

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة المسيلة

UNIVERSITE DE M'SILA



FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

MEMOIRE: MASTER ACADEMIQUE

DOMAINE: SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE: BIOLOGIE

OPTION: ANALYSES BIOCHIMIQUES

Présenté par

MAHROUG Samira

Thème:

**Caractérisation et l'activité antibactérienne des composants volatiles
des fleurs de *Magydaris pastinaceae***

DEVANT LE JURY:

BOUAOUICHE A.

MCB

Président

GUESMIA K.

MAA

Encadreur

HENDEL N.

MAA

Examineur

TOUMATIA O.

MAA

Examineur

Promotion: 2013-2014

Remerciements

Je remercie "Allah" le tout puissant qui m'a aidé à faire ce travail.

Je suis très sensible à l'honneur que me font Madame la Professeure Guesmia. K en acceptant d'être l'encadreur de ce travail. Je suis très heureux de bénéficier de ses observations. Merci pour son infinie patience, sa direction rigoureuse, sa grande expérience, ses précieux conseils et ses encouragements dynamiques qui ont permis le bon déroulement et l'aboutissement de ce travail de thèse.

Je remercie Monsieur le professeur Bouaouiche. A, de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse. Je veux aussi remercier Messieurs: Le Professeur Tomatia .O, et le professeur Hendel. N pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de participer à ce jury.

Je remercie infiniment ceux qui travaillent au laboratoire du département "Microbiologie et biochimie"

Je remercie sincèrement ceux qui travaillent au laboratoire de l'hôpital Ezzahraoui de M'sila pour leur aide

Un grand merci à Mr. Ben Khaled, le chef du département "Microbiologie et biochimie" et à tous mes professeurs pour leurs enseignements

A grand merci aussi à tous mes collègues de " Analyses Biochimiques" promotion 2014 pour leur aide et leur encouragement durant ma réalisation de ce travail



Dédicace

Je dédie ce modeste travail:

*A mes parents,
Pour vos mains qui ont tant travaillées,
Pour votre cœur qui m'a tant donné
Pour votre sourire qui m'a tant réchauffé,
Pour vos yeux qui furent parfois mouillés,
Pour vous qui m'avez tant aimé.*

A mes très chères sœurs Sabah, Souhila, Khaira

A ma sœur Fouzia et son époux Mohamed

A ma sœur Assia et son époux Nouredine

A Mon frère Midou

Aux petites fleurs de la famille; Chourouk, Ikram, Alaa

A Mon petit nièce Anis

A ma très chère copine, amie, camarade et sœur Samiha

A tous mes amies.



Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	01

PARTIE THEORIQUE

I. Généralités sur les plantes médicinales	03
1.1. Les Plantes médicinales	03
1.1.1. Définition et importance des plantes médicinales	03
1.1.2. Le pouvoir des plantes médicinales	03
1.1.3. Les principes actifs des plantes	03
1.1.3.1. Définition des principes actifs	03
1.1.3.2. Différents types des principes actifs	06
1.1.4. Modes de préparation des plantes pour la phytothérapie	07
1.2. La phytothérapie	07
1.2.1. Définition de la phytothérapie	07
1.2.2. Différents types de la phytothérapie	08
1.2.3. Les avantages de la phytothérapie	08
1.3. La plante à tester	09
1.3.1. Description botanique	09
1.3.1.1. Taxonomie	09
1.3.1.2. Famille d'Apiaceae	09
1.3.1.3. Le genre <i>Magydaris</i>	10
II. Généralités sur les huiles essentielles	12
2.1. Définition	12
2.2. Caractères physiques	12
2.3. compositions chimiques	13
2.3.1. Les terpénoïdes	13
2.3.2. Les phénylpropanoïdes	15
2.4. Répartition, localisation	16
2.5. Modes d'extraction	16
2.5.1. L'extraction par expression	16

2.5.2. La distillation	16
2.5.3. Extraction par les solvants	17
2.5.4. Extraction au fluide supercritique	17
2.5.5. Extraction par micro-ondes	18
2.6. Les méthodes d'analyses des huiles essentielles	18
2.6.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	19
2.6.2. Chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (CPG/SM).....	19
2.8. Activités biologiques	20
2.8.1. l'activité antimicrobienne	20
2.8.2. Mécanisme d'action des huiles essentielles sur les microorganismes	21

PARTIE EXPERIMENTALE

III. Matériel et méthodes	22
3.1. Matériel biologique	22
3.1.1. Matériel végétal	22
3.1.2. Les souches bactériennes	22
3.1.3. Les milieux de cultures	22
3.1.2. Matériel chimique	22
3.1.2.1. Les solvants organiques	22
3.1.2.2. Les antibiotiques utilisés	23
3.2. Méthodes	23
3.2.1. L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation	23
3.2.1.1. Détermination du rendement d'extraction	24
3.2.1.2. La mesure de densité	24
3.2.2. L'analyse chromatographique de l'huile essentielle	25
3.2.2.1. L'analyse par chromatographie gazeuse (CG)	25
3.2.2.2. L'analyse par chromatographie gazeuse/spectrométrie de masse (CG-SM).....	25
3.2.2.3. L'identification des composants	25
3.2.3. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles <i>in vitro</i>	26
IV. Résultats et discussion	28
4.1. Résultats	28
4.1.1. Rendement en huiles essentielles de <i>M. pastinacea</i>	28
4.1.2. L'analyse chimique de l'huile essentielle de <i>M. pastinacea</i>	28
4.1.3. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>M. pastinacea</i>	31

4.2. Discussion	34
4.2.1. Rendement en huile essentielle	34
4.2.2. L'analyse chimique de l'huile essentielle	34
4.2.2. L'activité antibactérienne	35
Conclusion	37

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

ADN: Acide DésoxyriboNucléique.

AFNOR: la norme de l'Association Française de Normalisation.

ARN: Acide RiboNucléique.

ATB: AntiBiotique.

ATCC: American Type Culture Collection.

B. cereus: *Bacillus cereus*.

BHIB: Bouillon Brin Heart Infusion.

CG/FID: Chromatographie de Gaz/ Détecteur à Ionisation de Flamme.

CMB: Concentration Minimale Bactéricides.

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice.

CG/SM: Chromatographie Gaz/ Spectrophotométrie de Masse.

CPG: Chromatographie en Phase Gaz.

DMSO: DiMéthylSulfOxyde.

E. coli: *Escherichia coli*.

HE: Huile Essentielle.

M. Pastinaceae: *Magydaris pastinaceae*.

MH: milieu de Muller Hinton.

NaCl: Chlorure de sodium.

NIST: National Institute of Standards and Technologie.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

P. mirabilis: *Proteus mirabilis*.

Ri: Retention Indice.

S. aureus: *Staphylococcus aureus*.

SEM: Moyenne d'Erreur Standard.

UFC: Unité Formant Colonie.

Liste des figures

Figure 01: La plante de <i>Magydaris pastinacea</i> .	11
Figure 02: Structure de la molécule d'isoprène.	13
Figure 03: Structure de quelques monoterpénoïdes.	14
Figure 04: Structure de quelques sesquiterpénoïdes.	15
Figure 05: Structure de quelques composés dérivés du phénylpropan.	15
Figure 06: Schéma de principe d'une extraction par hydrodistillation.	17
Figure 07: Système d'extraction des huiles essentielles par micro-ondes.	18
Figure 08: Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation.	24
Figure 09: Principe de la méthode de diffusion par disque.	26
Figure10: L'effet de l'HE de <i>M. pastinaceae</i> (a) et de l'antibiogramme (b) sur <i>E. coli</i> .	32
Figure11: L'effet de l'HE de <i>M. pastinaceae</i> (a) et de l'antibiogramme (b) sur <i>S. aureus</i> .	32
Figure12: L'effet de l'HE de <i>M. pastinaceae</i> (a) et de l'antibiogramme (b) sur <i>B. cereus</i> .	33
Figure13: L'effet de l'HE de <i>M. pastinaceae</i> (a) et de l'antibiogramme (b) sur <i>P. mirabilis</i> .	33
Figure14: l'effet de DMSO sur la croissance d' <i>E. coli</i> (a), de <i>S. aureus</i> (b) de <i>B. cereus</i> (c) et <i>P. mirabilis</i> (d).	33

Liste des tableaux

Tableau 01: les souches bactériennes utilisées	22
Tableau 02: Les antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme	23
Tableau 03: Composition en pourcentage des huiles de <i>M. pastinacea</i> d'origine algérienne (MAI)	29
Tableau 04: Diamètres (mm) des zones d'inhibition de l'HE de <i>M. pastinaceae</i>	31
Tableau 05: Diamètres (mm) des zones d'inhibition de l'antibiogramme	32

Introduction

Introduction

De tout les temps, les plantes ont occupées une place prépondérante dans la vie de l'homme. Toutes les civilisations connues ont utilisé les plantes soit sauvages soit cultivées pour se nourrir, se défendre, se vêtir ou se soigner. Ces utilisations se sont diversifiées au fil des temps pour s'adapter aux besoins. Les plantes médicinales ont connu les mêmes modifications. Elles sont employées parfois de façon sélective grâce à la tradition. Les connaissances empiriques accumulées ont permis aux différentes civilisations de prendre les plantes comme source essentielle de médicaments. Jusqu'au début du 20eme siècle, presque tous les médicaments étaient à base de plantes.

De nos jours, et surtout dans les pays du tiers monde, la phytothérapie occupe encore une place importante. La flore de ces pays reste assurément riche et prometteuse, tant dans la perspective de découvrir de nouvelles espèces botaniques que de trouver des nouvelles molécules ayant une activité thérapeutique, pour la mise au point de nouveaux médicaments.

Les plantes aromatiques et médicinales possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications des leurs huiles essentielles dans les soins de santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux (Tchamdja, 1995).

La popularité dont jouissent depuis longtemps les HEs et les plantes aromatiques en général reste liée à leurs propriétés médicinales en l'occurrence les propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, antivirales, antifongiques, bactéricides, antitoxiques, insecticides et insectifuges, tonifiantes, stimulantes, calmantes, etc (Nicolas, 1991 ; Mishara and Dubey., 1994).

L'objectif de notre travail vise à isoler l'HE d'une plante de la famille d'Apiaceae et de déterminer leur composants chimiques et finalement d'étudier leur l'activité antibactérienne. Ce travail est structuré en deux parties importantes:

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur deux chapitres: le premier chapitre présente un bilan bibliographique des connaissances sur les plantes médicinales, également que la plante sélectionnée. Le deuxième chapitre dresse une revue de littérature sur les HEs, leur localisation dans la plante, leurs caractéristiques, leur

Introduction

composition chimique, les principales méthodes de leur extraction et leur méthodes d'analyses, et leur activités biologiques.

La deuxième partie illustre le matériel et les méthodes utilisés ainsi que les résultats obtenus et leur discussion.

En dernier, une conclusion générale résumant les résultats obtenus de cette étude.

I. Généralités sur les plantes médicinales

1. 1. Les plantes médicinales

1. 1. 1. Définition et importance des plantes médicinales

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Farnsworth *et al.*, 1986).

Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Elqaj *et al.*, 2007)

Selon les estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 80 % de la Population mondiale, surtout dans les pays en voie de développement, ont recours aux traitements traditionnels pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et des soins primaires (OMS, 2002)

1. 1. 2. Le pouvoir des plantes médicinales

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes. Depuis XVIIIème siècle, au cours duquel des chercheurs ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent, on considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs. La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels (Iserin *et al.*, 2001).

Aujourd'hui les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre la malaria ou sans la digoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes (Iserin *et al.*, 2001).

1. 1. 3. Les principes actifs des plantes

1. 1. 3. 2. Définition des principes actifs

Le principe actif est une molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal. Le principe actif est contenu dans une drogue végétale ou une préparation à base de drogue végétale.

Une drogue végétale en l'état ou sous forme de préparation est considérée comme un principe actif dans sa totalité, que ses composants ayant des effets thérapeutiques soient connus ou non. (Pelt, 1980).

1. 1. 3. 1. Différents types des principes actifs

Les principes actifs des plantes peuvent être regroupés en plusieurs familles parmi lesquelles:

- Les phénols

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique.

Les phénols sont en principe solubles dans les solvants organiques polaires; ils sont soluble dans les solutions d'hydroxyde de sodium et de carbonate de sodium (Bruneton, 1999).

Il existe une très grande variété de phénols, de composé simple comme l'acide salicylique molécule donnant par synthèse de l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phénolique auxquels sont rattachés les glucosides. les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques (Herbert, 1989; Iserin *et al.*, 2001).

Ils sont des composés avec la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre comme: thymol, carvacrol et eugénol. Les phénols entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utiles dans les infections bactériennes, virales et parasitaires, quelle que soit leur localisation. Le thymol et l'eugénol sont responsables des activités fongicides et bactéricides des huiles essentielles qui en contiennent (Zhiri, 2006).

La molécule de thymol exerce un effet inhibiteur et létal sur différentes souches et, parmi elles, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, sur les quelles elle provoque des fuites d'ions potassium. Par contre, elle n'est pas active sur *Pseudomonas aeruginosa* (Zhiri, 2006).

Les acide phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoire et peuvent avoir des propriétés antivirales (Iserin *et al.*, 2001).

a- Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autre, à colorer les fleurs et les fruits. Ils ont un important champ d'action et possèdent des nombreuses vertus médicinales antioxydants. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, et des effets protecteurs sur le foie (Paris et Hurabielle, 1981; Iserin *et al.*, 2001).

b- Les tanins

Le terme « Tannin » décrit en général un groupe de composés phénoliques polymériques capables de tanner le cuir ou de précipiter les protéines (Bruneton, 1999; Cowan, 1999).

Ce sont des métabolites secondaires des plantes supérieures que l'on trouve pratiquement dans toutes les parties des végétaux (écorces, racines, feuilles, fruits, etc.). Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas de veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (Bruneton, 1999).

c- Les coumarines

Les coumarines sont des composés phénoliques constitués d'un benzène et des noyaux α -pyrènes (Cowan, 1999).

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. La coumarine, connue pour ses propriétés anti-œdémateuses, a fait l'objet d'étude cliniques chez des patients atteints de cancer avancés: elle est immunostimulante et développerait une activité cytotoxique (Bruneton, 1999; Cowan, 1999).

d- Les saponines

Principaux constituants de nombreuses plantes médicinales, les saponines doivent leur nom au fait que, comme le savon, elles produisent de la mousse quand on les plonge dans l'eau. Les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpénoïdes. La structure chimique des stéroïdes est similaire à celle de nombreuses hormones humaines (œstrogène, cortisone), et de nombreuses plantes qui en contiennent ont un effet sur l'activité hormonale (Iserin *et al.*, 2001).

- Les terpènes

Les terpènes (terpénoïdes) sont des constituants habituels des cellules végétales. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à cinq atomes de carbone (C_5H_8).

Les travaux sur l'essence de térébenthine sont à l'origine du terme "terpènes" donné aux hydrocarbures de formule brute $C_{10}H_{16}$. On les trouve fréquemment dans les huiles volatiles des plantes, nommées huiles essentielles car elles renferment la "*Quinta essentia*", la fragrance de la plante (Teisseire, 1991; Lamarti *et al.*, 1994).

- Les alcaloïdes

Formant un groupe très large, les alcaloïdes possèdent presque tous une molécule d'azote (N) qui les rend pharmaceutiquement très actifs. Certains sont des médicaments connus qui ont des vertus thérapeutiques avérées. C'est le cas d'un dérivé de la pervenche de Madagascar (*Vinca roseasyn. Catharanthus roseus*) employé pour traiter certains types de cancer. D'autres alcaloïdes, comme l'atropine, présente dans la belladone (*Atropa belladonna*), ont une action directe sur le corps: activité sédatrice, effet sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (Paris et Hurabielle., 1981; Iserin *et al.*, 2001).

1. 1. 4. Modes de Préparation des Plantes pour la Phytothérapie

En phytothérapie, il y a plusieurs modes de préparation des plantes, selon l'usage que l'on veut en faire:

- L'infusion

On obtient une infusion, en prolonge une plante pendant une durée de 5 à 15 minutes (selon la plante) dans de l'eau bouillante dans un récipient couvert. Pour les fleurs, mettez-les dans le fond d'un pot, et versez l'eau bouillante dessus (Schauceuberg et Paris, 2005).

- La décoction

On obtient une décoction, en faisant bouillir de façon prolongée, et à feu doux, une plante. Il faut mettre la plante dans l'eau encore froide, puis la faire bouillir entre 2 à 15 minutes (sachant que les écorces et les racines doivent bouillir plus longtemps que les feuilles et les tiges) (Schauceuberg et Paris, 2005).

- La macération

On obtient une macération, en laissant une plante dans un solvant (eau, vin, alcool ou huile) à froid pendant un temps assez long (de quelques heures à plusieurs jours, voire plusieurs semaines). La macération doit se faire dans un récipient à l'abri de l'air et de la lumière (Schauceuberg et Paris, 2005).

- Les extraits

Il existe différents types d'extraits. L'extrait fluide s'obtient en prolongeant une plante dans une masse d'eau ou d'alcool égale à plusieurs fois la masse de plante, puis en laissant s'évaporer jusqu'à ce que le poids du liquide soit égal à celui de la masse de plante initiale.

L'extrait mou, est basé sur le même principe, sauf que l'on pousse l'évaporation jusqu'à ce que le produit ait la consistance du miel. Les autres intermédiaires entre ces deux niveaux d'évaporation sont appelés simplement extraits (Schaueuberg et Paris, 2005).

- Le cataplasme

Le cataplasme s'obtient en broyant la plante fraîche, et en l'appliquant ensuite sur la zone à traiter. Afin d'éviter que le cataplasme n'adhère (entre autre sur une plaie). Les plantes doivent être parfaitement propres avant d'être broyées, et doivent même être trempées dans une solution antiseptique neutre si elles doivent être appliquées sur une plaie. On peut aussi faire des cataplasmes chauds, en utilisant des plantes cuites. Dans ce cas faire attention de ne poser le cataplasme qu'une fois qu'il a atteint une température acceptable (afin d'éviter de brûler la personne). Une fois posé, le cataplasme doit être recouvert d'une ligne, ou d'une bande si nécessaire (Schaueuberg et Paris, 2005).

- Le sirop

On obtient du sirop simple en dissolvant à froid ou à chaud 180 g de sucre dans 100 g d'eau. On peut ensuite y ajouter des principes actifs selon les besoins (Schaueuberg et Paris, 2005).

- L'huile et l'huile essentielle

On obtient l'huile en laissant à température douce (voire tiède) la moitié d'un bocal rempli de plantes fraîches ou sèches ou de racines broyées, dans de l'huile remplissant le reste du bocal. Remuez de temps en temps le mélange, puis décantez le tout, et mettez l'huile dans un flacon. L'huile rancit vite, il faut donc en faire peu à la fois, et en refaire souvent.

Les huiles essentielles sont obtenues soit par entraînement à la vapeur d'eau (à partir de drogue végétales séchées ou fraîches), soit par expression du péricarpe frais, sans chauffage, dans le cas des drogues du genre Citrus (Schaueuberg et Paris, 2005).

1. 2. La phytothérapie

1. 2. 1. Définition de la Phytothérapie

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques: *phuton* et *therapeia* qui signifient respectivement "plante" et "traitement".

La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au

moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe (Wichtl et Anton, 2003; Catier et Roux, 2007).

1. 2. 2. Différents types de la Phytothérapie

De nos jours et dans les pays occidentaux, il existe plusieurs spécialités, éventuellement combinées entre elles, qui utilisent les plantes à des fins médicales.

- **Aromathérapie:** est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes. Ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.

- **Gemmothérapie:** se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules.

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

- **Homéopathie:** Elle a recours aux plantes mais pas uniquement. On peut aussi trouver, en plus petites quantités, des souches d'origines animale ou minérale. Les plantes fraîches sont utilisées après une macération alcoolique.

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

1. 2. 3. Les avantages de la phytothérapie

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus.

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite (Iserin *et al.*, 2001).

1. 3. La plante à tester

1. 3. 1. Description botanique

1. 3. 1. 1. Taxonomie de l'espèce *M. pastinacea* (Pignatti, 1982).

Règne : Plante

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Apiales

Famille : Apiaceae

Genre: *Magydaris*

Espèce: *Magydaris pastinacea*

1. 3. 1. 2. Famille d'Apiaceae

La famille constituant les plantes aromatiques médiévales est la famille des Apiacées (Apiaceae), appelée anciennement Ombellifère (Umbelliferae). Elle comprend près de 3000 espèces réparties en 420 genres qui sont surtout présentes dans les régions tempérées du monde. C'est une famille relativement homogène, caractérisée notamment par son inflorescence typique, l'ombelle. C'est une vaste famille complexe regroupant des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou vivaces, et parfois des arbustes (Moreau, 1960).

Les feuilles sont alternes, souvent grandes et pennatifides (découpées en lobes profonds) mais aussi simples. Leur base est souvent engainante et élargie (Moreau, 1960).

La forme des fleurs a valu à cette famille son ancien nom; ce sont des ombelles composées le plus souvent d'une ombelle primaire, avec ou sans bractées, dont chaque branche ou rayon porte une ombelle secondaire (ombellule) avec ou sans bractées secondaires (bractéoles). Les fleurs sont souvent petites, à cinq parties; les pétales toutes de même taille ou nettement irrégulières, les fleurs externes d'une ombelle pouvant avoir des pétales externes nettement plus grands que les autres. Les fruits sont souvent déterminants pour identifier genres et espèces se ressemblants. Du fait de leurs groupes de petites

fleurs en ombelles qui offrent un abondant nectar et une bonne plate-forme d'atterrissage, les ombellifères sont particulièrement appréciées par les insectes pollinisateurs (Moreau, 1960).

Cette famille riche en métabolites secondaires présente des intérêts économiques et médicaux, comportant des coumarines, flavonoïdes, composés acétyléniques et des lactones sesquiterpéniques, ainsi qu'une grande richesse en huile essentielle. Cette famille de plantes est bien connue pour avoir une quantité importante d'huile essentielle dans la quasi-totalité de ses organes anatomiques (Bruneton, 1999; Reynaud, 2002).

La famille des Apiaceae occupe une place importante dans la flore algérienne où elle est représentée par 56 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 26 sous espèces (Quezel et Santa, 1963).

1. 3. 1. 3. Le genre *Magydaris*

Grandes plantes vivaces atteignant 2-2,5 m. Feuilles primordiales 3-5 lobées, les autres à 3 segments ovales allongés, obtusément dentées, les supérieures 3-lobées cordées à la base. Ombelles très grandes 20-30 cm. Fleurs blanches. Fruits allongés tomenteux. Ce genre comprend deux espèces différentes (Quezel et Santa, 1963).

- *Magydaris pastinacea* (Lamk.) Paol.

L'espèce *M. pastinacea* est caractérisé par des feuilles pubescentes en dessous, involucre et involucelle à bractées lancéolées aiguës, longues de 5-6 et 2-3 cm, des ombelles à 40-50 rayons figure 01. Elle se développe principalement dans le Tell et les montagnes. Cette espèce a un deuxième nom scientifique qui est *M. tomentosa* Koch et un nom vernaculaire qui est «Ouaffel» (Quezel et Santa, 1963).

M. pastinacea (Lamk.) Paol. présent en Sicile, Sardaigne, Corse, Baléares et l'Afrique du Nord (Tunisie, Algérie et Maroc) (Euro + Med PlantBase).

Des études antérieures sur cette espèce ont permis l'isolement de plusieurs glucosides des rhizomes frais (Cerri et al., 1995) et des coumarines connues à partir du fruit (Camarda et al., 1996). Plus récemment, les activités antibactériennes et anti-coagulantes des coumarines isolées à partir des fleurs ont été étudiées (Rosselli et al., 2006).



Figure 01: La plante de *Magydaris pastinacea*

- *Magydaris panacifolia* (Vahl.) Lange

L'espèce *M. panacifolia* est une plante à des feuilles seulement hispides sur les nervures à la face inférieure, involucre et involucelle à bractées lancéolées de 2-3 et 1-2 cm, des ombelles à 10-20 rayons, se développe dans la même station mentionnée précédemment. Cette espèce porte un autre nom, qui est *M. panacina* (Vahl.) Lange, et un nom vernaculaire «Tafifra» (Quezel et Santa, 1963).

Des études phytochimiques sur *M. panacifolia* (De Pascual Teresa *et al.*, 1978) ont indiqué la présence de magydardienol, une nouvelle diterpène monocyclique irrégulière, dont la structure a été corrigé par la suite (Nagano *et al.* 1987) et démontré être identique à bonandiol, isolé à partir de *Bonannia graeca* (L.) Halacsy (Apiaceae) (Bruno *et al.*, 1984), et de plusieurs coumarines (Pinar, 1977).

II. Généralités sur les huiles essentielles

2. 1. Définition

Le terme huile essentielle (HE) dérive de « *quinta essentia* », un nom donné par le médecin suisse Paracelsus aux extraits de plantes obtenues par distillation, il signifie la fragrance et la quintessence de la plante (Hart *et al.*, 2008).

Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les HEs ne contiennent pas de corps gras (lipides), et ne sont pas « essentiel » dans le sens qu'elles sont nécessaires à la croissance ou au métabolisme. Ce sont des composés aromatiques volatils, qui ont un aspect huileux, elles sont obtenues à partir de plantes aromatiques par plusieurs procédés d'extraction (Burt, 2004).

2. 2. Caractères physiques

Les HEs sont généralement liquides et volatiles à température ambiante. La volatilité dépendra de la composition chimique, une HE riche en monoterpènes sera plus volatile qu'une HE riche en sesquiterpènes. Si l'on dépose une goutte d'huile végétale (par exemple de tournesol) sur une feuille de papier, la tache de gras reste indélébile; on parle dans ce cas d'huile «fixe». Dans les mêmes conditions, pour une HE riche en monoterpènes, la tache disparaîtra plus ou moins lentement.

Elles sont plus ou moins colorées. Elles peuvent être incolores lors de leur obtention (ou légèrement colorées en jeune) pour la majorité d'entre elles, et foncent au cours de la conservation à l'air et à la lumière. Dans les cas extrêmes, l'huile essentielle vieillie et oxydée peut présenter des risques de toxicité. Notons cependant quelques couleurs caractéristiques: rouge pour l'HE de cannelle, bleue pour le camomille et vert pour l'absinthe.

Elles présentent une densité souvent inférieure à 1. En revanche, celles de cannelle de Ceylan et des clous de girofle, sont légèrement supérieures à 1.

Elles ont un indice de réfraction élevé et devient souvent la lumière polarisée à cause de présence de molécules énantiomères. Elles sont en général solubles dans les solvants organiques courants (alcool éthylique, hexane,...) et dans les matières grasses. Leurs solubilité dans l'eau est quasiment nulles (inférieure à 1%); elle dépendra de la présence de terpènes possédant des fonctions organiques polarisées (par exemple, alcool, aldéhyde) (Paris et Hurabielle, 1981; Kaloustian et Minaglou, 2012).

2. 3. Compositions chimiques

Les HEs représentent un mélange complexe de molécules chimiques qui peuvent comporter plus de soixante composants différents, parmi lesquels deux ou trois sont des composants majeurs constituant de 20 à 70% du mélange comparativement aux autres qui se trouvent le plus souvent sous forme de traces. Généralement ces composants majeurs déterminent les propriétés biologiques de l'HE (Bakkali *et al.*, 2008).

La plupart des composants des HEs sont inclus dans deux groupes: les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes, les deux sont synthétisés à travers deux voies métaboliques séparées (Bruneton, 1999; Calsamiglia *et al.*, 2007).

2. 3. 1. Les terpénoïdes

Ils représentent le groupe le plus diversifié des métabolites secondaires des végétaux. Ils dérivent d'une structure de base à cinq carbones (C_5H_8), communément appelée isoprène (Figure 02) (Paris et Hurabielle, 1981).

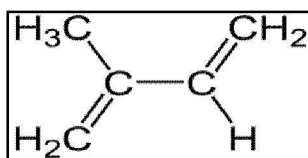


Figure 02: Structure de la molécule d'isoprène (Belaiche, 1979)

Selon le nombre répétitif de cette unité, les terpénoïdes sont classés en: monoterpénoïdes (C_{10}), sesquiterpénoïdes (C_{15}) et diterpénoïdes (C_{20}). Dans la composition de la plupart des huiles essentielles les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes forment la majeure partie (Bruneton, 1999; Calsamiglia *et al.*, 2007).

Les monoterpènes: peuvent être des composés acycliques, monocycliques, ou bicycliques et de formule générale ($C_{10}H_{16}$) (Belaiche, 1979). Ils portent des fonctions dont le degré d'oxydation est variable (alcool, aldéhyde, cétone) (Wichtl et Anton, 1999). Parmi les monoterpènes retrouvés chez les HEs on peut citer:

- Les monoterpènes acycliques: Ce sont des alcools (linalol, géraniol...) et des aldéhydes (citronellal, néral...) (Paris et Hurabielle, 1981).

- Les monoterpènes monocycliques: ce sont des alcools (menthol), des carbures (limonène), des cétones (carvone, pulégone), et des phénols (thymol, carvacrol) (Bézanger-Beauquesnes *et al.*, 1980; Mahmoudi, 1990).

- Les monoterpènes bicycliques: tels que les alcools (bornéol), les cétones (camphre, tuyone) et les carbures (α - pinène...) (Wichtl et Anton, 1999).

Les sesquiterpènes: Ce sont des composés acycliques, monocycliques, ou bicycliques et de formule générale (C₁₅ H₂₄) (Belaiche, 1979).

Les figures 3 et 4 représentent les structures de quelques monoterpénoïdes et de quelques sesquiterpénoïdes respectivement.

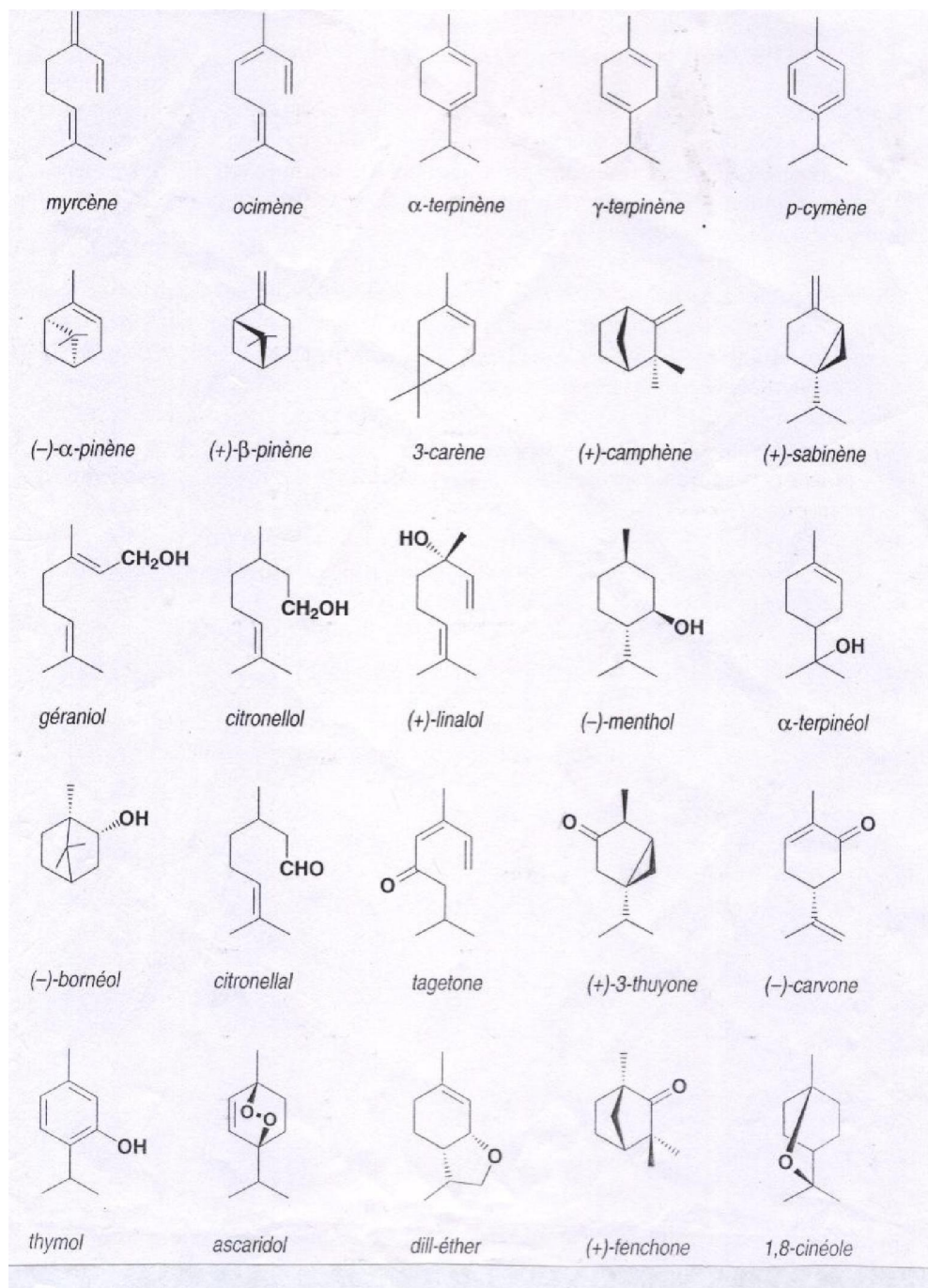


Figure 03: Structure de quelques monoterpénoïdes (Bruneton, 2003).

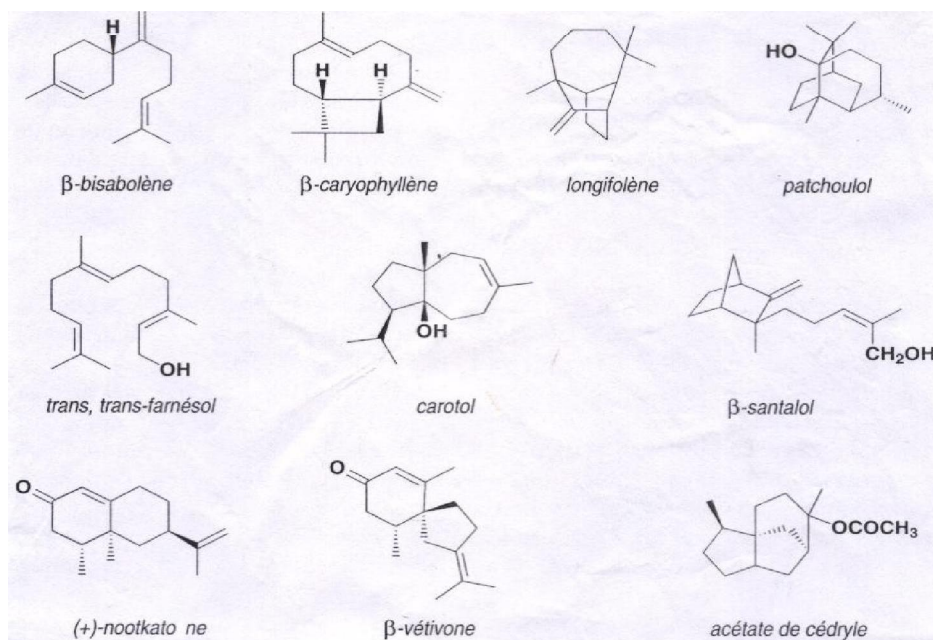


Figure 04: Structure de quelques sesquiterpénoïdes (Bruneton, 2003).

2. 3. 2. Les phénylpropanoïdes

Ils sont moins fréquents par rapport aux terpénoïdes. Néanmoins, certaines plantes possèdent ces composés avec des proportions significatives. Les phénylpropanoïdes dérivent majoritairement de la phénylalanine. Ils sont constitués d'une chaîne carbonée liée à un noyau aromatique à six carbones (Figure 05) (Sangwan *et al.*, 2001).

Ce groupe est constitué par: des aldéhydes (par exemple le cinnaldéhyde) et des dérivés méthoxylés, ainsi que des allylphénols (par exemple, l'eugénol), des prophénylphénols (par exemples, l'anéthole). Il existe aussi des lactones et esters cycliques (par exemple, la coumarine formé a partir de dérivés de l'acide cinnamique). Parfois, la chaîne aliphatique est réduite a un seul atome de carbone (par exemple, la vanilline) (Bruneton, 2003; Kaloustian et Minaglou, 2012).

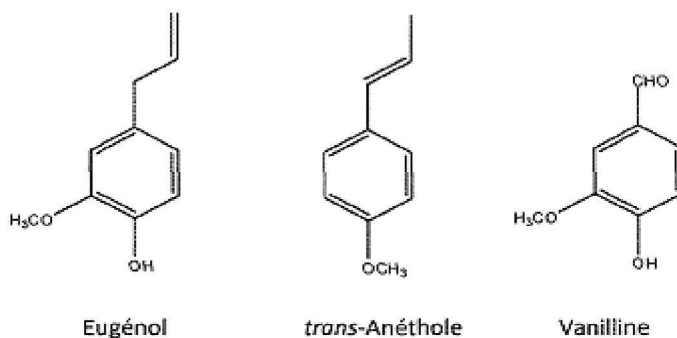


Figure 05: Structure de quelques composés dérivés du phénylpropane (Bruneton, 1999)

2. 4. Répartition, localisation

Les HEs n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs: il y aurait, selon Lawrence (1995), les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les HEs sont répartis dans un nombre limité de familles, par ex: *Myrtaceae*, *Lauraceae*, *Rutaceae*, *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Apiaceae*, *Cupressaceae*, *Poaceae*, *Zingiberaceae*, *Piperaceae*...etc

Les HEs peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs bien sûr (bergamotier, tubéreuse), mais aussi feuilles (eucalyptus, laurier noble, menthe poivrée) et, bien que cela soit moins habituel, dans des écorces (cannelier), des bois (bois de rose, santal blanc), des racines (angélique), des rhizomes (curcuma, gingembre), des fruits (aneth, anis, badiane), des graines (muscade) (Bruneton, 1999).

2. 5. Modes d'extraction

L'obtention des HEs fait appel à plusieurs procédés selon lesquels diffèrent la qualité et la composition de ces dernières:

2. 5. 1. L'extraction par expression

Les premiers procédés d'extraction consistaient à presser l'écorce de Citrus pour faire éclater les tissus contenant l'HE en les frottant sur des récipients dont les parois étaient recouvertes de pics en fer. Puis le procédé dit à "l'éponge" s'est développé, les écorces étaient pressées plusieurs fois contre un système d'éponges naturelles fixées sur une bassine en terre cuite. La pression était accompagnée par un mouvement de rotation de la main. Le mélange exprimé était recueilli par essorage des éponges. Finalement par simple décantation, l'HE est séparée de la phase aqueuse qui contient aussi des débris produits par la lacération des tissus de l'écorce (Bruneton, 1999).

2. 5. 2. La distillation

La distillation constitue le procédé d'extraction ou de séparation de certaines substances organiques le plus ancien (Bruneton, 1999). On peut effectuer l'extraction des HEs par distillation par deux méthodes ; l'hydrodistillation et la distillation par la vapeur.

- l'hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'HE se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'HE étant plus légère

que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat. (Franchomme *et al.*, 1990; Bruneton, 1999).

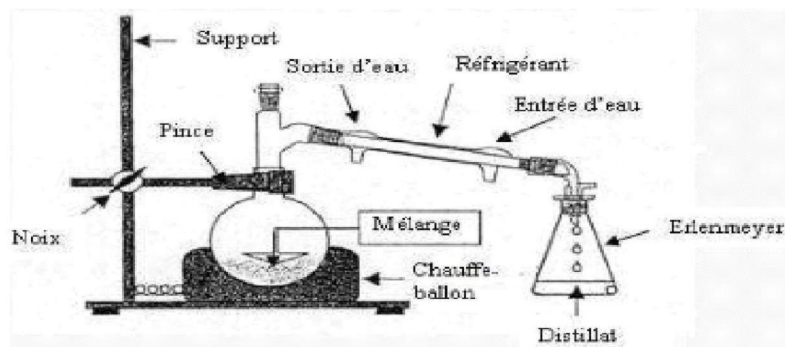


Figure 06: Schéma de principe d'une extraction par hydrodistillation (Bruneton, 1999).

- La distillation par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'HE en minimisant les altérations hydrolytiques: le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante (Franchomme *et al.*, 1990; Bruneton, 1999).

2. 5. 3. Extractions par les solvants

Certains procédés d'extraction ne permettent pas d'obtenir des HEs à proprement parler mais des concrètes. Il s'agit d'extraits des plantes obtenus au moyen de solvants non aqueux. Ces derniers peuvent être des solvants usuels utilisés en chimie organique (hexane, éther de pétrole). Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres (Richard, 1992; Robert, 2000). L'extraction à l'aide de solvants organiques pose un problème de toxicité des solvants résiduels ce qui n'est pas négligeable lorsque l'extrait est destiné aux industries pharmaceutique et agro-alimentaire (Belaiche, 1979; Bruneton, 1999).

2. 5. 4. Extraction au fluide supercritique

Cette Au delà du point critique, un fluide peut avoir la densité d'un liquide et la viscosité d'un gaz, d'où une bonne diffusibilité dans les solides est un bon pouvoir solvant, l'intérêt est porté initialement sur le dioxyde de carbone ce qui s'explique si l'on considère ses atouts: produits naturels; inerte chimiquement, ininflammable, strictement atoxique, facile à éliminer

totalement, sélectif, aisément disponible, peu réactif chimiquement et peu coûteux (Bruneton, 1999).

2. 5. 5. Extraction par micro-ondes

Depuis quelques années, on assiste des développements de nouvelles technologies. C'est en particulier le cas de l'hydrodistillation par micro-ondes sous vides. Dans ce procédé, la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dans la pression est réduite de façon séquentielle: l'HE est entraîné dans le mélange azéotrope formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée (sans ajout d'eau dans les produit traités en frais). Ce procédés très rapide et peu consommateur d'énergie, livre un produit qui, est le plus souvent, de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation traditionnelle (Mengal *et al.*, 1993; Bruneton, 1999).

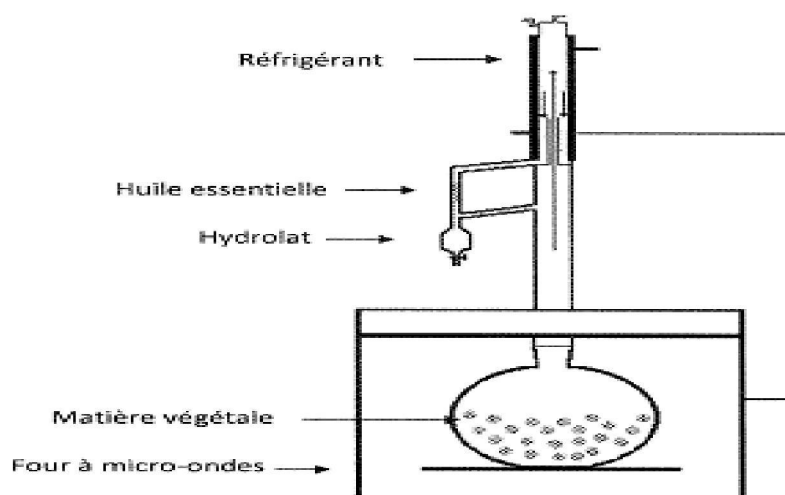


Figure 07: Système d'extraction des huiles essentielles par micro-ondes (Mompon, 1994).

2. 6. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles

L'instrumentation moderne est progressivement confrontée à des analyses de plus en plus complexes, liées au nombre important de constituant présents et aux quantités extrêmement faibles à détecter. En effet l'analyse d'une huile est complexe, de par son très grand nombre de constituants chimiques volatils mais aussi, souvent, de par l'importance des composés à l'état de traces qui font le caractère spécifique de l'huile (France-Ida, 1998).

La chromatographie est le procédé fréquemment utilisé pour séparer les constituants des HEs. Elle se base sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leurs adsorptions

et de leurs désorptions successives sur la phase stationnaire, soit de leurs solubilités différentes dans chaque phase (Schwedt, 1993).

2. 6. 1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Elle s'applique à des échantillons gazeux ou susceptibles d'être vaporisés sans décomposition dans l'injecteur. C'est de loin la technique la plus utilisée pour les HEs. La phase mobile est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur. Le principe de la chromatographie en phase gazeuse basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire. Si la phase stationnaire est un liquide non ou peu volatil, possédant des propriétés de solvant vis-à-vis des composés à séparer, on parle de chromatographie gaz-liquide ou chromatographie de partage. Si la phase stationnaire est un solide absorbant (silice, alumine...), on parle de chromatographie gaz-solide ou chromatographie d'adsorption (Audigie *et al.*, 1995).

La CPG permet une évaluation quantitative et qualitative de la composition chimique des HEs. Elle présente de nombreux avantages: facilité de mise en œuvre, temps d'analyse assez court et fiabilité des résultats (Bruneton, 1999).

2. 6. 2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM)

Si la chromatographie permet à elle seule de séparer correctement les différents constituants d'un mélange, il est néanmoins délicat de se livrer à une interprétation structurale permettant une identification certaine, car les paramètres déduits de la rétention sélective des solutés au travers de la colonne sont souvent lourds à manier et, dans la plupart des cas, peu reliés aux édifices moléculaires organiques. L'idée de coupler une autre méthode physique d'investigation après séparation chromatographique, dans le but d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique, s'est concrétisée dès 1960 dans la combinaison entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG-SM (De Maack et Sablier, 1994).

Le principe de cette méthode consiste à transférer par le gaz vecteur (phase mobile) les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. La comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs bibliothèques de référence permet son identification à condition que la similitude des spectres, inconnus et référence, soit suffisante et que les indices de rétention soient identiques, dans des conditions opératoires comparables (Desjobert *et al.*, 1997; Bruneton, 1999).

2. 8. Activités biologiques

Les HEs sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, antioxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses (Valnet, 2005). L'activité biologique d'une HE est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. (Lahlou, 2004).

2. 8. 1. L'activité antimicrobienne

Beaucoup d'articles scientifiques sont publiés chaque année par des médecins, des pharmaciens, des biologistes et des chercheurs qui travaillent sur les multiples propriétés des HEs et l'intérêt s'est porté tout particulièrement sur leur activité antimicrobienne. Parmi ces travaux citons celui de Deans et Ritchie (1987) qui ont étudié l'activité antibactérienne de 50 HEs sur 25 genres de bactéries en utilisant la technique de contact direct en milieu solide avec 4 concentrations différentes en huiles. Sous leur forme non diluée, toutes les HEs inhibent au moins un genre bactérien. Dix HEs ont manifestées des propriétés inhibitrices très remarquables. Ces huiles sont celles de l'angélique, du laurier, de la cannelle, du clou de girofle, du thym, de l'amande amer, de marjolaine, du piment, livèche et de la noix de muscade. Elles inhibent au moins 20 genres de bactéries testées.

Janssen *et al.* (1988) ont testé le pouvoir inhibiteur de 53 HEs vis-à-vis de trois champignons dermatophytes: *Epidermaphyton floccosum*, *Trichophyton metagrophytus* et *T. rubrum*. Les résultats montrent que toutes les HEs riches en thymol, carvacrol, eugénol et cinnamaldehyde sont très actives sur les 3 microorganismes testés. De nombreux travaux comme ceux de Baser *et al.* (2001) et Vardar-Unlu *et al.* (2003) confirment l'efficacité des HEs riches en phénols sur les différentes espèces bactériennes et fongiques. Pattnaik *et al.* (1997) ont testé l'activité antimicrobienne de cinq constituants des HEs; le cinéole, le citral, le géraniol, le linalol et le menthol sur 18 bactéries (cocci Gram-positif et Gram-négatif) et 12 champignons (3 levures et 9 mycètes). Le linalol était le plus efficace et a inhibé 17 bactéries, suivi du cinéole et du géraniol (chacun a inhibé 16 bactéries). Le menthol et le citral ont inhibé 15 et 14 bactéries, respectivement. Contre les champignons, le citral et le géraniol sont les plus actifs (inhibition des 12 champignons), suivis par le linalol (qui a inhibé 10 champignons). Le cinéole et le menthol ont inhibé tous les deux 7 champignons.

Hammer *et al.* (1999) ont conduit une étude qui portait sur l'activité antimicrobienne de 47 HEs contre 10 microorganismes dont une levure (*Candida albicans*), tous les

microorganismes sont inhibés par les HEs de *Cymbopogon citratus*, *Origanum vulgare* et de *Pimenta racemosa* à des concentrations inférieures ou égales à 2% par contre ces microorganismes ne sont pas inhibés par l'HE de *Salvia officinalis* à la concentration de 2%.

Les HEs peuvent être agissant de façon bactériostatique ou bactéricide, alors on peut distinguer :

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

- **La CMB** est la plus petite concentration de l'agent inhibiteur ne laissant subsister que 0.01% ou moins de survivant de l'inoculum initial après 18 heures de culture à 37 °C. Cette valeur caractérise l'effet bactéricide de l'HE (Haddouchi *et al.*, 2009).

2. 8. 2. Mécanisme d'action des huiles essentielles sur les microorganismes

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

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HEs sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électrons et la coagulation du contenu protéique des cellules (Davidson, 1997). Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (Carson *et al.*, 2002)

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée (Wendakoon et Sakaguchi, 1995). Les HEs peuvent aussi inhiber la synthèse de ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides (Cox *et al.*, 1991).

Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (Dorman et Deans, 2000).

III. Matériel et méthodes

3. 1. Matériel

3. 1. 1. Matériel biologique

3. 1. 1. 1. Matériel végétal

La plante est récoltée au niveau de la région de Bougaa, wilya de Sétif, au mois de Mai 2011 et 2014 pendant la période de floraison puis elle est débarrassée des impuretés, ensuite séchée à l'ombre à une température ambiante.

3. 1. 1. 2. Les souches bactériennes

L'activité antibactérienne de l'HE de la plante a été évaluée sur plusieurs souches bactériennes qui proviennent de l'American Type Culture Collection ATCC (tableau 01)

Tableau 01: les souches bactériennes utilisées

Souche	Forme	Gram	Code
<i>Escherichia coli</i>	Bacille	(-)	ATCC 25922
<i>Bacillus cereus</i>	Bacille sporulé	(+)	ATCC 10876
<i>Proteus mirabilis</i>	Bacille	(-)	ATCC 25923
<i>Staphylococcus aureus</i>	Coccus	(+)	ATCC 25923

Les souches bactériennes sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance, et incubées dans l'étuve pendant 24 heures à 37°C pour obtenir des cultures jeunes.

3. 1. 1. 3. Les milieux de cultures

La culture des bactéries nécessite l'utilisation des milieux suivants: La gélose Mueller Hinton (MH), la gélose nutritive (GN), le milieu liquide (BHIB) et le bouillon nutritif liquide. la composition de chaque milieu est présentée dans l'annexe I.

3. 1. 2. Matériel chimique

3. 1. 2. 1. Les solvants organiques

Le Diméthylsulfoxyde (DMSO) est utilisé pour la dissolution des HES lors de la réalisation de l'aromatogramme. C'est un liquide organique hautement polaire et miscible à l'eau.

Il est essentiellement inodore et possède un faible degré de toxicité. Il est utilisé pour sa capacité à solubiliser de nombreux composés organiques, mais également des sels du fait de sa forte polarité.

3. 1. 2. 2. Les antibiotiques

Les antibiotiques utilisés comme témoins dans l'activité antibactérienne sont présentés dans le tableau suivant:

Tableau02: Les antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme.

Les souches	Antibiotique 1	Antibiotique 2	Antibiotique 3	Antibiotique 4
<i>E. coli</i>	Cloramphenicol (C: 30 µg)	Nitroxoline (NO: 30 µg)	Ciprofloxacine (CIP: 5 µg)	Cifotaxine (CTX: 30 µg)
<i>S. aureus</i>	Vancomycine (VA: 30 µg)	Ofloxacine (OF: 5 µg)	Linocomycine (L: 10 µg)	Ciprofloxacine (CIP: 5 µg)
<i>B. cereus</i>	Tricoplanine (TEC: 30 µg)	Nitroxoline (NO: 30 µg)	Ciprofloxacine (CIP: 5 µg)	Cifotaxine (CTX: 30 µg)
<i>P. mirabilis</i>	Cloramphenicol (C: 30 µg)	Nitroxoline (NO: 30 µg)	Ciprofloxacine (CIP: 5 µg)	Cifotaxine (CTX: 30 µg)

3. 2. Méthodes

3. 2. 1. L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

Le matériel végétal séché (les fleurs) est soumis à une hydrodistillation au moyen d'un dispositif d'extraction type Clevenger (Figure 08). Cette technique est basée sur la capacité des vapeurs d'eau d'entraîner les HEs. L'opération consiste à introduire 100 g de masse végétale sèche dans un grand ballon en verre, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'HE passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. L'HE de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière. L'huile ainsi obtenue est récupérée puis conservée dans des flacons opaques bien scellés à basse température (4-5 C°). L'opération d'extraction dure trois heures à partir du début d'ébullition.



Figure 08: Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation.

3. 2. 1. 1. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement en huile essentielle (R_{HE}), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile obtenue après extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est donné par la formule suivante:

$$R_{HE} = M'/M * 100$$

R_{HE} : Rendement en huile essentielle de *M. pastinacae*.

M' : Masse de l'HE obtenue en gramme.

M : Masse initiale des fleurs sèche.

3. 2. 1. 1. La mesure de la densité

La densité relative de l'HE est le rapport de la masse d'un certain volume de l'huile à 20 °C et la masse d'un égal volume de l'eau distillée à 20 °C (AFNOR, 1992).

3. 2. 2. L'analyse chromatographique de l'huile essentielle

Nous rapportons que l'analyse chimique de l'HE de *M. pastinacea* a été réalisée dans un laboratoire fait partie du département de science et de technologie biologique chimique et pharmaceutique (STEBICEF), Université de Palerme, Viale delle Scienze, Parco d'Orléans II, Italie.

3. 2. 2. 1. L'analyse par chromatographie gazeuse (CG)

L'HE de *M. pastinacea* a été analysé par chromatographie gazeuse (CG) en utilisant un Perkin-Elmer Sigma 115 gaz chromatographe (Naples, Italie) équipé d'une colonne HP-5 MS capillaire (30 m x 0,25 mm de diamètre, 0,25 µm épaisseur du film) (Agilent, Milan, Italie). La température de la colonne est initialement maintenue à 45 °C pendant 8 min, puis augmentée progressivement à 280 °C avec une élévation de 2,5 °C/min, maintenu pendant 15 min, et enfin porté à 295 °C avec une élévation de 10 °C/min. Les échantillons dilués (1/100, v/v, dans le n-pentane) ont été injectés manuellement à 250 °C et en mode partagé. Le volume d'injection est de 1 µl. La détection à ionisation de flamme (FID) est accomplie à 280 °C. L'hélium est le gaz porteur (1 ml/min).

3. 2. 2. 2. L'analyse par chromatographie gazeuse/spectrométrie de masse (CG-SM)

L'analyse par CG-SM est réalisée sur un Agilent 6850 Ser. Dispositif II, équipé d'une colonne capillaire de silice fondue HP-5 (30 m x 0,25 mm de diamètre, épaisseur du film 0,33 µm), couplé à un détecteur sélectif de masse 5973 MSD (Agilent, Milan, Italie). La tension de l'énergie d'ionisation est de 70 eV et la tension de l'énergie d'électrons de multiplicateur est de 2000 V. Les spectres de masse ont été numérisés dans la gamme de 35 à 450 amu, avec un temps de balayage de 5 scans/s. Les conditions de la CG étaient comme indiqué ci-dessus; la température de la ligne de transfert est 295 °C.

3. 2. 2. 3. L'identification des composants

Les huiles ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention (Ri) soit avec ceux de la littérature (Jennings & Shibamoto 1980) ou celles de composés authentiques disponibles dans le laboratoire ou achetés de la société Sigma-Aldrich Co (Milan, Italie). Les indices de rétention ont été déterminés par rapport à une série homologue de n-alcanes (C₈-C₃₀) dans les mêmes conditions de fonctionnement. En outre l'identification a été faite par comparaison des spectres de masse soit avec ceux stockés dans NIST 02 et Wiley 275 bibliothèques ou avec des spectres de masse de la littérature (Jennings et Shibamoto, 1980; Le Centre de données de spectrométrie de masse 1983) et la bibliothèque du laboratoire. La

composition en pourcentage a été calculée à partir des surfaces des pics de CPG sans l'utilisation de facteurs de correction. Tridécane et octadécanol ont été utilisés comme étalons internes à une concentration de 0,03 mg/ml. Les résultats sont rapportés dans le tableau 3.

3. 2. 3. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles *in vitro*

L'étude est réalisée par la méthode de diffusion, qui est initialement conçue pour les antibiotiques (antibiogramme), mais en substituant les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés par l'HE (aromatogramme). Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs. La technique utilisée consiste à déposer un disque stérile, imbibé d'HE sur un tapis bactérien et de mesurer la zone où les bactéries n'ont pas pu se développer. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne de l'HE, est ainsi déterminé (figure 09) (Belaiche, 1979).

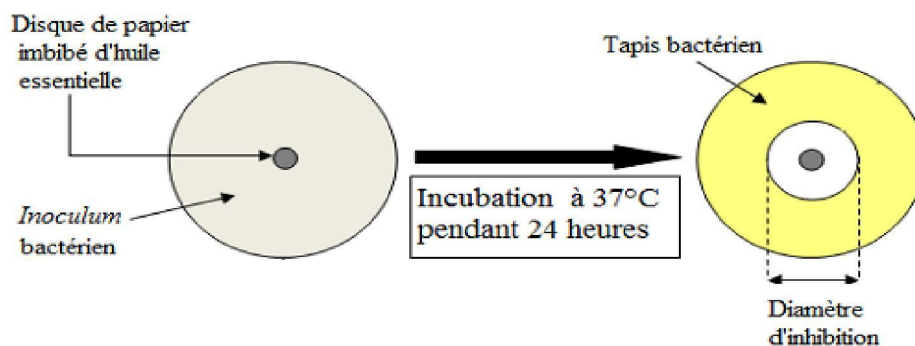


Figure 09: Principe de la méthode de diffusion par disque.

3. 2. 3. 1. Préparation de pré-culture

Les tests bactériens doivent être réalisés sur des cultures jeunes de (18 à 48 heures) en phase de croissance exponentielle. La réactivation des souches est effectuée par ensemencement de l'espèce bactérienne dans un milieu liquide (BHIB) ou bouillon nutritif liquide. Après l'incubation pendant 24 heures à 37°C, un deuxième repiquage est réalisé dans des boîtes de Pétris contenant de la GN solide, puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

3. 2. 3. 2. Préparation des suspensions bactériennes

Les bactéries à tester sont ensemencées sur des boîtes de Pétri contenant la gélose nutritive (GN) ou autres milieux selon les souches et incubées pendant 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées. A partir de ces boîtes, à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées et mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (NaCl). La suspension

bactérienne est bien homogénéisée, et la densité optique lue à 625 nm est justifiée à une densité optique comprise entre 0.08 et 0.10. On admet que cette densité mesurée à 625 nm est équivalente à 10^8 CFU/ml selon le standard de Mac Ferland 0.5. L'inoculum est ajusté soit en ajoutant de la culture s'il est trop faible ou de l'eau physiologique stérile, s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire en moins de 15 minutes après la préparation de l'inoculum.

3. 2. 3. 3. Ensemencement

Vingt millilitres (20ml) de l'agar de MH sont coulés dans des boîtes de Pétri. Après solidification du milieu de culture, l'ensemencement est effectué par écouvillonnage, à partir de l'inoculum fraîchement préparé. Il consiste à tremper un écouvillon de coton stérile dans la suspension puis le frotter, après l'avoir essoré à l'intérieur du tube, à trois reprises sur la totalité de la surface gélosée de façon à former des stries serrées, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum. Pour chaque souche testée, cinq boîtes de Pétri (trois pour chaque dilution plus une pour les antibiotiques et l'autre pour le DMSO) sont écouvillonnées par le même écouvillon à la condition d'être recharger pour chacun d'elles.

3. 2. 3. 4. Dépôt des disques

Des disques de papiers chromatographiques de 6 mm de diamètre, préalablement stérilisés sont déposés à la surface de gélose ensemencée après avoir été chargé de 10 μ l d'HE diluée dans du DMSO à 1/2, 1/5 et 1/10 (v/v). D'autres disques, chargés de 10 μ l de DMSO sont utilisés comme témoins. Des antibiogrammes sont effectués en parallèle avec les aromatogrammes. Les boîtes de Pétri ont été incubées à l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.

3. 2. 3. 5. Expression des résultats

A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque, identique à la gélose stérile, dont le diamètre est mesuré à l'aide d'une règle (y compris le diamètre de disque de 6mm). Dans la littérature relative aux HEs, les résultats de l'aromatogramme sont exprimés exclusivement à partir de la mesure du diamètre des halos d'inhibitions en mm, et peuvent être symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches vis-a-vis des HEs (Ponce et *al.*, 2003)

Non sensible (-) ou **résistante** pour les diamètres moins de 8mm;

Sensible (+) pour des diamètres de 8 à 14mm;

Très sensible (++) pour des diamètres de 15 à 19mm;

Extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20mm.

IV. Résultats et discussion

4. 1. Résultats

4. 1. 1. Rendement en huile essentielle de *M. pastinacea*

Nous rappelons que l'HE a été extraite à partir des fleurs sèches de *M. pastinaceae* par un hydrodistillateur de type Clevenger. Nous avons obtenu une huile de couleur jaune pâle avec une odeur aromatique et de densité optique égale à 1.08.

Nous n'avons pas pu récupérer une quantité huileuse importante pour la plante récoltée en Mai 2011 (rendement= $0.0386 \pm 0.002\%$). Par contre la plante récoltée en Mai 2014 a fournit un rendement important à l'ordre de $0.106 \pm 0.046\%$.

4. 1. 2. L'analyse chimique de l'huile essentielle de *M. pastinacea*

L'analyse chromatographique de l'HE des fleurs *M. pastinaceae* a permis l'identification de 66 composés regroupés en dix classes différentes, ce qui représente 95,2% du total des composants. Les composants sont répertoriés dans le tableau 03 en fonction de leurs indices de rétention. En fait, la classe principale est celle des sesquiterpènes oxygénés (70.4%) avec (*E*)-nérolidol (35,4%), α -costol (13,3%) et β -costol (6,8%) comme les principaux constituants de la classe et de l'huile. Parmi les hydrocarbures (5,5%), le produit le plus abondant est pentacosane (2,2%) et parmi les hydrocarbures sesquiterpéniques (5,2%), β -selinene (2.7) est le plus abondant. Il est à noter que les diterpénoïdes représentent 3.4% des composants totaux de l'HE, avec cembrene (0,4%), α -springène (1,8%) et de β -springène (0,9%).

Tableau 03: Composition en pourcentage des HES de *M. pastinacea* d'origine algérienne (MAI).

	R _i ^a	R _i ^b	composant	MAI	Id. ^c
			Hydrocarbures	5.5	
1	979	1298	1,3,5-Trimethylbenzene	t	
2	1003	1292	1,2,4-Trimethylbenzene	t	1,2
3	1179	1763	Naphthalene	0.3	1, 2, 3
4	2100	2100	Heneicosane	0.5	1, 2, 3
5	1900	1900	Nonadecane	0.2	1, 2, 3
6	2300	2300	Tricosane	1.3	1, 2, 3
7	2400	2400	Tetracosane	0.2	1, 2, 3
8	2500	2500	Pentacosane	2.2	1, 2, 3
9	2600	2600	Hexacosane	t	1, 2, 3
10	2700	2700	Heptacosane	0.6	1, 2, 3
11	2800	2800	Octacosane		1, 2, 3
12	2900	2900	Nonacosane	0.2	1, 2, 3
			Composés carbonylés	3.1	
13	900	1195	Heptanal		1, 2
14	963	1543	Benzaldehyde	t	1, 2, 3
15	985	1347	6-Methyl-5-heptene-2-one (prenylacetone)	0.2	1, 2
16	1110	1519	(<i>E</i>)-6-Methyl-3,5-heptadien-2-one	0.3	1, 2
17	1358	1787	(<i>E</i>)- β -Damascenone	t	1, 2, 3
18	1412	1836	Neryl acetone	0.3	1, 2
19	1453	1867	Geranyl acetone	0.3	1, 2
20	1835	2131	Hexahydrofarnesylacetone	1.1	1, 2
21	1918	2389	(<i>E, E</i>)-Farnesyl acetone	0.9	1, 2
22	2023	2354	Octadecanal		1, 2
			Hydrocarbures Monoterpéniques	2.5	
23	938	1032	α -Pinene	0.2	1, 2, 3
24	973	1132	Sabinene	t	1, 2
25	978	1118	β -Pinene	t	1, 2, 3
26	1012	1157	δ^3 -Carene	0.5	1, 2
27	1025	1278	<i>p</i> -Cymene	1.2	1, 2, 3
28	1029	1218	β -Phellandrene	0.6	1, 2, 3
			Monoterpènes oxygénés	1.5	
29	1085	1690	Cryptone	0.6	1, 2
30	1233	1662	Pulegone	0.6	1, 2
31	1252	1732	Piperitone	t	1, 2
32	1275	1744	Phellandral	0.3	1, 2
			Hydrocarbures sesquiterpéniques	5.2	
33	1377	1497	α -Copaene	t	1, 2
34	1387	1600	β -Elemene	1.3	1, 2
35	1418	1612	(<i>E</i>)-Caryophyllene	0.4	1, 2
36	1475	1715	β -Selinene	2.7	1, 2

37	1498	1744	α -Selinene	0.8	1, 2
			sesquiterpènes oxygénés	70.4	
38	1531	1999	(Z)-Nerolidol	4.4	1, 2
39	1564	2050	(E)-Nerolidol	35.4	1, 2
40	1640	2316	Caryophylla-4(12), 8(13)-dien-5b-ol (caryophylladienol I)	0.7	1, 2
41	1644	2401	Aromadendrene epoxide	0.4	1, 2
42	1645	2209	Torreyol	0.3	1, 2
43	1665	2376	14-Hydroxy-b-caryophyllene	0.6	1, 2
44	1686	2229	α -Bisabolol	1.7	1, 2
45	1692	2342	(Z,E)-Farnesol	4.4	1, 2
46	1720	2358	(E,E)-Farnesol	1.1	1, 2
47	1743	2313	(E,Z)-Farnesol		1, 2
48	1744	2293	α -Cyperone	0.3	1, 2
49	1780	2607	β -Costol	6.8	1, 2
50	1784	2604	α -Costol	13.3	1, 2
51	1843	2275	(E,E)-Farnesyl acetate	1.0	1, 2
			Acides et leurs dérivés	2.4	
52	1691	2235	Heptyl benzoate	0.3	1, 2
53	1762	2655	Benzyl benzoate	0.3	1, 2, 3
54	1928	2208	Hexadecanoic acid methyl ester	0.6	1, 2, 3
55	1932	2404	16-Hexadecanolactone; juniper lactone		1, 2
56	2085	2507	(Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid methyl ester	0.2	1, 2, 3
57	2122	3157	(Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid	1.0	1, 2, 3
			Diterpénoïdes	3.4	
58	1838	1992	Neophytadiene	0.3	1, 2
59	1943	2184	Cembrene	0.4	1, 2
60	2018	2190	α -Springene; (E,E,E)-3,7,11,15-tetramethyl- hexadeca-1,3,6,10,14-pentaene); phytopen- taene	1.8	1, 2
61	2025	2553	(E,E)-Geranyl linalool		1, 2
62	2025		β -Springene; (6E,10E)-7,11,15-trimethyl-3- methylene-hexadeca-1,6,10,14-tetraene	0.9	1, 2
			Coumarines	0.4	
63	2318	2945	Osthole	0.4	1, 2
			Autres composés	0.8	
64	1002	1243	2-Pentylfuran	0.4	1, 2
65	1047	1602	2-Methyl-5-acetylfuran	0.4	1, 2
66	1396	2296	Isoeugenol		1, 2
			Total	95.2	

^a Ri: indice de rétention sur une colonne HP-5

^b Ri: indice de rétention sur une colonne HP-Wax

^c Id: identification; 1= identification basée sur la comparaison des Ri avec ceux de la littérature; 2=identification basée sur la comparaison des spectres de masse; 3= indice de rétention identique au composé authentique; t= trace, moins de 0,05%.

4. 1. 3. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *M. pastinacea*

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'HE de *M. pastinacea* vis-à-vis de quatre bactéries.

La grande surface d'inhibition enregistrée de l'huile de *M. pastinaceae* est pour *B. cerus* (très sensible) avec un diamètre d'inhibition 16.886 ± 0.443 mm pour la dilution 1/2 (tableau 04, figure 12a) qui est plus grand que celui des ATB testés: TEC et CTX (tableau 05) qui ont donné les diamètres suivants: 16 et 6 mm respectivement (figure 12b). Cette souche est très sensible aussi avec la dilution 1/5 mais moins sensible avec la dilution 1/10.

La bactérie *E. coli*, qui apparaît résistante à l'ATB CTX (tableau 05, figure 10b), a présenté une sensibilité vis-à-vis l'HE avec un diamètre d'inhibition 12.443 ± 0.802 mm pour la dilution 1/2 (Tableau 04, figure 10a).

S. aureus a présenté une moindre sensibilité vis-à-vis l'HE avec un diamètre d'inhibition 11.996 ± 0.383 mm pour la dilution 1/2 (Tableau 04, figure 11a). Cette bactérie a exposé une sensibilité comparable à l'ATB VA avec un diamètre d'inhibition 14 mm, mais une grande sensibilité aux ATBs OF, L, CIP (tableau 05, figure 11b)

Par contre la dernière bactérie *P. mirabilis* est une souche résistante qui na pas présenté aucune sensibilité vis-à-vis toutes les dilutions de l'huile (tableau 04, figure 13a) malgré qu'elle est extrêmement sensible vis-à-vis les ATBs testés (tableau 05, figure 13b).

Le DMSO, le solvant dans laquelle on a solubilisé notre huile, a été testé vis-à-vis toutes les souches et n'a pas présenté aucun effet sur la croissance de ces bactéries (figure 14).

Tableau 04: Diamètres (mm) des zones d'inhibition de l'HE de *M. pastinaceae* (moyenne \pm SEM).

souches	Dilution		
	1/2	1/5	1/10
<i>Escherichia coli</i>	12.443 ± 0.802 S(+)	11.776 ± 0.223 S(+)	9.773 ± 0.443 S(+)
<i>Staphylococcus aureus</i>	11.996 ± 0.383 S(+)	10.22 ± 0.220 S(+)	9.11 ± 0.890 S(+)
<i>Bacillus cerus</i>	16.886 ± 0.443 S(++)	15.16 ± 0.223 S(++)	12.553 ± 0.619 S(+)
<i>Proteus mirabilis</i>	6 ± 0.0 R	6 ± 0.0 R	6 ± 0.0 R

R: Résistance; S (+): Sensible; S (++) : Très sensible; S (+++): Extrêmement sensible.

Tableau05: Diamètres (mm) des zones d'inhibition de l'antibiogramme.

ATBs souches	C	NO	CTX	CIP
<i>E. coli</i>	24 S (+++)	20 S (+++)	6 R	30 S (+++)
	OF	L	VA	CIP
<i>S. aureus</i>	20 S (+++)	34 S (+++)	14 S (+)	20 S (+++)
	TEC	NO	CTX	CIP
<i>B. cereus</i>	16 S (++)	20 S (+++)	6 R	30 S (+++)
<i>P. mirabilis</i>	20 S (+++)	30 S (+++)	32 S (+++)	36 S (+++)

R: Résistance; S (+): Sensible; S (++) : Très sensible; S (+++): Extrêmement sensible.

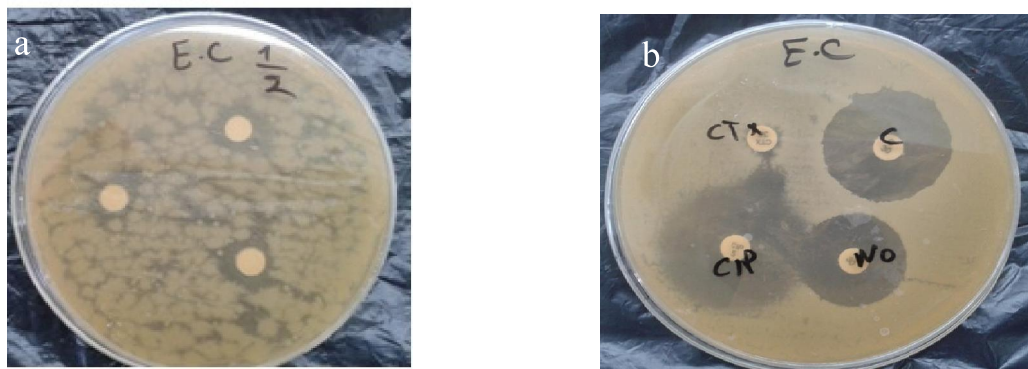


Figure10: L'effet de l'HE de *M. pastinaceae* (a) et de l'antibiogramme (b) sur *E. coli*.

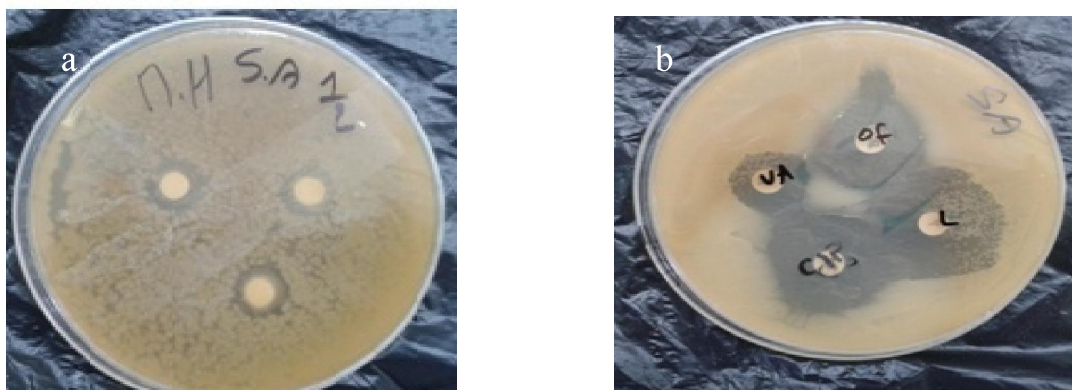


Figure11: L'effet de l'HE de *M. pastinaceae* (a) et de l'antibiogramme (b) sur *S. aureus*.

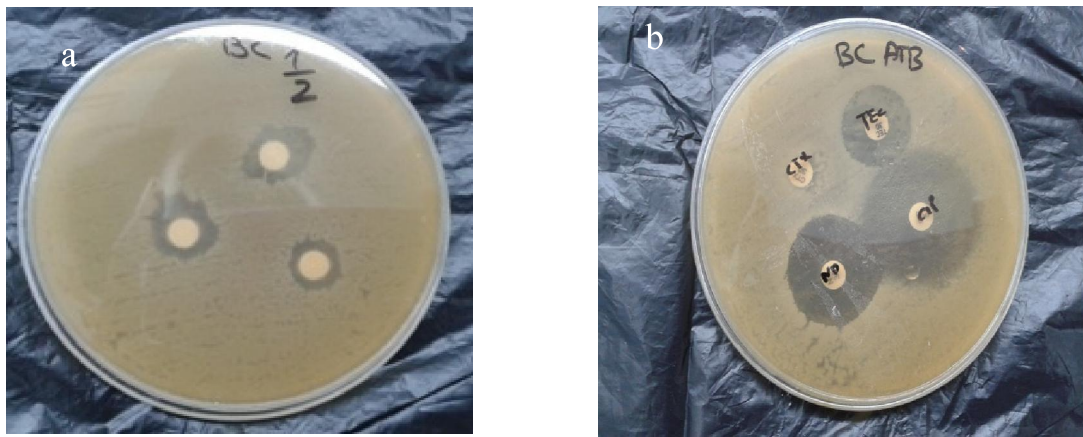


Figure12: L'effet de l'HE de *M. pastinaceae* (a) et de l'antibiogramme (b) sur *B. cereus*.

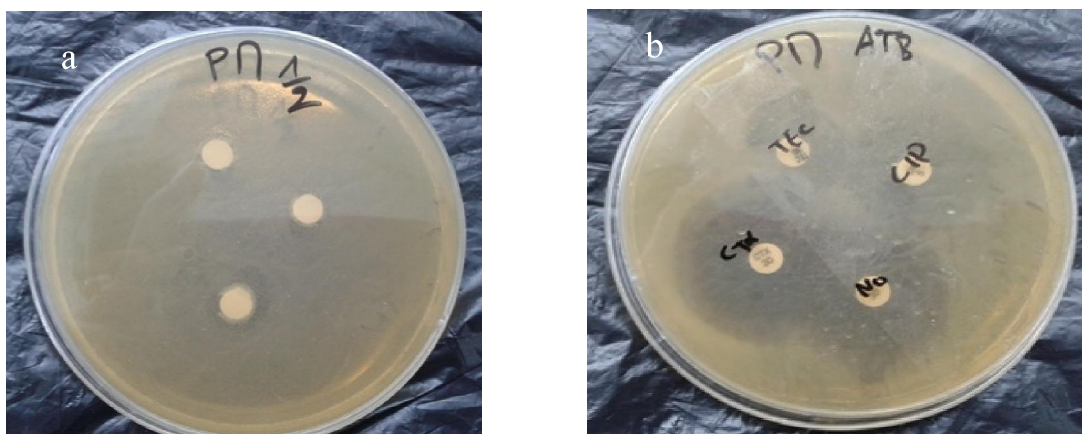


Figure13: L'effet de l'HE de *M. pastinaceae* (a) et de l'antibiogramme (b) sur *P. mirabilis*.

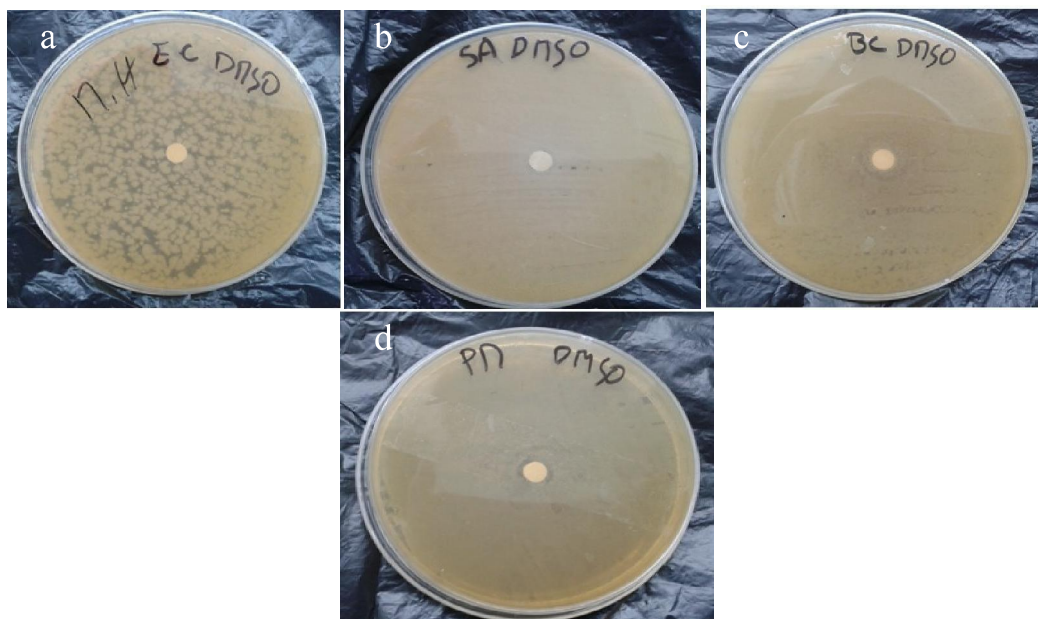


Figure14: Effet de DMSO sur la croissance d'*E. coli* (a), de *S. aureus* (b), de *B. cereus* (c) et *P. mirabilis* (d).

4. 2. Discussion

Selon la bibliographie disponible, il n'existe pas de travaux déjà réalisés sur l'HE de genre *Magydaris* sauf le travail de Guesmia *et al.* (2014). Pour cela, les résultats de notre étude ont été comparés à ceux obtenus dans cette référence.

4. 2. 1. Rendement en huile essentielle

Nous rappelons que le rendement de Mai 2011 est voisin de $0.0386 \pm 0.002\%$. Celui-ci est très faible par rapport au rendement de la plante récoltée en Mai 2014 ($0.106 \pm 0.046\%$). Cette différence peut être due à l'intervention de plusieurs facteurs, y compris les conditions de culture et de récolte et en particulier les conditions et la durée de stockage de la plante. A titre d'exemple, les plantes peuvent perdre leurs composés volatiles si elles sont stockées longtemps (Olle et Bender, 2010)

Par contre le rendement de Mai 2011 est proche de celui de la plante recueillie en Sicile (Italie) en 2013 (0.036%) et plus élevé que celui de la plante recueillie en Algérie (0.019%) (Guesmia *et al.*, 2014)

Cette différence du rendement de l'HE est toute à fait normale, puisqu'il dépend de plusieurs facteurs: l'origine géographique, les facteurs écologiques notamment climatiques (la température et l'humidité), l'espèce végétale elle-même, l'organe végétal, la période de cueillette, la conservation du matériel végétal et la méthode d'extraction (Rosua et Granados, 1987)

4. 2. 2. L'analyse chimique de l'huile essentielle

Les résultats de l'analyse chimique montrent que l'HE de *M. pastinacea* récoltée en Algérie présente des différences importantes dans leur composition chimique par rapport à celle récoltée en Sicile, bien que certains caractères particuliers communs sont présents.

Dans l'HE de *M. pastinaceae* récoltée en Algérie 66 composés ont été identifiés, ce qui représente 95,2% du total des composants. La classe principale est représentée par les sesquiterpènes oxygénés (70,4%) suivie par les hydrocarbures (5,5%), et puis les hydrocarbures sesquiterpéniques (5,2%).

Par contre dans l'HE de *M. pastinaceae* récoltée en Sicile 23 composés ont été identifiés, ce qui représente 90,8% du total des composants. Les diterpénoïdes forment la classe principale, ce qui représente 61,9% de l'huile avec cembrene en tant que composant le plus abondant (28,2%). Dans la même catégorie, α -springène (17,5%) et β -springène (14,8%) étaient également présents en quantités considérables. Les hydrocarbures ont été la deuxième classe la plus abondante (17,6%), avec pentacosane (6,8%) et heptacosane (4,6%) comme principaux

composants. À l'exception de coumarines, représentées seulement par osthole (6,9%), toutes les autres classes étaient pratiquement absentes (Guesmia *et al.*, 2014).

A la différence de l'HE de Sicile, les diterpénoïdes, ne représentent que 3,4% dans l'HE de l'Algérie, mais les mêmes composés caractéristiques se produisent: cembrene (0,4%), α -springène (1,8%) et β -springène (0,9%). Ils pourraient être considérés comme des marqueurs chimiques de cette espèce (Guesmia *et al.*, 2014).

En fait, α - et β -springènes sont des composés inhabituels, rarement identifiés dans les plantes. Au meilleur de notre connaissance, α -springène n'a été identifié que dans l'HE de fleurs de *Murraya exotica* (*Rutacées*), recueillies en Inde où il est le constituant majeur (23,8%) (Raina *et al.* 2006) et dans l'HE de *Teucrium Marum* (*Lamiaceae*) de la Corse où il a été détecté comme un des principaux composés (de 1,1 à 17,8 %) (Djabou *et al.*, 2013).

β -springène n'est présent que dans les feuilles de *Heracleum persicum* (*Apiaceae*), recueillies de la zone Kandavan dans le nord de Téhéran (37,7%) (Mojab *et al.*, 2002), dans *Lagochilus cabulicus* (*Lamiaceae*) (19,4%), une plante aromatique utilisée en Afghanistan (Jeppesen *et al.*, 2012), et en très petites quantités dans *Salvia sclarea* (*Lamiaceae*) (1,1%) de la France (Laville *et al.*, 2012) et *Salvia reuterana* (*Lamiaceae*) (0,3%) de l'Iran (Karamian *et al.*, 2013).

En outre, ces diterpènes hydrocarburés ont été largement rapportés chez les mammifères comme pécarie (Waterhouse *et al.*, 1996), l'antilope springbok (Burger *et al.*, 1981), Alligatoridae (Schulz *et al.*, 2003.) et Hyménoptères (Howard *et al.*, 2003; Bertsch *et al.*, 2008) et ils sont considérés comme des phéromones.

4. 2. 2. L'activité antibactérienne:

La méthode de l'aromatogramme est généralement employée comme une analyse préliminaire pour étudier l'activité antibactérienne ensuite viennent des méthodes plus performantes. Dans cette méthode, certains paramètres tels que le volume de l'HE placé sur les disques de papier, l'épaisseur de la couche d'agar et si un dissolvant est employé varient considérablement entre les études (Burt, 2004).

D'après notre résultat de l'activité antibactérienne, on constate que l'HE de *M. pastinaceae* possède une activité notable contre les bactéries. Ce qui est en concordance avec les travaux de Guesmia *et al.* (2014) qui ont montré que l'HE de *M. pastinaceae* Algérien est plus active que celle de Sicile après la détermination des valeurs de CMI et CMB de l'HE sur dix espèces bactériennes de référence parmi lesquelles trois espèces qui sont utilisées dans notre étude: *E.coli*, *S. aureus*, *B. cereus*.

Cet effet est attribué au contenu de l'huile et qui peut être relié aux composés majoritaires: sesquiterpènes oxygénés (70.4%), les hydrocarbures (5,5%) et les hydrocarbures sesquiterpéniques (5,2%) (Simeon de Buochberg *et al.*, 1976).

En effet, il est admis que l'activité antibactérienne des HEs se classe dans l'ordre décroissant suivant la nature de leurs composés majoritaires:

Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Oxydes > Hydrocarbures > Esters. L'effet des composés quantitativement minoritaires n'est parfois pas négligeable (Lee *et al.*, 1971; Franchomme, 1981).

L'efficacité la plus élevée de l'échantillon d'Algérie pourrait être associée à la présence d'alcools terpéniques tels que le (Z)-nérolidol et le (E)-nérolidol.

Le mécanisme d'action de terpènes n'est pas entièrement compris, mais il peut impliquer la rupture de la membrane bactérienne par les composés lipophiles (Vardar-Unlu *et al.*, 2003). Cependant, il doit être considéré que les composants mineurs, ainsi que les interactions possibles entre les substances, peuvent aussi influencer sur les propriétés microbiologiques des deux échantillons (Guesmia *et al.*, 2014).

Conclusion

Conclusion

Un grand nombre de plantes aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés différentes. Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les huiles essentielles extraites de ces plantes aromatiques. Les différents résultats publiés indiquent qu'elles sont peut-être douées de plusieurs propriétés biologiques parmi lesquelles l'activité antibactérienne. En effet, l'évaluation de telles propriétés demeure une tâche intéressante et utile, en particulier pour trouver des nouvelles sources d'agents antimicrobiens naturels.

Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer l'activité antibactérienne de l'HE extraite des fleurs de *Magydaris pastinaceae in vitro*. L'extraction de l'HE des fleurs de *M. pastinaceae* a été réalisée par hydrodistillation. Le rendement est voisin de $0.0386 \pm 0.002\%$ pour un échantillon récolté en 2011 et de $0.106 \pm 0.046\%$ pour un autre récolté en 2014.

L'analyse chimique de l'huile a été effectuée par CG et CG/SM et permis d'identifier 66 composés représentant 95.2% de l'HE avec les sesquiterpènes oxygénés (70.4%) comme constituants majoritaires dont (*E*)-nérolidol (35,4%), α -costol (13,3%) et β -costol (6,8%) sont les principaux constituants de l'huile.

L'étude de l'activité antibactérienne de l'HE a été réalisée par la méthode de l'aromatogramme et nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'HE testé vis-à-vis de quatre espèces bactériennes de référence. Ce pouvoir est intéressant sur trois bactéries. Il a été constaté que ce pouvoir varie en fonction de la souche microbienne testée et de la dilution de l'huile appliquée.

Parmi les perspectives immédiates de cette étude est de déterminer les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides de cette huile et d'évaluer leur pouvoir sur des modèles animaux (*in vivo*) ainsi que l'étude du pouvoir antimicrobien de cette huile sur plusieurs souches bactériennes et fongiques en vue d'une éventuelle désinfection de l'air contaminée des hôpitaux ou des canaux d'aération des bâtiments. En plus de l'étude d'autres propriétés biologiques de cette plante, à savoir les propriétés: antioxydante, anti-inflammatoire, antivirale, anticancéreuse et autres.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- AFNOR. (1992).** Recueil des Normes françaises sur les huiles essentielles. Paris
- Audigie C. L., Dupon G. et Zansgain F. (1995).** Principe des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2^{ème} Ed. Doin, Paris, 44p.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. and Idaomar M. (2008).** Biological effects of essential oils. *Food Chemical Toxicology*. **46** : 446–475.
- Baser K. H., Tümen G., Tabanca N. and Demirci F. (2001).** Composition and antibacterial activity of the essential oils from *Satureja wiedemanniana* (Lallem.). *Velen. Z. Naturforsch*, **56**: 731-738.
- Belaiche P. (1979).** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Ed. Maloine S. A. Paris, T.1, 915p.
- Bertsch A., Schweer H. and Titze A. (2008).** Chemistry of the cephalic labial gland secretions of male *Bombus morrisoni* and *B. rufocinctus*, two North American Bumblebee males with perching behavior. *J Chem Ecol*. **34**: 1268 – 1274.
- Bézanger- Beauquesne L., Pinkas M., et Torck M. (1980).** Plantes médicinales des régions tempérées. Ed. Maloine. 439 p.
- Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, Ed. TEC & DOC, Paris, 1095p.
- Bruneton J. (2003).** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. Ed. Lavoisier, 254p
- Bruno M., Lamartina L., Lentini F., Pascual C., and Savona G. (1984).** Bonandiol: a new irregular, monocyclic diterpene from *Bonannia greca* (L.) Halacsy (Umbelliferae). *Tetrahedron Lett*. **25**:4287 – 4290.
- Bruno M. (2006).** Antibacterial and anticoagulant activities of coumarins isolated from the flowers of *Magydaris tomentosa*. *Planta Med*. **72**:116 – 120.
- Burger BV., Le Roux M., Spies HSC., Truter V. and Bigalke RC. (1981).** Mammalian pheromone studies. IV. Terpenoid compounds and hydroxy esters from the dorsal gland of the springbok, *Antidorcas marsupialis*. *Z Naturforsch C J Biosci*. **36**:340 – 343.
- Burt S., (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods . A review. *International Journal of Food Microbiology*, **94**: 223-253.
- Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L. and Ferret A. (2007).** Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*. **90**: 2580–2595.
- Camarda L., Di Stefano V., Lentini F., Mazzola P. (1996).** Coumarins from the fruits of *Magydaris pastinacea*. *Fitoterapia*. **67**: 282.

Références bibliographiques

- Carson C.F., Rilley T.V. and Bosque F. (2002).** Antimicrobial activity of the major components of essential oil of *Malaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*. **78**, p: 264-269.
- Catier O. et Roux D. (2007).** Botanique pharmacogénosie phytothérapie. 3^{éd.}, Wolters Kluwer. France, pp: 112.
- Cerri R., Pintore G., Dessi G., Asproni B., Piseddu G. and Sini S. (1995).** Isolation, characterization and pharmacological activity of *Magydaris pastinacea* glucosides. *Farmaco*. **50**:841 – 848.
- Cowan M. M. (1999).** Plant Products As Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. **12** (4): 564-582.
- Davidson P.M. (1997).** Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. *Food Technology*. **43**: 148-155.
- De Maack F.**
et Sablier M. (1994). Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Dossier: P2614. vol papier n°: TA3. Bases documentaires, Techniques d'analyse.
- De Pascual Teresa J., Grande C., and Grande M. (1978).** Chemical components of Umbelliferae. Magydaridiendiol, diterpénoïde with a new skeleton from *Magydaris panacifolia* (Umbelliferae). *Tetrahedron Lett.* **19**: 4563 – 4566.
- Deans S.G. and Ritchie G. (1987).** Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, **5**:165-180.
- Desjobert J. M., Bianchini A., Tommy P., Costa J. et Bernardini A. F. (1997).** Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse/ spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis*, **25** (6): 13-16.
- Djabou N., Andreani S., Varesi L., Tomi F., Costa J. and Muselli A. (2013).** Analysis of the volatile fraction of *Teucrium marum* L. *Flav Frag J.* **28**:14 – 24.
- Dorman H.J.D. and Deans S.G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. **88**: 308–316.
- Elqaj M., Ahami A. et Belghyti D. (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique: ressources naturelles et des antibiotiques. Maroc
- Euro + Med Plantbase.**
<http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/query.asp>

Références bibliographiques

- Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D. et Guo Z. (1986).** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé. **64** (2):164-159 .
- France-Ida J. (1998)** .Comment s'assurer de la pureté d'une huile essentielle? Info. essences.7: 1-2.
- Franchomme P. (1981).** L'aromatologie à visée anti-infectueuse. *Phytomedicine*. **1**: 25-47.
- Franchomme P. et Pénéol, D. (1990).** L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges.445 p.
- Freeman L. and Carel Y. (2006).** Aromathérapie. *Nutra News Science, Nutrition, Prévention et Santé*.
- Granger M. M. R., Passet J. et Arboussset G. (1973).** L'essence de Rosmarinus officinalis, influence du mode de traitement du matériel végétal. *Parf. Cosm. Sav. France* **3**(3): 133-137.
- Guessmia K., Ben Jamia M., Smain A., Laouer H., Bruno M., Scandolera E. and Senatore F. (2014).** Characterisation and antimicrobial activity of the volatile components of the flowers of *Magydaris tomentosa* (Desf.) DC. collected in Sicily and Algeria. *Natural Product Research*,
<http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2014.919289>
- Haddouchi F., Lazouni H. A., Meziane A. and Benmansour A. (2009).** Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielles de *Thymus fontanesii* Boiss et Rout , *Afrique Science* **05**(2) 246-259, Algerie.
- Hammer K.A., Carson C.F. and Riley T.V. (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *Journal of Applied Microbiology*. **86**: 985–990,
- Hart K.J., Yáñez-Ruiz D.R., Duval S.M., McEwan N.R., and Newbold C.J., (2008).** Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*. **147**: 8-35.
- Herbert R. B. (1989).** The biosynthesis of secondary metabolites. 2nd Ed. Chapman and Hal, London-New York, pp: 63-66.
- Howard RW., Baker JE., and Morgan ED. (2003).** Novel diterpenoids and hydrocarbons in the Dufour gland of the ectoparasitoid *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae). *Arch Insect Biochem Physiol*. **54**: 95 – 109.
- Iserin P., Masson M. et Restellini J. P. (2001).** Larousse des plantes médicinales: identification, préparation, soins. Ed Larousse. 336p.

Références bibliographiques

- Janssen A.M., Scheffer J.J.C., Parhan-Van. and Svendsen A.B. (1988).** Screening of some essential oils for their activities on dermatophytes. *Pharm. Weekbl. Sci. Ed.*, **10** : 277-280.
- Jennings W. and Shibamoto T. (1980).** Qualitative analysis of flavour and fragrance volatiles by glass gas chromatography. New York: *Academic Press*.
- Jeppesen AS., Soelberg J. and Jager AK. 2012.** Chemical composition of the essential oil from nine medicinal plants of the Wakhan Corridor, Afghanistan. *J Ess Oil-Bear Plant*. **15**: 204 – 212.
- Kaloustien J. et Minaglou F H. (2012).** La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie. Edition Springer-verlage France, Paris.
- Karamian R., Asadbegy M. and Pakzad R. (2013).** Essential oil compositions and in vitro antioxidant and antibacterial activities of the methanol extracts of two *Salvia* species (Lamiaceae) from Iran. *Int J Agric Crop Sci*. **5**: 1171 – 1182.
- Lahlou M. (2004).** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, **18**: 435-448.
- Lamarti A., Badoc A., Deffieux G. and Carde J. P. (1994).** Biogénèse des monoterpènes. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, **133**: 79 – 99.
- Laville R., Castel C., Filippi JJ., Delbecque C., Audran A., Garry PP., Legendre L. and Fernandez X. (2012).** Amphilectane diterpenes from *Salvia sclarea*: biosynthetic considerations. *J Nat Prod*. **75**:121 – 126.
- Lawrence B.M. (1995).** Essential oils, Allured publishing corporation, Carol Stream.
- Le Centre de données de spectrométrie de masse. (1983).** Eight peak index of mass spectra. Nottingham: The Royal Society of Chemistry, Nottingham University.
- Lee K. H., Huang E. S., Pagana J. S. and Geissman T. A. (1971).** Cytotoxicity of sesquiterpenes lactones. *Cancer. Research*, **31**: 1649-1654.
- Mahmoudi Y. (1990).** La thérapeutique par les plantes communes en Algérie. Ed. Palais du livre, Blida. 118 p.
- Mann C.M. and Markham J.L. (1998).** A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oil. *Journal of applied microbiology*, **84**, 538-544.
- Mengel P., Beh D., Bellido G.M. and Monpon B. (1993).** VHMD: extraction d'huile essentielle par micro-ondes. *Parfums Cosmétiques Arômes*, **114**: 66-67.
- Mishara A.K. and Dubey N.K. (1994).** Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Appl. Environ. Microbiol.* **60** (4):1101-1105.

Références bibliographiques

- Mojab F., Rustaiyan A. and Jasbi Amir R. (2002).** Essential oils of *Heracleum persicum* Desf. ex Fischer leaves. *DARU J Fac Pharm.* **10**: 6 – 8.
- Mompon B. (1994).** Quel avenir commercial pour les produits obtenus par les nouvelles technologies d'extraction: CO₂, Micro-ondes, ultrasons, nouveaux solvants, 4 ième rencontre internationale de Nyons, pp: 149-166.
- Moreau F. (1960)** Botanique: Procaryotes (cyanophites et bactéries). Eucaryotes (algues, champignons et végétaux supérieurs). La plante dans ses rapports avec le milieu. Ed. Paris, Gallimard.
- Nagano H., Masunaga Y., Matsuo Y. and Shiota M. (1987).** Synthesis of 2,6-dimethyl-6-(8-methyl-4-methylene-7-nonyl)-2-cyclohexene-1-methanols from a-santonin. *Bull Chem Soc Jpn.* **60**:707 – 711.
- Nicolas V. (1991).** Huiles essentielles: Production mondiale, échanges internationaux et évaluation des prix. 10^{ième} journée internationale des huiles essentielles. Actes, Ravista italiana Eppos ; numéro spécial 02/1992 : 534-539.
- Olle M. and Bender I. (2010).** The content of oils in Umbelliferous crops and its formation. *Agronomy Research* **8** (3): 687-696.
- OMS.** Stratégie de l'OMS pour médecine traditionnelle pour 2002-2005.WHO/ EDM/ TRM/ 2002. 1.
- Paris M. et Hurabielle M. (1981).** Plante à huile essentielle in Abrège de matière médicale, (Pharmacognosie, Tome 1. Paris New York Bercelone Millan Mexico Rio de Janeiro. 335p.
- Pattnaik S., Subramanyam V.R., Bapaji M. and Kole C.R. (1997).** Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbios.* **89** (358): 39-46
- Pelt J. M. (1980).** Les drogues. Leur histoire, leurs effets, Ed. Doin,
- Pibiri M.C. (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. thèse de Doctorat, Lausanne, Canada, p :177.
- Pignatti S. (1982).** Flora d'Italia. Vol. II. Bologna: Ed agricole; p. 221.
- Pinar M. (1977).** Coumarins of *Magydaris panacifolia*, *Cachrys sicula*, *Cachrys libanotis* and *Lafuentea rotundifolia*. *An Quim.* **73**: 599 – 600.
- Ponce A. G., Fritz R., Del Velle C. and Roura S. I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of oeganic Swiss Chard. *Lebensmittelchaft and technologic*, **36**, 679-684.
- Quezel P. et Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales ; Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris.

Références bibliographiques

- Raina VK., Verma SC., Dhawan S., Khan M., Ramesh S., Singh SC., Yadav A. and Srivastava SK. (2006).** Essential oil composition of *Murraya exotica* from the plains of northern India. *Flav Frag J.* **21**:140 – 142.
- Reynaud J. (2002).** La flore du pharmacien. Ed.TEC et DOC, Paris.
- Richard F. (1992).** Manuel des corps gras, Paris, Ed: Lavoisier, Tec.&Doc., pp :1228-1242.
- Robert G. (2000).** Les Sens du Parfum. Osman Eroylls Multimedia. Paris. 224 p.
- Rosselli S., Maggio AM., Bellone G., Formisano C., Basile A., Cicala C., Alfieri A., Mascolo N. and Bruno M. (2006).** Antibacterial and anticoagulant activities of coumarins isolated from the flowers of *Magydaris tomentosa*. *Planta Med.* **72**:116 – 120.
- Rosua J. L. et Granados A.G. (1987).** Analyse des huiles essentielles d'espèces du genre *Rosmarinus L.* et leur intérêt en tant que caractère taxonomique. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, XXI(2): 138-143.
- Sangwan N.S., Farooqi A.H.A., Shabih F. and Sangwan R.S. (2001).** Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation.* **34**: 3–21.
- Schaueuberg P. et Paris F. (2005).** Guide des plantes médicinales: analyse, description et utilisation de 400.2nd Ed., Delachaux et niestlé, Paris, pp: 15-16.
- Schulz S., Krueckert K. and Weldon PJ. (2003).** New terpene hydrocarbons from the Alligatoridae (Crocodylia, Reptilia). *J Nat Prod.* **66**:34 – 38.
- Schwedt G. (1993).** Méthodes d'analyse. Ed. Flammarion.
- Silano V. and Delbò M. 2008.** Assessment report on *Foeniculum vulgare* Miller. EMEA, European Medicines Agency. London : 23p.
- Simeon de Buochberg M. (1976).** L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. et de ses constituants. Thèse d'Etat de Docteur en Pharmacie. Faculté de Pharmacie, Montpellier, pp: 135-159.
- Strang C. (2006).** Larousse medical. Ed Larousse .
- Tchamdja K.M. (1995).** Etude de performance d'un extracteur artisanal pour la production d'essence de citronnelle. Mémoire d'ingénieur des travaux biologiques, ESTBA, UB, 95 p.
- Teisseire P.J. (1991).** Chimie des substances odorantes. Tec et Doc., Lavoisier, Paris, France.480p
- Valnet J. (2005).** L'aromathérapie. Ed Malonie S.A.
- Vardar-Unlu G., Candan F., Sokmen A., Daferera D., Polissiou M., Sokmen M., Donmez E. and Tepe B. (2003).** Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. and *Mey. var. pectinatus* (Lamiaceae). *J Agric Food Chem.* **51**: 63 – 67.

Références bibliographiques

- Waterhouse JS., Ke J., Pickett JA. and Weldon PJ. (1996).** Volatile components in dorsal gland secretions of the collared peccary, *Tayassu tajacu* (Tayassuidae, Mammalia). *J Chem Ecol.* **22**: 1307 – 1314.
- Wendakoon K. and Saguchi N.A. (1995).** Methods of asses quality and stability of oils and fat-containing foods .*AOCS. press*, champaign.
- Wichtl M. et Anton R. (2003).** Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed. TEC & DOC.
- Zhiri A. (2006).** Les huiles essentielles, un pouvoir antimicrobien avéré. *Nutra News Hippocartus magazine*, **55**.

Annexe

Annexe I. Milieux de culture

1. 1. Les milieux liquides

1. 1. 1. L'eau physiologique stérile

Chlorure de sodium	9 g
Eau distillée	1000 ml
pH = 7	

Stérilisation à 121 °C/15 min

1. 1. 2. Bouillon BRAIN HEART INFUSION (BHIB)

Protéose-peptone	10 g
Infusion de cervelle de veau	12.5 g
Infusion de cœur de bœuf	5 g
Phosphate disodique	2.5 g
Eau distillée qsp	1000 ml
pH= 7.4	

Stérilisation à 121 °C/15min

1. 1. 3. Bouillon Nutritive

Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Eau distillée	1000 ml
pH=7.2	

1. 2. Les milieux solides

1. 2. 1. Gélose de Mueller Hinton (MH)

Extrait de viande	3 g
Hydrolysate acide de caséine	17.5 g
Agar	18 g
pH= 7.4	

Stérilisation à 121 °C/15min

1. 2. 2. Gélose nutritive (GN)

Peptone	10 g
Extrait de viande	3 g
Extrait de levures	3 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	15 g

Annexe

Annexe II. Aperçu sur les souches bactériennes

Bacillus subtilis

Le genre *Bacillus* comprend des bactéries en forme de bâtonnets, généralement mobiles, sporogènes. Ces bacilles sont à Gram positif, aérobies stricts ou anaérobies facultatifs. Cette espèce de *Bacillus* peuvent parfois jouer le rôle de germes opportunistes et en fait que durant ces dernières années, une augmentation significative des infections nosocomiales a été constatée.

Escherichia coli

E. coli est une entérobactérie mobile capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole. C'est un agent très courant anaérobie facultatifs. Son habitat est le colon humain où il est le plus abondant, alors que sa survie est extrêmement difficile dans l'environnement. Commensal du tube digestif, est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires. Elle peut aussi provoquer des diarrhées par des mécanismes très divers, ainsi que diverses infections communautaires ou nosocomiales.

Proteus mirabilis

Est un, anaérobie facultatif, en forme de tige de bactérie Gram-négative. Il montre l'essaimage motilité et l'activité de l'uréase. *P. mirabilis* est responsable de 90% de toutes les infections *Proteus* chez l'homme.

Staphylococcus aureus

Sont connues pour provoquer des infections cutanées furoncles, panaris, abcès mammaires chez les femmes qui allaitent.