

Université de Jijel

Faculté des Sciences Exactes et des Science
de la Nature et de La vie

Département de Biologie Moléculaire et
Cellulaire



MB.09/10

جامعة جيجل

كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire De Fin D'études Pour L'obtention du Diplôme Des Etudes Supérieures en Biologie

Option : Microbiologie

Intitulé

1/2

Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de
trois plantes aromatiques « *Lavandula stoechas*, *Juniperus
phoenicea* et *Achillea odorata* » récoltées dans les régions de
Bejaia et de Jijel.

Membres de Jury :

Examineur : M^{me} BENHAMADA W.

Encadreur : M^{lle} BEKKA F.

Présenté par :

M^{lle} AGUIS NASSIMA

M^{lle} BOUMELIT RAFIKA

M^{lle} SAMAH MOUNA.



Année Universitaire : 2009- 2010

Remerciements

- *Nos plus grands remerciements vont avant tous à Dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a toujours guidés vers le bon chemin.*
- *Nous tenons à formuler notre gratitude et notre profonde reconnaissance à l'égard de notre promotrice M^{lle} BEKKA FAHIMA. Pour sa confiance, pour nous avoir proposé et assuré la direction de ce mémoire, et pour tout le temps qu'elle nous a consacré, ses remarques critiques constructives, ses propositions, ses relectures patientes de ce travail, voir pousser dans la conduite de ce mémoire, et aussi pour nous avoir offert un environnement serein et amical pour la réalisation de ce travail.*

En fin pour sa disponibilité, ses conseils, ses expériences et ses encouragements qui nous ont permis de faire de ce mémoire un tout cohérent.

- *Nos remerciements s'entendent aussi aux membres du jury pour avoir accepté de nous consacrer une partie de leur temps, afin d'examiner et de juger notre travail.*

Sans oublier de remercier le personnel du laboratoire de Microbiologie.

Dans le souci de n'oublier personne, que ceux qui nous ont aidé de près ou de loin, trouvent dans ces lignes l'expression de notre gratitude.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents,

A toute ma famille,

A tout mes amies,

*A tout mes enseignants de Biologie Moléculaire et Cellulaire
particulièrement, M^{lle} Bekka Fahima*

Toute la promotion 4^{ème} année Microbiologie.

AGUIS Nassima

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À mes très chers parents,

À ma famille,

À toutes mes amies particulièrement Ratiba

*À tous mes enseignants de Biologie Moléculaire et Cellulaire
particulièrement, M^{lle} Bekka F.*

Et à tous ceux qui me sont chers.

SAMAH Mouna

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents,

A toute ma famille,

A toute mes amies,

*A tout mes enseignants de Biologie Moléculaire et Cellulaire
particulièrement, M^{lle} Bekka F.*

A Toute la promotion 4^{ème} année Microbiologie.

BUOMELIT Rafika

Sommaire

Introduction.....	01
-------------------	----

1^{ère} Partie : partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles

I-1- Définition.....	02
I-2- Localisation	02
I-3- Les propriétés des huiles essentielles	02
I-3-1- Les propriétés physiques des huiles essentielles.....	02
I-3-2- Les propriétés majeurs des huiles essentielles	03
I-3-2-1-Activité antivirale	03
I-3-2-2-Activité et propriétés antimicrobienne	03
I-3-2-3-Agents naturels pour la conservation des aliments.....	04
I-4-Composition chimique des huiles essentielles	04
I-4-1-Terpénoïdes.....	05
I-4-1-1-Monoterpènes	05
I-4-1-2-Sesquiterpènes	05
I-4-2-Composés aromatique.....	06
I-4-3-Composés d'origines diverses.....	07
I-5-Les huiles essentielles et les huiles végétales	07
I-6-Facteur de variabilités des huiles essentielles	07
I-7-Extraction et conservation des huiles essentielles	08

Chapitre II : Généralités sur les genres *Lavandula*, *Achillée* et *Juniperus*

II-1- Les plantes médicinales	09
II-2-Genre <i>Lavandula</i>	09
<i>Lavandula stoechas</i>	10
II-3-Genre <i>Achillée</i>	11
<i>Achillea odorata</i>	11
II-4-Genre <i>Juniperus</i>	12

<i>Juniperus phoenicea</i>	13
----------------------------------	----

2^{ème} Partie : Matériel et Méthodes

II-1-Matériel végétal.....	15
II-1-1-Echantillonnage	15
II-1-2- Identification des plantes	15
II-1-3-Séchage	15
II-2-Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation	15
II-3-Analyse chimique des huiles essentielles par GC/MS (Chromatographie Phase Gazeuse couplée au Spectrophotomètre de Masse	16
II-4-Activité antibactérienne	17
II-4-1- Les souches bactériennes.....	17
II-4-2-Préparation de la suspension bactérienne initiale	18
II-4-3- Aromatogramme sur milieu solide	18
II-4-3-1- Préparation des dilutions des huiles essentielle.....	18
II-4-3-2- Evaluation de l'activité antibactérienne des différentes dilutions des huiles essentielles.....	19

3^{ème} Partie : Résultat et discussions

III- 1- Caractéristiques et propriétés des huiles essentielles obtenues	20
III-1-1-Aspect des huiles essentielles obtenues.....	20
III-1-2-Contrôle de la stérilité des huiles essentielles	20
III-1-3- Rendement en l'huile essentielle.....	20
III-2- Détermination de la chimique des huiles essentielles par GC/MS	21
III-3-Activité antibactérienne	21
III-3-1- Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Lavandula stoechas</i> , <i>Juniperus phoenicea</i> , et <i>Achillea odorata</i> sur milieu solide	22
III-3-1-1- Effet de Diméthylsulfoxyde sur les souches testes	22
III-3-1-2- Effet de différentes dilutions de l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i> sur les souches testes	22
III-3-1-3- Effet de différents dilutions de l'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i> sur les souches testes.....	26

III-3-1-4- Effet de différentes dilutions de l'huile essentielle d' <i>Achillea odorata</i> sur les souches testées	27
III-3-2-Comparaison d'effet des huiles essentielles de <i>Lavandula stoechas</i> , <i>Juniperus phoenicea</i> et d' <i>Achillea odorata</i>	28
III-3-3- Activité bactéricide ou bactériostatique des huiles essentielles diffusibles sur milieu solide	28
Conclusion	30

Références bibliographiques

Glossaire

Annexes

Liste des tableaux

Tableau I : Composition de Monoterpene	Annexe B
Tableau II : Exemples de famille et d'espèces riches en huiles essentielles	09
Tableau III : Caractéristiques et origines des souches testes.....	17
Tableau IV: Résultats de la coloration de Gram des six souches teste.....	Annexe B
Tableau V : Les couleurs de différentes huiles essentielles obtenues par hydrodistillation ...	20
Tableau VI : Longueurs d'ondes maximales et nombre d'UFC/ml de chaque suspension bactérienne initiale	22

Liste des figures

Figure 01 : Structure de base des terpènes	Annexe A
Figure 02 : Exemple de structure de sesquiterpènes	Annexe A
Figure 03 : Exemple de composées aromatiques	Annexe A
Figure 04 : Méthode des disques	19
Figure 05 : Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i> sur <i>S.aureus</i>	23
Figure 06 : Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i> sur <i>S. aureus Str'</i>	24
Figure 07 : Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i> sur <i>E.coli</i>	24
Figure 08 : Photos montrant l'activité antibactérienne des huiles essentielles non diluées de <i>Lavandula stoechas</i> (L), <i>Juniperus phoenicea</i> (JP) et <i>Achillea odorata</i> (A) sur <i>K.pneumonia</i> (K) et <i>P.aeruginosa</i> (P).....	25
Figure 09 : Diamètres des zones d'inhibitions de différentes dilutions de l'huile essentielle de <i>Juniperus phoeniceae</i> sur <i>S.aureus</i> (S)	26
Figure 10 : Diamètres des zones d'inhibition des différentes dilutions de l'huile essentielle de <i>Juniperus phoeniceae</i> sur <i>S.aureus</i> (Str').....	26
Figure 11 : Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle d' <i>Achillea odorata</i> sur <i>Saureus</i>	27
Figure 12 : Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle d' <i>Achillea odorata</i> sur <i>S.aureus</i> (Str')	28

Liste des abréviations

C.P.G : Chromatographie Phase Gazeuse

D.M.S.O : Diméthylsulfoxyde

GC-MS : Chromatographie Gazeuse couplée à un Spectrophotomètre de Masse

G.R.A.S: Generally Recognized As Safe

H.E: Huile Essentielle

I.K : Indice de Kovats

O.M.S : Organisation Mondiale de la Santé

P.C.R : Polymer Chain Reaction

S : *Staphylococcus aureus* **Sensible** à la méticilline

Str' : *Staphylococcus aureus* **Résistante** à la méticilline

S.M: Solution Mère

Introduction

Introduction

Depuis la nuit des temps, les Hommes apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours à leurs propriétés curatives. A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales (Iserin, 1996,2001).

A ce jour, plus de 1000 espèces de plantes différentes sont utilisées à des fins thérapeutiques, et de nombreux médicaments et produits de soin sont élaborés à partir de leurs principes actifs. L'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S) considère que dans de nombreux pays peu développés, les plantes et leurs composants représentent la première source de remèdes (Beloued, 2005). En Algérie, la médecine traditionnelle, ainsi pratiquée, trouve un accueil favorable au près des populations (Beloued, 2005 ; Kothe et Hans, 2007).

A la fin du 19^{ème} siècle, plusieurs travaux scientifiques relataient de l'action antiseptique de plusieurs huiles essentielles. L'aromatogramme est la méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles essentielles et plusieurs huiles essentielles ont montré un pouvoir antibactérien élevé (Daniele ,2007).

Dans notre travail, nous étudierons l'activité antibactérienne des huiles essentielles de trois plantes aromatiques qui sont : *Lavandula stoechas*, *Juniperus phoenicea* et *Achillea odorata*, récoltés dans les régions de Bejaia et Jijel.

La présente étude s'intéresse à l'évaluation de l'effet antibactérien des huiles essentielles de trois plantes aromatiques sur six souches bactériennes pathogènes : *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, *Bacillus subtilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

Notre travail est scindé en trois parties : la première partie qui est la partie bibliographique, dans la quelle sont abordées des généralités sur les huiles essentielles et des généralités sur les genres *Lavandula*, *Achillé* et *Juniperus*, la deuxième partie matériel et méthodes qui illustre les différentes étapes suivies à savoir la préparation du matériel végétal, extraction des huiles essentielle et évaluation de leurs activité antibactérienne par la méthodes des disques. En fin, la troisième partie qui comporte les résultats obtenus.

*1^{ère} Partie : Partie
Bibliographique*

*Chapitre I : Généralités sur
les huiles végétales*

I-Généralité sur les huiles essentielles

I-1- Définition

Une huile essentielle est la fraction odorante volatile extraite des végétaux. C'est le parfum concrétisé de la plante (Daniele, 2007). Elles sont des composés liquides, en générale insolubles dans l'eau mais totalement solubles dans les alcools, dans les éthers et dans les huiles végétales et minérales. En général, elles ne sont pas grasses au toucher. Les huiles essentielles peuvent être regroupées en cinq classes : Les alcools, les ester les aldéhydes, les lactones et les oxydes.

Selon la définition de la Norme Française AFNOR NF75-006, « une huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir des citrus, soit par distillation à sec ». L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques (Bruneton, 1999).

I-2-Localisation

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs bien sur (bergamotier, tubéreuse...), mais aussi feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier) et bien que cela soit moins habituel : dans des écorces (cannelier), des bois (bois de rose, santal), des racines (vétiver), des rhizomes (curcuma), des fruits (tout-épices...), des grains (muscade...) (Bruneton, 1999).

En fonction de l'organe producteur employé, le nom de l'huile essentielle diffère, par exemple : l'oranger amer (*Citrus aurantium var.amara*), les feuilles donnent de l'huile essentielle de la petite graine de bigarade (ou bigaradier), les fleurs de l'huile essentielle de néroli et le zeste de l'essence d'oranger (Danièle, 2007).

Les huiles essentielles sont élaborées au sein du cytoplasme de certaines cellules, elles s'en séparent par synérèse, sous forme de petites gouttelettes qui confluent ensuite en plages plus ou moins étendues) (Paris, 1967 ; Arctandr, 1969).

I-3- Propriétés des huiles essentielles

I-3-1- Propriétés physique des huiles essentielles

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

- les huiles essentielles sont liquides (Daniele, 2007 ; Bruneton, 1999) ;
- les huiles essentielles sont volatiles (Bruneton, 1999) ;

- chaque huile essentielle est unique, possède son odeur et ses caractéristiques spécifiques (Daniele, 2007) ;
- certaines sont particulièrement épaisses (visqueuses) ;
- elles ne sont que très rarement colorées, en général, elles sont de couleur jaune, mais certaines se distinguent : l'huile essentielle de camomille allemande est bleue, celle de sarriette est rouge, la bergamote est d'un très joli vert pâle, l'inule est vert émeraude...une belle palette de couleurs (Bruneton, 1999 ; Daniele, 2007) ;
- leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elles ne se mélangent pas à l'eau (Bruneton, 1999 ; Daniele 2007).

I-3-2- Les propriétés majeures des huiles essentielles

Elles sont extrêmement anti-infectieuses, et anti-virales ce sont les seules alternatives aux antibiotiques, et elles ont largement fait la preuve de leur efficacité dans ce domaine. Mais leurs aptitudes couvrent des domaines bien plus larges : elles sont anti-douleur, cicatrisantes, anti-hémorragiques, digestives, elles régulent l'immunité, les hormones, elles déstockent les graisses et renforcent les vaisseaux sanguins (Daniele, 2007).

I-3-2-1- Activité antivirale

Dans 8 cas sur 10, les grandes maladies génératrices de prescription d'antibiotique sont dues à des virus. Les antibiotiques sont encore souvent prescrits de façon abusive, et dans ce cas alors ils sont totalement inutiles contre les virus. Cependant, le traitement avec les huiles essentielles contribue à la lutte contre cette infection virale, et de ce fait empêchera les surinfections. Par exemple le traitement de la grippe ou le rhume (deux maladies virales), évitera leurs dégénérescence en bronchite ou en sinusite (deux maladies bactériennes) (Daniele, 2007).

I-3-2-2- Activités et propriétés antimicrobiennes

- ☞ Dans le sang, les huiles essentielles sont efficaces par voie orale à des concentrations cinquante fois moindres que celles des antibiotiques ;
- ☞ Les huiles essentielles stoppent la prolifération des germes nocifs tout ralentissant une influence positive sur la réponse immunitaire (Daniele, 2007) ;
- ☞ Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs ;
- ☞ Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines. (Stéphane et Monique, 2002).

☞ Pour les levures, elles agissent sur la biomasse, et la production du pseudomycélium. Alors qu'elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxine chez les moisissures (Stéphane et Monique, 2002).

☞ Certaines huiles essentielles sont également actives sur des champignons responsables de mycose (Bruneton, 1999) ;

☞ Le carvacrol et l'eugénol, deux composants phénoliques d'huiles essentielles, appliqués dans le traitement de la candidose, réduisent significativement le nombre de levures présentes dans la cavité buccale des animaux traités pendant huit jours consécutif (Chami, 2004).

I-3-2-3- Agents naturels pour la conservation des aliments

Les effets antimicrobiens de différentes espèces d'herbes et d'épices sont connus depuis long temps. Ainsi, les huiles essentielles et leurs composants, actuellement employés comme aromes alimentaires sont également connus pour leurs activités antimicrobiennes et qui pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaires, et ce d'autant plus qu'ils sont généralement reconnus comme sains (GRAS). De ce fait, elles sont autorisées dans les aliments, cependant des études préalables sont nécessaires afin de mieux cerner leur activité antimicrobienne (Stéphane et monique, 2002)

1-4-Composition chimique des huiles essentielles

Il ya plus de 200 substances actives différentes dans chaque huile essentielle, des alcools, des éthers, des terpènes, des acétates, des cétones, des phénols...C'est l'ensemble qui lui confère ses propriétés, et non pas seulement un tel principe actif. Les constituants (mineurs) ne sont donc pas mineurs (Daniele, 2007).

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

mentone (19%) ceux de l'huile essentielle de *Mentha piperita*. Ces composants majeurs déterminent, généralement, les propriétés biologiques des huiles essentielles (Bakkali *et al.*, 2008).

Ces constituants appartiennent à deux groupes distincts :

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

I-4-1-Terpénoïdes

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

Les terpènes peuvent être considérés comme des dérivés de l'isoprène (figure 01, Annexe A) : ce sont des *isoprénoïdes* (Guignard, 2000).

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue : les terpènes proprement dits ou *monoterpènes* en C₁₀, les *sesquiterpènes* en C₁₅, les *diterpènes* en C₂₀, les *triterpènes* (C₃₀) (ex. *stéroïdes*), les *tetraterpènes* (C₄₀) (ex. *caroténoïdes*), et les *polyterpènes* (Guignard, 2000 ; Liao *et al.*, 2006).

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

I-4-1-1-Monoterpènes

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

I-4-1-2-Sesquiterpènes

Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédent, carbures, alcools, cétones étant les plus fréquents (Bruneton, 1999). Ces constituants importants des huiles essentielles, trouvent beaucoup d'applications dans le domaine médical, mais également rentrent dans les formulations de savon et de parfum (Merfort, 2002). Sur la figure 02, quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles : carbures mono- ou

polycycliques (β -bisabolène, β -caryophyllène, longifolène). Alcools (farnésol, carotol, β -santalol, patchoulol), cétones (nootkatone, *cis*-longipinane-2,7-dione, β -vétivone), aldéhydes (sinensals), esters (acétate de cédryle) (Bruneton, 1999).

Un autre type de terpénoïdes, ou le groupement méthyle d'isopropyle est oxydé en groupement lactone (Merfort, 2002), les lactones sesquiterpéniques (figure 2, Annexe A), est surtout connu chez les *Asteraceae* (où ces lactones sont diversifiés et utiles pour la taxonomie), mais on le trouve dans quelques autres familles, comme les *Apiaceae*, les *Magnoliaceae* et les *Lauraceae* (Judd *et al.*, 2002). Ces composés sont intéressants non seulement en point de vue chimique et chimiotaxonomique, mais également parce qu'un nombre important d'entre eux possède des activités biologiques et thérapeutiques (propriétés anti-inflammatoires, antitumorales, antimicrobiennes, etc.) (Merfort, 2002).

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

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

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

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

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

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

I-4-2-Composés aromatiques

Les phénylpropanoïdes sont beaucoup moins fréquents que les précédents, mais quelques plantes peuvent en avoir des proportions significatives. Le terme "phénylpropanoïdes" se rapporte à des composés avec une chaîne à trois carbone liée à un anneau aromatique de six

carbones. Les phénylpropanoïdes dérivent principalement de la phénylalanine synthétisé par la voie métabolique de shikimate, qui est spécifique des micro-organismes et des plantes (Calsamiglia *et al.*, 2007).

Ce sont très souvent des allyl- et propénylphénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'*Apiaceae* (anis, fenouil, persil, etc. : anéthole, anisaldéhyde, etc.), mais aussi des cellules de girofle, de la muscade, de l'estragon, du basilic, de l'acore ou des cannelles (eugénol, safrole, asarones, cinnamaldéhyde, etc.). On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en C₆-C₁ comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'anthranilate de méthyle (figure 03, Annexe A) (Bruneton, 1999).

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

I-4-3-Composés d'origines diverses

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

I-5-Les huiles essentielles et les huiles végétales

Malgré leurs noms assez proches, les unes n'ont strictement rien à voir avec les autres. Elles n'ont pas la même composition ni les mêmes propriétés. Les huiles végétales ne se volatilisent pas. N'ont pas d'odeur ou presque, alors que les huiles essentielles contiennent des odeurs spécifiques, c'est pourquoi il faut refermer soigneusement le flacon tout de suite après utilisation. Contrairement aux huiles végétales, les huiles essentielles ne laissent pas de traces de graisses sur le papier. Les deux sont complémentaires : elles fonctionnent très bien ensemble puisqu'il est conseillé de diluer les huiles essentielles dans de l'huile végétale, surtout pour une utilisation externe (application sur la peau ou les muqueuses, bain) (Daniele, 2007).

I-6-Facteur de variabilités des huiles essentielles

Le rendement et la composition de l'huile essentielle sont fortement influencés par la méthode d'extraction (Bendahou *et al.*, 2007). Le profil chimique des huiles essentielles produites diffère en nombre de molécules mais aussi en type stéréochimique des molécules extraites ; la comparaison de la composition de l'huile essentielle de lavande produite par la

méthode des gaz supercritiques d'une part et par hydrodistillation d'autre part montre des différences majeures entre les deux produits, notamment dans la composition en acétate linalyl trouvée à des taux respectifs de 34,7% et de 12,1%. Cette différence peut être attribuée à l'hydrolyse d'une partie de ce composé durant l'hydrodistillation (Reverchon *et al.*, 1995). D'autre part le but d'utilisation est déterminant dans le choix de la méthode d'extraction.

Le produit d'extraction peut varier également en qualité, en quantité et en composition en fonction (Bakkali, 2008) du matériel génétique (Sartoratto *et al.*, 2004), des conditions climatiques (Baydar *et al.*, 2004), géographiques (Viljoen *et al.*, 2004; Van Vuuren *et al.*, 2007), saisonnières (Jordán *et al.*, 2006; Van Vuuren *et al.*, 2007), la période de cycle végétatif (Hudaib *et al.*, 2002 ; Rasooli et Mirmostafa, 2003), la période de moisson (variation journalière) (Angelopoulou *et al.*, 2001) et la nature de l'organe végétal (Vokou et Margaris, 1986 ; Eyob *et al.*, 2007).

I-7-Extraction et conservation des huiles essentielles

L'hydrodistillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est portée à ébullition, dans beaucoup de cas l'appareil utilisé est de type Clévenger. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide. Les huiles essentielles se séparent par différence de densité (décantation), la phase huileuse ainsi récupérée est séchée avec du sulfate de sodium anhydre puis conservée à 4°C jusqu'à utilisation. (Bruneton, 1999 ; Scheffer, 1996 ; Bendahou *et al.*, 2007).

L'instabilité des molécules constitutives des huiles essentielles rend sa conservation difficile. Les possibilités de dégradation sont nombreuses photoisomérisation, photocyclisation(citral), coupure oxydatives de propénylphénylphénols, peroxydation des carbures et décomposition en cétones et alcools(limonène), thermoisomérisation (citral),etc. Ces dernières sont facilement objectivées par la mesure des indices (peroxyde, réfraction...), la détermination des caractères physiques (viscosité, mixibilité à l'alcool, pouvoir réfractaire...) et l'analyse par Chromatographie Phase Gazeuse.

IL possible de limiter ces dégradations en utilisant des flacons de faible volume en aluminium, en acier inoxydable ou en verre brun, entièrement remplis et fermés de façon étanche, stockage à des basse températures, conservation sous atmosphère d'azote...(Bruneton, 1999).

*Chapitres II : Généralités
sur les genres Lavandula,
Achillée et Juniperus*

II-1- Les plantes médicinales

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

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

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

Le tableau ci-dessous indique quelques familles de plantes riches en huiles essentielles et des exemples d'espèces appartenant à ces familles (Chmidit, 2007).

Tableau II : Exemples de famille et d'espèces riches en huiles essentielles (Chmidit, 2007).

Familles	Espèces
<i>Lamiaceae</i>	<i>Lavandula augustifolia</i> , <i>Lavandula stoechas</i> , <i>Melissa officinalis</i>
<i>Asteraceae</i>	<i>Achillea millefolium</i> , <i>Artimesia vulgaris</i> , <i>Matricaria chomomilla</i>
<i>Liliaceae</i>	<i>Allium sativum</i>
<i>Rutaceae</i>	<i>Citrum limon</i>
<i>Plantaginaceae</i>	<i>Plantage lanceolata</i>

II-2-Genre *Lavandula*

La lavande est une plante médicinale, son nom dérive du mot latin Lavar ou purifier (Beloued, 2005), à feuilles persistantes et à fleurs bleues ou violettes en épi (Legrain et al.,

1993). La lavande est une plante aux propriétés apaisantes. Plus réputée pour son parfum délicat que pour ses vertus thérapeutiques (Kothe et Hans , 2007).

Lavandula Stoechas

Nom Botanique : *Lavandula Stoechas*

Nom locaux : en Arabe الخزامى Khozama

Nom vernaculaires : Halhel, halhal et djebel, Melarga, askat houdouss, amezzir, imzir, hamsdir, tizirt.

Classification botanique

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Embranchement : Angiosperme

Classe : Eudicotyles

Sous classe : Asteridées

Ordre : Lamiales

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Lavandula*

Espèce : *Lavandula stoechas*

Description

Sous-arbrisseau commun dans tout le tell algérien, se présentant en souches ou touffes ligneuses. L'inflorescence en forme d'épis, brièvement pédonculée, est surmontée de grandes bractées stériles membraneuses de coloration bleu violette. Les fleurs placées à l'aisselles de bractées larges, rhomboïdales, de coloration violet pourpre la corolle est pourpre noirâtre (Mahmoudi, S.D.



chamidit, 2007) mesurant 1 cm et demi à 2cm de longueur sur 5mm de largeur (Mahmoudi, S.D.

Habitat et culture

Originaire de France et de l'Ouest du bassin méditerranéen, la lavande est cultivée par tout dans le monde, comme plante ornementale et pour son essence. Elle se multiplie par semis ou par boutures dans un endroit très ensoleillé (Iserin, 1996, 2001).

Principaux constituants

Même composition que la lavande vraie dans les proportions différentes ; c'est -à-dire : acétate de linalyle, coumarine, géranyle, tanin, saporine, hétéroside, riche en acides (Beloued, 2005).

Parties à utiliser

Sommités fleuries (Beloued, 2005).

Conservation

Se fait sécher à l'ombre, à l'abri de la lumière et de la poussière ou distillée pour en extraire les huiles essentielles. Se conserve sous forme d'huile, de crème, de teinture ou de tisane (Beloued, 2005).

Propriété thérapeutiques et usage

Pectorale, stomachique, antispasmodique, sédative, anxiété nervosité, diaphorétique, tonifie le cœur et enrichit la matière grise (Beloued, 2005).

La lavande possède des principaux effets (favorise l'expulsion des gaz, soulage les contractions musculaires, antiseptique et antibactérien, antioxydant). Utilisée comme teinture contre l'insomnie et un massage contre la migraine (huiles essentielles à ce dernier est appliquer aussi sur les piqûres d'insectes (Iserin, 1996, 2001).

Composition chimiques

L'huile de lavande constitue le plus souvent de linalool, linalyl, acétate, 1,8-cineole, B-ocimene tepinen-4-ol et le comphor (Cavanagh et Wilkinson, 2002).

II-3-Genre Achillée*Achillea odorata***Classification**

Règne : Plantae

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : *Achillée*

Description

Achillea odorata présente des tiges très hautes, droites, cylindriques, pubescences, point fillonnées, garnies de feuilles deux fois ailée pubescents presque tomenteuses ; les découpures distantes, étroites, linéairesm obtuses, à peine dentées, les feuilles supérieurs simplement pinnaticide, les fleurs jaunâtres, les demis fleurons peu nombreuse (Lamarch et Poirer, SD).



Habitat

Cette plante est odorante, elle croit en suisse, en Allemagne, dans les départements méridionaux de la France.

Parties utilisées

La plante entière, sans les racines

Propriété thérapeutique

Les domaines traditionnels de l'utilisation de l'herbe aux charpentiers étaient multiples. Ils allaient des saignements de nez aux céphalées, maux de ventre et douleur dentaires en passant aux calculs rénaux (Chmidit, 2007).

Principaux constituants

L'Achillée renferme plus d'une certaine de composés chimiques connus, les plus intéressants sont les lactones qui sont présents dans une huile essentielle. D'autre constituants sont également détectés tels chamazulène, les tannis, le menthol, le camphre, les stérol es et les triterpènes (Ernest et *al.*, 2000).

II-4- Genre *Juniperus*

Le genévrier commun était employé en herboristerie traditionnelle pour traiter divers maux, comme l'arthrite, les coliques, les cancers, les maladies vénérienne, les vers et les verrues (Ernest et *al.*, 2001).

Juniperus phoeniceae

Nom locaux : en Arabe El-Arra Arra المر عار

Le genévrier de phénicie (araar) est une plante appartenant à la famille des cupressaceae. C'est un arbre branchu pouvant atteindre 8 mètres de hauteur, possédant un tronc court qui peut atteindre 2 mètres de circonférence. La floraison a lieu pendant l'hiver et la fructification à la fin de l'été de l'année suivante. A maturité, les fruits sont bruns rouges et luisants (Akrouf, 2007)

Classification

Règne : Plantae

Division : Pinophyta

Classe : Pinopsida

Ordre : Pinales

Famille : *Cupressaceae*

Genre : *Juniperus*

Espèce : *Juniperus phoenicea* L.

Description

Le genévrier de phénicie est un arbrisseau ou un petit arbre à port conique, ramifié des la base :

Ecorce : brun cendré et fibreuse, elle est fortement fissurée et se détache en bandes.

Les fleurs : mesurant 1mm, elles sont persistantes, en écailles ovales, creusées d'un sillon et pourvues d'une petite glande arrondie.

Fleurs : apparaissent en février, les fleurs males sont des cônes.

Cônes : mesurant de 6 à 15mm, ils sont globuleux, luisants, d'abord verts, ils prennent une couleur brun orange et parviennent à maturité en deux ans (Belot, 2007).

Habitat

Arbuste typiques et commun des rivages méditerranéens, il se rencontre du Portugal au proche, oriente, mais aussi en Afrique du Nord. En France, il vit dans quelques stations des Alpes du sud, du Languedoc, du Roussillon et des Cévennes jusqu'à 1300 mètre (Belot, 2007).

Principaux constituants

Cadinène, terpène, camphène.

Partie à utiliser

Les baies et le bois.

Conservation

Les baies doivent être molles et odorantes et consommées fraîches de préférence, le bois est séché (Delille, 2007).

Propriété thérapeutique et usage

Cette espèce est très utilisée en médecine traditionnelle : les feuilles sont utilisées sous forme de décoction pour soigner le diabète, diarrhée et rhumatisme alors que les fruits séchés et réduits en poudre peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès (Akrouf, 2007). *Juniperus phoenicea* présente plusieurs activités biologiques, il est antibactérien, anti-inflammatoire, antiviral, expectorant, sédatif, herbicide, insectifuge, aromatisant (Duke, 1998).

*2^{ème} Partie Matériel et
Méthodes*

II- 1- Matériel végétal

II-1-1-Echantillonnage

Les parties aériennes de trois plantes médicinales sont cueillies en mois Décembre pour *Juniperus phoeniceae*, en mois de Mars pour *Lavandula stoechas* et en mois de Mai 2010 pour *Achillea odorta*. La cueillette est effectuée par temps sec et non orageux, après le lever du soleil et la disparition de la rosée (9h00-12h00) à l'aide d'un sécateur.

II-1-2-Identification des plantes

L'identification des plantes a été faite au laboratoire de Physiologie Végétale et d'Ecologie à l'Université de Bejaia et de Jijel.

II-1-3- Séchage

Après cueillette des parties aériennes, débarrassées de la poussière et d'éventuelles impuretés ont été utilisées.

Les parties aériennes (feuilles, tiges et fleurs) de trois plantes, sont séchées soit en les étalant de façon homogène, c'es le cas pour *Lavandula stoechas*, *Achillea odorata*, soit par suspension, *Juniperus phoenicea*.

Le séchage est effectué à la température ambiante et durant toute la période de séchage, les parties aériennes sont retournées régulièrement et ce afin d'avoir un séchage homogène.

II-2- Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

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

- ∅ Un ballon monocol (capacité d'un litre), dans lequel sont introduites la matière végétale et l'eau distillée ;
- ∅ La colonne, un cylindre en verre placé au dessus du réacteur qui recueille la phase vapeur ;
- ∅ Le réfrigérant dans lequel se condensent les vapeurs ;
- ∅ Un décanteur qui permet la séparation entre la phase organique (huile essentielle) et la phase aqueuse (eau florale).

L'extraction de l'huile essentielle à été réalisée par hydrodistillation de trois échantillons dans un appareil de type Clevenger.

Environ 50 g de chaque plante sèche ont été mis en contact avec 500 ml d'eau distillée, le tous est introduit dans un ballon de 1 litre qui est placé dans un chauffe ballon réglé au maximum. Les vapeurs chargées d'huile essentielle (distillat), en traversant le réfrigérant se

condensent et chutent dans le décanteur qui se trouve juste en dessous du réfrigérant. Après 3 heures, l'hydrodistillation est arrêtée.

Le distillat récupéré est formé de deux phases, une phase aqueuse majoritaire et quelques gouttes formant la phase huileuse claire surnageante. Après un certain temps de décantation, la phase huileuse est récupérée par micropipette puis conservée à 4 °C dans des flacons teintés scellés hermétiquement jusqu'à utilisation.

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

$$R = M.h.e / M.m.v.s$$

M.h. e (g) : masse d'huile essentielle.

M.m.v.s (g) : masse de la matière végétale sèche.

R% : rendement en huile essentielle.

Un nettoyage de dispositif avec de l'éthanol absolu suivi d'un rinçage à l'eau distillée est effectué après chaque utilisation et cela afin d'éviter la contamination de l'huile par les traces d'huile essentielle restant des l'autres plantes (Gachkar et *al.*, 2006).

II-3- Analyse chimique des huiles essentielles par GC/MS (Chromatographie Phase Gazeuse couplée au Spectrophotomètre de Masse)

Les analyses GC/MS ont été réalisées à l'aide d'un chromatogramme associée à un spectrophotomètre de masse (Appareil : GCMS Shimadzo QP 2010). La température de l'injecteur est de 250°C, la température de four a été programmée de 55°C (3min) à 120 °C, avec une augmentation 3min/°C, suivi d'une stabilisation à cette même température pendant 5min, puis une augmentation de 5 °C/min jusqu'à une température de 180°C (le temps nécessaire pour le chromatogramme est d'environ (40 min). L'Hélium est le gaz de combustion avec un flux de 1,4 ml/min. L'injection de 1µl de l'huile essentielle est opérée à travers un injecteur diviseur. Les spectres de la masse ont été enregistrés à 70 eV d'énergie électronique).

Les composés sont identifiés en outre, par comparaison des temps de rétentions relatifs du GC et les spectres de masse avec ceux des substances authentiques analysées sous les mêmes conditions ainsi que par comparaison de leurs indices de kovats (IK) avec ceux des composants de références. Le pourcentage de chaque composé au sein de l'huile est déterminé à partir des aires des pics.

II-4-Activité antibactériennes

II-4-1-Les souches bactériennes

Six souches bactériennes : trois Gram positif (*Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline (Sa), *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (Str'), *Bacillus subtilis*) et trois Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Pseudomonas aeruginosa*) ont été choisies pour leur pathogénicité (tableau IV, Annexe B). La plupart d'entre elles ont été choisies parmi les plus résistantes et qui sont souvent incriminées dans les infections nosocomiales.

Les souches bactériennes appartiennent à la collection du Laboratoire de Biochimie microbienne, Université de Bejaia. Les caractéristiques et l'origine de chaque souche sont reportées sur les tableaux III.

Tableau III : Caractéristiques et origines des souches testées

Souches	Origine	Résistance aux antibiotiques
<i>Staphylococcus aureus</i> (Sa)	Souche de référence (ATCC)	Souche sensible
<i>Staphylococcus aureus</i> (Str')	Souche de référence (ATCC)	Souche résistante à la méticilline
<i>Bacillus subtilis</i>	Souche de référence (ATCC)	Souche sensible
<i>Escherichia coli</i>	Souche de référence (ATCC)	Souche sensible
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Hôpital (urine)	Souche productrice de β -lactamase à spectre élargie (BLSE)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Souche de référence (ATCC)	Souche sensible

II-4- 2- Préparation de la suspension bactérienne initiale (inoculum)

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

Une longueur d'onde maximale de 580 nm (Rasooli et Mirmostafa, 2003) pour la souche à tester est introduite dans le spectrophotomètre et une suspension bactérienne initiale correspondant à une absorbance de 0,6 est préparée.

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

II-4-3-Aromatogramme sur milieu solide (méthode des disques)

En 1949, les principes de l'aromatogramme furent mis au point par Schroeder et Messing à l'instar de ce qui se fait avec des antibiotiques sur un antibiogramme, ils mesurent les zones d'inhibition autour de disques de buvard imprégnés d'huiles essentielles déposés au sein d'une colonie bactérienne. Ils sont considérés comme les pères fondateurs de l'aromatogramme moderne.

L'aromatogramme (étymologie du Grec arôma et du latin aroma signifiant « arôme », et du Grec gramma signifiant « lettre » « écriture ») est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles essentielles (Belaiche, 1979). Cet examen est donc l'équivalent d'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des huiles essentielles. La signification et l'interprétation d'un aromatogramme est la même qu'un antibiogramme. Différents types d'aromatogramme, milieu solide, liquide ou gazeux, sont exploitables (Hammer, 1990).

II-4-3-1-Préparation des dilutions des huiles essentielles

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

- Un écouvillon stérile trempé dans une suspension bactérienne à 10^8 UFC/ml (Rasooli et Mirmostafa, 2003) sert à ensemercer des géloses Mueller-Hinton coulées dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre avec une épaisseur d'au moins de 4mm (Belaiche, 1979) ;
- Des disques de papier Whatman N°01 stériles, déposés sur les géloses de Mueller Hinton préalablement ensemençées, sont imprégnés avec 5µl de diméthylsulfoxyde (DMSO) stérile. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, le DMSO ne présente aucune activité antibactérienne ;
- Différentes dilutions des huiles essentielles (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32) ont été préparées dans du DMSO (Gachkar *et al.*, 2006).

II-4-3-2-Evaluation de l'activité antibactérienne de différentes dilutions des huiles essentielles

- Des disques de papier Whatman N°1 (06 mm) sont disposés à égale distance les uns des autres (6 disques par boîte) et de telle façon à éviter le chevauchement des zones d'inhibition sur la gélose préalablementensemencée par écouvillonnage avec la souche test (figure 04). Une légère pression sera exercée sur chaque disque afin d'obtenir une bonne adhérence ;
- Avec une micropipette réglable de 2 à 20 μl , nous déposons aseptiquement sur chaque disque 5 μl des dilutions de chaque huile essentielle préparées dans du DMSO (1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32) ainsi que l'huile essentielle non diluée;
- Les boîtes laissées à 4°C pendant 2 h ensuite sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Les diamètres des zones d'inhibition entourant le disque sont mesurés en millimètre. Les essais sont faits en doubles, le résultat étant la moyenne des deux (Gachkar *et al.*, 2006).

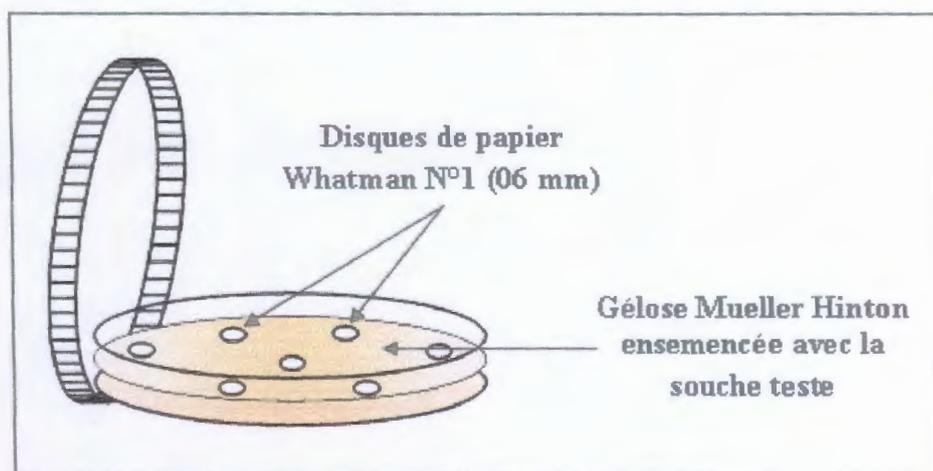


Figure 04 : Méthode des disques

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

*3^{ème} Partie Résultats et
discussion*

III- 1- Caractéristiques et propriétés des huiles essentielles

III-1-1- Aspect des huiles essentielles obtenues

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation des parties aériennes de plantes sèches de *Lavandula stoechas*, *Juniperus phoenicea*, *Achillea odorata*. La formation de la 1^{ère} goutte d'huile essentielle est observée après 20 minutes de chauffage. Au bout de 3 heures d'hydrodistillation, nous récupérons des huiles de différentes couleurs (tableau V).

Tableau V : Les couleurs de différentes huiles essentielles obtenues par hydrodistillation

Espèce	La couleur des huiles essentielles
<i>Lavandula stoechas</i>	Jaune claire
<i>Juniperus phoenicea</i>	Jaune très claire
<i>Achillea odorata</i>	Bleu

III-1-2- Contrôle de la stérilité des huiles essentielles

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

Des disques de papier Whatman N°01 déposés sur la gélose de Mueller Hinton stérile sont chargés avec 5µl de chaque huile essentielle. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les boîtes ne montrant aucun contaminant, les huiles essentielles sont stériles. (Gachkar et al., 2006).

III-1-3- Rendement en huile essentielle

Les rendements moyens en huiles ont été calculés par rapport à la matière végétale sèche. Pour *Lavandula stoechas* nous avons obtenu un rendement de 0,77 %, pour *Achillea odorata* le rendement est de 0,62% et il est de 0,46% pour *Juniperus phoenicea*.

L'étude phytochimique effectuée par Abu Zaid et autre en 1976, montre que la quantité en H.E de l'espèce *Lavandula stoechas* et ses constituants principaux qui sont les terpenoïdes, varient suivant les facteurs écologiques, les conditions climatiques dominants dans chaque région (littorale et montagneuse) et selon les parties aériennes de la plante (végétatives, fleuries, fruitiers). (Adu Zaid, 1992).

Et d'après étude de Abu Zaid , il apparait bien que le rendement obtenu avec l'espèce *Lavandula stoechas* est proche de celui obtenu avec la même espèce en son stade végétatif et qui est récoltée dans la région montagneuse .

Pour *Juniperus phoenicea*, le rendement obtenu est proche de celui cité par Akrouit et qui est de 0,7% (espèce de *Juniperus phoenicea* récoltée dans la région Matmata, Tunisie), cependant il est légèrement supérieur à celui obtenu par Bouzouita et al. (2008) qui ont obtenu un rendement de 0,5% (espèce de *Juniperus phoenicea* récoltée dans la région Medenine, Tunisie).

III-2- Détermination de la composition chimique des huiles essentielles par GC/MS

La caractérisation chimique de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*, nous a permet d'obtenir deux composés majoritaires (pic 01 et pic 14) qui représentes, respectivement le L-allaromadendrène (24,62 %) et le 6-(1,3-dimethyl-buta-1,3-dienyl)-1,5,5-trimethyl-7-oxa-bicyclo(4.1.0)hept-2 (19,46 %).

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* effectuée par Abu Zaid (1992), a montré la présence de deux composés majoritaires (fenchone varie de 41,2% à 72,4% et le camphre varie de 21,4% à 42,1%), et qui sont alors très loin de nos résultats,

La composition chimique de *Juniperus phoenicea* rapportée par Bouzouita et al. (2008), révèle la présence d' α -pinène (59,11%), comme composé majoritaire. Ces résultats son en concordance avec les notre ou nous avons obtenu deux pic 2, 8 qui présentaient des aires très important et qui correspondaient après traitement des résultats aux composés suivant : α -pinène (18,98 %) et 3- Carène (18,81 %).

Pour l'espèce *Achillea odorata*, nous distinguons deux pics importants pic 30 et pic 40, qui correspondaient aux composés Bicyclo(3.3.1)non-2-ene (19,76 %) et Bornéol (17,05 %) respectivement.

II-3-Activité antibactérienne

Les résultats de dénombrement effectué après incubation à 37°C pendant 24 heures sont présentés dans le tableau VI.

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

Souches	Longueurs d'ondes maximales (λ_{\max})	Absorbance de la suspension bactérienne initiale	Nombre d'UFC/ml de la SM
<i>S. aureus (Sa)</i>	580 nm	0,6	$9 \cdot 10^7 \sim 10^8$
<i>S. aureus (Str')</i>	580 nm	0,6	$172 \cdot 10^8$
<i>Bacillus subtilis</i>	580 nm	0,6	$4 \cdot 10^9$
<i>E.coli</i>	580 nm	0,6	10^8
<i>K. pneumoniae</i>	580 nm	0,6	$33 \cdot 10^8$
<i>P. aeruginosa</i>	580 nm	0,6	$4 \cdot 10^7 \sim 10^8$

III-3-1- Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Lavandula stoechas*, *Juniperus phoenicea*, *Achillea odorata* sur milieu solide

III-3-1-1-Effet de Diméthylsulfoxyde (DMSO) sur *S.aureus* (Str'), *S.aureus* (S), *B.subtilis*, *P.aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *E.coli*.

Absence de zones d'inhibition, après 24 heures d'incubation à 37 °C, indique que le DMSO ne présente aucune activité antibactérienne sur les souches testes. De ce fait, il est choisi en tant que diluant pour les huiles essentielles.

III-3-1-2- Effet de différentes dilutions d'huile essentielle de *Lavandula stoechas* sur les souches testes

Les diamètres des zones d'inhibition en fonction de différentes dilutions d'H.E de *L.stoechas* sont présents sur la figure 05, 06, 07, 08.

L'H.E. non diluée de *L.stoechas* (S.M. : Solution Mère) s'est avérée active contre *S.aureus* (S), *S.aureus* (R), *B.subtilis*, *E.coli* avec des zones d'inhibition respective de $27,5 \pm 3,53$ mm; $20,25 \pm 0,33$ mm; $20,75 \pm 2,12$ mm; $11,5 \pm 7,77$ mm. En revanche, *K.pneumoniae* une légère zone d'inhibition a été observée autour de disque et aucune zone d'inhibition n'a été enregistrée pour *P.aeruginosa*.

Les dilutions $\frac{1}{2}$ est toujours active avec des diamètres des zones d'inhibition supérieurs à 10 mm pour *S.aureus* (S), *S.aureus* (Str'), *B.subtilis* et *E. coli*.

Les autres dilution ($\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{16}$, $\frac{1}{32}$) montrent des zones modérées dont les diamètres des zones d'inhibition ne pas dépassent les 14 mm contre les souche : *S.aureus*(S), *Saureus* (Str'), *E. coli*.

L'effet antibactérien de l'H.E. non diluée de *L.stoechas* d'une part et de ses dilutions $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$ ne montre aucune activité sur *P.aeruginosa*. Cependant, une légère activité contre *Klebsiella pneumoniae* a été enregistrée.

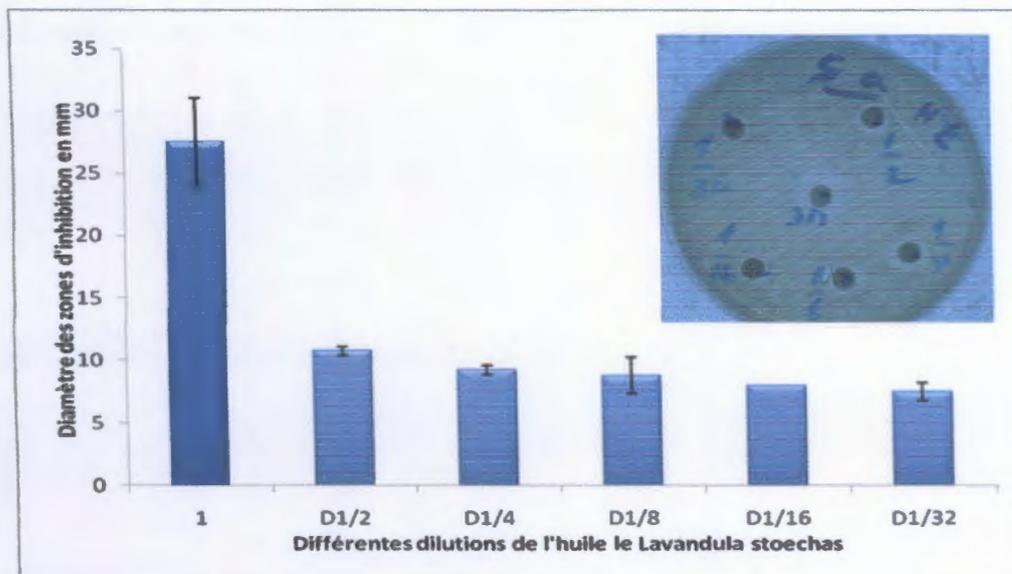


Figure 05 : Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle de *Lavandula stoechas* sur *S.aureus* (S).

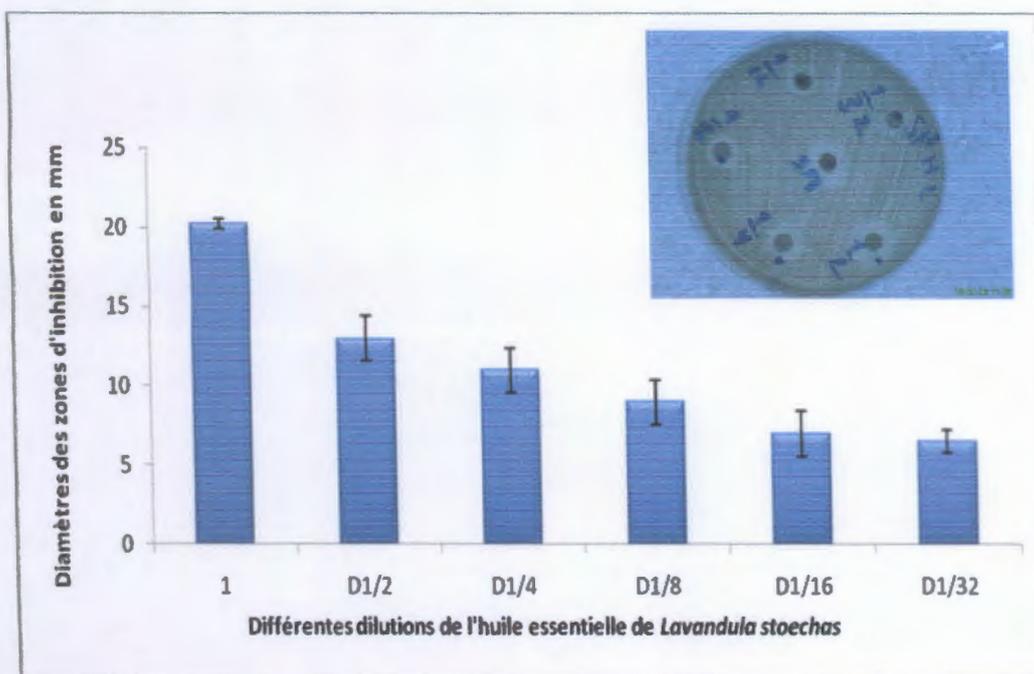


Figure 06 : Diamètre des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle de *Lavandula stoechas* sur *S.aureus* (Str').

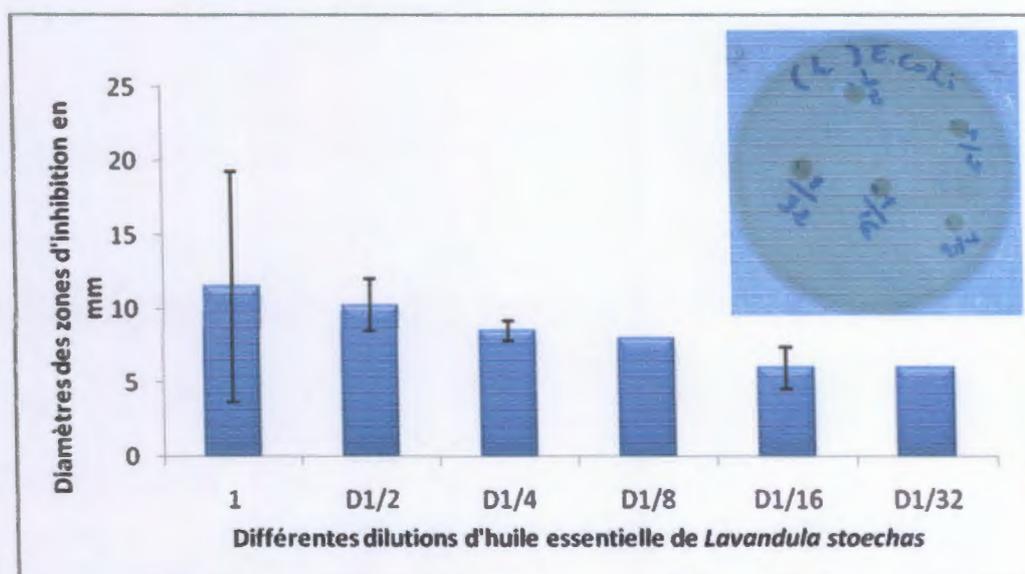


Figure 07 : Diamètre des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle de *Lavandula stoechas* sur *E.coli*.

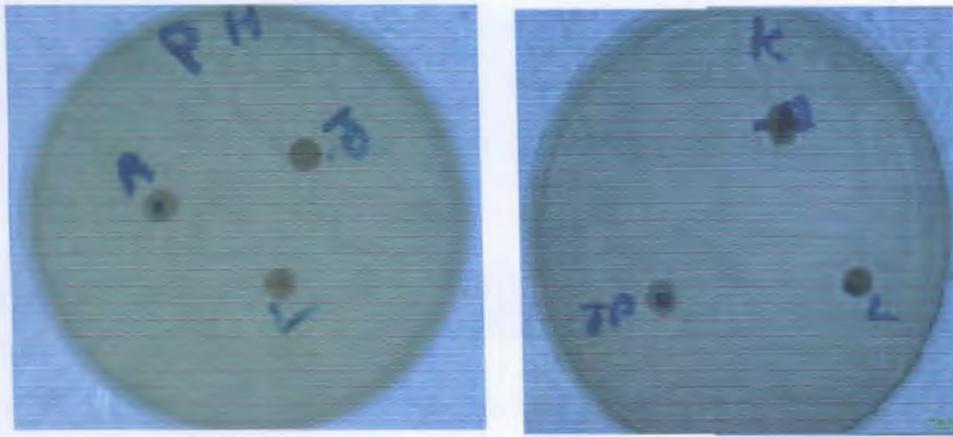


Figure 08 : Photos montrant l'activité antibactérienne des huiles essentielles non diluées de *Lavandula stoechas* (L), *Juniperus phoenicea* (JP) et *Achillea odorata* (A) sur *K.pneumonia* (K) et *P.aeruginosa* (P).

Nous avons considéré qu'une H.E. a une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieure à 12mm (Sagdiç, 2003) ou à 10mm (Benonda et al 1988; Cimanga et al, 2002 et Fu et al., 2007). Donc nous pourrions conclure que l'H.E. de Lavande et leur dilution présentent une activité antibactérienne contre *S.aureus* (S), *S.aureus*(Str'), *E. coli*. En revanche, *P.aeruginosa* s'est révélée l'espèce la plus résistante. Gorn et al. (2002) ont parlé de la très bonne activité antimicrobienne de d'huile essentielle *L.stoechas* qui a montré des zones d'inhibition de 22mm, 23mm, 24mm, 24mm contre *S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* respectivement.

Les valeurs de diamètres des zones d'inhibition de notre huile essentielle de l'espèce *L.stoechas* sont différentes a celle d'obtenues par Gorn . pour diverses raisons :

- Composition chimique qui diffère selon divers paramètres tels la région géographique de récolte ;
- Les souches bactériennes utilisées ne sont pas toujours les mêmes, les méthodes utilisées (en particulièrement la charge en huile essentielle).

D'après Pellecuer et al. (1980), Benjlali et al. (1980) ; Agnihotri et al. (1996), les huiles essentielles de *Lamiaceae* sont souvent rapportées comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives. Et selon Billerbeck et al. 2002, leur composé majoritaire est le plus souvent le carvacrol qui est connu pour son très forte activité antibactérienne.

III-3-1-3-Effet de différentes dilutions de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* sur les souches testées

Pour *Juniperus Phoenicea*, l'huile non diluée présente une activité antibactérienne contre *S.aureus*(S), *S.aureus*(Str') *B.subtilis* avec des zones respectivement $11,75 \pm 1,41$.mm $17 \pm 2,82$ mm, $13,5 \pm 10,6$ mm.

Les dilutions 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 et 1/32 se révèlent toujours actives contre *S.aureus* (Str') et *S.aureus* (S) (Figure 09, 10). Aucune zone d'inhibition n'a été observée sur les souches *E coli*, *P.aeruginasa* et *K.pneumoniae* (figure 08).

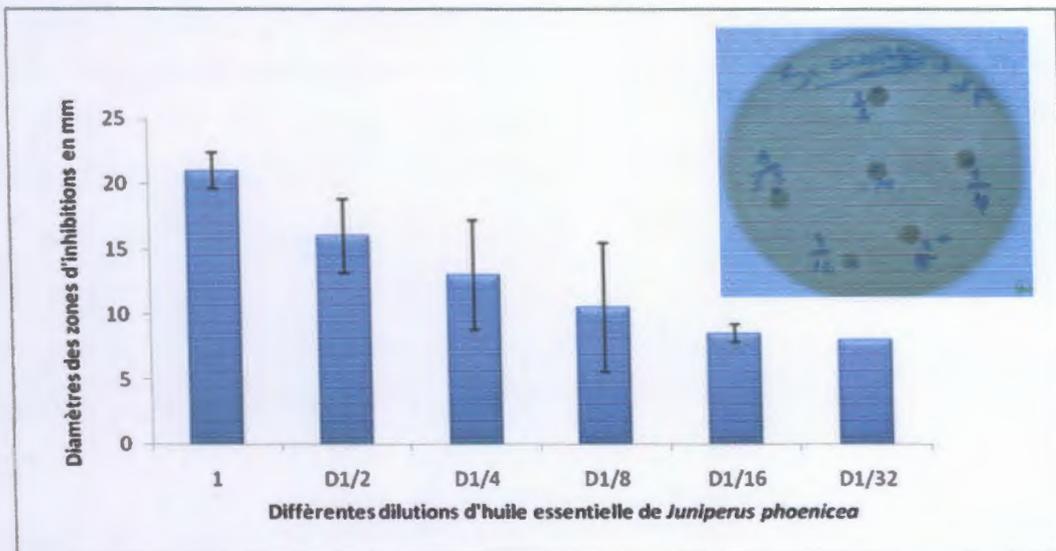


Figure 09 : Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* sur *S.aureus* (S).

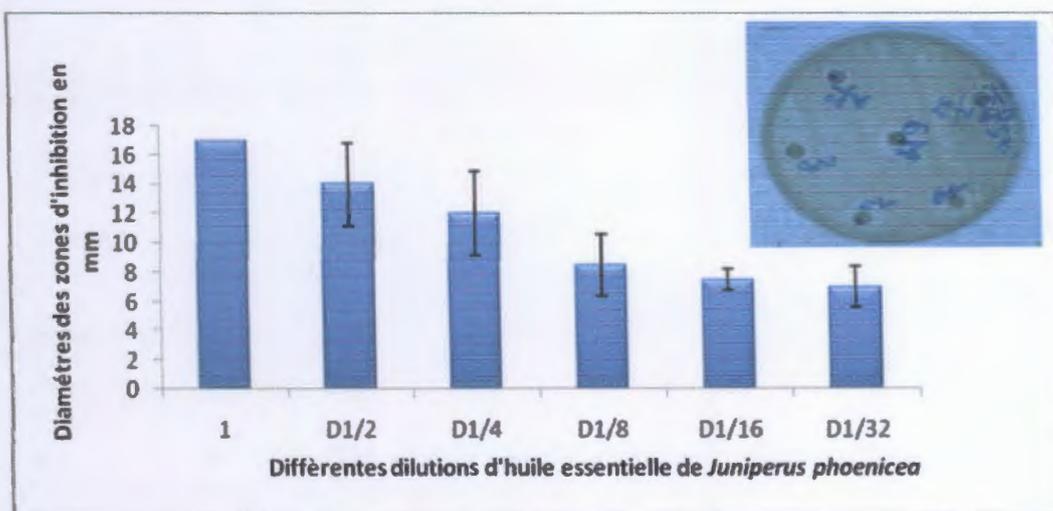


Figure 10 : Diamètres des zones d'inhibitions de différentes dilutions d'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* sur *S.aureus* (Str').

D'après les résultats obtenus, nous constatons que l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* présente une activité antibactérienne remarquable particulièrement chez les bactéries à Gram positif. Ce qui correspond aux résultats attribués par Bouzouita et al. (2008).

D'après les résultats obtenus nous constatons que *P.aeruginosa*, *E.coli* et *K.pneumoniae* sont les souches testées qui se montraient les plus résistantes aux huiles testées.

D'après Pintore et al. (2002), il est bien clair que les bactéries Gram positif sont plus sensibles que les bactéries Gram négatif.

III-3-1-4-Effet de différentes dilutions de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* sur les souches testes

L'huile essentielle d'*Achillea odorata* non diluée présente une activité antibactérienne contre *S.aureus*(Str'), *S.aureus*(S), *B.subtilis*, *K.pneumoniae* avec des diamètres des zones d'inhibition $25,5 \pm 2,12$ mm ; $11,75 \pm 0,35$ mm ; $9,0 \pm 4,24$ mm ; $7,5 \pm 0,7$ mm. En revanche pas d'activité inhibitrice autour des disques des boites ensemencées par les souches *E.coli*, *P.aeruginosa* (figures 08, 11, 12).

Les différentes dilutions testées se montrent toujours actives contres *S.aureus*(S) et *S.aureus* (Str'). D'après les résultats obtenus, l'huile essentielle d'*Achillea odorata* présente une bonne activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif.

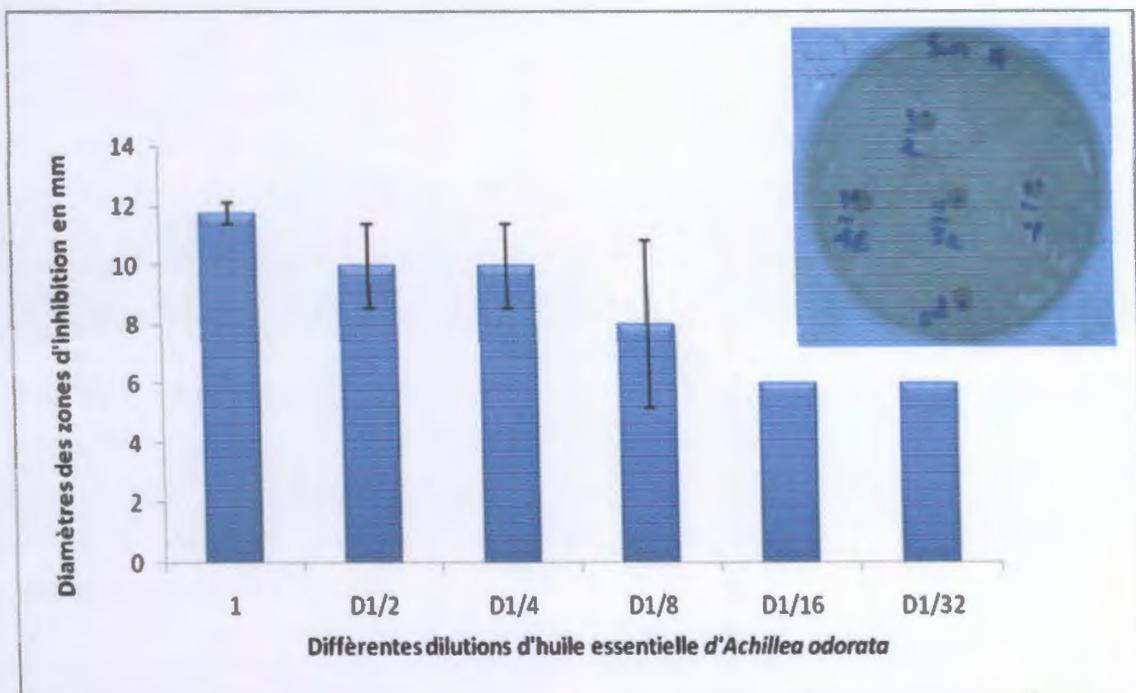


Figure 11 : Diamètres des zones d'inhibitions de différentes dilutions d'huile essentielle d'*Achillea odorata* sur *S.aureus* (S)

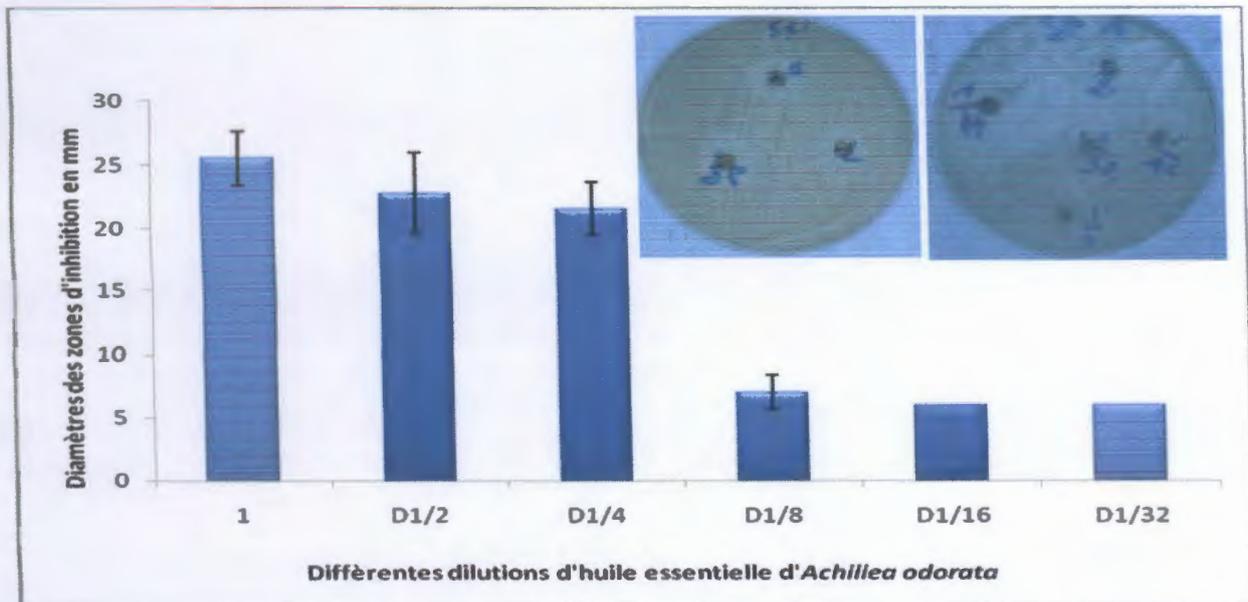


Figure 13 : Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'huile essentielle d'*Achillea odorata* sur *S.aureus* (Str').

III-3-2- Comparaisons de l'effet des huiles essentielles de *Lanandula stoechas*, *Juniperus phoenicea* et *Achillea odorata*

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

La sensibilité des souches testées aux trois huiles essentielles est variable et certaines souches se distinguent et apparaissent très sensibles aux composés volatils des huiles essentielles, c'est le cas de *S.aureus* (S), *S.aureus* (Str'), d'autres au contraire présentent une certaine résistance.

Pseudomonas aeruginosa s'est révélée la bactérie la plus résistante. Ce qui a été confirmé par la résistance de notre souche aux H.E testées.

Ces quelques H.E. se révèlent actives sur *P.aeruginosa* (*Eucalyptus camadulensis*) riche en 1.8 Cinéole (Cimanga et al., 2002).

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

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

Nos résultats montrent que l'effet des molécules diffusibles d'huile essentielle de *Lavandula stoechas* sur *S.aureus* (S), *S.aureus* (Str'), *E.coli*, *B.subtilis* est bactériostatique, il est en revanche bactéricide sur *K.pneumoniae*. Pour l'huile essentielle de *J.phoenicea*, l'effet est bactériostatique contre *S.aureus*(S), *S.aureus*(Str'), *E.coli* et *B.subtilis*. L'huile essentielle d'*A.odorata* est aussi bactériostatique sur *S.aureus* (S), *S.aureus* (Str') et *B.subtilis*.

Conclusion

Conclusion

Les huiles traitées dans notre travail, et qui sont connus pour leurs vertus thérapeutiques présentent des propriétés biologiques importantes.

Lavandula stoechas qui manifeste une plus grande activité antibactérienne peut s'expliquer par sa richesse en L-allaromadendrène et le 6-(1,3-diméthyl-buta-1,3-dienyl)-1,5,5-triméthyl-7-oxa-bicyclo(4.1.0)hept-2.

L'huile essentielle d'*Achillea odorata* ainsi que les dilutions $\frac{1}{2}$ et $\frac{1}{4}$ se sont avérées très active contre *S.aureus* résistant à la méticilline avec des zones d'inhibition supérieure à 10 mm.

Les huiles essentielles de *Lavandula stoechas*, *Juniperus phoenicea* et *Achillea odorata* ainsi que les différentes dilutions présentent des activités antibactériennes variables elles agissent selon les souches bactériennes testées. *Pseudomonas aeruginosa* possède le potentiel de résistance le plus élevé.

L'action des huiles essentielles peut être bactéricide c'est le cas d'huile essentielle de *Lavandula stoechas* sur *Klebsiella pneumoniae* ou bactériostatique, la chose constatée pour l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* et *Achillea odorata* sur *S.aureus* (S), *S.aureus* (Str'), *B.subtilis* et *E-coli*.

De même, nos résultats ont confirmé les propriétés antibactériennes *in vitro*, de certaines composées des huiles essentielles de *Lavandula stoechas*, *Juniperus phoenicea* et *Achillea odorata*, sur les souches testées, ce qui leur offre la possibilité d'être employées, par exemple à titre de complément d'une antibiothérapie ou être proposées comme matières actives dans des formulations contre les infections et d'avoir des applications dans de nombreux domaines, comme l'utilisation en tant qu'agents de préservation pour le contrôle de l'hygiène de l'air des systèmes de climatisation, notamment en milieu hospitalier.

*Références
bibliographiques*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abert Vian, M., Fernandez, X., Visinoni, F., et Chemat, F. (2008). Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. *Journal of Chromatography A*, 1190, 14–17.
- Abu Zaid, C. (1992). Les plantes aromatiques et leurs produits agricole et médicale. 430 p.
- Akrout, A. (2007). Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie).
- Angelopoulou, D., Demetzos, C., et Perdetzoglou, D. (2002). Diurnal and seasonal variation of the essential oil labdanes and clerodanes from *Cistus monspeliensis* L. leaves. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30, 189–203.
- Arctandr, S. (1969). Parfume and flavor chemicals volume 2, aromachemicals, the author, Montclair N-J, USA.

B

- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., et Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446–475.
- Lamarch, M. et Poiret, J.L.M. (SD). Encyclopédie Méthodique. Botanique. P : 102.
- Baydar, H., Sagdic, O., Ozkan, G., et Karadogan, T. (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*, 15, 169–172.
- Belot. (2007). Guide des Arbres et Arbustes. P : 156.
- Belaiche, P. (1979). Traité de phytothérapie et d'aromathérapie : l'aromatogramme. Paris : Maloine. 204 pp.
- Beloued, Y. (2005). Les plantes médicinales d'Algérie P : 14.
- Bendahou, M., Benyoucef, M., Benkada, D., Soussa Elisa, M.B.D., Galvão, E.L., Marques, M.M.O., Muselli, A., Desjobert, J.M., Bernardini, A.F., et Costa, J. (2007). Influence of the Processes Extraction on Essential Oil of *Origanum glandulosum* Desf. *Journal of Application Sciences*, 7 (8), 1152-1157.
- Blaidi, F., Hellal, H. (1996). Plantes médicinales et phytothérapie. *Santé plus*. N°51. 52 pages.

- Bouchra, C., Achouri, M., L.M. Idrissi Hassani, et Hmamouchia, M. (2003). Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35, 813- 820.
- Bouzouita, N., Kachouri, F., Ben Halima, M., Chaabouni, M. M. (2008). Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *juniperus phoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 10, 119-125.
- Bruneton, J.(1999). Pharmacognosie Phytochimie Plantes Médicinales. Paris : Tec & Doc (3^{ème} éd). P : 146-422.
- Bruneton, J. (1999). Terpènes et stéroïdes. In Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales Paris : Tec & Doc (3^{ème} éd). P : 461 -769.
- Belaiche, P. (1979). Traité de phytothérapie et d'aromathérapie : l'aromatogramme Paris : Maloine. 204 pp.

C

- Calsamiglia, S. Busquet, M. Cardozo, P. W. Castillejos, L. et Ferret.A. (2007). Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90 (6), 2580–2595.
- Chami, N., Chami, F., Bennis, S., Trouillas, J. et Remmal, A. (2004). Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. *Braz-J- infect Dis.*, 8(3), 217-226.
- Cvanagh, H.M.A., et Wikinson,J.M. (2002). Biological activities of Lavander essential oil. *Phytotherapy Research*, 16,301-308.
- Chmidit .I. (2007). Lexiguide des plantes médicinales. P :16,38,70,146,202.
- Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totté, J., Pieters, L. Vlietinck, A.J. (2002). Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*, 79, 213–220.
- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12 (4), 564–582.

D

- Daniele .F. (2007). Ma bible des huiles essentielles. P : 15-3.
- Delille .L. (2007). Les plantes médicinales d'Algérie. Alger : Berti. 240 pp.
- Dorman H.J.D et Deans, S.G. (2000). Dorman, H.J.D., et Deans, S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308–316.

Duke J.A. (1998). Phytochemical Database. USDA-ARS-NGRL(ed), Beltsville Agricultural Research center, Beltsville, Maryland.

E

Ernest, Paul M. catling, (2000). Les cultures médicinales canadiennes. Maison : Conseil National de Recherche de Canada. 281 pp.

Eyob, S., Appelgren, M., Rohloff, J., Tsegaye, A., et Messele. G.(2007). Traditional medicinal uses and essential oil composition of leaves and rhizomes of korarima (*Aframomum corrorima* (Braun) P.C.M. Jansen) from southern Ethiopia. *South African Journal of Botany*, 74, 181-185.

F

Fu, Y.J., Zu, Y.G., Chen, L.Y., Shi, X.G., Wang, Z. Sun, S., et Efferth, T. (2007). Antimicrobial Activity of Clove and Rosemary Essential Oils Alone and in Combination. *Phytotherapy Research*, 21, 989-994.

G

Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A., et Rasooli, I. (2006). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*, 102, 898-904.

Guignard, J-L. (2000). Biochimie végétale Paris : Dunod (2^{ème} éd). 274 pp.

Girault et Bourgeon 1971. Les cahier de biothérapie.

H

Hammer K.A. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *Journal of Applied Microbiology*, 86, 985-990.

Hans.W.K. (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. Edition : Terres. 328pp.

Haykal , abd Arazzak omar . (1993). Les plantes médicinales et aromatiques 2^{ème} édition. P : 50-190.

Hudaib, M., Speroni, E., Di Pietra, A.M., et Cavrini. V. (2002). GC/MS evaluation of thyme (*Thymus ulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 29, 691-700.

I

Iserin.P. (1996, 2001). Iserin, P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales: identification, préparations, soins Paris: Larousse. 335 pp.

J

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

Κ

- Kintzios, S.E. (2002). *Oregano: The genera Origanum and Lippia* London and New York: Taylor & Francis. 267 pp.

Λ

- Lamarti, A., Badoc, A., Deffieux, G., et Carde, J.-P. (1994). Biogenèse des monoterpènes. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 133, 79-99.
- Lamendin, H., Toscano, G., et Requirand., P. (2004). Phytothérapie et aromathérapie buccodentaires. *EMC-Dentisterie*, 1, 1179–192.
- Laouer, H., Zerroug, M.M., Sahli, F., Cker, A.N., Valentini, G., Ferretti, G., Grande, M., et Anaya, J. (2003). Composition and Antibacterial Activity of *Ammoïdes pusilla* (Brot) Breistr.Essential Oil. *Journal of Essential Research*, 15, 135-138.
- Liao, Z-H., Chen, M., Gong, Y-F, Miao, Z-Q., Sun, X-F., et Tang, K-X. (2006). Isoprenoid Biosynthesis in Plants: Pathways, Genes, Regulation and Metabolic Engineering. *Journal of Biological Sciences*, 6 (1), 209-219.

Μ

- Mahmoud, S.S., et Croteau, R. (2002). Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. *TRENDS in Plant Science*. 8 pages.
- Mahmoudi, Y. (SD). *La thérapeutique par les plantes commun en Algérie*. Blida : Plais du livre. 128pp.
- Merfort, I. (2002). Review of the analytical techniques for sesquiterpenes and sesquiterpene lactones. *Journal of Chromatography A*, 967, 115–130.
- Merfort, I. (2002). Review of the analytical techniques for sesquiterpenes and sesquiterpene lactones. *Journal of Chromatography A*, 967, 115–130.

Ρ

Pauli, A. (2006). Anticandidal LowMolecular Compounds from Higher Plants with Special Reference to Compounds from Essential Oils. *Medicinal Research Reviews*, 26 (2), 223-268.

Paris, RR. et Moyses, H. (1967). Précis de matière médicale Tom1 2,3. Paris: Masson. 281pp.

R

Rasooli, I., et Mirmostafa, S. A. (2003). Bacterial Susceptibility to and Chemical Composition of Essential Oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2200-2205.

Reverchon, E., Della Porta, G., et Senatore, F. (1995). Supercritical CO₂ Extraction and Fractionation of Lavender Essential Oil and Waxes. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 43, 1654-1658.

S

Sağdıç, O. (2003). Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, 36, 467-473.

Sartoratto, A., Machado, A.L.M., Delarmelina, C., Figueira, G.M., Duarte, M.C.T. et Rehder, V.L.G. (2004). Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils From Aromatic Plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35, 275-280.

Scheffer, J.J.C. (1996). Various Methods for the Isolation of Essential Oils. *Phytotherapy Research*, 10, S6-S7.

Schroeder, MP. et Messing, AM. (1949). Methode for comparing the antibacterial activity of essential oils and other aqueous insoluble compounds. *Bull Nat.Formulary com*, p17,213,218.

Stéphane, C.ph.D. et Monique, L. (2002). Laboratoire de recherche en science appliquées à l'alimentation (RESALA) INRS-Institut Amand-Frappier 531, Boul de prairies .Laval(Qc)H7V1B7

V

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

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

Vokou, D., et Margaris, N.S. (1986). Variation of Volatile Oil Concentration of Mediterranean Aromatic Shrubs *Thymus capitatus* Hoffmag et Link, *Satureja thymbra* L., *Teucrium polium* L. and *Rosmarinus officinalis*. *International Journal of Biometeor*, 30 (2), 147-155.

γ

Yamasaki, Y., et Akimitsu, K. (2007). In situ localization of gene transcriptions for monoterpene synthesis in irregular parenchymic cells surrounding the secretory cavities in rough lemon (*Citrus jambhiri*). *Journal of Plant Physiology*, 164, 1436-144.

Glossaire

Glossaire

Antibiotique : Détruit les micro-organismes.

Anti diarrhéique : Qui combat la diarrhée.

Antifongique : Détruit les champignons.

Antioxydant : prévient l'oxydation et l'altération des tissus.

Antimicrobien : Détruit les microorganismes.

Anti-inflammatoire : Soulage des inflammations.

Antiseptique : Détruit les microorganismes responsables des infections.

Antispasmodique (Grec : anti, contre ; spasmos, tirer) : empêche les contractions musculaires involontaires (fibre musculaire de l'intestin et des voies urinaires).

Aromathérapie : Est l'art de soigner par les huiles essentielles c'est une « super-phytothérapie »

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

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

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

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

Mycoses : Toute infection (candidose, par exemple) due à un champignon inférieur parasite

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

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

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

Teinture : Préparation médicinale obtenue par macération d'une plante dans de l'eau et de l'alcool.

Terpène : Molécule souvent présente dans la composition des huiles essentielles.

Pectorale : Se dit de médicaments destinés au traitement des affections broncho-pulmonaires.

Phytothérapie : Est l'art de soigner par les plantes médicinales.

Pruriginuse : Qui provoque un prurit, une démangeaison.

Vivace : plante qui vit plusieurs années et fructifie plusieurs fois.

Annexes

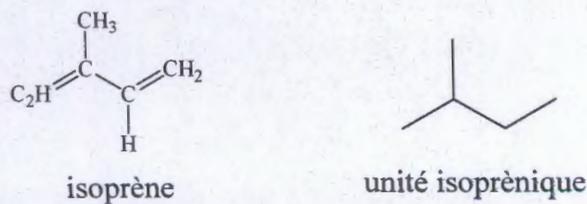


Figure 01: Structure de base des terpènes

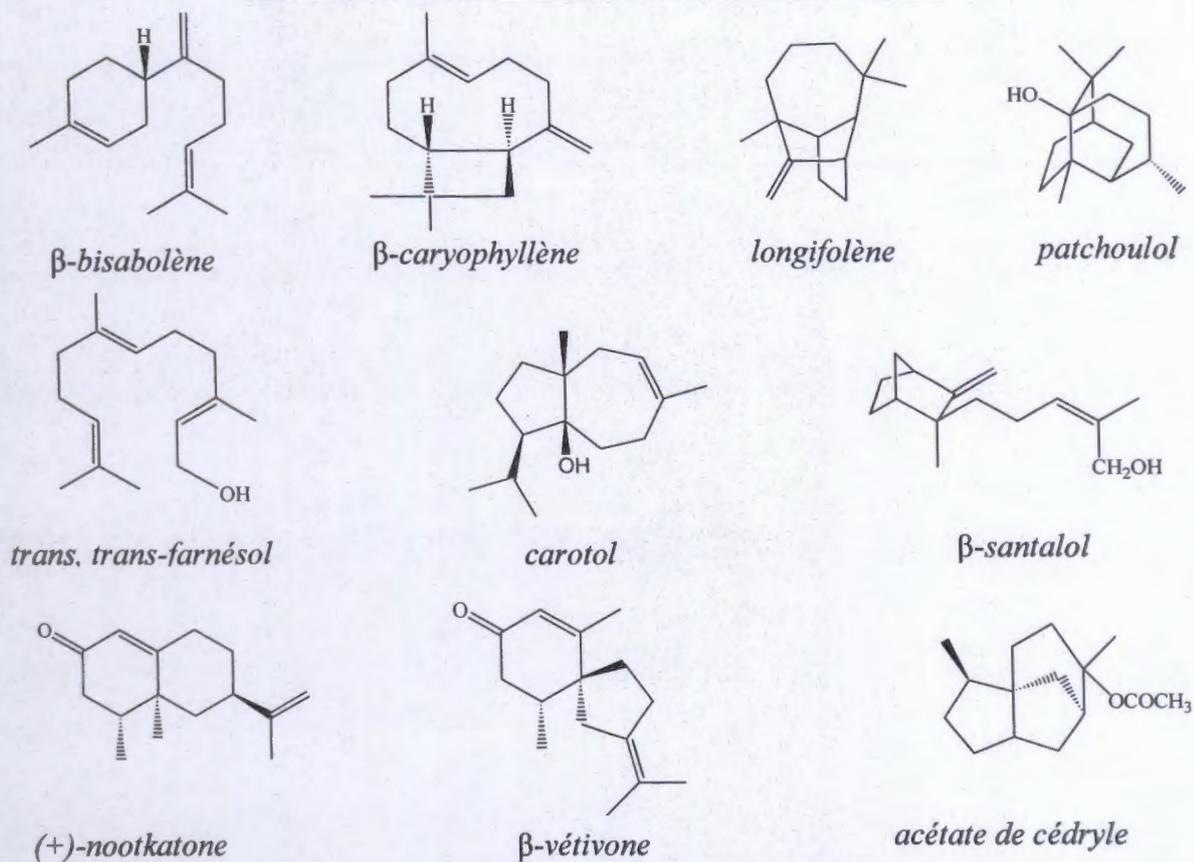


Figure 02 : Exemples de structures de sesquiterpènes (Bruneton, 1999)

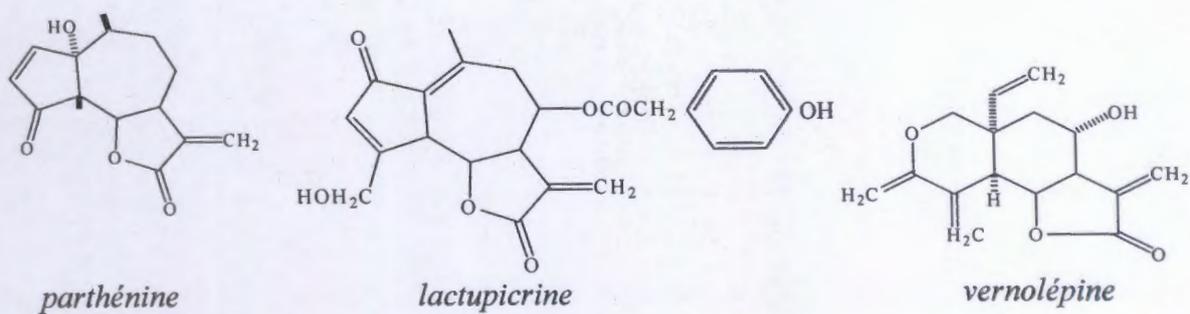


Figure 03 : Exemples de lactone sesquitépéniques (Bruneton, 1999)

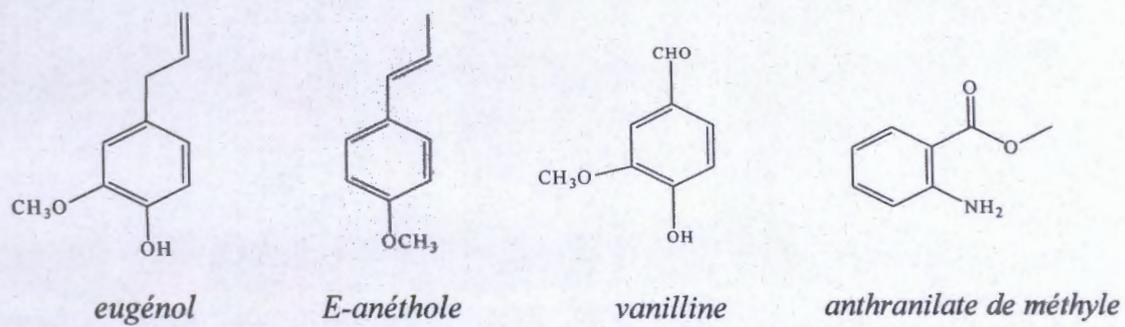
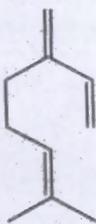
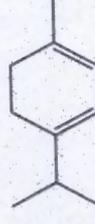
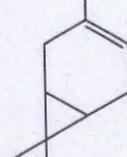
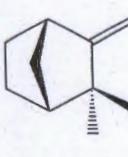
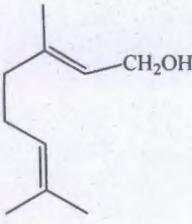
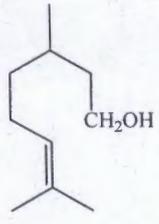
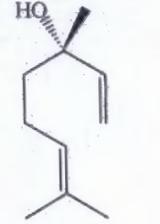
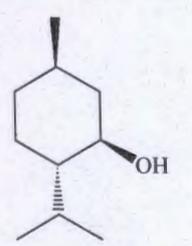
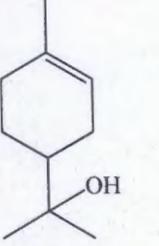
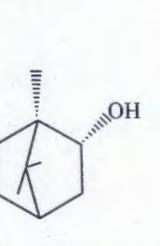
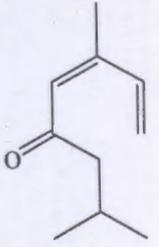
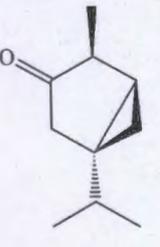
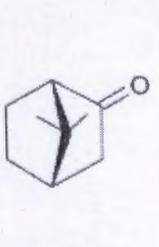
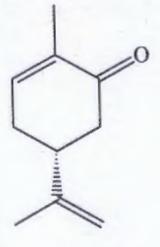
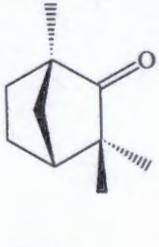


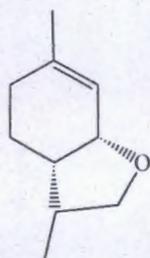
Figure 04 : Exemples de composés aromatiques (Bruneton, 1999)

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

Composition de Monoterpènes	Conformations	Constituants
Carbures	Acycliques	Myrcène, ocimènes
	Monocycliques	α - et γ -terpinène, <i>p</i> -cymène, phéllandrènes, etc.
	Bicycliques	Pinènes, Δ^3 -carène, camphène, sabinène, etc.

				
<i>myrcène</i>	<i>ocimènes</i>	<i>α-terpinène</i>	<i>γ-terpinène</i>	<i>p-cymène</i>
				
<i>(-)-α-pinène</i>	<i>(+)-β-pinène</i>	<i>3-carène</i>	<i>(+)-camphène</i>	<i>(+)-sabinène</i>

Alcools	Acycliques	Géraniol, linalol, citronellol, lavandulol, nerol, etc.
	Monocycliques	Menthol, α -terpinéol, terpin-1-én-4-ol, carveol
	Bicycliques	Bornéol, fenchol, chrysanthenol, thyan-3-ol, etc.
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-end;"> <div style="text-align: center;">  <p><i>géraniol</i></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><i>citronellol</i></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><i>(+)-linalol</i></p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-end;"> <div style="text-align: center;">  <p><i>(-)-menthol</i></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><i>α-terpinéol</i></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><i>bornéol</i></p> </div> </div>		
Aldéhydes	Acycliques	Géranial, néral, citronellal, etc.
Cétone	Acycliques	Tagétone, etc.
	Monocycliques	Mentone, isomentone, carveone, pulégone, piperitone, etc.
	Bicycliques	Camphre, fenchone, thuyone, etc.
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-end;"> <div style="text-align: center;">  <p><i>tagetone</i></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><i>(+)-3-thuyone</i></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><i>camphre</i></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><i>(-)-carvone</i></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><i>(+)-fenchone</i></p> </div> </div>		
Esters	Acycliques	Acétate ou propionate linalyle, acétate citronellyle, etc.
	Monocycliques	Acétate de menthyle, acétate d' α -terpinyle, etc.
	Bicycliques	Acétate d'isobornyle, etc.
Ethers	1,8- cinéole (on dit aussi eucalyptol), dill-éther, etc.	

*dill-ether**1,8-cinéole***Peroxydes**

Ascaridole, etc.

Phénols

Thymol, carvacrol, etc.

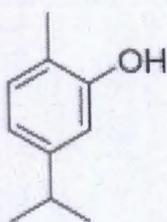
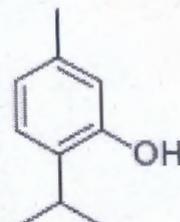
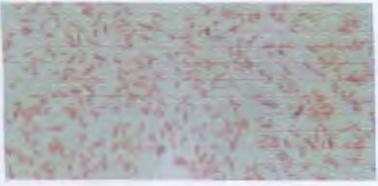
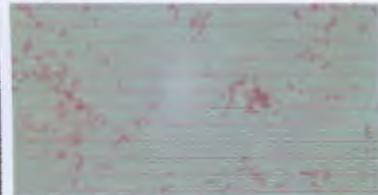
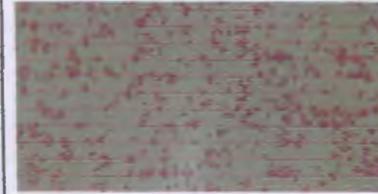
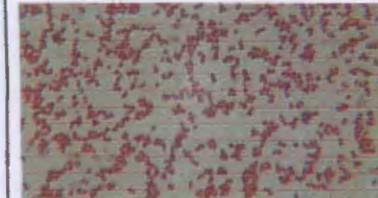
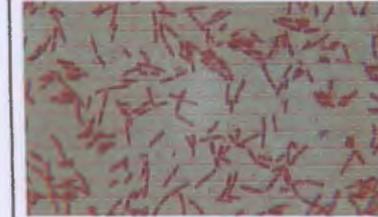
*carvacrol**thymol*

Tableau VII : Résultats de la coloration de Gram des six souches testées

Observation microscopique	Résultats de la coloration de Gram	Souches
	Gram négatif, bacilles courts et larges à extrémité arrondies (coccobacilles).	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	Gram négatif, bacilles avec extrémités arrondies (coccobacilles).	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Gram négatif, bacilles avec extrémités arrondies (coccobacilles).	<i>Escherichia coli</i>
	Gram positif, cocci arrondies isolées en diplocoques ou en grappe de raisin.	<i>Staphylococcus aureus</i> (Sa)
	Gram positif, cocci arrondies isolées en diplocoques ou en grappe de raisin.	<i>Staphylococcus aureus</i> (Str')
	Gram positif, bâtonnet très grand.	<i>Bacillus subtilis</i>

Milieux de cultures

Eau physiologique stérile

Chlorure de sodium	9 g
Eau distillée	1000 ml

Coeur-Cerveau

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

Gélose Mueller Hinton (milieu de culture déshydraté)

Extrait de viande	3 g
Hydrolysate acide de caséine	17,5 g
Amidon	1,5 g
Agar	20 g
P	H7,3

Gélose nutritive

Peptone	10g/l
Extrait de Sodium	5g/l
Gélose	15g/l
Chlorure de sodium	5g/l
pH	7.2g/l

Réactifs, Solution et colorants

Violet de Gentiane	1g/l
Ethanol à 90%	10ml
Phénol	2g
Eau distillée	100ml

Fuschine de Ziehl

Fushine basique	1g
Alcool éthylique à 90%	10ml
Phénol	5g
Eau distillée	100ml

Lugol

Iode	1g
Iodure de potassium.....	2g
Eau distillée	300ml

Thème : Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de trois plantes aromatiques « *Lavandula stoechas*, *Juniperus phoenicea* et *Achillea odorata* » récoltées dans les régions de Bejaia et de Jijel.

Résumé

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Lavandula stoechas*, *Juniperus phoenicea* et *Achillea odorata* sur six souches bactériennes deux souches de *Staphylococcus aureus*, l'une est sensible au méticilline et l'autre résistante, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* a été étudiée. L'aromatogramme en milieu solide (méthode de disque) a été utilisé pour évaluer l'inhibition de la croissance de diverse concentration des H.E de ces trois plantes aromatiques.

L'H.E de *Lavandula stoechas* s'est avérée efficace sur *S.aureus*(S), *S.aureus*(Str'), *B.subtilis*, *E.coli*. Avec une légère activité remarquable sur *K.pneumonia*. Cependant, *P.aeruginosa* se montre la bactérie la plus résistante au trois huiles essentielles. Les huiles essentielles du Juniperus et Achillée et ces dilutions présentent une activité inhibitrice intéressante sur les deux souches de *S.aureus*.

L'effet d'H.E de *Lavandula stoechas* est bactéricide sur *K.pneumonia* il est en revanche, bactériostatique contre *S.aureus* (Str'), et (S), *E.coli* et *B.subtilis*. L'H.E de Juniperus et *Achillea odorata* montrent un effet bactériostatique sur *S.aureus*(S) et (Str') sur *B.subtilis*, *K.pneumoniae* et *E.coli*.

Mots clés : Huile essentielle, *Lavandula stoechas*, *Juniperus phoenicea*, *Achillea odorata*, méticilline, activité antibactérienne, bactéricide et bactériostatique.

Abstract

Antibacterial activity of the essential oils extracted from *Lavandula*, *Juniperus* et *Achillea* against six bacterial strains (two strains of *S.aureus*, on it sensitive to the meticillin antibiotic and other was resistant, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* are studied. The disk diffusion method was used to evaluate the antibacterial activity of the various concentrations of the essentials oils of each aromatic plant. The essential oil from *Lavandula* was found efficiency against the *S.aureus* (S), *S.aureus*(Str'), *B.subtilis* and *E.coli*, with light activity on *K.pneumonia*. However, *P.aeruginosa* revealed the bacteria to the three oils essentials. Les essentials oils of *Juniperus phoenicea*, most resistant *Achillea odorata* and these dilutions present an interesting inhibiting activity on the twos strais of *S.aureus*.

Essential oil *Lavandula stoechas* effect is bactericidal on *K.pneumoniae*, it is on the other hand, bacteriostatic against *S.aureus*(S), *S.aureus*(Str'), *E.coli*, *B.sibtilus*, l'essentials oils of *Juniperus phoenicea* et *Achillea odorata* show an effect bacteriostatic on *S.aureus*(S), *S.aureus*(Str'), *B.subtilis*, *K.pneumoniae* et *E.coli*.

Key Words : Essential oil, *Lavandula stoechas*, *Juniperus phoenicea*, *Achillea odorata*, methicill, antibacterial activity, bactericide and bacteriostatic.

المخلص

بحثنا اقتصر على دراسة التأثير ضد بكتيري للزيوت الأساسية لكل من النباتات العطرية، الخزامى (الفوندا ستويكس *Lavandula stoechas*)، العرعار (جنبروس فونيسي *Juniperus phoenicea*)، القيسوم (أحيلي، أهورا *Achillea odorata*) ضد ستة بكتيريا نوعين من *S.aureus* واحدة حساسة للميتيسيلين و الأخرى مقاومة له *P.aeruginosa*, *B.subtilis*, *E.coli* و *K.pneumoniae*

أجرينا اختبار الأقراس لتقدير فعل مختلفه تراكيز الزيوت العطرية و تثبيطها للنمو البكتيري النتائج أوضحت فعالية الزيت العطري لنباتة الفوندا ستويكس ضد *E.coli*, *B.subtilis*, *S.aureus* نشاط خفيفه ضد *K.pneumoniae* البكتيريا *P.aeruginosa* اضعوته مقاومتها الشديدة للزيوت العطرية الثلاثة، الزيت العطري لجنبروس فونيسي و أحيلي أهورا أيضا نشاط معتبر ضد *S.aureus* زيت الفوندا ستويكس عميقت بالنسبة *K.pneumoniae* و مثبط بالنسبة ل *E.coli*, *B.subtilis*, *S.aureus*.

زيت جنبروس فونيسي و أحيلي أهورا أيضا تأثيرهما التثبيطي ضد *B.subtilis*, *S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae*. الكلمات المفتاحية : الزيت الأساس، الفوندا ستويكس، جنبروس فونيسي، أحيلي أهورا، ميتيسيل، نشاط بكتيري، عميقت، مثبط.

Thème : Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de trois plantes aromatiques « *Lavandula stoechas*, *Juniperus phoenicea* et *Achillea odorata* » récoltées dans les régions de Bejaia et de Jijel.

Résumé

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Lavandula stoechas*, *Juniperus phoenicea* et *Achillea odorata* sur six souches bactériennes deux souches de *Staphylococcus aureus*, l'une est sensible au méticilline et l'autre résistante, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* a été étudiée. L'aromatogramme en milieu solide (méthode de disque) a été utilisé pour évaluer l'inhibition de la croissance de diverse concentration des H.E de ces trois plantes aromatiques.

L'H.E de *Lavandula stoechas* s'est avérée efficace sur *S.aureus*(S), *S.aureus*(Str'), *B.subtilis*, *E.coli*. Avec une légère activité remarquable sur *K.pneumonia*. Cependant, *P.aeruginosa* se montre la bactérie la plus résistante au trois huiles essentielles. Les huiles essentielles du Juniperus et Achillée et ces dilutions présentent une activité inhibitrice intéressante sur les deux souches de *S.aureus*.

L'effet d'H.E de *Lavandula stoechas* est bactéricide sur *K.pneumonia* il est en revanche, bactériostatique contre *S.aureus* (Str'), et (S), *E.coli* et *B.subtilis*. L'H.E de Juniperus et *Achillea odorata* montrent un effet bactériostatique sur *S.aureus*(S) et (Str') sur *B.subtilis*, *K.pneumoniae* et *E.coli*.

Mots clés : Huile essentielle, *Lavandula stoechas*, *Juniperus phoenicea*, *Achillea odorata*, méticilline, activité antibactérienne, bactéricide et bactériostatique.

Abstract

Antibacterial activity of the essential oils extracted from *Lavandula*, *Juniperus* et *Achillea* against six bacterial strains (two strains of *S.aureus*, on it sensitive to the meticillin antibiotic and other was resistant, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* are studied. The disk diffusion method was used to evaluate the antibacterial activity of the various concentrations of the essentials oils of each aromatic plant. The essential oil from *Lavandula* was found efficiency against the *S.aureus* (S), *S.aureus*(Str'), *B.subtilis* and *E.coli*, with light activity on *K.pneumonia*. However, *P.aeruginosa* revealed the bacteria to the three oils essentials. Les essentials oils of *Juniperus phoenicea*, most resistant *Achillea odorata* and these dilutions present an interesting inhibiting activity on the twos strais of *S.aureus*.

Essential oil *Lavandula stoechas* effect is bactericidal on *K.pneumoniae*, it is on the other hand, bacteriostatic against *S.aureus*(S), *S.aureus*(Str'),*E.coli*, *B.sibtilis*, l'essentials oils of *Juniperus phoenicea* et *Achillea odorata* show an effect bacteriostatic on *S.aureus*(S), *S.aureus*(Str'), *B.subtilis*, *K.pneumoniae* et *E.coli*.

Key Words : Essential oil, *Lavandula stoechas*, *Juniperus phoenicea*, *Achillea odorata*, methicill, antibacterial activity, bactericide and bacteriostatic.

المخلص

بعثنا اقتصر على دراسة التأثير ضد بكتيري للزيوت الأساسية لكل من النباتات العطرية، الخزامى (لفوند ستويكس *Lavandula stoechas*)، العرمار (جنبروس فونيسي *Juniperus phoenicea*)، الفيسو (أحيلي احورانا *Achillea odorata*) ضد ستة بكتيريا نوعين من *S.aureus* واحدة حساسة للميتيسيلين و الأخرى مقاومة له *P.aeruginosa*, *B.subtilis*, *E.coli* و *K.pneumoniae*

أجرينا اختبار الأقراس لتقدير فعل مختلفه تراخيص الزيوت العطرية و تثبيطها للنمو البكتيري النتائج أوضحت فعالية الزيت العطري لنباتات لفوند ستويكس ضد *E.coli*, *B.subtilis*, *Saureus* ضد *K.pneumoniae* البكتيريا *P.aeruginosa* اخضوت مقاومتها الضديدة للزيوت العطرية الثلاث، الزيت العطري لجنبروس فونيسي و أحيلي احورانا أوضا نفاط معتبر ضد *S.aureus* زيت لفوند ستويكس مميته بالنسبة *K.pneumoniae* و مثبط بالنسبة ل *E.coli*, *B.subtilis*, *S.aureus*

زيت جنبروس فونيسي و أحيلي احورانا أوضا تأثيرهما التثبيطي ضد *B.subtilis*, *S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae* الطلمات المتبادية، الزيت الأساس، لفوند ستويكس، جنبروس فونيسي، أحيلي احورانا، ميتيسيل، نفاط بكتيري، مميته، مثبط.