

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث 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 Appliquée

THEME

Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des trois plantes médicinales

Présenté par :

Mlle. Brahimi Amina

Mlle. Hadbi Noura

Mlle. Kaabouche Sara Haifa

Devant le jury :

Président: M. CHaibi Rachid (MCA) UATL

Examineur : M. Hamida Amine (MAA) UATL

Rapporteur : M. Benaceur Farouk (MCA) UATL

CO-rapporteur : Othmani Rokaia (Doctorante) UATL

Soutenu publiquement le : 30 Septembre 2020.

Remerciements

Tout d'abord, Louange à Dieu, Allah, le tout puissant qui m'a donné la santé, le courage et la patience pour terminer ce mémoire.

*Nous tenons tout d'abord à exprimer nos très grandes gratitudes et nos reconnaissances la plus sincère à docteur **Benaceur Farouk**, et **Mme Othamni Rokaia** Enseignants au Département des Sciences Biologiques à l'Université Amar Telidji de Laghouat, qui ont dirigé ce travail et ontsu nous apporter l'encadrement nécessaire à sa réalisation.*

*Nos remerciements vont également à Monsieur **Chaibi Rachid** chef Département de Biologie, Faculté des SNV, Université Amar Télidji de Laghouat et Monsieur **Hamida Amine** pour avoir accepté de présider et d'examiner respectivement notre mémoire.*

Nos reconnaissances vont également à tous les enseignants du département de biologie

Nos vifs remerciements vont à tous ceux qui ont collaboré à l'achèvement de ce travail.

Dédicaces

Les louanges sont à Allah seigneur des mondes qui ma comblé de grâce en me permettant d'achever en bonne santé ce modeste travail

Je dédie :

A le plus au monde, mes parents qui a été toujours présente pour moi et pour l'affection dont m'a fait preuve

A mes sœur Rihab, Zohra et Khadidja en leurs souhaitant que du bonheur

Ames frères soufiane ,Lamine et Hicham en leurs souhaitant que du bonheur

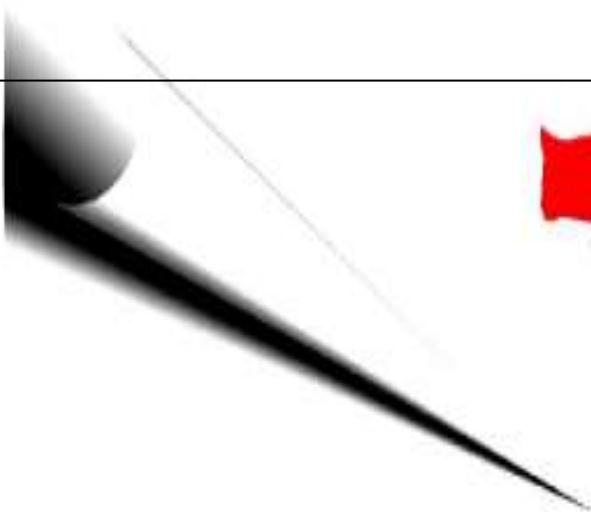
Ames nerveux Aghide ,Nani, Abdou ,Mohammed, Hadil, Sirine, Khalil et Mohammed

Ames cousine Lydia ,Latifa ,Marwa, Amina, Chahra

Je dédie également ce modeste travail a mes amies Noura et Haifa

Enfin je tien à dédie aussi ce mémoire à tous mes camarades de classe ,et puis a tous les personnes qui m'estiment

Amina



Dédicaces

Avec l'aide de Dieu, Tout Puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail, que je le dédie:

Aux deux personnes qui se sont sacrifiées pour que je grandisse avec un savoir faire et qui m'ont appris à ne jamais baissé les bras...

A mes chers parents, de votre affection et de tous les efforts que vous avez déployés durant toute ma vie j'espère que ce travail soit l'expression de ma pleine gratitude et de mon profond respect

A mes chers frères : Mohammed Meliani et Charafeddin

A mes chères soeurs : Bouchra et Nafissa Lina

A tous ceux qui me sont chers

A mon co-encadreur : Rokaia Othmani pour sa présence et ses conseils

A mes enseignants qui m'ont suivi tout au long de mon cursus universitaire

A mes chères amies Amina et Noura qui j'ai partagé mes bons moments, ainsitout ses familles

A tous mes amis, et toute personne que je connais, a toute la promotion Master IIMicrobiologie appliquée

Que dieu les protège tous

Haifa Sara



Dédicaces

Tous d'abord, louange a « Allah » qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long du travail et m'a inspiré les bons pas et les justes réflexes. Sans sa miséricorde,

Ce travail n'aura pas abouti.

A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans Ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

A mon cher frère : Salah Eddine.

A mes chères sœurs : Hadda, Fatima, Sarah et Kaltoum .

*A mon Co-encadreur rokaia outhmani pour sa
Présence et ses conseils.*

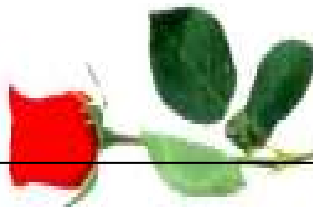
À mes chers amis : Amina, Haifa , Halima

À tous ceux qui m'aiment.

À tous ceux que j'aime.

Je dédie ce travail.

Noura



Résumé

Dans le cadre de ce travail, on s'est intéressé à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite par hydrodistillation de type Clevenger de trois plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis*, *Zingiber officinale* et *Alpinia officinarum*) dont le rendement obtenu est de l'ordre de 1,41%, 0,69 % et 1,30% respectivement. Cette activité a été mise en évidence par la méthode de l'aromatogramme *vis-à-vis* de quatre souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* 43300, *Staphylococcus aureus* 25523, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterococcus*) et d'une souche fongique (*Candida albicans*). Les huiles essentielles pures et leurs dilutions (100%, 50%, 25% et 166,6 %) ont été testées sur les souches étudiées. Les résultats des activités antimicrobiennes ont montré que la plus forte activité a été obtenue avec le romarin avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance du 4,3 au 49 mm et aussi avec un large spectre d'activité antibactérienne et antifongique.

Les valeurs de CMI ont été aussi estimées. Un intervalle entre 0.03 et 0.10mg/ml a été obtenu pour les cinq microorganismes testés.

Mots clés : Huile essentielle, plantes médicinales, activité antibactérienne, activité antifongique

Table Des Matières

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Liste des Abréviations	
Introduction.....	1
Chapitre 1 : Généralités sur les plantes médicinales et leur activités	
I. Généralités sur les plantes médicinales et la phytothérapie.....	2
I.1.la phytothérapie	2
I.1.1. Différents types de la phytothérapie.....	2
I.1.1. 1. Aromathérapie.....	2
I.1.1. 2. Gemmothérapie.....	2
I.1.1. 3. Herboristerie.....	2
I.1.1. 4. Phytothérapie pharmaceutique	2
I.1.2. Les avantages de la phytothérapie	2
I.2. Les plantes médicinales	3
I.2.1. parties utiles des plantes médicinales dans le domaine de la phytothérapie.....	3
I.2.2. Formes d'application modes et d'emploi des plantes médicinal	4
I.2.3. Intérêts d'utilisation des plantes médicinales.....	4
I.2.4. Risques d'utilisation des plantes médicinales	5
I.3. Plante utilisées dans notre étude.....	5
I.3.1.Rosmarinus officinalis.....	5
I.3.1.1.Description botanique	5
I.3.1.2.Classification et synonymies	5
I.3.1.3. Composition chimique du romarin	6
I.3.1.4. Vertus du romarin.....	6
I.3.1.5.Utilisation et activités biologiques.....	7
I.3.2 Zingiberofficinalis.....	7

I.3.2.1. Description Botanique	7
I.3.2.2 classification et synonymies	8
I.3.2.3. composition chimique du gingembre.....	8
I.3.2.4.Utilisation et activités biologique	9
I.3.3.<i>Alpinia officinarum</i>.....	9
I.3.1Description Botanique.....	9
I.3.2 Etymologie du Alpinia.....	10
I.3.3Classification botanique.....	10
I.3.4Utilisation et Activités biologiques	10
II.Les huiles essentielles	11
II.1.Huiles essentielles et activités biologique.....	11
II.2.Origine et localisation des huiles essentielles.....	11
II.3Rôle des huiles essentielles chez les plantes	12
II.4.Techniques d'extraction.....	12

Chapitre 2 : Matériel et méthode

III.1.plan expérimental.....	13
III.2. Matériels.....	14
III.2.1 Matériel biologique	14
III.2.1.1.Matériel végétal.....	14
III.2.1.2. Microorganismes testés.....	15
III.2.2.Matériel expérimental.....	17
III.3.Méthodes	17
III.3.1.Extraction de l'huile essentielle.....	17
III.3.1.1.Mode opératoire.....	18
III.3.1.2. Caractéristiques de l'Huile essentielle.....	18
A-Analyse physique	18
B-Détermination des rendements en huiles essentielles.....	18
III.3.2.Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	19
A-Préparation des précultures.....	19
B-Méthode de diffusion sur gélose	19
C-.Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	21

Chapitre 3 : Résultats et discussion

IV.1.Rendement des huilesessentielles.....	22
IV.2Activité antimicrobienne.....	23
IV.2.1Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque	23
IV.3 Évaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	28
Conclusion.....	33
Références bibliographiques	
Annexe	

Figure 1: Plante de <i>Rosmarinusofficinalis</i>	5
Figure 2 : Plante et tubercules de <i>Zingiber officinale</i>	8
Figure 3 : Plante de <i>Alpinia officinale</i>	10
Figure 4 : Diagramme général de la procédure expérimentale.....	13
Figure 5 : Photo des plantes utilisées.....	14
Figure 6 : Dispositif de l'hydrodistillation à l'échelle du laboratoire Appareil Clévenger	17
Figure 7 : Extraits des huiles essentielles obtenues pour les trois plantes.....	22
Figure 8 : Histogramme représente l'activité de plusieurs concentrations d'huile essentielle de <i>Rosmarinusofficinalis</i> sur les microorganismes testés.....	25
Figure 9 : Histogramme représente l'activité de plusieurs concentrations d'huile essentielle de <i>Zingiber officinale</i> sur les microorganismes testés	26
Figure 10 : Histogramme représente l'activité de plusieurs concentrations d'huile essentielle d' <i>Alpinia officinarum</i> sur les microorganismes testés.....	26
Figure 11 : L'effet de de l'extrait de <i>Rosmarinusofficinalis</i> sur les quatre souches bactériennes testée.....	29
Figure 12 : L'effet de l'extrait de <i>Rosmarinusofficinalis</i> sur la souche fongique testée	30
Figure 13 : L'effet de de l'extrait de <i>zingiber officinale</i> sur les quatre souches bactériennes testée.....	30
Figure 14 : L'effet de l'extrait de <i>Alpinia officinarum</i> sur les quatre souches bactériennes testées	31

Tableau 1 Origine des souches utilisées dans test d'activité antibactérienne.....	16
Tableau 2 : Transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés.....	20
Tableau 3: Rendements en % des huiles essentielles <i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Zingiber officinale</i> et <i>Alpinia officinarum</i>	22
Tableau 4: Résultats de l'aromatogramme des huiles essentielles du <i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Zingiber officinale</i> et <i>Alpinia officinarum</i> sur les microorganismes testés.....	24
Tableau 5: Les concentrations correspondantes pour chaque dilution.....	28
Tableau 6 Les valeurs de CMI (exprimée en mg/ml) relatives aux souches testées avec le DMSO comme solvant.....	28

ATCC : American Type Culture Collection

ATP : adénosine-triphosphate

°C : Degré Celsius.

Cm : Centimètre.

CMI. : Concentration Minimale Inhibitrice

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

HE : Huile essentielle

HIV: virus de l'immunodéficience humaine

GST : glutathion-S- transférase

Lab Vét-Lagh : Laboratoire Vétérinaire du la wilaya de Laghouat

M : mètre

MHA : Muller Hinton

Mg : milligramme

ml : millilitre

mm : millimètre

MRSA : Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline

NADPH: Nicotinamide Adénosine Dinucléotide Phosphate

Nm : nanomètre

PCI : photochimiluminescence

Rdt : Rendement

Introduction générale.

L'Algérie, capitale du la méditerranée est réputée par ses potentialités et biodiversité écologique et naturelle. Elle renferme entre autres un trésor naturel connu sous le vocable de plantes médicinales et aromatiques (**Abdallah et al., 2004**). Les modes d'utilisation de ces plantes soit sous forme d'infusion, tisane ou autre vis-à-vis de plusieurs maladies ont été transmis d'une génération à une autre et constituent un vrai patrimoine méritant sa mise en valeur et révélation de ses mystères (**Goeb.,1999**). Cependant, l'utilisation Traditionnelle et précise nécessite toujours un support académique avec des recherches pointues et des résultats concrets (**Adersen et al .,2006**).

Ce dernier temps, le domaine de la phytothérapie et/ou l'aromathérapie suscite de plus en plus l'attention des chercheurs notamment ceux travaillant dans le domaine de la microbiologie médicale ou clinique (**Abdallah et al.,2004**). Ces derniers continuent à rechercher des nouvelles alternatives et/ou solution en relation par exemple avec la résistance des microorganismes pathogènes aux antibiotiques (**Small et Catling ., 2000**) et de même à exploiter le cadeau céleste pour en tirer profit de ses avantages en mettant en valeur des molécules bioactives d'intérêt pouvant faire l'objet de plusieurs applications d'excellence dans le domaine d'industrie pharmaceutique. Les composés extraits à partir de ces plantes sont généralement des métabolites secondaires, le plus souvent des huiles essentielles.

Ainsi, ce travail a pour objectif l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique de ces huiles de trois plantes médicinales : le romarin (*Rosmarinus officinalis*),le gingembre (*Zingiber officinale*) et le petit galanga(*Alpinia officinale*) vis-à-vis d eplusieurs souches bactérienne de type Gram positif « *Staphylococcus aureus* 43300 , *Staphylococcus aureus* 25523 », « *Enterococcus faecalis* » et à Gram négatif « *Klebsiella pneumoniae* » ainsi qu' une espèce fongique « *Candida albicans* IP 444 ».

Cette étude comporte trois parties :

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique décrivant des généralités sur les plante étudiées, et les huiles essentielles. La seconde décrit la partie expérimentale, avec une présentation de matériel et méthodes utilisés. La troisième est consacrée aux résultats et à la discussion. De même, notre travail s'achève par une conclusion et des perspectives.

Chapitre 1
Généralités sur les
plantes médicinales

I-Généralités sur les plantes médicinales et la phytothérapie

I.1. la phytothérapie

La phytothérapie ; du grec, *phytos*, plante, et *therapia*, soins, c'est-à-dire le traitement des maladies par les plantes ou par leurs extrait (**Houdret, 2004**).

La phytothérapie, étymologiquement le traitement par les plantes, est une méthode thérapeutique qui utilise l'action des plantes médicinales (**Pribitkin et Boger, 2001**).

I.1.1. Différents types de la phytothérapie

I.1.1. 1. Aromathérapie

C'est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes (**Strang, 2006**). Elle est devenue une médecine parallèle à part entière. Les huiles essentielles se retrouvent aussi dans des topiques médicamenteux comme principes actifs ou comme excipients (**Malek et al, 2015**).

I.1.1. 2. Gemmothérapie

Se fonde sur l'utilisation d'extraits alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules (**Strang, 2006**).

I.1.1. 3. Herboristerie

Correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séché ; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle si (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion ou macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale (**Strang, 2006**).

I.1.1. 4. Phytothérapie pharmaceutique

Utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats (**Strang, 2006**).

I.1.2. Les avenages de la phytothérapie

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages.

N'oublions pas que de tous temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes ; rhume ou tous ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria (**Iserin et al., 2001**) et avec la mode du « naturel » ou du « bio », la phytothérapie est de plus en plus utilisée(**Avenel, 2015**).

Aujourd'hui, la phytothérapie occupe une place importante dans le patrimoine culturel de la société par leurs vertus curatives de plusieurs types de maladies, considérée comme moins cher, sans effets indésirables. Par ailleurs, le danger réel de cette thérapie réside dans le traitement des maladies chroniques telles que les infections urinaires (**Ghourriet al, 2014**), l'asthme ou l'arthrite (**Iserinet al., 2001**).

I.2. Les plantes médicinales

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Farnsworth et al., 1986**). De tout temps les plantes ont été utilisées pour soigner et introduites comme principe actif ou agent parfumant de topiques médicamenteux (**Avenel, 2015**).

Les plantes ont fourni à l'homme les drogues utiles pendant des siècles. Malgré la disponibilité de différentes approches pour la découverte thérapeutique, les produits naturels restent l'un des meilleurs réservoirs de la médecine traditionnelle (**Malek et al, 2015**).

Environ 3500 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Elqaj et al., 2007**).

I.2.1. parties utiles des plantes médicinales dans le domaine de la phytothérapie

Les principes actifs qui sont derrière l'effet thérapeutique des plantes se trouvent réparties d'une manière non équitable entre les différentes parties de ces dernières, dont certaines en contiennent dans les feuilles par exemple et d'autres dans les racines. C'est pour cela dans certaines recommandations de leur usage, il y a lieu à préciser la partie de la plante à appliquer. Dans le recours à leur utilisation, les feuilles sont répandues (26.3%), suivies par les fruits (11.32%), la plante entière (9.74%), des racines (8.68%), les graines (6.58%), la floraison des sommités (4.74%), parties aériennes (4.21%), et fleurs (4%) (**Elbeyrouthy et al, 2008**).

I.2.2. Formes d'application modes et d'emploi des plantes médicinales

Les principales formes d'application des plantes médicinales se présentent par : décoction (40.23%), infusion (15.1%), macération (11.9%), poudre (8.50%), et jus (5.41%).

Les plants médicinales sont principalement utilisées pour des applications externes sur la région affectée, mais plusieurs sont également utilisées par vois orale (**Elbeyrouthy et al, 2008**).

Aujourd'hui, il existe la poudre de plante totale cryobroyée, plus pratique et plus concentrée, proposée sous forme de gélules. La technique du cryobroyage permet de sauvegarder l'intégralité des constituants de la plante, alors que dans un broyage classique, les vitamines, les enzymes, les substances volatiles et de nombreux autres constituants sont détériorés en partie (**Schauenberg, 2000**).

I.2.3. Intérêts d'utilisation des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont généralement admises par beaucoup de personnes dans le monde entier que leurs effets bénéfiques peuvent être obtenus par l'ingestion de produits végétaux. Ils se comportent comme des médicaments authentiques, car les substances chimiques dont ils sont constitués, peuvent avoir une activité biologique chez l'homme (**Fragoso et al, 2008**).

Beaucoup de végétaux et de certains compléments alimentaires sont une bonne source d'antioxydants et d'anti-inflammatoires. Ces derniers, peuvent être utilisés dans la prévention de complication de colon et de cancer du sein (**Wargovich et al, 2001**). Les composes chimiques dans les fruits, les légumes, d'épices et des herbes médicinales jouent un rôle de protection contre des nombreuses maladies chronique chez l'homme, telles que les maladies cardiovasculaires (**Tsao et al, 2004**).

L'importance économique des plantes médicinales occupe une place importante dans les marchés nationaux des pays en développement. Ainsi, l'Allemagne importe chaque année plus de 75 millions d'euros de plantes médicinales, provenant majoritairement de payes en développement et en transition. La vente durable de matériel végétal peut donc considérablement améliorer la balance commerciale des pays exportateurs et représente un facteur important de développement (**Kasperek et al-Janabi, 2008**).

I.2.4. Risques d'utilisation des plantes médicinales

La prise des plantes s'effectue soit sous leurs formes brutes soit sous forme de recettes (décoction, poudre ou infusion) qui peut provoquer des intoxications voire même des effets secondaires pour d'autres organes (coeur, poumons, foie, vésicule biliaire...) sachant que certaines espèces employées sont toxiques et d'autres deviendront toxiques à forte doses ou à utilisation répétée (Mohammadi., 2006).

I.3. Plante utilisées dans notre étude

I.3.1. La plante *Rosmarinus officinalis*

I.3.1.1. Description botanique

Le romarin, est un arbrisseau de la famille des Lamiacées originaire des pourtours de la Méditerranée. Il possède de nombreuses vertus phytothérapeutiques, mais c'est aussi une herbe condimentaire et une plante mellifère, ainsi qu'un produit fréquemment utilisé en parfumerie. Le romarin peut atteindre jusqu'à 1,50 m de hauteur.

Il possède des feuilles persistantes sans pétiole, coriaces, légèrement enroulés aux bords, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous, avec une odeur très camphrée. Les fleurs varient du bleu pâle au violet(Williams, 1996).



Figure 01 : Plante de *Rosmarinusofficinalis*(Beloued ,2005)

I.3.1.2.Classification et synonymie du *Rosmarinusofficinalis*

Le romarin possède plusieurs synonymies selon les différentes régions d'Algérie :

Région de l'Est : Eklil

Région de l'Ouest : Helhal

Région du Centre : Yazı (**Med-Chclist, 1986**)

La classification botanique du romarin est comme suit: (**Quézel, 1963**)

Règne : Plantes

Embranchement : Spermaphytes Classe : Dicotyledones

Ordre : Lamiales (Labiales) Famille : Lamiaceae

Genre : Rosmarinus

Espèce : Rosmarinus officinalis

I.3.1.3. Composition chimique du Rosmarinusofficinalis

Les principaux constituants du romarin responsables des différentes propriétés sont : Les acides phénoliques : acide vanillique, acide caféique, acide p-coumarique.

Les flavonoïdes : genkwanine, cirsimaritrine (**Ibañez et al., 2003**) ériocitrine,hespérédine, diosmine, lutéoline (**Okamura et al., 1994**) apigénine (**Yang et al., 2008**).

I.3.1.4.Vertus du Rosmarinusofficinalis

En termes d'agent antimicrobien les effets des extraits aqueux et méthanoliques du romarin,sur la croissance du Streptococcus sobrinus et sur l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyltransférase ont été étudiés (**Tsai et al., 2007**).

La biosynthèse de l'aflatoxine secrété par l'Aspergillus parasiticusa été inhibée totalement par l'huile essentielle du romarin à une concentration de 450 ppm (**Rasooli et al., 2008**).L'évaluation de l'activité antivirale de l'extrait commercial du Romarin a indiqué qu'il ya une inhibition de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) à des concentration très basses (**Aruoma et al., 1996**).

D'autre part ,en raison de ses propriétés anti-oxydantes, le romarin est largement accepté en tant qu'épices ayant une activité antioxydante très élevée(**Wang et al., 2008**).

Des études ont montré une corrélation inverse significative entre les valeurs de l'activité anti-radicalaire et les taux de cortisol pour chaque concentration de stimulation du romarin (**Atsumi et al., 2007**).

Dans une autre étude les propriétés anti-oxydantes et anti-radicalaires de 11 huiles essentielles, ont été examinées au moyen du test de blanchissement du β -carotène, le test au DPPH et l'analyse photochimiluminescence (PCL). Les résultats ont montré que l'huile essentielle du romarin était parmi les huiles qui ont une activité importante (**Sacchetti et al.,2005**). Grace à certains composants (Carnosol, Rosmaridiphénol, Rosmanol et l'acide rosmarinique), le romarin est considéré comme une thérapie contre le cancer (**Quezel, 1963**).

L'extrait méthanolique du romarin a montré une inhibition modérée (17%) de d'acétylcholinestérase à une concentration de 0.1% (**Albert et al., 1996**)

Les études ont indiquéeaussi que l' extrait de romarin empêche la peroxydation lipidique, (l'information, la nécrose, il a normalisé les taux de la bilirubine, la glycogène et l'activité du l'alanine aminotransférase). Enfin il a augmenté l'activité du glutathion-S- transférase (GST) (**Marie et al., 2004**).

I.3.1.5.Utilisation et Activités biologiques

Le romarin est composé de puissantes huiles essentielles qui lui confèrent des propriétés: digestive, stimulante, détoxiquante, diurétique, expectorante, anti-inflammatoire, antispasmodique, antinévralgique, tonique. Le romarin est recommandé aux convalescents, aux surmenés, aux dépressifs, de même qu'aux personnes sujettes aux palpitations, aux migraines, aux angoisses et aux insomnies (**Zhiriet al, 2005**).

Il est également bienfaisant dans les cas de digestion difficile due à l'atonie des organes digestifs, qu'il tonifie tout en augmentant la sécrétion de la bile et en favorisant son évacuation.

On l'Utilise également en fumigation dans les cas d'asthme.En usage externe on utilisera une préparation de romarin cuite dans du vin et appliquée en cataplasme sur les gonflements douloureux des entorses, sur les constusions ou les rhumatismes articulaires.

On soignera les aphtes et l'amygdalite avec des baines de bouche d'une décoction de feuilles.

Pour soulager les rhumatismes, on prendra un bain auquel on ajoutera une décoction de feuilles de romarin(**Blanc M .,2010**).

I.3.2. La plante du Zingiber officinalis

I .3.2.1. Description Botanique

Zingiberofficinalis est une plante tropicale herbacée vivace atteignant jusqu'à 90 Cm de hauteur en culture, poussant dans les régions ensoleillées et humides (**Halvorsen et al., 2006**).Son épais rhizome, partie utilisée en thérapeutique, est horizontal, mesure en moyenne10 cm de longueur, mesure jusque 2 cm de largeur et 1,5 cm d'épaisseur, il est constitué detubercules globuleux ramifiés, qui ressemblent aux doigts de la main, à la chair jaune pâlejuteuse, d'odeur aromatique avec une saveur chaude et piquante (**Halvorsen et al., 2006**).



Figure 02 : Plante et tubercules de *Zingiber officinale*.(Braga et al., 2006)

I.3.2.2.classification et synonymiedu *Zingiberofficinalis*

Règne : plantae

Sous-règne : trachéobionta

Division : Angiospermes ou Magnoliophyta

Classe : Liliopsida (ou Monocotylédones)

Sous-classe : Zingibéridéés

Ordre : Zingibérales (ou Scitaminales)

Famille : Zingibéracées

Sous famille : Zingibéroidéés

Genre : Zingiber

Espèce : Zingiber officinale Roscoe

Autre noms utilises : Epice blanche, ginger, jenjanb(**Gigon, 2012**)

I.3.2.3. La composition chimique du *Zingiber officinalis*

L'analyse chimique du gingembre indique qu'il contient plus de 400 différents composés (Grzanna.,2005), qui sont les carbohydrates (50-70%), les terpènes, lescomposés phénoliques, les lipides (3-8%) (Prasad and Tyagi, 2015) ,deux type acides gras :

oleique et linolique (10%) ,les amidons (60%),les proteines , les vitamines et les minéraux (Banerjee S, Mullick H I, Banerjee et al., 2011),un complexe oléorésineux et une enzyme, la zingibaïn.L'oléorésine contient des composés responsables de la saveur très marquée du gingembre (Gigon, 2012).

I.3.2.4.Utilisation et Activités biologiques

La racine de gingembre est utilisée pour atténuer et traiter plusieurs maladies courantes, telles que les maux de tête, les rhumes, les nausées et les vomissements.

De nombreux composés bioactifs du gingembre ont été identifiés, tels que les composés phénoliques et terpéniques. Les composés phénoliques sont principalement les gingérols, les shogaols et les paradols, qui expliquent les diverses bioactivités du gingembre.

Ces dernières années, le gingembre s'est avéré posséder des activités biologiques, telles que des activités antioxydantes,anti-inflammatoires,antimicrobienne et anticancéreuses . De plus, de nombreuses études ont démontré que le gingembre possède le potentiel de prévenir et de gérer plusieurs maladies, telles que les maladies neurodégénératives ,es maladies cardiovasculaires , l'obésité , le diabète sucré , les nausées et vomissements induits par la chimiothérapie et troubles respiratoires(Mao et al.,2019).

I.3.3. La plante duAlpinia officinarum

I.3.3.1. Description botanique

Il est appelé en français petit galanga et en anglais '*fesser galanga*'. Le rhizome d'*Alpinia officinarum*, cultivé en Asie du Sud-Est a une utilisation très proche de celui d'*A. galanga*en tant qu'épice et dans la médecine populaire. *A. officinarum*est une plante herbacée petite s'élevant à 1.5 mètres au maximum, possédant des feuilles sessiles et ligulées plus étroites (20-30 cm de long et 1.2-2.5 cm de large) (Boullard .,2001).

Les fleurs constituent des grappes de 6-10 cm. Les bractéoles sont très petites, les bractées absentes ou minuscules. Le fruit, rouge, est une capsule globuleuse, de 1 cm de diamètre (Zhengi, 1995).



Figure 3 : Plante de *Alpiniaofficinale*.(Anderewch ;2001)

I.3.3.2.Etymologie du *Alpinia officinarum*

Le nom vernaculaire galanga et ses dérivés proviennent probablement de la traduction arabe 'khanlanjan' du nom chinois 'liang-jiang', signifiant en anglais 'mildginger' que l'on peut traduire en français par gingembre doux. Dans le langage indien, le nom sanskrit 'kulanja' a la même origine, tout comme ses dérivés : 'kulinjan, kulanja'. Le nom de genre *Alpinia* rappelle le nom du botaniste italien ProsperoAlpina (1533-1617) (Spice.,2005).

I.3.3.3.Classification botanique du *Alpinia officinarum*

La famille des Zingibéracées est constituée de plantes herbacées, vivaces, terrestres, rhizomateuses, souvent à racines tubéreuses. Ce sont des plantes épicées aromatiques, à cellules sécrétrices dispersées contenant des huiles essentielles, divers terpènes et composés phénylpropanoïdes (Judd et al .,2002).

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Zingibérales
Famille	Zingibéracées
Genre	<i>Alpinia</i>
Espèce	<i>Officinarum</i>

I.3.3.4.Utilisation et Activités biologiques

C'est une plante herbacée vivace avec des rhizomes brun rougeâtre épais et rampants, des feuilles ornementales acuminées linéolées et des fleurs blanches voyantes en grappes.

Elle a été utilisée de manière conventionnelle en médecine ayurvédique et chinoise depuis les temps des sciecleset en Europe depuis le Moyen Âge.

Le rhizome a été utilisé en Chine pour soulager les maux d'estomac, traiter les rhumes, revigorer le système circulatoire, et réduire l'enflure.

La racine sèche et le rhizome ont été utilisés pour leurs effets antioxydants, antidiabétiques,antimicrobiens,antiulcéreux, antidiarrhéiques, antiémétiques, analgésiques, anti-inflammatoires et anticoagulants (**Basri et al.,2017**).

II- Les huiles essentielles

II.1.Huiles essentielles et activités biologiques

Les huiles essentielles sont des essences extraites de plantes, avec un arôme propre à chacune de ces dernières. Ce sont des mélanges de substances aromatiques volatiles et odoriférantes présentes en faibles quantités dans le végétal. Elles sont obtenues principalement des fleurs (rose, jasmin), des bourgeons (clous de girofle), des feuilles (lavande, menthe), des racines (iris, souchet), des fruits (orange) et des graines (fenouil, anis). Leur composition varie souvent selon les conditions climatiques et environnementales. (**Wylock., 1972**). Elles sont très volatiles et passent instantanément de l'état liquide à l'état gazeux (**Aboughe Agone.,2014**).

II.2.Origine et localisation des huiles essentielles

Les huiles volatiles peuvent être considérées comme des résidus du métabolisme végétal. Suite à la photosynthèse au niveau des chloroplastes, l'énergie produite (sous forme de glucides, NADPH et d'ATP) contribue au développement de la plante et indirectement à la biosynthèse de multiples composés secondaires parmi elles les huiles essentielles (**Narishetty et al., 2004**).

En principe, les huiles essentielles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante, mais elles sont souvent présentes majoritairement dans : les brindilles, les fleurs, les feuilles, les racines et les graines. Les cellules sécrétrices peuvent être localisées à la surface des différents organes de la plante, ce qu'on appelle localisation exogène, ou à l'intérieur de

l'organe, localisation endogène. Dans certaines espèces végétales les deux types de structure sécrétrice ont été observés (Werker et *al.*, 1994 ; Charchari et *al.*, 2007).

II.3.Rôle des huiles essentielles chez les plantes

Le rôle des huiles essentielles dans la physiologie de la plante reste encore mal connu. Toutefois, elles sont en général considérées comme des déchets du métabolisme ou des sous-produits de l'activité métabolique d'une plante (Amiot, 2005).

Cependant, plusieurs effets apparents utiles ont été décrits telles que la réduction de la compétition des autres espèces de plantes (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines. Certains auteurs pensent que les huiles essentielles pourraient avoir un rôle attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs et les microorganismes, favorisaient ainsi la pollinisation (Bruneton., 1999;Guignard et Potier., 2000).

D'autres auteurs affirment que les huiles essentielles jouent un rôle hormonal, régulateur et catalyseur dans le métabolisme végétal, assurer leur ultime défense et semblent aider la plante à s'adapter à son environnement (Fouché et *al.*, 2000).

II.4.Techniques d'extraction

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales, cette diversité est due à la variété des matières et à la sensibilité considérable de leurs certains constituants. Le choix de méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire et de l'usage de l'extrait.

Les principales méthodes d'extraction sont :

- Hydrodistillation.
- L'Entraînement à la vapeur d'eau.
- L'hydrodiffusion.
- L'expression à froid.
- Extraction par solvants.
- Extraction par les fluides supercritiques.
- Extraction par micro-ondes.

Quel que soit le type d'extraction utilisé, Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origine végétale restent identiques. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation (**Lucchesi.,2005**).

Chapitre 2: *Matériel et méthodes.*

III.1.plan expérimental :

Ce présent travail a pour but d'étudier l'effet de l'huiles essentielles de *trois plantes* (*Romarin* , *Gingembre*, et *Alpinia galanga*) sur la croissance des microorganismes. La partie expérimentale abordée peut être représentée en deux axes comme suit :

- L'extraction d'huile essentielle de ces trois plantes.
- L'étude du pouvoir antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle vis-à-vis des souches bactériennes et fongiques avec la détermination de la concentration minimale d'inhibition (CMI).

Un diagramme récapitulatif de la procédure suivie est donnée ci-dessous:

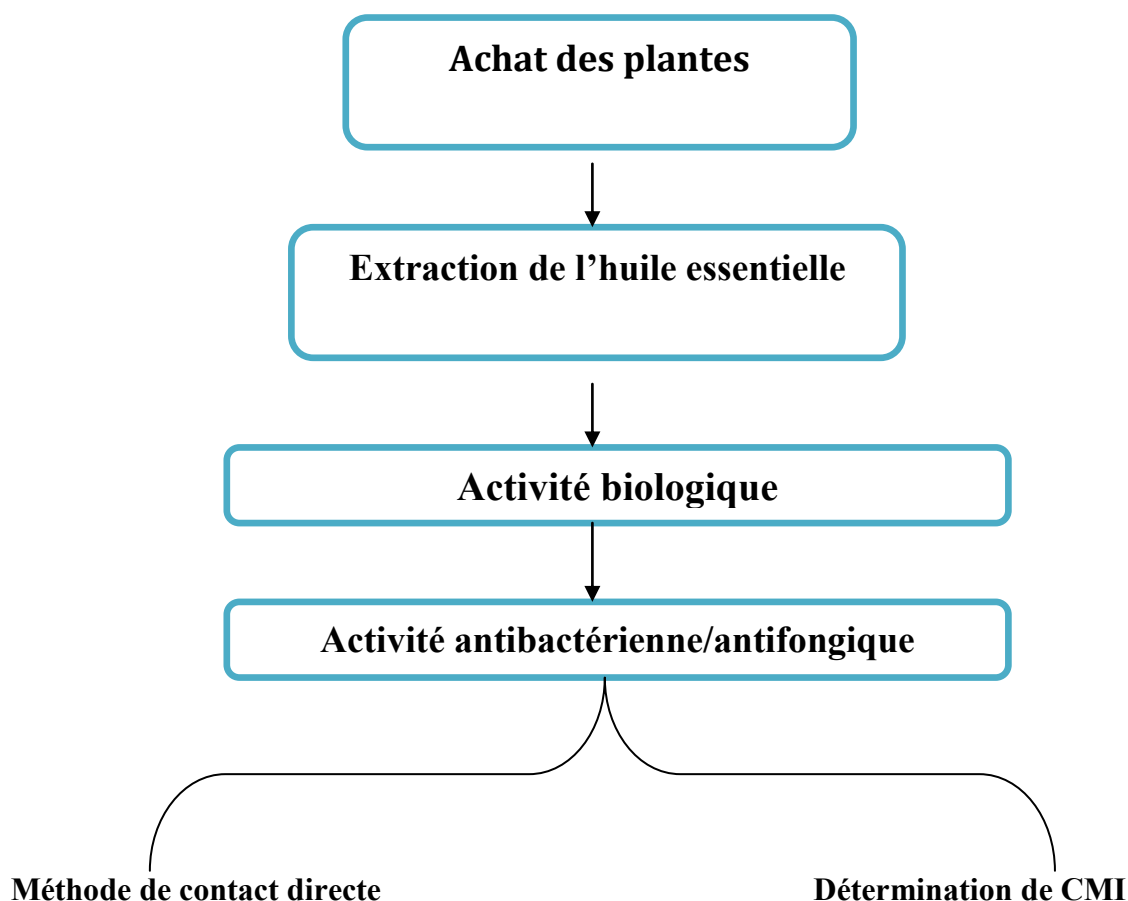


Figure 04: Diagramme général de la procédure expérimentale.

III.2. Matériel

III.2.1 Matériel biologique

III.2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *Romarin*, et des racines de *Gingembre* et de *Alpinia galanga* achetées d'un herboriste (Laghout) durant le mois janvier 2020.

Après l'achat, l'identification des plantes a été faite au laboratoire académique de département de biologie de l'université de Laghouat à l'aide d'un spécialiste dans le domaine. Une photo des plantes ainsi achetées sont présentée dans la figure ci-dessous.

		
<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Zingiber officinale</i>	<i>Alpinia officinarum</i>

Figure 05 : Photo des plantes utilisées

III.2.1.2. Microorganismes testés

1. Souches bactériennes

1.1. *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif qui tendent à grouper en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (Dworkin *et al.*, 2006).

Staphylococcus aureus est un germe aérobie - anaérobie facultatif. Il tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales. Ainsi, il possède une coagulase, ce qui le distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques (Hennekin *et al.*, 2003).

Cette bactérie est très répandue chez l'Homme et dans de nombreuses espèces animales. Chez l'Homme, environ un tiers des sujets sont des porteurs sains ayant la bactérie au niveau des muqueuses et des zones cutanées humides. Il développe rapidement des résistances aux antibiotiques et les souches hospitalières ne sont souvent sensibles qu'aux glyco-peptides (Dworkin *et al.*, 2006).

1.2. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae est un germe de la famille des Entérobactériaceae. C'est un bacille Gram négatif, aéro-anaérobie, immobile et capsulé. Les colonies bactériennes sont volumineuses, bombées, brillantes et visqueuses (Kouch, 2015).

1.3. *Enterococcus sp*

Enterococcus appartient à la famille des Enterococcaceae. Ce sont des coques à Gram positive sphériques ou ovoïdes (Nannin *et al.*, 2006), anaérobies strict ou facultatif. Ces bactéries sont catalase négatives. Ils sont immobiles et sans capsule (Calfee *et al.*, 2003).

Ils font partie de la flore commensale et se retrouvent notamment dans le tractus digestif et génito-urinaire dont urètre (Leclercq *et al.*, 2009). Chez l'homme et la plupart des animaux autant que pathogènes opportunistes (Lansing *et al.*, 2010), *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* font partie de la cavité orale avec une faible proportion (Sweet, R. *et al.*, 2009).

Les Entérocoques demeurent responsables d'infections urinaires et d'endocardites. Les plus fréquemment isolés sont *E. faecalis* et à un moindre degré *E. faecium* (Bulletin, 1997).

2. Souche fongique

2.1. *Candida albicans*

Candida albicans est une levure non capsulée, non pigmentée, et aérobique. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes (Ezekowit et al., 1991).

Ainsi, elle se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère, tout en formant des colonies blanches crémeuses. (Kabha et al., 1995).

Candida albicans appartient à la flore commensale des individus sains. Chez l'Homme, cette levure constitue un sérieux problème de santé, notamment chez des patients immunodéprimés et ceux sous thérapies immunosuppressives (Stahl et Ezekowitz, 1998). Les souches microbiennes utilisées dans cette étude proviennent de l'ATCC (Tableau 01).

Leur croissance est réalisée à 37°C sur gélose Mueller-Hinton Agar (MHA bio Mérieux)

Tableau 01 : Origine des souches utilisées dans test d'activité antibactérienne.

Souche	Gram	Code	Origine
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline (MRSA)	Positif	ATCC 43300	LabVét-Lagh
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	negative	ATCC	LabVét-Lagh
<i>Enterococcus</i> sp	negative	ATCC	LabVét-Lagh
<i>Staphylococcus aureus</i>	positive	ATCC 25523	LabVét-Lagh
<i>Candida albicans</i>	-	IP 444	LabVét-Lagh

MRSA : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline ; **ATCC :** American Type Culture Collection ; **LabVét-Lagh :** Laboratoire Vétérinaire de la wilaya de Laghouat.

III.2.2. Matériel expérimental

Pour effectuer cette étude, on a utilisé les verreries, et les appareillages, et aussi un ensemble des réactifs, des milieux de culture et des produits chimiques dont une description détaillée est présentée dans l'annexe 1.

III.3. Méthodes

III.3.1. Extraction de l'huile essentielle

La mise en œuvre de l'extraction des produits naturels en général, et des huiles essentielles en particulier, est confrontée à un certain nombre de problèmes, qui sont le plus souvent :

- La faible teneur de l'huile essentielle dans la matière végétale.
- Les contraintes de récoltes saisonnières du matériel végétal qui posent le souci de son stockage.

Afin d'étudier l'activité biologique de notre huile essentielle, nous avons choisi l'hydrodistillation comme méthode d'extraction d'huile essentielle. C'est le procédé le plus simple et souvent utilisé.

Cette technique est basée sur l'immersion d'un échantillon solide (végétal) dans l'eau portée à ébullition, la vapeur saturée d'huiles essentielles traverse un serpentin ou elle se condense pour donner le distillat qui est composé de l'eau florale et de l'huile essentielle (Figure 06).



Figure 06: Dispositif de l'hydrodistillation à l'échelle du laboratoire – Appareil Clevenger(Original.,2020)

III.3.1.1.Mode opératoire

Dans un ballon d'une capacité de 3 litres, on introduit 300 g de matière végétale découpée. Puis, on ajoute un volume d'eau qui correspond à 1/2 de la capacité du ballon. Ensuite, on adapte le ballon à l'appareil de condensation et on alimente le réfrigérant en eau. Ainsi, le ballon et son contenu sont mis sur un chauffe-ballon.

Les huiles essentielles entraînées par les vapeurs d'eau générées dans le ballon sont dirigées vers le col de cygne (le coude) qui relie le ballon au réfrigérant. Enfin le distillat est récupéré dans un erlenmeyer recouvert d'un papier aluminium pour le protéger de la lumière. On le conserve au réfrigérateur. L'extraction des huiles essentielles dure plus de 2 heures.

III.3.1.2. Caractéristiques de l'Huile essentielle

La caractérisation d'une huile essentielle consiste à :

- Vérifier ses caractéristiques organoleptiques (Aspect, couleur, odeur, saveur).
- Déterminer ses indices physiques (Rendement et densité).

A-Analyse physique

Les méthodes utilisées pour déterminer les indices physiques sont celles indiquées par le recueil de normes de l'Association Française de Normalisation (AFNOR).

B-Détermination des rendements en huiles essentielles

L'extraction par hydrodistillation d'huile essentielle de la plante étudiée a été menée chaque jour, pour définir la valeur maximale du rendement en fonction du temps de séchage et dans les mêmes conditions de travail. Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal utilisé pour cent (AFNOR, 2000). Après récupération des huiles essentielles, le rendement est calculé par la formule suivante :

$$R^{dt} = m/m_0 \times 100$$

R^{dt} : rendement en huiles essentielles (en %) pour 100 g de la matière sèche.

m : masse d'huiles essentielles récupérées (g)

m_0 : prise d'essai du matériel végétal (g).

III.3.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des trois plantes, la méthode de diffusion sur milieu gélosé Muller Hinton a été adoptée.

Selon **Fauchère et Avril.(2002)**, l'aromatogramme est une méthode qui se réalise in vitro. Elle est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale appelée antibiogramme ou méthode de disque ou méthode par diffusion en milieu gélosé.

Elle permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance des huiles essentielles par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque imprégné d'huile essentielle (**Kheyar et al., 2014**).

A-Préparation des précultures

Les souches bactérienne à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétri contenant du milieu Müller-Hinton Agar et la souche fongique a été cultivée dans des boîtes de pétri contenant du milieu Sabouraud. Après 24 heures d'incubation à 37°C, un inoculum pour chaque suspension bactérienne et fongique d'une densité optique entre 0.08 à 0.1 mesurée à 620 nm a été préparé dans l'eau physiologique stérile.

B-Méthode de diffusion sur gélose (méthode de Vincent)

L'évaluation de l'effet antibactérien d'huiles essentielle de *Romarin*, *Gingembre* et *Alpinia*)est testée par la méthode de la diffusion sur gélose selon les recommandations (**NCCLS., 2000**).

La méthode des disques est une méthode de diffusion des produits à tester à partir d'un disque de papier (Whatman N°1) qui permet de mesurer qualitativement la sensibilité des souches aux effets antimicrobiens (**Aouni et al., 2013**).

La méthode des disques est choisie dans cette étude pour sa fiabilité et sa simplicité. Cette méthode nous fournit des résultats préliminaires sur la sensibilité de la souche et l'activité antibactérienne du notre HE, grâce aux diamètres des zones d'inhibition apparaissant autour des disques mesurés en millimètres (mm).

La souche bactérienne est préparée dans du milieu de culture approprié et adaptée aux normes. Les disques imprégnés dans l'huile essentielle sont déposés à la surface de ces

milieux et incubés à 37 °C pendant 24 heures. Tous les essais sont effectués à deux reprises.

La mesure du diamètre des zones d'inhibitions est transcrite dans différents symboles à l'activité (**Tableau 02**) (**Moreira et al., 2005**).

Diamètres de la zone d'inhibition (mm)	Transcription	Sensibilité du germe
<8	-	Résistant
9 – 14	+	Sensible
15 – 19	++	Très sensible
>20	+++	Extrêmement sensible

Tableau 02: Transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés. (**Moreira et al., 2005**)

Pour chaque boîte la mesure de la zone d'inhibition indique la sensibilité de ce germe, nous avons deux actions proposées à se produire :

- Soit une action bactéricide où nous ne remarquons aucune croissance microbienne autour des disques.
- Soit une action bactériostatique, dont il y'a des zones d'inhibition autour des disques disposés sur la surface de milieu de culture.
- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)
La CMI (concentration minimale inhibitrice) est la plus faible concentration d'antibiotique ou de substance antimicrobienne inhibant toute croissance visible après un temps d'incubation de dix-huit à vingt-quatre heures. La CMI permet de définir la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes aux substances antimicrobiennes (Kablan et al., 2008).
- Les huiles essentielles ont été diluées dans le DMSO (Diméthylsulfoxyde) afin d'obtenir une gamme de concentration de 0.3 - 3 mg/ml, Le même volume de DMSO est utilisé comme témoin négatif. La suspension microbienne est préparée selon les normes 0,1 McFarland (Cavallo et al., 2005), 0,1 ml d'inoculum est immédiatement ensemencé dans la gélose à l'aide d'un écouvillon.

C-Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI (concentration minimale inhibitrice) est la plus faible concentration d'antibiotique ou de substance antimicrobienne inhibant toute croissance visible après un temps d'incubation de dix-huit à vingt-quatre heures. La CMI permet de définir la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes aux substances antimicrobiennes (Kablan et al., 2008).

L'huile *essentielle* des trois plantes ont été diluées dans le DMSO (Diméthylsulfoxyde) afin d'obtenir une gamme de concentration de 0.3 - 3 mg/ml. Le même volume de DMSO est utilisé comme témoin négatif. La suspension microbienne est préparée selon les normes 0,1 McFarland (Cavallo et al., 2005), 0,1 ml d'inoculum est immédiatement ensemencé dans la gélose à l'aide d'un écouvillon.

La concentration minimale inhibitrice est la concentration qui correspond au tube où il y a absence de croissance bactérienne.

Aligianis et al. (2001) ont proposé une classification des extraits du matériel végétal sur la base des résultats des CMI, comme suit :

- Forte inhibition : CMI inférieure à 0.5 mg/ml.
- Inhibition modérée : CMI varie de 0.6 mg/ml à 1.5 mg/ml.
- Faible inhibition : CMI supérieure à 1.6 mg/ml.

Chapitre 3:
Résultats et discussion.

IV.1.Rendement des huiles essentielles

L'aspect des huiles essentielles des trois plantes obtenues par hydrodistillation est un liquide visqueux, limpide, d'une coloration transparent et jaune très claire avec une odeur forte. Les extraits des trois plantes (*Rosmarinus officinalis*, *zingiber officinale* et *Alpinia officinarum*) ont été récupérés dans des petits flacons hermétiques (**figure 07**).

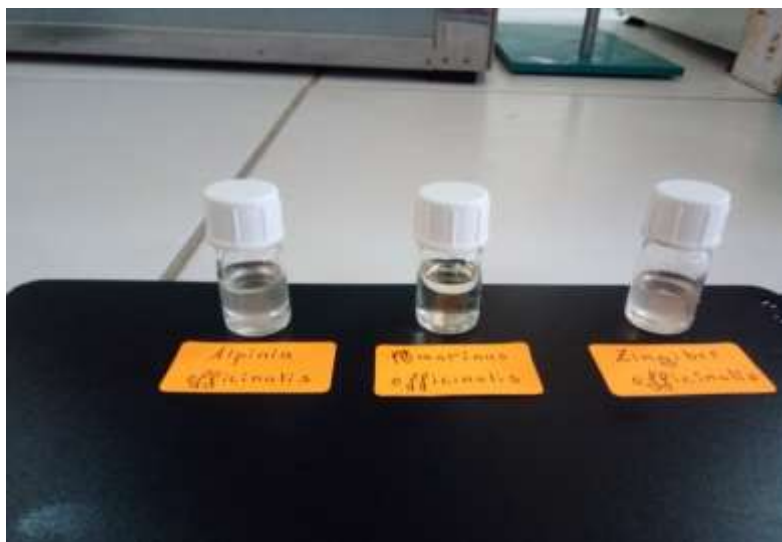


Figure 07 :Extraits des huiles essentielles obtenues pour les trois plantes

Les valeurs de rendement ainsi calculé et exprimé en pourcentage sont récapitulées dans suivant ;

Les plantes	Rendement %	Couleur
<i>Rosmarinusofficinalis</i>	1 ,41	Transparent
<i>Zingiber officinale</i>	0 ,69	Jaune très claire
<i>Alpinia officinarum</i>	1,30	Transparente

Tableau 03: Rendements en % des huiles essentielles *Rosmarinus officinalis* *Zingiber officinale* et *Alpinia officinarum*

Le pourcentage de rendement d'extraction était différent entre les trois plantes, ceci peut être attribué à plusieurs facteurs dont la nature du sol, à savoir l'espèce, le milieu de récolte, la période de récolte (Goudjil., 2016). la durée de séchage, les pratiques culturales et la technique d'extraction (zabeirou et Hachimou., 2005).

IV.2.Activité antimicrobienne

IV.2.1.Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disques

On a étudié in vitro le pouvoir antibactérien des huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis*, *Zingiber officinale* et *Alpinia officinarum*. par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide.

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est estimée en terme de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les produits à tester vis-à-vis de cinq germes pathogènes à savoir *Staphylococcus aureus*(ATCC 25523), *Staphylococcus aureus* (ATCC43300) ,*Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus*sp, *Candida albicans*(IP444), après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C. (Annexe 02)

La méthode de diffusion des disques (10,0 µl HE/disque) nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien et antifongique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de la région de Laghouat. Les résultats du test de sensibilité microbienne aux différentes huiles essentielles sont regroupés dans le **Tableau 04** .Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois mesures.

Tableau 04: Résultats de l'aromatogramme des huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis*, *Zingiber officinale* et *Alpinia officinarum* sur les microorganismes testés.

(Diamètres des zones d'inhibition en mm de chaque dilution, DMSO, HE pur)

Notes :(-): pas d'inhibition, **DMSO :** témoin, **HE :** huile essentielle

Microorganismes	Nombre d'essai	Témoin (DMSO)	R.O				Z.O				A.O			
			HE (pur)	HE (1/2)	HE (1/4)	HE (1/6)	HE (pur)	HE (1/2)	HE (1/4)	HE (1/6)	HE (pur)	HE (1/2)	HE (1/4)	HE (1/6)
<i>Enterococcus</i>	2	-	4,3	7,6	9,6	11,5	7,3	3,3	10	7,6	9,3	7	7,3	7,5
<i>Staphylococcus aureus (25523)</i>	2	-	-	13,1	16,8	11,1	9,6	9	8	7,5	7,6	9,6	6,3	6
<i>Staphylococcus aureus (43300)</i>	2	-	16,5	12,8	11,1	10,5	5,6	8,6	8	5,3	6,3	6	5,6	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	-	9,5	10,8	11	14,3	6	8,6	9,3	7,3	9	9,6	9,3	9,1
<i>Candida albicans (IP444)</i>	2	-	49	18	29	19	19	28	18	19	24	20,5	19	19

Selon l'échelle d'estimation de l'activité antibactérienne donnée par (Mutai et al., 2009), les diamètres des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne sont classés en 5 classes ;

- Très fortement inhibitrice : $D \geq 30\text{mm}$.
- Fortement inhibitrice : $21\text{mm} \leq D \leq 29\text{mm}$.
- Modérément inhibitrice : $16\text{mm} \leq D \leq 20\text{mm}$
- Légèrement inhibitrice : $11\text{mm} \leq D \leq 16\text{mm}$.
- Non inhibitrice : $D \leq 10\text{mm}$

En outre, l'effet de concentration de l'huile était en corrélation avec l'efficacité de l'huile utilisée vis-à-vis de différents souches utilisées. Un aperçu sur l'influence de facteur de dilution sur la moyenne des zones d'inhibition est donné dans les figures (8,9 et 10) pour l'huile de *Rosmarinus officinales*, *Zingiber officinale* et *Alpinia officinarum*, respectivement.

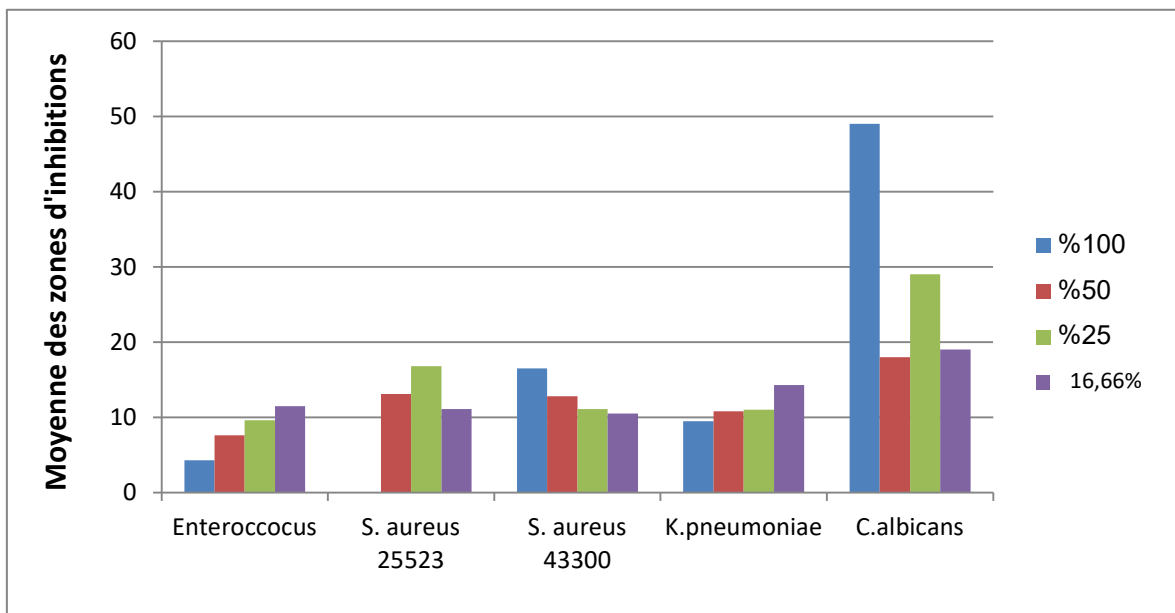


Figure 08: Histogramme représente l'activité de plusieurs concentrations d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* sur les microorganismes testés

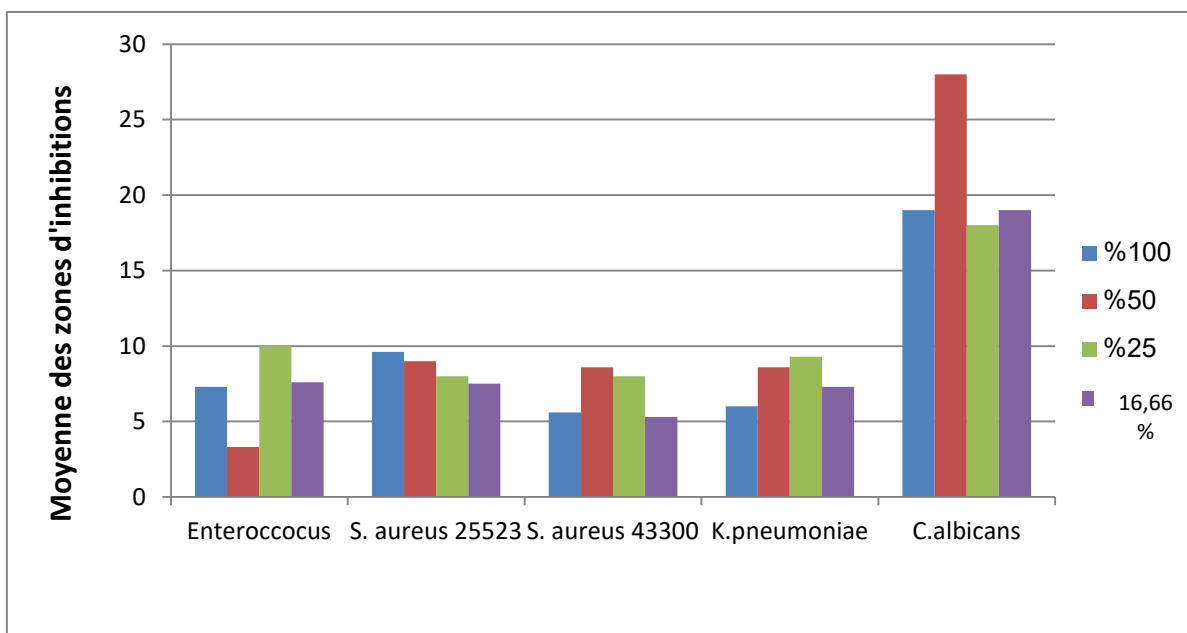


Figure 09:Histogramme représente l'activité de plusieurs concentrations d'huile essentielle de *Zingiber officinale* sur les microorganismes testés.

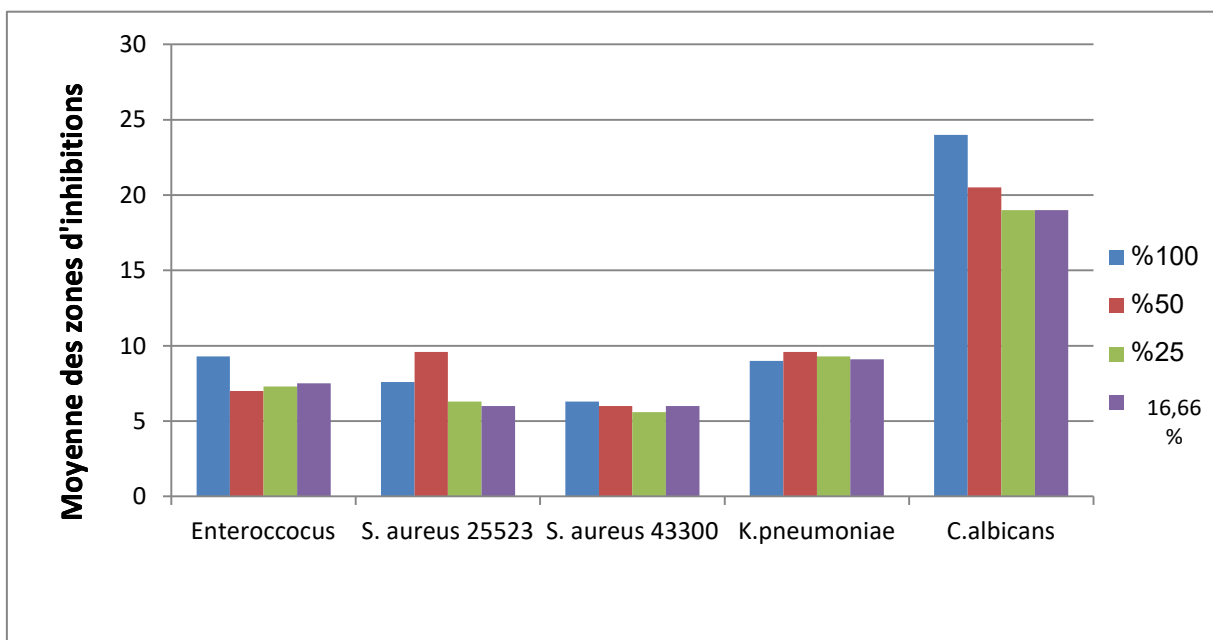


Figure 10 : Histogramme représente l'activité de plusieurs concentrations d'huile essentielle d'*Alpinia officinarum* sur les microorganismes testés.

Au regard de ces résultats, on a observé que les extraits zingiber, et l'alpinia ont Inhibé la croissance des deux souches bactérienne étudiée *S. aureus* 25523 et *Enterococcus sp* (bactérie à Gram positif) et une espèce fongique *Candida albicans* avec une activité antibactérienne dose dépendante.

La plus forte activité a été obtenue avec le romarin avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance du 4,3 au 49 mm et aussi avec un large spectre d'activité antibactérienne et antifongique

Aussi, on remarque que le choix de concentration d'huile essentielle influence l'activité inhibitrice, et est en fonction de solubilité et le facteur de dilution utilisée dans le cas générale,nous remarquons une corrélation positive dépendante entre la concentration de l'huile et le diamètre d'inhibition (**Karagoz et al.,2010**).

D'autres part, nous avons remarqué une différence de sensibilité vis-à-vis de type de l'huile testé et le type de Gram .

L'huile essentielle de *Romarin* a un effet plus important sur les bactéries à Gram positif, *E. spet S. aureus* que sur les bactéries à Gram négatif comme *K. pneumoniae*.

(**Deansetal., 1995**), rapportent que la susceptibilité des bactéries à Gram + et à Gram - vis-à-vis des huiles essentielles a une légère influence sur l'accroissement du degré d'inhibition. Cependant, il apparait que beaucoup d'huiles volatiles exercent une activité importante contre les bactéries Gram positive,contrairement aux bactéries à Gram négatives qui semblent et reb plus résistantes (**Reynolds.,1996**).

Cette résistance est attribuée à la présence du lipopolysaccharides dans la paroi cellulaire qui constitue une barrière pour l'huile essentielle (**Bezic et al. , 2013**).

De même, la variabilité des résultats est probablement due à l'influence de plusieurs facteurs tels que la méthodologie, les microorganismes testés et les huiles essentielles Utilisées (**Pattnaik et al., 1996**).

Cela a été confirmé par (**Suhr et Nielsen.,2003**), qui ont mentionné que l'effet antifongique des huiles dépend de la méthode d'application.

Tableau 05 : Les concentrations correspondantes pour chaque dilution.

Facteur de Dilution	Concentration des extraits des huiles essentielles (mg/ml)		
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>zingiber officinale</i>	<i>Alpinia officinarum</i>
1	1,024	0,502	0,932
1/2	0,256	0,128	0,466
1/4	0,128	0,064	0,233
1/6	0,085	0,042	0,155

IV.3 Évaluation de la concentration minimale inhibitrice(CMI) :

La CMI est définie comme étant la plus basse concentration capable d'empêcher une croissance bactérienne visible. La CMI n'est pas totalement bactéricide et une partie de l'inoculum est capable de se développer après disparition du composé inhibiteur (**Mann et Markham., 1998**).

Nous rapportons dans le **tableau 06**, les CMI de notre extrait le plus actif (Romarin) de l'étude en milieu liquide. Dans le **la figure 11 et 12** les CMI sont inversement proportionnelles aux changements de couleurs.

Espèces	CMI (mg/ml)
<i>S. aureus</i> (25523)	0.08
<i>S.aureus</i> (43300)	0.10
<i>K. pneumoniae</i>	0.06
<i>Enterococcus</i>	0.04
<i>C.albicans</i> (IP 444)	0.03

Tableau 06 : Les valeurs deCMI (exprimée en mg/ml) relatives aux souches testées avec le DMSO comme solvant.

(**Yakhlefet al.,2011**) ont proposé une classification des extraits du matériel végétal sur la base des résultats des CMI, comme suit :

- forte inhibition : CMI inférieure à 0.5 mg/ml.

- inhibition modérée : CMI varie de 0.6 à 1.5 mg/ml.
- faible inhibition : CMI supérieure à 1.6 mg/ml.

Ainsi selon cette classification, on constate une forte inhibition de l'extrait de d'huile essentielle de *rosmarinusofficinallis* sur **les souches testés a eu lieu impliquant que l'extrait de Romarin pourra faire l'objet d'un bactéricide et/ou fongicide d'excellence.**

Les différences observées pour les valeurs de CMI peuvent s'expliquer par la présence de composés antibactériens dans notre extrait de plante à différentes concentrations, mais aussi par rapport au choix des techniques utilisées.(Yakhlefet al .,2011).

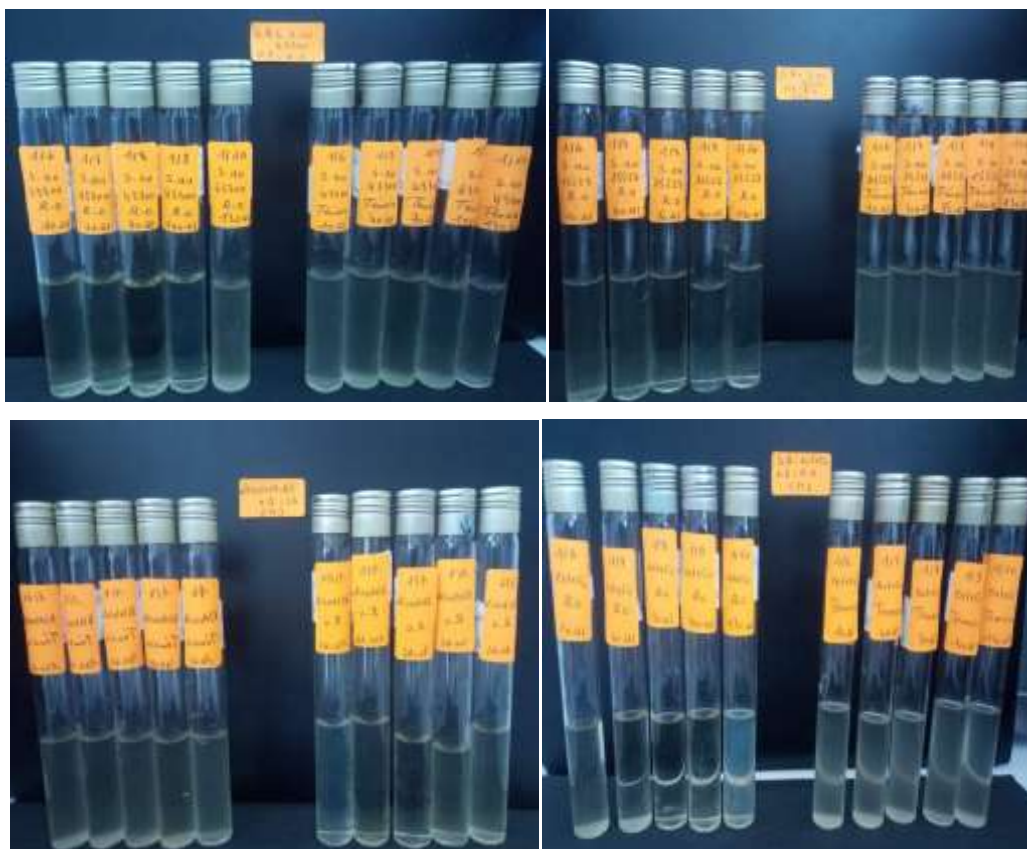


Figure 11 : L'effet de l'extrait de *Rosmarinusofficinalis* sur les quatre souches bactériennes testées

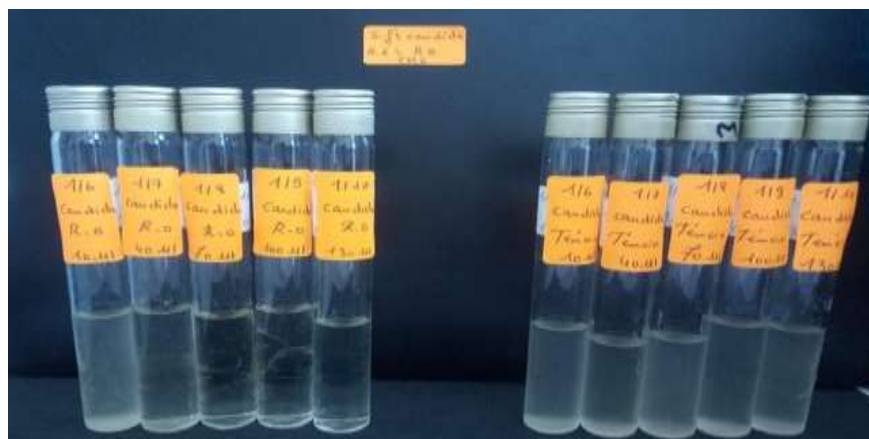


Figure 12 : L'effet de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* sur la souche fongique testée

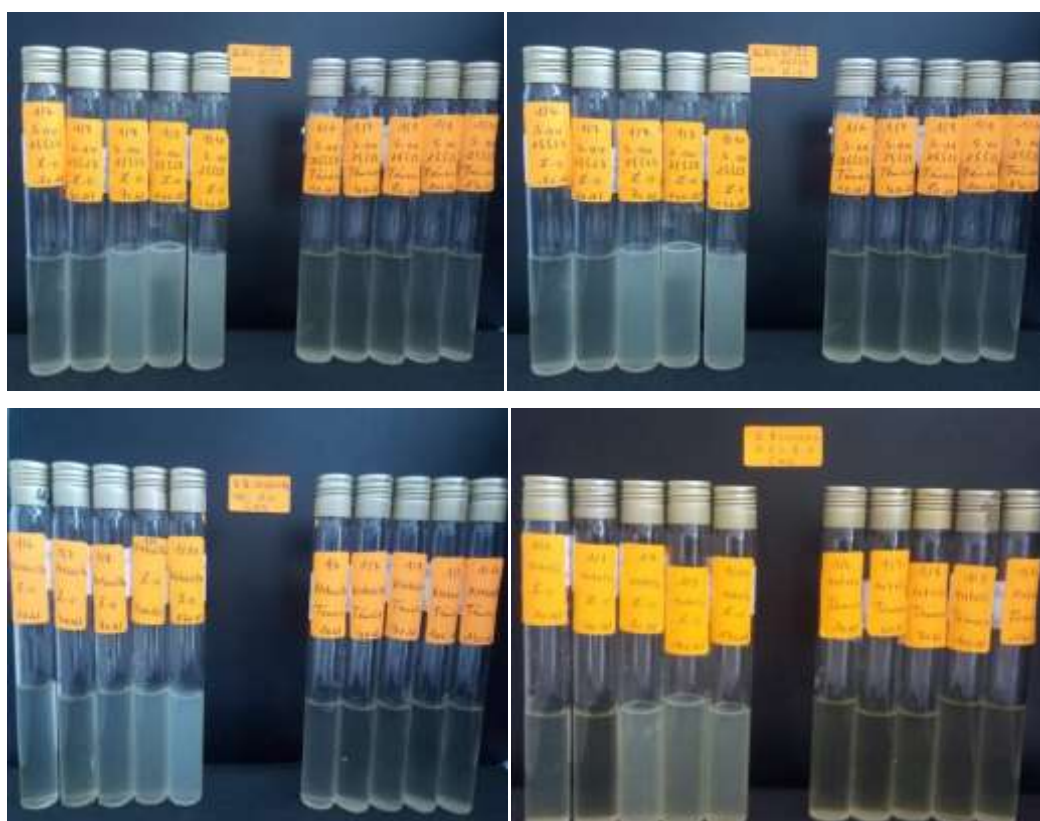


Figure 13 : L'effet de l'extrait de *Zingiber officinalis* sur les quatre souches bactériennes testées

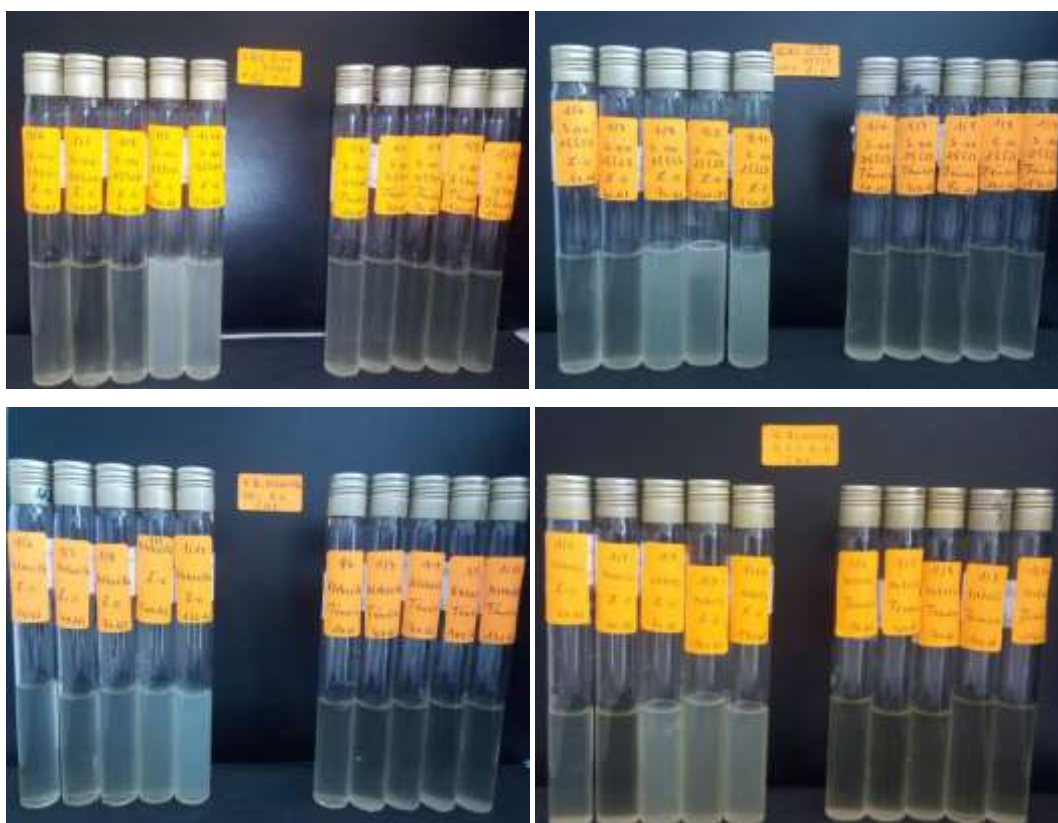


Figure 14 : L'effet de l'extrait d'*Alpinia officinalis* sur les quatre souches bactériennes testées

(Boutabiaet *al.*,2016) ont rapporté une étude détaillée sur l'activité anti-bactérienne de l'huile du Romarin de la région de (Hammamet Tebessa-Algérie).Les résultats obtenus à partir de l'aromatogramme ont montrés que les souches de *Staphylococcus aureus* (25523) et *Staphylococcus aureus*(43300) (MRSA), ont été les bactéries les plus sensibles aux extraits du *Rosmarinusofficinalis* .

(Jordán et ses collaborateurs.,2013) ont mentionné qu'une forte proportion d' α -pinène augmente l'efficacité des huiles essentielles du romarin contre *Staphylococcus aureus*, tandis que la présence de 1,8 cinéole, comme le composé le plus abondant, diminue considérablement l'efficacité de ces huiles.

(Makhloufi .,2012) a rapporté à son tour dans sa thèse de doctorat une étude bien précise sur l'activité antibactérienne de Romarin du Bechar et de valeur de CMI équivalente à 0,5 a été estimé pour l'extrait méthanolique de Romarin vis à vis de *S.aureus* et *E.coli*.

En outre, (**Giordani et al.,2008**) ont rapporté une valeur de CMI équivalente à 0,2208 mg/ml, pour le romarin d'Annaba vis-à-vis des Souches de *C.albicans* mais dans l'étude de (**Ksouri et al., 2017**) portée sur l'HE de cette même plante, collecté de la même région et testé sur des isolats ont enregistrés des valeurs de CMI plus élevée (2,399 à 3,108 mg/ml).

Étant donné que l'huile essentielle d'une plante aromatique est un mélange complexe de plusieurs composés, l'attribution d'une propriété biologique à l'un de ses composants reste difficile (**Makhloufi., 2012**).

Les composés majeurs sont généralement les garants des effets biologiques. En effet, les analyses chromatographiques ont montrés que le romarin a un profil chimique dominé surtout par 1,8-cinéole et bornéo (**Lima et al, 2005**).

En général, dans des études réalisés à travers le monde, où ils ont démontrés que ces terpènes agissent sur l'intégrité cellulaire, l'inhibition des processus de respiration et de transport d'ions et augmentent la perméabilité des membranes cellulaires fongiques (**Tangarife-Castaño et al.,2011**).

Parallèlement, dans cette espèce de romarin, le groupe de terpènes isolé par plusieurs auteurs comme le bornéol, le camphre, la camphène et le bornyle acétate, ont été signalés à être responsable de l'activité antimicrobienne par (**Rasooli et al,2008**).

Comme constat, la sensibilité des micro-organismes peut varier selon le germe testé, la composition de l'huile essentielle, la région et la saison de récolte car une même huile essentielle peut être bactéricide vis-à-vis de certaines souches, bactériostatique vis-à-vis d'autres ou sans effet (Hermal., 1993).

Conclusion générale.

Les plantes médicinales constituent entre autres une source riche en principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Dans notre étude, nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de trois plantes médicinales (***Rosmarinus officinalis***, ***Zingiber officinale*** et ***Alpinia officinale***) vis-à-vis de souches bactériennes à Gram positive et à Gram négative (***E.sp***, ***S.aureus*** et ***K. pneumoniae***) et une souche fongique (***Candida albicans***)

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par hydrodistillation. Le *Romarin* présente le meilleur rendement du 1,41%, suivi de celle d'*Alpinia* (1,30%) et le zingiber (0.69%)

L'étude de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion des disques a montré des résultats intéressants vis-à-vis des microorganismes testés.

Les extraits ont un bon effet bactériostatique sur les bactéries Gram positif par rapport aux bactéries Gram négatif ainsi que sur la souche fongique utilisée. Parmi les souches microbiennes étudiées, ***Candida albicans*** semble être la souche la plus sensible vis-à-vis des extraits, tandis que ***Klebsiella pneumoniae*** est la souche la moins sensible.

Les CMI enregistrées pour l'huile de romarin ***Klebsiella pneumonia*** : 0.06mg/ml, ***Enterococcus sp*** : 0.04 mg/ml, ***S. aureus*** 25523: 0.08 mg/ml, ***S. aureus*** 43300 : 0.10g/ml ***Candida albicans*** : 0.03mg/ml justifient, d'une part, l'importance d'activité antimicrobienne de l'extrait de ***R.officinalis***, d'autre part, son efficacité thérapeutique.

Il ressort de la présente étude que les huiles essentielles étudiées peuvent être utilisées comme une bonne source naturelle d'agents antimicrobiens. Dans cette étude nous avons utilisées des extraits bruts ce qui ne nous renseigne nullement sur la nature des composés responsables des activités antimicrobiennes observées. Par conséquent Comme perspectives, Cette étude mérite d'être complétée par réalisation des travaux suivants :

- Isoler et d'identifier la ou les substances responsables des activités antimicrobienne et de déterminer leur mécanismes d'action
- Evaluer d'autres activités biologiques de cette plante médicinale et aromatique par

exemples : activité antiparasitaire, anti-inflammatoire et antivirale

- Tester l'efficacité de ces huiles essentielles sur d'autres souches bactériennes et

Fongiques.

- Etude l'effet synergique entre les huiles essentielles

Références bibliographiques

A

Aboughe Angone, S. 2014. « Some properties of the medicinal plants essential oils of Gabon. 13, 5 pp. 283-287».

Aligiannais N., Kalpotzakis E., Mitaku S., Chinou LB. 2001 composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species .Journal of agricultural and food chemistry 40 ,4168-4170

Anderew ch.1996,2001- Encyclopedia of medicinal plants (2nd Edition) ,P128

B

Beloud A .,2005 .plante médicinales d'Algérie .Office des publications universitaires Alger.P :184,196 ,206

Bezic ,N., Skocibusic ,M., Dunkic ,V.,Radonic,A 2003 Composition and antimicrobial activity of *Achiella clavennae* L .essential oil phytotherapy research 17,1037-1040

Blanc M, 2010 Propriétés et usage médicale des produits de la ruche ,pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie université de limoges ,144p

Braga M.E.M., Moreschi S.R.M., Meireles M.A.A. 2006. Effects of Supercritical Fluid Extraction on *Curcuma longa* L. and *Zingiber officinale* R. Starches, Carbohydrate Polymers, 63, 340-346.

Bruneton J., 1999. Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. *Tec. & Doc.* Lavoisier 3ème édition, Paris

Boullard B.,2001. Plantes médicinales du monde : croyances et réalités. Éditions Estem, Paris.

Boutabia, L., Telailia, S., Bouguetof,I., Guenadil, F., Chefrour, A 2016. « Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L.de la région de Hammamet (Tébassa-Algérie). Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 85, 174-189 ».

Bulletin Epidémiologique Annuel 1997. Résistance du pneumocoque aux antibiotiques en France en1997 ; 2 : 183-186.

C

Calfee DP, Giannetta ET, Durbin LJ. et al. 2003 « Control of endemic vancomycin-resistant *Enterococcus* among inpatients at a university hospital » *Clinical Infectious Diseases* ;37(3):326-32.

D

Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schkeufer, K.H., Stackebrandt, E. The Prokaryotes: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. 3eme éd. ; Springer, New-York, 2006. Vol 4, Chap.1.2.1. The genera Staphylococcus and Micrococcus, p4-75.

E

Elqaj M., Ahami A., Belghyti D. 2007. La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.

Ezekowitz R.A., Williams H., Koziel M. Y., Armstrong A., Warner F.F. and Richards ., 1991 - Uptake of *Pneumocystis carinii* mediated by the macrophage mannose receptor. *Nature* ,(351): 155-158.

F

Farnsworth R.N. 1986. Review on Biological and phytochemical screening of plants. *J. pharm Sci*, **55**(3), 225-276.

Faucher, J.L., Avril, J.L. 2002. *Bactériologie générale et médicale*. Tome 1, Ellipses (Ed.), Paris, 214p.

Fouché G.P., Marquet A. et Hambuckers A. (2000). Les plantes médicinales : de la plante au médicament. Exposition temporaire de 19.09 au 30.09.2000.

G

Ghourri, M., Zidane, L., & Douira, A. 2014. « Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement de la lithiase rénale dans la province de Tan-Tan (Maroc saharien). International Journal of Biological and Chemical Sciences, 7(4) ».

Gigon F. Le gingembre, une épice contre la nausée. Phytothérapie [En ligne]. avril 2012[cite le 6 sept 2016]; volume (10): p 87 . Disponible: DOI 10.1007/s10298-012-0695-4

Giordani, R ., Hadeif, Y ., Kaloustian 2008 composition and antifungal activities of essential oils of some algerian aromatic plants .fitoterapia 79 ,199-203

Guignard, J. Potier L. 2000. Botanique systématique moléculaire. 12^{ème} édition Masson (Paris), 304p.

I

Ibañez E., Kubátová A., Señoráns F. J., Cavero S., Reglero G. et Hawthorne S. B. 2003. Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosemary Plants. Journal of Agricultural and Food Chem., 51 (2): 375-382

Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deelesalle –Féat T., Biaujeaud M., Ringuet 2001

J

JUDD, CAMPBELL, KELLOGG, STEVENS. Botanique systématique, une perspective phylogénétique, De Boeck Université, Paris, 2002.

K

Kabha K.L., Nissimov A., Athamna Y., Keisari H., Parolis L.A., Parolis R.M., Grue J., Ezekowitz D.E. and Ohman., 1995 - Relationships among capsular structure, phagocytosis, and mouse virulence in *Klebsiella pneumoniae*. *Infection and immunity*, (63): 847-852.

Kablan, B. J., Adiko, M., & Abrogoua, D. P. (2008). « Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoe crenata* et de *Manotes longiflora* utilisées dans les ophtalmies en Côte d'Ivoire. *Phytothérapie*, 6(5), 282-288 ».

Karagoz, Jemis, Coskum. (2010). Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oil on fresh ground beef patties. *Meat science*, 86 :283-286.

Kouche.M (2015). « Etude phytochimique et biologique d'une espèce végétale endémique algérienne "*Thymus numidicus* Poiret". Thèse de doctorat université de Annaba ».

L

Lansing M., Prescott L.M., Harley J.P., Klein D., Linda M., 2010 ; Shewood, Christopher, J. Woolverton.. « Microbiologie »; 3ème édition française., édition de Boeck Université.

Leclercq R, Derlot E, Weber M, Duval J. & Courvalin P. 2009. « Transferable vancomycin and teicoplanin resistance in *Enterococcus faecium* » *Antimicrob Agents Chemother.*;33(1):10-5.

Lucchesi, M. E., Chemat, F., & Smadja, J. 2005. « Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043, 323-327 »

M

Mann C.M., Markham J.L. 1998. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *J Appl Microbiol.*, 84(4):538-544.

MARIE ELISABETH LUCCHESI .,2005 : Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles : p 17 ; 23,52.

Mohammedi Z., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. *Thèse magistère*, Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen, 155p.

Moreira M.R., Ponce A.G., de Valle C.E. & Roura S.I., 2005- Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food borne pathogen. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie-LWT*, 38: 565-570.

Mutai, C., Bii, C., Vagias, C., Abatis, D., & Roussis, V. (2009). « Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupane triterpenes. *Journal of ethnopharmacology*, 123(1), 143-148 ».

N

Nannin, E. C., & Murray, B. E. 2006. *Enterococcus spp.* In S. H. Gillespie, & P. M. Hawkey (Eds.), *Principles and Practice of Clinical Bacteriology* (2nd ed., pp. 59-71). West Sussex UK: John Wiley & Sons, Ltd.

NCCLS. ,2001Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents. Approved guideline, M26-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.

O

Okamura N., Haraguchi H., Hashimoto K., Yaghi A. 1994. Flavonoids in *Rosmarinus officinalis* leaves. *Phytochemistry*, 37 (5): 1463-1466.

P

Pattnik,S. ,Subramanyam ,V.R ,Bapaji,M ., Kole ,C.R.1996.Antibacterial and antifungal activity of aromatic of essentials oils ,*Microbios* 89,39-46

Q

Quezel ,P .,Santa ,S .1963 .Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertique méridionales. Tome 2ème Ed :Paris .P :781 ,793 ,794 ,801,806

S

Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Mansredini, S., Radice, M. and Irimi, R. 2005. Comparative evaluation of 11 essentials oils of different origin as functional antioxydants, antiradicals and antimicrobial in food. *Food Chemistry*, 91: 621-632.

Small E.et Catling P.M.,2000 – Les cultures médicinales canadiennes. Presses scientifiques du CNRC, Ottawa(Ontario), Canada ,p. 281.

Suhr K.I. et Nielson P.V. (2003). Antifungal activity of essential oil evaluated by two different application technique against rye bread spoilage fungi. *Journal of Applied Microbiology*. **94** :665-674.

Stahl, P. D. and Ezekowitz R. A., 1998 -The mannose receptor is a pattern recognition receptor involved in host defense. *Current opinion in immunology*,(10): 50-55.

Sweet, R. L., & Gibbs, R. S. 2009. *Infectious diseases of the female genital tract* Lippincott Williams & Wilkins.

W

Wang, C.C., Li, H.B., Cheng, K.W., Chen, F. 2008. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem.*, 97: 705-711.

Williams, RE. Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance. *Bacteriol Rev.* 1996; 27, p56-71.

Wylock, M. (1972). « Les aromates dans les tablettes Ge de Mycénes.Studi micenei edegeo-anatolici (Vol. 15) ».

Y

Yang R., Lin S., Kuo G. 2008. Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plant species. *Asia of pacific journal of clinical nutrition*. 17 (S1): 275

Z

Zabeirou et Hachimou ., 2005 - Étude comparative entre les Huiles essentielles dela Menthe Verte (*Mentha Spicta* L) et de la Poivree (*Mentha Piperita* L) dans la région d'Ouargla .Mémoire de DES Biochimie –Université de Kasdi Merbbah.,Ouargla, p.16.

Zhiri A., Baudoux D., 2005. Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. Edition Inspir Development. Luxembourg. P :8.

ZHENGI W., RAVEN P.H ;1995.. Flora of China, Science press & Missouri botanical garden,

Annexe

Annexe 1

I .Les produits chimiques et composition des milieux de culture

Les produits chimiques:

L'eau distillée

Alcool 70

DMSO

Agar

Gélose nutritive

Gélose Muller Hinton

Gélose Saboreaud

NaCl

Tween 80

Les milieux de cultures utilisés :

Boillon nutritif

Bouillon Mueller-Hinton

Gélose nutritive.

Gélose Mueller-HintonGélose Saboreaud

Bouillon nutritif :

Sa formule est la suivante :

Eau distillée.....1000 ml

Gélose nutritive.....28 g

PH final 6,2 – 6,7

Stériliser à 115 °C pendant 20 min.

Gélose nutritive :

(bouillon nutritif solidifiépar addition d'agar- agar).

Eau distillée.....1000 ml

Gélose nutritive..... 28g

Agar..... 15à20g

PH final6,4- 6,7

Stériliser à 115 °C pendant 20 min.

Milieu de Mueller- Hinton:

Sa formule (g/l) est la suivante :

Gélose Muller Hinton..... 21g

Agar 20,0g

Eau distillée.....1000 ml

PH final 7,4

Stériliser à 121 °C pendant 15 min.

Bouillon de Mueller- Hinton:

Sa formule (g/l) est la suivante :

Gélose Muller Hinton..... 21g

Eau distillée1000 ml

pH final 7,4

Stériliser à 121 °C pendant 15 min

Milieu de Sabordeau :

Sa formule (g/l) est la suivante :

Gélose Sabordeau.....65g

Eau distillée 1000 ml

Stériliser à 121 °C pendant 15 min.

Eau physiologique :

Sa formule (g/l) est la suivante :

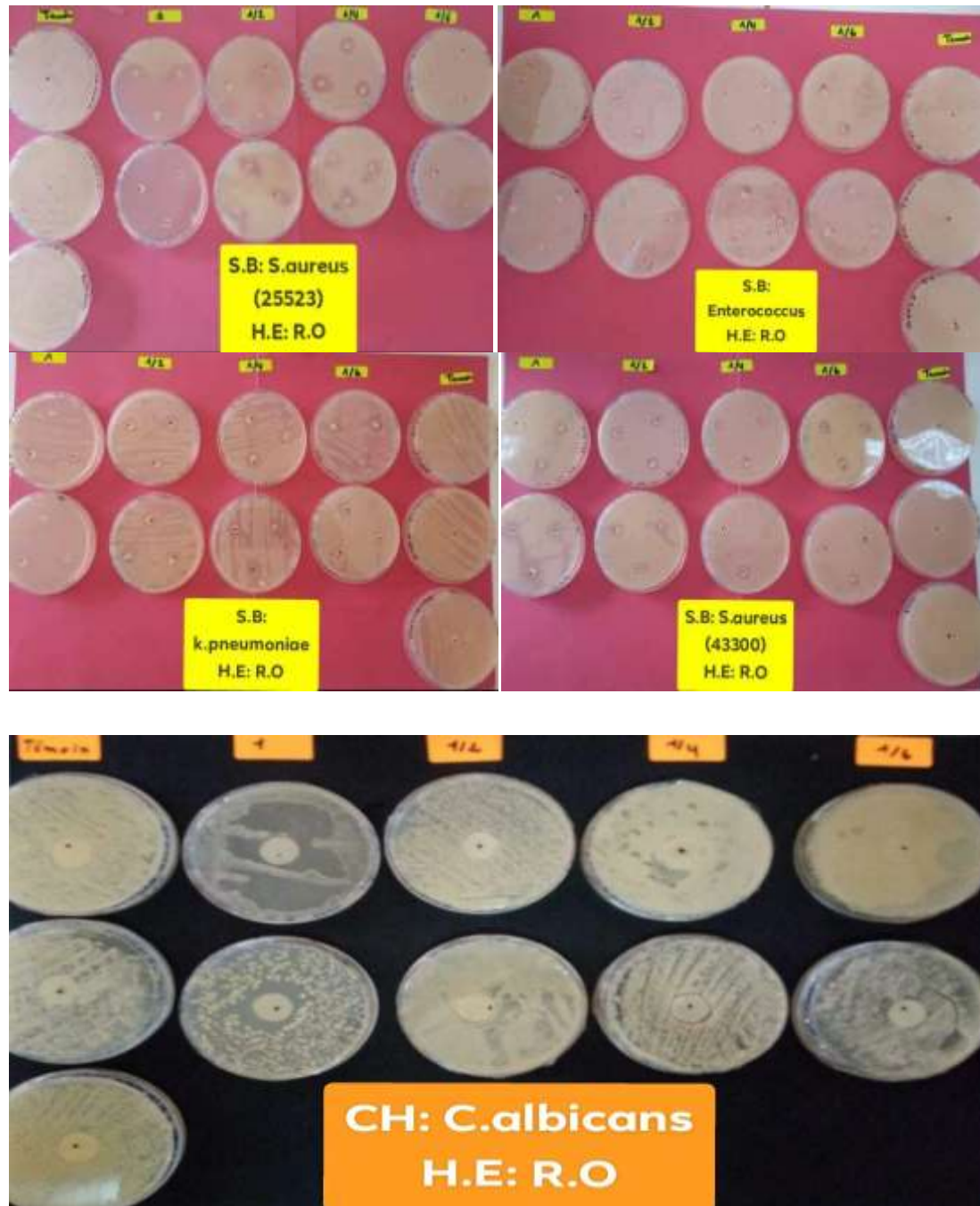
NaCl9g

Eau distillée.....1000 ml

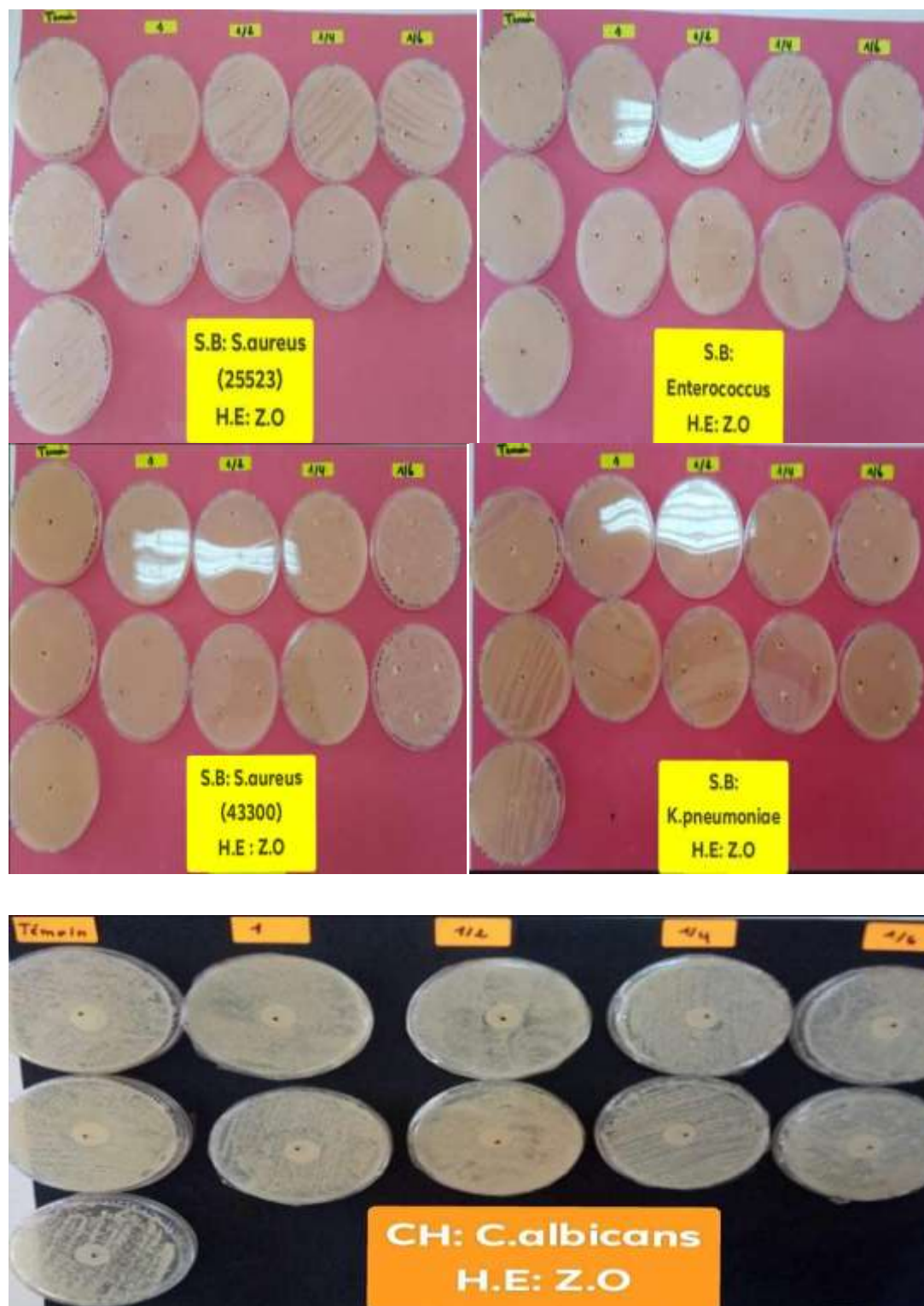
PH final 7,4

Annexe 2

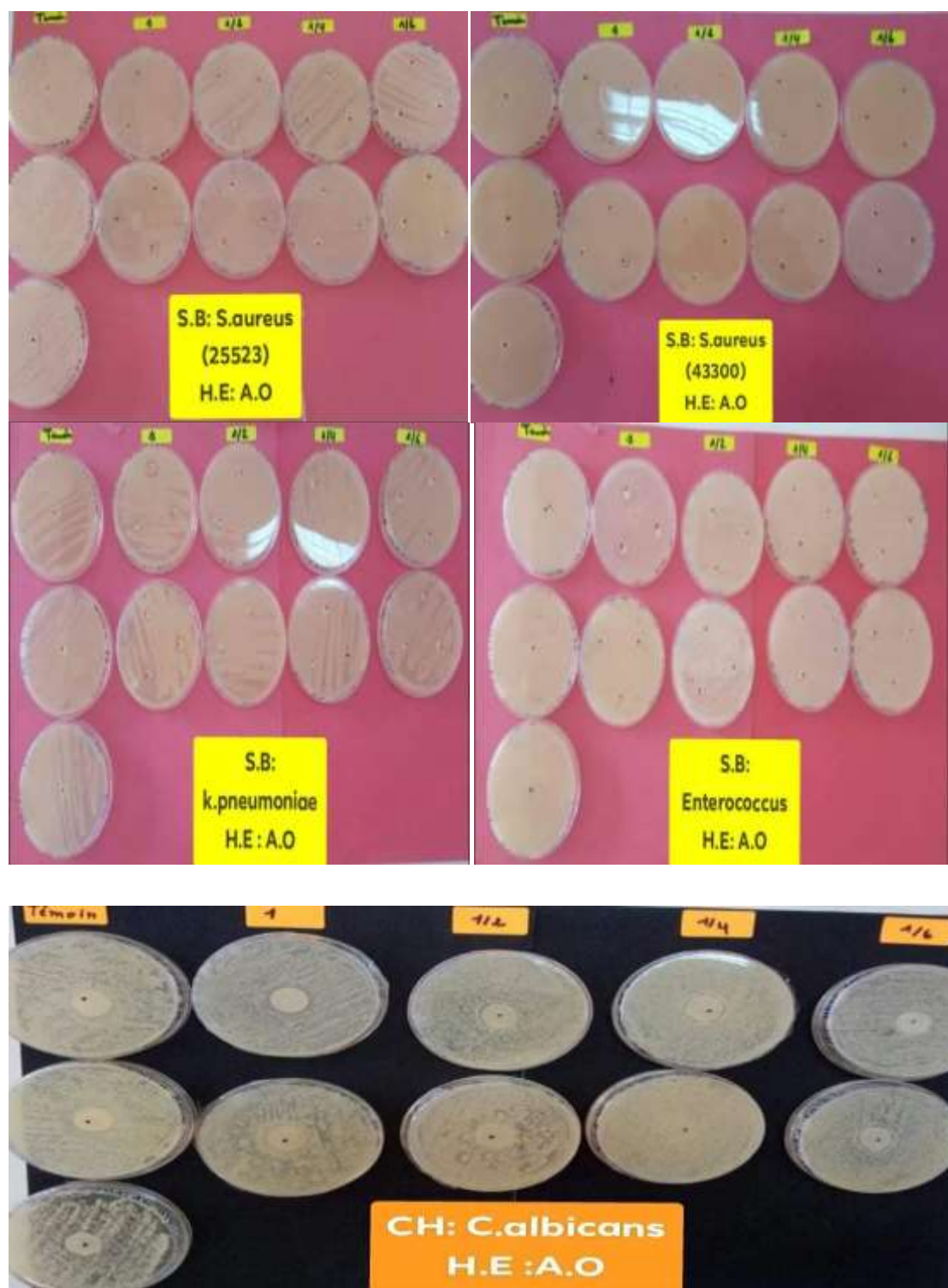
II. Résultats de l'aromatogramme



Figure(1) :Résultats d'aromatogramme de huile essentielle du *Romarin officinalise* Sur les germes testées(1, 1/2, 1/4,1/6)



Figure(2): Résultats d'aromatogramme de huile essentielle du *Zingiberofficinalis* Sur les germes testées(1, 1/2, 1/4 , 1/6)



Figure(03): Résultats d'aromatogramme de huile essentielle d'*Alpinia officinalis*
Sur les germes testées(1, 1/2, 1/4,1/6)

Abstract:

As part of this work, we were interested in the study of the antimicrobial activity of the essential oil extracted by hydrodistillation of the Clevenger type of three medicinal plants (*Rosmarinus officinalis*, *zingiber officinale* and *Alpinia officinarum*) whose yield obtained is of the order of 1.41%, 0.69% and 1.30% respectively. This activity was demonstrated by the aromatogram method vis-à-vis four bacterial strains (*Staphylococcus aureus* 43300, *Staphylococcus aureus* 25523, *Klebseilla pneumoniae* and *Enterococcus sp*) and a fungal strain (*candida albicans*) . Pure essential oils and their dilutions (100%, 50%, 25% and 166.6%) were tested on the strains studied. The results of the antimicrobial activities showed that the highest activity was obtained with rosemary with a diameter of growth inhibition zone of 4.3 to 49 mm and also with a broad spectrum of antibacterial and antifungal activity. MIC values were also estimated. An interval between 0.03 and 0.10 mg / ml was obtained for the five microorganisms tested.

Keywords: Essential oil, medicinal plants, antibacterial activity, antifungal activity

Résumé :

Dans le cadre de ce travail, on s'est intéressé à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraites par hydrodistillation de type Clevenger de trois plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis* , *Zingiber officinale* et *Alpinia officinarum*) dont le rendement obtenu est de l'ordre de 1,41%, 0,69 % et 1,30% respectivement. Cette activité a été mise en évidence par la méthode de l'aromatogramme vis-à-vis de quatre souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* 43300, *Staphylococcus aureus* 25523, *Klebseilla pneumoniae* et *Enterococcus sp*) et d'une souche fongiques (*candida albicans*). Les huiles essentielles pures et leurs dilutions (100%, 50%, 25% et 166,6 %) ont été testées sur les souches étudiées. Les résultats des activités antimicrobiennes ont montré que la plus forte activité a été obtenue avec le romarin avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance du 4,3 au 49 mm et aussi avec un large spectre d'activité antibactérienne et antifongique.

Les valeurs de CMI ont été aussi estimées. Un intervalle entre 0.03 et 0.10mg/ml été obtenu pour les cinq microorganismes testés.

Mots clés : Huile essentielle, plantes médicinales, activité antibactérienne, activité antifongique

ملخص :

في إطار هذا العمل ، كنا مهتمين بدراسة النشاط المضاد للميكروبات للزيت العطري المستخرج بالنقطير المائي من نوع Clevenger من ثلاثة نباتات طبية (*Rosmarinus officinalis*) و *Alpinia officinarum* و *zingiber officinale* التي تم الحصول على محصولها 1.41% و 0.69% و 1.30% على التوالي. تم توضيح هذا النشاط من خلال طريقة التصوير العطري مقابل أربع سلالات بكتيرية (*Staphylococcus aureus* 43300) ، (*Staphylococcus aureus*) ، 25523 ، *Klebseilla pneumoniae* و (*Enterococcus sp*) وسلالة فطرية (*candida albicans*) .

تم اختبار الزيوت الأساسية النقية ومخففاتنا (100% ، 50% ، 25% و 166.6%) على السلالات المدروسة. أظهرت نتائج الأنشطة المضادة للميكروبات أنه تم الحصول على أعلى فعالية مع إكليل الجبل بقطر منطقة تثبيط نمو من 4.3 إلى 49 مم وأيضًا مع مجموعة واسعة من النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات.

تم تقدير قيم MIC أيضًا. تم الحصول على فاصل زمني بين 0.03 و 0.10 مجم / مل للكائنات الحية الدقيقة الخمسة المختبرة.

لكلمات المفتاحية: زيت عطري ، نباتات طبية ، نشاط مضاد للجراثيم ، نشاط مضاد للفطريات