4. Flavonoïdes

Présent sous formes d'aglycones et d'hétérosides, comme la cirsimarine, la diosmine, l'hespéridine, l'homoplantiginine, l'eupafloline... etc [Anton et Lobstein, 2005].

II.9.5. Triterpènes et stérols

Acides oléanolique et ursolique et leurs dérivés 3-acétate, α et β -amyrines et rofficérone [Anton et Lobstein, 2005].

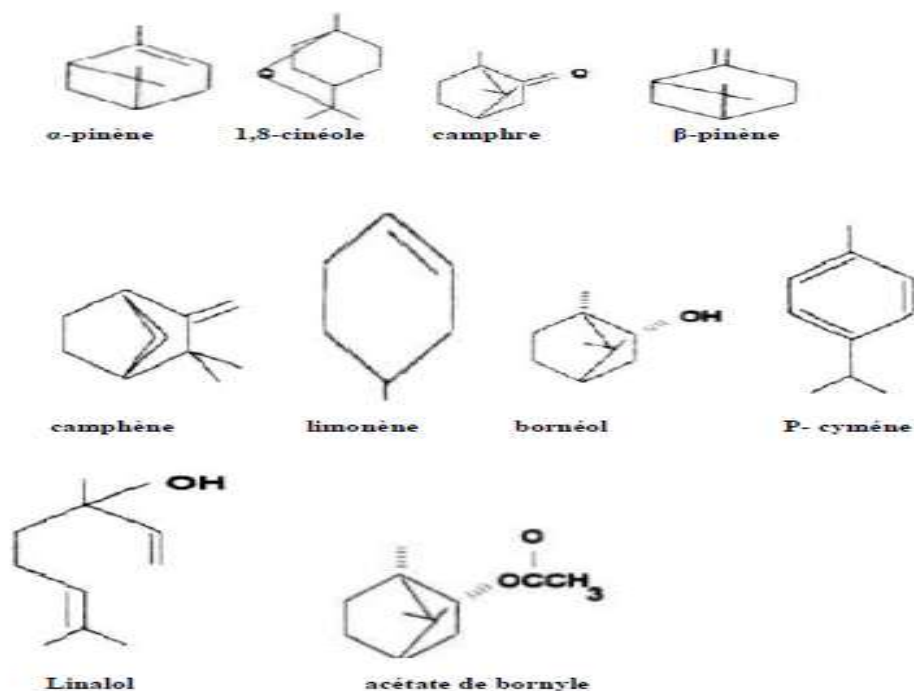


Figure II.03: La structure chimique des constituants de HE du romarin [Anton et Lobstein, 2005].

II.10. Chémotypes du romarin

C'est une forme de classification chimique, biologique et botanique désignant la molécule majoritairement présente dans une huile essentielle. Cette classification dépend des facteurs liés directement aux conditions de vie spécifiques de la plante à savoir le pays, le climat, le sol, l'exposition des végétaux, les facteurs phytosocioalogiques et la période de récolte qui peuvent influencer la composition de l'huile essentielle. On parle d'une "H.E.C.T" [Zhiri et Baudoux, 2005].

II.10.1. H.E.C.T du *Rosmarinus officinalis* à camphre

Cette HE contient majoritairement du camphre ayant pour propriétés une action contre les contractures musculaires ou les crampes et des actions anti-inflammatoires [Zhiri et Baudoux, 2005].

II.10.2. H.E.C.T du *Rosmarinus officinalis* à 1,8 cinéole

Cette HE contient majoritairement du 1,8 cinéole ayant des propriétés anti-catarrhales, expectorantes. Elle a spécialement des actions antiseptiques pulmonaires et mucolytiques [Zhiri et Baudoux, 2005].

II.10.3. H.E.C.T du *Rosmarinus officinalis* à verbénone

Cette HE contient majoritairement du verbénone avec des propriétés cicatrisantes, bactéricides, expectorantes mucolytiques, cholagogues et hépatodrainantes [Zhiri et Baudoux, 2005].

III.1. Matériel**Objectif**

Le présent travail est consacré à la détermination du rendement, la composition chimique et des propriétés antibactériennes de l'HE du romarin.

III.1.1. Matériel végétal

Il est constitué de la plante *Rosmarinus officinalis*, qui est collectée au niveau de l'université Mohamed Seddik ben-Yahia de Jijel.

La partie sur laquelle nous avons basée notre travail est la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* (feuilles, fleurs) au mois d'Avril-Mai 2017.

III.1.2. Matériel du laboratoire

Les matériels utilisés sont les suivants:

- Bec bunsen.
- Les tubes à essai et les boîtes de Petri.
- Les flacons.
- Papier whatman (N°=3).
- L'anse de platine.
- Pipette Pasteur.
- Micropipette.
- Les embouts.
- Bec bunsen.

III.1.3. Milieux de culture utilisés

Les milieux de culture utilisés sont les suivants:

- Gélose nutritive: pour le repiquage des souches étudiées.
- Gélose Héктоen: pour l'isolement des souches: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*.
- Gélose Chapman: pour l'isolement de *Staphylococcus saprophyticus*.
- Gélose Muller Hinton: pour le test de la diffusion en gélose.
- Bouillon nutritif: pour la revivification des souches étudiées.

III.1.4. Les appareils

Plusieurs appareils utilisés pour étudier l'activité antibactérienne de *Rosmarinus officinalis*. Le tableau suivant cite ces appareils (Tableau III.01).

Tableau III.01: Les appareils de laboratoire utilisés.

Matériel	Utilisation
Appareil d'hydro-distillation de type Clevenger	Extraction des HEs
Microscope optique	Pour l'observation microscopique
La balance	Pour peser la plante
Bain marie	La solubilisation des milieux de culture
Étuve réglée à 37C°	incubation des souches
pH mètre	Pour la régulation du pH
Autoclave	Stériliser les matériels et les milieux de culture
Réfrigérateur	Conservation des échantillons
Agitateur plaque chauffante	Préparation du milieu de culture
GC /MS	Détermination de la composition chimique d'HE

III.1.5. Matériel bactériologique

Les souches qui ont été utilisées pour mettre en évidence l'activité antibactériennes d'HE sont les suivantes: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Klebseilla pneumoniae* et *Staphylococcus saprophyticus* (Tableau III.02).

Tableau III.02: L'origine des souches bactériennes étudiées.

Souches	Source de germes	Prélèvement
<i>E. coli</i>	Laboratoire d'analyses (Bekioua à Jijel)	ECBU
<i>P. aeruginosa</i>	Laboratoire d'analyses (Amira à Taher)	ECBU
<i>P. mirabilis</i>	EPH (Jijel)	
<i>K. pneumoniae</i>	Laboratoire d'analyses (Bekioua à Jijel)	Sang
<i>S. saprophyticus</i>	Laboratoire d'analyses (Bekioua à Jijel)	ECBU

III.2. Méthodes

III.2.1. Méthode d'extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

III.2.1.1. Technique de l'hydrodistillation

L'hydrodistillation est la technique de référence dans l'étude des composés volatiles d'une plante dans le domaine de la recherche. Le phénomène physique est identique à celui décrit précédemment. Cependant une verrerie adaptée a été mis en place permettant à la fois la circulation en circuit quasi-fermé de l'eau sous forme aqueuse et gazeuse et la cohobation de l'huile essentielle. Ces phénomènes ont été rendus possibles à l'échelle du laboratoire grâce à l'utilisation d'un appareillage de type Clvenger [Bruneton, 2009].

III.2.1.2. Procédé de l'extraction

L'extraction de l'HE d'une plante étudiée a été effectuée par hydrodistillation grâce à un appareil de type Clevenger (Figure III.01).

A chaque fois on prend (1/3) de la plante fraîche de Romarin avec (2/3) de l'eau est introduite dans un ballon de deux litres, l'ensemble est porté à ébullition pendant 3 heures. Les vapeurs chargées d'huile essentielle traversant un réfrigérant de 40cm se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité (Figure III.02).

Les huiles essentielles récupérées dans de petits flacons opaques sont stockées à 4°C [Caillet et Lacroix, 2007].



Figure III.01: Montage d'hydrodistillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle.



Figure III.02: Huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

III.2.1.3. Plan de l'extraction

L'extraction de l'HE de la plante étudiée a été effectuée par hydrodistillation, cette technique est représentée dans la (Figure III.03).

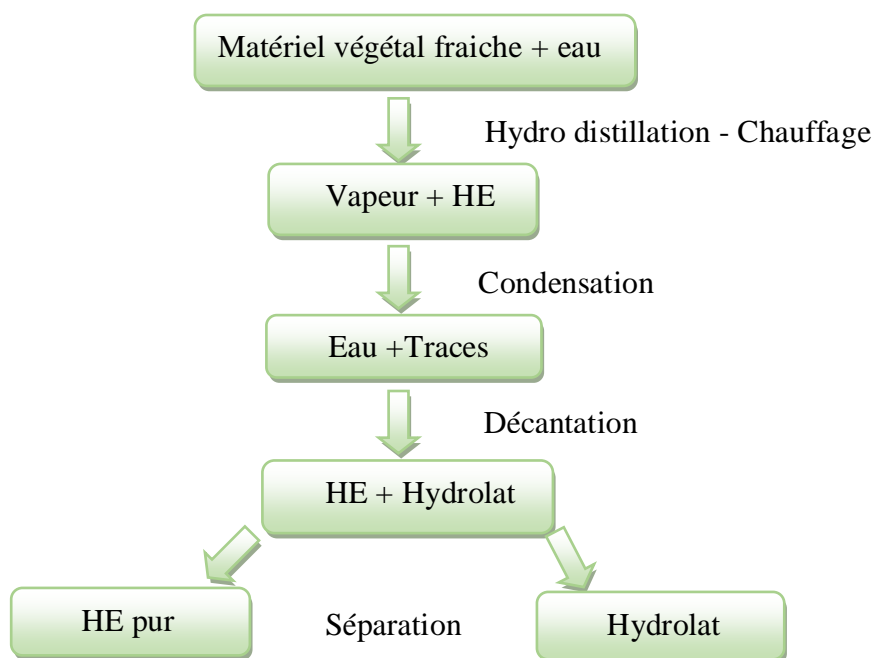


Figure III.03: Les étapes d'extraction de l'huile essentielle [Caillet et Lacroix, 2007].

III.2.1.4. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement en huile essentielle (R_{HE}) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Le rendement est exprimé en pourcentage, il est exprimé par la formule suivante:

$$R_{HE} (\%) = M' / M \times 100$$

- ✓ R_{HE} : Rendement en huile essentielle en %.
- ✓ M' : Masse d'huile essentielle en gramme.
- ✓ M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme [AFNOR, 1986].

III.2.1.5. Détermination de la composition chimique de l'huile essentielle par GC/MS

La détermination de la composition chimique de l'huile essentielle a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) (Figure III.04).



Figure III.04: Appareil de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

A. La chromatographie d'HE en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique couramment utilisée pour la séparation, l'identification et le dosage des constituants chimiques. La chromatographie consiste à séparer les composés d'un mélange en fonction des vitesses d'entraînement à travers une phase stationnaire contenue dans une colonne et une phase mobile gazeuse (gaz vecteur) [Arpino *et al.*, 1995].

La possibilité de coupler les chromatographes à divers spectromètres augmente considérablement la quantité et la qualité des informations obtenues. En GC/MS, la comparaison informatique des spectres d'un pic inconnu avec une ou plusieurs références permet son identification [Bruneton, 1993].

B. Chromatographie couplée à la spectrométrie de masse GC /MS

Les huiles essentielles ont été analysées sur un chromatographe de type Shimadzu QP2010 de type EI 70ev quadripole équipé d'une colonne capillaire SE30 (longueur: 25 m), couplé à un spectrographe de masse (SM) de type EI 70ev. Pour toutes les analyses, on injecte manuellement 0,1µl d'échantillon d'huile essentielle pure.

Les conditions analytiques sont les suivantes:

- Température de l'injecteur: 250°C;
- Température du four: 55°C (3min), 5°C à 120°C (5min) et de 5°C à 250°C pendant (8min);
- La température de trappe d'ions: 200°C;
- Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 1,2 ml/mn.

III.2.2. L'étude de l'activité antibactérienne de *Rosmarinus officinalis*

III.2.2.1. Étude bactériologique

Cette étude a été réalisée en deux étapes:

- ✚ L'aromatogramme par diffusion sur milieu gélosé.
- ✚ La détermination de la CMI.

A- Revivification des souches

Dans cette opération nous avons réalisé des repiquages sur le milieu solide, pour obtenir des souches jeunes pures [Bousseboua, 2002].

B- Identification des souches bactériennes

1. Caractérisations microscopiques

➤ La coloration de Gram

C'est la coloration de référence en bactériologie. Elle est réalisée comme suit:

- On réalise un frottis et on le fixe par la flamme;
- On recouvre la lame par le violet de gentiane: 1 minute;
- On rejette le violet de gentiane;
- On recouvre de lugol:1 minute;
- On décolore à l'alcool;
- On stoppe la décoloration par un nouveau lavage à l'eau;
- On recouvre la lame par la fuchsine diluée, 30 secondes à 1 minute;
- On lave à l'eau;
- On sèche entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur;
- On examine à l'immersion [Denis *et al.*, 2012].

2. Les tests biochimiques

A- Type respiratoire

A.1. Test de catalase [Delarras, 2007]

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobie facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène qui se dégage.

➤ Méthode

Sur une lame on dépose une goutte d'eau oxygénée qui est émulsionnée un peu de la colonie suspecte puis de la culture obtenue sur gélose.

➤ Lecture

Le dégagement immédiat de bulles de gaz (O_2) indique la présence de la catalase: test catalase $^+$.

A.2. Métabolites glucidique

A.2.1. Réaction ONPG

Certaines bactéries possèdent l'enzyme β -galactosidase permet de scinder le Lactose en Glucose et Galactose.

L'orthonitrophényl-B-D-galactopyranoside (ONPG) est un analogue structural du lactose. Ce substrat synthétique peut être scindé en galactose et en orthonitrophénole (composé soluble jaune) en présence d'une enzyme appelée ONPG hydrolase [Delarras, 2007].

➤ Méthode

On prépare une suspension dense dans 0,5 d'eau physiologie dans un tube à essai, puis on ajoute un disque O.N.P.G et incubé à $37^\circ C$ pendant 30minute [Denis *et al.*, 2007].

➤ Lecture

- Coloration jaune: ONPG $^+$
- Pas de coloration: ONPG $^-$ [Delarras, 2007].

A.2.2. Mannitol mobilité [Denis *et al.*, 2007]

Il s'agit d'un milieu semi-solide contenant entre autres du mannitol, et du rouge de phénol comme indicateur de pH.

➤ Méthode

L'ensemencement se fait par piqûre centrale à l'aide du fil droit chargé de suspension de la culture à étudier puis incubé 24heures à $37^\circ C$.

➤ **Lecture**

- ✚ le mannitol: le changement de la couleur de milieu du rouge au jaune, correspond à l'acidification du milieu, le mannitol à été utilisé dans ce cas les bactéries sont mannitol⁺.
- ✚ la mobilité: du fait de la faible teneur en agar du milieu, les bactéries mobiles peuvent s'y déplacer, alors qu'une bactérie immobile ne se développe que la longue d'une piqure centrale.

A.2.3. Milieu TSI [Delarras, 2007]

➤ **Méthode**

À partir des cultures pures sur gélose nutritive, ensemençer le culot du milieu par piqure centrale et la pente par stries serrées à l'aide d'une pipette pasteur. Incubation à 37°C pendant 24h.

➤ **Lecture**

Ce test permet également la production du H₂S (noircissement de la zone joignant la pente et le culot) et de Gaz (bulles dans la gélose).

- ✚ une coloration jaune de la zone intermédiaire indique un saccharose positif.
- ✚ une coloration jaune de la pente indique un lactose positif.
- ✚ une coloration jaune du culot montre un glucose positif.

A.2.4. Citrates de Simmons [Denis *et al.*, 2007]

Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone : le citrate. Seules les bactéries possédant une citrate-perméase sont capables de se développer sur ce milieu.

➤ **Méthode**

La pente est ensemençée par une strie longitudinale, réalisée à l'anse, à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile. Incuber à 30°C pendant 24h.

➤ **Lecture**

- ✚ Virage de l'indicateur de pH au bleu: il y a eu alcalinisation du milieu et la souche est citrate de Simmons +.
- ✚ Pas de virage de l'indicateur de pH: il n'y a pas eu alcalinisation et le milieu ne présente pas de culture. La souche est citrate de Simmons ⁻.

A.2.5. La réaction de VP et de RM [Delarras, 2007]

➤ **Méthode**

- On ensemençer à l'aide d'une anse de platine 2 tubes chacun contenant 5 ml de milieu Clark et lubs.
- On fait l'incubation à 37°C pendant 18h.

Test VP:

On ajoute 10 gouttes VP1 (alpha naphthol) et le même volume de VP2 (soude concentrée) (ou de potasse).

On incline le tube pour permettre une bonne oxygénation.

On attend quelques minutes à 1 heure.

Test RM:

On ajoute 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle, la lecture est immédiate.

➤ **Lecture****Test VP:**

⊕ La couleur rouge: VP+

⊖ La couleur jaune: VP-

Test RM:

⊕ La couleur rouge: RM+

⊖ La couleur jaune: RM-.

A.3. Métabolisme protéique➤ **ADH, LDC, et ODG [Delarras, 2007]**

Les enzymes ADH, LDC, ODC catalysent respectivement la décarboxylation de l'arginine, de la lysine et de l'ornithine présent dans le milieu. Cette dégradation aboutit à la formation de produits basiques; l'acalinisation du milieu est révélée par un virage de l'indicateur de pH (le pourpre de bromocrésol) à sa teinte basique (violette). On fait l'ensemencement de milieu avec une goutte de suspension bactérienne dense.

➤ **Lecture**

La présence de la lysine décarboxylase se traduit par la production de la cadavérine qui réagit avec la ninhydrine en donnant une coloration violette.

⊕ La présence de l'ornithine se traduit par la production de putrescine qui donne une coloration violette avec la ninhydrine.

⊖ L'apparition de la couleur violette témoigne de l'existence de l'arginine dihydrolases.

A.4. King A et King B [Denis *et al.*, 2007]

Les milieux de King (milieu King A et milieu King B) permettent de différencier entre elles les différentes espèces du genre *Pseudomonas*, par la mise en évidence de la production de pigments spécifiques.

➤ **Méthode**

A partir d'une culture sur gélose, on ensemence le milieu en faisant une strie à la surface de la gélose avec l'anse.

L'incubation est réalisée en aérobiose, 37°C pendant 48h.

➤ **Lecture**

- ✚ Couleur bleue sur le milieu King A (présence de pyocyanine).
- ✚ Couleur jaune-vert fluorescent sur le milieu King B (présence de pyoverdine) sous UV.

III.2.3. Étude d'activité antibactérienne d'HE

III.2.3.1. L'aromatogramme par diffusion sur milieu gélosé

Des disques de papier whatman (6mm) sont disposés à égale distance les uns des autres (jusqu'à 6 disques par boîte) et de telle façon à éviter le chevauchement des zones d'inhibitions sur Muller Hinton préalablement ensemencée par écouvillonnage avec la souche testée. Une légère pression sera exercée sur chaque disque afin d'obtenir une bonne adhérence.

Avec une micropipette réglable de 10 à 100µl, nous déposons aseptiquement sur chaque disque 20µl de chaque dilution d'HE.

Après 24h incubation à l'étuve à 37°C, la lecture sera effectuée, en cas d'activité d'HE, une zone circulaire d'inhibition (halo d'inhibition) apparaît. Selon la taille du halo d'inhibitions, nous distinguerons:

- ✚ Des germes résistants à l'huile essentielle: halo de 6 mm;
- ✚ Des germes assez sensibles à l'HE = ++: halo de 8 à 9 mm;
- ✚ Des germes très sensible à l'HE = +++: halo de plus de 9 mm [Raynaud, 2006].

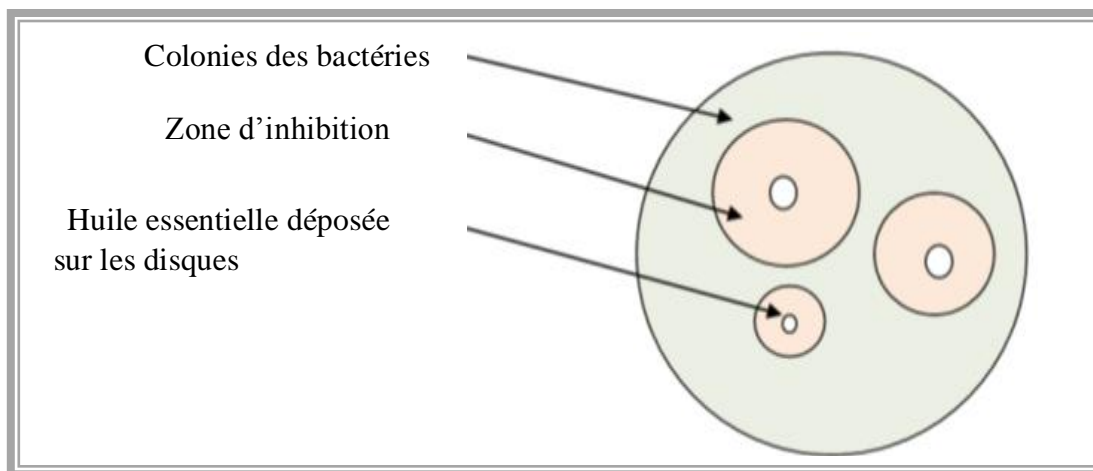


Figure III.05: Méthode de diffusion sur disque [Raynaud, 2006].

a- Préparation des disques

On a utilisé le papier whatman N°3 coupé en disque de 6mm. Ce dernier doit avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer. Les disques une fois préparés, sont placés dans un tube à essai et autoclaver 20min à 120°C [Fauchère et Avril, 2002].

b- Préparation des dilutions d'HE de *Rosmarinus officinalis*

- + On fait la préparation de la solution à partir de 50mg de l'HE de romarin dans une solution de 10ml de méthanol (70%).
- + A partir de cette solution on prend 6,4ml et on ajoute 3,6ml de méthanol, cette dernière on l'appelle la solution mère.
- + A partir de la solution mère on fait une série des dilutions (Tableau III.03) [Carbonelle *et al.*, 1987; Courvalin *et al.*, 1988].

Tableau III.03: les différentes dilutions de la solution mère

Concentration initiale en µg/ml	Volume en ml	Volume d'eau distillé en ml	Concentration finale en µg/ml
5000	6.4	3.6	3200
3200	2	2	1600
	1	3	800
	0.5	3.5	400
	0.5	7.5	200
200	2	2	100
	1	3	50
	0.5	3.5	25
	0.5	7.5	12.5

c- Préparation de l'inoculum

Les bactéries à tester sontensemencées sur des boîtes de Pétri contenant la (GN) ou autres milieux selon les souches et incubées pendant 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées. A partir de ces boîtes, à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées et mises dans 5ml de Bouillon nutritive. La suspension bactérienne est bien homogénéisée, et la densité optique lue à 625 nm est justifiée à 0.08 à 0.10. On admet que cette densité mesurée à 625 nm est équivalente à 10⁸ CFU/ml [Gachkar *et al.*, 2007].

2.3.4. Détermination de la CMI en milieu solide

La CMI où la concentration minimale inhibitrice est définie comme étant la plus petite dilution dans laquelle aucune croissance macroscopique n'est observée [Kuete *et al.*, 2004].

La détermination de la CMI est peut être effectuée dans le milieu solide ou liquide. Nous avons choisi la première méthode parce qu'elle est la plus facile à réaliser.

a- Procédé

On Prépare une culture en phase exponentielle en milieu liquide de la bactérie à étudier :

- On repique 0.1ml (bacille à Gram négatif), 0.3ml (*Staphylococcus saprophyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*) de la culture de 18 h dans 10ml de bouillon nutritif.
- On met à l'étuve à 37°C pendant 3 à 5 heures jusqu'à l'apparition d'une légère opalescence (environ 5×10^7 bactéries /ml).
- On met 2ml de chaque dilution d'HE les boites de Pétri, et on ajoute 18ml de Muller Hinton et faire des mouvements circulaires jusqu'à l'homogénéisation.
- On laisse les boites de Pétri quelques minutes sur la paillasse pour la solidification de la gélose.
- On ensemence en strie à la surface de la gélose les souches bactériennes étudiées (quatre bactéries à Gram ⁻ et une bactérie à Gram ⁺)
- On incube les boites pendant 18h à 37°C [**Carbonelle et al., 1987; Courvalin et al., 1988**].

➤ Lecture

La concentration minimale inhibitrice (CMI): est la concentration d'HE de *Rosmarinus officinalis* pour laquelle il n'y a pas de culture bactérienne visible [**Carbonelle et al., 1987; Courvalin et al., 1988**].

IV.1. Résultats

IV.1.1. Caractéristiques organoleptiques

L'HE de *R. officinalis* est extrait par la technique d'hydrodistillation, il est liquide mobile, d'une coloration jaune clair et à odeur camphrée, les résultats obtenus sont représentés dans le Tableau IV.1.

Tableau VI.1: Caractéristiques organoleptiques de l'HE de *R. officinalis*.

	Aspect	Couleur	Odeur
L'AFNOR (1999)	Liquide mobile, limpide	Presque incolore à jaune pâle	Caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée selon l'origine
HE	Liquide mobile	Jaune clair	Camphrée

IV.1.1.1. Calcul de rendement

Le rendement d'HE a été calculé en fonction de la matière végétale fraîche de la plante *R. officinalis*. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

$$R_{HE} (\%) = M' / M \times 100$$

$$\left. \begin{array}{l} M' = 0.36g \\ M = 60g \end{array} \right\} R_{HE} = 0.36/60 \times 100 = 0.6 \%$$

$R_{HE} = 0.6\%$

IV.1.1.2. La composition chimique de l'HE

Les résultats d'analyse par GC/MS ont révélé que l'HE du romarin cueilli de l'université de Jijel est composée de 15 constituants, dont les majoritaires sont: 1,8 Cinéol (17.56%), Norborane (12.28%), Cis-sabinène (7.39%), Bornéol (10.78%), Pinocamphone (7.26%), D-limonène (7.23%), Caryophyllène (6.56%) respectivement.

Les autres constituants ont une teneur comprise entre 2.88% et 5.41% (Tableau IV.2).

Tableau IV.2: Composition chimique d'HE du romarin de la région de Jijel

Composés	Pourcentage %
α - pinène	2.95
Camphène	5.16
β -Pinène	2.85
β -myrcène	2.88
3-carène	5.41
1,8 cinéol	17.56
D-limonène	7.23
Cis-p-menthane	3.07
Cis-sabinène	7.39
Norborane	12.28
Pinocamphone	7.26
Bornéol	10.78
Verbénone	3.60
Bornyl acétate	4.98
Caryophyllène	6.56
Total	99.96

IV.1.2. Identification des souches bactériennes

IV.1.2.1. Caractérisation microscopique des souches bactériennes étudiées

A\ La coloration de Gram

Les bactéries colorées en violet sont des bactéries à Gram positif et celles colorées en rose sont des bactéries à Gram négatif (Figure IV.1). Le Tableau IV.3 présente les observations microscopiques des souches étudiées.

Tableau IV.3: Les observations microscopiques.

Souches	Gram	Forme
<i>E. coli</i>	Négatif	Coccobacille
<i>K. pneumoniae</i>	Négatif	Bacille
<i>P. aeruginosa</i>	Négatif	Bacille
<i>P. mirabilis</i>	Négatif	Bacille
<i>S. saprophyticus</i>	Positif	Cocci en amas ou isolé

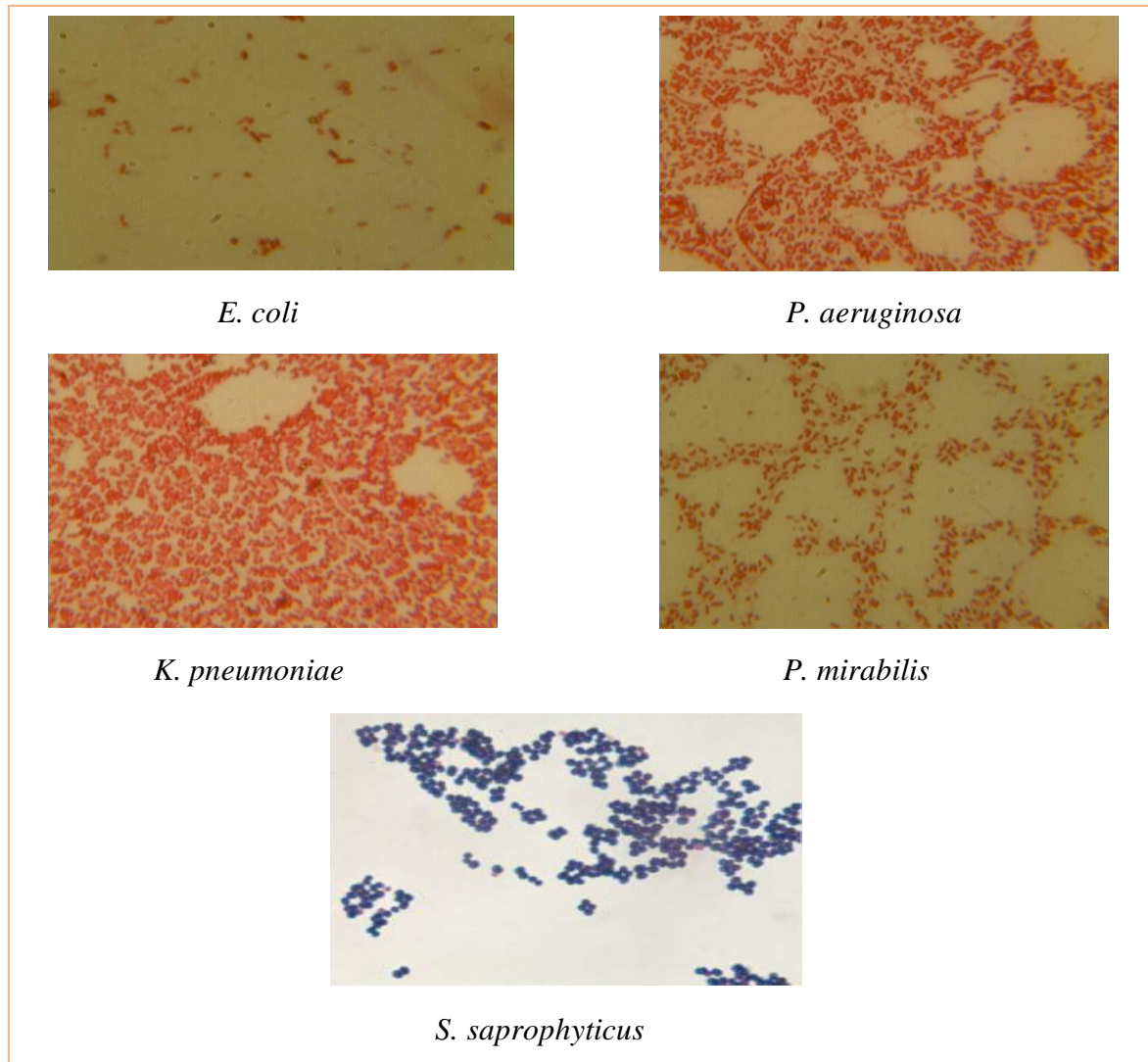


Figure IV.1: Les observations microscopiques.

IV.1.2.2. Caractérisation macroscopique des souches bactériennes étudiées

Selon [John *et al.*, 2000] les caractères macroscopique des souches bactériennes étudiées sont les suivantes:

***E. coli*:** colonies Smooth de 2 à 3mm acidifications du milieu Héктоen, lisse couleur brique.

***K. pneumoniae*:** colonies de 3 à 4mm, rondes, bombées, muqueuses, translucides.

***P. aeruginosa*:** colonies muqueuses, bombées, opaques, visqueuses parfois coulantes.

***P. mirabilis*:** petites colonies en forme de bâtonnet, mesurant de 0,4 à 0,8 μ m de diamètre sur 1,0 μ m à 80 μ m de longueur.

***S. saprophyticus*:** les colonies sont non hémolytiques, de 3 à 9mm de diamètre, circulaires, à bords réguliers, très brillantes, opaques, crémeuses, convexes, non pigmentées ou pigmentées en jaune orange.

IV.1.2.3. Résultats des tests biochimiques

Les résultats des tests biochimiques sont résumés dans le tableau IV.4.

Tableau IV.4: Résultats de confirmation de l'identification des bactéries.

Souches \ Tests	S1	S2	S3	S4	S5
Mannitol	+	+	-	-	+
Mobilité	+	-	+	+	-
Glucose	+	+	+	+	/
Lactose	+	+	-	-	/
Saccharose	+	+	-	-	/
Gaz	+	+	+	+	/
H₂S	-	-	-	+	/
Citrate	-	+	+	-	/
Test catalase	/	/	+	-	+
LDC	+	+	-	-	/
ODC	+	-	-	+	/
ADH	-	+	+	-	/
King A	/	/	Pyocianine +	/	/
King B	/	/	-	/	/
O.N.P.G	+	+	+	-	/
VP	-	+	-	-	+
RM	+	-	-	+	-

(S): Souche, (/): Absence de résultat, (+): résultat positive, (-): résultat négative.

D'après les résultats on a confirmé que nos souches sont: **S1:** *E. coli*, **S2:** *K. pneumoniae*, **S3:** *P. aeruginosa*, **S4:** *P. mirabilis*, **S5:** *S. saprophyticus* [John et al., 2000].

IV.1.3. Résultats de l'activité antibactérienne

Nous avons analysé l'activité antibactérienne d'HE de *R. officinalis* par la méthode de diffusion sur milieu solide.

L'effet de l'HE se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'HE étudié. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre.

IV.1.3.1. Résultats de l'aromatogramme

L'activité antibactérienne d'huile essentielle de *R. officinalis* est évaluée sur 5 souches (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *S. saprophyticus*) après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C.

Cette activité est évaluée par la méthode d'aromatogramme, le pouvoir antibactérien de cette HE est obtenu par la mesure du diamètre de zone d'inhibition en (mm) à l'aide d'une règle (Tableau IV.5).

Tableau IV.5: les zones d'inhibition d'HE sur les souches bactériennes utilisées.

	Diamètre des zones d'inhibition en mm				
	SM	1/2	1/4	1/8	1/16
<i>E. coli</i>	21 ± 1.41	19 ± 1.41	18 ± 2.82	17 ± 1.41	15 ± 1.41
<i>P. aeruginosa</i>	20 ± 0	17 ± 1.41	14 ± 0	13 ± 1.41	12 ± 2.82
<i>aP. mirabilis</i>	25 ± 1.41	19 ± 0	14 ± 1.41	13 ± 1.41	11 ± 1.41
<i>K. pneumoniae</i>	21 ± 1.41	16 ± 1.41	15 ± 0	13 ± 1.41	11 ± 1.41
<i>S. saprophyticus</i>	19 ± 1.41	15 ± 1.41	12 ± 2.82	11 ± 1.41	10 ± 2.82

NB: Les valeurs sont d'une moyenne de 2 essais avec l'écart type, (les zones sont mesurées en mm),

SM=3200 µg/ml, 1/2 =1600 µg/ml, 1/4=800 µg/ml, 1/8 =400 µg/ml, 1/16= 200 µg/ml.

IV.1.3.2. Détermination de la CMI

Après l'incubation à 37°C pendant 24h, les résultats de la CMI d'HE de *R. officinalis* sont présentés dans le Tableau IV.6.

Tableau IV.6: CMIs en (µg/ml) d'HE de *R. officinalis* avec les souches bactériennes étudiées.

Souches	CMI en (µg/ml)
<i>E. coli</i>	12.5
<i>P. aeruginosa</i>	100
<i>P. mirabilis</i>	12.5
<i>K. pneumoniae</i>	12.5
<i>S. saprophyticus</i>	25

IV.2. Discussion

L'HE du romarin récolté de l'université de Jijel est obtenue par hydrodistillation est la méthode normé pour l'extraction d'une HE [Caillet, 2007].

Les paramètres organoleptiques (liquide mobile, couleur jaune clair, camphré) de notre HE sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR [AFNOR, 1999].

Notre HE a un rendement de 0.6%. Ce rendement en huile obtenue à partir des feuilles et des fleurs est conforme avec les normes AFNOR (0,5-2%), cela peut être due aux différents facteurs qui rentrent en jeu, parmi eux on cite la nature du sol, les facteurs climatiques, période de la récolte, le mode d'extraction [AFNOR, 1999].

Notre HE est caractérisée par une teneur de 17.56% de 1,8 cinéol, cette huile serait du chémotype *R. officinalis* à 1,8 cinéole.

L'étude menée par Boutekedjiret et ses collaborateurs (1998) indique que les HES du romarin des Biban de la région de Bordj Bou Arreridj, sont dominées par un chémotype spécifique qu'est le 1,8 cinéole. Ce qui concorde avec notre résultat.

Les études effectuées sur la composition chimique des HES du romarin en Tunisie, Maroc, Espagne et Italie, déterminent l'importance du chémotype 1,8-cinéol [Varela *et al.*, 2009; Ayadi *et al.*, 2011; Jordán *et al.*, 2013; Khia *et al.*, 2015; Tuttolomondo *et al.*, 2015].

En France, l'HE du *R. officinalis* de la région de Provence a un niveau élevé de camphre (30-45%) [Kaloustian *et al.*, 2002] par contre celle de la région de Corse serait caractérisée par l' α -pinène (13.7-24.6%) [Pintore *et al.*, 2002].

Cette variabilité des résultats de l'HE du romarin peut être due à des facteurs intrinsèques (génétique, sous-espèces) ou à des facteurs extrinsèques comme le climat et le sol (origine géographique) ou à la méthode d'extraction [Özcan et Chalchat, 2008].

A partir des résultats l'aromatogramme (diamètres des zones d'inhibition en mm de chaque dilution d'HE), on remarque que l'HE du romarin a une activité antibactérienne importante contre les cinq souches étudiées avec des zones d'inhibition de 25mm, 21mm, 21mm, 20mm, 19mm, pour *P. mirabilis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. saprophyticus* respectivement.

La sensibilité des microorganismes peut varier selon le germe testé car une HE peut être bactéricide vis-à-vis de certaines souches, bactériostatique vis-à-vis d'autres ou n'avoir aucun effet [Hermal, 1993].

Le mécanisme d'action d'HE est lié essentiellement à la structure de la paroi et à la perméabilité membranaire des bactéries. L'HE exerce son pouvoir antimicrobien par son interférence avec la bicouche lipidique de la bactérie grâce à sa propriété hydrophobe,

ce qui entraîne: l'augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires; l'acidification de l'intérieure de la bactérie, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure; la destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie [Caillet et Lacroix, 2007].

De nombreux auteurs, ont constaté que le changement dans la composition chimique d'HEs affecte directement leurs propriétés biologiques [Celiktas *et al.*, 2007; Van Vuuren *et al.*, 2009]. Ce qui mène à attribuer l'activité antibactérienne aux composants chimiques des HEs.

Les propriétés biologiques d'HE de manière globale seraient liées à la complexité de la composition chimique et la synergie entre les composants majoritaires et minoritaires [Ouibrahim, 2015].

L'HE de *R. officinalis* a quant à elle manifesté un effet inhibiteur jusqu'à la dilution de (12.5µg/ml), et ce vis-à-vis des souches de *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* et *E. coli* des valeurs de CMI assez peu élevées ont été enregistrées chez *S. saprophyticus* (25µg/ml), *P. aeruginosa* (100 µg/ml).

Selon [Pessini *et al.*, 2003]

- ✚ L'activité antibactérienne est bonne, pour une CMI < 100 µg/ml.
- ✚ L'activité antibactérienne est moyenne, pour une 100 < CMI < 500 µg/ml.
- ✚ L'activité antibactérienne est nulle, pour une CMI > 1000 µg/ml.

Donc à partir des résultats que nous avons obtenus, on montre que:

- ❖ L'HE testée a une bonne activité antibactérienne, ceci explique les bons résultats de l'aromatogramme.

Conclusion

Les plantes aromatiques ont l'aptitude à synthétiser de nombreux métabolites secondaires en réponse aux stress biotiques et abiotiques qu'ils peuvent subir. Ces métabolites secondaires possédant diverses propriétés biologiques. Les huiles essentielles ou essences, font partie de ce groupe de métabolite avec les alcaloïdes et les phénols.

L'aromathérapie reste toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

Le choix de notre plante est basé sur son utilisation fréquente dans nos traditions locales culinaires et médicinales, afin de revaloriser et redécouvrir notre patrimoine national. De ce fait on est focalisé sur l'un de leurs métabolites secondaires : les huiles essentielles.

A l'heure actuelle, plusieurs travaux ont envisagé l'utilisation de ces composés bioactifs comme alternatives aux multiples substances synthétiques.

Le présent travail est consacré à la détermination du rendement, de la composition chimique et des propriétés antibactériennes d'huile essentielle extraite du *Rosmarinus officinalis* récoltée de la région de Jijel en mois d'Avril-Mai 2017.

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par hydrodistillation. Le rendement en HE est de l'ordre de 0.6%.

Ce rendement est conforme avec les normes internationales (0,5-2%), cela peut être due aux différents facteurs qui rentrent en jeu, parmi on cite la nature du sol, la période de la récolte, la durée de séchage, le mode d'extraction et la situation géographique.

Les analyses chimiques, par GC/MS, ont permis d'identifier 15 composants dont les majoritaires sont: 1,8 Cinéol (17.56%), Norborane (12.28%), Bornéol (10.78%), Pinocamphone (7.39%), Caryophyllène (6.56%), D-limonène (7.23%). Cette huile serait du chémotype *R. officinalis* à 1,8 cinéole.

Les résultats obtenus par la méthode de diffusion sur milieu solide montrent que notre HE a une activité antibactérienne très importante vis-à-vis les souches à Gram - (*P. mirabilis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*) et la souche à Gram + (*S. saprophyticus*).

De plus les valeurs de la CMI a montré que HE est plus active vis-à-vis les souches *P. mirabilis*, *E. coli* et *K. pneumoniae* pour lesquelles ont trouvé une CMI d'environ de 12.5µg/ml.

Références bibliographiques

A

AFNOR. 1986. Recueil Des Normes Françaises, huiles essentielles, AFNOR, Paris, page 57.

AFNOR NF T 75-006, 1999. Huile essentielle. Association française de normalisation. Paris, page 559-563.

AFSAPS. 2008 Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles, contribution pour des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles, France, page 10.

Anton R., Lobstein A., 2005. Plantes aromatiques, épices, aromates, condiments et huiles essentielles, Edition Tec et Doc, Lavoisier, Paris, page 418.

Arpino P., Prevot A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A., Wittier P., 1995. Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Ed. Masson, Paris.

Atik bekkara F., Bousmaha L., Taleb bendiab S.A., Boti J.B., Casanova J., 2007. Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L* poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Journal : Biologie et Santé* vol. 7: page 6-11.

Ayadi S., Jerribi C., Abderrabba M., 2011. Extraction et étude des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* cueillie dans trois régions différentes de la Tunisie, *Journal de la Société Algérienne de Chimie*, 21 (1): page 25-33.

B

Bahorun T., 1997. Substances Naturelles Actives: La Flore Mauricienne, Une Source D'approvisionnement Potentielle. AMAS. Food and Agricultural Research Council. Réduit, Mauritius.

Bauer K., Dorothea G., 1985. Common Fragrance and Flavor Materials: préparation, properties and uses, VCH (VerlagsgeseHschaf), Federal republic of Germany, page 1-3.

Beirao ARB., Bernardo-Gil MG., 2006. Antioxiations from *Lavandula luisier*, 2nd Mercosur congress on chemical Engineering, Portugal, page 8.

Beloued A., 2005. Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaire, Alger, page 184.

Bousseboua H., 2002. Elément de microbiologie générale, Editions Université de Mentouri Constantine, Algérie, Pages 215, 155.

Boutekedjiret C., Bentahar F., Belabbes R., Bessiere J.M., 1999. Study of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil yield and composition as a function of the plant life cycle. *Journal of Essential Oil Research*, 11 (2): page 238-240.

Bruneton J., 1993. Pharmacognosie phytochimie, plantes médicinales, Editions Tec et Doc, 1^{er} édition, Lavoisier.

Bruneton J., 1999. Pharmacognosie phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} édition. Editions Tec et Doc, Lavoisier.

Bruneton J., 2009. Pharmacognosie phytochimie, plantes médicinales: Huiles essentielles. 3^{ème} édition. Editions Tec et Doc, Lavoisier, page 567, 571, 580

Buchbauer G., Jäger W., Jirovetz L., Ilmberger J., Dietrich H., 1993. Therapeutic properties of essential oils and fragrances. In: Bioactive Volatile Compounds from Plants, (R Teramishu, R G Buttery and H Sugisawa, eds). ACS Symposium Series 525 Washington DC: American Chemical Society, Page 159-165.

Buronzio A., 2008. Grand guide des huiles essentielles, santé, beauté, bien être, édition Hachette pratique, France, page 14, 23-26.

Burt S., 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in food: a Review, in *International Journal of Food Microbiology*, 94: page 223-253.

C

Caillet S, Lacroix M. 2007. Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de recherche en Sciences appliquées à l'alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand Frappier, université de Laval, Québec ,page1-8.

Carbonelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Vargua R., 1987. Bactériologies médicales: techniques usuelles, Editions SIMEP, 2^{ème} édition, France.

Cauvalin P., Flandrois J.P., Goldstein F., Philippon A., Sirot J. 1988. L'antibiogramme automatisé mpc-vigt, Paris.

Celiktas OY., Kocabas EEH., Bedir E., Sukan FV., Ozek T., Baser KHC., 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Journal of Food Chemistry*, 100: page 553–559.

D

Delarras C., 2007. Microbiologie pratique pour laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire, Editions TEC et DOC, Lavoisier, Paris, Pages, 128, 141, 143, 144, 150, 725.

Delaveau P., 1987. Les Epices, histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiment. Edition Albini Michel, Paris, page 371.

Delille L., 2007. Les Plantes médicinales d'Algérie. Édition BERTI, Alger, page 122.

Denis F., Bingen E., Martin C., Ploy M.-C., Quentin R., 2007. Bactériologie Médicale: Techniques usuelles, Editions Elsevier Masson, Paris, Pages 23, 24, 27.

Denis F., Bingen E., Martin C., Ploy M.-C., Quentin R., 2012. Bactériologie Médicale: Techniques usuelles, Editions Elsevier Masson, 2^{ème} édition, Paris, Pages 14,15.

Deysson G., 1979. Organisation et classification des plantes vasculaires, tomes II, Soc, d'édi, et d'Ens, sup, Paris, page 385, 540.

Dorman H.J.D., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oil. *Journal of Applied Microbiology*, 88: page 308-316.

F

Fauchère J.L., Avril J.L., 2002. Bactériologie générale et médicale, Éditions ELLIPSES, Paris, page 365.

Faucon M., Lobstein A., 2015. Traité d'aromathérapie scientifique et médicale: fondements et aide à la prescription, 2^{ème} édition, sang de terre, Paris, page 14, 915.

G

Gachkar L., Yadegari D., Rezaei MB., Taghizadeh M., Astaneh SA., et Rasooli I., 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum ctmimum* and *rosmarinus officinalis* essential oil. *Journal of Food Chemistry*. 102, page 898-904.

Guinoiseau E., 2010. Molécules, antibactérienne issues d'huile essentielles: séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat de l'Université de Corse, option: Biochimie-biologie moléculaire, France, page50.

H

Hermal C., 1993. Activité bactériostatique de sept émulsions d'huiles essentielles et de deux associations d'émulsions d'huiles essentielles. Thèse, Faculté de pharmacie, Université Montpellier I. page 87.

Hussain AI., Anwar F., Chatha SAS., Jabbar A., Mahboob S., Nigam PS., 2010. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities, *Brazilian Journal of Microbiology*, 41: page 1070-1078.

I

Iserin P., Masson M., Restellini J.P., **2007**. Larousse des plantes Médicinales. Identification, Préparation, Soins. Edition Larousse, Paris.

J

Johansen C., Verheul Gram L., Abee T., **1997**. Protamine-induced permeabilization of cell envelopes of Gram positive and Gram negative Bacteria, *Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 63: page 1155-1159.

John G.H., Noel R.K., Petr H.A. S., Jams T.S., Stanley T.W., **2000**. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology – 9^{ème} (ed).

Jordán M.J., Lax V., Rota M.C., Sotomayor J.A., **2013**. Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. *Food Control*, 30 (2): page 463-468.

K

Kaloustian J., Portugal H., Pauli A.M., Pastor J., **2002**. Chemical, Chromatographic and Thermal Analysis of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*). *Journal of Applied Polymer Science*, 83: page 747-756.

Khia A., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Aberchane M., Quaboul B., Amusant N., Charrouf Z., **2015**. Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. du Maroc. *Phytothérapie*, 12 (6): page 341-347.

Knobloc K.A., Pauli B., Weigand N., Weis, **1989**. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research*, 1: page 119-123

Kohen R., Nyska A., **2002**. Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification, Toxicologic pathology. 30: page 650.

Kuete V., Penlap Beng V., Etoa f-X., Modjo S.L., Bogne P., Assob J.C., et Lontsi D., **2004**. Activité antimicrobienne de l'extrait total et des fractions de jus de fruits de *Citrus medica* L. (*Rutaceae*). *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*. Vol., page 13, 91-101,

Kurita N., Myaji M., Kurane R., Takahara Y., **1979**. Antifungal activity and molecular orbital energies of aldehyde compound from oils of higher plants, *Agricultural and biological chemistry*, 43: page 2365-2371.

L

Larousse, 2001. Encyclopédie Des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soins. Edition Larousse, Paris, page 128.

M

Madhavi DI., Deshpande SS., Salunkhe DK., **1996.** Food Antioxidants technological, Toxicological, and Heath perspectives, Marcel Dekker, Inc, NewYork, page65.

Mann J., 1987. Secondary métabolism, second édition, Clarendo press, Oxford, page 374.

O

Ouamba J.M., 1988. Valorisation Chimique des Plantes Aromatiques du Congo: Extraction et analyse des huiles essentielles, Oximation des aldéhydes naturels, Thèse de Doctorat d'État, Université de Montpellier II, page 340.

Ouibrahim A., 2015. Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus noblist L., Ocimum basilicum L., Rosmarinus officinalis L.*) de l'Est Algérien. Thèse de doctorat, université Badji Mokhtar-Annaba, page 80.

Ozcan M.M., Chalchat J.C., **2008.** Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) oil from Turkey. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59 (7-8): 691-698.

P

Pessini G.L., Dias Filho B.P., Nakamura C.V., Garcia Cortez D.A., **2003.** Antibacterial activity of extracts and nrolignans from *pieperregnelli* (Miq.) C. DC. Var. *pallescens* (C.DC.) Yunk., Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, 98; page 1115-1120.

Pintore G., Usai M., Bradesi P., Juliano C., Boatto G., Tomi F., Chessa M., Cerri R., Casanova J., **2002.** Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis L.* oils from Sardinia and Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*, 17: page 15-19.

Q

Quezel P., Santa S., **1963.** Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, CNRS, Paris, page 793.

R

Randriamiharisoa Ph., 1996. La filière des huile essentielle une opportuniste pour l'avenir, plante aromatiques et médicinales à Madagascar, actes de colloque, Juin, Cite, Ambatonakanga, page 41- 42.

Raynaud J., 2006. Prescription et conseil en aromathérapie. Edition TEC et DOC, Lavoisier, page 8.

Renoul H.A., 2014. Le docteur Valnet, le soi par la nature, approche historique d'une démarche thérapeutique, thèse de doctorat, université de Nantes U.F.R.Science et Techniques, France.

Robert G., 2000. Les Sens du Parfum, Osman Eroylls Multimedia. Paris, page 224.

T

Tsuchiya H., Sato M.,Miyazaki T., Fujiwara S., Tanigaki S., Ohyama M., Tanaka T., Linuma M., **1996.** Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology* ,50: page 27-34.

Tuttolomondo T., Dugo G., Ruberto G., Leto C., Napoli E.M., Cicero N., Gervasi T., Virga G., Leone R., Licata M. & La Bella S., **2015.** Study of quantitative and qualitative variations in essential oils of Sicilian *Rosmarinus officinalis* L. *Natural Product Research*, 29 (20): page 1928-1934.

V

Valnet J., 1990. Aromathérapie: Traitement des maladies par les essences des plantes. 1^{er} Edition. Edition Maloine S.A. Paris, page 238-239.

Valnet J., 2000. Aromathérapie, traitement des maladies par les essences des plantes. Ed. Maloine S.A., Paris.

Van Vuuren SF., Suliman S., Viljoen AM., **2009.** The antimicrobial activity of four commercial essential oils in combination with conventional antimicrobials. *Lett.Appl. Microbiol.* 48: page 440–446.

Varela F., Navarrete P., Cristobal R., Fanlo M., Melereo R., Sotomayor J. A., Jordán M.J., Cabot P., Sanchez de Ron D., Calvo R., Cases A., **2009.** Variability in the chemical composition of wild *Rosmarinus officinalis* L. *Acta Horti.*, 826: page 167-174.

W

Wendakoon C.N., Sakaguchi M., **1995.** Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices, *Journal of food protection*: 58 page 280-283.

Z

Zhiri A., Baudoux D., **2005.** Aromathérapie scientifique: Huiles essentielles chémotypées, et leurs synergies. Edition Inspir Development, Luxembourg, page 9.

Glossaire

Antispasmodiques: sont des médicaments qui aident à traiter les spasmes musculaires. Il s'agit de calmer ou de neutraliser des contractions involontaires des muscles. Ils sont souvent utilisés dans les spasmes digestifs, les douleurs à type de coliques hépatiques ou néphrétiques et les douleurs utérines de la femme.

Arbrisseau: une plante ligneuse se ramifiant dès la base. Généralement, il est rare qu'un arbrisseau dépasse une hauteur de quatre à cinq mètres.

Aromathérapie: est une branche de la phytothérapie, traitement des maladies par des produits dérivés des plantes.

Cellulite: est un phénomène physiologique complètement naturel. Des cellules graisseuses, appelées adipocytes, sont stockées sous le tissu cutané et le déforment. La peau n'est plus lisse : on dit qu'elle a un aspect « peau d'orange » ou qu'elle présente des capitons.

Chabrol: Faire chabrol (ou chabrot). Verser du vin rouge dans la soupe et boire ce mélange à même l'assiette. Se reconforter d'un chabrol. Chaque matin, il faisait chabrot, vidait une chopine de rouge sur le bouillon, dans son écuelle.

Chlorose: est une décoloration plus ou moins prononcée des feuilles, due à un manque de chlorophylle (qui permet la photosynthèse et qui donne aux feuilles leur couleur verte). Le terme est construit à partir du grec (chloros): jaune-vert.

Cohobation: Procédé de distillation basé sur le recyclage permanent de l'eau de distillation pendant l'opération.

Décongestionner: Faire cesser la congestion d'un organe, du visage. Dégager un lieu de ce qui l'encombre, le congestionne : Décongestionner une rue encombrée.

Dysménorrhées: est une douleur qui précède, accompagne ou suit la menstruation (les règles). C'est une pathologie fréquente qui touche avec plus ou moins d'intensité 30 à 50% des femmes en période d'activité génital.

Effets synergiques: Effet économique bien connu selon lequel la valeur de l'union de deux entités est plus importante que la valeur de la somme des deux entités séparées.

Emménagogue: sudorifique qui provoque ou augmente la sécrétion de la sueur. Si non diaphorétique (rare), hidrotique. Plante, poudre, sirop, tisane sudorifique. La vipérine contient du nitrate de potasse et on peut la consommer en infusion sudorifique.

Flatulences: est la production de gaz intestinaux, accumulés dans l'intestin ou l'estomac et provoquant des ballonnements, qui peuvent être expulsés hors du corps de façon volontaire ou involontaire par l'anus ou la bouche.

Hypertenseur: Qui favorise l'augmentation de la tension artérielle. Médicament hypertensif. Les glandes surrénales comprennent une partie centrale ou médullo-surrénale qui sécrète une hormone hypertensive, l'adrénaline.

L'enzyme ATPase: Enzyme, de la famille des hydrolases, catalysant l'hydrolyse de l'ATP en ADP et en phosphate inorganique, ce qui libère de l'énergie. Elle joue un rôle important, entre autres, dans le mécanisme d'action de la pompe à sodium

La ninhydrine: est un composé chimique utilisé pour colorer les acides aminés. Aussi appelée nihydrine, elle permet de rendre les acides aminés primaires ou secondaires visibles en pourpre ou en jaune.

Molécules bioactives: Molécules qui possèdent des propriétés biologiques ou des substances biologiquement actives dans un but curatif ou préventif.

Pédiculose: est l'infestation de l'organisme par des poux, de petits insectes se nourrissant du sang humain. Ce sont des ectoparasites, c'est-à-dire des parasites vivant à la surface de la peau, et hématophages (qui se nourrissent de sang par piqûres de leur hôte).

Perturbation chémo-osmotique: dérèglement dans un fonctionnement.

Phosphate inorganique: Le phosphore est un élément constitutif de tous les tissus de l'organisme. L'hyperphosphorémie ou hyperphosphatémie correspond à l'augmentation du taux sérique des phosphates inorganiques (exprimés en unités de phosphore).

Photocyclisation: Tout processus photochimique intramoléculaire conduisant à un système cyclique par la formation d'une nouvelle liaison simple, soit par un processus concerté (par exemple, électrocyclisation) ou par des procédés à plusieurs étapes.

Photoisomérisation: Isomérisation d'un composé liée au rayonnement.

Phytosociologiques: est l'étude des associations végétales. En se basant sur des listes de groupements de végétaux, cette science permet de décrire et de classifier la végétation d'un milieu de façon abstraite, mais souvent révélatrice des interactions entre les plantes et leur milieu.

Syncopes: Une **syncope** est une perte de connaissance soudaine d'origine cardiaque, due à une diminution de l'apport en oxygène au cerveau, qualifiée d'anoxie cérébrale.

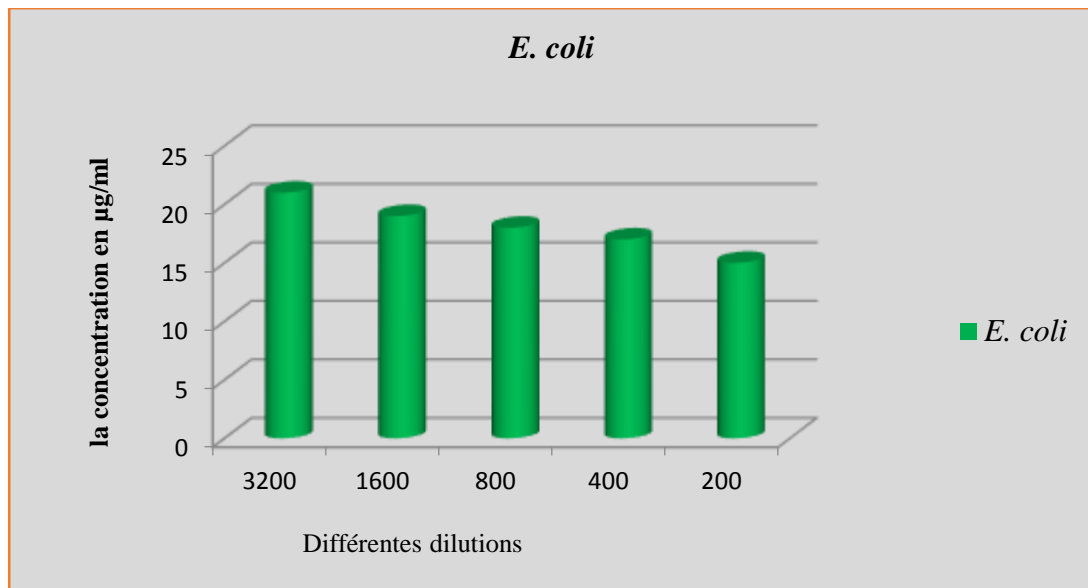
Tennis-elbow: L'épicondylite latérale du coude, le tennis elbow ou l'épicondylalgie du coude sont différents termes pour désigner la douleur à l'insertion des muscles épicondyliens en latéral du coude souvent associée à un mécanisme de sur-utilisation des extenseurs du poignet.

Translocation: transfert anormal d'un segment de chromosome non analogue.

ANNEXES

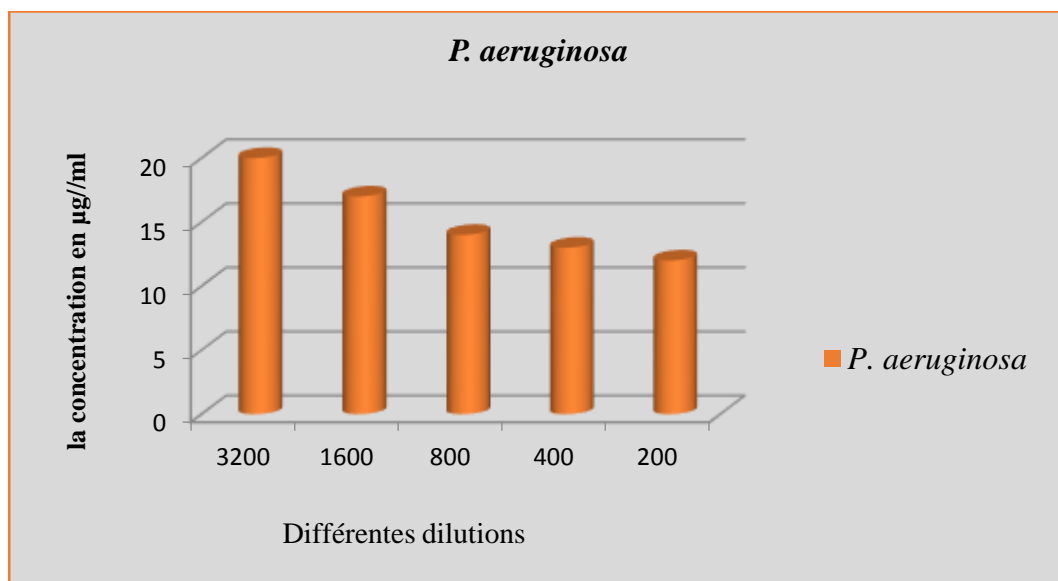
Annexe n°= 01

Les zones d'inhibition d'HE de *Rosmarinus officinalis* sur *E. coli*



Annexe n°= 02

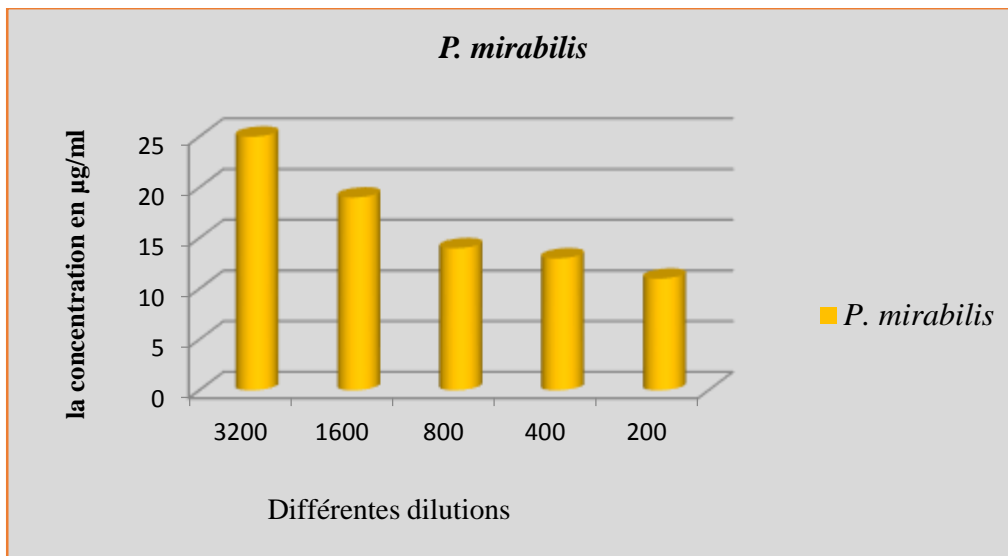
Les zones d'inhibition d'HE de *Rosmarinus officinalis* sur *P. aeruginosa*



ANNEXES

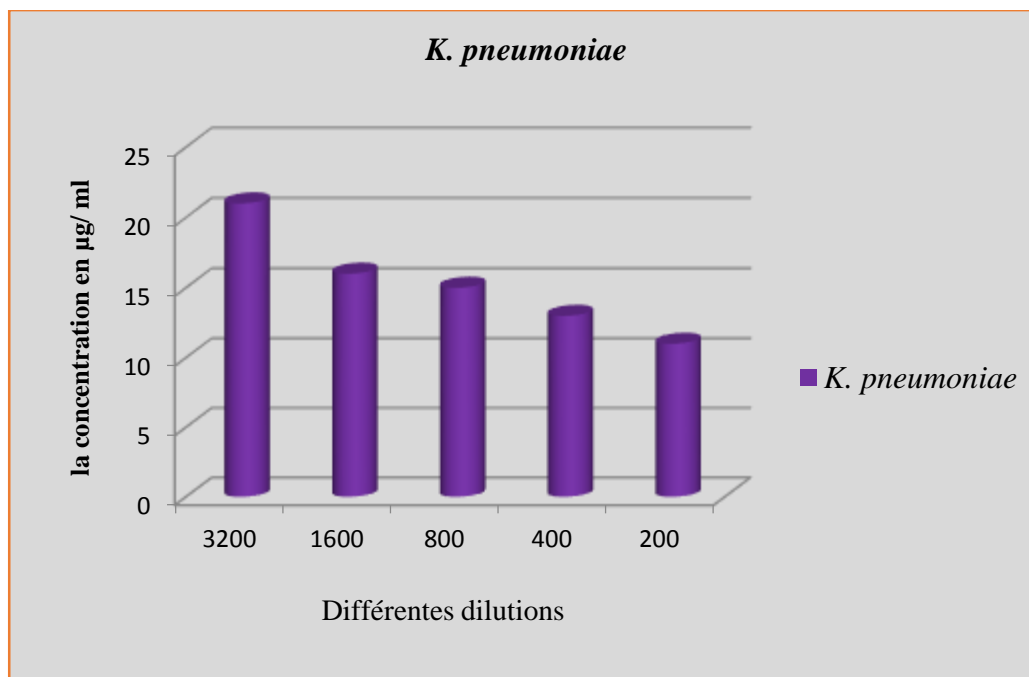
Annexe n°= 03

Les zones d'inhibition d'HE de *Rosmarinus officinalis* sur *P. mirabilis*



Annexe n°= 04

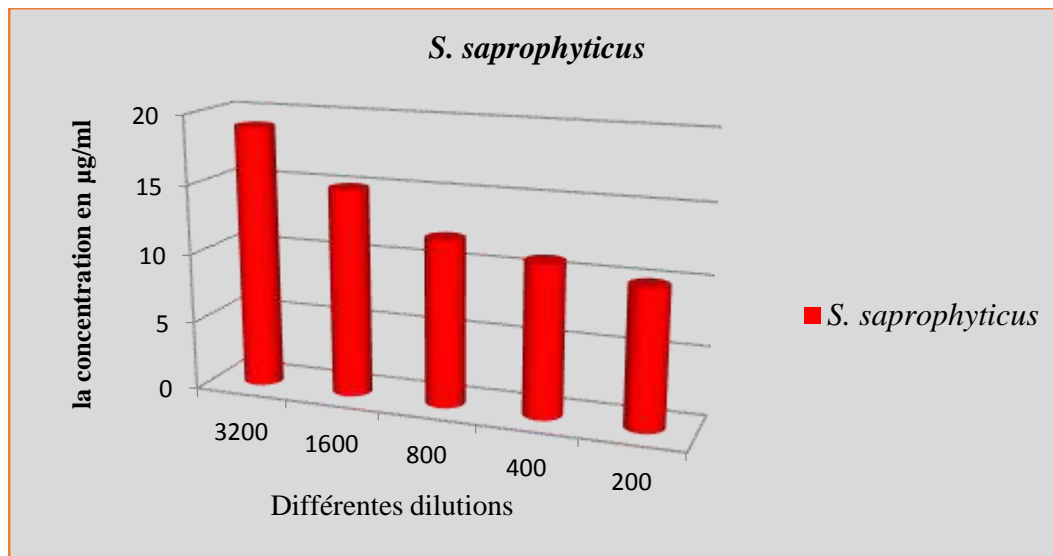
Les zones d'inhibition d'HE de *Rosmarinus officinalis* sur *K. pneumoniae*



ANNEXES

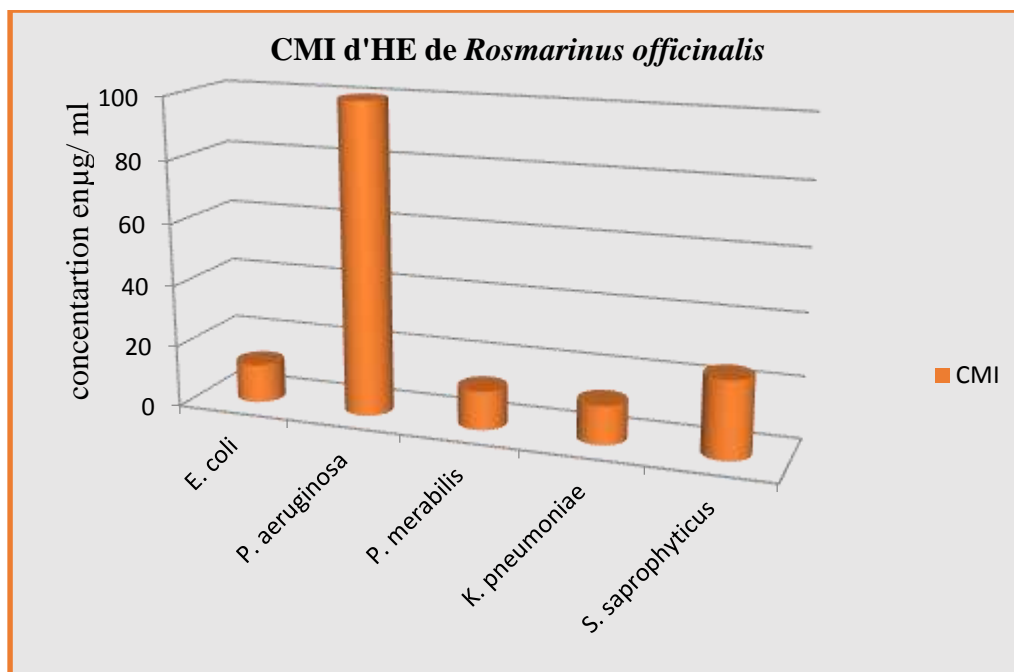
Annexe n°= 05

Les zones d'inhibition d'HE de *Rosmarinus officinalis* sur *S. saprophyticus*



Annexe n°= 06

CMI d'HE de *Rosmarinus officinalis* avec les souches bactériennes.



ANNEXES

Annexe n° = 07

Résultats de l'aromatogramme



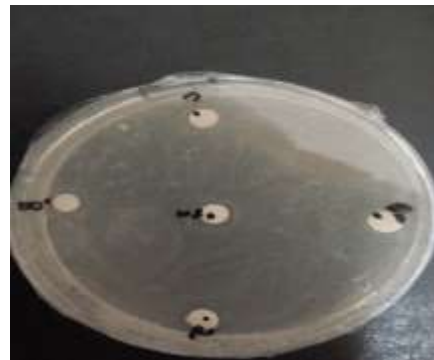
P. mirabilis



E. coli



K. pneumoniae



P. aeruginosa

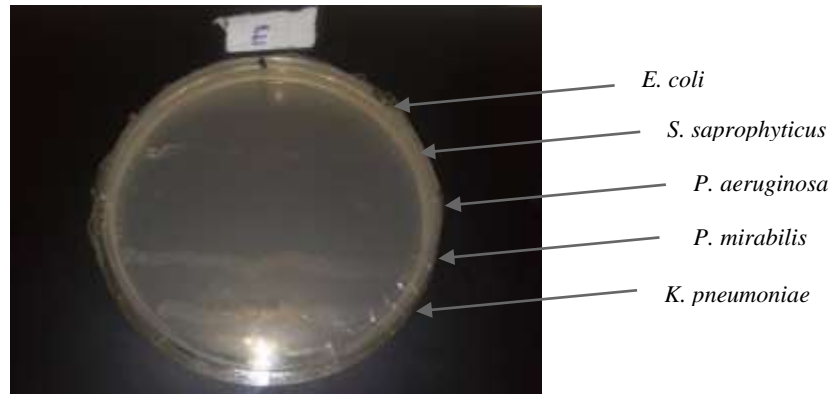


S. saprophyticus

ANNEXES

Annexe n°= 08

Résultats de la CMI



CMI a 100 µg/ml



CMI a 50 µg/ml



CMI a 25 µg/ml

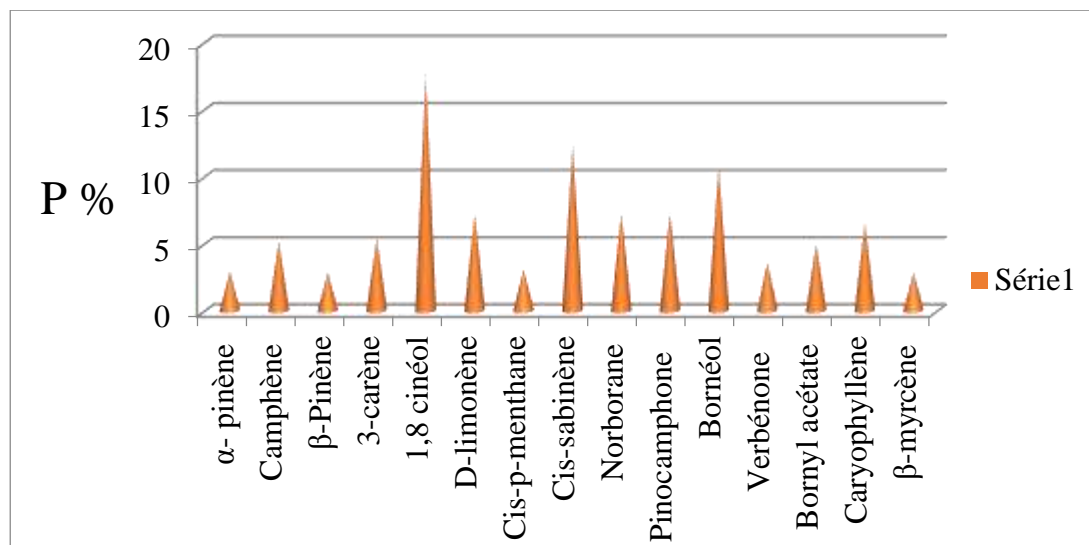


CMI a 12.5 µg/ml

ANNEXES

Annexes n°= 09

Les pourcentage de la composition chimique d'huile essentielle.



Série1: les composants chimiques d'huile essentielle du romarin.

P%: les pourcentages des composants chimiques.

<p>Présenté par: M^{me} Bourita Amel. M^{elle} Boubelli Khadidja.</p>	<p>Encadré par: Dr. Laggoune S.</p>	<p>Membres de jury: M^{me} Benhamada W. M^{me} Bourzama G.</p>
<p>Étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivée à Jijel</p>		
<p>Résumé</p> <p><i>Rosmarinus officinalis</i> est une plante très abondante dans la wilaya de Jijel à l'Est algérien, elle est utilisée en médecine populaire, cosmétique et phytopharmacie. L'extraction d'huile essentielle du romarin a été effectuée par l'hydrodistillation.</p> <p>D'après les résultats obtenus on remarque que ; le rendement de huile essentielle est de l'ordre de 0.6% qui est conforme aux standards international; le composant majoritaire de notre huile est le 1,8 cinéole (17.5%).</p> <p>L'activité de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur les cinq souches bactériennes (<i>Escherichia coli</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Proteus mirabilis</i>, <i>Klebseilla pneumoniae</i>, <i>Staphylococcus saprophyticus</i>) testée par la technique de l'aromatogramme et de la CMI montrent que le pouvoir antibactérien de cette huile est très important.</p> <p>Mots clé: <i>Rosmarinus officinalis</i>, Huile essentielle, Activité antibactérienne, Aromatogramme, 1,8 cinéole.</p>		
<p>Abstract</p> <p><i>Rosmarinus officinalis</i> is a very abundant species in the city of Jijel in the East of Algeria, it is used in popular medicine, cosmetics and phytopharmacy. The extraction of essential oil from rosemary was carried out by hydrodistillation.</p> <p>From the results obtained, it was noted that; The yield of essential oil was in the order of 0.6% which was conformed with international standards, The major component of our oil is the 1,8 cineole (17.5%).</p> <p>The activity of essential oil of <i>Rosmarinus officinalis</i> on five bacterial strains (<i>Escherichia coli</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Proteus mirabilis</i>, <i>Klebseilla pneumoniae</i>, <i>Staphylococcus saprophyticus</i>) tested by the aromatogram and the MIC technique showed that the antibacterial activity of this oil was very important.</p> <p>Key words: <i>Rosmarinus officinalis</i>, Essential oil, Antibacterial activity, Aromatogram, 1,8 cinéole.</p>		
<p style="text-align: right;">ملخص</p> <p><i>Rosmarinus officinalis</i> هونبنة متوفرة في ولاية جيجل شرق الجزائر، حيث تستعمل في الطب البديل مستخلصات التجميل والصيدلة النباتية.</p> <p>تم استخلاص الزيت الأساسي لهذه النبتة عن طريق التقطير بالبخار.</p> <p>من خلال النتائج التي تم الحصول عليها، فإن المردود المتحصل عليه هو 0.6% وهذا الأخير يتوافق مع المعايير الدولية.</p> <p>بعد التحليل الكيميائي لهذا الزيت لاحظنا أن المركب الذي يحتل أكبر نسبة هو 1,8 cinéol (17.56%).</p> <p>نشاط الزيت الأساسي لـ <i>uniramsoR silaniciffo</i> على خمس سلالات بكتيرية (<i>E. coli</i>, <i>P. aeruginosa</i>, <i>P. mirabilis</i>) أظهر فعالية جيدة وذلك من خلال تقنية CMI و <i>Aromatogramme</i>.</p> <p style="text-align: right;">الكلمات المفتاحية:</p> <p><i>Rosmarinus officinalis</i>، الزيت الأساسي، 1,8 cinéol، النشاط المضاد للبكتيريا،</p>		