



Faculté: Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre

Département: Sciences Agronomiques

Spécialité: Gestion Qualitative des Productions Agricoles

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

**Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles des
lamiacées *Rosmarinus officinalis* et *Mentha pulegium* sur
Pseudomonas aeruginosa responsable des infections nosocomiales**

Soutenu le : 05 Juin 2016

Présenté par :

M^{elle} Bettaibi Mahdjouba

M^{elle} Benatallah Samia

Devant le jury composé de :

Présidente : *M^{elle} TIRCHI N.*

MCB

UDBKM

Promotrice: *M^{me}. MOHAMED BOUZIANE R.*

MAA

UDBKM

Examineurs :

1 *M^{elle} DJEBROUNE A.*

MAB

UDBKM

Remerciements

Avant tout nous remercions Dieu « ALLAH » le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce travail.

Nous remercions infiniment notre promotrice M^{me} Mohamed Bouziane R, pour nous avoir proposé ce thème, pour l'honneur qu'il nous a fait en dirigeant ce travail, pour ses aides, ses orientations, ses conseils scientifiques judicieux tout au long de l'élaboration de ce modeste travail, pour sa patience, ses encouragements, son soutien et son infinie gentillesse.

Merci pour votre accueil, vos conseils avisés et votre contribution à ce travail.

Nous adressons nos remerciements les plus sincères à M^{elle} TIRCHI N. pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider ce jury.

Nos plus vifs remerciements s'adressent à M^{elle} DJEBROUNEA. d'avoir accepté d'examiner ce travail

Nous remercions aussi Mr BRADA K, Mr Boudjellal F. et Mr Embarak S. pour leur soutien moral inoubliable.

Enfin, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Mahdjouba et Samia ...

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Mon père Ahmed

Vous êtes un pilier solide et incontournable pour ma personne et mon parcours, que « Dieu » vous donne santé et longue vie.

Ma mère Maïssa

Que ce travail soit pour vous le témoignage de mon infinie reconnaissance pour votre aide précieuse et toutes ces années de compréhension.

*Mon cher frère Mohamed pour leur disponibilité, leur soutien moral.
Mon cher frère Abd el kader qui m'a soutenu pendant mes études pour leur disponibilité et son épouse Hayet et leur petite fille Ahlem.
Ma sœur Fathia et son mari Boualem et leurs petits Radhia, Ayman,*

Abdallah et Haïtham

Ma sœur Samira et son mari Abdallah et leurs petits Iman, Khadidja et Mohamed

*Ma chère sœur Saïda pour sa compréhension et son aide précieuse dans les moments difficiles et son mari Ahmed et leur petit Ashraf.
Mes oncles et tantes : Zouaoui, M'hamed, Alarbi, Mohamed, Mahdjoub, Kouider, Yakout, Zohra, Djemila, Fatima et Massouda ainsi que leurs familles*

Mes cousines : Salima, Isma, Nacera, Naïma, Malika et fila.

Le reste de ma famille.

Mes amies surtout Samia, Nacera, Fethia, Hanane et Aïcha.

Tous mes professeurs.

Toute la promotion Master II option Gestion qualitative des productions agricoles.

MAHDJOUBA...

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

Mon père Benyoucef,

Mon plus haut exemple de persévérance. Pour son enseignement continu sur les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils.

Ma mère Fatma,

Pour son affection, sa patience permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie.

J'espère de tout mon cœur qu'en ce jour vous êtes fières de moi, et que je réalise l'un de vos rêves.

*A ma grande mère **Khaira** et mon grand-père **Mohamed**. Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours.*

*A ma chère sœur : **Bouchra** : Vous étiez toujours à mes côtés, votre amour et votre confiance.*

*A mes chers frères : **Mohamed** et **Hakim** pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse*

Que « Dieu » vous protège et vous accorde un brillant avenir avec une vie pleine de joie et de Succès.

*A mon mari : **Salah** pour sa bonté et son aide sans limite, qui étaient pour moi une source de courage, de patience.*

*À mes très chers oncles et Tantes, à mes cousins et cousines : **F/Zohra, Yamina, Naïma, Keltoume, Mohamed, Abess...***

*À toute la famille **Benatallah, Bardad** et **Yahiaoui***

*A **Mahdjouba, Nacira, Fethia**, Je vous remercie pour les moments passés de joie ou de tristesse toujours on a été épaulés l'un à l'autre.*

Tous mes professeurs.

Toute la promotion Master II option Gestion qualitative des productions agricoles.

SAMIA...

Liste des abréviations

AFNOR: Association Française de Normalisation

ATCC: Américain Type Culture Collection

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DM : Dispositif médical

G-: Gram négatif

G+ : Gram positif

HE: Huiles Essentielles

HMG-CoA : 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl Coenzyme A

IN: Infection nosocomiale

MEP: Méthylerythritol phosphate

MH : Mueller Hinton

ONM : Organisation Nationale de Météorologie

ORL : Oto-rhino-laryngée

PEP: Phosphoenolpyruvate

PPDS: Plus petite différence significative

TCA : Tricarboxylic acide

USI : Unités de soins intensifs

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles	13
Tableau 02 : Composition des huiles essentielles extraites de <i>Rosmarinus officinalis</i>	21
Tableau 03 : Composition des huiles essentielles extraites de <i>Mentha pulegium</i> (en %)	26
Tableau 04 : Caractéristiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 25853	33
Tableau 05 : Matériel du laboratoire employé durant notre étude	34
Tableau 06 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i> et <i>Mentha peligium</i>	45
Tableau 07 : Diamètres moyens de la zone d'inhibition des huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot sur <i>P. aeruginosa</i>	48
Tableau 08 : Degré de sensibilité de <i>P.aeruginosa</i> vis-à-vis des huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot en fonction des dilutions	52
Tableau 09 : Degré d'inhibition des huiles essentielles du romarin et de la menthe Pouliot	54
Tableau 10 : Pourcentage d'inhibition de la croissance bactérienne	55
Tableau 11 : Analyse de la variance du diamètre d'inhibition des huiles essentielles de <i>R. officinalis</i> et de <i>M. pulegium</i> pour les deux facteurs étudiés (F1: plante ; F2 : dose).	57
Tableau 12 : Groupes homogènes du Facteur 1 (Plante)	58
Tableau 13: Groupes homogènes du Facteur 2 (doses)	58
Tableau 14 : Groupes homogènes de l'interaction entre les deux facteurs 1 et 2 (Plante /dose)	59

Liste des Figures

Figure 01 : Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inférieure d'une feuille d' <i>Origanum vulgare</i>	5
Figure 02 : Poils épidermiques sur le calice d'une fleur d'origan	5
Figure 03 : Poche sécrétrice dans <i>Origanum dictamnus</i>	5
Figure 04 : Coupe transversale d'un canal résinifère	5
Figure 05 : Structure chimique de quelques terpénoïdes et composés aromatiques des huiles essentielles	7
Figure 06 : Structure de l'unité isoprénique	8
Figure 07 : Exemple de quelques monoterpènes	8
Figure 08 : Exemple de quelques sesquiterpènes	9
Figure 09 : Exemple de quelques diterpènes	9
Figure 10 : Voies de biosynthèse des huiles essentielles	11
Figure 11 : Aspects morphologiques du romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	19
Figure 12 : Exigences pédoclimatiques du romarin	21
Figure 13 : Aspects morphologiques de la menthe pouliot (<i>Mentha pulegium</i>)	24
Figure 14 : Exigences pédoclimatiques de la menthe pouliot	25
Figure 15 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31
Figure 16 : <i>Rosmarinus officinalis</i>	32
Figure 17 : <i>Mentha pulegium</i>	32
Figure 18 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 25853 sur milieu King B	33
Figure 19 : Lieu de récolte des échantillons de <i>Rosmarinus officinalis</i> et <i>Mentha pulegium</i>	35
Figure 20 : Échantillons dans des sachets en plastique	36
Figure 21 : <i>Rosmarinus officinalis</i> sèche	36
Figure 22 : <i>Mentha pulegium</i> sèche	36
Figure 23 : Montage de l'hydrodistillation de type Clevenger	37

Figure 24 : Eppendorfs recouverts du papier aluminium	38
Figure 25 : Ré-isolement des souches de <i>P. aeruginosa</i> sur King B	39
Figure 26 : Coulage du milieu de culture MH	39
Figure 27 : Préparation de l'inoculum de la souche bactérienne	40
Figure 28 : Ensemencement bactérien sur milieu MH	40
Figure 29 : Dilutions des huiles essentielles	41
Figure 30 : Application des disques	42
Figure 31: Huile essentielle de <i>R. officinalis</i>	46
Figure 32 : Huile essentielle de <i>M. pulegium</i>	46
Figure 33 : Colonies de <i>P. aeruginosa</i> après incubation de 24 h	47
Figure 34 : Diamètres moyens de la zone d'inhibition des huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot sur <i>P. aeruginosa</i>	48
Figure 35: Activités antibactériennes des huiles essentielles pures de <i>Rosmarinus officinalis</i> (a) et <i>Mentha pulegium</i> (b) sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	49
Figure 36 : Zones d'inhibition en mm de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> (a et b) et de <i>Mentha pulegium</i> (c et d) sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	49
Figure 37 : Pourcentage d'inhibition de la croissance de <i>P. aeruginosa</i> traitée par les huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot	50

SOMMAIRE

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Résumé	

Introduction

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Présentation des huiles essentielles

I.1. Définition	3
I.2. Historique	3
I.3. Répartition, localisation	4
I.3.1. Répartition	4
I.3.2. Localisation	4
I.4. Propriétés physiques	6
I.5. Propriétés et composition chimique	6
I.5.1. Composés terpéniques	8
I.5.2. Composés aromatiques	10
I.5.3. Composés d'origines diverses	10
I.6. Biosynthèse	10
I.6.1. Voie des terpénoïdes	10
I.6.2. Voie des phénylpropanoïdes	11
I.7. Facteurs de variabilité	12
I.7.1. Facteurs d'origine naturelle	12
I.7.1.1. Facteurs intrinsèques	12
I.7.1.2. Facteurs extrinsèques	12
I.7.2. Facteurs d'origine technologique	13
I.8. Procédés d'extraction	13

I.9. Rôles pour la plante	14
I.10. Domaines d'application	15
I.11. Toxicité	17

Chapitre II : Aperçu sur les plantes lamiacées étudiées

II.1. Généralités	18
II.2. Présentation des plantes étudiées	18
II.2.1. Le romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	18
II.2.1.1. Position systématique	18
II.2.1.2. Description botanique	19
II.2.1.3. Répartition géographique	20
II.2.1.4. Exigences pédoclimatiques	20
II.2.1.5. Huile essentielle et composition chimique	21
II.2.1.6. Propriétés et usages	22
II.2.1.7. Maladies et ravageurs	23
II.2.2. La menthe pouliot (<i>Mentha pulegium</i>)	23
II.2.2.1. Position systématique	23
II.2.2.2. Description botanique	24
II.2.2.3. Répartition géographique	25
II.2.2.4. Exigences pédoclimatiques	25
II.2.2.5. Huile essentielle et composition chimique	26
II.2.2.6. Propriétés et usages	26
II.2.2.7. Maladies et ravageurs	27

Chapitre III : Généralités sur *Pseudomonas aeruginosa* et les infections nosocomiales

III.1. Présentation des infections nosocomiales	28
III.1.1. Définition	28
III.1.2. Causes et origines	28

III.1.3. Différents types des infections nosocomiales	29
III.1.4. Facteurs de risque	30
III.2. Généralités sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30
III.2.1. Systématique	30
III.2.2. Morphologie et caractéristiques générales	30
III.2.4. Habitat et pouvoir pathogène	31

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre IV : Matériel et méthodes

IV.1. Matériel	32
IV.1.1. Matériel végétal	32
IV.1.2. Matériel bactérien	32
IV.1.3. Matériel du laboratoire	34
IV.2. Méthodes d'étude	34
IV.2.1. Extraction des huiles essentielles	35
IV.2.1.1. Récolte des plantes	35
IV.2.1.2. Déshydratation	36
IV.2.1.3. Extraction	36
IV.2.1.4. Détermination des propriétés organoleptiques	38
IV.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne	38
IV.2.2.1. Ré-isolément des souches bactériennes	38
IV.2.2.2. Préparation du milieu de culture pour le test antibactérien	39
IV.2.2.3. Préparation de l'inoculum	39
IV.2.2.4. Ensemencement	40
IV.2.2.5. Préparation des dilutions	41
IV.2.2.6. Préparation des disques	41
IV.2.2.7. Application des disques	42
IV.2.2.8. Détermination du potentiel antibactérien	42

IV.2.2.9. Détermination du pourcentage d'inhibition de la croissance bactérienne	43
IV.2.2.10. Calcul de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	43
IV.3. Analyse statistique	44

Chapitre V : Résultats et Discussions

V.1. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles	45
V.2. Caractéristiques morphologiques des colonies de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46
V.3. Pouvoir antibactérien	47
V.3.1. Effet antibactérien des huiles essentielles étudiées	47
V.3.2. Sensibilité de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vis-à-vis des huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot	51
V.3.3. Degré d'inhibition des huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot	54
V.3.4. Pourcentage d'inhibition	55
V.4.3.1. Concentration minimale inhibitrice	56
V.4. Etude statistique	57
V.4.1. Analyse de la variance	57
V.4.2. Groupes homogènes selon le test NEWMAN-KEULS-seuil 5%	58
Conclusion et perspectives	
Références bibliographiques	
Annexes	

Résumé

Notre travail porte sur l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la famille des lamiacées *Rosmarinus officinalis* et *Mentha pulegium* vis-à-vis de la souche pathogène d'origine hospitalière *Pseudomonas aeruginosa* responsable des infections nosocomiales. L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation, l'étude in vitro du pouvoir antibactérien de ces huiles essentielles par la méthode de diffusion sur disques dans un milieu gélosé (MH) a révélé la présence d'une activité antibactérienne sur la souche testée avec des diamètres des zones d'inhibition différents d'une dose à une autre et d'une huile essentielle à une autre. L'huile essentielle de *R. officinalis* s'est révélée légèrement moins inhibitrice que celle de *M. pulegium*. Les pourcentages d'inhibition ont décroît progressivement avec la diminution de la dose appliquée. Celui le plus élevé était enregistré avec la Doses pur (huiles essentielles pures) pour le romarin et la menthe pouliot (17.77 % et 18.51 %, respectivement). La concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles étudiées était de l'ordre de 0.125% pour *M. pulegium* et *R. officinalis*. L'analyse de la variance au seuil 5% à deux critères de classification (plante, dose) a révélé une différence non significative pour le facteur plante ($P = 0.2419$) et très hautement significative pour le facteur dose ($P = 0.0000$).

Mots clés : huile essentielle, activité antibactériennes, *Rosmarinus officinalis*, *Mentha pulegium*, *Lamiaceae*, *Psodomonas aeruginosa*., infection nosocomiales

المخلص

يرتكز عملنا على دراسة النشاط المضاد للبكتيريا من الزيوت الأساسية على اثنين من النباتات العطرية من عائلة *DZ FNACZ* إكليل الجبل و الفليو اتجاه السلالة الممرضة المأخوذة من المستشفيات المسؤولة عن البكتيريا المسببة للعدوى *Pseudomonas aeruginosa*. وتم استخلاص الزيوت الأساسية عن طريق التقطير البخار، كشفت الدراسة في المختبر من قوة مضادة للجراثيم لهذه الزيوت الأساسية من خلال طريقة التوزيع بوضع القرص في وسط هينطون (MH) وقد كشفت عن وجود نشاط مضاد للبكتيريا من السلالة المدروسة بأقطار مختلفة في مناطق تثبيط مختلفة من جرعة إلى أخرى، ومن مستخلص إلى آخر. الزيوت الأساسية لإكليل الجبل أعطت أقل تثبيط من زيت الفليو. وكانت النسب المئوية للتثبيط تدرجية تتخفف مع انخفاض الجرعة المستعملة. أن أعلى نسبة تم تسجيلها مع الجرعات لزيوت الأساسية لإكليل الجبل و الفليو وذلك بنسب (17.77% و 18.51% على التوالي). وكان الحد الأدنى للتركيز المثبط للزيوت الأساسية في حدود 0.125% لإكليل الجبل و الفليو وذلك بتباين لعتبة تبلغ 5% ومعايير التصنيف (النبات، الجرعة) كشفت بفرق غير كبير لعامل النبات ($P = 0.2419$) وعامل جد مهم للغاية للجرعة ($P = 0.0000$).

كلمات البحث: الزيوت الأساسية، النشاط المضاد للبكتيريا، إكليل الجبل، الفليو، والشفافيات، ، عدوى المستشفيات *Psodomonas aeruginosa*

Summary

Our work focuses on the study of the antibacterial activity of essential oils of two aromatic plants of the family Lamiaceae *Rosmarinus officinalis* and *Mentha pulegium* vis-à-vis the pathogenic *Pseudomonas a eruginosa* hospital-responsible for nosocomial infections. The extraction of essential oils was carried out by the steam distillation method, the in vitro study of the antibacterial power of these essential oils by disk diffusion method on an agar solid medium (MH) revealed the presence of a antibacterial activity of the tested strain with different diameters of zones of inhibition in a dose to another, and an essential oil to another. The essential oil of *R. officinalis* proved slightly less inhibitory than that of *M. pulegium*. The percentages of inhibition were progressively decreases with the decrease of the applied dose. That the highest was recorded with the pure Doses (pure essential oils) for rosemary and pennyroyal (17.77% and 18.51%, respectively). The minimum inhibitory concentration of essential oils investigated was in the range of 0.125% for *M. pulegium* and *A. officinalis*. Analysis of variance threshold 5% to two classification criteria (plant, dose) revealed a non-significant difference for plant factor ($P = 0.2419$) and very highly significant factor for the dose ($P=0.0000$).

Keywords: essential oil, antibacterial activity, *Rosmarinus officinalis*, *Mentha pulegium*, *Lamiaceae*, *Psodomonas aeruginosa* nosocomial infection.

Introduction

Introduction

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, elle montre que les plantes et leurs huiles essentielles ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. Cependant, l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques des huiles essentielles de ces plantes comme antimicrobiennes, demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquentes ou non connues dans la médecine et les traditions médicinales folklorique. Ces plantes représentent une nouvelle source des composés actifs (Hamidi, 2013). Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) et la menthe pouliot (*Mentha pulegium* L.) par exemple, deux plantes aromatiques de la famille des *Lamiaceae*, sont très appréciées pour ses propriétés aromatiques, anti-oxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques et anti-tumorales. Elles sont largement utilisées dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle (Atik et al., 2007 ; Batish et al., 2008 ; Mahboubi et Haghi, 2008 ; Raho et Benali, 2008).

Plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques de ces huiles essentielles, en particulier leur pouvoir antioxydant (Bouzouita et al., 2008), insecticide (Erlor et al., 2006 ; Tang et al., 2007 ; Cheng et al., 2009), antifongique (Moleyar et Narasimham, 1986 ; Soliman et al., 2002 ; Jazet et al., 2009) et antibactérien (Bourkhiss et al., 2007 ; Magina et al., 2009), notamment sur la croissance et la toxinogénèse de certaines bactéries responsables des infections alimentaires (Bhaskara et al., 1997 ; Nielsen et al., 2000 ; Tzortzakis, 2006 ; Amarti et al., 2010).

Les infections nosocomiales (IN) ou infections hospitalières sont des infections acquises dans un établissement de soins et qui n'étaient pas présentes à l'admission, ni en incubation au moment de l'hospitalisation. Elles constituent un véritable problème de santé publique et sont responsables d'une morbi-mortalité et d'un coût très élevé (Abesaid, 1999). Ces infections sont dues à plusieurs pathogènes et particulièrement à l'espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* (Kaoutar, 2004 ; Raisin, 2009). Celles les plus fréquentes sont : les infections urinaires, la pneumopathie et la bactériémie (Kaoutar, 2004).

Introduction

L'objectif de notre travail est de vérifier le potentiel antibactérien des huiles essentielles de deux plantes aromatiques et médicinales de la famille des *Lamiaceae* à savoir *Rosmarinus officinalis* et *Mentha pulegium* sur la souche *Pseudomonas aeruginosa*, responsables des infections nosocomiales, isolée des produits pathologiques et parvenue du laboratoire Louis Pasteur d'Alger. Ce travail sera donc basé sur :

- Collecte des plantes *Rosmarinus officinalis* et *Mentha peluguim* à partir de la région de Oued Chorfa de Ain Defla.
- Déshydratation des plantes récoltées
- Extraction des huiles essentiels de *Rosmarinus officinalis* et *Mentha pulegium* par hydrodistillation
- Détermination des propriétés organoleptiques des huiles essentielles
- Ré-isolément et ensemencement des souches bactériennes de *Pseudomonas aeruginosa*
- Test antibactérien en utilisant la méthode de diffusion sur disques
- Evaluation du potentiel antibactérien des huiles essentiels de *Rosmarinus officinalis* et *Mentha pulegium* sur *Pseudomonas aeruginosa*
- Calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance bactérienne
- Analyse statistique des résultats

Chapitre I : Présentation des huiles essentielles

I.1. Définition

Les huiles essentielles appelées encore « essences » ou « essences aromatiques » (Lardry et Habercorn, 2007) sont des extraits végétaux présents dans les feuilles, les fruits, les fleurs, les graines, les écorces, ou les racines des plantes dites aromatiques et constituent les principes essentiels de ces plantes (Bardeau, 2009).

Le terme « huile » désigne le caractère visqueux et hydrophobe de ces principes actifs (Bruton, 1993). Il s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses (Bouguerra, 2011). Le terme « essentielle » indique la caractéristique principale de la plante à travers ses exhalaisons (Bruton, 1993). Il fait référence au parfum, à l'odeur plus au moins forte dégagée par la plante (Bouguerra, 2010).

Les huiles essentielles sont définies par AFNOR comme étant des produits obtenus soit à partir de matière première végétale par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits des *Citrus* par procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques (Garnero, 1996).

I.2. Historique

L'histoire des matières odorantes est liée à celle de l'humanité ; Déjà dans l'Égypte antique (environ 4 500 ans avant J.C.) l'homme utilisait largement les huiles balsamiques, les baumes parfumés, les épices et les végétaux odorants. Ces produits odorants furent d'abord employés pour les cérémonies religieuses (Lograda et *al.*, 2010). Les historiens rapportent que les égyptiens savaient comment préparer une essence végétale à partir des conifères. La Chine, la Perse et l'Inde, sont des pays où la distillation se pratiquait depuis déjà des millénaires. Les Grecs à leur tour, connaissaient la distillation et l'enseignaient aux Romains (Zhiri, 2006).

Le développement industriel de la distillation par les arabes fut le premier pas dans la production moderne des produits odorants. En effet, ils se sont intéressés au problème lié à l'extraction des huiles essentielles de fleurs au moyen de la distillation, procédé encore peu

Chapitre I : Présentation des huiles essentielles

connu à l'époque (Lograda et *al.*, 2010). Avec les progrès de la chimie, l'extraction des essences devient plus rationnelle et dès le XIX^{ème} siècle l'industrie proprement dite des arômes à usage alimentaire voit le jour. Elle connaît un essor remarquable parallèlement à celui des parfums bénéficiant de nombreux progrès techniques (Lograda et *al.*, 2010).

I.3. Répartition et localisation

On rencontre les huiles essentielles dans divers familles botaniques. Elles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de cellules spécialisées (Degryse et *al.*, 2008).

I.3.1. Répartition

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs (Bruneton, 1999). Les plantes capables d'élaborer les constituants qui composent ces huiles essentielles sont connues sous le nom des plantes aromatiques et sont réparties dans un nombre limité de familles : *Myrtaceae* (girofle, eucalyptus), *Lauraceae* (laurier-sauce, cannelle), *Rutaceae* (citron), *Lamiaceae* (menthe, thym), *Apiaceae* (coriandre), *Ombellifères* (fenouil, cumin) (Charabot et *al.*, 1999 ; Hubert, 2005 ; Swisso, 2005).

I.3.2. Localisation

D'après Bruneton (1999), Anton et Lobstein (2005), Oussala et *al.* (2006) et Figueredo (2012) les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes végétaux :

- Fleurs : origan, oranger, rose, lavande, girofle (bouton floral), ylang-ylang (bractées).
- Feuilles (très souvent) : citronnelle, eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge, aiguilles de pin et sapin.
- Organes souterrains : racines (vétiver), rhizomes (gingembre, acore).
- Fruits : fenouil, anis, badiane, épicarpes des *Citrus*.
- Graines : carvi, noix de muscade.
- Bois : bois de rose, santal.
- Ecorce : cannelier.

Les huiles essentielles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante. Elles sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules ou se rassemblent sous formes de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles (Gonzalez-trujano, 2007).

Chapitre I : Présentation des huiles essentielles

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante qui sont : cellules à l'huile essentielles des *Lauraceae* ou des *Zingiberaceae* (Fig. 01), poils sécréteurs des *Lamiaceae* (Fig. 02), poches sécrétrices des *Myrtaceae* ou des *Rutaceae* (Fig. 03) et canaux sécréteurs des *Apiaceae* ou des *Asteraceae* (Fig. 04) (Bruneton, 1993 ; Ghestem et al., 2001 ; Anton et Lobstein, 2005 ; Degryse et al., 2008).



Figure 01: Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inférieure d'une feuille d'*Origanum vulgare* (Svoboda., 2000)



Figure 02 : Poils épidermiques sur le calice d'une fleur d'origan (Porter, 2001)

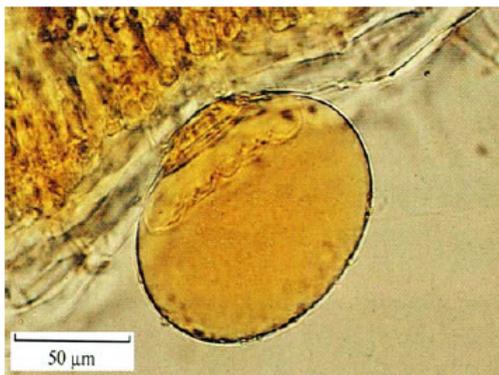


Figure 03 : Poche sécrétrice dans *Origanum dictamnus* (Gaspar et Leeke, 2004)

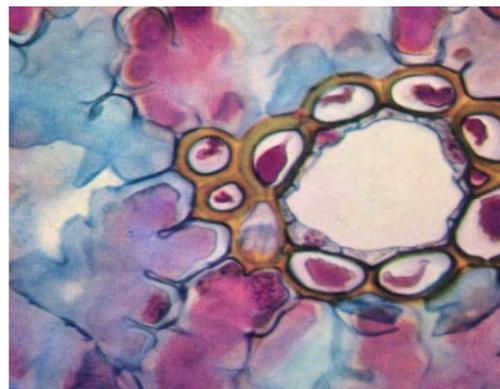


Figure 04 : Coupe transversale d'un canal résinifère (Ross, 1974)

Les huiles essentielles peuvent aussi être transportées dans l'espace intracellulaire lorsque les poches à essences sont localisées dans les tissus internes : c'est le cas des rhizomes de fougère mâle par exemple. Plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister

Chapitre I : Présentation des huiles essentielles

simultanément chez une même espèce, voire dans un même organe (Fahn, 1988 ; Oussala et *al.*, 2006).

I.4. Propriétés physiques

Les huiles essentielles sont des liquides, à température ambiante, volatiles ce qui les différencie des huiles fixes (Lardry et Haberkorn, 2007 ; Fanny, 2008), car si les essences végétales forment une tache transparente sur le papier, celle-ci disparaît rapidement (Charabot et *al.*, 1999 ; Binet et Brunel, 2000 ; Touscher et *al.*, 2005). Elles ont une odeur aromatique très forte (Guy, 2005 ; Isman, 2006 ; Regnault-Roger et *al.*, 2008 ; Bardeau, 2009) et sont généralement incolores ou jaune pâle à l'exception de quelques huiles essentielles telles que l'huile de l'Achillée et l'huile de la Matricaire. Ces dernières se caractérisent par une coloration bleu à bleu verdâtre, due à la présence de l'azulène et du chamazulène (Bruneton, 1993 ; Charpentier et *al.*, 2008).

La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau (< 1) sauf pour les huiles essentielles de Sassafras (*Sassafras albidum*), de clou de Girofle (*Syzium aromaticum*) et de Cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*). Elles possèdent un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse et sont aussi douées de pouvoir rotatoire (Paris et Hurabielle, 1981 ; Duraffourd et *al.*, 1990 ; Salle et Pelletier, 1991 ; Zabeirou et Hachimou, 2005). Elles sont solubles dans les alcools, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques mais très peu solubles dans l'eau (Paris et Hurabielle, 1981 ; Bruneton, 1999 ; Abou Zeid, 2000 ; Ghestem et *al.*, 2001 ; Julani et *al.*, 2006 ; Bardeau, 2009). Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C et dépend de leurs poids moléculaires par exemple les points d'ébullition du caryophyllène, du géraniol, du citral et du α -pinène sont 260°, 230°, 228° et 156°, respectivement (Abou Zeid, 2000). Elles sont aussi très altérables et s'oxydent facilement au contact de l'air et de la lumière (Charpentier et *al.*, 2008).

I.5. Propriétés et composition chimique

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles révèle qu'il s'agit de mélanges complexes et variables de constituants appartenant principalement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpénoïdes (les composés

Chapitre I : Présentation des huiles essentielles

terpéniques) et le groupe des composés aromatiques, beaucoup moins fréquents, dérivés du phénylpropane (Fig. 05). Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (Teisseire, 1991 ; Bruneton, 1999 ; Bakkali *et al.*, 2008).

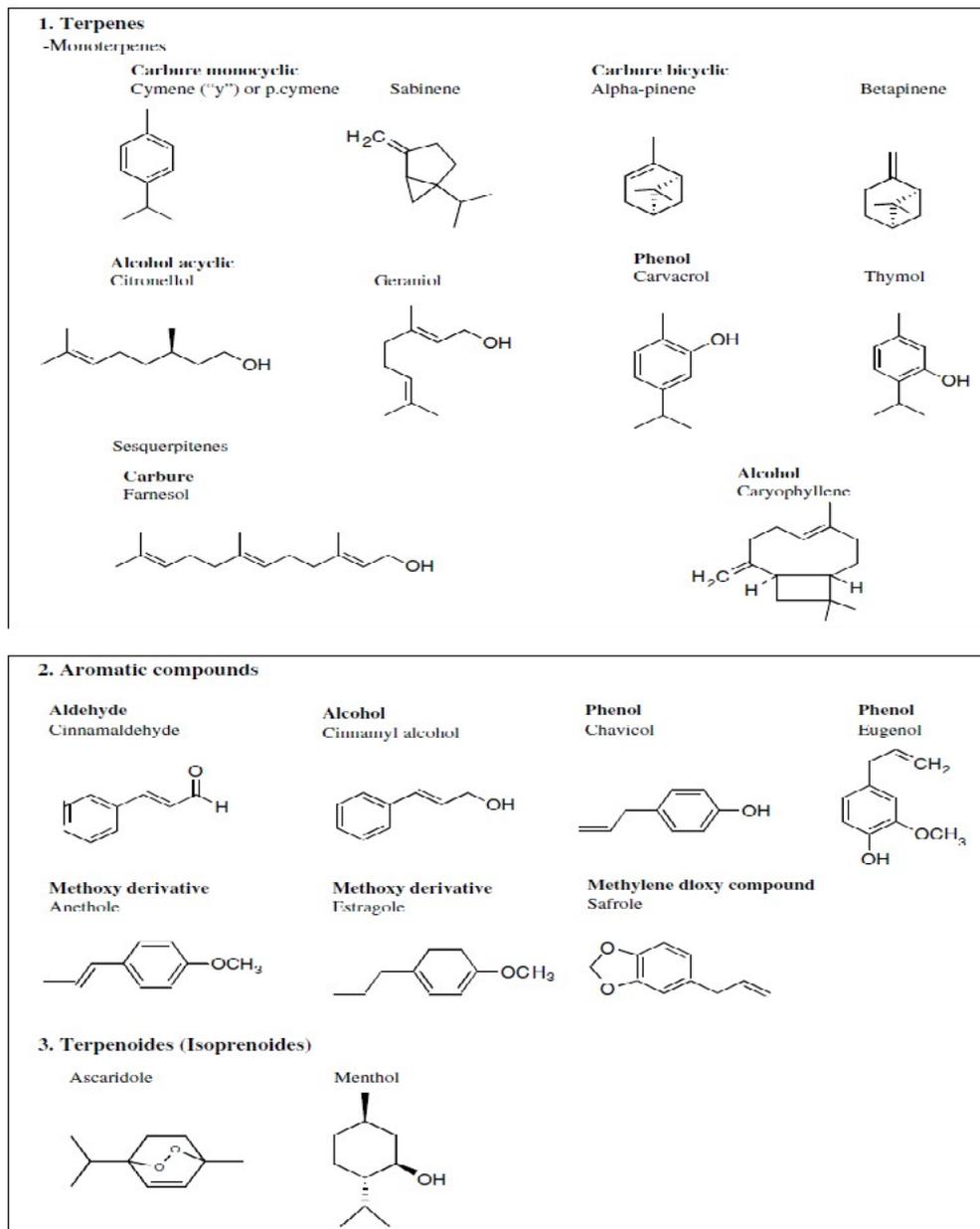


Figure 05: Structure chimique de quelques terpénoïdes et composés aromatiques des huiles essentielles (Bakkali *et al.*, 2008)

La composition d'une huile essentielle peut varier considérablement dans l'année selon la saison pour une même plante et selon les conditions de culture pour une même

Chapitre I : Présentation des huiles essentielles

souche végétale (ensoleillement, humidité, longueur du jour, fertilité du sol) (Jean-Michel, 2006).

I.5.1. Composés terpéniques

Les terpènes sont des molécules très volatiles fréquentes dans la nature, surtout dans les plantes où ils présentent les principaux constituants des huiles essentielles. Les terpènes sont issus du couplage d'au moins 2 sous-unités isopréniques à 5 carbones (Fig. 06). Ils sont subdivisés selon le nombre des unités d'isoprène en monoterpènes à 10 carbones, sesquiterpènes à 15 carbones, diterpènes à 20 carbones, ... (Bottin, 2006).

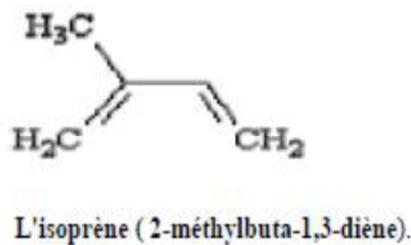


Figure 06: Structure de l'unité isoprénique (Bottin, 2006)

- **Monoterpènes**

Les monoterpènes (Fig. 07) sont les plus simples constituants des terpènes ; ils sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est $C_{10}H_{16}$ (Chemat et *al.*, 2007). Ils représentent la majorité des huiles essentielles (90%). Ils peuvent être acycliques (Terpinène, myrcène, ocimène) ou bi cycliques (pinène, camphène, sabinène) ou monocycliques (α - et γ -terpinène, p-cymène) (Bruneton, 2008).

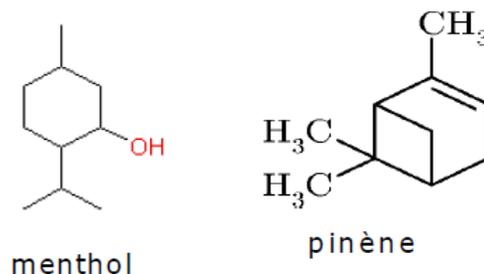


Figure 07 : Exemple de quelques monoterpènes (Harnandez-Ochoa, 2005)

Chapitre I : Présentation des huiles essentielles

• Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes (Fig. 08) comportent trois unités d'isoprène. Leur formule chimique brute est $C_{15}H_{24}$ (Belaiche, 1979 ; Bottin, 2006). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Ils sont souvent représentés en faible quantité dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999 ; Hernandez-Ochoa, 2005). Les sesquiterpènes peuvent être également, comme les monoterpènes, acycliques (farnésol), monocycliques (humulène, α -zingibèrene) ou polycycliques (matricine, artéannuine, β , artémisinine). Ils renferment aussi des fonctions comme alcools (farnésol, carotol, β -santalol, patchoulol), cétones (nootkatone, cis-longipinane-2.7-dione, β -vétivone), aldéhydes (sinensals), esters (acétate de cédryle), ... (Bruneton, 1999 ; Laouer, 2004).

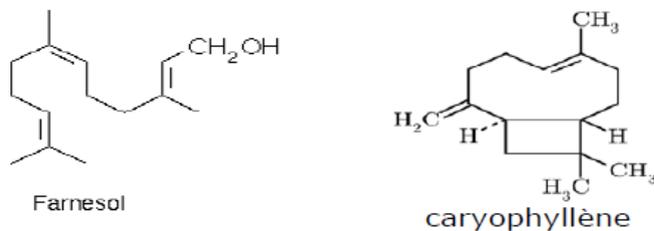


Figure 08 : Exemple de quelques sesquiterpènes (Harnandez-Ochoa, 2005)

• Diterpènes

Les diterpènes (Fig. 09) contiennent 20 atomes de carbone dans leurs squelettes de base. Ils sont composés de quatre unités de l'isoprène et existent dans presque tout le règne végétal (Chemat et *al.*, 2007).

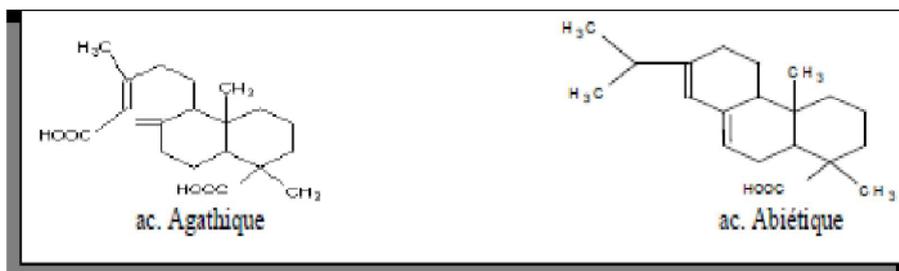


Figure 09 : Exemple de quelques diterpènes (Chematet *al.*, 2007)

Chapitre I : Présentation des huiles essentielles

I.5.2. Composés aromatiques

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques (Fig. 05) dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) qui, contrairement aux dérivés terpéniques, ils sont moins fréquents. Ces composés aromatiques empruntent une voie biosynthétique différente de celle des terpènes (Bakkali et *al.*, 2008) et ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles (Kunle et Okogum, 2003). Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont plus fréquents dans les huiles essentielles d'*Apiaceae* (persil, anis, fenouil, cannelle, ...) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, du basilic, de l'estragon, ... (Teisseire, 1991 ; Bruneton 1999 ; Bakkali et *al.*, 2008).

I.5.3. Composés d'origines diverses

Les composés des huiles essentielles d'origines diverses sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînaibles par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus soit de la dégradation des terpènes non volatils (c'est le cas par exemple des ionones qui proviennent de l'auto-oxydation des carotènes) ou des acides gras qui sont obtenues à partir des acides linoléique et α -linoléique. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares (Bruneton, 1999).

I.6. Biosynthèse

La biosynthèse des huiles essentielles se fait suivant deux principales voies : la voie des terpénoïdes et la voie des phénylpropanoïdes (Helander et *al.*, 1998).

I.6.1. Voie des terpénoïdes

La particularité structurale la plus importante des terpènes est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) reconnu par Wallah dès 1887. Cet isoprène est le véritable précurseur de la molécule terpénique ; d'où le nom d'isoprénoïde (Bottin, 2006).

La principale voie du méthylerythritol phosphate (MEP) ou encore nommée voie indépendante du mévalonate, mise en évidence à la fin des années 90, est une spécificité des végétaux et se déroule dans les plastes (Fig. 10). Elle débute par la condensation d'une unité pyruvate (C_3) avec une unité glycéraldéhyde 3-phosphate (C_3) et conduit au méthylerythritol

Chapitre I : Présentation des huiles essentielles

phosphate (MEP) un composé intermédiaire en C₅. Plusieurs étapes enzymatiques conduisent ensuite à la synthèse de l'IPP (isopentényl pyrophosphate) (Chang *et al.*, 2001).

I.6.2. Voie des phénylpropanoïdes

La synthèse des huiles essentielles par la voie des phénylpropanoïdes (Fig. 10) commence par un métabolite du fructose, le PEP (phosphoenolpyruvate). Elle aboutit à un très grand nombre de substances aromatiques, via une série d'acides, dont l'acide shikimique (d'où son nom, voie shikimique) et l'acide cinnamique. Les métabolites terminaux, importants en thérapeutique sont les acides aromatiques suivants : acides salicylique, cinnamique, benzoïque et leurs esters dont la salicylate de méthyle. Quelques grandes familles chimiques de molécules non volatiles, comme les tannoïdes et les flavonoïdes, se trouvent incluses dans cette voie (Spurgeon et Porter, 1981).

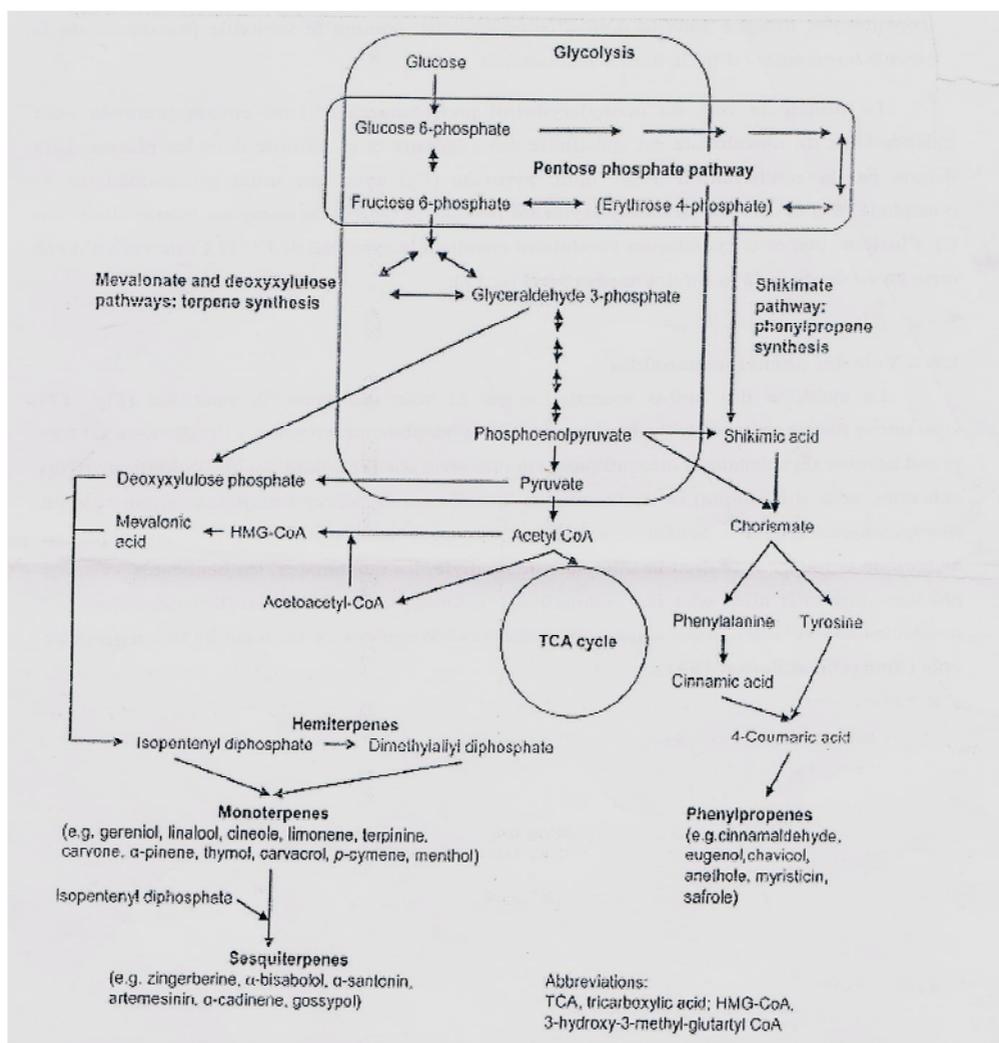


Figure 10 : Voies de biosynthèse des huiles essentielles (Spurgeon *et al.*, 1981)

I.7. Facteurs de variabilité

Une huile essentielle est très fluctuante dans sa composition selon de multiples paramètres, qu'ils soient d'origine naturel ou d'origine technologique (Bernalet et *al.*, 1985). Les facteurs d'origine naturelle peuvent être intrinsèques, donc liés à la plante ou extrinsèques liés aux conditions de croissance et de développement de la plante (Bernalet et *al.*, 1985 ; Morin et Richard, 1985).

I.7.1. Facteurs d'origine naturelle

I.7.1.1. Facteurs intrinsèques

Chez une même espèce végétale il arrive que la composition chimique de l'huile essentielle diffère d'un organe à un autre. C'est le cas de la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) dont les feuilles donnent une huile riche en eugénol, les écorces fournissent un extrait où l'aldéhyde cinnamique est majoritaire, tandis que le camphre prédomine dans l'essence des racines (Guignard, 1983). Egalement, la proportion des différents constituants d'une huile essentielle peut varier de façon importante tout au long du développement, ainsi les variations parfois très importantes sont observées chez ces espèces : fenouil, carotte, coriandre (chez cette dernière la teneur en linalol est de 50% plus élevé chez le fruit mur que chez le fruit vert) (Slimane, 2002). Aussi, une même espèce végétale synthétise une essence qui sera biochimiquement différente en fonction du biotope dans lequel elle se développera, ces variétés chimiques sont communément appelées chémotypes, types biogénétiques, races chimiques ou races biologiques (Laouer, 2004).

I.7.1.2. Facteurs extrinsèques

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'huile essentielle. La température, le taux d'humidité (Boira et Blanquer, 1998 ; Palà-paul et *al.*, 2001), l'altitude et la latitude (Azevedo et *al.*, 2001 ; Oliveira et *al.*, 2005), la nature du sol (Oliveira et *al.*, 2005 ; Peng et Yang, 2005 ; Zheljzkov et *al.*, 2005), la durée d'ensoleillement et la pluviométrie représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique de l'huile essentielle (Garnéro, 1991 ; Bruneton, 1999 ; Sokmen et *al.*, 2004 ; Loziene et Venskutonis, 2005 ; Angioni et *al.*, 2006).

Chapitre I : Présentation des huiles essentielles

I.7.2. Facteurs d'origine technologique

De profondes modifications de l'huile essentielle peuvent intervenir lors de l'exploitation des végétaux, depuis leur collecte jusqu'à leur transformation industrielle (Garnero, 1985). Le mode de récolte, les conditions de transport (Yayi et *al.*, 2004), de séchage et de stockage peuvent générer des dégradations enzymatiques (Bruneton, 1993). Les changements les plus importants interviennent pendant l'hydrodistillation, sous l'influence des conditions opératoires, notamment du milieu (acidité, température) et de la durée d'extraction (Lagunez Rivera, 2006 ; Chemat et *al.*, 2007). D'autres facteurs tels que les traitements auxquels on peut procéder avant ou pendant l'hydrodistillation (broyage, dilacération, dégradation chimique ou enzymatique, pression, agitation) contribuent à la variation du rendement et de la qualité de l'huile essentielle (Lagunez Rivera, 2006).

I.8. Procédés d'extraction

L'extraction des huiles essentielles est certainement la phase la plus délicate et la plus importante du processus. Elle a pour but de capter les produits les plus subtiles et les plus fragiles élaborées par le végétal. Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction de ces essences végétales (Tableau 01) (Sallé, 2004 ; Hellal, 2011).

Tableau 01 : Différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles (Sallé, 2004 ; Hellal, 2011).

Techniques	Principes	Références
Hydrodistillation	Immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est porté à ébullition, les vapeurs se condensent sur une surface froide et l'huile essentielle sera alors séparée de l'hydrolat par différence de densité (Fig. 11)	Baser et Buchbauer., (2010) Ferhat et <i>al.</i> (2010) Silvério et <i>al.</i> (2013)

Chapitre I : Présentation des huiles essentielles

Techniques	Principes	Références
Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	La vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique (l'huile essentielle).	Lucchesi (2005)
Extraction par expression à froid	Le procédé classique consiste à exercer, sous un courant d'eau, une action abrasive sur la surface du fruit. Après élimination des déchets solides, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par centrifugation ou par décantation	Bruneton (1999) Kimball (1999)
Extraction assistée par micro-onde	Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé. Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant (non chauffé). On filtre et on récupère ensuite l'extrait	Ida (1996)
Extraction par solvants organiques	Elle consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique.	Lucchesi (2005)

I.9. Rôles pour la plante

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (Fanny, 2008). Elles sont en général considérées comme des déchets du métabolisme (Amiot, 2005) ou des sous produits

Chapitre I : Présentation des huiles essentielles

de l'activité métabolique d'une plante. Il y a beaucoup de spéculation au sujet du « rôle » des huiles essentielles des plantes. Certainement plusieurs effets apparents « utiles » ont été décrits:

- Réduction de la compétition des autres espèces de plante (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines, par exemple le cinéole et le camphre, libérés dans l'atmosphère par *Salvia leucophylla* sont absorbés par le sol sec, inhibant la germination des espèces prairiales (Porter et *al.*, 2001 ; Thompson et *al.*, 2003 ; Guignard et *al.*, 2004 ; Ormeno et *al.*, 2007).
- Protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides et contre les herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux (Porter et *al.*, 2001 ; Thompson et *al.*, 2003 ; Guignard et *al.*, 2004 ; Ormeno et *al.*, 2007).
- Certains auteurs pensent que les huiles essentielles pourraient avoir un rôle attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs et favoriseraient ainsi la pollinisation (Bruneton, 1999 ; Guignard, 2000). D'autres considèrent l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques et conservant l'humidité des plantes dans les climats désertiques (Belaïche, 1979).

I.10. Domaines d'application

Du fait de leurs propriétés multiples, les huiles essentielles sont utilisées dans les domaines suivants :

- **En thérapeutique**

Les huiles essentielles sont la base de l'aromathérapie (Lais, 2001). Absorbées par la voie respiratoire, cutanée ou orale selon leurs composition, les huiles essentielles agissent quasiment dans tous les domaines de la santé (Bernalet et *al.*, 1985 ; Valnet, 2000). Elles sont particulièrement recommandées pour traiter : les bobos du quotidien (coup, bosse, piqure d'insecte, blessure, coupure, ...), les infections bactériennes et/ou virales (rhume, gastro-entérite, bronchite, ...), les problèmes de peau (acné, brulure, ...), les douleurs (articulaires, musculaires, ...), les troubles digestifs (ballonnements, ...), les troubles nerveux liés au stress (trac, maux de ventre, ...), ... (Festy, 2012).

- **En pharmacie**

Les huiles essentielles ont un grand intérêt en pharmacie. Elles se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de spécialités pharmaceutiques : sirops, gouttes, gélules, ...,

Chapitre I : Présentation des huiles essentielles

du fait de leurs propriétés aromatisantes afin de masquer l'odeur désagréable des médicaments (Salle, 1991 ; Elabed et Kambouche, 2003).

- **En cosmétologie et parfumerie**

Les huiles essentielles sont très utilisées dans l'industrie des cosmétiques et de la parfumerie, où elles sont considérées comme étant des éléments de base. Elles entrent dans la fabrication des parfums, eaux de toilette, savons, crèmes cosmétiques, shampooings, lotions et pommade de soins (Zhiri, 2006).

- **En agroalimentaire**

L'industrie alimentaire utilise les huiles essentielles pour rehausser le goût, aromatiser et colorer les aliments (Pingot, 1998 ; Bruneton, 1999 ; Grysole, 2005 ; Aprotosoiaie et *al.*, 2010). Le secteur des boissons gazeuses s'avère un gros utilisateur d'huiles essentielles (Grysole, 2005). Ces huiles essentielles possèdent des profils de composition chimique différents ; Elles sont utilisées comme agents naturels de conservation des aliment à cause de la présence de composés ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydants (Hammer et *al.*, 1999).

- **En phytothérapie**

En phytothérapie, les huiles essentielles (thymol et carvacrol) sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne et fongique (Viollon et Chaumont, 1994). Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et des désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre (Sivropoulou et *al.*, 1996).

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des lamiacées (thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, ...). L'essence de thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives (Agnihotri et *al.*, 2003). Son composé majoritaire, le carvacrol, possède également une forte activité antimicrobienne (Pauli et Knobloch, 1987). Parmi 21 espèces d'*Eucalyptus* étudiées, les composés volatils d'*Eucalyptus citriodora* se sont révélés les plus efficaces, aussi bien vis-à-vis des bactéries que des levures et des champignons (Hajji et *al.*, 1993).

Chapitre I : Présentation des huiles essentielles

De nombreuses huiles essentielles, comme les huiles de cannelle, muscade, clou de girofle, basilic, persil, origan et thym possèdent de puissants composés antioxydants (Karioti et *al.*, 2006 ; Edris, 2007). Le thymol et le carvacrol sont encore une fois les composés les plus actifs. Leur activité est en relation avec leur structure phénolique car les composés de ce type ont des propriétés oxydo-réductrices et jouent ainsi un rôle important en neutralisant les radicaux libres et en décomposant les peroxydes (Braga et *al.*, 2006). L'activité antioxydante des huiles essentielles est également attribuable à certains alcools, éthers, cétones, aldéhydes monoterpéniques (linalool, 1,8-cinéole, géraniol/nérol, citronellal, isomenthone, menthone) et quelques monoterpènes (α -terpinène, γ -terpinène et α -terpinolène) (Edris, 2007).

I.11. Toxicité

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) (Smith et *al.*, 2000) ou phototoxique (huiles de *Citrus* contenant des furocoumarines) (Naganuma et *al.*, 1985). D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique (les cétones comme l' α -thujone) (Franchomme et Pénéol, 1990). Il existe quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation du cancer, c'est le cas par exemple des dérivés d'allyldénzène ou de propenylbenzène comme le safrol, l'estragol, la B-arasone et le méthyle-eugénol. Des chercheurs ont mis en évidence l'activité hypatocarcinogénique de ces composés chez les rongeurs (Guba et Lincoln, 1989)

Chapitre II : Aperçu sur les plantes lamiacées étudiées

II.1. Généralités

La famille des lamiacées, connue également sous le nom des labiées, comporte environ 258 genres pour 6 900 espèces plus ou moins cosmopolites, mais dont la plupart se concentrent dans le bassin méditerranéen tel que le thym, la lavande et le romarin. Ces plantes sont des herbacées ayant la consistance et la couleur de l'herbe, parfois sous-arbrisseaux ou ligneuses (Botineau, 2010). Une grande partie de ces plantes sont aromatiques riches en huile essentielle d'où leur intérêt économique et médicinal. Entre autres, un grand nombre de genres de cette famille sont des sources de terpénoïdes, flavonoïdes et iridiodés glycosylés (Cantino et *al.*, 1999).

II.2. Présentation des plantes étudiées

II.2.1. Le romarin (*Rosmarinus officinalis*)

Le romarin est connu depuis longtemps pour ses vertus médicinales (Bellkhdar, 2006). Le nom latin (*Rosmarinus*) est interprété, comme dérivé de : « *Ros* » : rosée et « *Marinus* » : marin ou de marin, appartenant à la mer, autrement rosée marin, ce qui fait référence à la présence du romarin sur les côtes et les îles de la Méditerranée et à diverses légendes liées à cette plante (Messaili, 1995).

II.2.1.1. Position systématique

Le romarin désigne un genre de dicotylédones gamopétales, de l'ordre des *Lamiales* et de la famille des *Lamiaceae*. La classification botanique d'après Quezel et Santa (2000) place le romarin dans :

Règne : Plantes

Embranchement : Spermatophytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Gamopétales

Ordre : *Lamiales* (ou *Labiales*)

Chapitre II : Aperçu sur les plantes lamiacées étudiées

Famille : *Lamiaceae* (ou *Labiaceae*)

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *R. officinalis* L.

Le nom local en Arabe est : Azir/Iklil Aljabal. Celui en Berbère est : Yazir (Bellkhdar, 2006).

II.2.1.2. Description botanique

Rosmarinus officinalis est un arbrisseau qui peut atteindre 0.5 à 2 mètre de hauteur (Fig. 11 a), à port touffu et buissonneux, à rameaux dressés, densément feuillés et à racine pivotante. Les feuilles sont étroitement lancéolées, linéaires et coriaces, d'un vert bronzé et très odorantes (Fig. 11 b). Les fleurs (Fig. 11 c), environ 1 cm de long, sont de couleur bleue pâle ou blanchâtre, en cloche bilabée à lèvre supérieure ovale entière et à lèvre inférieure à 2 lobes lancéolés, maculées intérieurement de violet, disposées en courtes grappes denses et s'épanouissent presque tout au long de l'année. Leur calice (Fig. 11 d) a un aspect duveteux. La corolle est bilabée et dotée de quatre étamines (Fig. 11 e) (Bekkara et al., 2007 ; Gonzalez-Trujano et al., 2007). Ces derniers sont plus longs que la corolle. L'ovaire présente 2 carpelles surmontées d'un style long courbé et bifide. Le fruit est un tétrakène lisses et globuleux, brun foncé de 2.3 mm de longueur (Fig. 11 f) (Teuscher et al., 2005).



Figure 11 : Aspects morphologiques du romarin (*Rosmarinus officinalis*)

(Quezel et Santa, 2000)

a : plante entière ; b : feuille ; c : fleur ; d : calice ; e : étamine ; f : fruit

II.2.1.3. Répartition géographique

Originnaire des régions méditerranéennes (coteaux arides garrigues et lieux rocheux), le romarin pousse spontanément dans de nombreux pays d'Europe et d'Asie notamment en Espagne, Italie, Grèce, sud de la France, Inde, Philippines, le nord de l'Afrique (du Maroc à Tunisie) et même un peu plus au sud jusqu'aux confins sahariens, les Etats Unis et le Mexique (Pelikau, 1986; Teuscher *et al.*, 2005 ; Heinrich *et al.*, 2006 ; Boullard, 2010).

En Algérie, le romarin est une plante indigène poussant spontanément dans tout le pays. C'est bien apparente en différentes régions telle que Oran, le littoral à Béni Saf, ... Il occupe une superficie excédant 100 000 hectares (Benzebia *et al.*, 2009).

II.2.1.4. Exigences pédoclimatiques

Le romarin se cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il pousse sur tous types de terrains avec une préférence pour les sols calcaires, pauvres, modérément fertiles (Anonyme, 2005), argileux limoneux situés dans les endroits en soleillés, chauds, secs et abrités du vent (Fig. 12) (Heinrich *et al.*, 2006). Il est répandu sur la plupart des maquis, garrigues, sur les rivages marins, on le rencontre jusqu'à 1 500 m d'altitude. Il accompagne souvent le pin d'Alep, la sauge et le thym (Benzebia *et al.*, 2009).

Chapitre II : Aperçu sur les plantes lamiacées étudiées

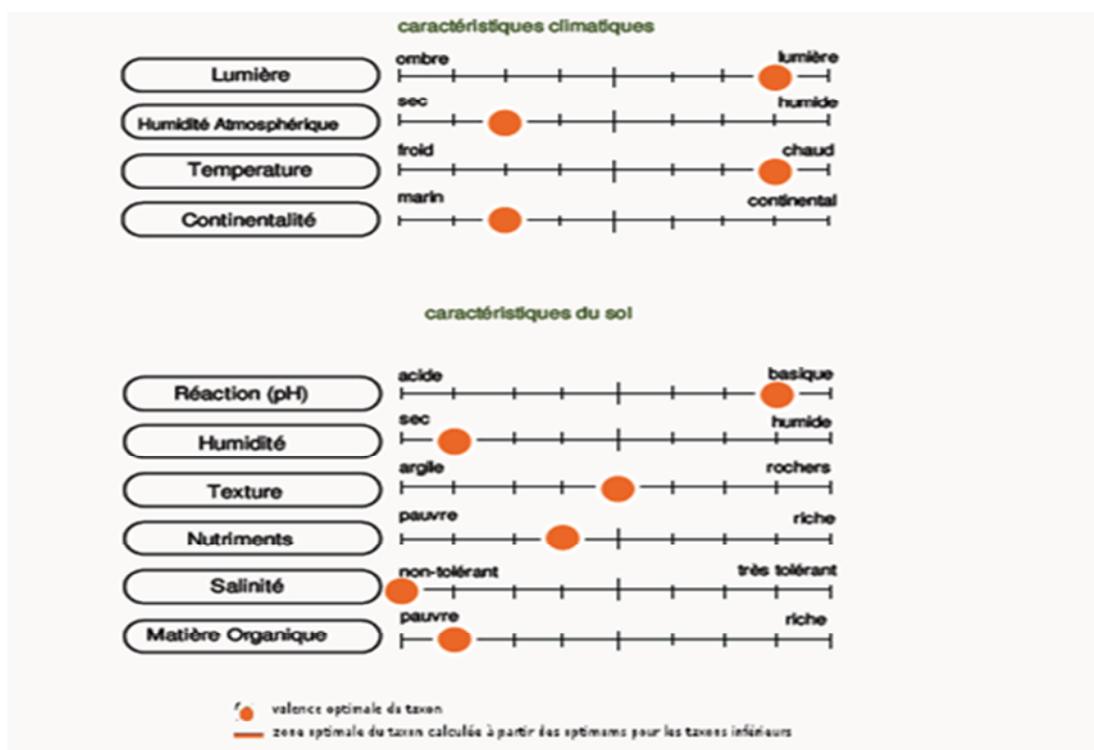


Figure 12: Exigences pédo-climatiques du romarin (Anonyme, 2015)

II.2.1.5. Huile essentielle et composition chimique

La composition de l'huile essentielle du romarin révélée par chromatographie en phase gazeuse est présentée dans le tableau ci-dessous (Ibanez, 1999; Gonzalez-Trujano et *al.*, 2007).

Tableau 02: Composition des huiles essentielles extraites de *Rosmarinus officinalis* (Ibanez, 1999; Gonzalez-Trujano et *al.*, 2007).

Groupes	Composés majoritaires	Pourcentage
Oxydes terpéniques	1,8-cinéole	5.00%
Monoterpénols	Bornéol	8.70%
	Linalol	1.90%
	Terpinén-4-ol	1.00%

Chapitre II : Aperçu sur les plantes lamiacées étudiées

Groupes	Composés majoritaires	Pourcentage
Monoterpénols	Alpha-terpinéol	1.30%
	Géranol	0.80%
Monoterpènes	Alpha-pinène	31.60%
	Camphène	6.70%
	Limonène	3.50%
	Béta-pinène	0.90%
	Myrcène	1.20%
	Para-cymène	1.30%
	Gamma –terpinène	0.40%
	Terpinolène	0.60%
Alpha-terpinène	0.40%	
Esters terpéniques	Acétate de bornyle	9.60%
Cétones	Verbénone	9.10%
	Camphre	8.10%

II.2.1.6. Propriétés et usages

Le romarin est une herbe qui a été utilisée pour purifier l'air et éloigner les maladies contagieuses (Zebiri et Hachachma, 1998). Depuis l'antiquité, il est employé pour améliorer et stimuler la mémoire. Encore aujourd'hui en Grèce, les étudiants en font brûler dans leurs chambres en période d'examen (Boullard, 2010). Il possède surtout des propriétés stimulantes du système nerveux, stomatiques, antispasmodiques, calmantes des nerfs surtout au moment de la ménopause (Sedjelmassi, 1993), anti-cancérogènes (grâce à certains composants tels que le carnosol, le rosmaridiphénol, le rosmanol et l'acide rosmarinique) (Atik bekkara et al., 2007) et il est en même temps diurétique (Anonyme, 1999).

L'huile essentielle du romarin a une activité inhibitrice modérée sur cinq levures (*Candida albicans*, *Rhodotorula glutinis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowialy politica*) (Sacchett et al., 2005). Elle peut empêcher la lésion de la carie en inhibant la croissance du *Streptococcus sobrinus* et peuvent aussi éliminer les plaques dentaires par suppression de l'activité de la glucosyltransférase (Tsai et al., 2007). Elle s'est

Chapitre II : Aperçu sur les plantes lamiacées étudiées

avérée aussi un agent ovicide contre trois espèces de moustique (*Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* et surtout contre *Aedes aegypti*) (Gillj et al., 2007). Le carnosol possède une activité antivirale contre le virus de sida (HIV), alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant à une concentration très basse contre la protéase de HIV-1 (Aruoma et al., 1996).

L'activité antioxydante du romarin a retenu l'attention des industriels de l'agroalimentaire, liée en partie à l'acide rosmarinique comme antioxydant pour conserver les produits à base de viande (Fernandez-Lopez et al., 2005 ; Balentine et al., 2006).

II.2.1.7. Maladies et ravageurs

Le romarin peut être sujet à de nombreuses attaques de microorganismes tels que les champignons dont les plus redoutables *Ascochyta rosmarini* et *Coutura costagnei* qui causent des dégâts sur les feuilles (Anonyme, 2004), et *Botrytis* qui provoque un dessèchement en « crosse » du sommet des tiges, très fréquent après des périodes humides sur pousses tendes au printemps (Anonyme, 2004).

Les insectes peuvent aussi causer des dégâts importants sur le romarin car ils sectionnent l'apex des jeunes pousses. Parmi les insectes responsables de ce phénomène *Arima marginata* et *Chrisolina americana* ; un insecte de l'ordre des Coléoptères et de la famille des Chrysomélidés (Anonyme, 2004).

II.2.2. La menthe pouliot (*Mentha pulegium*)

Mentha pulegium L. est une espèce spontanée, odorante qui appartient à la famille des Lamiacées. Elle est connue sous le nom de menthe pouliot. Elle est parfois cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles très aromatiques. Le nom de « pouliot » vient du latin « *pulegium* », qui dérive de *pulex* : la puce ; plante ayant la propriété d'éloigner les puces (Gamisans et Jeanmonod, 1993).

II.2.2.1. Position systématique

D'après Guignard et Dupont (2004), la systématique de *Mentha pulegium* est la suivante :

Chapitre II : Aperçu sur les plantes lamiacées étudiées

Règne : Plantes

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicots

Sous-classe : Astéridées

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Mentha*

Espèce : *M. pulegium* L.

Le nom local en arabe est Fliou (Lemordant et *al.*, 1977 ; Bellakhdar, 1978).

II.2.2.2. Description botanique

La menthe pouliot (Fig. 13 a) est une plante de 10 à 30 cm de longueur, à inflorescence formée de nombreux verticilles denses, feuillés et distants. Sa saveur est fortement aromatique et son odeur est intense. La tige est quadrangulaire, les feuilles (Fig. 13 b), opposées et petites, sont ovales presque entières (légèrement dentelées) et munies d'un court pétiole (Gamisans et Jeanmonod, 1993 ; Bekhechi, 2008). Les fleurs (Fig. 13 c) sont petites, hermaphrodites, pédonculées, rosées ou violacées, parfois blanches, échelonnées le long de la tige et qui apparaissent l'été, de juillet à la fin septembre (Vander-Jagt et *al.*, 2002). Le calice (Fig. 13 d) veiné à 5 sépales inégaux presque bilabiés, tubuleux, velues, à gorge formée par des poils connivents. Les fruits sont des akènes (Fig. 13 e) (Massali, 1995).

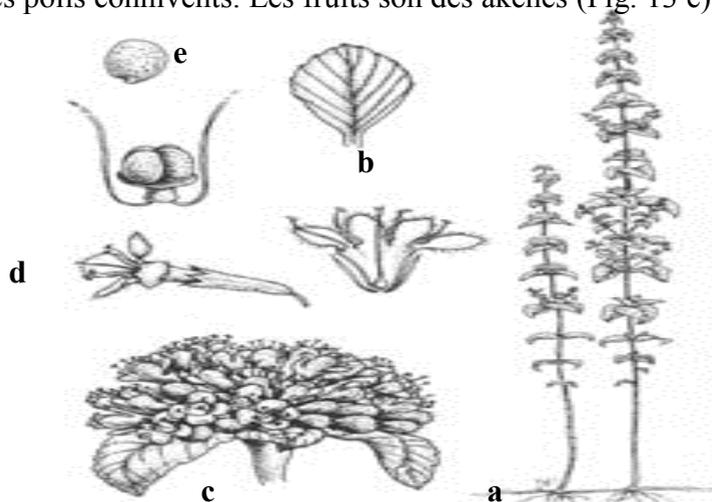


Figure 13 : Aspects morphologiques de la menthe pouliot (*Mentha pulegium*) (Tutin et *al.*, 1968)

a : plante entière ; b : feuille ; c : fleur ; d : calice ; e : fruit

Chapitre II : Aperçu sur les plantes lamiacées étudiées

II.2.2.3. Répartition géographique

M. pulegium, fait partie de la sixième et la dernière série de la famille des labiées. Elle est très répandue dans l'aire méditerranéenne (Abdel, 2003), dans le nord de l'Europe et dans l'Asie (de Chypre au Turkménistan) (Gamisans et Jeanmonod, 1993; Marotti et al., 1994).

En Algérie *Mentha pulegium* est très abondante (146 espèces) et pousse spontanément. Elle est localisée dans la grande Kabylie et la région de Tlemcen (Kadik, 2005).

II.2.2.4. Exigences pédoclimatiques

Mentha pulegium pousse spontanément dans les lieux humides, fraîches, moyennement éclairées des plaines et des montagnes jusqu'à 2 200 m d'altitude (Bekhechi, 2008). Cette espèce végétale annuelle se rencontre généralement dans les champs, les pelouses, les montagnes et les forêts à des sols riches en bases et en éléments nutritifs, plutôt de pH neutre. Elle exige donc des sols peu compacts mais à forte teneur en matières organiques. Elle nécessite également, une longueur de jour de l'ordre de 16 heures pour fleurir, pour autant que la fertilisation azotée et l'irrigation soient suffisantes. La température de l'ordre de 30°C donne une croissance optimale (la sensibilité à la température est accentuée par le caractère vivace de la plante) (Fig. 14) (Angelini, 2015).

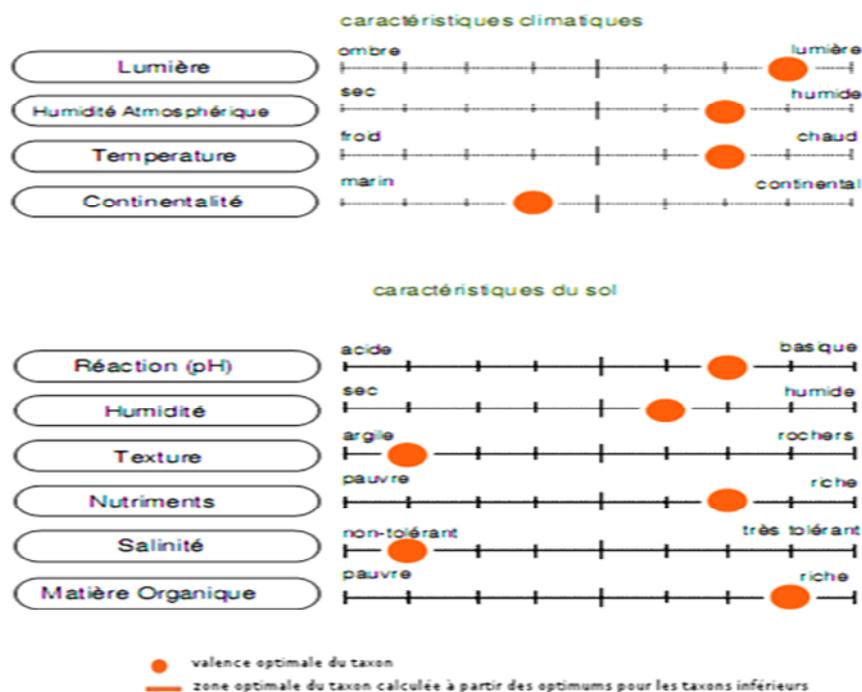


Figure 14 : Exigences pédoclimatiques de la menthe pouliot (Anonyme, 2015)

Chapitre II : Aperçu sur les plantes lamiacées étudiées

II.2.2.5. Huile essentielle et composition chimique

Les huiles essentielles de la menthe pouliot sont caractérisées par la prépondérance de la pulégone accompagnée d'autres cétones monoterpéniques : limonène, menthone, ... (Tableau 03) (Bremness, 2001 ; El-Ghorab, 2006).

Tableau 03 : Composition des huiles essentielles extraites de *Mentha pulegium* (en %)

Composés	Beghidja et al. (2007) : Jijel	Bekhechi (2008) : Tlemcen
α -pinène	0.18	0.3
β -pinène	0.4	0.2
Sabinène	0.14	-
Myrcène	0.12	-
Limonène	1.17	0.7
1,8-cinéole	0.18	0.2
<i>p</i> -cymène	0.04	0.1
Isomenthone	0.02	0.4
Pipéritone	0.3	0.5
Pipériténone	0.28	3.9
Menthone	0,6	10.9
Pulégone	87.3	75.8

II.2.2.6. Propriétés et usages

Mentha pulegium est une plante, que dans le temps, était méconnue, utilisée uniquement pour former des couronnes que les hommes portaient lors des cérémonies religieuses. Par contre les chinois connaissaient ses propriétés calmantes et antispasmodiques,

Chapitre II : Aperçu sur les plantes lamiacées étudiées

rafraîchissantes, anesthésiques, antiseptiques et fébrifuges des voies respiratoires et digestives, contre la grippe, le rhume et les maux de dents (Kebissi, 2004).

La menthe pouliot est une plante alimentaire et aromatique utilisée pour aromatiser les sauces, les desserts et les boissons. Egalement, dans les produits cosmétiques surtout pour parfumer le corps et les temples. Actuellement, elle est utilisée dans la fabrication des dentifrices, des déodorants, des parfums et des savons et les détergents (Aouadhi, 2010). C'est aussi une plante médicinale ; Hippocrate la considérait comme excitante alors que Pline à constate son effet antalgique, bactéricide, insecticide, ... (Kebissi, 2004). Comme effet insecticide, elle éloigne les pucerons et spécifiquement la vermine (Baba Aissa, 2000 ; Bekhechi, 2008). En usage externe, ses feuilles soulagent les piqûres d'insectes (Lamin et *al.*, 2001). Tandis que pour l'effet bactéricide, on jette une poignée de feuilles de menthe pour enrayer le développement des bactéries en plus de rendre l'eau plus désaltérante. Egalement, elle purifie l'eau dans les pays arabes, l'eau devient plus ou moins fraîche car elle est conservée dans des jarres parfois pendant plusieurs jours (Noudin et Grumbach, 2000).

II.2.2.7. Maladies et ravageurs

Les principaux ravageurs de la menthe pouliot sont les chenilles des noctuelles, les pucerons, les criquets, les altises ou les puces, les escargots et les limaces (Anonyme, 2004). Alors que les maladies les plus importantes sont la rouille et l'oïdium. Leur développement est favorisé par la chaleur et l'humidité (elle sévit au printemps et pendant l'été). La rouille se présente sous forme des taches jaunes sur les tiges et des points bruns rouges sur la face inférieure des vieilles feuilles. L'oïdium est caractérisé par un feutrage blanc, d'aspect farineux qui couvre la surface des feuilles (Anonyme, 2004).

Chapitre III : Généralités sur *Pseudomonas aeruginosa* et les infections nosocomiales

Chapitre III : Généralités sur *Pseudomonas aeruginosa* et les infections nosocomiales

III.1. Présentation des infections nosocomiales

III.1.1. Définition

L'infection se définit par l'envahissement de l'organisme par un agent étranger, comme une bactérie ou un virus, provoquant un état pathologique par une lésion des cellules locales, une libération de substances toxiques ou par une réaction intracellulaire germe-anticorps (Abesaid, 1999 ; Kaoutar et *al.*, 2004 ; Raisin, 2009).

Le terme « nosocomial » vient soit du grec « noso » et « komos », qui signifient association et soins soit du latin « nosocomial » qui signifie hôpital. Il qualifie ce qui se rapporte aux hôpitaux et se qui contracte lors des soins (Abesaid, 1999 ; Kaoutar et *al.*, 2004 ; Raisin, 2009).

On appelle infection nosocomiale toute maladies due à un micro-organisme, contractée par un patient après son admission à l'hôpital, que les symptômes apparaissent pendant ou après le séjour, que l'infection soit reconnaissable au plan clinique, microbiologique ou les deux. Classiquement, on considère comme telles les infections apparues après les 48 premières heures d'hospitalisation (Leroy, 1998). D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les infections nosocomiales (IN) peuvent être décrites comme « des infections survenant chez un patient au sein d'un hôpital ou d'un autre établissement de santé et chez qui cette infection n'était ni présente ni en incubation au moment de l'admission. Cette définition inclut les infections contractées à l'hôpital mais qui se déclarent après la sortie, et également les infections professionnelles parmi le personnel de l'établissement » (Hidron et *al.*, 2007)

III.1.2. Causes et origines

Les agents pathogènes responsables d'IN peuvent avoir deux origines (Hidron et *al.*, 2007):

Chapitre III : Généralités sur *Pseudomonas aeruginosa* et les infections nosocomiales

- Une **origine endogène**, c'est-à-dire qu'ils font partie de la flore commensale du patient. Les pathogènes sont présents chez le patient avant l'hospitalisation, par exemple au niveau des voies respiratoires, de la peau, de la sphère gastro-intestinale ou génitale.
- Une **origine exogène**, c'est-à-dire que le patient a été en contact avec ces organismes au cours de l'hospitalisation. Ces pathogènes peuvent provenir de la flore transitoire ou résidente du personnel soignant ou de visiteurs, de dispositifs médicaux et même de l'environnement et des locaux hospitaliers.

III.1.3. Différents types des infections nosocomiales

La fréquence et l'étiologie des IN est très variable, selon la région étudiée aussi bien que selon le type de service hospitalier et de patients concernés. Quelques catégories d'infections se distinguent néanmoins des autres (Ducel et *al.*, 2002) :

- **Les infections urinaires** : les plus fréquentes, elles sont contractées lors d'un sondage urinaire.
- **Les infections du site opératoire** : on distingue pour cette catégorie les infections de la plaie opératoire (plutôt superficielle à l'origine) et les infections profondes touchant les organes. Les chirurgies visant à la mise en place d'une prothèse ou bien pour une transplantation peuvent causer des IN d'apparitions très tardives, jusqu'à un an après l'opération.
- **Les pneumopathies** : celles-ci sont en majorité associées à la mise en place d'une ventilation mécanique, ce qui constitue un réel fléau au sein des unités de soins intensifs (USI).
- **Les septicémies** : ici encore, l'utilisation de dispositif médical (DM) est associée à la plupart des cas de septicémies nosocomiales, que ce soient les dispositifs intra-vasculaires (comme les chambres de perfusion veineuse) ou les cathéters centraux ou périphériques.

Parmi les autres IN moins fréquentes et/ou de moindre gravité, on retrouve les infections de la peau et des tissus mous, les gastro-entérites (qui touchent surtout les enfants), les infections de la sphère oto-rhino-laryngée (ORL) comme les sinusites ou les conjonctivites, ou encore les infections post-partum de la sphère génitale (Ducel et *al.*, 2002).

Chapitre III : Généralités sur *Pseudomonas aeruginosa* et les infections nosocomiales

III.1.4. Facteurs de risque

Les taux des IN sont plus élevés chez les personnes âgées (Jarvis et *al.*, 1991) et les personnes qui sont atteintes d'une maladie grave abaissant les défenses naturelles de l'organisme (Anderson, 1998). Egalement, l'hospitalisation au décours ou à cause accroît l'incidence de l'IN (Haley, 1981).

III.2. Généralités sur *Pseudomonas aeruginosa*

La bactérie pathogène opportuniste actuellement connue sous le nom de *P. aeruginosa* a reçu plusieurs noms à travers son histoire sur la base de ses cultures de coloration bleu-vert caractéristique produisant le plus souvent des pigments de pyocyanine et de pyoverdine, ainsi que son odeur aromatique caractéristique (seringat).

III.2.1. Systématique

D'après Delarras (2010), la classification de *Pseudomonas aeruginosa* est la suivante :

Règne : *Bacteria*

Embranchement : *Gracilicutes* Gram-

Classe : *Gammaproteobacteria*

Ordre : *Pseudomonadales*

Famille : *Pseudomonaceae*

Genre : *Pseudomonas*

Espèce : *P. aeruginosa*

III.2.2. Morphologie et caractéristiques générales

P. aeruginosa est un bacille à Gram négatif de 1 à 3 µm de long et 0,5 à 0,8 µm de large (Fig. 15). C'est une bactérie dépourvue de spores et de capsules, mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire (Hafiane et Ravaoarinoro, 2008). Elle est aérobie possédant un métabolisme oxydatif, mais en absence d'oxygène elle peut utiliser les nitrates comme accepteur d'électrons (Van Alst et *al.*, 2009). C'est une bactérie mésophile capable de se développer dans des températures allant de +4°C à +45°C avec une température optimale de croissance entre 30 et 37°C (Van Alst et *al.*, 2009).

Chapitre III : Généralités sur *Pseudomonas aeruginosa* et les infections nosocomiales

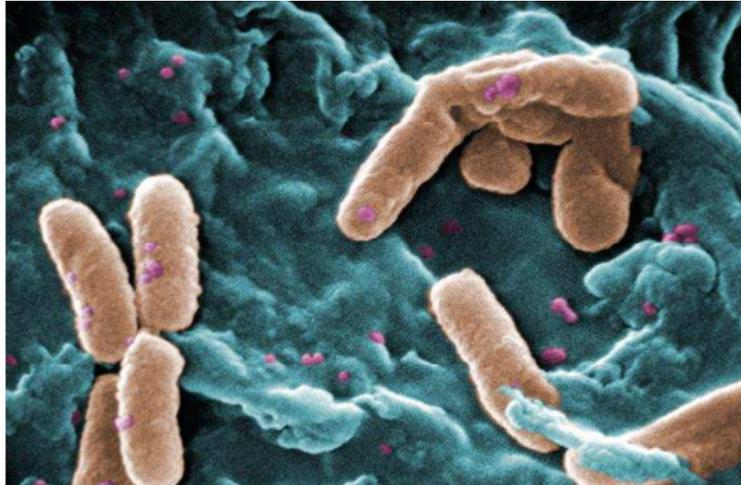


Figure 15: *Pseudomonas aeruginosa* (Anonyme, 2011)

III.2.4. Habitat et pouvoir pathogène

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie ubiquitaire retrouvée dans l'environnement (sols humides, plantes, eaux...) (Lister et *al.*, 2009) sous forme planctonique. On la trouve aussi en milieu hospitalier (eau et nourriture crudités ou fruits frais) (Avril, 1988). Elle fait partie de la flore commensal non habituelle de l'homme, hébergement transitoire (tube digestif, oropharynx, zones cutanées humides comme aisselles et périnée ou à l'état sessile dans un biofilm, colonisation favorisée par antibiothérapie ou les lésions (Costerton et *al.*, 1995).

La pathogénicité de *P. aeruginosa* est attribuée à la production de plusieurs facteurs de virulence, hautement induits dans l'infection et s'expriment préférentiellement sur les terrains immunodéprimés (Mahenthalingam et *al.*, 1996). Les facteurs de virulence peuvent être, soit des composants intrinsèques de la surface cellulaire, soit des produits extra-cellulaires (protéases, exotoxine A) (Le minor et Veron, 1982). La production simultanée de certains d'entre eux est indispensable pour permettre à une souche de *P. aeruginosa* de coloniser l'homme et de développer un pouvoir infectieux à son encontre. L'action cumulée de ces facteurs peut conduire à une inhibition de la synthèse protéique, une lyse des tissus, des lésions nécrotiques et hémorragiques ou encore une diminution des globules blancs (Hardalo et Edberg, 1997 ; Denis et *al.*, 2007).

Chapitre IV : Matériel et méthodes

Notre étude consiste à évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et *Mentha pulegium* vis-à-vis de la souche bactérienne pathogène *Pseudomonas aeruginosa* responsable des infections nosocomiales et à déterminer la concentration minimale d'inhibition (CMI) de ces mêmes huiles essentielles.

IV.1 Matériel

IV.1.1. Matériel végétal

Deux plantes aromatiques et médicinales spontanées de la famille des *Lamiaceae* ont été utilisées dans notre expérimentation : Il s'agit de romarin (*Rosmarinus officinalis*) (Fig. 16) et de la menthe pouliot (*Mentha pulegium*) (Fig. 17). Ces plantes ont été prélevées de la région de Oued Chorfa de Ain Defla.



Figure 16 : *Rosmarinus officinalis*
(Original, 2016)



Figure 17 : *Mentha pulegium*
(Original, 2016)

IV.1.2. Matériel bactérien

Le matériel biologique, choisi pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot était présenté par la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853. Cette souche a été isolée des produits pathologiques et provenue de laboratoire de Louis Pasteur d'Alger (Fig. 18).

Chapitre IV : Matériel et méthodes

Le choix de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* était basé sur son intérêt pathologique, en relation avec des problèmes plus généraux de résistance aux antibiotiques habituels. Cette bactérie est résistante à un grand nombre d'antibiotiques. Il ne faut donc jamais les traiter en monothérapie. Les antibiotiques actifs contre *P. aeruginosa* sont les carbapénèmes, certaines fluoroquinolones (la ciprofloxacine à forte dose en est un exemple), certaines pénicillines (pipe-tazo) ainsi que des céphalosporines de troisième génération (par exemple la ceftazidime).

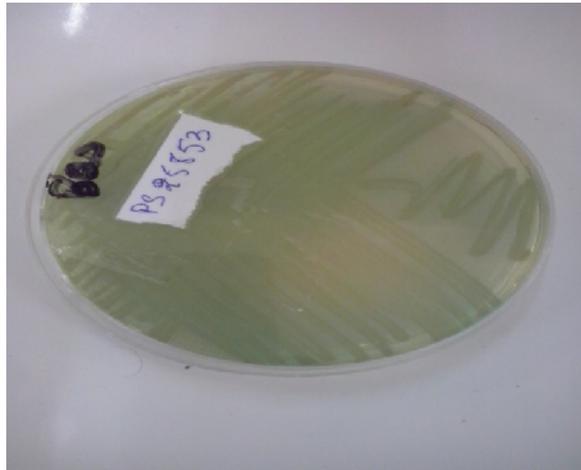


Figure 18 : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853 sur milieu King B (Original, 2016)

Les caractéristiques de cette souche bactérienne sont récapitulées dans le tableau 04.

Tableau 04 : Caractéristiques de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853

Souche bactérienne	Famille	Forme	Type de Gram	ATCC	Références bibliographiques
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonaceae</i>	Bacille	Gram-	25853	Delarras (2010) Hafiane et Ravaoarino (2008)

IV.1.3. Matériel du laboratoire

Le matériel du laboratoire utilisé dans notre travail est présenté dans le tableau 05.

Tableau 05 : Matériel du laboratoire employé durant notre étude

Appareillage	Verreries et instruments	Produits et solvants	Milieus de culture
Etuve	Pipettes Pasteur	Tween 80	Muller Hinton (MH)
Réfrigérateur	Anse à ensemercer	Eau distillée	King B
Plaque chauffante	Ecouvillon	Eau physiologique	
Balance	Boîtes de Pétri		
Autoclave	Tubes à essai		
Dispositif d'extraction	Portoir		
Bec Bunsen	Pinces		
Bain marie	Eprouvette		

IV.2. Méthodes d'étude

IV.2.1. Présentation du site de prélèvement

La région de Oued Chorfa se trouve dans la wilaya de Ain Defla (Fig. 19) à 85 km au sud de la ville d'Alger. Elle se trouve sur une latitude de 369 m et bénéficie d'un climat de type méditerranéen, relativement homogène, avec des étés chauds et secs et des hivers frais.

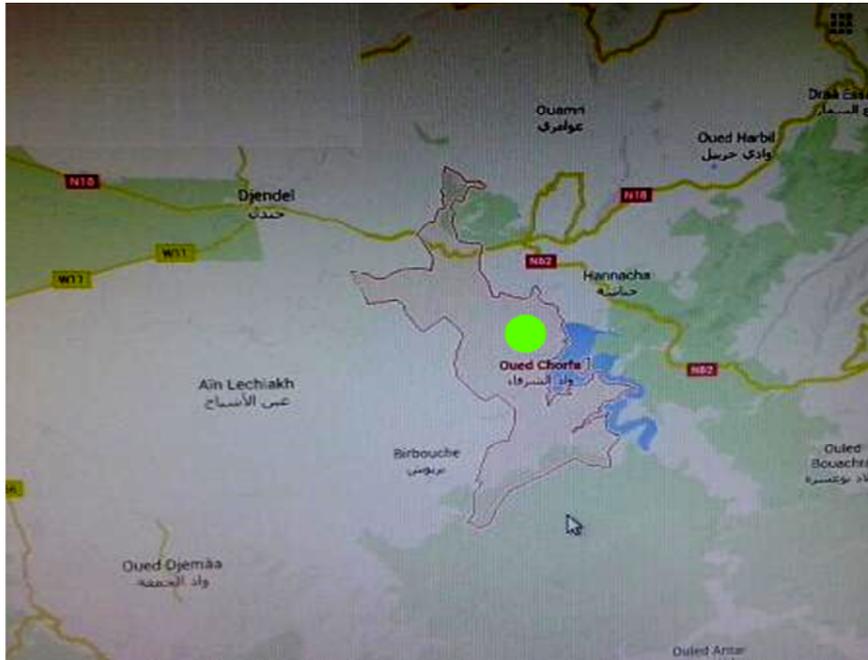


Figure 19 : Lieu de récolte des échantillons de *Rosmarinus officinalis* et *Mentha pulegium* (Anonyme, 2008)

IV.2.2. Extraction des huiles essentielles

IV.2.2.1. Récolte des plantes

La partie aérienne (feuilles, tiges) du romarin et de la menthe pouliot a été récoltée d'une manière aléatoire de la région de Oued Chorfa de Ain Defla au mois de novembre 2015, au stade végétatif pour la menthe pouliot et au début de floraison pour le romarin. Les échantillons ont été mis dans des sachets en plastique et portés directement au laboratoire (Fig. 20). L'identification des espèces a été faite par le département d'Agronomie de l'université de Khemis Miliana.



Figure 20 : Echantillons dans des sachets en plastique (Original, 2016)

IV.2.2.2. Déshydratation

Les feuilles ainsi que les tiges récoltées ont été séchées à l'aire libre, à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant 20 jours à un mois (Fig. 21 et 22).



Figure 21 : *Rosmarinus officinalis* sèche
(Original, 2016)



Figure 22 : *Mentha pulegium* sèche
(Original, 2016)

IV.2.2.3. Extraction

En général le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles, ...), de la nature des composés (flavonoïdes, huiles essentielles, tanins, ...) et de la fragilité de certains constituants des huiles à la température

Chapitre IV : Matériel et méthodes

élevée (Nairouz, 2005 ; Hellal, 2011). La méthode d'extraction des huiles essentielles utilisée au cours de notre expérimentation est l'hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger (Fig. 23). L'opération a duré deux heures selon le protocole suivant : Une quantité de 50g de matériel végétal sec a été mise dans un ballon d'un litre, rempli de l'eau distillée (500 ml pour *Rosmarinus officinalis* et 700 ml pour *Mentha pulegium*). Le mélange a été chauffé à l'aide d'une chauffe ballon et porté à ébullition pendant deux heures. Les vapeurs chargées de substances volatiles traversent le réfrigérant, se condensent, l'huile flotte à la surface de l'eau de distillation puis elle a été récupérée dans des éppendorfs. A la fin de l'extraction de la première espèce, l'appareil a été nettoyé avant de procéder à celle de la deuxième espèce.

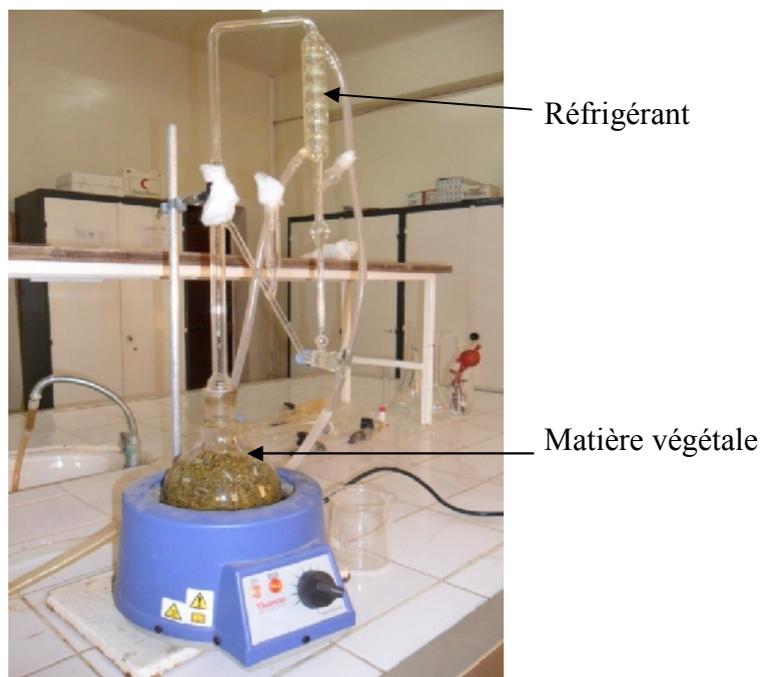


Figure 23 : Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger (Original, 2016)

Les éppendorfs ainsi obtenus ont été fermés hermétiquement et recouverts avec du papier aluminium (Fig. 24) et gardés à l'abri de l'air et de la lumière pour éviter tout risque d'altération. Ils ont été conservés en position vertical (en position horizontale, il y a risque que le bouchon soit attaqué par l'huile essentielle) (Huardi, 1981) à une température de 4°C jusqu'à leur utilisation.

La durée de conservation des huiles essentielles pures, dans de bonnes conditions, se situe aux alentours de 12 à 36 mois selon l'huile essentielle considérée (Roux, 2008).



Figure 24 : Eppendorfs recouverts du papier aluminium (Original, 2016)

IV.2.2.4. Détermination des propriétés organoleptiques

L'appréciation des caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles consiste à évaluer l'aspect, l'odeur et la couleur (Touaimi, 2014)

IV.2.3. Evaluation de l'activité antibactérienne

IV.2.3.1. Ré-isolement des souches bactériennes

Toute notre expérimentation a été réalisée dans les conditions d'asepsie (Désinfection à l'eau de Javel des mains et du plan de travail avant et après toute manipulation et réglage de la flamme bleue du bec Bunsen afin de stériliser l'air alentour dans un rayon de 18 cm (zone de protection)).

La souche bactérienne (une colonie bien isolée de *P. aeruginosa*) a été prélevée à l'aide d'une anse de platine stérilisée au préalable et ensemencée selon la méthode de stries à la surface d'un milieu spécifique King B dans des boîtes de Pétri (Fig. 25). Les boîtes ont été par la suite incubées à l'étuve à 37 °C pendant 18 à 24 heures, pour l'obtention des souches pures et jeunes.



Figure 25 : Ré-isolement des souches de *P. aeruginosa* sur King B (Original, 2016)

IV.2.3.2. Préparation du milieu de culture pour le test antibactérien

Dans notre travail nous avons utilisé, pour tester l'activité biologique des huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot sur la souche bactérienne, comme milieu de culture la gélose Muller Hinton (MH) (Fig. 26). La composition de ce milieu est notée en annexe 01.

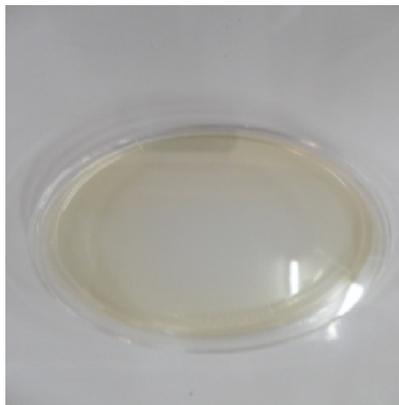


Figure 26 : Coulage du milieu de culture MH (Original, 2016)

IV.2.3.3. Préparation de l'inoculum

A l'aide d'une anse à ensemencer stérilisée, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ont été prélevées du milieu King B et mises dans 10 ml de l'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (NaCl). La suspension bactérienne, bien homogénéisée, a été laissée sur la paillasse pendant 30 minutes (Fig. 27).



Figure 27 : Préparation de l'inoculum de la souche bactérienne (Original, 2016)

IV.2.3.4. Ensemencement

L'ensemencement a été fait après la préparation de l'inoculum. Un écouvillon stérilisé a été trempé dans la suspension bactérienne puis étalé en stries serrées sur la surface du milieu MH (Fig. 28). Pour l'ensemencement de toutes les boîtes, l'écouvillon a été rechargé à chaque fois.



Figure 28 : Ensemencement bactérien sur milieu MH (Original, 2016)

IV.2.3.5. Préparation des dilutions

Un volume de 200 μ l d'huile essentielle de chaque espèce végétale a été dilué dans 10 ml de Tween 80 dans un premier tube, ce qui donne une dilution de 2% (solution mère). Une série de dilution de l'huile essentielle a été préparée à des concentrations allant de 2% à 0.06%. La réalisation de ces dilutions a été faite comme suit : la moitié (5 ml) du premier tube (solution mère) a été versée dans un deuxième tube où 5 ml de Tween 80 ont été ajoutés, c'est la dilution 1%. On a procédé de la même manière jusqu'à obtention de la dernière dilution 0.06%. La gamme de concentration finale ainsi obtenue était 2%, 1%, 0.5%, 0.25%, 0.125% et 0.06% (Fig. 29).



Figure 29 : Dilutions des huiles essentielles (Original, 2016)

IV.2.3.6. Préparation des disques

Pour mettre en évidence l'activité antibactérienne de *Rosmarinus officinalis* et *Mentha pulegium* sur *Pseudomonas aeruginosa*, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disques décrite par Rasooli et al. (2008).

Les disques utilisés dans notre test bactéricide sont des disques du papier wattman N3 de 9 mm de diamètre. Ces disques ont été mis dans un tube à essai puis stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 15 min. Par la suite, ils ont été stockés à une température ambiante (le tube à essai est hermétiquement fermé).

IV.2.3.7. Application des disques

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, les disques imbibés par les différentes doses d'huile essentielle du romarin et de la menthe pouliot pendant 15 min puis séchés ont été déposés sur le milieu MH à raison de 3 disques par boîte (Fig. 30). Pour le témoin un seul disque sans huile essentielle a été déposé au milieu de la boîte contenant le milieu MH. Trois répétitions ont été faite pour chaque dose. Les boîtes ont été ensuite fermées et incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.



Figure 30 : Application des disques (Original, 2016)

IV.2.3.8. Détermination du potentiel antibactérien

L'évaluation de l'effet des huiles essentielle des plantes étudiées sur *P. aeruginosa* a été faite après 24 heures en mesurant le diamètre en mm de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle. Ainsi, la moyenne des trois diamètres perpendiculaires passant par le milieu du disque a été calculée (trois répétitions ont été effectuées pour chaque souche). Le résultat peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'huile essentielle (Ponce et *al.*, 2003) :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm.
- Sensible (+): diamètre entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.

- Extrêmement sensible (+++): diamètre > 20 mm.

L'échelle d'estimation de l'activité antibactérienne est donné par Mutai et *al.* (2009). Ils ont classé les diamètres des zones d'inhibition (D) de la croissance bactérienne en 5 classes :

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

IV.2.3.9. Détermination du pourcentage d'inhibition de la croissance bactérienne

Le pourcentage d'inhibition de la croissance bactérienne est calculé par la formule suivante (Haddaf et *al.*, 2004) :

$$\% \text{ Inhibition} = (D \text{ test} / D \text{ contrôle}) \times 100$$

D test : Diamètre de la zone d'inhibition.

D contrôle : Diamètre de la boîte de Pétri.

IV.2.3.10. Calcul de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

On peut définir la CMI par la concentration minimale inhibitrice ou bien la plus faible concentration d'une substance capable d'inhiber dans un milieu (liquide ou solide) toute culture visible de la souche étudiée (Ferron, 1976 ; Le Minor et Veron, 1989). Autrement dit, c'est la concentration pour laquelle il n'y a pas de culture bactérienne visible (Carbonelle *al.*, 1987).

IV.3. Analyse statistique

L'étude statistique a été effectuée à l'aide du logiciel Statistix 9. Lors de cette étude, nous avons fait appel à l'analyse variance ANOVA pour étudier les différentes interactions entre les paramètres étudiés (huiles essentielles, dose). La comparaison des moyennes des différentes huiles essentielles a été faite par le test Newman et Keuls au seuil $P = 5$

- Différence non significative : $p > 0.05$
- Différence significative : $p < 0.05$
- Différence hautement significative : $p < 0.01$
- Différence très hautement significative : $p < 0.001$

Chapitre V : Résultats et discussions

V.1. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles des deux plantes lamiacées *Rosmarinus officinalis* et *Mentha pulegium* extraites par la technique d'hydrodistillation, méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle (Marie Elisabeth, 2005), sont présentés dans le tableau 06.

Tableau 06 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et *Mentha pulegium*

Huiles essentielles	Aspect	Couleur	Odeur
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Liquide mobile	Jaune claire	Camphrée
<i>Mentha pulegium</i>	Liquide limpide	Jaune pâle	Menthée caractéristique

D'après le tableau ci-dessus, nous avons observé que l'aspect, la coloration et l'odeur des huiles essentielles des deux espèces végétales extraites diffèrent d'une plante à une autre. Les huiles essentielles du romarin sont liquides mobiles alors que celles de la menthe pouliot sont liquides limpides. Ainsi, chaque huile possède une couleur précise qui est jaune claire pour le romarin et jaune pale pour la menthe pouliot. Egalement, nous avons constaté que chaque huile essentielle exhale une odeur spécifique ; camphrée pour le romarin et menthée caractéristique pour la menthe pouliot (Fig. 31 et 32).



Figure 31: Huile essentielle de *R. officinalis* (Original, 2016)



Figure 32 : Huile essentielle de *M. pulegium* (Original, 2016)

Les paramètres organoleptiques de nos huiles essentielles sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR (2000) qui disent que les huiles essentielles pour les deux espèces sont liquides mobiles, limpides, de couleur jaune pâle à incolores; et d'odeur plus ou moins camphrée selon l'origine pour le romarin et menthée pour la menthe pouliot. Egalement, les études réalisées par Makhloufi (2011) et Benikhlef (2014) ont montré que les huiles essentielles de *R. officinalis* de la région de Ouargla et de Bechar sont liquides mobiles, jaunes claires et camphrées. Les travaux de Lahreche (2010) ont révélé que les huiles essentielles de *M. pulegium* de la région de Djelfa sont liquides mobiles, jaunes pâles et dégagent une forte odeur menthée caractéristique.

V.2. Caractéristiques morphologiques des colonies de *Pseudomonas aeruginosa*

Les colonies poussant après 24 heures d'incubation sont plates, à bord irrégulier et à aspect irisé métallique. La présence d'une couleur verte brillante diffusible caractérise l'espèce *P. aeruginosa* (Fig. 33). Cette coloration est due à l'existence de pyocyanine (un pigment spécifique de *P. aeruginosa*).



Figure 33 : Colonies de *P. aeruginosa* après incubation de 24 h (Original, 2016)

V.3. Pouvoir antibactérien

L'étude *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Mentha pulegium* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Muller Hinton) a révélé la présence d'une activité antibactérienne sur la souche pathogène d'origine hospitalière (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853).

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les produits à tester vis-à-vis du germe étudié après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C.

V.3.1. Effet antibactérien des huiles essentielles étudiées

Les diamètres moyens de la zone d'inhibition observée autour des disques imprégnés des huiles essentielles pures et ses dilutions après 24 heures d'incubation à 37°C sont résumés dans le tableau 07 puis illustrés par les figures 34, 35 et 36.

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 07 : Diamètres moyens de la zone d'inhibition des huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot sur *P. aeruginosa*

Dilutions	D _T 0%	D _P 100%	D ₀ 2%	D ₁ 1%	D ₂ 0.5%	D ₃ 0.2%	D ₄ 0.125%	D ₅ 0.06%
Diamètres moyens (Romarin)	0	16	14	13	12	11	10	10
Diamètres moyens (Menthe pouliot)	0	16.66	16	14	13	12	9	9

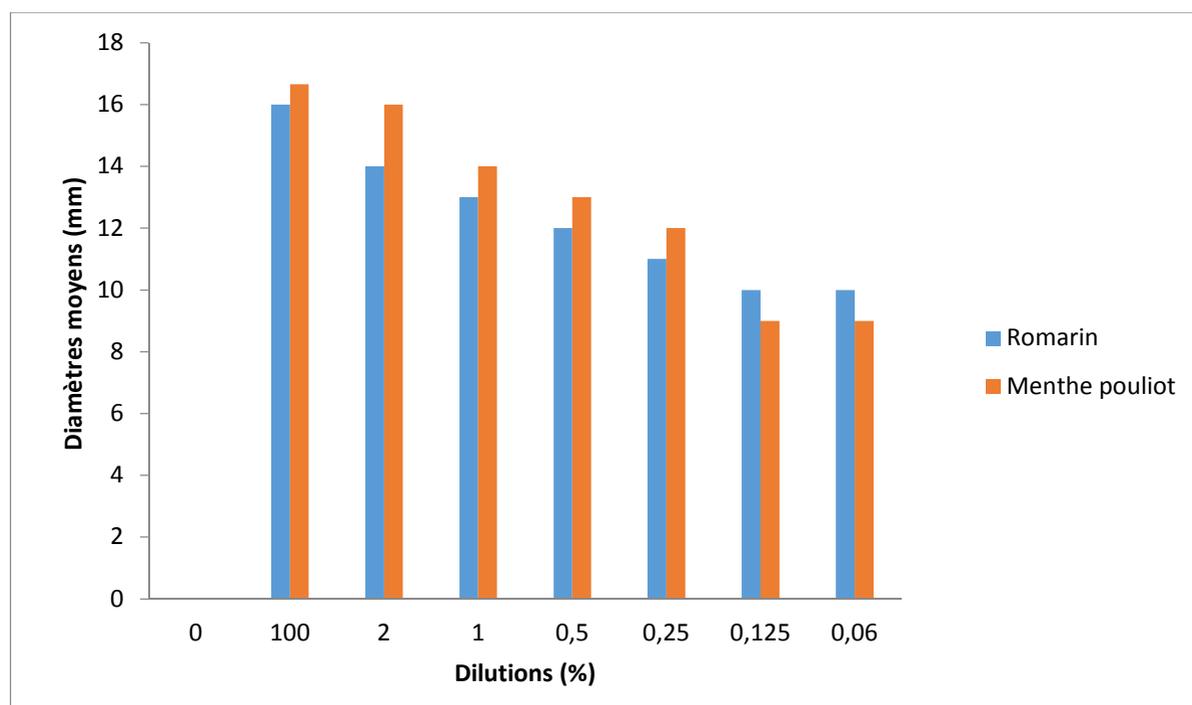


Figure 34 : Diamètres moyens de la zone d'inhibition des huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot sur *P. aeruginosa*

Selon le tableau et la figure cités ci-dessus, les diamètres des zones d'inhibition faites par les huiles essentielles de la menthe pouliot et du romarin (Fig. 35 et 36) diminuent

Chapitre V : Résultats et discussions

progressivement en fonction des dilutions (plus la concentration des huiles essentielles diminuent plus les diamètres d'inhibition se réduisent). Ces diamètres d'inhibition ne présentaient qu'une légère différence entre les deux types des huiles essentielles testées. Cela nous permet de dire que les huiles essentielles des deux plantes (romarin et menthe pouliot) utilisées ont le même effet inhibiteur sur la bactérie testée.

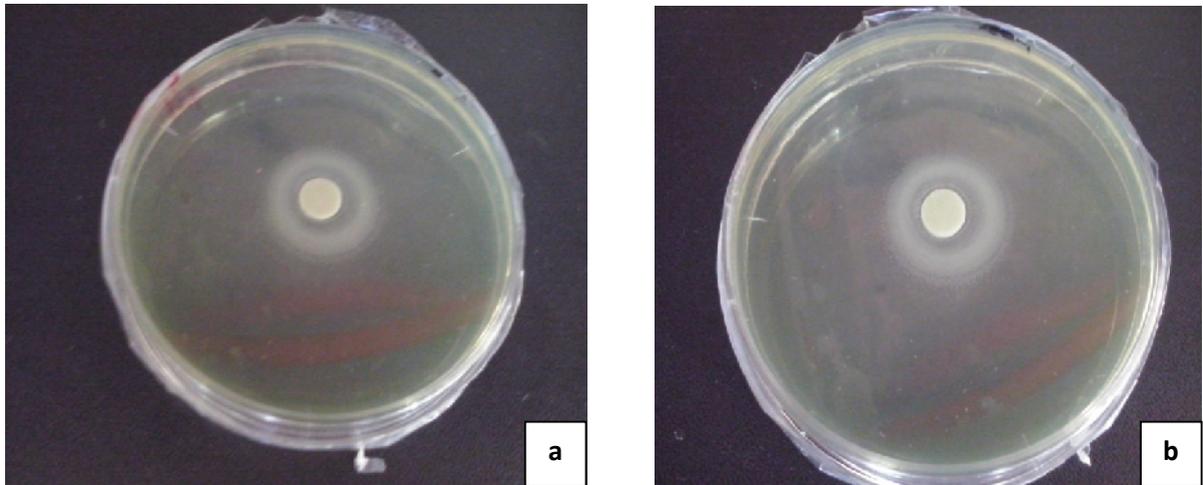


Figure 35 : Activité antibactérienne des huiles essentielles pures de *Rosmarinus officinalis* (a) et de *Mentha pulegium* (b) sur *Pseudomonas aeruginosa* (Original, 2016)

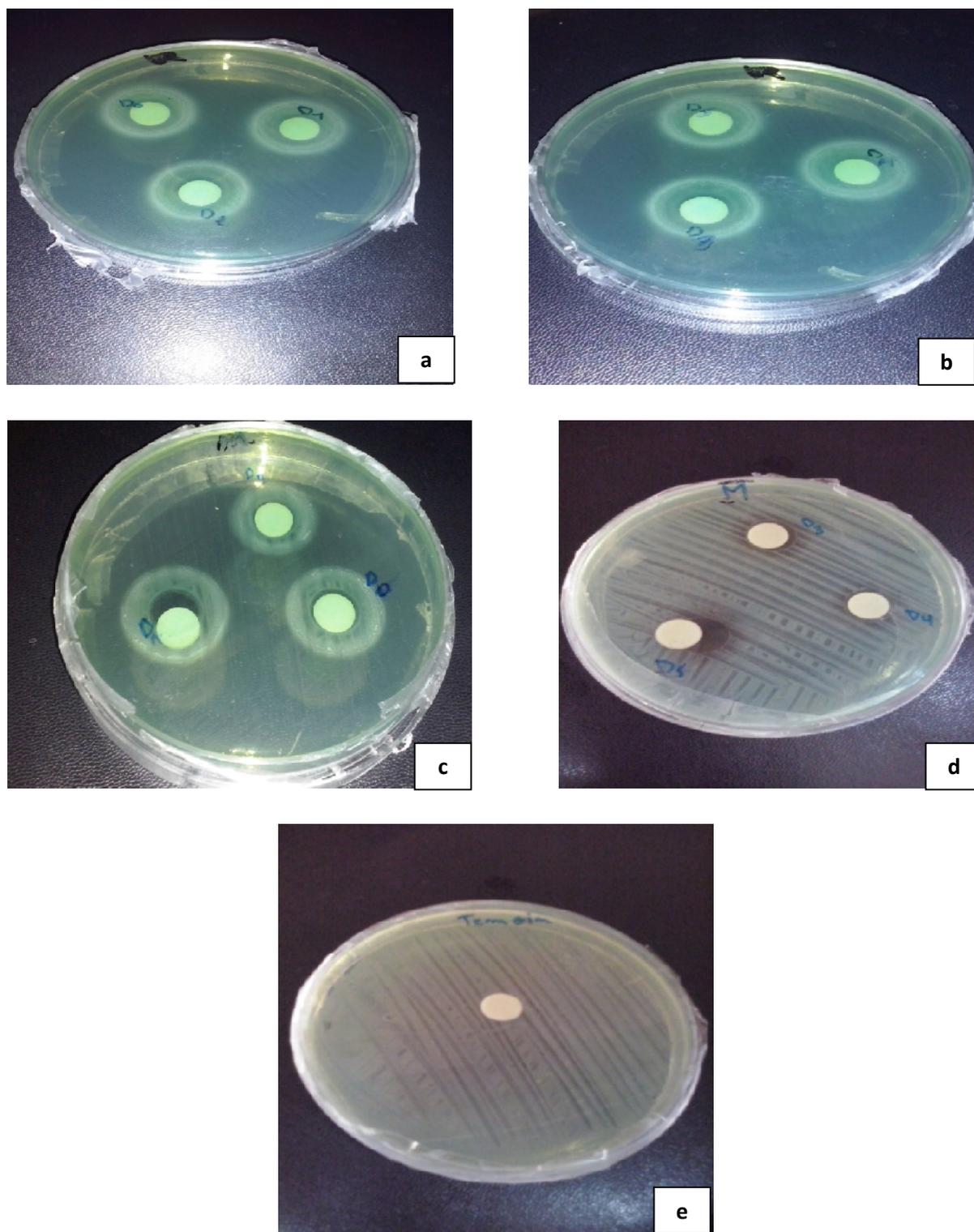


Figure 36 : Zones d'inhibition en mm de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* (a et b) et de *Mentha pulégium* (c et d) sur *Pseudomonas aeruginosa*
a, c : D0, D1, D2 ; b, d : D3, D4, D5 ; e : Témoin (Original, 2016)

Les huiles essentielles extraites de *Rosmarinus officinalis* et de *Mentha pulegium* ont montré une activité antibactérienne contre la souche *Pseudomonas aeruginosa* avec des diamètres de zones d'inhibition différents d'une huile à une autre et d'une concentration à une autre. Pour le romarin, les diamètres des zones d'inhibition ont été de 16 mm avec l'huile essentielle pure, 14 mm avec la concentration 2% et 10 mm avec les concentrations 0.125% et 0.06%. Tandis que l'extrait de *Mentha pulegium* a donné des diamètres d'inhibition de 16.66 mm avec l'huile essentielle pure, 16 mm avec la concentration 2% et 9 mm pour les concentrations 0.125% et 0.06%. Aucune activité antimicrobienne n'a été observée pour les témoins. Cela justifie que le tween 80 n'a aucune influence sur la croissance de la bactérie étudiée et que l'effet inhibiteur est dû essentiellement aux huiles essentielles testées..

Selon Skocibusic *et al.* (2006), l'activité antibactérienne des huiles essentielles est due à la présence des alcools à longues chaînes et des composés de phénols qui inhibent la croissance des bactéries Gram⁺ et Gram⁻.

V.3.2. Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis des huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot

L'évaluation de l'effet des huiles essentielle des plantes étudiées sur *P. aeruginosa* a été faite après 24 heures en mesurant les diamètres des zones d'inhibition. Ainsi, les résultats obtenus sont symbolisés par des signes d'après la sensibilité de la souche bactérienne vis-à-vis des huiles essentielles appliquées (Tableau 08).

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 08: Degré de sensibilité de *P. aeruginosa* vis-à-vis des huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot en fonction des dilutions.

Dilutions	D _T 0%	D _P 100%	D ₀ 2%	D ₁ 1%	D ₂ 0.5%	D ₃ 0.2%	D ₄ 0.125%	D ₅ 0.06%
Degré de sensibilité (Romarin)	Non sensible ou résistante (-)	Très sensible (++)	Sensible (+)	Sensible (+)	Sensible (+)	Sensible (+)	Sensible (+)	Sensible (+)
Degré de sensibilité (Menthe pouliot)	Non sensible ou résistante (-)	Très sensible (++)	Très sensible (++)	Sensible (+)	Sensible (+)	Sensible (+)	Sensible (+)	Sensible (+)

Selon le tableau 08, *P. aeruginosa* est résistante ou non sensible à la D_T. Elle est très sensible vis-à-vis des huiles essentielles pures (D_P) des deux plantes étudiées et de la D₀ de l'huile essentielles de la menthe pouliot. Alors qu'elle est sensible à toutes les autres dilutions de l'huile essentielle du romarin et aux dilutions D₁, D₂, D₃, D₄ et D₅ de la menthe pouliot. En comparant ces degrés de sensibilité, on peut dire que la bactérie testée est sensible à ces deux types d'huile essentielle et que ces dernières n'ont qu'une faible différence d'activité antibactérienne contre la souche testée.

Notre résultat montre que *P.aeruginosa* est sensible pour les huiles essentielles de romarin et de la menthe pouliot. Il est bien connu que les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes à l'huile essentielle que les bactéries à Gram positif (Bruno, 2008). A l'inverse, Celikel et Kavas (2008) ont souligné, que l'action des huiles essentielles volatiles a une influence importante sur l'inhibition de la croissance des bactéries à Gram négatif que celles à Gram positif. On peut expliquer ça par le fait que l'activité antibactérienne dépend de la qualité de l'huile essentielle d'une part et dans une autre part de la souche bactérienne elle-même. Plusieurs études testant l'activité inhibitrice des huiles essentielles confirment ce résultat telle que celle de Kalemba et Kunicka (2003), qui a montré que la sensibilité d'un microorganisme à l'huile essentielle dépend des propriétés de l'huile essentielle et du microorganisme lui même.

Chapitre V : Résultats et discussions

D'autres études ont montré que cette bactérie possède une résistance intrinsèque aux agents biocides, en relation avec la nature de sa membrane externe. Cette dernière est très riche en lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable aux composés hydrophobes. En présence d'agents perméabilisants de la membrane externe, des substances inactives contre *P. aeruginosa* deviennent actives (Mann et al., 2000). Ainsi, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire (thymol, carvacrol, ...) peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides membranaires grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre par la suite la membrane intérieure plus vulnérable (Dorman et Deans, 2000).

Le mode d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes est principalement lié au profil chimique des constituants de l'huile essentielle qui est largement diversifié (Kandil et al., 1994 ; Harkenthal et al., 1999 ; Cox et al., 2000 ; Burt, 2004 ; Zomorodian et al., 2012). Il 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 ce qui provoque une déstabilisation de la structure et une augmentation de la perméabilité membranaire (Sikkema et al. 1994). Ces modifications entraînent une fuite d'ions, de composés intracellulaires et l'inhibition des enzymes membranaires intégrées (Cox et al., 2000 ; Lambert et al., 2001 ; Skandamis et al., 2001 ; Carson et al., 2002 ; Ultee et al., 2002). Dans le cas où les éléments cytoplasmiques relargués sont indispensables à la survie de la bactérie, ou si la perte de matériel est trop importante, cela entraîne la mort cellulaire (Burt, 2004). Cela peut expliquer nos résultats d'inhibition de la croissance de *P. aeruginosa* ; d'une manière générale, on peut dire que premièrement, les huiles essentielles ont attaqué la paroi de la bactérie en provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires. Ensuite, l'acidification de l'intérieur de la cellule, bloque la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure. Enfin, la destruction du matériel génétique qui conduit à la mort de la bactérie (Caillet et ses Collaborateurs, 2007 ; Oussalah et al., 2007).

V.3.3. Degré d'inhibition des huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot

En utilisant l'échelle d'estimation de l'activité antibactérienne de Mutai et *al.* (2009), les diamètres des zones d'inhibition (D) de la croissance bactérienne sont classés en 03 classes (Tableau 09).

Tableau 09 : Degré d'inhibition des huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot

Dilutions	D _T 0%	D _P 100%	D ₀ 2%	D ₁ 1%	D ₂ 0.5%	D ₃ 0.25%	D ₄ 0.125%	D ₅ 0.06%
Degré d'inhibition (Romarin)	Non inhibitrice	Modérément inhibitrice	Légèrement inhibitrice	Légèrement inhibitrice	Légèrement inhibitrice	Légèrement inhibitrice	Légèrement inhibitrice	Légèrement inhibitrice
Degré d'inhibition (Menthe pouliot)	Non inhibitrice	Modérément inhibitrice	Modérément inhibitrice	Légèrement inhibitrice	Légèrement inhibitrice	Légèrement inhibitrice	Non inhibitrice	Non inhibitrice

D'après le tableau 09, les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Mentha pulegium* ont une activité non inhibitrice sur *P. aeruginosa* pour les D_t (les deux plantes) et les D₄ et D₅ (menthe pouliot). Elles étaient modérément inhibitrices pour la D_p des deux plantes et la D₀ de la menthe pouliot. Les autres dilutions (D₀, D₁, D₂, D₃, D₄ et D₅ du romarin et D₁, D₂ et D₃ de la menthe pouliot) ont présenté une activité légèrement inhibitrice.

L'huile essentielle de *Mentha pulegium* s'est révélée légèrement plus inhibitrice que celle de *Rosmarinus officinalis*.

L'effet inhibiteur des huiles essentielles diffère d'une plante à une autre. De même pour la même espèce, le même génotype et le même stade de développement. Ainsi les facteurs extrinsèques tels que la température peuvent engendrer des modifications quantitatives et qualitatives importantes dans les huiles essentielles. Ceci a été confirmé par un certain nombre de travaux (Bakkaliet *al.*, 2008). Egalement, des modifications profondes de l'huile essentielle peuvent intervenir lors de l'exploitation des végétaux, depuis leur collecte jusqu'à leur transformation industrielle (Garnero, 1985). les conditions de transport (Yayi et *al.*, 2004), de séchage et de stockage peuvent générer des dégradations enzymatiques

Chapitre V : Résultats et discussions

(Bruneton, 1993). Les changements les plus importants interviennent pendant l'hydrodistillation, sous l'influence des conditions opératoires, notamment du milieu (acidité, température), broyage, dilacération, dégradation chimique ou enzymatique, pression, agitation et durée d'extraction (Chemat et *al.*, 2007).

Nos résultats pour l'huile essentielle pure du romarin ont été similaires à ceux observés par Benikhlef (2014) sur la souche bactérienne Gram- (*Escherichia coli*) en utilisant la même plante mais d'une région différente (romarin de la région de Ouaragla). Une autre étude dans la station de Bechar a montré un effet inhibiteur très important sur la souche *E. coli*. Un travail réalisé avec l'huile essentielle des parties aériennes sèches de *M. pulegium* de la région de Batna a révélé que cette huile est plus fortement inhibitrice de la croissance des souches bactérienne d'*Escherichia coli* (ATCC), de *Streptococcus sp* (SH) et de *Klebsiella pneumoniae* (SH) (Chibani, 2013).

V.3.4. Pourcentage d'inhibition

Les résultats du pourcentage d'inhibition de la croissance bactérienne sont représentés dans le tableau 10 puis illustrés par la figure 37.

Tableau 10 : Pourcentage d'inhibition de la croissance bactérienne

Dilutions	Dt 0%	Dp 100%	D ₀ 2%	D ₁ 1%	D ₂ 0.5%	D ₃ 0.25%	D ₄ 0.125%	D ₅ 0.06%
Pourcentage d'inhibition (Romarin)	0	17.77	15.56	14.44	13.33	12.22	11.11	11.11
Pourcentage d'inhibition (Menthe pouliot)	0	18.51	17.78	15.56	14.44	13.33	10	10

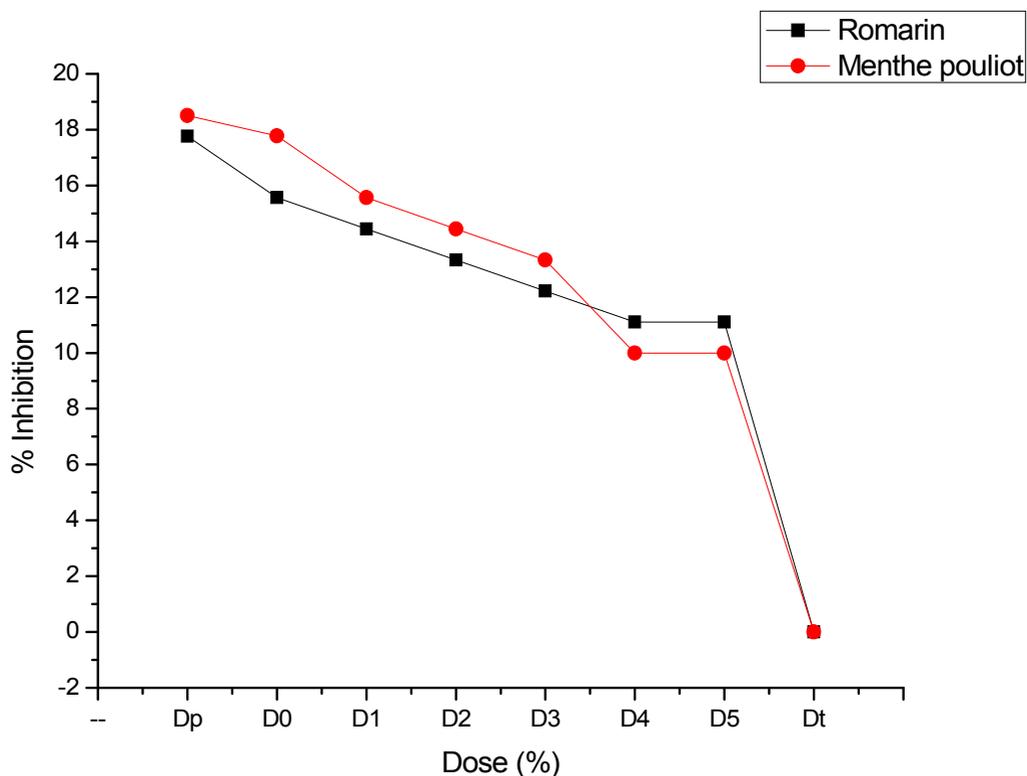


Figure 37 : Pourcentage d'inhibition de la croissance de *P. aeruginosa* traitée par les huiles essentielles du romarin et de la menthe pouliot

Les huiles essentielles extraites de *Rosmarinus officinalis* et de *Mentha pulegium* ont montré des pourcentages d'inhibition différents d'une dose à une autre et d'une huile essentielle à une autre. Ces pourcentages ont décroît progressivement avec la diminution de la dose appliquée. Pour le romarin, il baisse de 17.77 % pour la Dp à 11.11% pour la D5. Celui de la menthe pouliot a diminué de 18.51 % (Dp) à 10% (D5).

V.3.5. Concentration minimale inhibitrice

D'après les résultats obtenus de notre étude, la concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles pour les deux plantes testées était de l'ordre de 0.125%. Cela nous mène à constater que les plantes aromatiques et médicinales sélectionnées sont efficaces, à de très faibles doses, en terme d'inhibition de la croissance de *P. aeruginosa* et que cette dernière était sensible à toutes les concentrations appliquées de ces deux huiles essentielles. Ces valeurs de CMI sont liées à la sensibilité de la souche bactérienne testée, à l'efficacité de la

plante aromatique et médicinale utilisée et aussi sont très influencées par le protocole et le solvant d'extraction ainsi que le type d'organe utilisé (Bouzonta et *al.*, 2008 ; Banquour, 2000).

V.4. Etude statistique

V.4.1. Analyse de la variance

Pour comparer les résultats obtenus et déterminer les taux de signification, une analyse de la variance (ANOVA) au seuil 5% a été effectuée à l'aide du logiciel Statistix 9. Les facteurs étudiés sont : le premier facteur représente la plante à deux niveaux (romarin et menthe pouliot), le deuxième facteur est la dose, composé de 8 niveaux (D_P, D₀, D₁, D₂, D₃, D₄, D₅ et D_T). Les résultats de cette analyse sont récapitulés dans le tableau 11.

Tableau 11 : Analyse de la variance du diamètre d'inhibition des huiles essentielles de *R. officinalis* et de *M. pulegium* pour les deux facteurs étudiés (F1: plante ; F2 : dose).

Source	DDL	SCE	CM	F	P	CV
Repetition	2	29.62	14.812			
F1 : Plante	1	2.08	2.083	2.70	0.2419	
F2: Dose	7	1069.33	152.762	92.65	0.0000	
F1/2: Plante/Dose	7	13.25	1.893	1.15	0.3629	
Total	47					11.67

L'analyse de la variance à deux critères de classification indique une différence non significative pour le facteur 1 (plante : romarin et menthe pouliot) ($P = 0.2419$) et très hautement significative pour le facteur 2 (dose) ($P = 0.0000$). Donc, on peut dire que les doses des huiles essentielles des deux plantes étudiées influent d'une manière très hautement significative le diamètre des zones d'inhibition de *P. aeruginosa* contrairement au type de l'huile essentielle (Facteur 1) où la différence était non significative.

V.4.2. Groupes homogènes selon le test NEWMAN-KEULS-seuil 5%

Le test Newman-Keuls au seuil 5% permet de constituer des groupes homogènes de traitement, ainsi les moyennes appartenant au même groupe sont considérées comme non différentes. Les tableaux 12, 13 et 14 présentent les classements des moyennes pour le traitement à travers le test de NEWMAN-KEULS avec un intervalle de confiance de 95%.

Tableau 12: Groupes homogènes du Facteur 1 (Plante)

Plantes	Moyennes	Groupes homogènes
<i>Rosmarinus officinalis</i>	10.792	A
<i>Mentha pulegium</i>	11.208	A

Le tableau 12 révèle la présence d'un seul groupe homogène A pour le facteur 1. Ce groupe présente les valeurs 10.792 pour le romarin et 11.208 pour la menthe pouliot.

Tableau 13: Groupes homogènes du Facteur 2 (doses)

Doses	Moyennes	Groupes homogènes
Dp	16.333	A
D0	15.000	AB
D1	13.500	BC
D2	12.500	CD
D3	11.500	D
D4	9.6667	E
D5	9.5000	E
DT	0.0000	F

Chapitre V : Résultats et discussions

Le test ANOVA classe les 07 doses des huiles essentielles appliquées sur *P. aeruginosa* dans 07 groupes homogènes: A, AB, BC, CD, D, E et F. Le groupe A correspond aux huiles essentielles pures (le diamètre d'inhibition le plus élevé). Le groupe AB renferme la dose 2% (D0), le groupe BC la dose 1% (D1), le groupe CD la dose 0.5% (D2), le groupe D la dose 0.25% (D3), le groupe E les doses 0.125% (D4) et 0.06 (D5) qui donnent les plus faibles diamètres des zones d'inhibition et enfin le groupe F correspond à la dose du témoin (DT) qui ne montre aucune zone d'inhibition.

Les groupes AB, BC et CD sont des groupes communs (la différence entre les diamètres des zones d'inhibition de ces groupes est inférieure à la plus petite différence significative (PPDS = 1.5186)).

Tableau 14: Groupes homogènes de l'interaction entre les deux facteurs 1 et 2 (Plante /dose)

Plante-Dose	Moyenne des diamètres des zones d'inhibition	Groupes homogènes
MP-Dp	16.667	A
MP-D0	16.000	AB
R-Dp	16.000	AB
MP-D1	14.000	BC
R-D0	14.000	BC
MP-D2	13.000	CD
R-D1	13.000	CD
R-D2	12.000	CDE
MP-D3	12.000	CDE
R-D3	11.000	DEF
R-D5	10.333	EF
R-D4	10.000	EF
MP-D4	9.0000	F
MP-D5	9.0000	F
MP-Dt	0.0000	G
R-Dt	0.0000	G

MP : Menthe pouliot

R : Romarin

Chapitre V : Résultats et discussions

D'après le tableau présenté ci-dessus, on déduit la présence de 09 groupes homogènes : A, AB, BC, CD, CDE, DEF, EF, F et G. Le groupe A renferme l'huile essentielle pure de la menthe pouliot. Le groupe AB est présenté par les D0 de la menthe pouliot et la Dp pour le romarin, le groupe BC les D1 de la menthe pouliot et D0 de romarin, le groupe CD les D2 de la menthe pouliot et D1 du romarin, le groupe CDE les D2 du romarin et D3 de la menthe pouliot, le groupe DEF la dose D3 du romarin, le groupe EF les D4 et D5 de romarin, le groupe F les doses D4 et D5 de la menthe pouliot et enfin le groupe G qui est présenté par la dose du témoin (Dt) pour les deux plantes.

Conclusion et Perspectives

L'objectif de notre travail consiste à évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la famille des Lamiacées *Rosmarinus officinalis* et *Mentha pulegium* vis-à-vis de la souche bactérienne pathogène *Pseudomonas aeruginosa* responsable des infections nosocomiales et déterminer la concentration minimale d'inhibition (CMI) de ces mêmes huiles essentielles sur ce même pathogène bactérien.

Les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Mentha pulegium* extraites par hydrodistillation ont présenté un aspect liquide, une couleur jaune claire et une odeur camphrée pour le romarin et elles étaient liquides limpides, jaunes pales avec une odeur menthée pour la menthe pouliot.

Le test de l'activité antimicrobienne réalisé in vitro a permis d'évaluer l'effet des essences de *Rosmarinus officinalis* et de *Mentha pulegium* sur *P. aeruginosa* par la méthode de diffusion sur les disques. Les diamètres des zones d'inhibition ainsi que les pourcentages d'inhibition ont été différents d'une huile essentielle à une autre et d'une dose à une autre. Ils baissaient progressivement avec la diminution des doses. Ces facteurs ne présentaient qu'une légère différence entre les deux types des huiles essentielles testées (romarin et menthe pouliot) ce qui nous a permis de conclure que les huiles essentielles des deux plantes (romarin et menthe pouliot) utilisées ont le même effet inhibiteur sur la bactérie testée.

P. aeruginosa était très sensible vis-à-vis des huiles essentielles pures (D_p) des deux plantes testées tandis qu'elle était sensible aux autres concentrations.

La concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles était de 0.125% pour *M. pulegium* et *R. officinalis*.

L'analyse statistique a révélé une différence non significative pour le facteur 1 (plante : romarin et menthe pouliot) ($P = 0.2419$) et très hautement significative pour le

Conclusion et Perspectives

facteur 2 (dose) ($P = 0.0000$). 01 groupe homogène a été établis pour le facteur 1, 07 pour le facteur 2 et 09 pour l'interaction entre les facteur 1 et 2.

A la base de tous ces résultats, on peut prédire que nos huiles essentielles peuvent servir comme base de lutte biologique. D'autres études plus approfondies s'avèrent nécessaires afin de compléter ce travail et d'utiliser ces huiles essentielles à une grande échelle :

- Caractériser les meilleures huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse-couplée à une spectrométrie de masse.
- Extraire et identifier les molécules responsables de l'activité biologique (les bioactifs) pour leurs utilisations soit en seuls et/ou en association avec des substances de référence afin d'obtenir une action pharmacologique optimale.
- Evaluer l'effet inhibiteur d'autres extraits organiques (méthanolique, hexanique, chloroformique, ...) sur les agents pathogènes bactériens, fongiques et viraux.

Enfin et pour se protéger contre les infections nosocomiales en général, nous proposons quelques précautions standards à appliquer :

- Se laver les mains après tout contact avec du matériel infectieux
- Utiliser si possible une technique sans contact
- Porter des gants lors de tout contact avec sang, liquides biologiques, sécrétions, excréments, muqueuses et objets contaminés
- Se laver les mains immédiatement après avoir retiré les gants
- Tous les objets piquants ou tranchants doivent être manipulés avec le plus grand soin
- Nettoyer sans délai toute éclaboussure de matériel infectieux
- Assurer que le matériel de soins, les fournitures et le linge contaminés par du matériel infectieux sont soit éliminés, soit désinfectés ou stérilisés entre chaque patient
- Assurer une manipulation appropriée des déchets

Références Bibliographique

- Abdel H. (2003)** «Biosystématique végétal, INA El-Harrach, pp : 1-17».
- Abesaid D., Read I., Umphrey J. (1999)** « Infusion therapy team and dressing changes of central venous catheters. Infect control Hosp Epidemiol ; 20:101-105».
- AFNOR. (2000)** «Association Française de Normalisation ; huiles essentielles, Paris, 465p».
- Agnihotri A., Khatoon S. et ShantaM. (2003)** «Pharmacognostic evaluation of an antioxidant *Plantagoruscalamus*L. *Nat. Prod. Sci.*, **9**, pp : 264-269».
- Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aarab L., EL ajjour M. et Chaouch A. (2010)** «Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut et *Thymus ciliatus* (Desf) Benth. du Maroc, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **14** (1), pp :141-148».
- Amiot J. (2005)** «*Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires. Thèse-doctorat-Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie de Montpellier. France».
- Anderson M.B. (1998)** «Economic consequence of hospital infections in a 1000 bed University Hospital in Norway. *Infect control Hosp epididemiol*; **19** : 805-807».
- Angioni A., Barra A., Coroneo V., Dessi S. et Cabras P. (2006)** «Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *J. Agric. Food Chem.*, **54**(12), pp : 4364–4370.
- Anonyme. (1999)** «Les huiles essentielles pour votre santé, extrait de livre de Gay Roulier».
- Anonyme. (2004)**«www.mrnf.gouv.qc.ca/forets/fimaq/insectes/fimaq-insectes-insectes-squeletteuses.jsp».
- Anonyme. (2004)**
«<http://sante.journaldesfemmes.com/temoignage/temoignage/373147/allergie-a-la-menthe>».
- Anonyme. (2005).** «Plantes aromatiques (épices, aromates, condiment et huiles essentielles). Ed. Lavoisier et Tec et Doc. Italie, pp26-32».
- Anonyme.(2008)**
«<https://www.google.dz/maps/place/واد+الشرفاء/@36.1488477,2.5264746,11z/data=!4m2!3m1!1s0x128f5e57b5999393:0x13a3b3bd4ebe7a6c?hl=ar-DZ>».
- Anonyme. (2011)** «<http://www.ctcb.com.2011>»
- Anonyme. (2015)** «Julve, Ph., 2015 ff. - Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Version : 30 octobre 2015. <http://perso.wanadoo.fr/philippe.julve/catminat.htm>».

Références Bibliographique

- Anton R. et Lobstein A. (2005)** «plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc éditions, Paris»
- Aprotosoiaie A.C., Spac A.D., Hancianu M., Miron A., Tanasescu V.F., Dorneanu V. et Stanescu U. (2010)** «The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.). *FARMACIA*, 58 (1), pp : 46-54»
- Aruoma O. I., Spencer J. P., Rossi R., Aeschbach R., Khan A., Mahmood N., Munoz Atik Bekkara F., Bousmaha L., Taleb Bendiab S. A., Boti J. B., et Casanova J. (2007)** «Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie et santé*, 7 (1), pp: 5-10».
- Avril J.L., Dabernat H., Denis F. et Monteil H. (1988)** «Bactériologie clinique. Edition Marketing, collection Ellipses, Paris, 1988, pp. 271-282».
- Azevedo N.R., Campos I.F.P., Ferreira H.D., Portes T.A., Santos S.C., Seraphin J.C. Paula J.R. et Ferri P.H. (2001)** «Chemical variability in the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Phytochemistry*, 57, pp: 733-736».
- Baba Aissa F. (2000)** «Encyclopédie des plantes utiles. Librairie Moderne, Rouiba».
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. et Idaomar M. (2008)** «Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem. Toxicol.*, 46 (2), pp: 446-475».
- Balentine, (2006)** «The pre-and post-grinding application of rosemary and its extracts: application in beef meatballs. *Meat science*. p.69 : 371-380».
- Banquour N. (2000)** «Etude de l'effet de thym (décoction) et de son huile essentielle sur l'évolution de la flore microbienne et quelques paramètres chimiques du Smen, au cours de son élaboration. Thèse de doctorat de 3ème cycle en microbiologie, Université Cadi Ayad, faculté des Sciences, Marrakech, Maroc».
- Bardeau F. (2009)** «Les huiles essentielles. Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale, Ed : Lanore».
- Beghidja N., Bouslimani F., Benayache S. et Chalchat J. C. (2007)** «Composition of the oils from *Mentha pulegium* grown in different areas of the east of Algeria, *Chem. Nat. Comp.*, 4, 394-395»
- Bekhechi C. (2008)** «Analyse des huiles essentielles de quelques espèces aromatiques de la région de Tlemcen par CPG, CPG-SM et RMN 13 C et étude de leur pouvoir antibactérien. Thèse Doctorat. Univ. Tlemcen, 205 p».
- Belaiche P. (1979)** «Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme .éd. Maloine. Paris».

Références Bibliographique

- Bellakhdar Jamal Février. (2006)** «Précis de phytothérapie moderne ; plantes médicinales au Maghreb et soin de base / Edition le Fennec 2006 pp : 294-295».
- Benikhlef A. (2014)** «Comparaison entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouargla».
- Benzebia O., Barth D., Benzebia B., Dahmani A. (2009)** «Supercritical CO₂ extraction of rosemary : Effect of extraction parameters and modelling. Ed. The journal of supercritical fluids, vol. 49, pp 161-166».
- Bernalet M., Binet C. et Dclone D. (1985)** «Guide des médecines douces. Edition : Nathan».
- Bhaskara Reddy M.V., Angers P., Gosselin A., et Arul J. (1997)** «Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry*, 47 (8), 1515-1520. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, Vol. 80, 2011, pp: 824 - 836».
- Binet P et Brunel J. P. (2000)** « Physiologie Végétale. Tome II. Ed., Doin. P : 405, 406, 589».
- Boira H. et Blanquer A. (1998)** «Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. *Biochemical Systematic and Ecology*, 26, pp: 811-822».
- Botineau M. (2010)** «Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed TEC&DOC, Lavoisier, Paris. Pp: 1021-1043p».
- Bottin I. (2006)** «Déterminants de la variation moléculaire et phénotypique d'une espèce forestière en milieu insulaire : cas de *Santalumaustrocaledonicum* en Nouvelle-Calédonie. Thèse de doctorat, Montpellier».
- Boullard. (2010)** «BOUDJEMAA Nour Elyakin et BEN GUEGUA Hadjer, L'effet antibactérien de *Nigella Sativa*. Université Kasdi Merbah Ouargla».
- Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M. et Chaouch A. (2007)** «Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc, *Afrique Science*, 3 (2), pp : 232-242»
- Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M. et Chaabouni M.M. (2008)** «Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*, *J. Soc. Chim. Tunis.*, 10, pp : 119-125».
- Braga P.C., Dal Sasso M., Culici M., GaSastri L., Marceca M.X. et Guffanti E.E. (2006)** «Antioxidant potential of thymol determined by chemiluminescence inhibition in human neutrophils and cell-free systems. *Pharmacology* 76, pp: 61-68».
- Bremness L. (2001)** «Plantes aromatiques et médicinales. BORDAS, France, 303p».

Références Bibliographique

- Bruneton J. (1993)** «Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales *Technique documentation* 2ème Edition Lavoisier, Paris, pp 406, 410»
- Bruneton J. (1999)** «Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris».
- Bruneton J. (1999)** «Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 3ème édition Technique et documentation Lavoisier, 1120p».
- Bruneton J. (1999)** «*Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Ed. Lavoisier, 2ème Ed. Tec & Doc. Lavoisier, Paris. 623»
- Bruneton, J. (2008)** «Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 2ème éd., Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, 1188».
- Bruno Coignard (2008)** «Unité Infections Nosocomiales et Résistance aux Antibiotiques Département Maladies Infectieuses, Institut de Veille Sanitaire Saint-Maurice (94)».
- Bruton J. (1993)** «Photochimie, Plantes médicinales Pharmacognosie, Edition. INRA, France, pp 76-80».
- Burt S. (2004)** «Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94, pp: 223-253».
- Caillet S., Lacroix M. (2007)** «Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand-Frappier, Université de Laval (Québec)»
- Carbonelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Vargas R. (1987)** «Bactériologies médicales : techniques usuelles. Edition SIMEP (2ème tirage), France».
- Carson C.F., Mee B.J. et Riley T.V. (2002)** «Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48, pp: 1914–1920».
- Caurvalin P., Flandrois J.P., Goldstein F., Philippon A., Sirot J. (1988)** «L'antibiogramme automatisé mpc-vigt, Paris».
- Chang S.T., Chen P.F. et Chang S.C. (2001)** «Antibacterial activity of leaf essential oil and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *J of Ethnopharmacology*, 77, pp: 123-127».
- Celikel N., et Kavas G. (2008)** «Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. *Czech J. Food Sci.* , 26, pp: 174-181».

Références Bibliographique

- Charabot E., Dupont J. et Pillet L. (1999)** «Les huiles essentielles et leurs principaux constituants. Ed : Ch. Beranger. Paris, France. 1002p».
- Charpentier B., Hamon-lorleac HF., Harlay A., Huard A., Ridouxl., et Chanselle S. (2008)** «Guide du préparateur en pharmacie. 3^{ème} édition, Elsevier Masson, 135p».
- Chemat F., Abert VianM. Et Dangles O. (2007)** «Essential oils as antioxidants *International Journal of Essential Oil Therapeutics*, 1».
- Cheng S., Huang C., Chen Y., Yu J., Chen W., et Chang S. (2009)** «Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species, *Bioresour. Technol.*, 100, pp: 452-456».
- Costerton J.W., Lewandowski Z., Caldwell D.E., Korber D.R., et Lappin-Scott H.M. (1995)** «Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 49: pp: 711-745».
- Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R. et Wyllie S.G. (2000)** «The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J. Appl. Microbiol.* 88 (1), pp: 170–175».
- Degryse A.C., Delpla I. et Voinier M.A. (2008)** «Risques et bénéfices possibles des huiles
- Denis F. (2007)** «Bacteriologie medicale: techniques usuelles. Elsevier Health Sciences».
- Guba, E. et Lincoln, Y. S. 1989.** « Judging the quality of Fourth Generation Evaluation ». Chap. Dans Fourth Generation Evaluation, p 229-251. London : Sage
- Delarras C. (2010)** «*Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : réglementation, micro-organismes, prélèvements, analyses.* 2e édition, Paris, Éditions Tec et Doc, 542 p».
- Dorman H.J. et Deans S.G. (2000)** «Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plants volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88(2), pp: 308-316».
- Ducel G, Fabry J., Nicolle L. (2002)** «Prevention of Hospital-acquired infections: a practical guide (2nd ed). WHO/CDS/CSR/EPH/12 URL : http://www.who.int/csr/resources/publications/WHO_CDS_CSR_EPH_2002_12/fr/index2.html (Consulté en Octobre 2011) ».
- Dunford N.T. et Vazquez R.S. (2005)** «Effect of water stress on plant growth and thymol and carvacrol concentrations in Mexican oregano grown under controlled conditions. *J. Applied Horticulture*; Vol. 7(1), pp: 20-22».
- Dupont F. et Guignard J. L. (2007)** «Botanique systématique moléculaire. 14ème édition, Masson, Paris, France, p. 248».

Références Bibliographique

- Duraffourd C., D'Hervicourt L. et Lapraz J. C. (1990)** «Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris essentielles. *Atelier santé environnement* –IGS- EHESP, 87p».
- Edris A.E. (2007)** «Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytother. Res.* 21, pp: 308-323».
- Elabed D. et Kambouche N. (2003)** «Les huiles essentielles. Edition : Dar El Gharb. Oran. p : 95».
- El-Ghorab Ahmed H. (2006)** «The chemical composition of the *Mentha pulegium* L. essential oil from Egypt and its antioxidant activity. *J. Essent. Oil. Res.*, 9(2), pp : 183-195».
- Erler F., Ulug I., and Yalcinkaya B. (2006)** «Repellent activity of five essential oils against *Culex pipiens*, *Fitoterapia*, 77, pp : 491-494».
- Fahn A. (1988)** «Secretory Tissues and Factors Influencing their Development. *Phyton* (Austria) Vol. 28, Fasc. 1, pp: 13-26».
- Fanny B. (2008)** «Effet larvicide des huiles essentielles sur stomoxys calcitrans à la réunion. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Université Paul Sabatier de Toulouse. 78p».
- Fanny B. (2008)** «Effet larvicide des huiles essentielles sur stomoxys calcitrans à la réunion. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Université Paul Sabatier de Toulouse. 78p».
- Ferhat M.A., Meklati B.Y. et Chemat F (2010)** «*Citrus d'Algérie : les huiles essentielles et leurs procédés d'extractions* .Ed. Office des publications universitaires, Alger. 157».
- Fernandez-Lopez (2005)** «Antioxidant and antibacterial activities of natural glucosyltransferase activity of streptococcus sodrinus .*Food chem.* (in press)».
- Ferron A. (1976)** «Bactériologie médical à l'usage des étudiants en médecine. 8ème édition. Ed. Groun et Roques, France».
- Festy D. (2012)** «Je ne sais pas utiliser les huiles essentielles, Découvrir l'aromathérapie, Le guide pour se soigner facilement et sans risque. Edition : Leducs. p : 10».
- Figueredo G. (2012)** «Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiacées) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse doctorat, département de Sciences et technologie. Université Blaise pascal, p17».
- G.W., YANG C.J., et XIE L.D. (2007)** «Extraction of *Trigonella foenum-gracum* L. by supercritical fluid CO₂ and its contact toxicity to *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae), *J. Pest. Sci.*, 80, pp : 151-157».

Références Bibliographique

- Gamisans J., Jeanmonod D. (1993)** «Catalogue des plantes vasculaires de la Corse (seconde édition). Edition des conservatoires et jardin botaniques de la ville de Genève, Chambésy, 258p».
- Garnero J. (1996)** «Huiles essentielles. Dossier : K345. Base documentaire : Constantes physico-chimiques. Vol. papier n° : K2».
- Garnero J. (1985)** «Semipreparative separation of terpenoids from essential oil. *Phytotherapy* 15: 19».
- Garnéro J. (1991)** «Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Editions techniques- Encyclopédie des médecines naturelles. (Paris, France), phytothérapie, Aromathérapie, C-2, pp. 2-20».
- Gaspar F. et Leeke G. (2004)** «Essential oil from *Origanum vulgare* L. ssp. *Virens* (HOFFM. And LINK), *JEOR*, 16(2), pp: 82-84».
- Gessard C. (1984)** «Classics in infectious diseases. On the blue and green coloration that appears on bandages. *Rev. Infect Dis.* 6 Suppl 3, pp : 775-776».
- Ghestem A., Seguin E., Paris M. et Orecchioni A.M. (2001)** «Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, -Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. TEC et DOC, Paris».
- Gillj J. (2007)** «Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants».
- Gonzalez-Trujano M.E. (2007)** «Evaluation of antinociceptive effect of *Romarin officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J theopharmacol.* 111 :476-482».
- Grysole J. (2005)** «La commercialisation des huiles essentielles in *Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation – Manuel pratique* : Chapitre 07. Corporation LASEVE (laboratoire d'analyse et de séparation. des essences. végétales), Québec, pp: 139-162».
- Guba E. et Lincoln, Y.S. (1989)** «Judging the quality of Fourth Generation Evaluation Chap. Dans *Fourth Generation Evaluation*, p 229-251. London : Sage».
- Guignard J. L., et Dupont F. (2004)** «Botanique : Systématique moléculaire, 13^{ème} éd. Masson, Paris, 237p».
- Guignard J. L. (1983)** «Abrégé de botanique., Masson 5^{ème} édition, Paris, p 259».
- Guignard J.L. (2000)** «Biochimie végétale. 2^{ème} Ed. De l'abrégé Dunod, Paris, pp.177-185».
- Guy G. (2005)** «Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse. Ed. L'harmattan, Paris. P : 405».
- Kalemba D. & Kunicka A. (2003)** «Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* Vol.10 (10), pp: 813-829».

Références Bibliographique

- Haddaf Y., Kaloustian J., Giordan R., Regli P., Chefrour A., Abou L., Mikail C. et Portugal H. (2004)** «Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L. et de *Thymus numidicus* Poiret d'Algérie- 6^e symposium international d'aromathérapie scientifique et plantes médicinales ; Grasse, France».
- Hafiane A., and Ravaoarino M. (2008)** «Various typing methods of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients. *Med Mal Infect* 38, pp : 238-247».
- Hajji F., Fkih-Tetouani S et Tantaoui-Elarki A. (1993)** «Antimicrobial activity of 21 *Eucalyptus* essential oils., *Fitoterapia*, 64, pp: 71-77».
- Haley R.W., Culver., White J., et Morgan. (1981)** «The nation wide nosocomial infection rate. *Am. J. Med* 1981, 70, pp: 947-959».
- Hamidi Abdelrazeg. (2013)** «Thèse présentée pour obtenir le diplôme de magister en chimie organique, Université Kasdi Merbah-Ourgla. promotion».
- Hammer K.A., CARSON C. F., et RILEY T.V. (1999)** «Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiology*. **86**, pp: 985-990».
- Hardalo C., et Edberg S.C. (1997)** «*Pseudomonas aeruginosa* : Assessment of risk from drinking water. (Review). *Critical Reviews in Microbiology*, 23(1), pp. 47-75».
- Helander I.M., H-L., Alakomi K., Latva-Kala T., Mattila-Sandholm I.P.E. J-Smid, L.G. Gorris M., et Von Wright A. (1998)** «Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, pp: 3590-3595».
- Hellal Z. (2011)** «Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. : Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de magistère, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou».
- Henrich. (2006)** «Ethnobotany and Flavonoids-potent and versatile».
- Hernandez Ochoa L.R. (2005)** «Substitution de solvants et matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse».
- Hidron A.I., Edwards J.R., et Patel J. (2007)** «NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Health care Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*, **29** : pp : 996-1011».
- Huardi D en coll., Huard I. (1981)** «Les huiles essentielles (l'aromathérapie). Edition : DUNOD».

Références Bibliographique

- Hubert R. (2005)** «Les plantes aromatiques et les huiles essentielles à grasse : botanique-culture-chimie-production-marché. Ed. école polytechnique, Paris, pp: 39-66».
- I.T.E.I.P.M.I. (1991)** «Généralités sur le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.).Fiches techniques élaborées à partir de sources multiples. Mise à jour (Janvier), pp : 2-5,7-12».
- Ibanez E., et Aranzazu O. (1999)** «Supercritical Fluid Extraction and Fractionation of Different Preprocessed Rosemary Plants, JAgric. Food Chem, No. 47, pp : 1400- 1404».
- Ida -France J. (1996)** «Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. Info-essence. 3, pp: 5-6».
- Isman, M.B., 2006.** Botanical insecticides , deterrents, and repellents in modem agriculture and an increasingly regulated world. Annual Review Entomology,51, pp: 45-66».
- Jarvis W.R., Edward J.R., Culver D., et Col S. (1991)** «Nosocomial infection rates in adult and pediatric intensive care units in the united states. Am. J. Med, 1991, 91 (supp 3. B) pp : 1955-1915».
- Jazet Dongmo P.M., Tatsadjieu L.N., Tchinda Sonwa E., Kuate J., Amvam Zollo P.H., and Menut C. (2009)** «Essential oils of *Citrus aurantifolia* from Cameroon and their antifungal activity against *Phaeoramularia angolensis*, African Journal of Agricultural Research, 4(4), pp: 354-358».
- Jean-Michel H. (2006)** «Huiles essentielles et médecine. Aromathérapie. [http://www.Phytomania. Com /index.html](http://www.Phytomania.Com/index.html)».
- Juliani R.H., koroch A., Simon J.E ., Hitimana N., Daka A.,Ranarivelo L. et Langenhoven P. (2006)** «Quality of geranium (*Pelargonium* sp) : Case studies in Southern and Eastern Africa, Journal of essential oil research, 18, pp: 116 – 121».
- Kaoutar B., july C., l'Herite au F, Barbut F., Robert J., Denis M. (2004)** «Nosocomial infections and hospital mortality:a multicenter epidemiology study.J Hosp infect;58:268-75».
- Karioti A., Vrahimi-Hadjilouca T., Droushiotis D., Rancic A., Hadjipavlou-Litina D. et Skaltsa H. (2006)** «Analysis of the essential oil of *Origanum dubium* growing wild in Cyprus. Investigation of its antioxidant capacity and antimicrobial activity. Planta Med. 72(14), 1330-1334».
- Kebissi H. (2004)** «Encyclopédie des herbes et plantes médicinales. Dar Al-kotob Al Iliyah, Beyrouth-Liban, 566p».
- Kimball D.A. (1999)** «Citrus processing: A complete guide, 2ème edition, p: 435. Aspen Publication inc., Maryland».

Références Bibliographique

- Kunle, O., et Okogun J. (2003)** «Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippiamultiflora* leaf extract *Phytomedicine* .Vol 10.59-61».
- Lagunez Rivera L. (2006)** «Chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de l'institut national polytechnique de l'étude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur».
- Lahreche K. (2010)** «Extraction et analyse des huiles essentielles de *Mentha pulegium L.* et de *Saccocalyx satureioides*. Test antibactériennes et antifongiques»
- Lais E. (2001)** «L'A B C daire des plantes aromatiques et médicinales. Edition : Flammarion, Paris».
- Lambert R.J.W., Skandamis P.N., Coote P. et Nychas G.J.E. (2001)** «A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.*, 91, pp: 453-462».
- Lamin A., Lhaloui S., Bendjilali B., Brradi M. (2001)** «*Field corps Research*. 71, pp : 9-15».
- Laouer H. (2004)** «Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles *d'Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*. Thèse de Doctorat d'état, Département de Biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif».
- Laouer H. (2004)** «Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles *d'Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*. Thèse de Doctorat d'état, Département de Biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif».
- Lardry J.M. et Haberkorn V . (2007)** «*L'aromathérapie et les huiles essentielles*, *Kinesither Rev.* Ed : Science direct. (61), pp: 14-7».
- Le Minor L., et Veron M. (1982)** «*Bactériologie médicale*. Edition Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 1982, 1ère édition, 2nd tirage, pp : 371-383».
- Le Minor L., et Veron M. (1989)** «*Bactériologie médicale*. 2ème édition. Ed. Flammarion., Paris».
- Lemordant D., Boukef K., et Bensalem M. (1977)** «Plantes utiles et toxiques de Tunisie, *Fitoterapia*, 48, pp: 191-214».
- Leroy O. (1998)** «Pneumonies nosocomiales. *Lettre infect* ; 6 : pp: 254-261».

Références Bibliographique

- Lister P.D., Wolter D.J., et Hanson N.D. (2009)** «Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clin Microbiol Rev* 22, pp: 582-610».
- Lograda Takia., Adel Nadjib Chaker., Jean Claude Chalchat., Messaoud Ramdani., Hafsa Silini., et Gilles Figueredo. (2010)** «Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils of *Genista ulicina* and *G. vepres*, *Natural Product Communications*, 5(5), pp: 835-838».
- Loziene K., et Venskutonis P.R. (2005)** «Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of *Thymus pulegioides*. *Biochem. Sys. Ecol.*; Vol. 33, pp: 517–525».
- Lucchesi M.E. (2005)** «Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes : Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences, discipline : Chimie, Université de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologies, pp: 19. Toulouse, France».
- Magina M.D.A., Dalmarco E.M., Wisniewski A., Simionatto E.L., Dalmarco J.B., Pizzolatti M.G., et Brighente I.M.C. (2009)** «Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Eugenia* species, *J. Nat. Med.*, 63, pp : 345-350».
- Mahenthiralingam E., Campbell M.E., Foster J., Lam J.S., et Speert D.P. (1996)** «Random amplified polymorphic DNA typing of *Pseudomonas aeruginosa* isolates recovered from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 34, pp: 1129-1135».
- Makhloufi A. (2011)** «Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru».
- Mann C.M., Cox S.D., et Markham J.L. (2000)** «The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Tea tree oil). *Lett. Appl. Microbiol.*, 30, pp: 294-297».
- Marotti M., Piccaglia R., Giovanelli E. (1994)** «Effects of planting time and mineral fertilization on Peppermint (*Mentha piperita* L.) Essential oil composition and its biological activity, *Flavour and Fragrance J.*, 9, pp: 125-129».
- Messaili B. (1995)** «Systématique spermaphytes. Botanique. O.P.U. Alger. p63».
- Moleyar V., et Narasimham P. (1986)** «Antifungal activity of some essential oil components, *Food Microbiology*, 3, pp: 331-336».
- Morin P., et Richard H. (1985)** «Thermal degradation of linalylacetate during steam distillation».

Références Bibliographique

- Murcia A., Butler J. et Halliwell B. (1996)** «An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosmary and provençal herb. *Food and Chemical Toxicology.*, 34 (5) ; pp : 449-456».
- Mutai C., Bii C., Vagias C., Abatis D., et Roussis V. (2009)** «Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupanetripenes- *Journal of Ethnopharmacology*; doi : 10.1016/j.jep.02.007».
- Naganuma M., Hirose S., Nakayama Y., Nakajima K. et Someya T. (1985)** «A study of the phototoxicity of lemon oil. *Arch. Dermatol. Res.* 278, pp: 31-36».
- Nielsen P.V. et Rios R. (2000)** «Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil, *Int. J. Food. Microbiol.*, 60, pp: 219-229».
- Noudin C., et Grumbach N. (2000)** «Larousse médicale. Larousse & Bardas, Paris p,1203».
- Oliveira M.J., Iani F.P.C., Oliveira C.B.A., Santos M.R., Souza P.S., Santos S.C., Seraphin J.C. et Ferri P.H. (2005)** «Influence of growth phase on the essential oil composition of *Hyptis suaveolens*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33, pp: 275-285».
- Ormeno E., Fernandez C., et Mévy J.P. (2007)** «Plant coexistence alters terpene emission and content of Mediterranean species. *Phytochemistry*; Vol. 68; pp 840–852».
- Oussala M., Caillet S., Saucier L., et Lacroix M. (2006)** «Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *Meat Sci.*, Vol.73 ; pp: 236-244».
- Oussalah M., Caillet L., Saucier S., et Lacroix M. (2007)** «Inhibitory effects of *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control.* 18 (5), pp: 414-420»
- Palà-paul J., Perez-Alonso M.J., Velasco-Negueruel A., Pala-paul R., Sanz J., et Conejero F. (2001)** «Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* *L.ssp rosmarinifolia*. *Biochemical Systematic and Ecology*, 29, pp: 663-672».
- Paris M. et Hurabielle M. (1981)** «Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed. Masson p.339»
- Pauli A., et Knobloch K. (1987)** «Inhibitory effects of essential oil components on growth of food-contaminating fungi., *Z Lebensm Unters Forsch*; 185: 10-13».
- Pelikan J. (1986)** «Matière première du règne végétal. Ed. C berti édition ; pp VII-21».

Références Bibliographique

- Peng H.Y., et Yang X.E. (2005)** «Volatile constituents in the flowers of *Elsholtzia argyi* and their variation: a possible utilization of plant resources after phytoremediation. *Journal of Zhejiang University Science*, 6B (2), pp: 91-95».
- Pingot A. (1998)** «*Les huiles essentielles*. Ed : Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp: 230- 236»
- Ponce A.G., Fritz R., De Ivalle C. et Roura S.I. (2003)** «Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm.- Wiss.u.-Technol*, 36 :pp 679-684».
- Porter N. (2001)** «Essential oils and their production. *Crop & Food Research*. Number 39».
- Quezel et Santa. (2000)** «Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II, Ed. CNRS, Paris».
- Raisin A. (2009)** «National program early warning investigation and surveillance of health care associated infection in France. Descenlos JC.RAISIN working group.eurosurveil 2009;14(46) pii:19408».
- Rasooli I. Fakoor M.H., Yadegarinia D., Gachkar L., Allameh A., et Rezaei M.B. (2008)** «*Food Chem*. pp : 135-140».
- Regnault-Roger C., Philogène B.J.R., et Vincent C. (2008)** «Biopesticides d'origine végétale. 2^{ème} Ed., Lavoisier, Paris. Edition, 550p»
- ROSS K. (1974)** «Grande Encyclopédie des sciences et des techniques 1974 - Grande Batelière - Éd. Kister - Genève-Érasme»
- Roux D. (2008)** «Conseil en aromathérapie, Ed : Pro-officina. France. Scotti G., 1978 : les insectes et les acariens des céréales stockées, Ed. Coed . AFNORI.T.F.C, 238p».
- Sacchetti et ses Collaborateurs. (2005)** «Growing in Argentina.Bioresource Technology. (In press)».
- Sadjelmassi. (1993)** «Les plantes médicinales du Maroc, Najah et El Djadida Casa».
- Salle J.L. (1991)** «Totum des plantes. Edition : Frison-Roche. Paris, p : 21 – 689».
- Salle J.L. et Pelletier J. (1991)** «Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed. Frison-Roche, pp.19-45».
- Salle J-L. (2004)** «Les huiles essentielles synthèse d'aromathérapie. Edition : Frison-Roche».
- Sikkema J., de Bont J.A.M., et Poolman B. (1994)** «Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem.*, 269; pp: 8022-8028».
- Silvério M.S., Del-Vechio-Vieira G., Pinto M.A., Alves M.S., et Sousa O.V. (2013)** «Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of *Eremanthus erythropappus* (DC) McLeisch (Asteraceae). *Molecules*; 18(8), pp: 9785-9796.»

Références Bibliographique

- Sivropoulou A., Papanikolaou E., et Nikolaou C. (1996)** «Antimicrobial and cytotoxic activities of *origanum* essential oils., J. Agr Food Chem.; 44, pp: 1202-1205».
- Skandamis P., Koutsoumanis K., Fasseas K. et Nychas G. J. E. (2001)** «Inhibition of oregano essential oil and EDTA on *E. coli* O157:H7. Ital. J. Food Sci., 13, pp: 55–65».
- Skocibusic M., Bezic, N., Dunkic, V. (2006)** «Food Chem., (96), pp : 20-28».
- Slimane Z. (2002)** «Contribution à l'évolution de H.E des écorces de fruits de certaine rutacée porte greff. Thèse ingénieur alger ; P : 45».
- Smith C.K., Moore C.A., Alahi E.N., Smart Â.T., et Hotchkiss S.A. (2000)** «Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. Toxicol. Appl. Pharmacol. 168, pp: 189-99».
- Sokmen A., Gulluce M., Akpulat H.A., Dafererad D., Tepe B., Polissiou M., Sokmen M., et Sahin F. (2004)** «The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. Food Control, Vol.15 (8): 627-634».
- Soliman K.M. et Badeaa R.I. (2002)** «Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi, Food Chem. Toxicol., 40, pp: 1669-1675».
- Souza E.L., Oliveira C.E.V., Stamford T.L.M., Conceição M.L. et Gomes Neto N.J. (2013)** «Influence of carvacrol and thymol on the physiological attributes, entérotoxine production and surface characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. Braz. J. Microbiol., 44 (1), 29-35».
- Spurgeon S.L., Porter J. (1981)** «Biosynthesis of Isoprenoid Compounds, Vol. L, John Wiler and Sons, New York.».
- Svoboda K.P. (2000)** «Secretory structures of Aromatic and medicinal plant. Microscopix Publications. Powys».
- Swisso. (2005)** «Plantes aromatiques et médicinales. Cahier des charges. Institut Suisse des huiles essentielles Certification des huiles essentielles Ed. 11 – 2005».
- Teisseire P.J. (1991)** «Chimie Des Substances Odorantes. *Technique documentation Lavoisier*, Paris, Pp 14, pp: 25-30».
- Teuscher. Anton R., et Lobstein A. (2005)** «Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Lavoisier, Paris, 522p».
- Thompson J.D, Chalchat J.C., Michet A., Linhart Y.B., et Ehlers B. (2003)** «Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chémotypes. J. Chem. Ecol., Vol. 29; N°4».

Références Bibliographique

- Touaimi W. (2014)** «L'activité antibactérienne de l'huile essentielle du genévrier « *Juniperus communis* L. sur trois souches pathogènes, Thèse de master, faculté de science de la nature et la vie et des sciences de la terre et d'univers, Université de Khemis -Miliana».
- Trombetta D., Castelli F., Sarpietro M.G., Venuti V., Cristani M., Daniele C., Saija A., Mazzanti G., et Bisignano G. (2005)** «Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49(6), pp: 2474-2478».
- Tsai et al. (2007)** «In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and effects on lipid oxidation and during storage of ground beef. *Meat Science*. 73, pp.413-421».
- Tutin T.G. (1968)** «Flora Europaea. Cambridge University Press, Cambridge, Ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse de Doctoral. Polytechniques fédérale de Lausanne».
- Tzortzakis N.G. (2006)** «Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds, *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 8, pp: 111-116».
- Ultee A., Bennik M.H. et Moezelaar R. (2002)** «The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, pp: 1561–1568».
- Van Alst N.E., Wellington M., Clark V.L., Haidaris C.G., et Iglewski B.H. (2009)** «Nitrite reductase NirS is required for type III secretion system expression and virulence in the human monocyte cell line THP-1 by *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Immun* 77: pp: 4446-4454».
- Vender-Jagt T.J., Ghattas R., Vender J.D., Crossey M., et Gln R.H. (2002)** «Life science, 70, pp: 1035-1040».
- Valnet J. (2000)** «Aromathérapie (Encyclopedie). Edition : Encyclopedia Universalis, Paris. *Technique documentation* 2ème Edition Lavoisier, Paris, pp 406, 410».
- Viollon C., et Chaumont JP. (1994)** «Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans*., *Mycopathologia*; 128, pp: 151-153».
- Williams E.P., et Cameron K. (1894)** «Infection by the *Bacillus Pyocyaneus* a Cause of Infantile Mortality. *Public Health Pap Rep* 20: pp : 355-360».
- Yayi E., Joachin D., Gbenou, Léon A., Ahoussi M., Moudachirou J.C., et Chalchat. C.R. (2004)** «*Ocimum gratissimum* L., siège de variations chimiques complexes au cours du développement. *Chimie*, 7, pp: 1013–1018».

Références Bibliographique

- Zabeirou Hachimou. (2005)** «Étude comparative entre les Huiles essentielles de la Menthe Verte (*Mentha Spicata* L) et de la Poivree (*Mentha Piperita* L) dans la région d'Ouargla Mémoire de DES Biochimie –Université de Kasdi Merbbah_Ouargla .p16».
- Zebiri A., Hachachma K. (1998)** «Valorisation du potentiel aromatique du Romarin et du Pin d'alep. Mémoire d'ingénieur, Univ. Blida, pp: 24-42».
- Zheljzakov V.D., Craker L.E., et Xing B. (2005)** «Effects of Cd, Pb and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint and basil. Environmental and experimental botany».
- Zhiri A. (2006)** «Les huiles essentielles : un pouvoir antimicrobien avéré. Natural News. Science, Nutrition, Prévention et Santé, Edité par la Fondation pour le libre choix, 12, p: 8»
- Zomorodian K., Saharkhiz M.J., Shariati S., Pakshir K., Rahimi M. J., et Khashei R. (2012)** «Chemical Composition and Antimicrobial Activities of Essential Oils from *Nepeta cataria* L. against Common Causes of Food-Borne Infections. ISRN Pharm.,1-6».
- أبو زيد ن.ح (2000) النباتات العطرية و النباتات الزراعية و الدوائية.الدار العربية للنشر و التوزيع القاهرة 472 صفحة

WEBEGRAPHIE

- Anonyme1.(2004)**«www.mrnf.gouv.qc.ca/forets/fimaq/insectes/fimaq-insectes-insectes-squeletteuses.jsp».
- Anonyme2. (2004)**
«<http://sante.journaldesfemmes.com/temoignage/temoignage/373147/allergie-a-la-menthe>».
- Anonyme. (2008)**
«<https://www.google.dz/maps/place/واد+الشرفاء/@36.1488477,2.5264746,11z/data=!4m2!3m1!1s0x128f5e57b5999393:0x13a3b3bd4ebe7a6c?hl=ar-DZ>».
- Anonyme. (2011)** «<http://www.ctcb.com.2011>»
- Anonyme. (2015)** «<http://perso.wanadoo.fr/philippe.julve/catminat.htm>».
- Ducel G, Fabry J., Nicolle L. (2002)**
«http://www.who.int/csr/resources/publications/WHO_CDS_CSR_EPH_2002_12/fr/index2.html»

Annexes

Annexe 01 : Milieux de culture et tampons

Eau physiologique

NaCl	8,5g
H ₂ O distillée qsp.....	1 000ml

Milieu King B (KB) (pH = 7.2)

Peptone.....	20g
Glycérol.....	10ml
Hydrogenophosphate de potassium (K ₂ HPO ₄).....	1,5g
Sulfate de magnésium (MgSO ₄).....	1,5g
Agar.....	12g
H ₂ O distillée qsp.....	1 000ml

Milieu Mueller-Hinton gélosé (MH) (pH = 7.4)

Infusion de viande de bœuf	2g
Peptone de caséine.....	17.5g
Amidon.....	1.5g
Agar	17g
H ₂ O distillée.....	1 000ml

Autoclavage pendant 15 min à 115°C

Annexe 02 : Materiel utilisés



Figure 01 : Bain marie



Figure 02 : Ecouillons stériles



Figure 03 : Disques Wattman stériles



Figure 04 : Vortex



Figure 05 : Bec bunsen



Figure 06 : Anse de platine stérile



Figure 07 : Incubateur



Figure 08: Autoclave

Annexe 03 : Résultats du test antibactérien

Tableau 01: Diamètre (en mm) des zones d'inhibition de l'huile essentielle de la menthe pouliot sur *P. aeruginosa*

	Dose (%)	Répétition 01	Répétition 02	Répétition 03	Moyennes
Diamètres des zones d'inhibition	HE pure (100%)	20	14	16	16.66
	2%	17	17	14	16
	1%	16	14	12	14
	0.5%	15	12	12	13
	0.25%	14	11	11	12
	0.125%	9	9	9	9
	0.06%	9	9	9	9

Annexes

Tableau 02: Diamètre (en mm) des zones d'inhibition de l'huile essentielle du romarin sur *P. aeruginosa*

	Dose (%)	Répétition 01	Répétition 02	Répétition 03	Moyennes
Diamètres des zones d'inhibition	HE pure (100%)	18	16	14	16
	2%	14	15	13	14
	1%	13	14	12	13
	0.5%	13	11	12	12
	0.25%	13	9	11	11
	0.125%	12	9	9	10
	0.06%	10	12	9	10