

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Environnementale et Infectieuse

THEME

Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* de la région de Laghouat (El Milok)

Présenté par :

M^{lle} BEN KHAMASSI Nabila

M^{lle} BOUZEKERI Amina

Devant le jury :

Président : M. LEBOUKH Mourad
Rapporteur : M. GOUZI Hicham
Examineur : M. BENACEUR Farouk

Université Amar Télidji-Laghouat
Université Amar Télidji-Laghouat
Université Amar Télidji-Laghouat

Soutenu publiquement le, 24 Mai 2017

Dédicace

Avec l'aide d'allah, j'ai pu réaliser ce modeste travail

Je dédie ce travail a mes parents pour leur innombrables et sacrifiées Si j'en suis arrivée là ,c'est grace à chacun de vous.

A ma très chère fatima ,qui est le bougie de ma vie qui éclairés mon chemin durant toutes ces longue années d'étude par leur éducation,amour et soutien pour me donner confiance.

A Mon grand-père et ma grand-mère, Ames sœurs et mes très chers frères :hadj aissa et ibrahime

A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moment surtout

Aicha, Sans oublier ma cher sœur et ma binome qui m'a beaucoup encouragée pour terminer notre mimoir : amina et sa famille

A tous ceux qui ont une place dans mon cœur qu'il trouve ici la marque de mon affection et de mon estime.

A tous qui me connaisse de prés ou de loin.

Ben khamassi nabila

Dédicace

Avant tous, nous remercions le bon Dieu Allah qui à aluminé notre chemin et qui nous a armés de force et de sagesse, ainsi la bonne volonté pour achever ce travail.

Je dédie ce modeste travail

A mon chérie père qui a été le premier à m'encourager à aller si loin dans mes études.

A ma chère mère qui ne cesse de tout faire pour que j'aie pu arriver à ce niveau.

A mon frère et mes sœurs qui étaient toujours à mes côtés et qui n'ont jamais cessé de me soutenir et de m'encourager jamais de simples mots ne me permettront de vous exprimer mes remerciements.

Et surtout mon espoir dans la vie, l'autre moitié, baume spirituel, mon mari qu'il mon trop soutenait et m'a beaucoup encouragé pour achever ce travail.

A ma grande famille.

A tous mes ami (e)s de la promotion.

A tous ceux qui sont chère.

Amina Bouzekri

Remerciements

Nous remercions avant tout **ALLAH** tous puissants, de nous avoir guidés durant toutes les années d'études et de nous avoir donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.

Nous voudrions exprimer toute notre gratitude à nos parents pour leur sacrifice, leur patience et leurs encouragements.

Nos remerciements vont à **Mr. Hicham GOUZI** pour avoir accepté de diriger ce travail, et pour son soutien et son aide, particulièrement lors de l'expérimentation.

Nos remerciements les plus chaleureux à nos collègues de promotion 2016/2017 pour l'ambiance exceptionnelle qui y régnait et surtout en dehors.

Enfin, nous adressons nos remerciements aux membres du jury qui ont acceptés d'examiner notre travail.

Nos remerciements vont aussi à tous les amis et tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

ملخص

تملك الزيوت الأساسية فعالية ضد الميكروبات و تستطيع أن تعوض بنجاح المضادات الحيوية التي أثبتت عدم نجاعتها ضد البكتيريا المقاومة، الشيء الذي حثنا على دراسة فعالية الزيت الأساسي لنبته الدققت ضد الميكروبات و المحصل عليها من منطقة الميلىق، ولاية الأغواط، حيث أن استخلاص الزيت تم بطريقة التقطير البخار .
المردود المتحصل عليه من خلال هذه العملية يقدر ب: 0.85 % ويعتبر هذا الأخير مقبولا حسب المعايير المعمول بها.
من خلال النتائج المحصل عليها فيما يخص النشاط المضاد للميكروبات، لاحظنا أن البكتيريا موجبة الغرام ذات حساسية مقارنة مع البكتيريا سالبة الغرام والتي سجلت مقاومة عالية لزيت الدققت، حيث كانت كل من السلالتين *Bacillus cereus* و *Staphylococcus aureus* حساسة للزيت في حين نجد كل من السلالة *Pseudomonas aeruginosa* ، *Klebsiella pneumoniae* و *Escherichia coli* مقاومة ولم تتأثر بنشاط الدققت.
وقد لاحظنا وجود نشاط و منطقة تثبيط تتراوح بين 13 و 16 مم حسب كل من السلالتين (*Bacillus cereus*) و (*Staphylococcus aureus*).
نبته الدققت تمثل مصدرا طبيعيا للزيوت المستعملة في النظام الصيدلاني لعلاج بعض الأمراض.

كلمات مفتاحية : الزيوت الأساسية، النشاط ضد البكتيريا ، الدققت ، حساسة.

Résumé : Les huiles essentielles possèdent des activités antimicrobiennes importantes et peuvent se substituer avec succès aux antibiotiques qui montrent leurs inefficacités à l'encontre des microorganismes résistants. Ceci nous a conduits à effectuer l'étude de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle du Tgouft (*Artemisia campestris*) sauvage de la région de Laghouat exactement en Milok. L'HE est obtenu par méthode d'hydrodistillation à l'aide d'un Clevenger. La teneur de Tgouft en huile essentielle est estimée à 0.85%.

L'activité antimicrobienne est déterminée par la méthode de diffusion sur disque. L'HE de Tgouft possède des effets antibactérien.

Les bactéries Gram positif sont sensibles par rapport aux bactéries Gram négatif. La souche *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* sont sensible à l'HE, tandis que *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, et *Klebsiella pneumoniae* sont résistante.

Le Tgouft représente donc une source naturelle d'agents antimicrobiens qui peuvent être utilisés dans le domaine pharmaceutique comme antibiotique ou bien dans le domaine agroalimentaire comme conservateur.

Mots clés : Tgouft, *Artemisia campestris*, huile essentielle, activité antimicrobienne, bacteries.

Abstract:

Essential oils have important antimicrobial activities and can replace with success antibiotics , which show their inefficiency against resistant microorganisms.

In this study we have tested the antimicrobial activities of Essential oils *Artemisia campestris*, harvested Milok the region of the wilaya of Laghouat and obtained his essential oil by hydrodisstillation. After result obtain we find that the revenue of essential oil is 0.85 % this value acceptable to norm (AFNOR).

Activity antimicrobial is important contras, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* are strain which represent a sensitivity zone of inhibition of essential oil, another way *Pseudomonas aeruginosa* , *Klebsiella pneumonia* and *Escherichia coli* is the strain resistance for activity of essential oil. For the another stain we found zone of inhibition between 13 et 16 mm (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) .

The positive or negative results found, are interesting for complementary studies, moredeepened and more detailed.

Key Words: essential oil, antimicrobial activities, *Artemisia campestris*, resistance, inhibition, sensitivity.

Dédicaces	I
Remerciements.....	III
Résumé.....	IV
Liste des tableaux	IX
Liste des figures.....	X
Liste des abréviations	XI
Introduction.....	1
Synthèse bibliographique.....	3
Chapitre1. Présentation de l'espèce étudiée.....	3
I-La plante <i>Artemisia campestris</i>	3
I-1 Genre <i>Artemisia</i>	3
I-1.1 <i>Artemisia campestris</i>	3
I-1.2 Définition.....	3
I-1-3 Noms vernaculaires.....	3
I-1-4 Systématique d' <i>Artemisia campestris</i> L.....	4
I-2 Description botanique d' <i>Artemisia campestris</i>	4
I-3 Origine et distribution.....	4
I-4 Composition chimique.....	5
I-5 Propriétés thérapeutiques de cette plante.....	6
Chapitre2. Généralités sur les huiles essentielles et leur activité antimicrobienne.....	7
I- Généralités sur les huiles essentielles.....	7
I-1 Historique des huiles essentielles.....	7
I-2 Définition.....	7
I-3 Classification.....	8
I-4 Répartition et localisation.....	8
I-5 Fonction.....	8
I-6 Propriétés physico-chimiques.....	9
I-6-1 Propriétés physiques.....	9
I-6-2 Propriétés chimiques.....	9
I-6-2-1 Terpènes.....	9
I-6-2-1 Les monoterpènes.....	10

I-6-2-2 Les sesquiterpènes.....	10
I-6-2-2 Les composés d'origines diverses	10
I-7 Facteurs de variabilité des huiles essentielles.....	10
I-7-1 Les dénominations trompeuses du matériel végétal	10
I-7-2 Influence du cycle végétatif.....	10
I-7-3 Influence des facteurs extrinsèques	10
I-7-4 La récolte du matériel végétal	10
I-7-5 Les transformations du matériel végétal	11
I-7-6 Les hybridations ; Les facteurs de mutation, la polyploïdie et les aberrations chromosomiques.....	11
I-7-7 Le polymorphisme chimique	11
I-7-8 Influence du procédé d'obtention.....	11
I-8 Les propriétés pharmacologiques des huiles essentielles	11
I-8-1 Pouvoir antiseptique.....	11
I-8-2 Propriétés spasmolytiques et sédatives	12
I-8-3 Propriétés irritantes	12
I-9 Méthodes d'extraction.....	12
I-9-1 Distillation.....	12
I-9-2 L'hydrodistillation.....	12
I-9-3 L'hydrodiffusion	13
I-9-4 L'entraînement la vapeur d'eau	13
I-9-5 L'extraction par micro-onde sous vide	14
I-10 Toxicité des HE	14
I-11 Conservation des HEs	15
I-12 Propriétés biologiques des huiles essentielles.....	15
I-13 Domaine d'utilisation.....	15
I-13-1 Phytothérapie.....	15
I-13-2 Parfumerie et cosmétologie.....	16
I-13-3 Industrie alimentaire.....	16
II-Activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	16
II-1 Activité antimicrobienne.....	16
II-1.1 Activité antifongique.....	16
II-1.2 Activité antibactérienne.....	17

II-1.2.1 Mécanisme d'action antibactérienne.....	17
II-1.2.2 Méthode de détermination de l'activité antibactérienne.....	17
II-1.2.2.1 Aromatogramme	18
II-1.2.2.2 Méthode de diffusion en puits	18
II-1.2.2.3 Méthode de la dilution	19
II-1.2.2.4 Méthode de micro-atmosphère	19
II-1.2.3 Détermination CMI.....	19
Chapitre 3. Généralités sur les souches microbiennes étudiées.....	20
I-Généralités sur les bactéries.....	20
I-1 <i>Escherichia coli</i>	20
I-2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
I-3 <i>Staphylococcus aureus</i>	22
I-4 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	23
I-5 <i>Bacillus cereus</i>	24
Matériel et méthodes.....	25
I. Matériels.....	25
I.1. Matériel végétal.....	25
I.1.1. Lieu et période de récolte.....	25
I.1.2. Préparation et nettoyage du matériel végétal.....	25
I.2. Souches microbiennes.....	25
II. Méthodes.....	26
II.1. Procédé d'extraction des huiles essentielles	26
Mode opératoire.....	27
II.1.1 Calcul de rendement.....	27
II.1.2 Détermination de la densité de l'HE.....	27
II.3. Evaluation de l'activité antimicrobien.....	27
II.3.1. Les milieux de culture.....	28
II.3.2. Les antibiotiques	28
II.3.3. Méthode de diffusion (méthode des disques).....	28
II.3.3.1. Préparation de l'inoculum	28
<i>Préparation de pré-culture</i>	29
<i>Préparation de la suspension</i>	29
II.3.3.2. Test de l'activité antimicrobienne.....	29

Mode opératoire.....	29
Ensemencement	29
Dépôt de disques	29
Incubation.....	29
La lecture	29
II.3.3.3.Test de sensibilité aux antibiotiques	29
II.3.3.4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice CMI.....	30
Résultats et discussion.....	31
I. Les caractéristiques de l'huile essentielle de <i>Artemisia campestris</i>	31
I.1. Rendement et densité de l'HE.....	31
II. l'activité antimicrobienne	31
II.1. Résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques	32
II.2. Résultats des tests antimicrobiens des huiles essentielles par les méthodes des disques de diffusion.....	35
II.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice CMI.....	37
Conclusion.....	39
Références bibliographiques.....	40
Annexe	

Liste des tableaux

	Page
Tableau1: Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Artemisia campestris</i> L dans la région de Matmata (Tunisie).....	5
Tableau2: Origines des souches utilisées dans les différents tests d'activité antimicrobienne.....	26
Tableau3: Les antibiotiques utilisés dans ce test et leur concentration.....	28
Tableau4 Activité antimicrobienne des antibiotiques exprimée par le diamètre d'inhibition en millimètre.....	34
Tableau5 Diamètres (mm) des zones d'inhibition de l'effet antimicrobien de l'HE du Tgouft déterminé par la méthode diffusion sur disque (10 µl/disque).....	35
Tableau6: Les concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle d' <i>Artemisia campestris</i>	37

Liste des figures

	Page
Figure1: photo représente <i>Artemisia campestris</i> L dans la région de Mailek	3
Figure2: Schéma représente la distillation à la vapeur d'eau	12
Figure3: photo représente l'appareil d'hydrodistillation Clevenger.....	13
Figure4: représente une photo de l'appareil d'extraction par L'entraînement à la vapeur d'eau	13
Figure5: représente une photo de l'appareil d'extraction par micro-onde sous vide	14
Figure6: Méthode de détermination de l'activité antibactérienne par l'aromatogramme.....	18
Figure7: Méthode de détermination de l'activité antibactérienne par micro atmosphère.....	19
Figure8: <i>Escherichia coli</i> au microscope électronique.....	21
Figure9: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> au microscope électronique.....	22
Figure10: <i>Staphylococcus aureus</i> au microscope électronique.....	23
Figure11 : <i>Klebsiella pneumoniae</i> au microscope électronique	24
Figure 12: <i>Bacillus cereus</i> au microscope électronique.....	24
Figure 13: Photo <i>Artemisia campestris</i> L. (bouzekri.,2017).....	25
Figure 14: Photo représente le dispositif d'hydrodistillation (Clevenger) utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle.....	26
Figure 15: Photo de l'H.E de <i>Artemisia campestris</i> obtenue par hydrodistillation.....	31
Figure 16: sensibilité des microorganismes aux différents antibiotiques testés	33
Figure 17: diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle d' <i>Artemisia campestris</i> sur les cinq souches testés.....	36
Figure 18: Photo représente la CMI d' <i>Artemisia campestris</i> sur <i>Bacillus cereus</i>	38
Figure19: Photo représente la CMI d' <i>Artemisia campestris</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i>	38

AFNOR: Association Française de Normalisation.

ISO : International Standard Organization

BHIB: Brain Meat Infusion Broth

BN: Bouillon Nutritive.

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice.

DO: DensitéOptique.

H.E: Huile Essentielle.

LAPRONA :Laboratoire des **Produits Naturels** .

M.H: Mueller Hinton.

MNHN : Muséum National d'Histoire Naturelle.

UFC: Unité Formant colonie.

NA : Nalidixic acid

IMI: IMIPENEN

AML: Amoxicillin

AMP: AMPICILLINE

TIM : Ticarciline+Acide Clavulanique

CN : Gentamicine

CTX : Céfataxime

FOX : Cefoxitine

AK : Amikacin

MNHN : Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris).

LAPRONA : Laboratoire des Produits Naturels (Université de Tlemcen).

Introduction

Depuis l'antiquité, et certainement bien avant, les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle et pragmatique pour l'homme. Personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissent, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique.

En effet, il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique ou des troubles organiques (**Schauenberg et Paris, 2010**).

La médecine actuelle remet de plus en plus en honneur les simples plantes médicinales, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques décroît, et l'émergence de microorganismes pathogènes multi-résistants, due à l'usage abusif et inapproprié des antibiotiques, pose actuellement un problème de santé publique particulièrement préoccupant.

La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels, est bien acceptée par l'organisme et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en accident, spécialement dans les traitements des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se trouvent vers des soins moins agressifs pour l'organisme (**Fernandez, 2003 ; Larousse, 2001**).

A l'heure actuelle, la médecine moderne repose essentiellement sur l'utilisation des antibiotiques pour traiter les maladies infectieuses mais leur efficacité fiable, leur toxicité ainsi que leur coût élevé remet en cause cette approche thérapeutique. De plus, devant l'apparition des germes bactériens multi-résistants, la médecine a recours à l'usage des substances naturelles d'origine végétale.

L'armoise rouge *Artemisia campestris* a fait l'objet de plusieurs récentes recherches dans la médecine traditionnelle, l'industrie alimentaire et pharmaceutique. C'est une herbe aromatique de la famille des Astéracées, appréciée pour ses propriétés aromatiques, anti-oxydantes, anti microbiennes, largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle. La partie aérienne de cette plante est riche en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les huiles essentielles (**Mirjalili et al., 2007**). Les huiles essentielles d'*Artemisia campestris* sont largement utilisées dans le traitement de nombreuses infections telles que les infections bactériennes (**Naili et al., 2010**). D'après nos connaissances, aucune étude n'a été réalisée sur l'effet antibactérien de l'huile essentielle de l'Armoise rouge de la région de Laghouat.

Pour cela, nous nous sommes intéressés à l'étude du pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* de la région de la Laghouat (El Milok) obtenue par hydrodistillation sur des bactéries pathogènes en utilisant la technique de diffusion

du milieu gélose Muller-Hinton. La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée pour les souches sensibles à l'huile essentielle par la méthode de microdilution.

Le plan de rédaction de ce mémoire est présenté comme suite :

La revue bibliographique de cette étude est articulée en trois chapitres. Le premier chapitre aborde des généralités sur l'espèce étudiée (*Artemisia campestris*) et ses huiles essentielles. Le deuxième chapitre sur généralités sur les huiles essentielles et l'Activité antimicrobienne des huiles essentielles. Le troisième chapitre donne un aperçu sur les souches microbiennes étudiées.

La deuxième partie illustre le matériel et les méthodes mis en œuvre pour l'extraction et l'évaluation des activités antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles sèches d'*Artemisia*.

La troisième partie expose les résultats obtenus suivis des interprétations et quelques fois des comparaisons sont faites avec certains travaux réalisés dans le même contexte et d'une conclusion générale.

Synthèse bibliographique

Chapitre 1. Présentation de l'espèce étudiée

I- La plante *Artemisia campestris*

I-1 Genre *Artemisia*

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

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

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

I-1-1 *Artemisia campestris*

I-1.2 Définition

Artemisia campestris L est assez commune sur les sols siliceux et les bords des rivières jusqu'à 1500 m. Les feuilles de cette plante sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle comme anti-venin, anti-inflammatoire. (**LeFloc'h, 1983**).

Artemisia campestris L a des propriétés allélochimiques inhibant la croissance et la germination de certaines plantes qui l'entourent (**Mirjalili et al., 2007**).

I-1-3 Noms vernaculaires :

En Français : Armoise champêtre, Auronne-des-champs.

En Arabe : Allala, Tgouft.

Nom scientifique : *Artemisia campestris* L (**Quezelet Santa, 1962**).



Figure 1 : *Artemisia campestris* L. dans la région de Milok ,Wilaya de Laghouat
(**Bouzekri et Ben khamassi., 2017**).

I-1-4 Systématique d'*Artemisia campestris*L

Selon Caratini (1971), la plante *Artemisia campestris* L est classée dans :

Régne: *Plantae*

Sous règne : *Tracheobionta*

Embranchement: *Spermatophyta*

Sous-embranchement: *Magnoliophyta*

Classe: *Magnoliopsida*

Sous classe :*Asteridae*

Ordre :*Asterales*

Famille :*Asteraceae*

Sous famille: *Asteroideae*

Tribu: *Anthemideae*

SousTribu: *Artemisiinae*

Genre : *Artemisia*

Espèce : *Artemisia campestris* L

I-2 Description botanique d'*Artemisia campestris*

Artemisia campestris L est une plante des hauts plateaux, elle est une plante vivace, sa floraison est en mai à septembre. Elle est assez commune sur les sols siliceux et les bords des rivières. *Artemisia campestris* est un arbuste aromatique à tiges robustes, d'une hauteur de 30 à 80 cm. Cette plante possède des capitules très petits, étroits (1 à 1.5 mm) ovoïdes ou coniques, à involucre scarieux, ne contient que 3 à 8 fleurs de couleur jaunâtre bordées de rouge, les fleurs périphériques sont femelles, les autres sont males, et à pédoncule muni de poils blanchâtres à brunâtre. Les feuilles d'*Artemisia campestris* sont glabres de couleur verte foncée, les inférieures dipinnatiséquées, les supérieures pinnatiséquées, les basales pétiolées et auriculées, les tiges sont ligneuses à la base striée (David, Hervé., 1994 ; Ozenda, 1983 ; Quezel et Santa., 1962).

I-3 Origine et distribution

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* sont des arbustes aromatique, qui poussent de façon spontanée dans plusieurs régions de l'hémisphère nord de la terre, surtout dans les zones semi arides et le bassin méditerranéen, et s'étendent jusqu'à l'Himalaya (Vernin et al., 1995), dans l'hémisphère sud elles sont trouvées en Afrique du sud, l'Australie et l'Amérique du sud, *Artemisia campestris* est originaire de l'Asie (Kyeong, 2007).

I-4 Composition chimique

Les huiles essentielles d'*Artemisiacampestris*L ont l'objet de plusieurs travaux décrivant la composition très variée. Les premiers travaux effectués par **Valant (2005)** en Turquie rapportent que le composé majoritaire de l'huile essentielle est le α pinène (21%) suivie par b pinène (12 %), 1,8-cineole (8%) , thujone (4%) , Alcool thujyl (15 %) , géraniol (13 %) , et un composé non identifié (11 %). D'autres travaux sur la composition de l'huile essentielle de cette plante effectuée par **(Naili et al., 2010)** en Italie ont mis en évidence le composé majoritaire est le α -pinène (15,3 %) suivie par b pinène (9,8 %) , oxyde caryophyllene (18.2%), Spathulénol (9.3 %) , limonène(4.9%) et 1,8-cineole (5.2%).

Selon Bada Aissa (2000), cette plante contient : d'huile essentielle, glucosides, flavone, stérols et tanins. En Algérie, ont montré que le composé majoritaire de cette l'huile est : (Z, E) farnesol (10.3 %) suivie par cedrol (5.4 %) , verbenone (3.8 %) **(Dob et al., 2005)**.

Enfin ont déterminé la composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L **(Tableau 1)** provenant de quatre régions différentes de Tunisie. Le composé majoritaire est le b pinène (24% à 49.8%) suivie par a pinène (5.9% à 12.5%), p-cymene (3.4% à 9.4 %) et le limonène (4.9% à 9.3%) **(Akrout et al., 2001)**.

Tableau 1: Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisiacampestris*L dans la région de Matmata (Tunisie), **(Akrout et al., 2001)**

Composés	Teneur en %	Composés	Teneur en %
β pinène	24 – 49,8	α terpinéol	0,6 – 5,5
α pinène	5,9 – 12,5	Terpinene – 4 ol	0,7 – 1,9
p-cymene	3,4 – 9,4	Murolene	0,3 – 5,4
Limonène	4,9 – 9,3	Cadinene	0,2 – 2,4
Bocimene	0,2 - 5,5	Spathulénol	1,2 – 8,9
Terpinene	2 – 6,5	β -Eudesmol	1 – 6,4

Nous remarquons que le composé majoritaire de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L est le b pinène, avec des variabilités dans la teneur, sauf le cas en Algérie nous remarquons que le (Z , E) farnesol (10.3 %) est le composé majoritaire. **(Dob et al., 2005)**.

I-5 Propriétés thérapeutiques de cette plante

Les populations du Sud Algérien l'utilisent pour calmer les troubles digestifs (les douleurs abdominales, maux d'estomac, les nausées...). Elle est utilisée en décoction pour les règles irrégulières ou pour l'accouchement. En usage externe, elle cicatrise les plaies et les brûlures (**Saoudi et al.**, 2010).

Les feuilles de cette plante sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle comme anti-venin, anti-inflammatoire (**Le flo'h, 1983**). Les huiles essentielles de cette plante ont une activité, antibactérienne et antifongique (**Akrout et al.**, 2001).

Chapitre2. Généralités sur les huiles essentielles et leur activité antimicrobienne

I- Généralités sur les huiles essentielles

I-1 Historique des huiles essentielles

Empiriquement reconnues depuis des siècles, la confirmation scientifique de l'activité Antimicrobienne des huiles essentielles est récente. Elle ne date que début du siècle dernier avec les travaux du Dr. Gatte fossé, le père de l'aromathérapie en France. Depuis ce temps, l'utilisation des huiles essentielles s'est développée jusqu'à devenir depuis plus d'une vingtaine D'années, une sérieuse alternative à la médecine des antibiotiques dans les pathologies infectieuses.

De nombreuses études traitent de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, qu'elles soient Citées dans des ouvrages, dans des journaux spécialisés de microbiologie ou présentées lors de congrès d'aromathérapie scientifique.

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles se trouve à la base des médecines dites alternatives, De nombreux procédés utilisés dans la conservation des produits alimentaires crus ou cuits, De substances actives exploitées dans les produits pharmaceutiques. Cette activité a été utilisée dernièrement pour la conservation du patrimoine bibliographique des musées (*de Billerbeck, 2000*), Et elle est naissante pour traiter la qualité de l'air dans les batiments (**Pibiri.,2001**).

I-2 Définition

Le terme *huile* s'explique par la propriété que présente ces compos's de se solubiliser dans les graisses et par leurs propriété hydrophobe. Le terme *essentielle * fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante (**Laib ,2011**)

Les huiles essentielles appelées aussi essences, sont des mélanges complexes de substances odorantes et volatiles contenus dans les végétaux .L'huiles essentielle est le résultat de la distillation à vapeur d'eau des plants aromatiques pour en extraire l'essence .Une essence et une huile essentielle sont différentes notamment en raison des modifications chimiques qui subissent à l'essence au cours, de sa distillation (**Peyron L et Naves Y.R ,1977**).

Toutes les plantes ne secrète pas d'huiles essentielles, certaines espèces contiennent vraiment des huiles essentielles, d'autres n'en contiennent pas. Parfois huile essentielle est présent dans la plante entière, parfois telle n'est présenté que dans une partie de la plante. De plus, l'huile essentielle contenue dans les feuilles n'est pas forcément contenue dans les fruits

de la même plante, l'utilisation des huiles est donc complexe, il faut bien connaître la plante et leurs propriétés (**Jacques G.Paltz S.A.1997**).

Actuellement, leurs utilisations en parfumerie et en alimentation est considérables c'est pour cette raison que l'organisme de normalisation AFNOR et ISO ont donné une définition plus précise des huiles essentielles ; ces dernières sont des produits obtenus à partir d'une hydro distillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques (**Baser et Buchbauer, 2010**).

I-3 Classification

Selon le pouvoir spécifique sur les germes microbiens et grâce à l'indice aromatique obtenu par des aromatogramme, les huiles essentielles sont classées en groupes.

- Les huiles majeures
- Les huiles médiums
- Les huiles terrains (**Caillet et Lacroix, 2007**).

I-4 Répartition et localisation

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : il y aurait, selon Lawrence, 17 500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituant qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles, ex. : Myrtaceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae, Piperaceae, etc.

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : (fleur, des écorces, des bois, des racines, des rhizomes des fruits et des graines. Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peuvent varier selon sa localisation. (**Bruneton, 1999**).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante qui sont : cellules à huiles essentielles de Lauraceae, les poils sécréteurs des Lamiaceae, poches sécrétrices des *Myrtaceae*, des *Rutaceae*, et les *Lamiaceae*, et les canaux sécréteurs qui existent dans des nombreuses familles. Il est intéressant de remarquer que les organes d'une même espèce peuvent renfermer des huiles essentielles de composition différente selon la localisation dans la plante(**Gonzalez et al., 2007**).

I-5 Fonction

La fonction biologique des terpénoïdes des huiles essentielles demeure le plus souvent obscure (**Bruneton, 1999**).

Les fonctions possibles des huiles essentielles sont multiples (protection contre les prédateurs de la plante, attraction des insectes pollinisateurs, inhibition de la germination et de la croissance, inhibition de la multiplication des bactéries et des champignons).

Il est souvent difficile de les préciser pour chaque cas particulier (**Raud, 2003**). Pour quelques auteurs, ils pourraient constituer des supports à une « communication » (**Bruneton, 1999**). L'utilité des huiles essentielles pour les plantes désertiques, a été rattachée à la conservation d'une humidité indispensable à la vie des plantes, exposée à des climats désertiques (**Berche et al., 1989**).

I-6 Propriétés physico-chimiques

I-6-1 Propriétés physiques

Les propriétés physiques des huiles essentielles se résument en leurs indices, pouvoir rotatoire, viscosité, densité, solubilité dans l'alcool, point d'ébullition et congélation. Généralement incolores ou jaune pâle, les essences sont liquides à température ambiante. La nature huileuse des HEs, la rend liposoluble ainsi elles sont peu solubles dans l'eau mais le sont dans les solvants organiques apolaires, les huiles grasses, et dans les alcools.

Les huiles essentielles sont extrêmement volatiles et sensibles à l'oxydation. Elles ont tendance à se polymériser en donnant lieu à la formation de produits résineux, ce qui induit à la perte de ses propriétés. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (à l'exception des huiles essentielles de saffron, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévie la lumière polarisée (**Baser et Buchbauer, 2010**).

I-6-2 Propriétés chimiques

Les huiles essentielles peuvent contenir une centaine de composées différentes, appartenant à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques spécifiques : les terpènes et les dérivés du phénylpropane biosynthétisés essentiellement à partir de l'acide shikimique (**Bruneton, 1993**).

I-6-2-1 Terpènes

Dérivés formellement de l'isoprène (C_5H_8), les terpènes se différencient par le nombre n d'unités isopréniques qui les constituent : $(C_5H_8)_n$, ce sont les principaux constituants des huiles essentielles que l'on trouve dans certains tissus sécréteurs.

Ces huiles, légères et réfringentes, donnent en se vaporisant les essences, auxquelles beaucoup de plantes doivent leur parfum : lamiacées (Menthe, Thym, Serpolet), Solanacées (tomate), Rutacées (agrumes), etc.

I-6-2-1 Les monoterpènes en C10, sont dérivés du géranyldiphosphate. On peut citer le géraniol de la Citronnelle (non cyclique), le menthol de la menthe (cyclique), le limonène des agrumes (cyclique), Le pinène du pin (bicyclique).

I-6-2-2 Les sesquiterpènes en C15 : sont dérivés du farnésyldiphosphate, diversement cyclisés. Eux aussi se rencontrent dans les essences : par exemple le farnésol (essence de Camomille). (HENRICH *et al.*, 2006).

I-6-2-2 Les composés d'origines diverses :

Il s'agit là de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles contribuent souvent aux arômes de fruits

- Composés issus de la dégradation d'acide gras (exemple : massoialctones de l'écorce du *Cryptocarya massoi* Kosterm)
- Composés issus de la dégradation de terpènes (exemple : Irones, C13 norisoprénoides)
- Composés azotés ou soufrés (exemple : pyrazines, buténethioates)

I-7 Facteurs de variabilité des huiles essentielles :

I-7-1 Les dénominations trompeuses du matériel végétal :

En effet, une huile essentielle doit avant tout autre chose être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue (Garnéro, 1977).

I-7-2 Influence du cycle végétatif :

Des variations importantes peuvent se produire au cours du cycle végétal autant en ce qui concerne le rendement et la composition chimique en huile essentielle. (Garnéro, 1978).

I-7-3 Influence des facteurs extrinsèques :

Il s'agit là de l'incidence des facteurs de l'environnement et des pratiques culturales (l'apport d'engrais et l'influence des variations N, P, K, régime hydrique), la température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime de vents exercent une influence directe. (Bruneton, 1999). Ainsi les facteurs géographiques et édaphiques influencent (Garnéro, 1977).

I-7-4 La récolte du matériel végétal :

Le ramassage du matériel végétal pose très souvent le problème de la contamination par d'autres espèces végétales surtout s'il s'agit de plantes à croissance rapide ou de végétaux qui poussent dans des lieux où se trouvent de nombreuses autres espèces végétales (Garnéro, 1977).

I-7-5 Les transformations du matériel végétal

Le matériel végétal qui va subir l'hydrodistillation n'est pas toujours traité immédiatement. Des modifications physiques et biochimiques dues à l'action de l'air, du soleil, de l'échauffement en tas peuvent se produire et se révéler fâcheuses pour la qualité de l'huile essentielle, surtout s'il s'agit de fleurs (**Garnéro, 1978**).

I-7-6 Les hybridations ; Les facteurs de mutation, la polyploïdie et les aberrations chromosomiques :

Les hybridations introduisent l'hétérogénéité dans un peuplement végétal (**Garnéro, 1977**). Une race chimique peut apparaître par mutation. Ce cas a «été signalé avec l'exemple pour le Houblon (*Humulus lupulus* L.) .Dans la plupart des cas, la polyploïdie augmente les rendements en huile essentielle (Carvi, Menthe, Camomille) (**Garnéro, 1978**).

I-7-7 Le polymorphisme chimique :

On entend par chimiotype, le type chimique d'une plante classé en fonction du constituant majoritaire de ses huiles essentielles. Par ailleurs, on étend par chimiotype mixte ou intermédiaire, le type chimique d'une plante classé en fonction de deux ou plusieurs constituants majoritaires de prépondérances voisins (**Berche et al.,1989**)

Pour une même espèce botanique, il peut exister plusieurs races chimiques ou « chimiotypes ». On a parfois utilisé l'expression de « formes physiologiques ». (**Garnéro, 1977**).

I-7-8 Influence du procédé d'obtention:

La labilité des constituants des huiles essentielles explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation soit, le plus souvent, différente de celle du mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal. Au cours de l'hydrodistillation, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters mais aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations, des oxydations, etc.

Il faut enfin signaler que la cinétique de distillation n'est pas la même pour tous les constituants d'une huile essentielle (carbures, alcools, cétones, etc.), la composition du distillat varie en fonction du temps. (**Bruneton, 1999**).

I-8 Les propriétés pharmacologiques des huiles essentielles :

I-8-1 Pouvoir antiseptique : s'exerce à l'encontre de bactéries pathogène variées (des souches antibiorésistantes) et peut également sur les champignons et des levures (candida) comme la lavande, le girofle et l'Eucalyptus.

I-8-2 Propriétés spasmolytiques et sédatives : de très nombreuses drogues à huiles essentielles (menthe, verveine...) sont réputées efficaces pour diminuer ou supprimer les spasmes gastro-intestinaux, il est possible que ce type d'activité soit liée à une inhibition de l'entrée du calcium dans les cellules.

I-8-3 Propriétés irritantes : aujourd'hui encore nombreuses sont les pommades, les crèmes ou les gels à base d'huiles essentielles destinés à soulager entorses, courbatures, claquages, sont utilisées par voie externe comme l'essence de térébenthine provoquent une augmentation de la microcirculation. Par voie interne, les huiles essentielles déclenchent des phénomènes d'irritation à différents niveaux (Bruneton, 1999)

I-9 Méthodes d'extraction :

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction de essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ...), de la nature des composés (par exemple, les huiles essentielles, huiles lourdes...). Le rendement en huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées. Les principales méthodes d'extraction sont :

I-9-1 Distillation

Selon Piochon (2008), il existe trois différents procédés utilisant le principe de la distillation : l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau

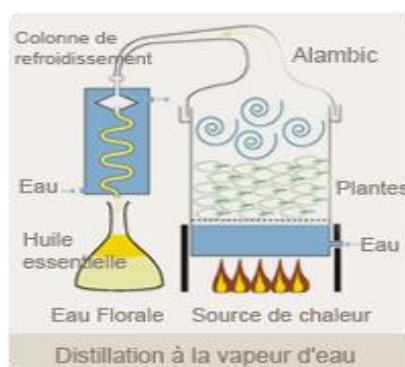


Figure2 : Schéma représentant la distillation à la vapeur d'eau

(<http://education.denniskunkel.com>)

I-9-2 L'hydrodistillation

L'hydrodistillation est sans doute le procédé chimique le plus ancien, le principe était déjà connu et utilisé par les Egyptiens dès l'IV^{ème} siècle après J.C. Il s'agit de la méthode la plus simple et, de ce fait la plus anciennement utilisée. La matière végétale est immergée directement dans un alambic d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'H.E se sépare de l'hydrodistilat par simple différence de densité.

L'H.E étant plus légère que l'eau, elle surnage au-dessus de l'hydrolysât (Figure 4). Cependant, l'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (**Bruneton, 1993**).



Figure3 :photo représente l'appareil d'hydrodistillation Clevenger (**Bouzekri et Ben Khamassi, 2017**).

I-9-3 L'hydrodiffusion

Cette technique est relativement récente. Elle consiste à faire passer du haut vers le bas, et à pression réduite la vapeur d'eau au travers la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc, moins dommageable pour les composées volatils.

I-9-4 L'entraînement la vapeur d'eau

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau (Figure 5). La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'H.E en minimisant les altérations hydrolytiques (**Piochon, 2008**).

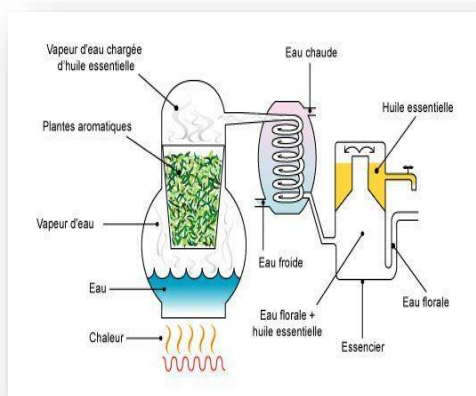


Figure4: Schéma de l'appareil d'extraction par L'entraînement à la vapeur d'eau (**Piochon, 2008**).

I-9-5 L'extraction par micro-onde sous vide

Extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques condensation, refroidissement, et décantation. Des études démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tel que le gain de temps d'extraction, utilisation de petites quantités de solvant, et un rendement d'extraction élevé (Figure6)(Hemwimon et *al.*, 2007).



Figure5: Schéma de l'appareil d'extraction par micro-onde sous vide(Hemwimon et *al.*, 2007).

I-10 Toxicité des HE

Les HE sont des molécules actives. Elles peuvent avoir de graves effets secondaires. Il est important de respecter la posologie et la durée de la prise. Parmi ces effets, citons : des allergisants ou hypersensibilisants, photosensibilisants dus aux furocoumarines, neurotoxiques dus aux cétones, néphrotoxiques dus aux terpènes majoritaires dans l'huile essentielle de Térébenthine et des rameaux de Genévrier, hépatotoxiques dus aux phénols pris pendant des laps de temps trop importants ou à doses massives L'eugénol, qui est l'un des constituants du Thym, est hépatotoxique. Chez l'enfant, 10 ml eugénol peut conduire à une insuffisance rénale. Il a été démontré que le linalol, l'un des constituants d'une autre espèce de thym, est cytotoxique pour les cellules de la peau humaine (Eisenhut, 2007 in Elkolli, 2008).

En règle générale, les huiles essentielles ont une toxicité aigue par voie orale faible ou très faible : la majorité des huiles qui sont couramment utilisées ont une dose létale (DL50)

comprise entre 2 et 5 g/kg (Anis, Eucalyptus, Girofle...etc.) ou, ce qui est le plus fréquent, supérieure à 5 g/kg (Camomille, Lavande...etc.).

D'autres, une quinzaine, ont une DL50 comprise entre 1 et 2 g /kg : Basilic, Estragon, Hysope (1,5ml/kg). Les plus toxiques sont les huiles essentielles de Boldo (0,13 g/kg ; convulsions apparaissant dès 0,07 g/kg), de Chénopode (0,25 g/kg), de Thuya (0,83 g/kg), ainsi que l'essence de moutarde (0,34 g/kg) (**Bruneton, 1999**).

I-11 Conservation des HEs

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque cinq ans. Les huiles essentielles sont volatiles, il ne faut donc pas oublier de bien fermer les flacons. Il est préférable de les conserver dans un flacon en aluminium ou en verre teinté (brun, vert, ou bleu) et de les garder à l'abri de la lumière à une température ambiante jusque vingt degrés. Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles (**AFNOR NF T 75-001, 2010**) ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HEs.

I-12 Propriétés biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur connaît également des propriétés anticancéreuses (**Valnet, 2005**).

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son «totum» ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (**Lahlou, 2004**).

I-13 Domaine d'utilisation

I-13-1 Phytothérapie

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les HE pour un certain nombre de maladies. Cette spécialité préoccupe de plus des médecins et des pharmaciens qui ont publié un nombre important d'ouvrages d'aromathérapie (**Roulier.,1992**).

Les HE sont largement utilisés pour traiter certaines maladies internes et externes (infection d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HE ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries. La Listerine qui est une solution constituée d'HE de thymol et d'eucalyptol possède une grande activité bactéricide sur les microorganismes de la salive et de la plaque dentaire (**Kato et al.,1990**).

-utilisation en aéro-ionisation :

Dans les locaux ,on peut aseptiser l'atmosphère avec un ionisateur d'huiles essentielles.

Il se forme ainsi des aérosols vrais aromatiques, ionisés, créant de l'oxygène naissant ionique, fortement bactéricide, tout en contribuant à dépolluer l'atmosphère(**Taldykin.,1979**).

Elles servent dans la fabrication du « paragerm »,solution volatile à base d'essences naturelles

(citron, lilas) à activité bactéricide, acaricide et fongistatique qui s'est révélée sans aucune Toxicité pour l'homme aux doses utilisées (**Mallea et al.,1979**).

I-13-2 Parfumerie et cosmétologie

L'utilisation des HE dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à Leur activité antiseptique et antioxydante ,tout en leur assurant leur odeur agréable.

I-13-3 Industrie alimentaire

En industrie alimentaire,on cherche toujours à avoir une conservation saine et de longue duréePour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure.

Une nouvelle technique pour réduire la prolifération des micro-organismes réside dans

L'utilisation des HE (**Lis-Balchin et al .,1998**).les plantes aromatiques et leur HE sont utilisées dans la conservation des denrées alimentaires.parmi le groupe diversifié des constituants Chimiques des HE, le carvacrol,qui exerce une action antimicrobienne bien distinguée, est Additionné à différents produits alimentaires en industrie agro-alimentaire.ils y sont rajoutées Pour rehausser le gout et pour empêcher le développement des contaminants alimentaires(**Bilgrami et al.,1992**).

Plusieurs travaux ont montré que les HE de thym, d'origan , de cannelle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxinogenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infections alimentaires(**Beraoud et al.,1991**).

II-Activité antimicrobienne des huiles essentielles

II-1 Activité antimicrobienne

II-1.1 Activité antifongique

Selon Vokou et al. (1988), les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des *Labiaceae* : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge,...etc. Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence

de certaines fonctions chimiques. Ils ne concluent que les phénols (eugénol, chavicol 4-allyl-2-6- diméthoxyphénol) sont plus antifongiques et que les aldéhydes testés (cinnamique et hydro cinnamique). Ils présentent également des propriétés fongistatiques très marquées. Les groupements méthoxy, à l'inverse, ne semblent pas apporter à ce type de molécules une fongitoxité significative.

II-1.2 Activité antibactérienne

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des H.E, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Marjorie., 1999). De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des H.Es sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (Gachkar et al., 2007). Le mode d'action des H.E dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (Cox et al., 2000).

II-1.2.1 Mécanisme d'action antibactérienne

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et de la nature de leurs composés volatils majeurs (Caillet et al., 2007). D'une manière générale leur action se déroule en trois phases :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieure de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

II-1.2.2 Méthode de détermination de l'activité antibactérienne

L'examen des données bibliographiques fait apparaître la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antibactérienne des H.E. Le choix de la méthode est conditionnée par l'insolubilité des H.Es dans les milieux aqueux, leur volatilité, et la nécessité de les tester à de faibles concentrations.

II-1.2.2.1 Aromatogramme

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale appelée antibiogramme ou méthode de disques ou méthode par diffusion en milieu gélosé. La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester, puis déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelée zone d'inhibition est proportionnel à l'activité bactériostatique de H.E sur le germe testé (figure 7). On peut exprimer cette activité soit en indiquant directement le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre, soit en traduisant en croix le degré d'activité (Guerin et Carret., 1999).

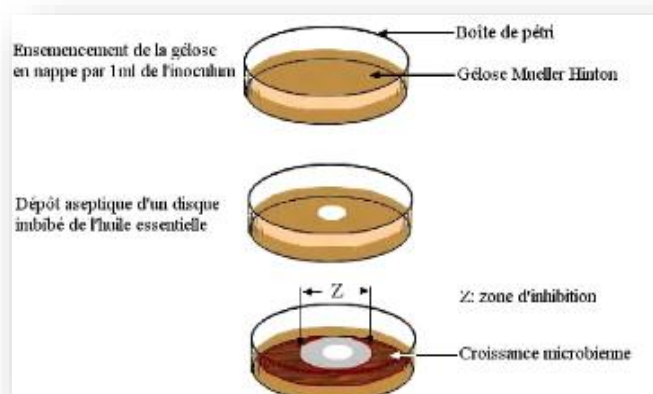


Figure 6: Méthode de détermination de l'activité antibactérienne par L'aromatogramme (Guerin et Carret., 1999).

II-1.2.2.2 Méthode de diffusion en puits

Méthode proposée par Cooper et Woodmanen 1946 et, reprise par Shroeder et Messing en 1949. Elle assure une diffusion radiale de l' H.E à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire facilement mesurable. La méthode consiste à découper un trou circulaire dans la gélose et y verser une solution de l' H.E de concentration connue.

L' H.E diffuse radialement en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne (Eymard, 2003).

II-1.2.2.3 Méthode de la dilution

Les huiles essentielles à tester peuvent également être directement mélangées en concentration connue au milieu de culture, qu'il soit solide ou liquide (exige la dispersion homogène par un émulsifiant). Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de

microorganismes, après incubation, on note la présence ou l'absence de culture. La lecture peut-être visuelle ou à l'aide d'un spectrophotomètre, le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu (**Robert, 2000**).

II-1.2.2.4 Méthode de micro-atmosphère

Cette technique consiste à cultiver les microorganismes à tester dans les biotes de pétri sur milieu de culture approprié. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné d' H.E qui est déposé au centre du couvercle de la boîte de pétri, renversée après fixation de l' H.E sur le disque (figure 8). Celui-ci n'est donc pas en contact avec le milieugélosé. L'huile s'évapore dans l'atmosphère de la boîte, elle peut exercer son effet inhibiteur sur les microorganismes testés (**Pibiri, 2005**).

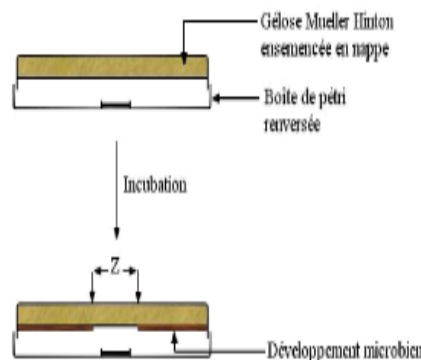


Figure7: Méthode de détermination de l'activité antibactérienne par micro-atmosphère(**Pibiri, 2005**)

II-1.2.3Détermination CMI

Cette technique de détermination des CMI par contact direct en milieu gélosé ou liquide, consiste à disperser l'agent antimicrobien en concentration variable de façon homogène et stable dans le milieu de culture du germe étudié. Cette technique, très fiable et reproductible pour les agents antimicrobiens hydrosolubles, pose un problème de diffusion et d'homogénéité de dispersion avec les HE qui ont une très faible solubilité dans les milieux de culture aqueux. Ce problème a été résolu en partie par l'utilisation d'émulsions des HE dans des solutions de différents détergents comme le Tween 20 et le Tween 80 ou le DMSO (**CLSI, 2007**).

Chapitre 3. Généralités sur les souches microbiennes étudiées

I-Généralités sur les bactéries

I-1 *Escherichia coli*

C'est un bacille Gram négatif, de la famille des Entérobacteriaceae, anaérobie facultatif possédant des cils péritriches et flagelles. C'est une bactérie commensale du tube digestif des animaux et de l'homme. La présence des populations d'*E. coli* dans l'intestin crée une compétition pour le territoire et les ressources alimentaires, limitant ainsi les invasions par d'autres espèces bactériennes (**Blanc et al., 2006**).

Certaines souches d'*E. coli* peuvent être pathogènes, entraînant alors des gastro-entérites, infections urinaires, méningites ou septicémies.

Ce sont des bacilles dont 70% sont mobiles, non sporulés, de 2,5 µm de long et 0,6 µm de large (figure 10). *E. coli* est utilisée en génie génétique pour l'obtention de l'insuline glargine analogue de l'insuline humaine (**Scheen., 2004**).

Ce microorganisme n'existe pas normalement dans l'eau et dans le sol, leur présence est donc indicateur de contamination fécale.

Les caractères biochimiques d'*Escherichia coli* sont :

- Gaz en glucose +.
- Lactose, mannitol, sorbitol +.
- β -galactosidase +.
- indole +.
- rouge de méthyle +, Voges-Proskauer -.
- phénylalanine-désaminase, uréase, gélatinase, malonate, adonitol, inositol, H₂S, citrate de Simmons -.

La plupart des souches poussent sur milieu synthétique minimum (**Singleton., 1984**).

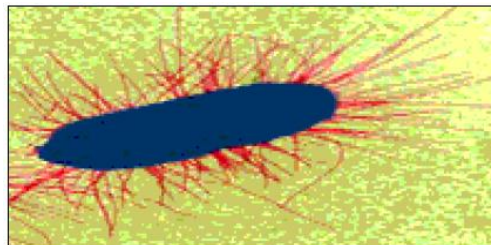


Figure 8: *Escherichia coli* au microscope électronique

(<http://education.denniskunkel.com>).

I-2 *Pseudomonas aeruginosa*

C'est un bacille pyocyanique (bacille du pus bleu) (du grec : *puon*, pus ; et du latin : *cyaneus*, bleu foncé), est maintenant désigné sous le nom de *Pseudomonas aeruginosa* (du latin : *aes*, airain, cuivre ; *aerugo*, roille d'airain, vert de gris ; *aeruginosus*, couvert de rouille). C'est une bactérie gram négative, bâtonnets (0,5-1 μm x 1,5-5 μm). Elle est extrêmement mobile grâce à une ciliature polaire en générale monotriche (figure 11)(Singleton., 1984).

Pseudomonas aeruginosa possède souvent des granulations plus fortement colorées.

Cette bactérie qui vit à l'état saprophytique dans l'eau, les végétaux, les sols humides ; résiste mal à la dessiccation. Elle peut vivre en commensal dans le tube digestif de l'homme et de divers animaux, et elle peut exercer un pouvoir pathogène chez certains de ces hôtes. Sur le plan médical, cette bactérie est habituellement incluse dans la liste des « bactéries pathogènes », elle est définie comme un agent pathogène « opportuniste », car elle provoque chez l'homme et l'animal des suppurations diverses, particulièrement fréquentes en milieu hospitalier (Scheen., 2004).

P. aeruginosa est capable de produire de nombreux métabolites diffusant dans le milieu environnant, beaucoup d'entre eux sont toxiques, et sont susceptibles de jouer un rôle soit dans la virulence de la bactérie, soit dans la protection contre la maladie « rôle pathogène naturel » (Singleton., 1984).

Il montre également une capacité de résister aux antibiotiques, soit de façon native (par l'expression constitutive de β -lactamases, ou en raison d'une faible perméabilité de la membrane externe), soit suite à l'exposition aux antibiotiques (acquisition de gènes codant pour des enzymes détruisant les antibiotiques, mutation de cible...) (Blanc *et al.*, 2006). Les caractères biochimiques de *Pseudomonas aeruginosa* sont :

- Oxydase +.
- Indole - .
- urée - .
- TDA - (tryptophane-désaminase).
- H₂S - .
- gélatine +.
- Nitrate-réductase +.
- ONPG - (orthonitrophényl-galactose).
- LDC - (Lysine-décarboxylase).

- ODC - (Ornithine-décarboxylase).
- ADH + (Arginine-déshydrogénase).

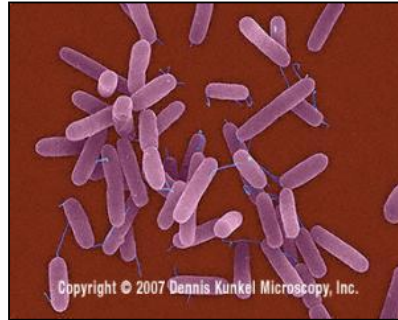


Figure9: *Pseudomonas aeruginosa* au microscope électronique

(<http://education.denniskunkel.com>)

I-3 *Staphylococcus aureus*

Observés par Robert Koch en 1878 et puis reconnus par Louis Pasteur en 1880 le *Staphylococcus aureus*, également appelé *staphylocoque doré*, (du grec « staphyle » qui signifie grappe de raisin) est une cellule cocciforme de 0.8 à 1 μm de diamètre (figure 12), à Gram positif, immobile, non capsulé sauf de très rares souches sont entourées d'un pseudo capsule sporulé, isolé en diplocoques et le plus souvent en amas ayant l'aspect d'une grappe de raisin et pouvant causer plusieurs types d'infections. L'homme est considéré comme étant un réservoir naturel de *Staphylococcus aureus* ; 30 à 40 % des adultes en bonne santé en sont porteurs, c'est à dire que l'on peut trouver ces germes temporaires ou permanents au niveau de la peau et des muqueuses (fosses nasales, gorge, périnée, aines, nombril, aisselles) (Euzéby, 2010).

Les premières souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) ont été décrites pour la première fois en 1961. Ayant développé une multi résistance avec le temps, le type SARM est devenu problématique dans les années 90 (Singleton., 1984).

Suite à l'emploi excessif d'antibiotiques et à des mesures hygiéniques insuffisantes, un pourcentage de plus en plus important de souches de *Staphylococcus aureus* devient résistant à la méthicilline. Cela signifie que ces souches sont résistantes à tous les antibiotiques β -lactames (Blanc *et al.*, 2006).

Les caractères biochimiques de *Staphylococcus aureus* sont :

- catalase, coagulase +.
- oxydase -.

- glucose + (sans dégagement de gaz).
- Mannitol +.

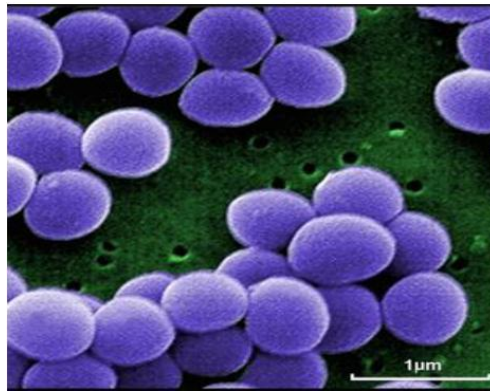


Figure10: *Staphylococcus aureus* au microscope électronique
(<http://www.bacteriainphotos.com>).

I-4 *Klebsiella pneumoniae*

K. pneumoniae est une bactérie appartenant à la famille des Entérobacteriaceae, elle représente l'espèce type du genre *Klebsiella*. Elle fait partie de la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux en faible quantité.

C'est un bacille Gram négatif de 1 à 4 μm de long sur 0,4 à 0,6 μm de large (figure 13), immobile généralement entouré de capsule polysidique donnant un aspect muqueux typique du genre. C'est une bactérie aéro-anaérobie facultative (Blanc *et al.*, 2006).

Les caractères biochimiques de *Klebsiella pneumoniae* sont :

- Glucose +.
- Oxydase –.
- Catalase, Nitrate réductase, β-galactosidase +.
- Production H₂S –.
- Tryptophane désaminase –.
- Voges-Proskauer –.

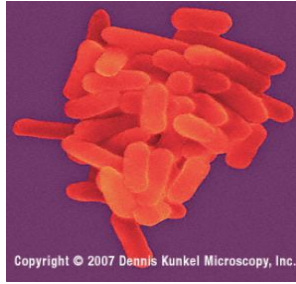


Figure11:*Klebsiella pneumoniae* au microscope électronique
(<http://education.denniskunkel.com>)

I-5 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus est un gros bacille (figure 14), a gram + mobile par une ciliature péritriche capable de sporuler il persiste longtemps grâce leur spores.

Bacillus cereus c'est une bacille responsable d'intoxication alimentaire peu fréquentes et peu grave chez les sujets en bonne sante(**Euzéby, 2010**).

Les Caractères biochimiques de *Bacillus cereus* sont:

- catalase +.
- Oxydase –.
- Gélatinase +.
- Uréase –.
- Maltose +.
- Saccharose +.

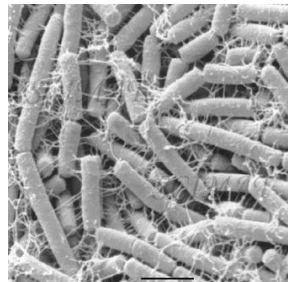


Figure 12:*Bacillus cereus* au microscope électronique
(<http://www.bacteriainphotos.com>).

Matériels et méthodes

I. Matériels

I.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans ce travail, comporte la partie aérienne (les fleurs et les feuilles) de *Artemisia campestris*.

I.1.1. Lieu et période de récolte

L'espèce *Artemisia campestris* a été récoltée de la commune d'El MILOK à 10 km de la willaya de Laghouat. L'échantillonnage est effectué durant le mois de Mars 2017, où on a observé que le développement et la diversité floristique d' *Artemisia* sont au stade maximal.



Figure13:Photo *Artemisia campestris* L. (Bouzekri, 2017).

I.1.2. Préparation et nettoyage du matériel végétal

Après la récolte, le matériel végétal est débarrassé des débris. Pour s'assurer de la bonne conservation de notre plante, un séchage à l'air libre et à l'obscurité pendant une semaine a été réalisé, afin de préserver au maximum l'intégrité de leurs molécules. La plante séchée est ensuite conservée à l'abri de la lumière et l'humidité pour être utilisée ultérieurement.

I.2. Souches microbiennes

Les souches bactériennes choisies pour cette étude sont des bactéries pathogènes impliquées fréquemment dans la contamination et l'altération des denrées alimentaires. Les souches testées ainsi que leur origine sont indiquées dans le Tableau (2).

Tableau2: Origines des souches utilisées dans les différents tests d'activité antimicrobienne.

		Gram	Code	Origine
Bactéries	<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 6538	MNHN
	<i>Bacillus cereus</i>		ATCC 25921	LAPRONA
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	négatif	ATCC 27853	LAPRONA
	<i>Escherichia coli</i>		ATCC 8739	MNHN
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		IBMC Strasbourg	MNHN

MNHN : Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris).

LAPRONA : Laboratoire des Produits Naturels (Université de Tlemcen).

II. Méthodes

II.1. Procédé d'extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation grâce à un appareil du type Clevenger(Figure15). Cette technique est basée sur l'immersion d'un échantillon solide dans l'eau portée à ébullition. La vapeur saturée d'huiles essentielles traverse un serpentin ou elle se condense pour donner deux produits : l'eau et l'huile essentielle.



Figure 14 : Photo représente le dispositif d'hydrodistillation (Clevenger) utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle. (Bouzekri et Ben Khamassi.,2017).

- **Mode opératoire**

150 gramme des feuilles et des fleurs séchées ont été mises dans une fiole de 2000 ml qui fut remplie avec 1200ml d'eau distillée, la fiole avec son contenu a été mise sur le chauffe-ballon. Les huiles essentielles entraînées par les vapeurs d'eau générées dans la fiole sont dirigées vers le code cygne (le coude) qui relie la fiole avec le réfrigérant. Une fois arrivées dans le réfrigérant, elles se condensent rapidement et se retrouvent dans l'ampoule à décantation qui permet la séparation immédiate de l'essence par sa densité. Après 4 heures d'extraction, l'huile essentielle a été recueillie dans un petit tube à essai en verre hermétique et recouvert de papier aluminium pour le protéger de la lumière. On le conserve au réfrigérateur à 4 °C.

II.1.1 Calcul de rendement

Le rendement en H.E est le rapport entre le poids de H.E extraite et le poids de la biomasse végétale à traiter (AFNOR, 1992). Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$R = \left(\frac{P_h}{P_v} \right) \times 100$$

Avec :

R: rendement en H.E en %.

P_h : Poids de H.E en gramme.

P_v : Poids de biomasse végétale en gramme.

II.1.2 Détermination de la densité de l'HE

La densité relative de l'huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume de l'huile et la masse d'un égal volume de l'eau distillée (AFNOR, 1992). La densité est calculée selon la relation suivante :

$$D = \frac{P_{HE}}{P_E}$$

P_{HE} : poids de l'H.E en gramme.

P_E : poids de même volume d'eau en gramme.

II.3. Evaluation de l'activité antibactérienne

Le test de sensibilité des souches vis-à-vis de notre extrait a été effectué selon la méthode de diffusion des disques décrits par Wyllie (2000).

II.3.1. Les milieux de culture

Suivant les méthodes employées, et selon les souches, nous avons utilisé les milieux de cultures suivants : Milieu liquide BHIB ; Milieu liquide Bouillon nutritive ; et Milieu Mueller Hinton et l'eau physiologie. La composition chimique de ces différents milieux de culture se trouve en Annexe.

II.3.2. Les antibiotiques

Les antibiotiques utilisés dans ce test sont regroupés dans le **Tableau(3)**. Le choix des antibiotiques a été fait en fonction de la disponibilité et selon les souches testées.

Tableau 3: Les antibiotiques utilisés dans ce test et leur concentration

Abréviation et concentration	L'antibiotique
NA : 30µg	Acide Nalidixique
IMI: 10µg	Imipénème
CN: 10µg	Gentamicine
AML : 30µg	Amoxicilline
AMP :10 µg	Ampicilline
CTX :30µg	Céfataxime
FOX: 30µg	Cefoxitine
AK : 30µg	Amikacin
TIM85µg	Ticarciline+Acide Clavulanique

II.3.3. Méthode de diffusion (méthode des disques)

La méthode de diffusion en milieu gélosé ainsi appelée permet de prévoir avec certitude l'efficacité *in vitro* de l'huile essentielle, il s'agit en fait d'une appréciation qualitative de l'activité.

L'aspect quantitatif sera ensuite estimé par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

II.3.3.1. Préparation de l'inoculum

Préparation de pré-culture :

Les tests antimicrobiens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de (18 à 24 heures) en phase de croissance exponentielle.

La réactivation des souches est effectuée par ensemencement de l'espèce bactérienne dans un milieu liquide l'eau physiologique. Après incubation pendant 24 heures à 37°C, un deuxième repiquage est réalisé dans des boîtes de pétri contenant de la gélose (MH) et puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Préparation de la suspension : A partir des cultures jeunes sur (MH) .on prélève 3 à 5 colonies bien isolées et identiques dans 9ml d'eau physiologique stérile, on agite au vortex pendant quelques secondes .la standardisation de la suspension 10^6 UFC/ml, est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620 nm on admet une DO comprise entre 0,08 et 0,1.

II.3.3.2.Test de l'activité antimicrobienne

L'aromatogramme consiste à déposer des disques de papiers filtres imprégnés d'huiles essentielles sur la surface des géloses ensemencées par le germe à tester et de mesurer les diamètres d'inhibition en millimètre (mm) après incubation (**Guerin et Carret., 1999**).

- **Mode opératoire**

- **Ensemencement :** est effectué par écouvillonnage, à partir de l'inoculum fraîchement préparé, 1ml de chaque suspension de culture microbienne de concentration d'environ(10^6 UFC/ml) et une DO entre 0 ,08 et 0,1.
- **Dépôt de disques :**A l'aide d'une pince stérile, on prélève un disque de papier Wattman° 2 de (diamètre : 6mm)préalablement stérilisés sont déposés à la surface de gélose ensemencée après avoir été chargé de 10 µl d'huile essentielle.
- **Incubation :**Les boîtes sont incubées pendant 24 à 37°C.
- **La lecture :** se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse sur le fond de la boîte.

II.3.3.3.Test de sensibilité aux antibiotiques

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet de nos extraits des huiles essentielles.

Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.

La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole qu'avec les disques de papiers imprégnés d'extrait.

On a utilisé neuf antibiotiques en fonction de la disponibilité (Tableau 3). La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque d'antibiotique à l'aide d'un pied de coulisse sur le fond de la boîte.

II.3.3.4.Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice CMI

Pour déterminer la valeur de la CMI de l'H.E de *Artemisia*, une série des dilutions suivantes : 1/4000 à 1/50 est établie dans des tubes à essais contenant 9 ml de bouillon B.H.I.B contenant 0,5% de Tween 80. Les tubes à essais sont ensuite inoculés par les cultures bactériennes préparées dans l'eau physiologique à une densité optique de 0,08 à 0,1 déterminée à 620nm. Les tubes sont incubés pendant 24 h à 37°C. La CMI sera donnée par la concentration de l'huile essentielle du premier tube qui ne montre pas une croissance (trouble) visible à l'œil nu (KATO *et al.*, 2000 ; Aligiannis *et al.*, 2001).

Résultats et discussion

I. Les caractéristiques de l'huile essentielle de *Artemisia campestris*:

L'huile essentielle de *Artemisia campestris* est extraite par la technique d'hydrodistillation à partir de la partie aérienne (feuilles et fleurs). L'HE obtenue est liquide mobile, d'une coloration jaune claire et d'une odeur caractéristique fraîche (Figure 16).

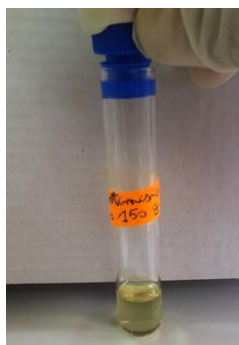


Figure15 :Photo de l'H.E de *Artemisia campestris* obtenue par hydrodistillation. (**Bouzekri et Ben Khamassi.,2017**).

Les paramètres organoleptiques de l'huile essentielle de *A. campestris* sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR (**AFNOR, 1992**).

I.1. Rendement et densité de l'HE

La première quantification à faire est celle du rendement en huile essentielle obtenue par la technique d'hydrodistillation.

Le Tgouft de la région de Laghouat renferme une teneur plus ou moins élevée en HE. Le rendement d'extraction ainsi obtenu est de 0.85% avec une densité de 0.677.

La variation des teneurs en HE du Tgouft récolté de différentes zones géographiques peut-être due aux facteurs climatiques, à la localisation géographique, le cycle végétatif de la plante, de la méthode d'extraction utilisée, des conditions de séchage de la plante, et des facteurs édaphique (**Khia et al., 2014**).

II. l'activité antimicrobienne

Les résultats du test de sensibilité microbienne aux extraits sont regroupés dans le (Tableau 5), Les valeurs indiquées sont les moyennes de deux mesures. L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier chargé d'huile essentielle du Tgouft. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre (**Gachkar et al., 2007**).

II.1. Résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme consiste à rechercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques. Le Tableau (4) reporte les valeurs, en millimètre, des zones d'inhibitions atteintes avec les différentes souches étudiées.

Les résultats montrent que les neuf antibiotiques possèdent des effets distincts sur les bactéries testées. On observe que les différentes souches bactériennes réagissent différemment aux antibiotiques testés.

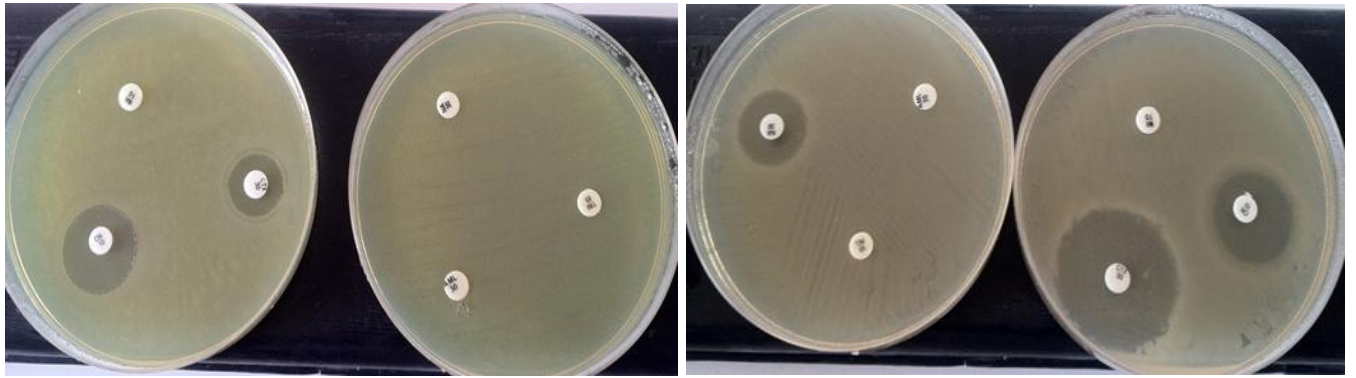
Selon **Duraffourd et al. (1990)** la sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 8 mm ; la sensibilité est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm. Elle est moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm le germe est très sensible.

Selon cette classification et d'après les résultats indiqués dans le Tableau 4 on constate que parmi les souches étudiées à Gram Négatif *Pseudomonas aeruginosa* se révèle résistante vis-à-vis de la plus part des antibiotiques testé et *Klebsiella pneumoniae* a une sensibilité élevée à l'NA, l'CN, l'CTX, l'FOX, et l'AK mais résistante vis-à-vis de l'IMI, l'AML et l'AMP. La bactérie *E. coli* est résistante seulement à l'IMI.

Concernant les souches Gram positif, *Staphylococcus aureus* est sensible pour toute les antibiotiques mais résiste à l'IMI, tandis que *Bacillus cereus* est plus ou moins résistante.

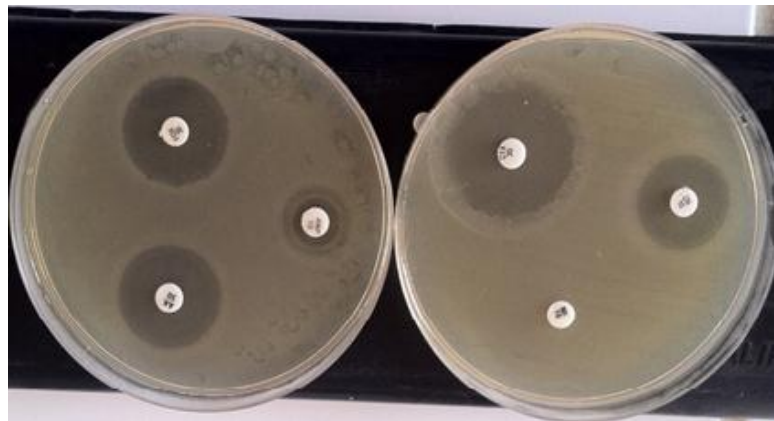
D'après ces résultats on remarque que les bactéries a gram positif sont plus sensibles à la majorité des antibiotiques testés par rapport aux bactéries a Gram Négatif. Nos résultats sont similaires par rapport à ceux trouvé par **Yang Jianget al.(2011)**.

La sensibilité ainsi que la résistance des souches microbiennes testés aux différent antibiotique sont représenté dans figure (16).

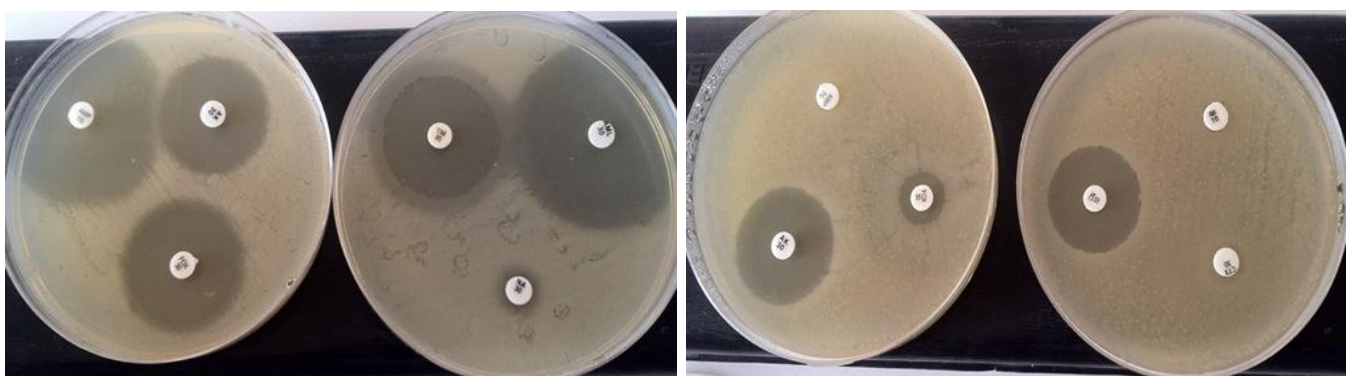


Pseudomonas aeruginosa

Klebsiella pneumonia



Escherichia coli



Staphylococcus aureus

Bacillus cereus

Figure16 : sensibilité des microorganismes aux différents antibiotiques testés.

Tableau4:Activité antimicrobienne des antibiotiques exprimée par le diamètre d'inhibition en millimètre.

Antibiotique	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)				
	Gram Négatif			Gram positif	
	<i>Ec</i>	<i>Pa</i>	<i>Kp</i>	<i>Sa</i>	<i>Bc</i>
NA : 30µg	21.2±0.424	6±0	17.55±0.777	7.8±0.141	11.55±0.353
IMI: 10µg	6±0	6±0	6±0	6±0	6±0
CN : 10µg	21.075±0.007	19.65±0.212	20.5±0.424	27.15±0.494	24.15±0.07
AML:30µg	10.5±0.282	6±0	6±0	44.55±0.07	6±0
AMP:10 µg	10.35±0.07	6±0	6±0	41.75±0.777	6±0
TIM:85 µg	12.45±0.07	6±0	6±0	29.2±0.424	6±0
CTX:30µg	28.05±0.494	14.3±0.141	29.75±0.636	25.2±0.424	6±0
FOX:30µg	23.55±0.07	6±0	17.8±0.565	28.4±0.424	12.4±0.141
AK:30µg	24.35±0.212	25.25±0.212	20.8±0.282	28.15±0.353	27.1±0.141

Ec : *Escherichia coli* ; *Pa*: *Pseudomonas aeruginosa*; *Kp* : *Klebsiella pneumoniae* ; *Sa* : *Staphylococcus aureus* ; *Bc* : *Bacillus cereus*

II.2. Résultats des tests antimicrobiens des huiles essentielles par les méthodes des disques de diffusion

La méthode de diffusion des disques (10 µl HE/disque) nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris*, vis-à-vis de cinq bactéries. Les résultats du test de sensibilité microbienne aux extraits sont regroupés dans le (Tableau 5). Les valeurs indiquées sont les moyennes de deux mesures.

Tableau 5: Diamètres (mm) des zones d'inhibition de l'effet antimicrobien de l'HE du Tgouft déterminé par la méthode diffusion sur disque (10 µl/disque).

	Gram	Microorganismes testés	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
Bactérie	Positif	<i>Bacillus cereus</i>	13.25±0.777
		<i>Staphylococcus aureus</i>	16.45±0.777
	Négatif	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R
		<i>Escherichia coli</i>	R
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R

R : résistance

D'après le Tableau (5), nous constatons facilement que la plus part des souches microbiennes testées présentent une sensibilité nulle vis-à-vis de l'huile essentielle du *Artemisia campestris*. L'activité antimicrobienne de l'HE du Tgouft est faible lorsqu'elle est comparée par rapport à celle des antibiotiques (Figure17). Seulement, deux bactéries *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* ce sont montrées sensibles à l'HE.

Les bactéries Gram négatif, ayant une membrane externe composée de phospholipides, de protéines et riche en molécules de lipopolysaccharides, leur membrane formant une barrière imperméable (Euzéby, J. P., 2010). qui empêche l'entrée de substance environnementale comme les antibiotiques et les anti-inhibiteurs (Marjorie MC., 1999).la membrane est également associée à l'enzyme dans l'espace périplasmique qui sont capables de décomposer la molécule introduite de l'extérieur en revanche, les bactéries Gram-positives sont plus sensibles ayant seulement une couche de peptidoglycane externe qui n'est pas une barrière de perméabilité effective (Euzéby, J. P., 2010).

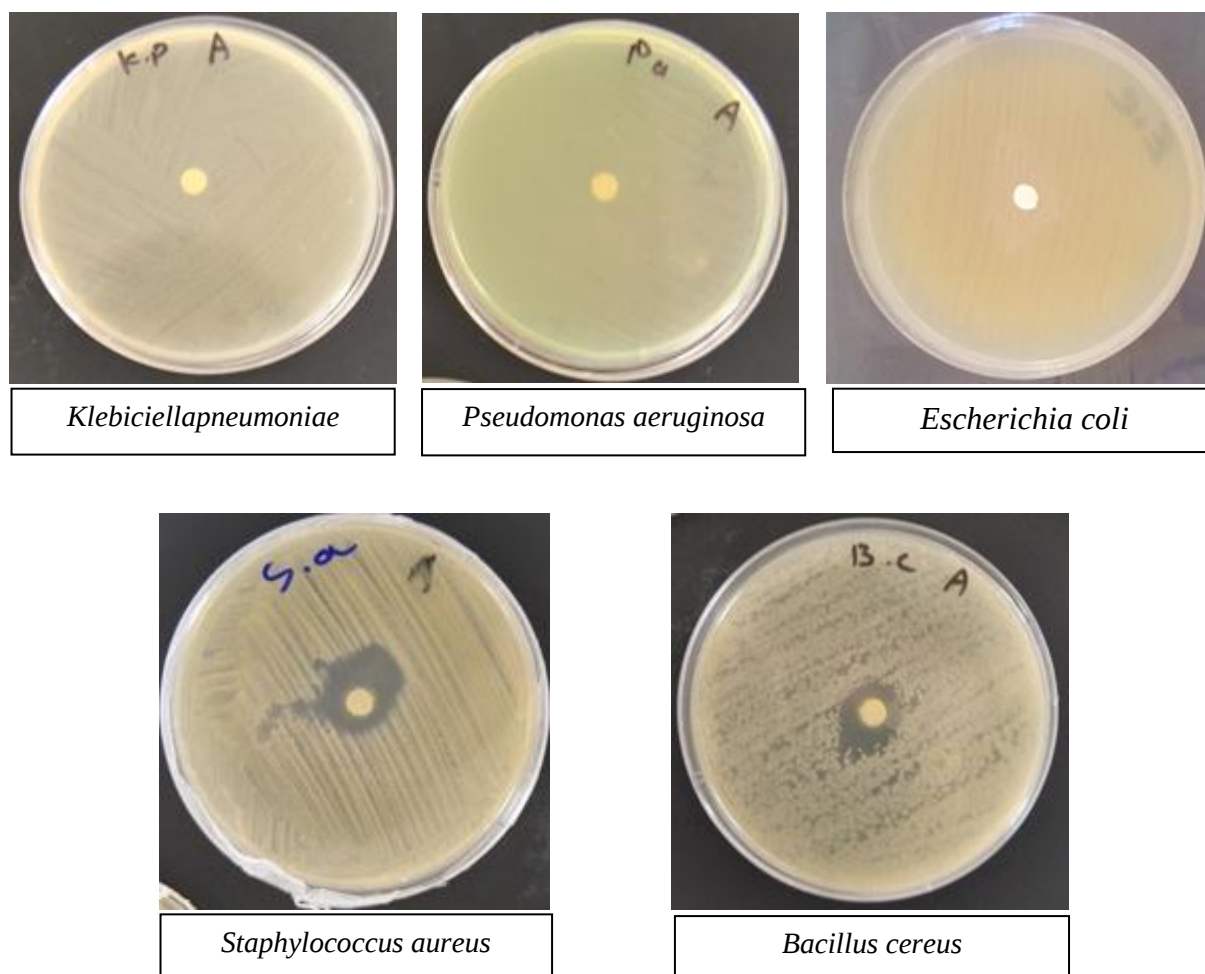


Figure17: diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* sur les cinq souches testés.

Nos résultats sont accord avec ceux trouvés par d'autres chercheurs. D'après **Al Jahid et Elamrani (2017)** ont signalé que *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sont résistantes par contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus sp* sont sensibles vis-à-vis de l'huiles essentielles d'*Artemisia campestris*. Ces auteurs ont trouvé des zones d'inhibition de 12, 10, 72.6 et 18.5 mm pour *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus sp*, respectivement.

L'activité antibactériennes de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* peu être due aux monoterpènes tels que le myrcene, le pinene, l'ocimene, le cymene, le sabinene camphre qui sont les composés majoritaires de cette huile (Gherib, 2009).

II.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice CMI

La CMI a été déterminée pour l'ensemble des souches microbiennes testées et les résultats trouvés sont représentés dans Tableau (6).

Tableau6 : les concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris*.

Souche bacterienne	CMI (mg/mL)
<i>Bacillus cereus</i>	2.36
<i>Staphylococcus aureus</i>	3.08

Selon **Aligiannis et al. (2001)** ont propose une classification des extraits du matériel végétal sur la base des résultats des CMI comme suit :

- Fort inhibition : CMI inférieure à 500µg /ml.
- Inhibition modérée : CMI varie de 600 à1500 µg/ml
- Faible inhibition : CMI supérieureà1600 µg /ml.

D'après cette classification on peu dire que l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* exerce une faible inhibition sur les deux souches bactériennes *S.aureus* et *B. cereus*. Cete derniere est la plus sensible vis-à-vis de l'huile essentielle.

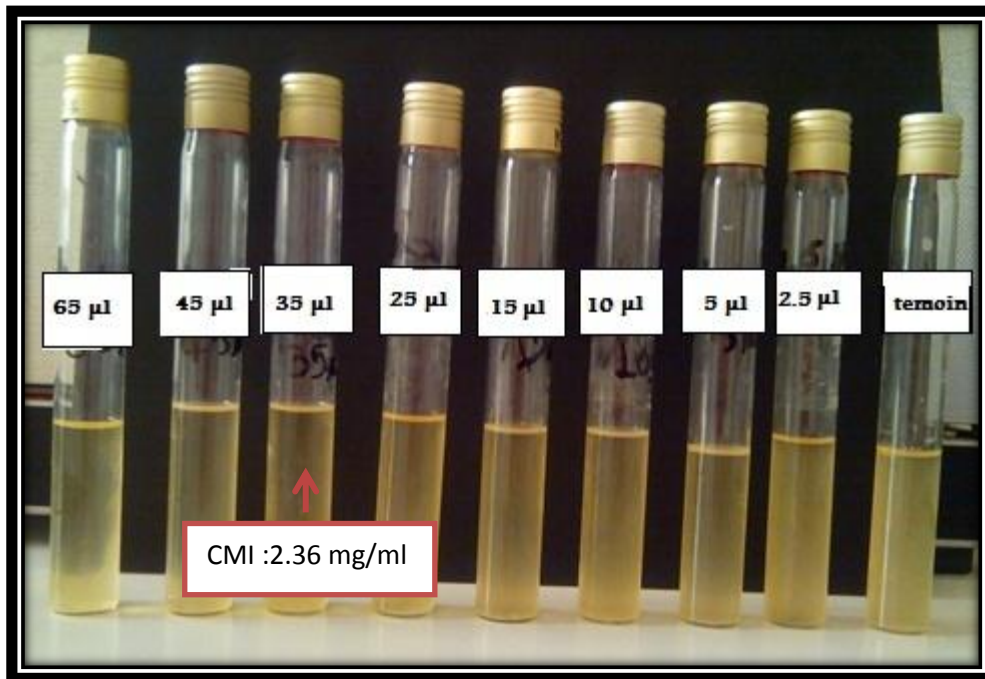


Figure18: Photoreprésente la CMI de *Artemisia campestris* sur *Bacillus cereus*.

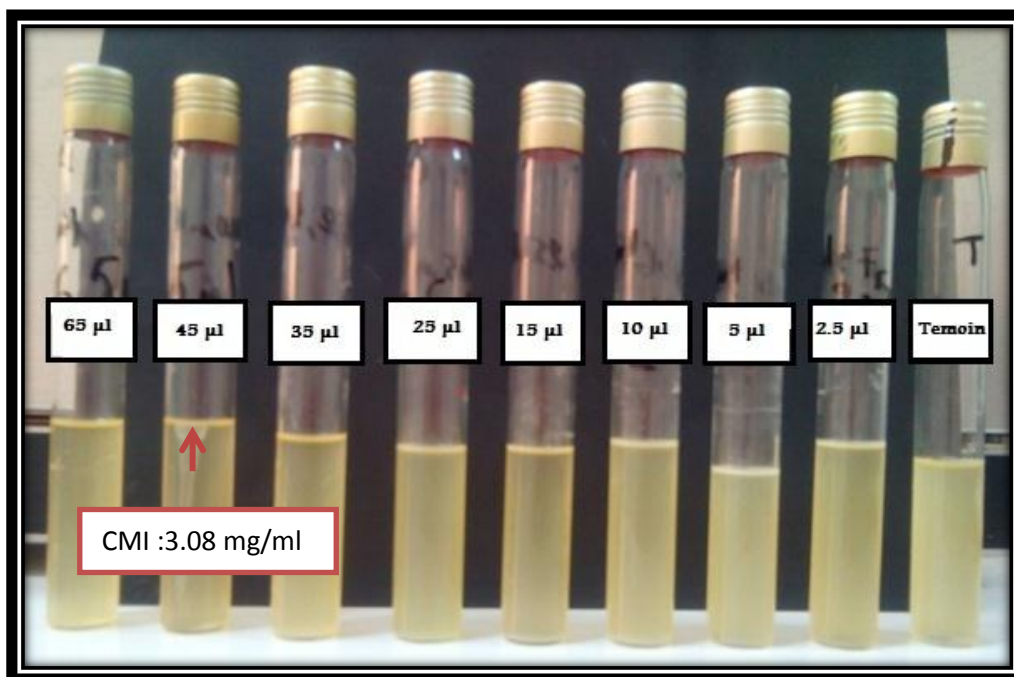


Figure19: Photo représente la CMI de *Artemisia campestris* sur *Staphylococcus aureus*.

Conclusion

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales aromatique a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes aromatique représente une source abondante de substances et de composés naturels bioactifs en particulier les huiles essentielles et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Durant ce travail, nous avons pu étudier les propriétés antibactériennes de l'huile essentielle d'*Artémisia compestris* de la région de Laghouat. L'extraction de l'huile essentielle de cette plante ont été réalisée à l'aide du procédé d'hydrodistillation. D'après les résultats qu'on a obtenus *Artemisia campestris* renferme une teneur relativement faible en huile essentielle.

L'évaluation de l'activité antibactérienne, par la méthode des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle vis-à-vis de cinq bactéries. L'huile essentielle d'*Artemisia campestris* inhibe la croissance des bactéries à Gram positif (*Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*) par contre elle a une faible activité antibactérienne sur *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*. D'après les valeurs de la CMI *Bacillus cereus* semble être la souche la plus sensible vis-à-vis de cette huile.

Il serait envisageable de réaliser d'autres expériences complémentaires surtout pour identifier les agents antibactériens présents dans l'huile essentielle en réalisant une analyse chromatographique en phase gazeuse et également de rechercher d'autres activités antimicrobiennes tels que l'activité antifongique.

Références bibliographiques

- AFNOR Janvier 2010.** Liste des actualités : Huiles essentielles : extrait d'une norme fondamentale. <http://www.afnor.org/liste-des-actualités> (RESALA), p.1-8, 6ème édition, AFNOR, Paris.
- AFNOR., (1992).** Recueil des normes françaises sur les huiles essentielles. (Paris).
- Akrout A., Chemli R.C., Chrief., and Hammami M. (2001).** Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. J. Flavour Fragr. 16: 337-339.
- Aligiannis N., Kalpotzakis E., Mitaku S., Chinou I. B., (2001).** Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *J. Agric. Food Chem.* 40: 4168-4170.
- Bärtels A., (1997).** Guide des Plantes du Bassin méditerranéen. Editions Ulmer.
- Baser K.H.C. and Buchbauer G., (2010).** Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. Ed. *Taylor and Francis Group, LLC*. United States of America. 994p.
- Beraoud L., Bessière J.M. & Tantaoui Elaraki A. 1991.-** Chemical composition of the essential oils of selected plant materials used in Moroccan cuisine. *Al-Birunya Rev. Mar. Pharm.*, 7, 49-69.
- Berchep., Gaillard J-L and Simon M. 1989.** Bactériologie bactéries des infections humaines, Médecine-Sciences Flammarion, p109
- BILGRAMI K.S., Sinha K.K. & Sinha A.K. 1992.** Inhibition of aflatoxin production and growth of *Aspergillus flavus* by eugenol, onion, and garlic extracts. *Indian. J. Med. Res.*, 96, 171-175.
- Blanc, V., Mesa, R., Saco, M., Lavilla, S., Prats, G., Miro, B., Navarro, F., Corte's, P., Llagostera, M., (2006).** ESBL - and plasmidic class C β -lactamase-producing *E. coli* strains isolated from poultry, pig and rabbit farms. *Veterinary Microbiology*, 118: 299-304.
- Bruneton J., (1993).** Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. *Tec. & Doc.* Lavoisier, 2ème édition, (Paris). p 915.
- Bruneton J., (1999).** Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. *Tec. & Doc.* Lavoisier 3ème édition, (Paris).
- Caillet S. et Lacroix M., (2007).** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes *Doc*, Lavoisier, (Paris), p: 915.
- Caratini R. (1971).** Bordas encyclopedie. Ed Bodas. Belgique. 32: 137-195
- CLSI ., (2007).** Clinical and Laboratory Standards Institute-Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests methods for antimicrobial susceptibility testing for bacteria isolated from animals-Approved standard- Third edition – CLSI document M11-A7- Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, (USA).
- Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R. & Eisenhut. (2007).** Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarrasicula* (L.) Parl. et de *Filipendula exapetala* Gibb. à l'université Ferhat Abbas. Sétif page 15).
- David A., Hervé M. (1994).** Flore de la suisse. Ed Du Griffon Neuchâtel. Suisse. 428p.
- Duraffourd C., D'Hervicourt L. et Lapraz J. C. (1990).** Cahiers de phytothérapie clinique. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris.
- El-Kirat, S. (2010).** Développement d'outils cellulaires et moléculaires pour l'étude des interactions *Candida* – phagocytes ; Application à la caractérisation du gène OLE2 codant une désaturase chez *C. lusitaniae*. Université Victor Segalen Bordeaux 2, 12-15

- Euzéby, J. P., (2010).** List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47 : 13-17.
- Eymard S., (2003).** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la conservation et de la transformation de chinchard, Thèse de doctorat en Génie de procédés. France.
- Fernandez M., (2003).** De Quelques plantes dites médicinales et de leurs fonctions, Editions Aenigma. P9.
- Gachkar L., Yadegari D., Rezaei MB., Taghizadeh M., Astaneh SA., Rasooli I., (2007).** Chemical and biological characteristics of essential oils. *Food Chemistry*. 102: 898-904.
- Garnero J.(1978)** :l'évolution des méthodes et technique d'analyse dans l'étude de la composition chimique des huiles essentielles.Labo-pharma Problèmes et Techniques n 277.
- Garnero M.J. ,1977.** Problèmes rencontrés au cours de l'étude de la composition chimique des huiles essentielles in Parfumes cosmétiques,aromes.14p :31-40.
- GONZELEZ-TRUJANO, M E. et al (2007).** Evaluation of antinociceptive effect using three different experimental models in rodents. *J theopharmacol*. 111:476-482.
- Guerin. Fauble V et Carret G., (1999).** l'antibiogramme, principe, Méthodologie, Intérêt et limites. *Journées Nationales GTV-INRA*,5-12.
- Guerin.Fauble V et Carret G., (1999).** l'antibiogramme, principe, Méthodologie, Intérêt et limites. *Journées Nationales GTV-INRA*,5-12.
- Hemwimon S., Pavasant P. et Shotiprix A., (2007).** Microwave-assisted extraction of antioxydative anthraquinones from roots of Morinda Citrifolia. Separation and purification Technology, 54, 44,50. Huiles essentielles, Tec & Doc, (Paris), p.522.humaines. Press Med. 30 : 1076-1081.
- HENRICH, et al (2006)** : Ethnobotany and Flavonoids-potent and versatile.
- Jacques G.Paltz.a.-les** Fascinant pouvoir des huiles essentielles.Fascicule du laboratoire "Jaques Paltz".1997
- KATO T., LIJIMA H., ISHIHARA K., KANEK T., Hirai., Naito Y & Okuda K.2000.** Antibacterial effect of listerine on oral bacteria Bull.Tokyo.Dent.Coll..31(4) :301-307.
- Khia, M. Ghanmi, B. Satrani, A. Aafi, M. Aberchane1, B. Quaboul, A. Chaouch, N. Amusant, Z. Charrouf., (2014).** Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis L. du Maroc. Culture de plantes médicinales, 12, 341-347.
- Kundan S., and Anupam S. (2010).** The Genus Artemisia: A Comprehensive Review. *J. Pharm. Biol.* pp: 1-9.
- Kyeong S., and Anwar M., and Jong H.K.(2007).** Effects of the Aqueous Extract from Artemisia campestris ssp. Caudation Mycorrhizal Fungi Colonization and Growth of Sand Dune Grasses. *J.Plant. Biology*.50 (3): 358-361.
- Lahlou M., (2004).** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research* 18 : pp. 435-448.
- Laib Iméne, 2011.** Université mentouri Constantine
- Larousse., (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparations, soins. P 28-31.
- Le Floch H.E. (1983).** Biologie et écologie des principaux taxons dans « Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisienne: I. Eléments de botanique et de phyto-écologie ».193p.
- Lis-Balchin M., Buchbauer G., Hirtenlehner T. & Resch M. 1989.** Antimicrobial Activity of Pelargonium essential oils added to a quiche filling as a model food system. *Lett Appl*

- Microbiol essential oils added to a quiche filling as a model food system. *LettApplMicrobiol.*,27(4) :207-210.
- Mallea M., Soler M.,Anfosso F &Charpin J.1979.**Activité antifongique d'essences aromatique. *Pathol.Biol.*,27 :597-602.
- Marjorie MC.,(1999).**Plant products as antimicrobial agents. *Clin MicrobiolRev* 12(4): 564-
- Mirjalili. M.H., Tabatabaei S.M.F., Hadian J., Nejad S.E., and Sonboli. A. (2007).**Phenological Variation of the essential oil of *Artemisia coparia* from Iran. *J. Essent. OilRes.* 19 : 326-329.
- Mucciarelli M and Maffei M. (2002).** *Artemisia: Introduction to the Genus* Vol. 18 Ed Colin W.W.in Taylor & Francis. Ed. London and New York. pp: 10-16.
- Naili M.B., Alghazeer O.A., Saleh N.A., Al-Najjar A.Y. (2010).** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae) Arab. J. Chem. 3: 79-84.
- Ozenda P. (1983).** Flore du Sahara Ed : éditions du centre nationale de la recherche scientifique –Paris- 441p.
- Peyron L& Naves Y.R.-**Lexique des termes et expressions utilisées dans les industries Des matières premières aromatiques. (les huiles essentielles). *Rivistaitaliana. E.P.P.O.S.,1977,59 :550-564.*
- Pibiri M.C., (2005).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat. polytechniques, fédérale de Lausanne.
- Piochon M., (2008).** Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore aurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. *Thèse de doctorat.* Université du Québec, pp. 5-9.
- Quezel et Santa. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie Ed: éditions du centre nationale de la recherche scientifique .Paris. Tome I. 990p.
- Raud, P., (2003).** Etude de la diversité génétique des souches de *Klebsiellapneumoniae* productrice de la bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE), isolé au C.H.U de Nantes, de 1990 à 2001. *Thèse de doctorat en microbiologie.* Université de Nantes, France.
- Robert, G., (2000).** Les Sens du Parfum. Osman Eroyllle Multi Media (Paris).224p.
- ROULIER G.1992.**les huiles essentielles pour votre santé.Traité pratique
- Saoudi M., Allagui M.S., Abdelmouleh A., Jamoussi K., and El Feki A. (2010).** Protective effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* against puffer fish *Lagocephalus* extract-induced oxidative damage in rats. *Exp.Tox.Pathol.*62: 601-605
- Schauenberg O. and Paris F., (2010).** Guide to Medicinal Plants. Keats, New Canaan, CT.
- Scheen, AJ., (2004).** Le médicament du mois Insuline glargine. *Revue médicale de Liège*, 59 (2) : 110-114.
- Singleton., (1984).**Bactériologie.4 éme édition. Dunod,(paris).317p.
- Valnet., (2005).** Les huiles essentielles, une santé toute naturelle. Phytothérapie de la recherche à la pratique. Vol 1(1): P12.
- Vernin G., Merad O., Vernin G.M.F., ZamkotsianR.M.andParkanyi C.(1995).** GC-MS analysis of *Artemisia herba-alba* Asso essential oils from Algeria. *Dev.Food Sci.* 37A: 147-205.
- VoKou D.,Kokkini S. et Bressiere J.M1988.**Organum onites (Lamiaceae)in Greece
- Wyllie S.G., (2000).** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca alternifolia* (tee tree oil), *Journal of Applied Microbiology*, p:170-175.
- Yang Jiang, Nan Wu, Yu-Jie Fu, Wei Wang, Meng Luo, Chun-Jian Zhao, Yuan-Gang Zu, Xiao-Lei Liu., (2011).** Chemical composition and antimicrobialactivity of the essential oil of Rosemary. *Environmentaltoxicology and pharmacology.* 32, 63-68.

Annexes I

Composition de différents milieux utilisés :

Bouillon cœur-cervele (BHIB) :

Composition :

Infusion de cervelle de veau.....	12.5g
Infusion de cœur de bœuf.....	5.0g
Peptone.....	10.0g
Glucose.....	2.0g
Chlorure de sodium.....	2.0g
Phosphatase di sodique.....	5g
pH= 7.4	

Mueller-Hinton agar (M.H.A) :

Infusion de viande de bœuf.....	300 cm ³
Peptone de caséine.....	17.5g
Amidon de maïs.....	1.5g
Agar	17g
Eau distillé.....	1000ml
PH.....	7.4

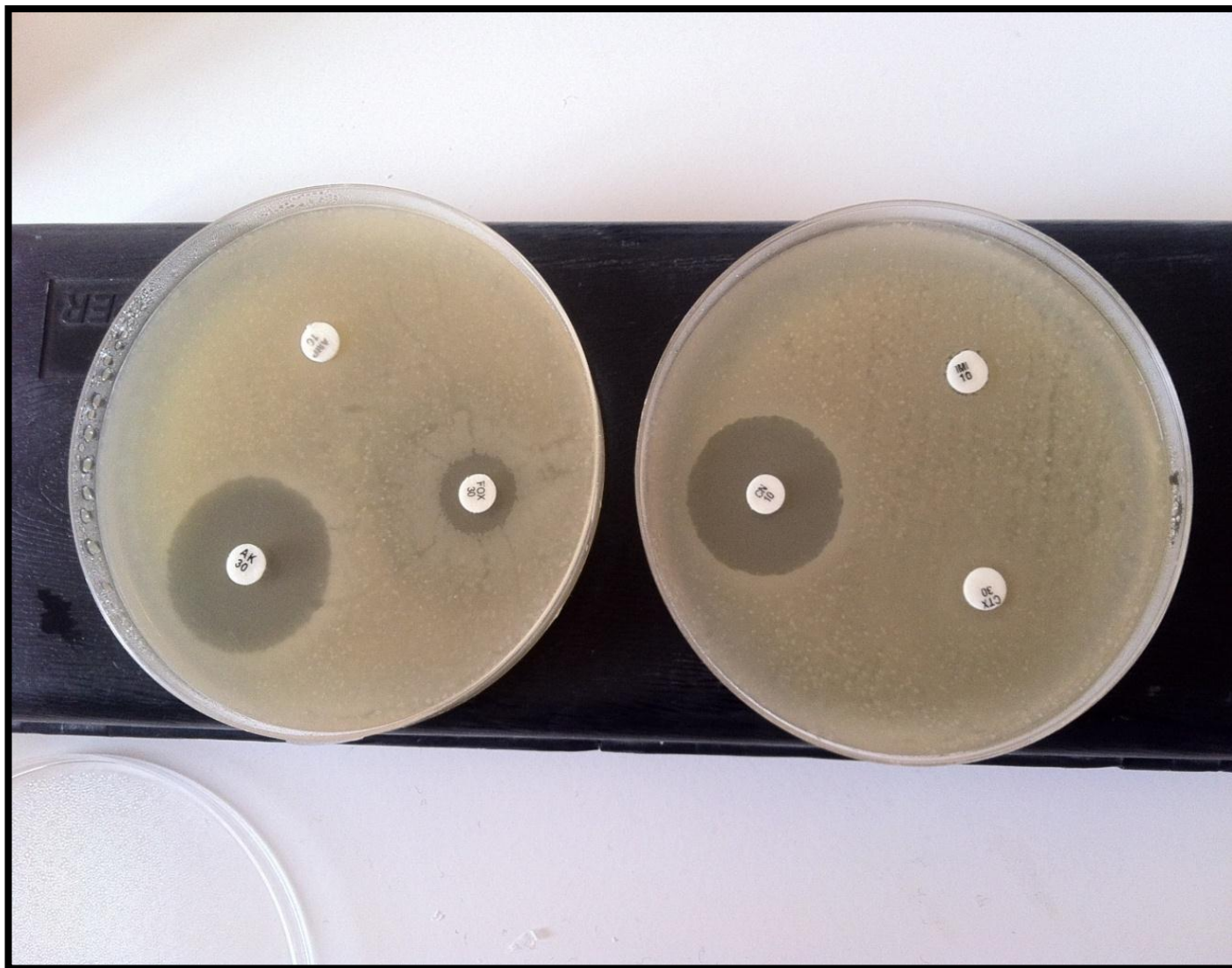
Eau physiologique :

Eau distillé	1000ml
NaCl.....	9g

Annexes II

Antibiogramme :

Bacillus cereus

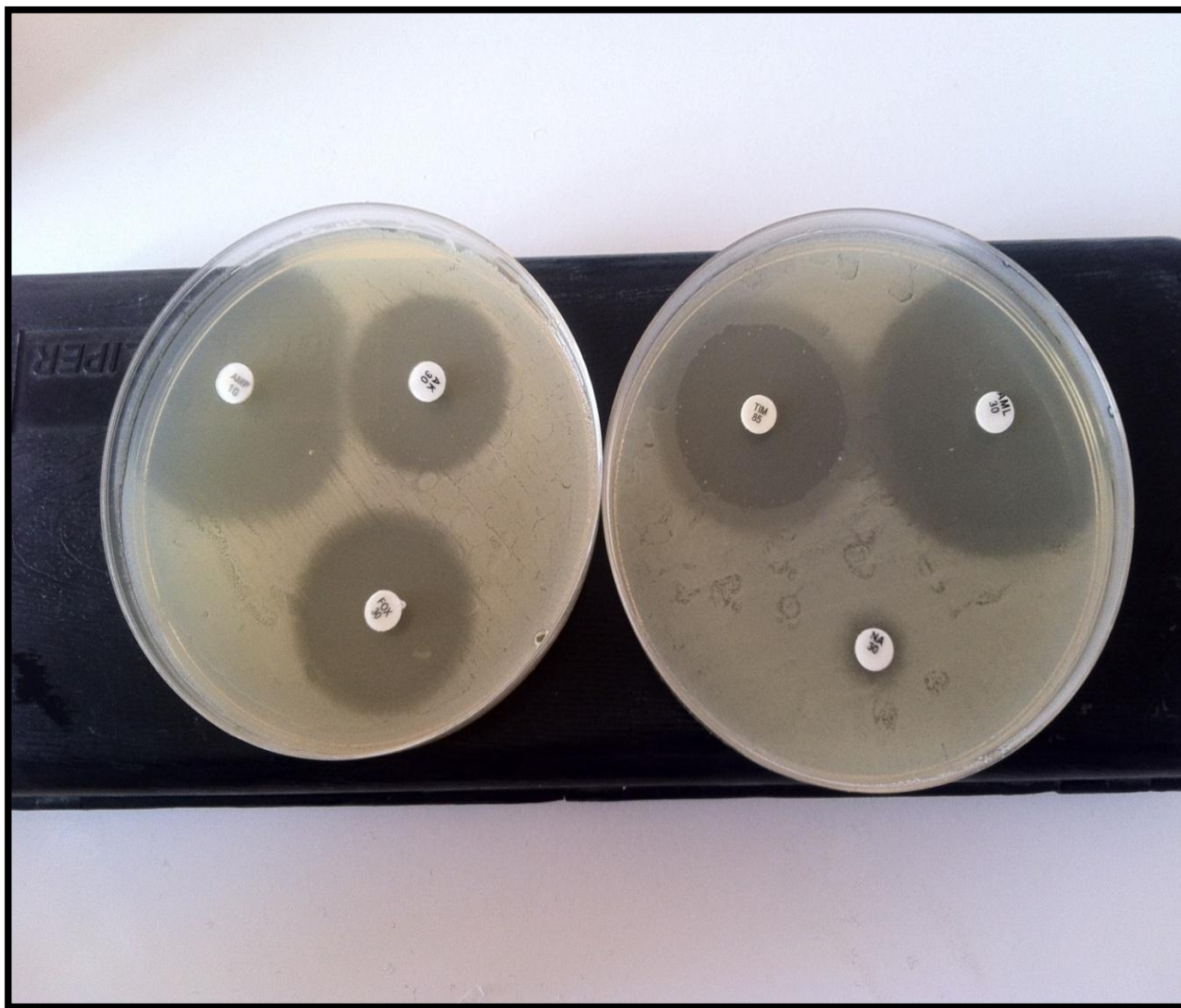


Escherichia coli



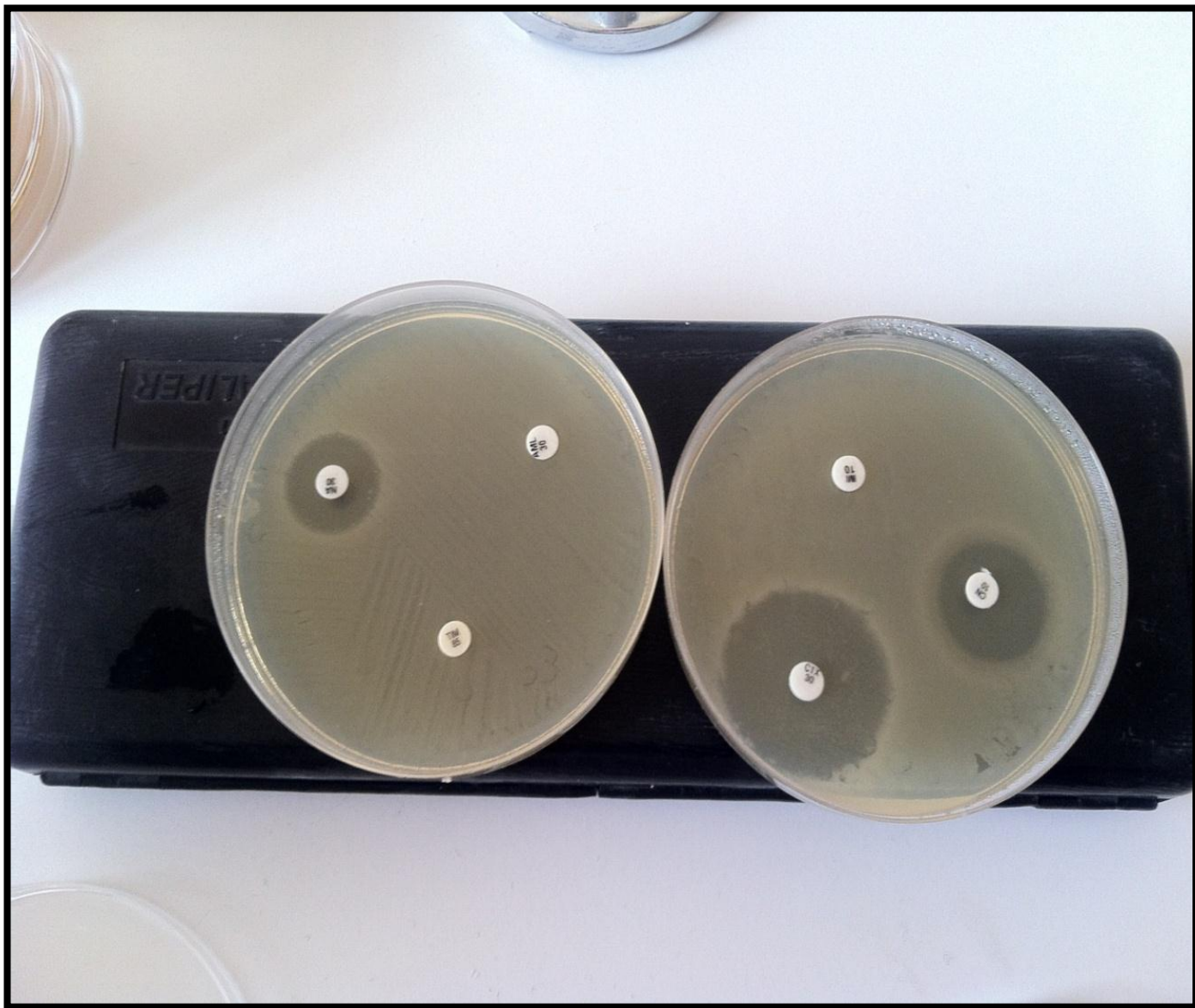
Annexes

Staphylococcus aureus



Annexes

Klebsiella pneumonia



Annexes

Pseudomonas aeruginosa

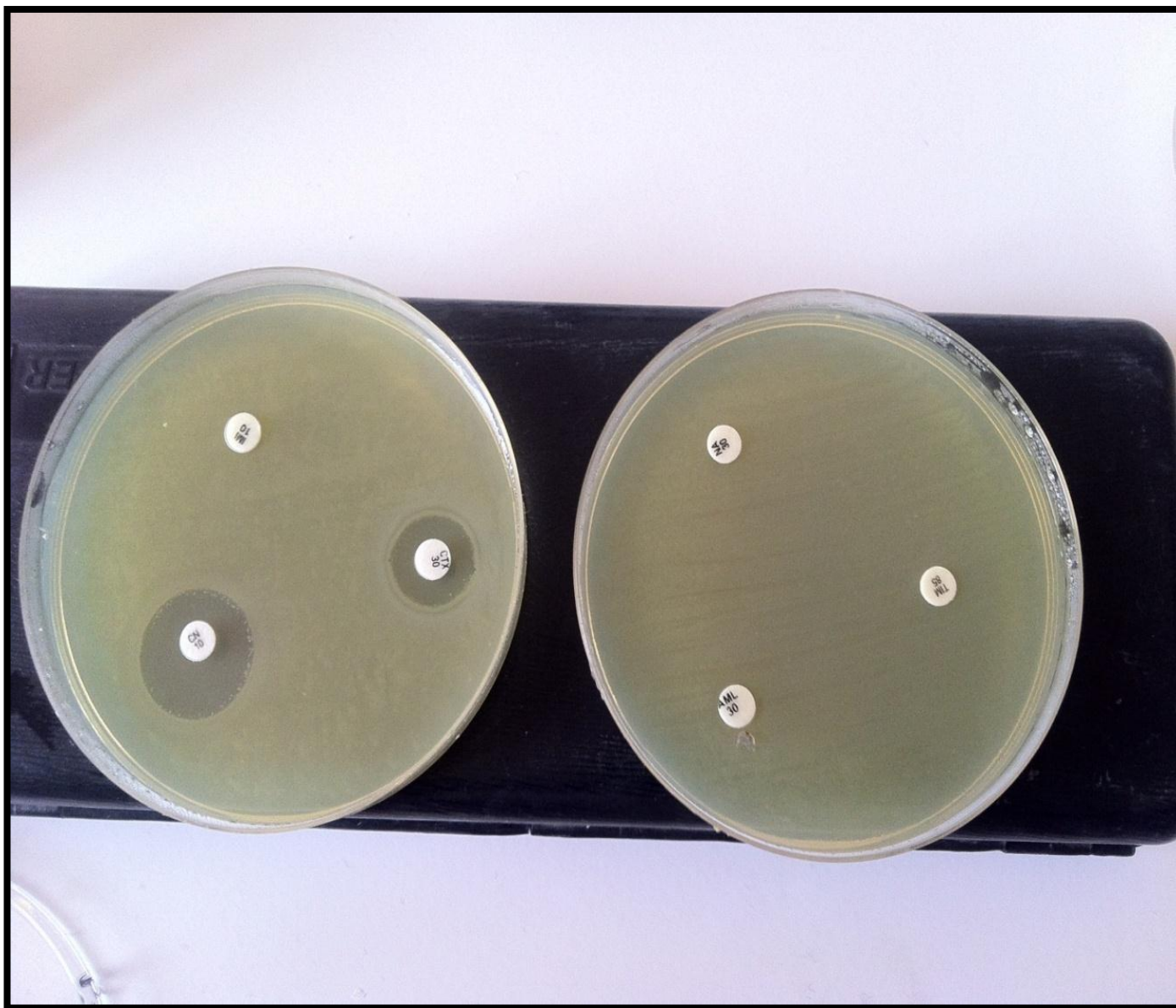


Tableau: les diamètre d'inhibition en millimètre des antibiotiques et antifongique standards.

	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (IBMC Strasbourg)	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 25921)
FOX: 30µg	23,63	6	20,755	27,355	6
CN: 10µg	26,98	22,77	20,485	23,185	26,085
NA : 30µg	20,92	6	17,55	11,095	17,99
KZ: 30µg	20,995	6	24,03	41,32	6
IMI: 10µg	6	6	6	18,05	6
SXT: 25µg	24,595	6	19,095	22,135	6
AK : 30µg	25,855	27,525	22,415	24,55	25,69
F : 300µg	23,785	6	20,07	20,595	21,615
AML:30µg	13,245	6	6	42,08	6
CT 10µg	14,63	12,7	11,875	7,84	6
Clp :5µg	37,295	33,095	34,9	32,105	31,295
FOS: 50µg	17,08	33,75	15,905	43,94	21,825
CTX :30µg	34,2	20,26	32,95	23,875	6
AMP:10 µg	19,68	8	8,8	38,535	6
TIM:75µg	10,2	6	6	44	6

Annexes III

L'espèce étudiée :

Artimisia compestris

