



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE DE SCIENCE
DEPARTEMENT : BIOLOGIE

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par :

M^{lle}. Dahou aicha

M^{lle}. Bouakkaz Mebarka

DOMAINE : Science de la nature et de la vie

FILIERE : Biologie

OPTION : Biochimie des produits naturels

Thème

***Etude des activités antibactérienne et
antioxydante des huiles essentielles de
quelques plantes aromatiques***

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	qualité
Rachid Chaibi	Maitre de conférences Classe B	Président
Elhouiti Fatiha	Maitre-Assistant Classe A	Examinatrice
Hicham Gouzi	Maitre de conférences Classe A	Rapporteur
Sifi Ibrahim	Maitre-Assistant Classe A	Co-rapporteur

Promotion : juin – 2015

Remerciements

Nous remercions avant tout ALLAH tout puissant, 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 (Enseignant-Chercheur à l'Université Amar Telidji de Laghouat) pour avoir accepté de diriger ce travail.

Nous remercions Mr. Ibrahim Sifi pour son soutien et son aide, particulièrement lors de l'expérimentation.

Nos remerciements les plus chaleureux à nos collègues de promotion 2014/2015: pour l'ambiance exceptionnelle qui y régnait et surtout en dehors.

Sans oublier de remercier Mr. Mustafa HADJOUDDJA, chef de laboratoire de biologie de l'Université Amar Telidji de Laghouat, et les ingénieurs de laboratoire pour leur gentillesse et leur aide inestimable.

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.



DÉDICACE

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

travail que je dédie :

*A ceux que j'aime du fond de mon cœur, à qui je dois la vie et
qui*

*n'ont cessé, à aucun moment, de me soutenir et de
m'encourager*

par leurs prières et leurs sacrifices : Mes cher parents ;

A mes deux frères ; et mes quatre sœur

A ma meilleur amie Hasnaa Halilou

*A mes frères et sœurs que Dieu m'a donné sur le
chemin de*

l'aventure, tous les étudiants du Master II Biochimie

Aïcha

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 grâce à chacun de vous.

Mes frères et sœurs chaque'un a son non surtout mon petit frère Ali ainsi qu'à mon grand-père et ma grand-mère, mes oncles et tantes, cousins et cousines mais aussi mes amis proches qui tous ensembles constituent mon équilibre, et mes racines.

A ce que j'aime du fond de mon cœur, à qui je dois la vie et qui n'ont cessé, à aucun moment, de me soutenir et de m'encourager mon cher époux.

Tous les profs de trajectoire de mon étude

A mes amies: Mahdjouba, Halima, Aicha, Achoura, Safiya, Selma, Zineb ElGhazali, Meriem, Soraya, Hadjer, fraiha, Rabab.

A tous mes collègues.

Mebarka

ملخص

تركزت العديد من الدراسات البحثية على الزيوت الطيارة المستخرجة من النباتات العطرية. وقد أثبتت الدراسات أن لهذه الزيوت ال عطرية العديد من الخصائص البيولوجية. قمنا بدراسة الخصائص المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لأربعة أعشاب (النعناع الفلفلي، الزعتر، نبات الهيل و المردي قوش) من ولاية الأغواط. الزيوت الطيارة للنباتات الطبية المستخرجة من خلال طريقة التقطير البخار، العائد من نبات الهيل هو الأعلى بنسبة (3.4%) مقارنة مع المردي قوش، الزعتر و النعناع الفلفلي بالعائدات (1.5%)، (1.15%) و (0.7%) على التوالي. تم اختبار قدرة الزيوت الطيارة على تثبيط عمل خمسة أنواع من البكتيريا المسببة للأمراض. أثبت النشاط المضاد للبكتيريا الذي يختلف وفقا لنوع البكتيريا و الزيوت الطيارة، على أن زيت نبات الزعتر و زيت نبات المردي قوش لديهما أفضل النتائج. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر عن طريق اختبار DPPH محاصرة الجذور الحرة. و أثبتت نتائج نبات الزعتر على أنه يمتلك نشاط مضاد للأكسدة أعلى بالمقارنة مع الزيوت الطيارة الأخرى: النعناع الفلفلي، الهيل و المردي قوش. لوحظ أن الخصائص البيولوجية ترتبط بتعقيد التركيب الكيميائي للزيوت الطيارة لهذه النباتات الطبية الأربعة. **كلمات المفتاح:** الزيوت الطيارة، النعناع الفلفلي، الزعتر، نبات الهيل، المردي قوش، النشاط المضاد للبكتيريا و النشاط المضاد للأكسدة، DPPH.

Résumé

Plusieurs travaux de recherche ont été concentrés sur les huiles essentielles des plantes aromatiques. Les différents résultats publiés indiquent que ces composés volatiles sont doués de plusieurs propriétés biologiques. Dans notre étude, les propriétés antibactériennes et antioxydantes des huiles essentielles extraites à partir de quatre plantes aromatiques (*Mentha piperita*, *Thymus vulgaris*, *Elettaria cardamomum* et *Origanum majorana*) provenant de la région de Laghouat ont été investiguées. Les huiles essentielles ont été extraites par le procédé d'hydrodistillation,

Le rendement en huile essentielles le plus élevé est obtenu pour *Elettaria cardamomum* (3,4%) tandis que l'*Origanum majorana* (1.5%), *Thymus vulgaris* (1,15%), et *Mentha piperita* (0.7 %) ont montré les rendements les plus faibles.

La capacité des huiles essentielles à inhiber les micro-organismes a été testée sur cinq souches bactériennes pathogènes pour l'homme. L'activité antibactérienne s'est révélée variable selon la nature de la souche et de l'huile essentielle testée avec une prédominance du *Thymus vulgaris* et d'*Origanum majorana* qui ont montré les activités antibactériennes les plus élevées.

L'activité antioxydante des huiles essentielles a été évaluée *in vitro* par le test du piégeage du radical libre DPPH. L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a l'activité antioxydante la plus élevée par rapport aux autres huiles essentielles.

Les propriétés biologiques observées seraient liées à la complexité de la composition chimique des huiles essentielles de ces quatre plantes médicinales.

Mots clés : Huiles essentielles, *Mentha piperita*, *Thymus vulgaris*, *Elettaria cardamomum*, *Origanum majorana*, Activité antimicrobienne, Activité antioxydante, test DPPH.

Abstract

Several research studies have been carried on essential oils extracted from aromatic plants. The different results published indicate that these volatile compound several biological properties. In our study, antibacterial and antioxidant properties of essential oils of four herbs (*Mentha piperita*, *Thymus vulgaris*, *Origanum majorana* and *Cardamomum Elettaria*) recollected from the Laghouat region were investigated. The essential oils were extracted by steam distillation process. A higher yield of essential oil was obtained for *Elettaria cardamomum* (3.4%) when compared to the *Origanum majorana* (1.5%), *Thymus vulgaris* (1.15%) and *Mentha piperita* (0.7%) yields.

The ability of essential oils to inhibit microorganisms was tested on five pathogenic bacterial strains. The antibacterial activity was found to vary according to the nature of the strain and the source of the essential oil tested with a predominance of *Thymus vulgaris* and *Origanum majorana* that showed the best antibacterial activity. The antioxidant activity of all essential oils was determined *in vitro* by the free radical DPPH method. From all essential oil tested, only *Thymus vulgaris* have a strong ability to scavenging the radical DPPH, while *Mentha piperita*, *Elettaria cardamomum* and *Origanum majorana* showed a weakest antiradical activity.

These observed biological properties are related to the complexity of the chemical composition of essential oils from these four medicinal plants.

Keywords: Essential oils, *Mentha piperita*, *Thymus vulgaris*, *Origanum majorana*, *Cardamomum Elettaria*, antimicrobial activity, antioxidant activity, DPPH test.

Sommaire

	Page
Résumé	IV
Liste des tableaux.....	VII
Liste des figures.....	VIII
Liste des abréviations.....	IX
Introduction.....	1
Synthèse bibliographiques.....	3
I- Généralités sur les huiles essentielles.....	3
I-1 Historique des huiles essentielles.....	3
I-2 Définition.....	3
I-3 Localisation et lieu de synthèse.....	4
I-4 Propriétés physique.....	4
I-5 Rôle physiologique.....	5
I-6 Les compositions chimiques des huiles essentielles.....	5
I-6-1 Les terpènes.....	5
I-6-2 Les composés d'origine diverses.....	8
I-7 Les méthodes d'extraction des HE.....	9
I-7-1 Distillation.....	9
I-7-1-1 l'hydrodistillation.....	9
I-7-1-2 L'hydrodiffusion.....	10
I-7-1-3 L'entraînement à la vapeur d'eau.....	10
I-8 Les facteurs influençant la composition chimique des HE.....	11
I-9 Toxicité des HE.....	11
I-10 Conservation des H.Es.....	11
I-11-Domains d'utilisation.....	12
I-11.1- phytothérapie.....	12
II – Les Propriétés biologiques des huiles essentielles.....	12
II-1 L'Activité antimicrobienne.....	13
II-1-1 L'Activité antifongique.....	13
II-1-2 L'Activité antibactérienne.....	13
II-1-2-1 Le mécanisme d'action antibactérienne.....	13
II-1-2-2 Les méthode de détermination de l'activité antibactérienne.....	14
II-1-2-2-1 L'aromatogramme.....	14
II-1-2-2-La méthode de la dilution.....	15
II-1-2-3 La détermination CMI.....	15
II-2- L'activité antioxydante.....	15
II-2-1- La définition.....	15
II-2-2 Le mécanisme d'action des antioxydants.....	15
II-2-3 Les différentes types d'antioxydant.....	16
II-2-3.1 Les antioxydants primaires.....	16
II-2-3.2 Les antioxydants secondaires.....	16
II-2-4 La méthode de détermination de l'activité antioxydante : Réduction du radical libre DPPH.....	16
III- Les g généralités sur les souches bactériennes étudiées.....	16
III-1 <i>Escherichia coli</i>	16
III -2 <i>Staphylococcus aureus</i>	17
III-3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
III-4 <i>Listeria monocytogenes</i>	18
III-5 <i>Klebsiella pneumonia</i>	18
Matériels et méthodes.....	20

I- Les Matériels.....	20
I-1- Les Matériels végétales.....	20
I-1-1 <i>Origanum Majorana</i>	20
I-1-2 <i>Thymus vulgaris</i>	20
I-1-3 <i>Elettaria cardamomum</i>	21
I-1-4 <i>Mentha piperita</i>	21
I-2- Les Souches bactériennes testées.....	22
II- Les Méthodes.....	23
II-1 Le Procédé d'extraction des huiles essentielles.....	23
II-2 Le test de l'activité antibactérienne.....	24
II-2-1 Les milieux de culture.....	24
II-2-2 La Préparation de l'inoculum.....	24
II-2-2-1 La Préparation des pré-cultures.....	24
II-2-2-2 La Préparation de la suspension bactérienne.....	24
II-3 La mesure de l'activité antibactérienne par la méthode des disques.....	24
II-3-1 Le Protocole expérimental.....	24
II-3-1-1 Le dépôt de disques.....	24
II-3-1-2 La Lecture.....	25
II-3-2 Le test de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme.....	25
II-3-3 La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI par la méthode de microdilution.....	25
II-4- L'étude de l'activité antioxydante : <i>Test anti-radicalaire contre le DPPH</i>	25
II.4.1 Le Principe de la méthode.....	25
II.4.2 Le Protocole expérimentale.....	26
Résultats et discussion	27
I- Le rendement en huiles essentielles.....	27
II- L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles.....	27
II-1- Résultats des tests antimicrobiens.....	27
II-1-1- L'Huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>	28
II-1-2- L'Huile essentielles d' <i>Elettaria cardamomum</i>	30
II-1-3- L'Huile essentielle d' <i>Origanum majorana</i>	31
II-1-4- L'Huile essentielle de <i>Mentha piperita</i>	32
II-2- L'évaluation des résultats des tests antimicrobiens des huiles essentielles par la Méthode de dilution.....	34
III- L'Activité antioxydante : test Du radical DPPH.....	37
Conclusion	38
Références bibliographiques	39

	Page
Tableau 1: Origines des souches utilisées dans les différents tests d'activité antimicrobienne	22
Tableau 2: le rendement des huiles essentielles.....	27
Tableau 3: résultat du test antibactérien des huiles essentielles des quatre plantes aromatiques	27
Tableau 4: diamètre des zones d'inhibition d'antibiotique (AMP) sur les souches étudié.....	33
Tableau 5: interprétation des concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle de thymus vulgaris et Origanum Majorana pour les souches testées.....	35

	Page
Figure1: biosynthèses des terpènes.....	6
Figure1: biosynthèses des terpènes.....	8
Figure3: photo représente l'appareil d'hydrodistillation.....	9
Figure4: représente une photo de l'appareil d'extraction par L'entraînement à la vapeur d'eau....	10
Figure5: Méthode de détermination de l'activité antibactérienne par l'aromatogramme.....	14
Figure6: forme microscopique ; (A) la bactérie <i>E. coli</i> sous microscope électronique, (B) la bactérie <i>E. coli</i> sous microscope optique avec la coloration de Gram.....	17
Figure7: forme microscopique ; (A) la bactérie <i>Staphylococcus aureus</i> sous microscope électronique, (B) la bactérie <i>Staphylococcus aureus</i> sous microscope optique avec la coloration de Gram	17
Figure8: forme microscopique ; (A) la bactérie <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sous microscope électronique, (B) la bactérie <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sous microscope optique avec la coloration de Gram.....	18
Figure9: forme microscopique ; (A) la bactérie <i>Listeria Monocytogenes</i> sous microscope électronique, (B) la bactérie <i>Listeria Monocytogenes</i> sous microscope optique avec la coloration de Gram.....	18
Figure10: forme microscopique ; (A) la bactérie <i>Klebsiella pneumoniae</i> sous microscope électronique, (B) la bactérie <i>Klebsiella</i> sous microscope optique avec la coloration de Gram.....	19
Figure11 : photo représente la plante d' <i>Origanum majorana</i>	20
Figure 12 : photo représente la plante de <i>Thymus vulgaris</i>	21
Figure 13 : photo représente la plante d' <i>Elettaria Cardamomum</i>	21
Figure 14: photo représente la plante de <i>Mentha piperita</i>	22
Figure 15 : Photo représente le dispositif d'hydrodistillation	23
Figure 16 : Exemple des résultats des tests antimicrobiens de l'huile essentielle d' <i>Origanum majorana</i> obtenus par la méthode de disques de diffusion sur les cinq souches bactériennes	28
Figure 17 : les diamètres de zones d'inhibition de <i>Thymus vulgaris</i> de 2,5µl vis-à-vis les cinq bactéries.....	29
Figure 18 : les diamètres de zones d'inhibition de <i>Thymusvulgaris</i> à un volume de 10µl vis-à-visles cinq bactéries.....	29
Figure19 : les diamètres de zones d'inhibition d' <i>Elettariacardamomum</i> à un volume 2,5µl vis-à-vis les cinqbactéries.....	30
Figure (20): les diamètres de zones d'inhibition d' <i>Elettariacardamomum</i> à un volume de 10µl vis-à-vis les cinq bactéries.....	30
Figure21 : les diamètres de zones d'inhibition d' <i>Origanummajorana</i> à un volume de 2,5µl vis-à-vis les cinq souches bactériennes	31
Figure22 : les diamètres de zones d'inhibition d' <i>Origanummajorana</i> à un volume de 10µl vis-à-vis les cinq souches bactériennes.....	31
Figure 23: les diamètres de zones d'inhibition de <i>Mentha piperita</i> à un volume de 2,5µl e vis-à-visles souches bactériennes testé.....	32
Figure24: les diamètres de zones d'inhibition de <i>Mentha piperita</i> à un volume de 10µl vis-à-visle souches bactériennes testé.....	32
Figure25: La CMI d' <i>Origanum Majorana</i> sur <i>staphylococcus aureus</i>	35

Figure26: La CMI d' <i>Origanum Majorana</i> sur <i>Listeria monocytogenes</i>	35
Figure27 : La CMI de <i>Thymus vulgaris</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i>	36
Figure 28 : la CMI de <i>Thymus vulgaris</i> sur <i>Listeria monocytogenes</i>	36
Figure 29 : Les résultats de l'activité antioxydante des quatre huiles essentielles étudiées mesurée par la méthode de DPPH.....	37

AFNOR: Association Française de Normalisation.

AMP :Ampicilline.

ATCC:American Type Culture Collection.

BHIB: Brain Heart of Infusion Broth

BN: Bouillon Nutritive.

CMB: Concentration Minimale Bactéricide.

CMI:Concentration Minimale Inhibitrice.

DMSO:Diméthylsulfoxyde.

DO: Densité Optique.

DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl.

E.c: *Escherichia coli*.

GN: Gélose Nutritive.

H.E:Huile Essentielle.

K.l:*Klebsiella pneumoniae*.

LAPRONA : Laboratoire des Produits Naturels.

L.m:*Listeria monocytogenes*.

M.H: Mueller Hinton.

MNHN : Muséum National d'Histoire Naturelle.

OMS:Organisation Mondiale de la Santé.

P.a:*Pseudomonas aeruginosa*.

S.a:*Staphylococcus aureus*.

UFC: Unité Formant colonie.

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. (Schauenberget Paris., 2010)

Après quelques siècles de domination de la synthèse chimique, la pharmacologie, mais aussi la nutrition et l'agroalimentaire redécouvrent les vertus des plantes dites médicinales, ce qui est le cas de toutes les plantes. Elles sont de plus en plus considérées comme source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Maurice., 1997). Mais leurs usages traditionnels n'ont jamais disparus, bien au contraire. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), en 2008, 80 % de la population mondiale repose sur la médecine traditionnelle pour leurs soins primaires. (Pierangeli et *al.*, 2009).

Dans le bagage chimique des plantes, les huiles essentielles, les alcaloïdes et autres composés phénoliques, représentent des molécules de fortes valeurs, utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires. Les activités antibactériennes de ces produits ont été rapportées dans de très nombreux travaux (Bouzouita *et al.*, 2008).

Les végétaux riches en essences se trouvent surtout chez les Conifères, Myrtacées, Labiacées, Ombellifères et Rutacées au niveau de différents organes de la plante. (MautraitetRaoult., 2009). La plupart de leurs propriétés sont dues aux huiles essentielles produites par leur métabolisme secondaire (Rashid et *al.*, 2010). Les huiles essentielles ont des activités biologiques variées, par exemple de l'activité antivirale, anti-inflammatoire, antioxydant et anticancéreuse (Svoboda et Hampson., 1999). L'activité des huiles volatiles réside dans les centaines de molécules chimiques qui la constituent comme les terpénoïdes (Cowan., 1999).

La découverte des antibiotiques en 1929 par Alexander Fleming, qui a mis en évidence pour la première fois l'action de la pénicilline, a donné l'espoir que les antibiotiques puissent éradiquer les pathogènes causées par les infections, mais l'apparition de la résistance des micro-organismes a fait douter de cette opinion et posé le problème de l'échec de l'antibiothérapie. Les échecs thérapeutiques causés par la résistance aux antibiotiques ont obligé la communauté scientifique à chercher d'autres substances douées d'activité antimicrobienne pour remédier à ce problème de santé publique.

Les produits naturels parmi lesquels les huiles essentielles issues de plantes médicinales sont une source prometteuse et un moyen efficace pour l'éradication des germes résistants aux antibiotiques puisqu'elles possèdent un réservoir des molécules anti-infectieuses importantes ayant des propriétés contre des bactéries à Gram négatif (Khadiretal., 2013).

Une des préoccupations majeures des industriels des domaines agro-alimentaire et pharmaceutique concerne la substitution des antioxydants synthétiques par les antioxydants naturels vu que ces composés sont avérés toxiques provoquant des dommages hépatiques, du cancer, des altérations des activités enzymatiques, et des réactions allergiques. Dans le corps humain, les produits chimiques exogènes et les processus métaboliques pourraient produire fortement des radicaux libres, particulièrement l'espèce réactive d'oxygène (ERO), capable d'oxyder les biomolécules, ayant pour résultat la mort des cellules et la destruction des tissus (Halliwell et Gutteridge, 2003). D'ailleurs, ces radicaux libres sont potentiellement impliqués dans le début de beaucoup de maladies telles que le cancer, l'arthrite rhumatoïde et l'athérosclérose aussi bien que dans les processus dégénératifs liés au vieillissement (Halliwell et Gutteridge, 1984). Pour cela, les antioxydants naturels représentent des outils prometteurs pour se protéger contre les dommages cellulaires causés par les radicaux libres (Roy et al., 2011).

Les huiles essentielles sont une source d'antioxydants comme les phénols. Pour cela, nous sommes intéressés à l'étude du pouvoir antibactérien des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques de la région de Laghouat (*Mentha piperita*, *Thymus vulgaris*, *Elettaria cardamomum* et *Origanum majorana*) en utilisant la technique de diffusion du milieu gélose Muller-Hinton. Nous avons également tenté de déterminer le pouvoir antiradicalaire et antioxydant de ces huiles essentielles à l'aide du test du radical DPPH.

Ce mémoire a été organisé en différentes parties décrivant les étapes successives de cette étude.

La première partie concerne un rappel bibliographique succinct sur les huiles essentielles et leurs propriétés biologiques, ainsi que sur les plantes aromatiques étudiées.

Dans la deuxième partie, nous décrirons les procédures expérimentales mises en jeu dans cette étude. La troisième partie est consacrée à une discussion des résultats expérimentaux obtenus. Une récapitulation succincte des résultats ainsi que les perspectives, ouvrant la voie à des études ultérieures sur les huiles essentielles des plantes ayant de bonnes activités biologiques sont regroupées dans la dernière partie.

Synthèse bibliographique

I- Les généralités sur les huiles essentielles

I-1L'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 du début du siècle dernier avec les travaux du Dr. Gattefossé, 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 bâtiments (Pibiri, Seigniez et al., 2001).

I-2Définition

Il s'agit d'un mélange de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. Extraites de la plante grâce à des procédés physiques tels l'hydro distillation, l'entraînement à la vapeur ou par expression à froid. Les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante (Bruneton., 1993)

Les produits obtenus par extraction avec d'autres procédés ne sont pas repris dans la définition d'huile essentielle donnée par la norme AFNOR (Association Française de Normalisation) (AFNOR., 2000)

Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.). Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétal et contenue dans les cellules de la plante, soit dans les fleurs (ylang-ylang, bergamotier, rosier), soit dans les sommités fleuries (tagète, lavande), soit dans les feuilles (citronnelle, eucalyptus), ou dans l'écorce (cannelier), ou dans les racines (vétiver), ou dans les fruits (vanillier), ou dans les graines (muscade) ou encore autre part dans la plante (AntonetLobstein., 2005).

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante (Bruneton.,1993).

I-3 Localisation et lieu de synthèse

Les H.Es n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Environ 1% des espèces élaborent des essences. Certaines familles se caractérisent par un grand nombre d'espèces qu'elles regroupent en particulier dans les familles : *Myrtaceae*, *Lauraceae*, *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Apaceae*, *Cupressaceae*, *Poaceae*, *Zingiberaceae*, *Piperaceae*. (Mohammedi., 2006).

La synthèse et l'accumulation de H.Es sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante. Les poils glandulaires épidermiques rencontrés souvent chez les *Labiaceae*, *Geraniaceae*, et *Rutaceae*, ils produisent les essences dites superficielles. Les oranges sécréteurs sous-cutanés comprenant les cellules et les poches sécrétrices qui sont généralement disséminées au sein des tissus végétaux chez les *Myrtaceae*, *Aurantiaceae*, ainsi que les canaux sécréteurs chez les *Ombelliferaceae*, *Apaceae* ou *Asteraceae*.

Les essences dans les plantes peuvent être stockées dans divers organes : fleurs (origan), feuilles (citronnelle, eucalyptus), écorces (cannelier), bois (bois de rose, santal), racines (vétiver), rhizomes (acore, gingembre), sève (encens, myrte), bourgeons (pin), fruit (badiane) ou graines (carvi). Plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une espèce, voire dans un même organe (Bruneton., 1999).

I-4 Les propriétés physique

Les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques, elles sont généralement des lipides à la température ordinaire, elles sont solubles dans les alcools, et dans la plus part des solvants organiques (Paris et Hurabielle., 1981)

D'après Padrini et Lucheroni(1997), les huiles essentielles sont divisées en quatre classes, suivant leurs couleurs:

- Les H.E. incolores.
- Les H.E. jaunes.
- Les H.E. bleues.
- Les H.E. vertes brunes ou jaunes verts.
- Leur point d'ébullition varie de 160°C à 240°C.
- Leur densité est inférieure à celle de l'eau, varie de 0,75 à 0,99.

- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont très altérables, sensibles à l'oxydation, elles sont donc de conservation limitée.
- Dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels (Legrand., 1978)

I-5 Le rôle physiologique

Beaucoup de plantes produisent les H.Es en tant que métabolites secondaires. Leur rôle exact dans le processus de la vie dans la plante reste encore mal connu. Selon Bakkali (2008), les H.Es peuvent avoir plusieurs effets «utiles» pour la plante : repousser ou au contraire attirer les insectes pour favoriser la pollinisation, comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques, réduction de la compétition des autres espèces de plante par inhibition chimique de la germination des graines, par protection contre la flore microbienne infectieuse, action répulsive sur les prédateurs par goût et effets défavorables.

I-6 Les compositions chimiques des huiles essentielles

Tout comme les plantes sont classées en familles, les produits naturels sont aussi classés en familles. Les principales familles des produits naturels qui se retrouvent comme constituant chimique des huiles essentielles sont les terpènes et les phénylpropanes (composés aromatiques). Les composés de la dégradation d'acides gras et les composés de la dégradation des terpènes sont aussi fréquemment retrouvés dans les huiles essentielles.

I-6-1 Les terpènes

Les terpènes étant des constituants caractéristiques et importants de la plupart des plantes à l'huile essentielle, nous avons indiqué la biosynthèse de cette famille de produits naturels à la figure 2 (F.-X. Garneau., 2001). L'acide mévalonique, métabolite important dans la biosynthèse des terpènes se transforme en deux unités de pyrophosphate d'isopentényle, IPP, et de pyrophosphate de β,β -diméthylallyle. La combinaison de ces deux pyrophosphates produit le pyrophosphate de géranyle (GPP) qui se transforme en géraniol et autres monoterpènes. La synthèse des autres terpènes s'effectue à la suite de condensations d'autres unités d'IPP.

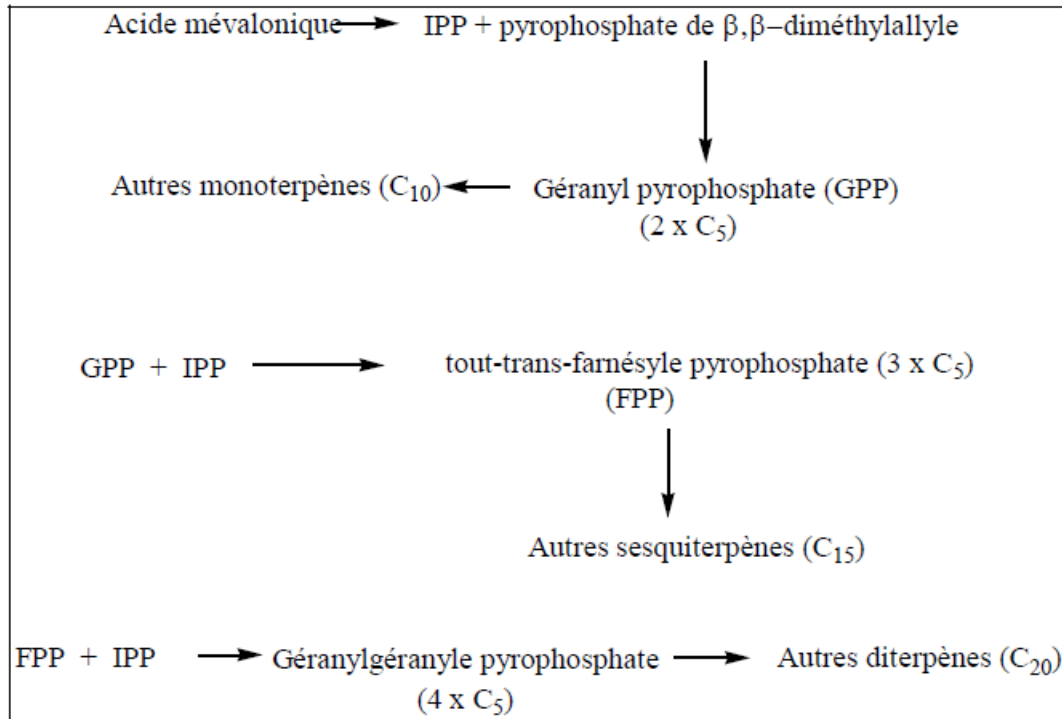
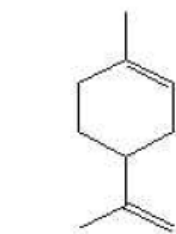


Figure (1) : biosynthèse des terpènes (**Bakkali et al., 2008**)

Des exemples de constituants chimiques ainsi que leur structure moléculaire sont illustrés aux figures (2).

Monoterpènes

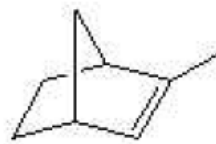
Hydrocarbures :



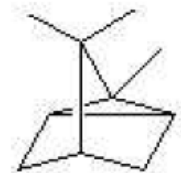
Limonène
odeur fraîche
rappelant l'orange



α -Pinène
odeur de pin, de
térébentine

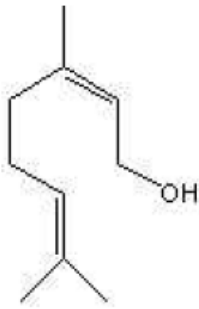


Santène
odeur douce, camphrée,
balsamique

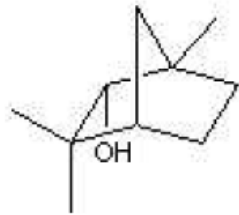


Tricyclène
présent dans beaucoup
d'huiles essentielles

Alcools:



Nérol
odeur agréable de rose

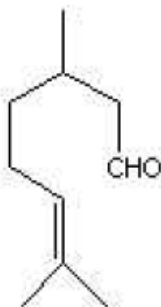


endo-Fenchol

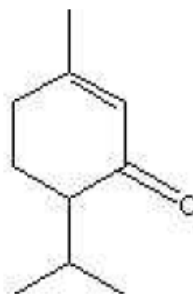


Pinocarvéol
odeur fraîche, épicée,
balsamique

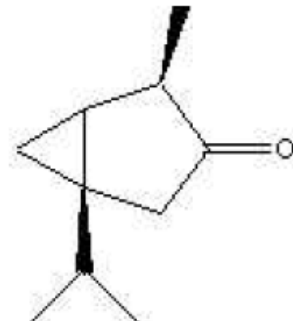
Aldéhydes et cétones :



Citronellal
odeur fraîche, de
citronnelle

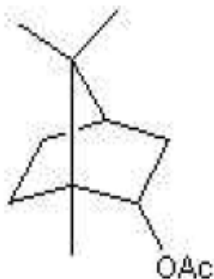


Pipéritone
odeur de menthe poivrée

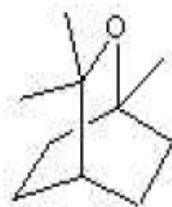


cis-Thujone
huile du feuillage de *Thuja*
occidentalis

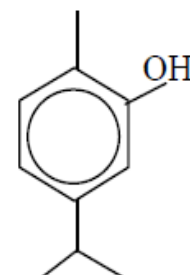
Esters, éthers et phénols :



Acétate de bornyle
huile essentielle de
divers *Picea*



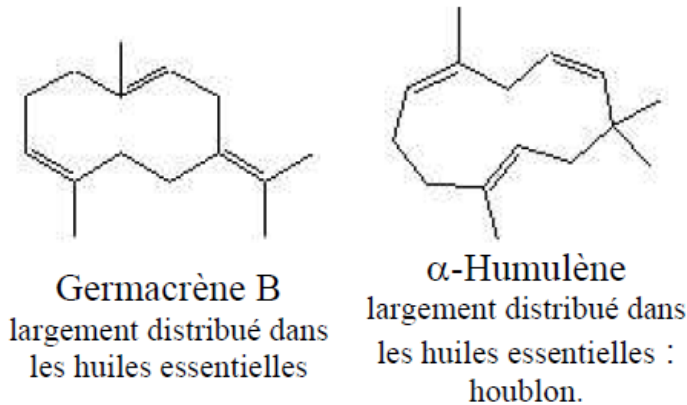
1,8-Cinéole
odeur typique de
Eucalyptus globulus



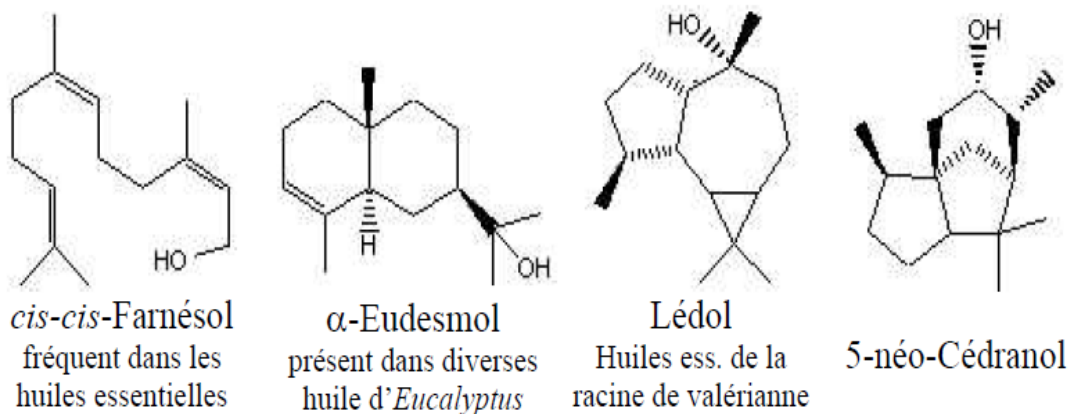
Carvacrol
odeur de thymol
présent dans certains origans

Sesquiterpènes

Hydrocarbures :



Alcools :



Figure(2) : exemples de structures de terpènes (Bakkali et al., 2008)

I-6-2 Les composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'engénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont plus fréquents dans les H.Esd' *Apiaceae* (anis, fenouil, cannelle, basilic).

I-6-3 Les composés d'origine diverses

Il existe un nombre non négligeable de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles issues soit de la dégradation des terpènes non volatils qui proviennent de l'auto-oxydation par exemple des carotènes ou des acides gras comme les acides linoléique et α -linoléique en (3-cis hexanol, decanal, β -ionone) (Piochon., 2008).

I-7 Les méthodes d'extraction des H.Es

Un potentiel chimique des agro ressources passe une première étape d'extraction des composés spécifique d'une espèce botanique sélectionnée, ceux-ci est en général correspondent aux huiles essentielles, mais présent en faible quantité. De nouveaux procédés d'extraction dépendra de la nature du matériels végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles) et de la nature des composés (par exemple, les flavonoïdes, les HEs, les tanins) (Legrand., 1993), qui doivent donc utilisés de façon à obtenir ces huiles dans une fraction de concentration maximale, et dans un état chimique le plus proche possible de leur structure native.

I-7-1 La 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.

I-7-1-1- l'hydrodistillation

L'hydrodistillation est sans doute le procédé chimique le plus ancien, le principe était déjà connue et utilisé par les Egyptiens dès l'IVème 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'hydrolysate (figure 3). Cependant, l'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (Bruneton., 1993).



Figure (3) : photo représente l'appareil d'hydrodistillation (*Bouakkaz et Dahou., 2015*)

I-7-1-2L'hydrodiffusion

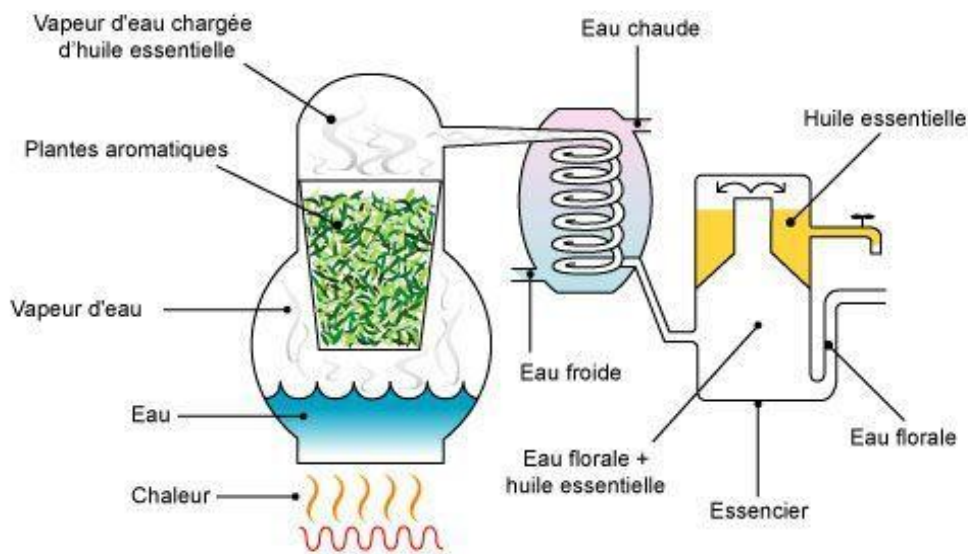
Cette technique est relativement récente. Elle consiste à faire passer du haut vers le bas, et à pression réduite la vapeur d'eau au travers la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc, moins dommageable pour les composés volatils.

I-7-1-3L'entraînement à 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 (fig :4).

La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatile qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'H.E en minimisant les altérations hydrolytique.



Figure(4) : représente une photo de l'appareil d'extraction par L'entraînement à la vapeur d'eau (*Lucchesi., 2005*)

I-8 Les facteurs influençant la composition chimique des H.Es

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'H.E : la température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol, la partie de la plante utilisée, le cycle végétatif de la plante, la méthode utilisée pour l'extraction ; sont d'autant de facteurs susceptibles d'exercer les modifications chimiques. Outre la composition, ces facteurs peuvent également avoir un impact sur la teneur en H.E, par exemple : les *citrus* ont une teneur importante en H.E lorsque la température est élevée. Les fleurs sont riches en H.E sous l'effet de fertilisants (Bruneton, 1999).

I-9 La toxicité des H.Es

Les H.Es ne sont pas des produits qui peuvent être utilisées sans risque. Certaines H.Es sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau, en raison de leur pouvoir irritant (les huiles riches en thymol, ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) ou photo-toxique (huiles de *citrus* contenant des furacoumarines), d'autres H.Es ont un effet neurotoxique (les cétones comme l' α -thujone sont toxiques pour les tissus nerveux). La toxicité des H.Es est assez mal connue. Il manque de données sur leurs éventuelles propriétés mutagènes et cancérogènes. La plupart du temps, sous le terme de toxicité sont décrites des données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que représente leur emploi. Il existe quelques H.Es dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancer, c'est le cas par exemple de dérivés d'allylbenzène ou de propenylbenzène comme le safrole, l'estragole, le β -ararone, et le méthyl-eugénol (Guba, 2001).

I-10 La conservation des H.Es

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque cinq ans pour les H.E.C.T par exemple.

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 (Afnor, 2010).

Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles (Afnor, 2010) ainsi que sur le marquage des récipients contenant des H.E.

I-11- Les domaines d'utilisation

I-11.1- La phytothérapie

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

Les H.Es sont largement utilisés pour traiter certaines maladies internes et externes (infections 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).

Les huiles essentielles de thym et de romarin ont été utilisées pour soulager la fatigue, les maux de tête, les douleurs musculaires et quelques problèmes respiratoires. Des études très récentes ont montré que le géraniol a une action sur les cellules cancéreuses du colon, en plus de l'activité anti inflammatoire, récemment mise en évidence (Siani et al., 1999).

I-11.2- L'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).

II- Les 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, antioxydantes, et antiparasitaires.

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).

II-1L'Activité antimicrobienne

II-1-1 L'Activité antifongique

Selon Vokouet 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 hydrocinnamique). Ils présentent également des propriétés fongistatiques très marquées. Les groupements méthoxy, à l'inverse, ne semblent pas apporter à ce type de molécules une fongitoxicité significative.

II-1-2 L'Activité antibactérienne

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des H.Es, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. (Carson et al., 2002)

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. (Davidson, 1997)

Le mode d'action des H.Es 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; Carson et al., 2002).

II-1-2-1 Le mécanisme d'action antimicrobienne

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large, Leur activité antibactérienne 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 La 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.Es. Le choix de la méthode est conditionné 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 L'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.

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).

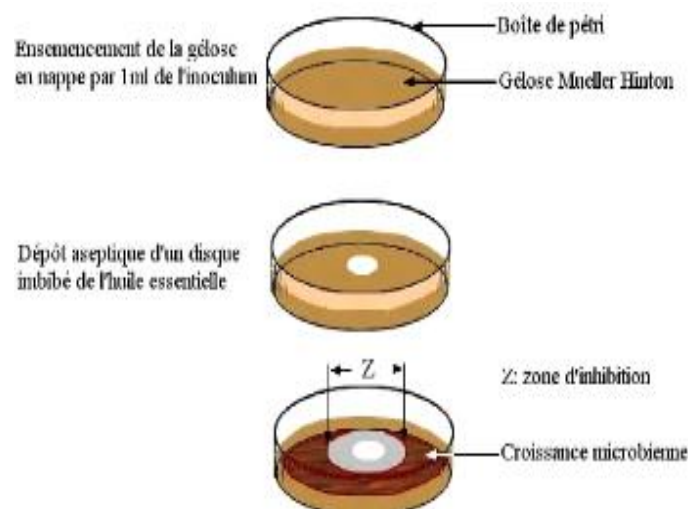


Figure (5) : Méthode de détermination de l'activité antibactérienne par l'aromatogramme (Guerin et Carret, 1999)

II-1-2-2-3 La méthode de 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-Demuet, 1995).

II-1-2-3 La détermination de 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).

II-2- L'activité antioxydante

II-2-1- La définition

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les poly-phénols qui sont responsables de ce pouvoir (Richard, 1992).

Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes selon le niveau de Leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto-catalytique de l'oxydation. En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que le complexe formé par des ions métalliques ou la réduction d'oxygène (Madhavi et al. 1996)

II-2-2 Lemécanisme d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition. (Favier, 2006).

II-2-3 Les différents types d'antioxydant

II-2-3.1 Les antioxydants primaires

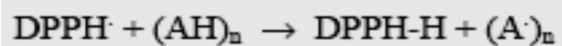
La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces puisque les enzymes ont la propriété de pouvoir réaliser un travail de façon permanente. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate). (Lehucher-Michel., 2001).

II-2-3.2 Les antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (Dacosta., 2003).

II-2-4 La méthode de détermination de l'activité antioxydante : Réduction du radical libre DPPH

Le DPPH est un radical stable et il présente en solution une absorption caractéristique à 517 nm qui lui confère une coloration violette. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux libres. On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :



Où (AH)_n représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH. (violet) pour le transformer en molécule DPPH-H (Brand-Williams et al., 1995).

III- Les généralités sur les souches bactériennes étudiées

III-1 *Escherichia coli*

Les bactéries de ce genre sont les coques à gram négatif les cellules isolées ou paires, habituellement mobiles (Figure 13) et pourvus de fimbriae, métabolise respiratoire lorsque les conditions sont aérobie ; pratiquement la fermentation ou la respiration nitrique en anaérobiose (Singleton, 1984).

Ils constituent l'espèce dominante de la flore aérobie ; les *E. coli* n'existent pas dans l'eau et le sol, leur présence est un indicateur de contamination fécale.

Les *E. coli* sont les bactéries le plus souvent en cause de les infections urinaire, les bactéries qui dans la vaste population des *E. coli* commensaux du tube digestif.



Figure (6) : forme microscopique ; (A) la bactérie *E. coli* sous microscope électronique, (B) la bactérie *E. coli* sous microscope optique avec la coloration de Gram(Singleton.1999).

III -2 *Staphylococcus aureus*

Les bactéries de ce genre sont les coques à gram positif de 0.5à1.5 µm de diamètre, qui sont associées par paire, en chaînettes de 3 à 5 coques, ou en amas irréguliers en grappe de raisins (Figure 7). elles sont immobiles et non sporulées .chez l’homme elles sont responsable aux infections de la peau et des muqueuse (sutra et al,1998).

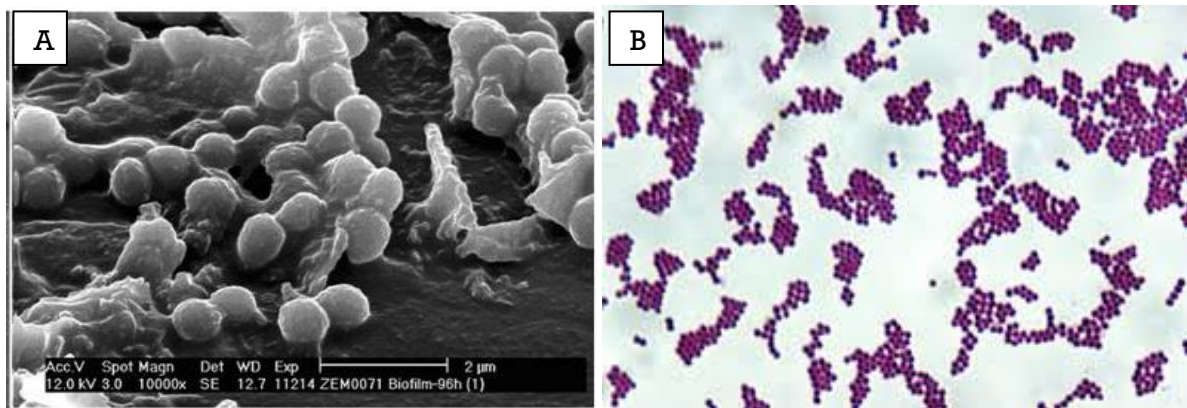


Figure (7) : forme microscopique ; (A) la bactérie *Staphylococcus aureus* sous microscope électronique, (B) la bactérie *E. coli* sous microscope optique avec la coloration de Gram(sutra et al,1998).

III-3 *Pseudomonas aeruginosa*

C’est une bactérie gram négative, bâtonnets (Figure 15). La plus part des espèces ont un ou plusieurs flagelles par cellules, habituellement polaires et non grainés, aérobies ou anaérobies facultatifs. C’est une bactérie qui vit à l’état saprophytique dans l’eau et le sol humide ou sur les végétaux, elle peut aussi vivre en commensale dans le tube digestif de l’homme et de divers animaux et exercer chez certains de ces hôtes un pouvoir pathogène indiscutable.cette bactérie est habituellement incluse dans la liste des bactéries pathogènes(Singleton,1984).

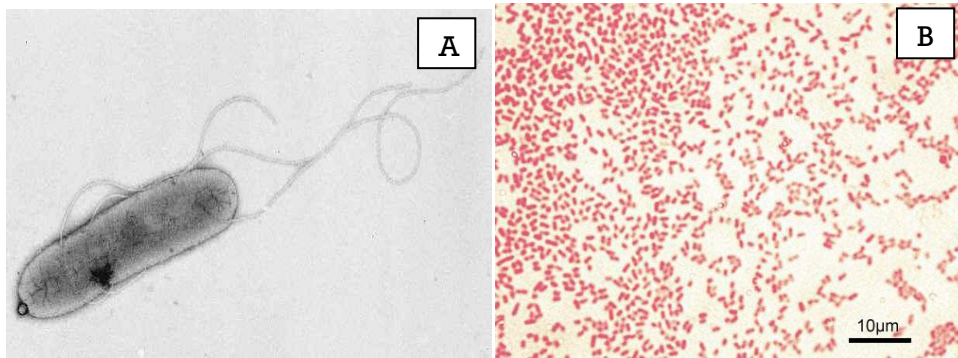


Figure (8) : forme microscopique ; (A) la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* sous microscope électronique, (B) la bactérie *E. coli* sous microscope optique avec la coloration de Gram (Singleton, 1984).

III-4 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes est une bactérie à Gram-positif, du genre *Listeria*, division des Firmicutes, qui doit son nom à Joseph Lister (Figure 9).

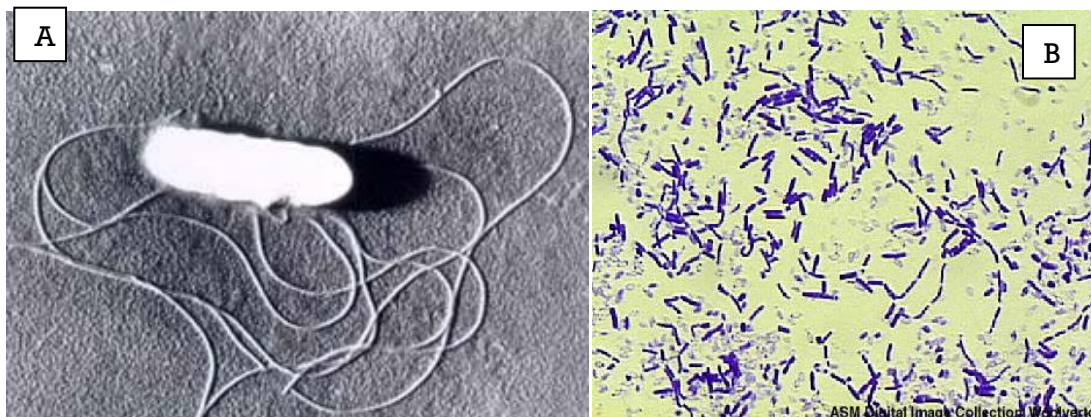


Figure (9) : forme microscopique ; (A) la bactérie *Listeria monocytogenes* sous microscope électronique, (B) la bactérie *E. coli* sous microscope optique avec la coloration de Gram (Singleton, 1984).

C'est la seule espèce du genre *Listeria* pathogène pour l'homme ; il s'agit d'un bacille de petite taille, non sporulé, aéro-anaérobie facultatif, ubiquitaire (sol, végétaux, eau), possédant une catalase et mobile à 20 °C. Selon certaines études, 1 à 10 % des humains seraient porteurs sains de *L. monocytogenes* dans leur intestin.

III-5 *Klebsiella pneumoniae*

Le genre *Klebsiella* (klebsielles) est les coques à gram négatif, de la famille des entérobactéries, comporte cinq espèces (dont l'espèce-type est *Klebsiella pneumoniae* qui est la plus fréquente (Figure 10).



Figure (10) : forme microscopique ; (A) la bactérie *Klebsiellapneumoniae* sous microscope électronique, (B) la bactérie *E. coli* sous microscope optique avec la coloration de Gram(Singleton.1999).

La *Klebsiella* est une espèce de bactérie dont la plus connue est la *Klebsiella pneumoniae*. La *Klebsiella* est naturellement présente au niveau de certains organes comme le tube digestif ou les poumons, mais son action est bien contrôlée par l'organisme, d'où l'absence d'infection. A la faveur d'un organisme immunodéprimé c'est-à-dire dont les défenses immunitaires sont diminuées ou d'un autre événement intercurrent, cette bactérie peut devenir « agressive » et être responsable d'angines, d'infections pulmonaires, parfois d'infections urinaires ou d'infections plus généralisées.

Matériels et méthodes

I- Les Matériels

I-1- Les Matériels végétales

Notre étude portera sur quatre plantes aromatiques ; *Mentha piperita*, *Thymus vulgaris*, *Elettaria cardamomum* et *Origanum majorana* riches en huile essentielle. Ces plantes ont été achetées du marché local de la région de Laghouat. Le choix de ces dernières est basé sur l'utilisation en médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs maladies humaines ainsi que sur leur disponibilité locale. Les plantes ont été légèrement broyées à l'aide d'un mixeur.

I-1-1L'Origanum Majorana

La Marjolaine ou Origan des jardins (*Origanum majorana*) est une [espèce vivace](#) de la famille des [Lamiacées](#), cultivée comme plante [condimentaire](#) pour ses [feuilles](#) aromatiques. C'est une espèce très proche de l'[Origan commun](#) (*Origanum vulgare*). Elle est parfois appelée Marjolaine des jardins.

Autres noms communs : marjolaine officinale, marjolaine à coquilles.

Classification :

Règne	Plantae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous-Famille	Nepetoideae
Tribu	Mentheae
Genre	Origanum



Figure (11) : photo représente la plante d'*Origanum majorana* (Bertrand., 2008)

I-1-2 Le Thymus vulgaris

Thymus est un [genre](#) de [plantes](#) (couramment appelées thym ou serpolet) de la [famille](#) des [Lamiacées](#). Ce genre comporte plus de 300 [espèces](#). Ce sont des plantes rampantes ou en coussinet portant de petites fleurs rose pâle ou blanches. Ces plantes sont riches en [huiles essentielles](#) et à ce titre font partie des [plantes aromatiques](#). La principale huile essentielle de *Thymus vulgaris* est un [terpénoïde](#) qui lui doit son nom, le [thymol](#), une substance bactéricide. Dans le sud de la France, le thym est aussi fréquemment appelé *farigoule* (de son nom [occitan](#) : *farigola*).

Classification :

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae



Figure (12) : photo représente la plante de *Thymus vulgaris* (**Bertrand., 2008**)

I-1-3L'Elettaria cardamomum

La cardamome : (*Elettaria cardamomum*) est une [plante herbacée](#) à [rhizome](#) appartenant au genre [Elettaria](#) de la famille des [zingibéracées](#) originaire de la [côte de Malabar](#), région d'[Inde](#) dont provient également le [poivre](#). Elle est parfois appelée cardamume verte ou cardamume aromatique pour bien la différencier d'autres plantes apparentées.

Classification :

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Ordre	Zingiberales
Famille	Zingiberaceae
Genre	Elettaria



Figure (13): photo représente la plante d'*Elettariacardamomum*(**Bertrand., 2008**)

I-1-4 La *Mentha piperita*

Les menthes forment un genre (*Mentha*) de plantes herbacées vivaces de la famille des Lamiacées (Labiées), sous-famille des Nepetoïdeae, tribu des *Menthae*, comprenant de nombreuses espèces, dont beaucoup sont cultivées comme plantes aromatiques et condimentaires, ornementales ou médicinales.

Classification :

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Mentha</i>



Figure (14) : photo représente la plante *Mentha piperita* (Bertrand., 2008)

I-2- Les Souches bactériennes testées

Les souches bactériennes choisies pour cette étude sont des bactéries pathogènes impliquées fréquemment dans la contamination et l’altération des denrées alimentaires. Ces souches nous ont été fournies par le laboratoire de recherche de biologie de l’Université de Laghouat. Elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance l’obscurité pendant 24h à 37°C.

Tableau(1): Origines des souches utilisées dans les différents tests d’activité antimicrobienne (original. 2015)

Bactérie	Gram	Code	Origine
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 6538	MNHN
<i>Listeria monocytogenes</i>		ATCC 19111	LAPRONA
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	ATCC 27853	MNHN
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		ATCC 25921	LAPRONA
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		ATCC 8739	MNHN
		IBMC Strasbourg	MNHN

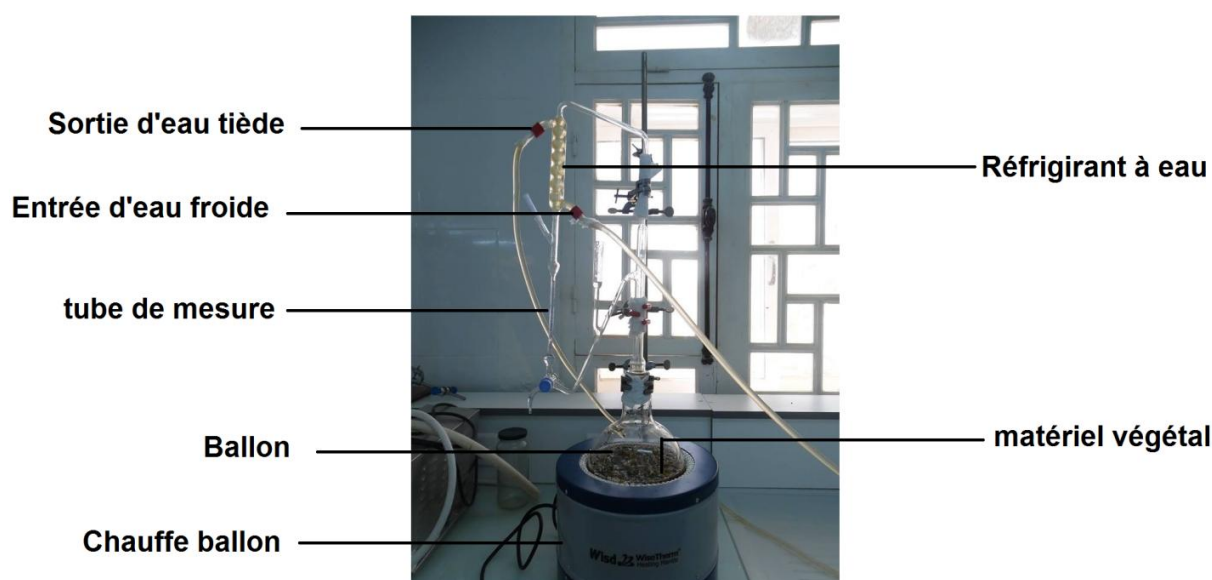
MNHN : Muséum National d’Histoire Naturelle (Paris) ; LAPRONA : Laboratoire des Produits Naturels (Université de Tlemcen).

II- Les Méthodes

II-1 Le Procédé d'extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle (H.E) a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. 200g de poudre de chaque plante est introduite dans un ballon contenant 1000ml d'eau a été distillé pendant 3 heures.

Les huiles essentielles moins denses que l'eau surnagent à la surface ont été récupéré soigneusement et conservées au réfrigérateur à 4 °C dans des tubes en verre vissés afin de les préserver de la lumière et de la chaleur.



Figure(15) : Photo représente le dispositif d'hydrodistillation (Bouakkaz et Dahou., 2015)

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

$$R = (p_h/p_v) \times 100$$

Avec :

R = rendement en H.E en %

p_h = poids de H.E en gramme

p_v = poids de biomasse végétale en gramme.

II-2 Le test de l'activité antibactérienne

II-2-1 Les milieux de culture

Suivant les méthodes employées, et selon les souches, nous avons utilisé les milieux de cultures suivants : gélose nutritive, gélose de Mueller Hinton (M.H) et gélose de conservation, le bouillon nutritif, le milieu liquide BHIB et l'eau physiologique.

II-2-2 La Préparation de l'inoculum

II-2-2-1 La Préparation des pré-cultures

Les tests antibactériens 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 bouillon nutritif (BN). Après incubation pendant 24 heures à 37°C, un deuxième repiquage est réalisé dans des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive (GN) puis incubées à 37°C pendant 18 heures.

II-2-2-2 La Préparation de la suspension bactérienne

A partir des cultures jeunes sur (GN) on prélève 3 à 5 colonies bien isolées et identiques dans 5ml d'eau physiologique stérile, on agite au vortex pendant quelques secondes. La standardisation de la suspension 10^6 UFC/ml qui correspond à une densité optique comprise entre 0.08 et 0.1 mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 623 nm. Ensuite on a agité fortement, une culture bactérienne fraîche est préparée et incubé pendant 18H-24H à 37°C.

II-3 La mesure de l'activité antibactérienne par la méthode des disques

II-3-1 Le Protocole expérimental

Couler aseptiquement le milieu de culture gélosé Mueller Hinton dans les boîtes de pétri à raison de 15 ml par boîte. On laisse solidifier sur la paillasse. 1 ml de chaque suspension de culture bactérienne de concentration d'environ (10^6 UFC/ml) et préparé à partir d'une culture de 18 heures, et étalé à la surface du milieu MH par écouvillonnage.

II-3-1-1 Le dépôt des disques

A l'aide d'une pince stérile, nous avons prélevé un disque de cellulose stérile de (diamètre : 6mm) et l'imbiber avec deux volumes 2,5µl et 10µl de l'H.E à tester, en mettant seulement en contact le bout du disque, puis déposer sur la gélose. Nous avons fermé les boîtes de pétri et laissé diffuser à température ambiante pendant 30mn, et mises à l'étuve à la température de 37°C pendant 24h.

II-3-1-2 La Lecture

Selon Ponce *et al.* (2003) La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse.

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition comme suit :

- Non sensible (-) pour les diamètres moins de 8mm ;
- Sensible (+) pour des diamètres de 8 à 14mm ;
- Très sensible (++) pour des diamètres de 15 à 19mm ;
- Extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20mm.

II-3-2 Le test de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme

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, préalablement 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 un antibiotique [ampicilline (AMP)], Le choix a été fait en fonction de la disponibilité (Essawiet Srour, 2000).

II-3-3 La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI par la méthode de microdilution

La valeur de la CMI est déterminée pour les H.Es des quatre plantes qui ont montrées une activité antibactérienne significative. Pour cela une série des dilutions comprise entre : 1/100 et 1/6.66 est établie dans des tubes à essais contenant 9 ml de bouillon B.H.I.B à partir d'une solution mère d'HE à 15% préparée préalablement dans du DMSO. 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 623 nm.

II -4- L'étude de l'activité antioxydante : *Test anti-radicalaire contre le DPPH*

II.4.1 Le Principe de la méthode

Afin d'étudier les activités antiradicalaire des huiles essentielles des quatre plantes étudiées nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH (1,1-diphényl-2 picrylhydrazyl) comme un radical relativement stable. Ce test consiste à mettre le radical DPPH de couleur violette intense, en présence des molécules dites antioxydantes afin de mesurer leur capacité à le réduire.

La forme réduite diphényl picryl-hydrazine de couleur jaune n'absorbe plus à 517 nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance (Sanchez-Moreno, 2002).

II.4.2 Le Protocole expérimentale

L'activité des antioxydants des chaque huiles essentielles diluée dix fois préalablement dans de l'éthanol pur est déterminée par la méthode de Blois modifiée.

Elle consiste à mélanger dans un tube en verre 100 µl de chaque huile essentielle à différentes concentrations avec 2.9 ml de DPPH(Abs_{517 nm} 0.9-1.0).Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance des échantillons est effectuée contre un contrôle à 517 nm.L'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant standard.

Le pouvoir antioxydant est évalué par le pourcentage d'inhibition ou effet piégeur du radical DPPH par les antioxydants d'extrait d'algue par la formule suivante : le pourcentage d'inhibition = (Absorbance du contrôle – Absorbance d'essai/ Absorbance du contrôle) x100.

Le paramètre IC₅₀ (concentration équivalente à 50% de DPPH perdu) est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur). Ces IC₅₀ sont déterminés graphiquement des quatre tests séparés, dont l'abscisse représente la concentration de l'extrait brut et l'ordonnée l'activité antioxydante en pourcentage. La valeur de chaque IC₅₀ exprime la concentration de l'extrait exigée pour réduire 50% de DPPH en solution. (Fuhrman et al, 1995 ;Rice-Evans et al.,1996 ; Jovanovic et al.,1998).

Résultats et discussion

I- Le Rendement en huiles essentielles

Le rendement des huiles essentielles des quatre plantes médicinales extraites par le procédé d'hydrodistillation à donner les résultats représentés dans le tableau ci-dessous. Le rendement de *Cardamum* est le plus élevé (3,4%) par rapport à l'*Origanum majorana*, *Thymus vulgaris* et *Mentha piperita* avec les rendements respectifs 1.5%, 1,15% et 0.7 %.

Tableau(2) : Le rendement d'extraction des huiles essentielles des plantes aromatiques étudiées (Original., 2015).

Plantes	Volume de l'HE (mL)	Rendement (%)	Densité
<i>Mentha piperita</i>	1.4	0.7	0,68
<i>Thymus vulgaris</i>	2.3	1.15	0,52
<i>Elettaria cardamomum</i>	3.4	3.4	0,84
<i>Origanum majorana</i>	3	1.5	0,63

II-L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

II-1-Les résultats des tests antimicrobiens

L'effet des huiles essentielles de *Mentha piperita*, d'*Elettaria cardamomum*, de *Thymus vulgaris* et d'*Origanum majorana* sur la croissance de quelques bactéries à Gram négatif et à Gram positif a été déterminé à l'aide de la méthode de diffusion sur disque. Le Tableau (3) regroupe l'ensemble des résultats ainsi obtenus.

Tableau (3) : résultat du test antibactérien des huiles essentielles des quatre plantes aromatiques (Original., 2015)

Souches	<i>Mentha piperita</i>		<i>Elettaria cardamomum</i>		<i>Thymus vulgaris</i>		<i>Origanum majorana</i>	
	2,5µl*	10µl	2,5µl	10µl	2,5µl	10µl	2,5µl	10µl
P.a	6**	7	6	6	7	8	6	9
S.a	10	12	9	13	40	55	8	14
L.m	8	9	11	30	34	75	10	45
K.l	8	10	6	6	13	21	9	12
E.c	9	8	6	7	21	23	9	19

* : volume de l'huile essentielle (µl) ; ** : diamètre de la zone d'inhibition.

D'après la Figure (16), on constate que l'huile essentielle provoque l'apparition d'un halo d'inhibition ceci s'explique par son effet bactériostatique sur les bactéries testées. L'effet antibactérien dépend d'une part du type d'huile essentielle et d'autre part de la souche testée.

D'après le Tableau (3), on remarque que l'huile essentielle de la menthe n'a pas montré une bonne activité antibactérienne par rapport aux autres huiles essentielles. La plus part des souches bactériennes sont sensibles vis-à-vis de l'huile essentielle du thym. Les huiles essentielles *Elettaria cardamomum* et *Origanum majorana* ont une activité antibactérienne modérée

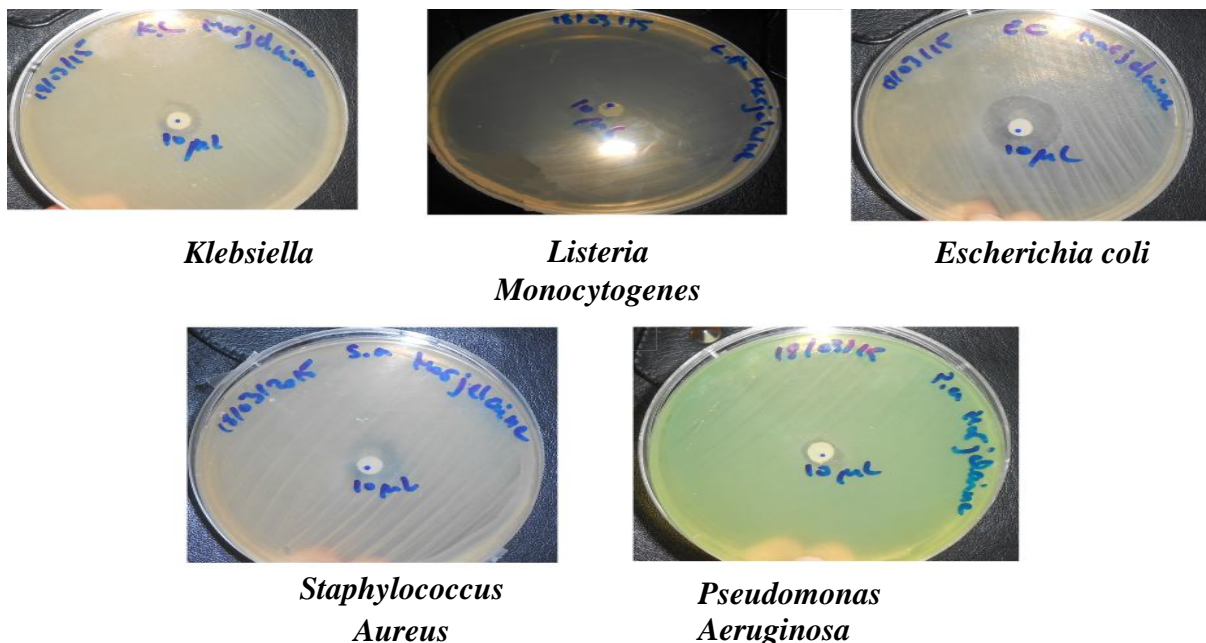
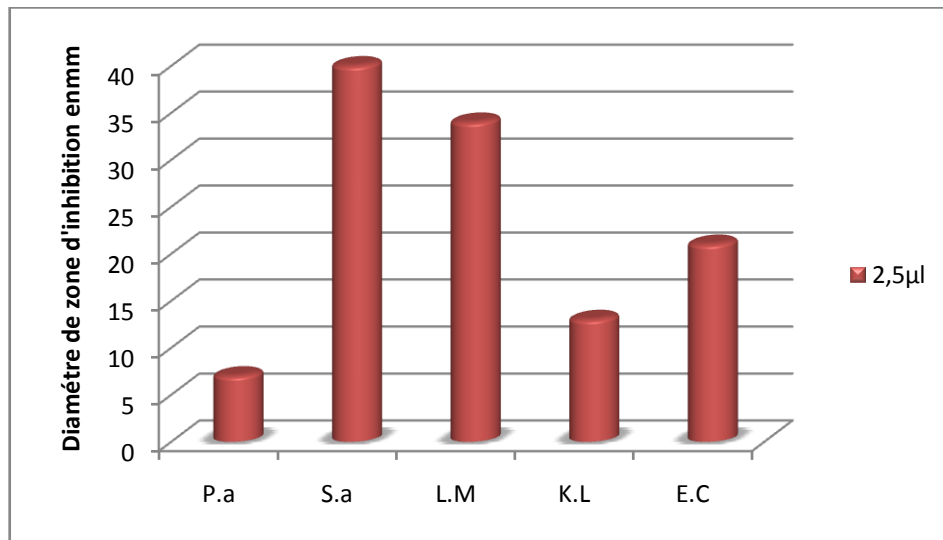


Figure (16) :Exemple des résultats des tests antimicrobiens de l'huile essentielle d'*Origanum majorana* obtenus par la méthode de disques de diffusion sur les vis-à-visles souches bactériennes (Bouakkaz et Dahou., 2015)

II-1-1-L'Huile essentielle de *Thymus vulgaris*

Nous remarquons une corrélation entre la zone d'inhibition et le volume de l'huile essentielle testée. La zone d'inhibition augmente avec la quantité d'huile vis-à-vis des cinq souches testées. L'espèce la plus résistante est *Pseudomonas aeruginosa* ou nous avons remarqués que le volume de 10 µl donne une faible zone d'inhibition (8mm) par contre les bactéries *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, et *Klebsiella* sont extrêmement sensibles où les diamètres des zones d'inhibitions varient entre 21 et 75mm



Figure(17) : les diamètres de zones d'inhibition de *Thymus vulgaris* à 2,5µl vis-à-vis les cinq bactéries(Original. 2015)

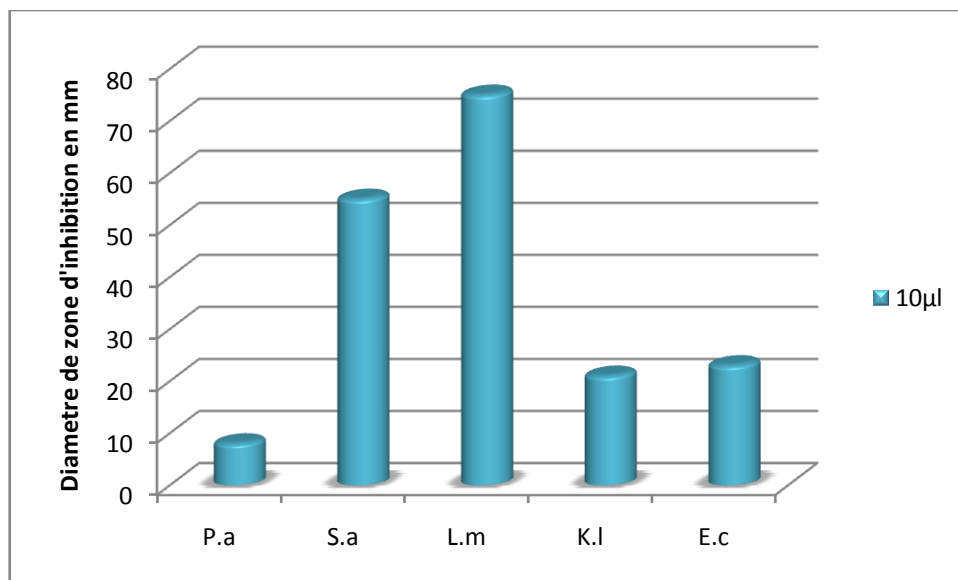
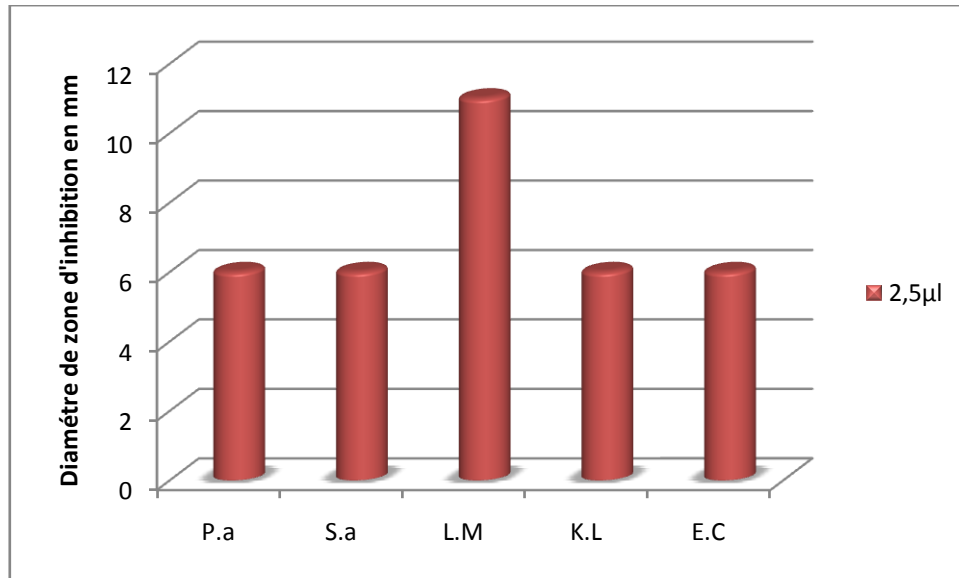


Figure (18): les diamètres de zones d'inhibition de *Thymus vulgaris* à un volume de 10µl vis-à-vis les cinq bactéries(Original., 2015).

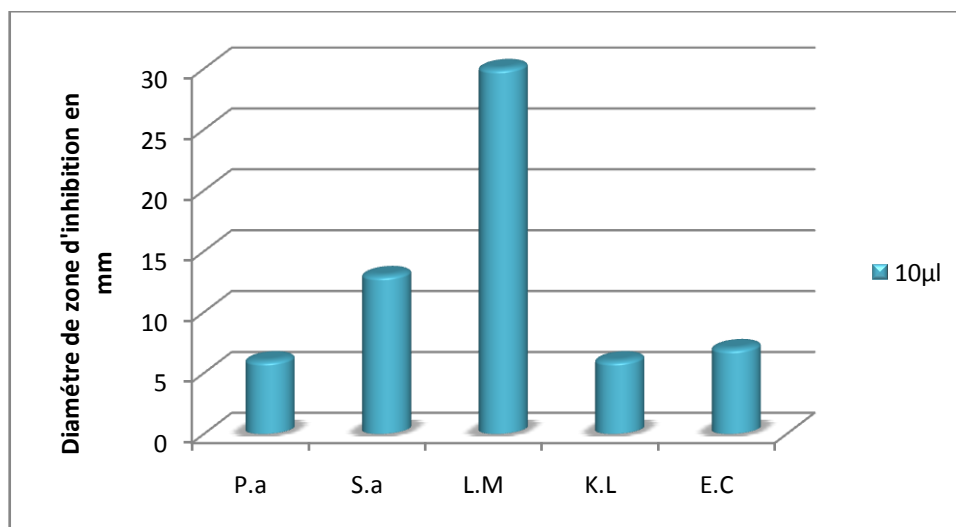
II-1-2-L'Huile essentielles d'*Elettaria cardamomum* :

D'après l'histogramme indiqué dans la Figure (21) et (22) on remarque que *Listeria monocytogenes* est la plus sensible vis-à-vis de l'huile essentielle d'*Elettaria cardamomum*. Des volumes de 2.5 et 10 µl provoquent l'apparition d'une zone d'inhibition de 11 et 30 mm respectivement. Dans ces mêmes conditions, les autres bactéries sont faiblement sensibles.

Pseudomonas aeruginosa et *klebsiella* sont les bactéries les plus résistantes vis-à-vis de cette huile.



Figure(19) : les diamètres de zones d'inhibition d'*Elettariacardamomum* à 2,5µl vis-à-vis les cinq bactéries (Original., 2015).



Figure(20) : les diamètres de zones d'inhibition d'*Elettariacardamomum* à un volume de 10µl vis-à-vis les cinq bactéries (Original., 2015)

II-1-3-L'Huile essentielle d'*Origanum majorana*

Les tests antibactériens de l'huile de la marjolaine, montrent que *Pseudomonas aeruginosa* résiste fortement. De faible zone d'inhibition ont été observée pour les bactéries *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* par contre *Listeria monocytogenes* est l'espèce la plus sensible avec une zone d'inhibition de 45mm pour le volume de 10µl.

L'huile essentielle d'*Origanum Majorana* présente une activité très faible pour le volume de 2,5µl sur les souches d'*Escherichia Coli*, *staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

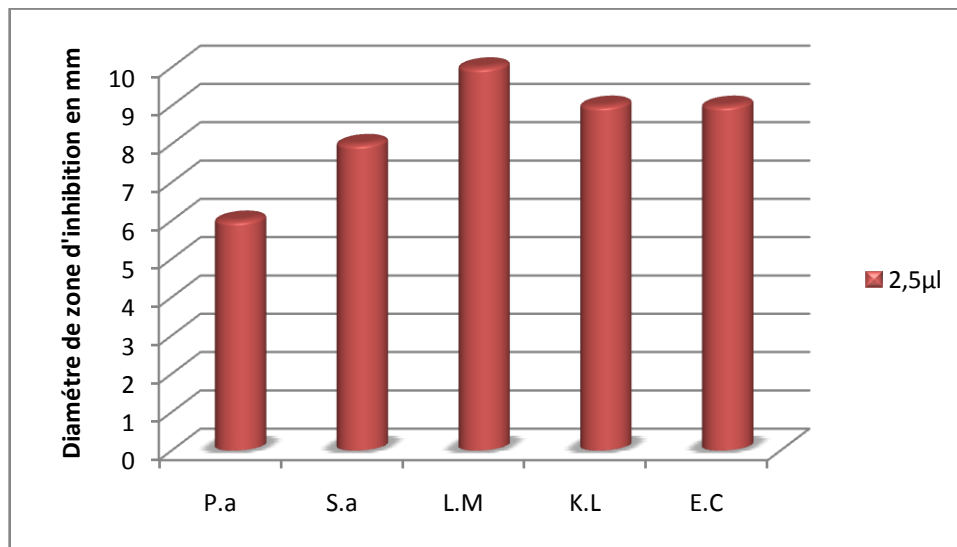
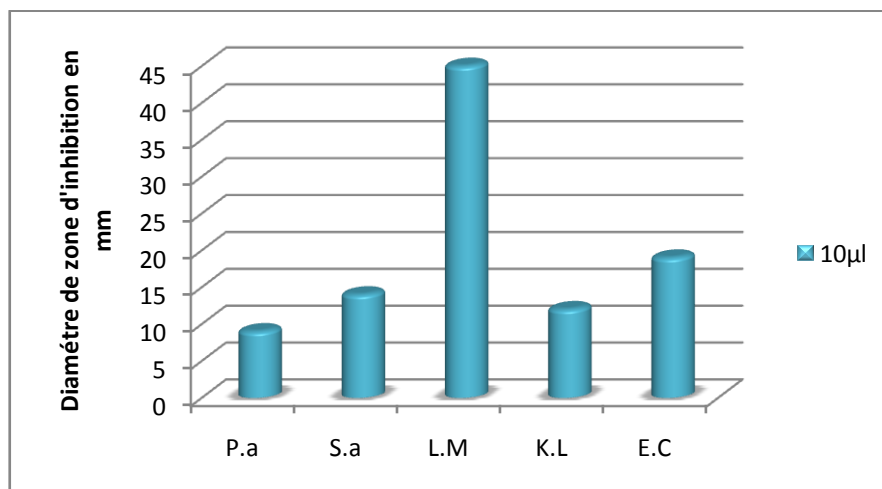


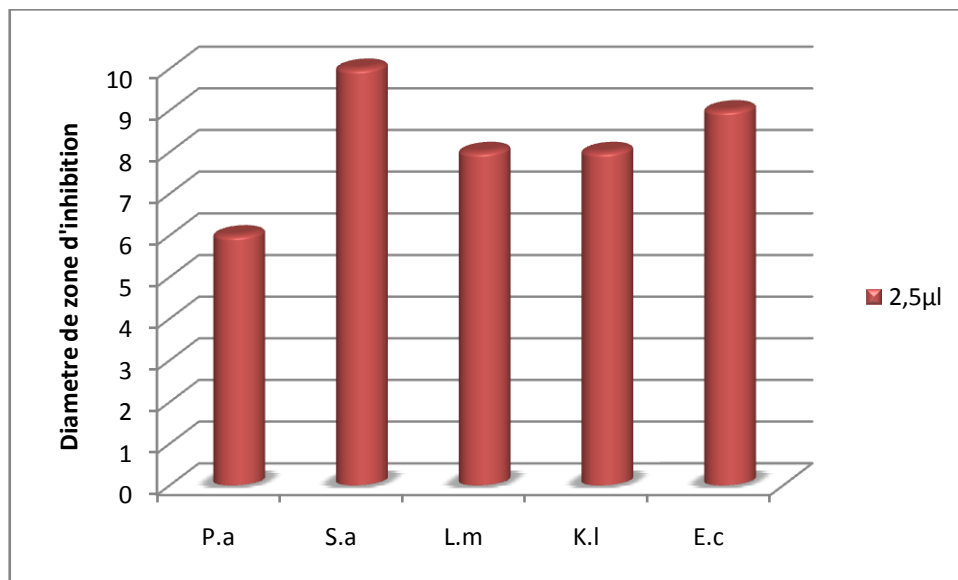
Figure (21): les diamètres de zones d'inhibition d'*Origanum majorana* à un volume 2,5µl vis-à-vis les cinq souches bactériennes (Original., 2015)



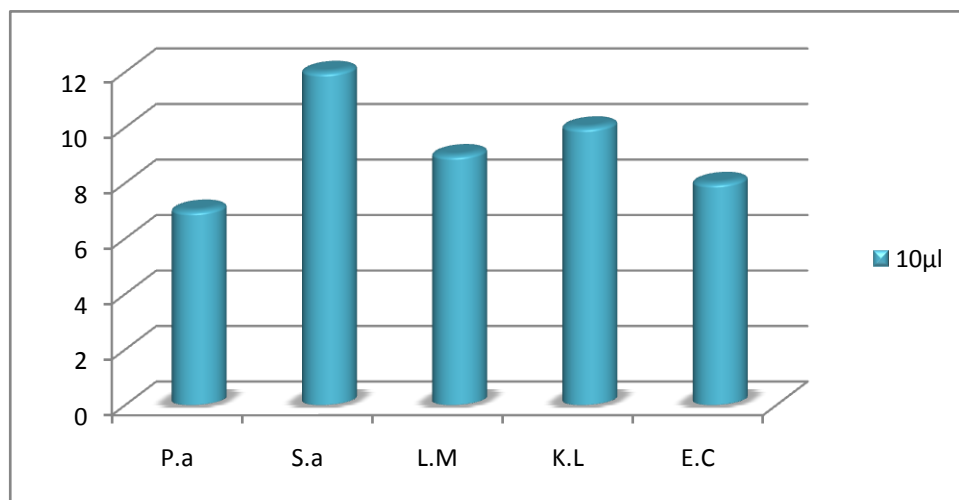
Figure(22) : les diamètres de zones d'inhibition d'*Origanummajorana* à un volume de 10µl vis-à-vis les cinq souches bactériennes(Original., 2015).

.II-1-4-L'Huile essentielle de *Mentha piperita*

D'après les histogrammes indiqués ci-dessous, nous avons constaté que presque toutes les bactéries sont résistantes vis-à-vis de l'huile essentielle de la menthe à l'exception de *Staphylococcus aureus* qui est relativement inhibée par cette huile où une zone d'inhibition de 12 mm est notée pour un volume de 10µl.



Figure(23) : les diamètres de zones d'inhibition de *Mentha piperita* à un volume de 2,5µl vis-à-vis les souches bactériennes testées.(Original., 2015)



Figure(24) : les diamètres de zones d'inhibition de *Mentha piperita* à un volume de 10µl vis-à-vis les souches bactériennes testées(Original., 2015).

Les résultats du test de l'antibiogramme réalisé avec l'ampicilline sont indiqués dans le Tableau (4). Ce test nous a permis d'évaluer l'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles des quatre plantes. On observe que les différentes souches de bactéries étudiées réagissent différemment aux antibiotiques testés. Parmi les souches étudiées les *Pseudomonas* se révèlent multirésistantes.

Tableau (4) : Les diamètres des zones d'inhibition d'ampicilline vis-à-vis les souches bactérienne étudiées (Original., 2015).

Souche bactérienne	Diamètre d'inhibition (mm) (Disque d'ampicilline à 10 µg)
<i>Staphylococcus aureus</i>	13.33
<i>Listeria monocytogenes</i>	16.33
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
<i>Escherichia coli</i>	15.75
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10.00

Nous avons remarqué que les diamètres des zones d'inhibition de l'antibiotique d'ampicilline sur *Staphylococcus aureus* est de 13,33mm à presque les mêmes diamètres de zone d'inhibition des huiles essentielles de *Mentha piperita*, *Elettaria Cardamomum* et d'*Origanum Majorana*, quand on registre les diamètres suivants 12mm, 13 mm et 14mm respectivement.

Par contre huile essentielle de *Thymus vulgaris* à une zone d'inhibition plus élevée que l'ampicilline à un diamètre de (55mm).

Listeria monocytogenes est la plus résistante vis-à-vis de l'huile essentielle de *Mentha piperita*, par contre cette bactérie est très sensible aux autres huiles essentielles d'*Elettaria Cardamomum*, *Origanum majorana*, *Thymus vulgaris* qui donnent les diamètres suivants : 30mm, 45mm et 75mm respectivement.

Pour la bactérie de *Pseudomonas aeruginosa* est sensible à l'antibiotique de l'ampicilline avec un diamètre de 16mm mais elle est très résistante aux huiles essentielles étudiées de *Mentha piperita*, d'*Elettaria Cardamomum* et d'*Origanum majorana*, et *Thymus vulgaris*.

Escherichia coli résistante contre les huiles essentielles de *Mentha piperita* et d'*Elettaria Cardamomum* par contre elle sensible vis-à-vis des huiles essentielles d'*Origanum majorana* et de *Thymus vulgaris*. L'effet de l'huile essentielle de *Thymus* sur *E. coli* est presque similaire par rapport à celle mesurée avec l'ampicilline.

Pour *Klebsiella pneumoniae*, nous avons noté que l'action de l'ampicilline sur cette dernière est similaire par rapport aux huiles essentielles d'*Origanum majorana* et *Mentha piperita*.

Par contre l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a un effet plus élevé par rapport à l'antibiotique d'ampicilline.

Nous avons remarqué aussi que la plante *Thymus vulgaris* est douée de propriétés antimicrobiennes très appréciées et cela justifie son utilisation dans le traitement traditionnelle comme un remède antibactérien. L'importante action antimicrobienne démontrée par *Thymus vulgaris* est en relation avec sa composition chimique qui contient un composé phénolique majoritaire thymol et un autre minoritaire carvacrol. Ces deux derniers sont réputés avoir une très grande action antimicrobienne (Ettayebi et al., 2000 ; Ultee et al., 2000 ; Friedman et al., 2002 ; Chun et al., 2005).

Nous avons peut conclure des résultats obtenus de l'activité antibactérienne que les huiles essentielles de *Elettaria cardamomum*, *Thymus vulgaris* et *Origanum majorana* sont plus actives sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif.

Les bactéries gram négatif, ayant une membrane externe composée de phospholipides, de protéines et riche en molécules de lipopolysaccharides. Cette membrane forme donc une barrière imperméable (Bouterfas et al., 2014 ; Abirami et al., 2012) et empêche l'entrée de substance environnementale comme les antibiotiques et les huiles essentielles (Mendes et al., 2013). La membrane contient aussi des enzymes capables de décomposer la molécule introduite de l'extérieur. En revanche, les bactéries à gram-positives sont plus sensibles ayant seulement une couche de peptidoglycane externe qui n'est pas une barrière de perméabilité effective (Abirami et al., 2012).

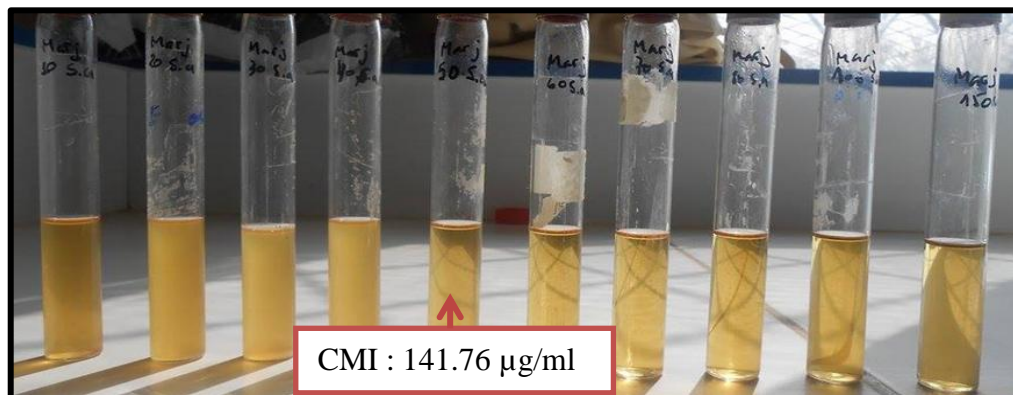
II-2-L'évaluation des tests antimicrobiens des huiles essentielles par la Méthode de dilution

D'après les tests antibactériens des huiles essentielles par méthode de disque, seulement l'*Origanum majorana* et *Thymus vulgaris* ont les meilleurs pouvoirs d'inhibition vis-à-vis *S. aureus* et *L. monocytogenes*. Par conséquent, la concentration minimale inhibitrice (CMI) de la croissance bactérienne par la méthode de contact direct est mesurée que pour ces deux bactéries. Les résultats ainsi obtenus sont indiqués dans le Tableau (5).

Tableau(5) : Les valeurs des concentrations minimales inhibitrices des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et *Origanum majorana* vis-à-vis les souches testées (Original., 2015)

Huile essentielle	Souche bactérienne	CMI (µg/mL)
<i>Origanum majorana</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	141.76
	<i>Listeria monocytogenes</i>	113.41
<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	70.2
	<i>Listeria monocytogenes</i>	46.8

D'après les valeurs de CMI, les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes* sont sensibles à l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Aligiannis et al. (2001).



Figure(25) : la CMI d'*Origanum Majorana* vis-à-vis *staphylococcus aureus* (Bouakkaz et Dahou., 2015).

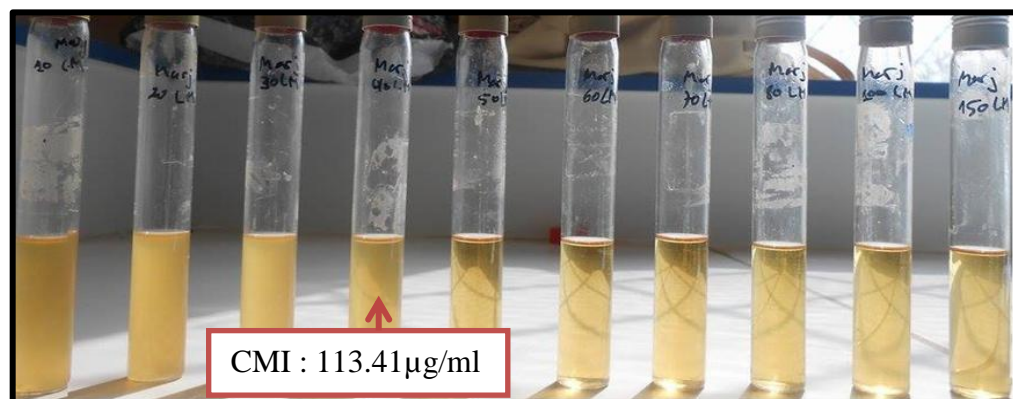


Figure (26) : la CMI d'*Origanum Majorana* vis-à-vis *Listeria monocytogenes* (Bouakkaz et Dahou., 2015).

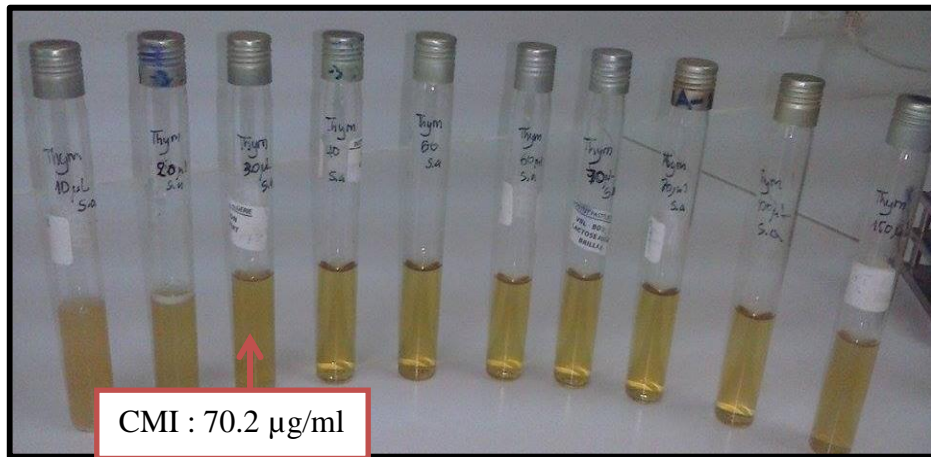


Figure (27) : la CMI de *Thymus vulgaris* vis-à-vis *Staphylococcus aureus* (Bouakkaz et Dahou., 2015).

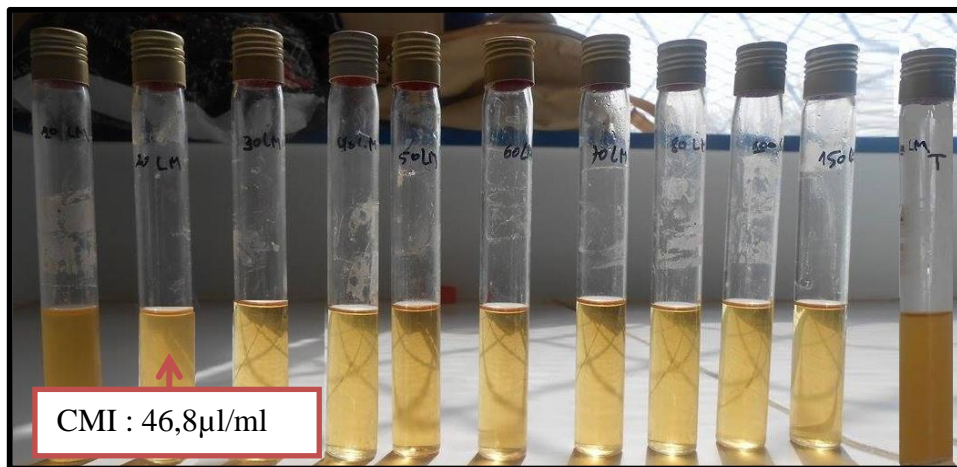


Figure (28) : la CMI de *Thymus vulgaris* vis-à-vis *Listeria monocytogenes* (Bouakkaz et Dahou., 2015).

III-L 'Activité antioxydante : test du radical DPPH

L'activité antioxydante *in vitro* des huiles essentielles des plantes étudiées a été évaluée par la méthode de test de DPPH. Le profil d'activité anti-radicalaire de chaque huile testé vis-à-vis du radical DPPH est présenté dans la figure ci-dessous (Figure 31).

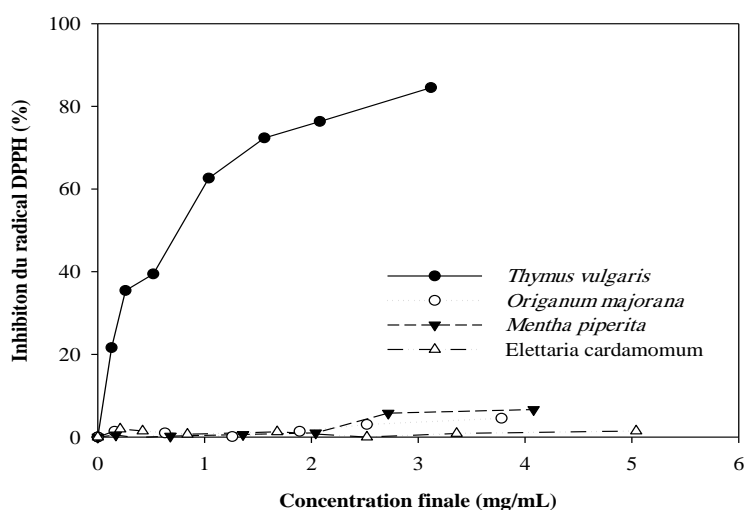


Figure (29) : Les résultats de l'activité antioxydante des quatre huiles essentielles étudiées mesurée par la méthode de DPPH (Original., 2015).

Le pourcentage de réduction du radical DPPH par les différentes concentrations d'huile essentielle, montre que le *Thymus vulgaris* a une activité antioxydante puissante par rapport aux autres plantes puisqu'une faible activité en termes de piégeage du radical DPPH est observée.

Le traitement thermique lors de l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation peut être à l'origine d'une perte considérable de la capacité des constituants d'une huile essentielle à neutraliser le radical DPPH (Catherine et al, 2009).

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par Bouhdid et al. (2006). Ces auteurs suggèrent que le thymol et le carvacrol sont à l'origine des activités anti-radicalaires et antioxydantes d'huile essentielle de *Thymus vulgaris*. Ces deux composés inhibent aussi la peroxydation lipidique (Brunton, 1999). La valeur d' EC_{50} de *Thymus vulgaris* ainsi déterminée est égale à 0.6817 mg/ml. Cette valeur est presque similaire par rapport à celle ($EC_{50} = 0.480$ mg/ml) reporté par Stanisavljevic et al. (2011).

Conclusion

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales aromatiques 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 aromatiques représentent 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 antibactérienne et antioxydantes des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques locales (*Mentha piperita*, *Thymus vulgaris*, *Elettaria cardamomum* et *Origanum majorana*) de la région de Laghouat.

L'extraction des huiles essentielles de ces quatre plantes ont été extraite à l'aide du procédé d'hydrodistillation par l'appareil de Clevenger. Un rendement d'extraction plus élevé est obtenu pour l'*Elettaria cardamomum* (3,4%) tandis que *Mentha piperita* a le rendement le plus faible (0.7 %).

L'évaluation l'activité antibactérienne, par la méthode des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des huiles essentielles vis-à-vis de cinq bactéries. Les résultats microbiologiques ont montré que les huiles essentielles ont une action élevée sur les espèces bactériennes testées, mais le *Thymus vulgaris* est le plus efficace sur toutes les bactéries avec des zones d'inhibition considérables.

Pseudomonas aeruginosa est plus résistante vis-à-vis des huiles essentielles testées.

La méthode de contact direct a montré un bon résultat pour l'effet de *Thymus vulgaris* et l'*Origanum majorana* sur les souches bactériennes testées.

Les huiles essentielles d'*Elettaria cardamomum*, *Thymus vulgaris* et *Origanum majorana* sont plus actives sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif.

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a un pouvoir antioxydant et antiradicalaire plus puissant par rapport aux autres huiles essentielles étudiées. Par conséquent, cette plante peut être valorisée en vue d'extraire des antioxydants qui peuvent être employés pour des applications thérapeutiques et agroalimentaires.

Comme perspectives, il est envisageable d'analyser les huiles essentielles qui ont donné de bonnes propriétés biologiques comme le *Thymus vulgaris* et *Origanum majorana* à l'aide d'une chromatographie en phase gazeuse afin d'identifier leurs composés et d'étudier d'autres activités biologiques.

Références bibliographiques

Abirami P., Gomathinayagam M., Panneerselvam R. 2012. Preliminary study on the Antibacterial activity of *Enicostemma littorale* using different solvents. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 552-555.

AFNOR janvier 2010 .Liste des actualités : Huiles essentielles : extrait d'une norme fondamentale. <http://www.afnor.org/liste-des-actualités>(RESALA), p. 1-8. 2, 6ème édition, AFNOR, Paris.

AFNOR. 2000 : Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome 1 – Echantillonnage et

Ali Giannis 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.

Anton R. & Lobstein A. 2005, Plantes aromatiques, Epices, aromates, condiments et bien-être des occupants". CISBAT 2001, Lausanne, LESO, EPFL.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., et Idaomar M. 2008. Biological effects of **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.

Berche P., Gaillard J-L and Simon M. 1989. Bactériologie bactéries des infections humaines, Médecine-Sciences Flammarion, , p109

Bernard Bertrand. 01/01/2008. Parfum de menthe Terran (Éditions de) (ISBN 978-2-913288-75-1) Kew Garden « World Checklist », consulté le 5 nov. 2012.

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.

Billerbeck, G. 2000. "Activité fongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon nardus* sur l'*Aspergillus niger*. Evaluation d'un bioréacteur pour l'étude de

Bouhdid S., Idaomar, M. ; Zhiri, A.; Bouhdid, D.; Skali, N. S. ; Abrini, J. 2006. Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès International de biochimie, Agadir.* 324-327.

Bouterfas K., Mehdadi Z., Latreche A., Aouad L. 2014. Pouvoir antimicrobien des flavonoïdes extraits des feuilles de *Marrubium vulgare* L. en provenance du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie* ; 2014 ; page 1-9.

Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensm. Wiss. Technol.* 28 : 25-30.

Bruneton J. 1993. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales, Tec &

Bruneton J. 1999. Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3ème Ed Tec&Doc. Paris.

Bruneton, J. 1999. "Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales" Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales (1120).

Caillet S. et Lacroix M. 2007. Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes Doc, Lavoisier, Paris, p: 915.

Catherine. F. 2009. Pharmacognosie ; phytochimie ; plantemédicinale ; Edition Tec et Doc ; lavoisier, 4 émé édition. paris. pp484-5111.

Chun S. S., Vattem D.A., Lin Y.T., Shetty K. 2005. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process. Biochem.* 40:809-816.

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.F., Warmington J.R. et Davidson P.M. 1997. Methods for testing the efficacy of food antimicrobial, Food Distribution , volatile oil yield, and composition, *Economy botanic.* 42, p. 407-412. Doc, 3 émé édition. Lavoisier, Paris, 1120.

Dacosta, Y. 2003. Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317 p.

Donnelly C.W. 2001. *Listeria monocytogenes*: A continuing challenge. *Nutrition Reviews,* , 59: 183-194).

Essawi T. et Srour M. 2000 . Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharm.* 70 : 343-349. Essential oils. Food and chemical toxicology, 46, 446-475.

Ettayebi K., El Yamani J., Rossi-Hassani B. D. 2000. Synergistic effects of nisin and thymol on antimicrobial activities in *Listeria monocytogenes* and *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiology Letters.* 183:191-195.

Eymard S.2013. 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.

F.-X. Garneau.2001. Notes du cours *Produits naturels*. Département des sciences fondamentales, UQAC, Chicoutimi, Québec.

Favier A. 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.*; 64: 390-396.

Friedman M., Henika P. R., Mandrell R. E. 2002.Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. *J. Food Prot.* 65 : 1545-1560.

Fuhrman B., Lavy A., Aviram M. 1995. Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin. Nutr.*61 : 549-554.

Guba R.2001.Toxicity Myths-essentials oils and their carcinogenic potontiel.*International Journal of aromatherapy*, 11-76-38.

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.Microware-assisted extraction of antioxydative anthraquinones from routes of *Morinda Citrifolia*.*Separation and purification Technology*, 54, 44,50. *Huiles essentielles*, Tec & Doc, Paris, p.522.humaines. *Press Med.* 30 : 1076-1081.

Jovanovic S.V., Steenken S., Simic M.G., Hara Y. 1998. Antioxidant properties of flavonoids. *AHDIEQ ,Journal.* 7 : 137-161.

Kato T., Lijima H., Ishihara K., Kanek T., Hirai K., Naito Y & Okuda K.1990. Antibacterial effect of listerine on oral bacteria. *Bull. Tokyo. Dent. Coll.*. 31(4) : 301-307.

Kulšic T., Dragovic-Uzelac V., Miloš M. 2006 .Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from *Oregano*, *Thyme* and *Wild Thyme*.*Food Technol. Biotechnol.* 44 (4) : 485-492.

Lahlou M. 2004. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils,l'effetinhibiteur des substances volatiles en phase vapeur." *Faculté des sciences*

Legrand G. 1978. Manuel préparatoire en pharmacie, 8ème Edition, Ed. Masson, Paris.

- Legrand G. 1993.** Manuel de préparateur en Pharmacie, Masson, Paris.
- Lehucher-Michel M. P., Lesgards J. F., Delubac O. et autre 2001.** Stress oxydant et pathologies.
- Lucchesi M.E. 2005.** Extraction sans solvant assistée par micro-onde, conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat en sciences, discipline : chimie
- Lis-Balchin M., Buchbauer G., Hirtenlehner T. & Resch M. 1998.** Antimicrobial Activity of Pelargonium essential oils added to a quiche filling as a model food system. *Lett Appl Microbiol.*, 27(4): 207-210.
- Low J.C., Donachie W. 1997.** A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. *Veterinary Journal.*, 153: 9-29).
- Madhavi D. L., Deshpande S. S. et Salunkhe D. K. 1996.** Food Antioxidants, méthode d'analyse 471 P. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles 323 P. Tome 2 – Volume 2 Monographie relative aux huiles essentielles 663p..
- Mallea M., Soler M., Anfosso F & Charpin J. 1979.** Activité antifongique d'essences aromatiques. *Pathol. Biol.*, 27: 597-602.
- Mendes, M., Pereira, R., Sousa Pinto, I., Carvalho, A. P., Gomes, A. M. 2013.** Antibacterial activity of lipid profile of seaweed extracts from the North Portuguese Coast. *International Food Research Journal* 20(6), 3337-3375.
- Mohamadi Z. 2006.** Etude de pouvoir antimicrobien et antioxydant de quelque plante de la région de Tlemcen. Thèse de Magister. Option produits naturels, Activité biologique et synthèse. Université ABB. Tlemcen. p. 339.
- Padrini F. et Lucheroni M.T. 1997.** La nature des huiles essentielles, Ed. Dexecchi. pharmaceutiques, Institut national polytechnique de Toulouse (236). *Phytotherapy Research*, p. 435-448.
- 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.
- Pibiri, M.-C., C. Seigniez, et al. 2001.** "Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles.
- Piochon M. 2008.** Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activité pharmacologiques et héli-synthèse. Mémoire Université du Québec à Chicoutimi, Canada

Ponce A.G ., Fritz R.,Delvalle c.et Rora S.I.2003.Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard.Lebensmittel-wissenschaft and Technologic,36,679-684.

Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids.Free Radic. Biol. Med. 20 : 933-956.

Richard H. et Peyron F.,1992. Epices et aromates, Ed .Tec & Doc-Lavoisier, Paris,

Robert-Demuet S.1995.Méthode de dilutions.In antibiotiques et antibiogrammes,131-137.Montréal.Canada.Technological, Toxicological, and Health Perspectives, Marcel Dekker, Inc. New York, p.65.

Roulier G.1992. Les huiles essentielles pour votre santé. Traité pratique

Sanchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*. 8: 121-137.

Siani A.C., Ramos M.F.S., O. Menezes-de-Lima Jr., Ribeiro-dos-Santos R., Fernandez-Ferreira E., Soares R.O.A., Rosas E.C., Susunaga G.S., Guimaraes A.C., Zoghbi M.G.B. &Henriques M.G.M.O.1999. Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*.Journal of Ethnopharmacology,. 66(1): 57-69.

Singleton.1999.Bactériologie.4^{ème} édition.Dunod,paris.317pg

Taldykin O.E. 1979. Use of phytoncidic activity of essential oils for improving the air in sealed place. RolBiogeotsenzokhZnach Med Mater Soveshch., 1 : 201-203.Technology, p:148-155.

Ultee A., Slump R. A., Steging G. Smid E. J. 2000. Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice.J. of Food Protection. 620-624.Ventilation au moyen d'huiles essentielles,Thèse de Doctorat, Lausanne

Vokou D., Kokkini S. et Bressiere J.M. 1988. *Origanum onites* (Lamiaceae) in Greece

Wyllie S.G. 2000, The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca alternifolia* (tea tree oil), Journal of Applied Microbiology, p:170-175.