

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent



Institut des Sciences

Département des sciences de la nature et de la vie

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

SI BOUAZZA Khouloud et ZENASNI Imane Aicha

**Contribution à l'Etude des Activités Antimicrobiennes, Antioxydantes
et Anti-inflammatoires de l'Huile Essentielle des Quatre Plantes
Médicinales de la Région d'Ain Temouchent**

Encadreur : **BENNABI Farid**

Maitre de conférences "B" à C.U.B.B.A.T.

Soutenu le **27 septembre 2020**

Devant le jury composé de :

Président : **Mr.CHERIF Nadjib**

(M.C.B) C.U.B.B.A.T

Examineur: **Mr. Mouedden Nasreddine Riad**

(M.A.A) C.U.B.B.A.T

Encadreur: **Mr.BENNABI Farid**

(M.C.B) C.U.B.B.A.T

*“Les plantes semblent avoir été semées avec profusion sur la terre,
comme les étoiles dans le ciel, pour inviter l’homme par l’attrait du plaisir
et de la curiosité à l’étude de la nature „*

Jean Jacques ROUSSEAU

Remerciements

Louange à Allah, le très puissant, clément et miséricordieux de nous avoir donné la force et la patience nécessaires pour réaliser ce travail de fin d'étude.

*Nos premier pensée vas tous d'abord à l'endroit de la personne du **Mr BENNABI Farid**, maitre de conférences classe Bnotre encadreur qui par sa générosité, sa sympathie et son irréprochable pédagogie a su nous transporter dans cette expérience intellectuelle. Il a été la source de notre inspiration et l'énergie pour notre endurance. Nous n'oublions jamais sa position avec nous et la patience qu'il avait pour nous afin de poursuivre ce travail à la lumière de cette pandémie. Ce travail soit un témoignage de notre gratitude et notre profond respect*

*Nous exprimons notre gratitude à **Mr Cherif Nadjib**maitre de conférences classe Bde nous avoir honoré en président le jury de notre soutenance.*

*Nous adressons aussi notre sincère remerciement à **Mr MOUEDDEN Riad Nasr Edin**maitre assistant classe A d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos très grande considération, et nos profond respect au monsieur **MEHAMMADI Walid** de nous avoir consacré tous son temps en nous transmettant tout son savoir dans tous les domaines malgré toutes ses responsabilités et ses nombreuse occupations.*

*Un grand respectueux remerciement à monsieur **RAHMANI Khaled** pour ses conseils, ses encouragements et pour nous avoir donné toutes les informations dont nous avons besoin dans le domaine de microbiologie.*

*Nous voudrions exprimer nos grand remerciement à monsieur **SI BOUAZZA Miloud** qui n'a pas hésité de nous offrir le récolte de sa expérience ainsi pour leur soutien permanant durant la réalisation de ce travail.*

Nous tenons aussi à exprimer notre sincère remerciement et notre profonde gratitude à tous nos collègues de la promotion pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble.

Nos sentiments de reconnaissances et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

« Que dieu vous bénisse »

Dédicace

*A la mémoire des deux grandes dames qui m'ont accompagné par ses prières, mes grandes mères, **Fatma** et **Amra** j'aurais tant aimé que vous soyez présente. Que Dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde.*

*A mon grand père **MOHTAR SEDDIK Mohammed** qui m'a toujours tenu la main et qui ne m'a jamais lâché de son existence.*

*Aux êtres les plus chers a mon cœur, mon père **Abdelkader** et ma mère **Zafia**, qui ont consacré leur noble existence à bâtir la mienne. Aujourd'hui je dépose entre vos mains la récolte de votre travail qu'il soit le témoignage du grand amour que je vous dois.*

*A cette personne qui m'était une source de courage, à toi mon fiancé **Oussama Boucif**, ton soutien, ta gentillesse sans égal et ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études.*

*A mon frère **Mohammed** et sa femme **Amina** qui m'ont toujours encouragé.*

*A ma chère sœur **Amira Abla** et son époux **Chem edine**, qui font une partie de mon bonheur.*

*À ces morceau de bonheur, Mes nièces **Mirna** et **Cherine***

*A mon adorable nièce, ma belle rose, **Aline**, je t'exprime à travers ce travail ma grande affection, mon grand amour et mon profond attachement.. Puisse Dieu vous garde et vous procure votre santé*

*A ma chère **Djamila**, je vous dédie ce travail en témoignage des sentiments tendres que j'éprouve pour vous.*

*A ma deuxième maman, **Mm SI BOUAZZA Mama**, qui m'a appris beaucoup de chose et qui m'a toujours encouragé.*

*A mon cher oncle **Mr MOKHTAR SEDDIK Saad**, Je voulais que vous sachiez que vous m'avez donnée une opportunité que personne d'autre ne peut se permettre. Ce travail soit un témoignage de ma gratitude.*

*A **Nadir** et **Noufel**, vous avez une partie dans la réussite de ce travail.*

*A ma chère cousine, et ma jumelle de cœur **Abir** avec qui j'ai grandi, et que je partage ce moment si précieux.*

A tous les membres de ma famille, oncles et tantes, cousins et cousines, petit et grand, sans exception. Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

*A toi **Yasmine**, cette amie serviable, souriante à cœur blanc, ce travail n'aurait jamais pu réussir sans ton aide, ton optimisme et tes encouragements, merci*

*A mes amis que j'ai vécus avec eux des beaux moments au cours de mon cursus à l'exception **Mr SOUIDI Mohammed Abd eldjelil** qui m'a apporté leur support moral et intellectuel tout au long de ma démarche.*

*A ma chère copine **Imane Aicha**, pour leur bonne compagnie au coure de ce chemin, avec des beaux souvenirs qui perpétué par notre amitié, je te souhaite que de bien et de bonheur a ta vie*

Khouloud

Dédicace

*Aux êtres les plus chers a mon cœur, mon père **Said** et ma mère **Amaria** qui ont consacré leur noble existence à bâtir la mienne. Aujourd'hui je dépose entre vos mains la récolte de votre travail qu'il soit le témoignage du grand amour que je vous dois.*

*A mon chère frère **Youcefet** sa femme **Soumia**, qui m'ont appris beaucoup de chose et qui m'ont toujours encouragé.*

*A mon chère frère **Mohammed ElAmine** qui fait une partie de mon bonheur.*

*À ces morceau de bonheur, Mes neveux **Sid Ahmed** et **Ali***

*A ma chère copine **Asma**, la plus magnifique de mes amies Tu es a la fois ma sœur et ma copine proche .Je n'oublierait jamais les bons moments qu'on a vécu ensemble. Je te remercie pour tes encouragements et tes conseils .Que Dieu te garde pour moi*

*A ma chère copine **Djihad**, je vous dédie ce travail en témoignage des sentiments tendres que j'éprouve pour vous.*

A tous les membres de ma famille, oncles et tantes, cousins et cousines, petit et grand, sans exception. Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

*A toi **Yasmine**, cette amie serviable, souriante à cœur blanc, ce travail n'aurait jamais pu réussir sans ton aide, ton optimisme et tes encouragements, merci*

*A mes amis que j'ai vécu avec eux des beaux moments au cours de mon cursus à l'exception **Mr SOUIDI Mohammed Abd eldjelil** qui m'a apporté leur support moral et intellectuel tout au long de ma démarche*

*A ma chère copine **Khouloud**, pour leur bonne compagnie au coure de ce chemin, avec des beaux souvenirs qui perpétué par notre amitié, je te souhaite que de bien et de bonheur a ta vie*

Imane Aicha

Table des matières

Introduction	01
Partie I : Synthèse bibliographique	
Chapitre 01:Etude des plantes médicinales	
1- La phytothérapie	06
2-Définition des plantes médicinales	06
3-Les métabolites secondaires	06
3.1- Définition	07
Chapitre 02 : Généralités sur les huiles essentielles	
1-Historique des huiles essentielles.....	09
2-Définition des huiles essentielles	09
3-Production mondiale des huiles essentielles	09
4-Localisation des huiles essentielles dans les plantes	10
5- Rôle des huiles essentielles dans les plantes	10
6- Propriétés physiques des huiles essentielles	10
7-La composition chimique des huiles essentielles	10
7.1- Composés terpéniques	11
7.1.1 – Lesmonoterpènes	11
7.1.2 - Les sesquiterpènes	12
7.2- Composés d’origines diverses	12
8- Facteurs influençant la composition chimique	12
8.1- Facteurs intrinsèques	12
8.2- Facteurs extrinsèques	12
9- Méthodes d’extraction des huiles essentielles	13
9.1-Hydrodistillation	13
9.2- Entraînement à la vapeur d’eau	13
9.3- L’hydrodiffusion	14
9.4- Extraction par les solvants organiques	14
9.5- Enfleurage	14
10-Toxicité des huiles essentielles	15

Chapitre 03 : Les activités biologiques étudiées

1. Définitions	17
1.1 L'activité antimicrobienne	17
1.2- L'activité anti-oxydante	18
1.3- L'activité anti-inflammatoire	18

Chapitre 04 : Présentation des plantes étudiées

Généralités	20
1- Laurier sauce (<i>Laurus nobilis</i>)	20
1.1 - Position systématique	21
1.2- Description botanique	21
1.3- Composition chimique de l'huile essentielle du laurier	22
1.4- Utilisation de l'huile essentielle du laurier	22
2- La menthe pouliot (<i>Mentha Pulegium</i>).....	23
2. 1- Position systématique	23
2. 2- Description botanique	23
2. 3- Composition chimique de l'huile essentielle du <i>Mentha pulegium</i>	24
2. 4- Utilisation de l'huile essentielle du <i>Mentha pulegium</i>	24
3- Le lavande papillon (<i>Lavandula Stoechas</i>).....	25
3.1- Position systématique	25
3.2- Description botanique	26
3.3- Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Lavandula .stoechas</i>	26
3.4- Utilisation de l'huile essentielle de <i>Lavandula .stoechas</i>	26
4- Lavande dentée (<i>Lavandula dentata L.</i>).....	27
4.1- Position systématique	27
4.2- Description botanique	27
4.3- Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Lavandula dentata</i>	28
4.4- Utilisation de l'huile essentielle de <i>Lavandula dentata</i>	28

Partie II : Matériel et Méthodes

Objectifs de l'étude	31
1-Matériel végétal	31
1.1- Extraction de l'huile essentielle	35
1.2- Conservation de l'huile essentielle obtenue	35
1.3- Détermination de rendement	35
2- Evaluation de l'activité antimicrobienne	36
2.1- Les microorganismes	36
2.2- Milieux de culture	37
2.3- Antibiotiques	38
2.4- Préparation des dilutions des huiles essentielles	38
2.5- Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode d'aromatogramme (étude qualitative)	38
2.6- Préparation des disques	38
2.7- Ensemencement et dépôt des disques	39
2.8- Méthode des micro-dilutions en milieu liquide (étude quantitative)	40
2.9- Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) « Les micro dilutions»	40
2.10- Lecture des résultats	41
2.11- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	42
2.12- Caractère bactéricide et bactériostatique	42
2.13- Etude de l'effet de la combinaison entre les huiles essentielles	42
2.14- Etude de l'association des huiles essentielles avec les antibiotiques vis-à-vis les souches bactériennes	43
3- Evaluation de l'activité anti-oxydante	45
3.1- Test de DPPH	45
3.2- Mode opératoire	45
3.3- Calcul de la concentration inhibitrice IC50	46
4-Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	46
Principe	46
4.1- Matériel utilisé	47
4.2- Préparation de la suspension érythrocytaire	47

4.3- Test de stabilisation membranaire par la chaleur	47
4.4- Test d'hémolyse	48

Partie III : Résultats et discussion

1- Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles	51
2- Rendement d'huile essentielle	51
3- Etude de l'activité antimicrobienne	53
3.1- Résultats de test d'aromatogramme	53
3.2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	58
3.3- Détermination de la concentration minimale bactéricide et fongicide (CMB), (CMF)	62
3.4- Qualification de l'activité antimicrobienne de l'HE	63
3.5- Effets de la combinaison entre les huiles essentielles	63
3.6- Effet de l'association des huiles essentielles avec les antibiotiques vis-à-vis les souches étudiées	68
4- Etude de l'activité antioxydante	72
4.1- Calcul du pourcentage d'inhibition (I%)	73
4.2- Calcul de l'IC50	74
5- Etude de l'activité anti-inflammatoire	76
5.1- Test de stabilisation membranaire par la chaleur	76
5.2- Test d'hémolyse	77
Conclusion	81
Références bibliographiques	
Résumé	

Liste des figures

Figure 01: Structure chimique d'isoprène (C ₅ H ₈)n	11
Figure 02: Structure acyclique :myrcène.....	11
Figure 03 : Structure monocyclique:t hymol	11
Figure 04: Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile	13
Figure 05 : Appareillage utilisé pour entrainement à la vapeur d'eau	14
Figure 06: Montages pour l'extraction par l'hydrodiffusion.....	14
Figure 07 : photo de plante de laurier noble (<i>Lauris nobilus</i>)	21
Figure 08: photo de plante de menthe pouliot (<i>Mentha pulegium</i>).....	24
Figure 09 : photo de plante de lavande papillon (<i>Lavandula stoechas</i>)	26
Figure 10: photo de plante de lavande dentée (<i>Lavandula dentata</i>)	28
Figure 11 : Situation géographique de la région des récoltes des plantes étudiées Ain Témouchent.....	32
Figure12 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	34
Figure 13: Le montage utilisé pour l'extraction d'huile essentielle	35
Figure14: Les différentes dilutions d'HE pour chaque espèce	38
Figure 15 : Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)	40
Figure 16 : Méthode de micro dilutions (CMI).....	41
Figure 17: l'interaction entre l'huile essentielle	43
Figure 18 : Méthode de l'association « huile essentielle/antibiotique »	44
Figure 19: Forme libre et réduite du DPPH.....	45
Figure 20 : préparation de différentes concentrations de quatre huiles essentielles testées...	49
Figure21: préparation de la suspension érythrocytaire	49
Figure 22: préparation des solutions de test de stabilisation membranaire par la chaleur .	49
Figure 23 : préparation des solutions de test d'hémolyse.....	49
Figure 24 : Représentation graphique de rendement de l'huile essentielle extraite de chaque plante étudiée.....	52
Figure 25: Représentation graphique de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle <i>Laurus nobilus</i> réalisé par la méthode de diffusion sur disque.....	53
Figure 26: Représentation graphique de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle <i>Mentha pulegium</i> réalisé par la méthode de diffusion sur disque	54
Figure 27 : Représentation graphique de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle <i>Lavandula dentata</i> réalisé par la méthode de diffusion sur disque	54
Figure 28: Représentation graphique de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle <i>Lavandula stoechas</i> réalisé par la méthode de diffusion sur disque	55
Figure 29 : Résultat d'aromatogramme d'HE de <i>Lauris nobilus</i> contre <i>S.aureus</i> ATCC 43300... ..	57
Figure 30: Résultat d'aromatogramme d'HE de <i>Mentha pulegium</i> contre <i>P.aeruginosa</i> ATCC	57
Figure 31: Résultat d'aromatogramme d'HE de <i>Lavandula dentata</i> contre <i>S.aureus</i> ATCC 43300	58
Figure 32: Résultat d'aromatogramme d'HE de <i>Lavandula stoechas</i> contre <i>E.coli</i> ATCC 58	

Figure 33 : Représentation graphique des CMI des huiles essentielles relatives aux souches microbiennes	59
Figure 34 : Représentation graphique des CMB et CMF des huiles essentielles des plantes médicinales relative aux souches bactériennes et fongique	62
Figure 35 : Représentation graphique de l'effet inhibiteur de la combinaison entre les huiles essentielles	64
Figure 36 : résultats de la combinaison entre les huiles essentielles (a.P.aeruginosa ; b. S.aureus ATCC43300 ; c.S.aureusATCC25922 ; d. E.coli et e. C.albicans	67
Figure 37 : Représentations graphiques des effets des différentes associations « HE /Antibiotiques », l'antibiotique et HE <i>Lauris nobilussur</i> les quatre souches bactériennes .68	68
Figure 38 : Représentations graphiques des effets des différentes associations « HE /Antibiotiques », l'antibiotique et HE <i>Mentha peligum</i> sur les quatre souches bactérienne	69
Figure 39 : Représentation graphique des effets des différentes associations « HE /Antibiotiques », l'antibiotique et HE <i>Lavandula dentata</i> sur les quatre souches bactériennes.....	69
Figure 40 : Représentation graphique des effets des différentes associations « HE /Antibiotiques », l'antibiotique et HE <i>Lavandula stoechas</i> sur les quatre souches bactérienn	70
Figure 41 : résultats de l'interaction synergétique d'HE <i>L.nobilus</i> avec les antibiotiques contre <i>S.aureus ATCC43300</i>	71
Figure 42 : résultats de l'interaction synergétique d'HE <i>M.pulegium</i> avec les antibiotiques contre <i>S.aureus ATCC43300</i>	72
Figure 43 : résultats de l'interaction synergétique d'HE <i>L.dentata</i> avec les antibiotiques contre <i>E.coli ATCC</i>	72
Figure 44 : résultats de l'interaction synergétique d'HE <i>L.stoechas</i> avec les antibiotiques contre <i>S.aureus ATCC43300</i>	72
Figure 45 : Activité anti-radicalaire des huiles essentielles.....	73
Figure 46 :représentation graphique des IC50 des huiles essentielles et les témoins	74
Figure 47 : Représentation graphique de l'effet des huiles essentielles contre l'hémolyse des membranes érythrocytaires, induit dans la solution hypotonique	76
Figure 48 : Représentation graphique de l'effet des huiles essentielles contre l'hémolyse des membranes érythrocytaires, induit dans la chaleur	77

Liste des tableaux

Tableau 01 : les plantes médicinales étudiées	32
Tableau 02 : Situation géographique des stations de récolte	33
Tableau 03 : Organes végétaux destinés pour l'extraction.....	33
Tableau 04 : Descriptions des différents microorganismes utilisés dans cette étude	37
Tableau 05 : Tableau conventionnel d'interprétation des zones d'inhibition	39
Tableau 06 : Tableau exprimé les propriétés organoleptiques	51
Tableau 07 : Le rendement de l'huile essentielle extrait de chaque plante étudiée	51
Tableau 08 : Les résultats du rapport CMB/CMI et CMF/CMI	63

Liste des abréviations

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

HE: Huile essentielle

PDA: Potato Dextrose Agar

GEN: Gentamycine

OFX: Ofloxacin

SXT: Trimethoprim + Sulfamethoxazole

µl: Micro-litre

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

DMSO: Dimethyl

°C: Degré Celsius

MH: Muller Hinton

CMF: Concentration Minimale Fongicide

CMB: Concentration Minimale Bactericide

ATB : Antibiotique

IC50: Concentration Minimale

PBS : Phosphate Buffered Saline

LD : *Lavandula dentata*

LS: *Lavandula stoechas*

LN: *Laurus nobilis*

MP: *Mentha pulegium*

I%: pourcentage d`inhibition

DPPH: 2,2- diphényl-1-picrylhydrazyle

Introduction

Actuellement, l'ethnopharmacologie s'emploie à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives et dont il appartient à la recherche moderne de préciser les propriétés et de valider les usages. La recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant des données ethno-pharmacologiques. Cette approche permet de sélectionner des plantes potentiellement actives et d'augmenter significativement le nombre de découvertes de nouveaux principes actifs (**Pelt, 2001**).

Selon l'organisation mondiale de la santé (**OMS, 2003**), 75 à 95% des populations rurales (particulièrement dans les pays en développement) font un recours à la médecine traditionnelle faite en grande partie à base de plantes.

Il a été prouvé qu'environ 20% des espèces végétales dans le monde possèdent des vertus thérapeutiques ou cosmétiques, car elles contiennent des molécules ou des principes actifs à différentes propriétés biologiques, qui trouvent leur application dans divers domaines (médecine, pharmacie, cosmétologie et agriculture, etc.) (**Suffredini et al., 2004**).

En plus, l'augmentation de la fréquence des infections microbiennes au cours des dernières années ainsi que l'émergence des résistances aux antibiotiques et aux antifongiques de synthèse (**WHO Media centre, 2002**), constituent un problème de santé majeur, d'où la nécessité d'orienter la recherche vers de nouvelles molécules plus puissantes, moins toxiques et moins coûteuses entre autres vers les substances d'origine végétale.

Les plantes médicinales aromatiques constituent une source essentielle de substance bioactives telle que (huile essentielle, flavonoïdes, quinone, vitamine, saponines, caroténoïdes, terpènes, polyphénols, alcaloïdes, etc) qui ont présenté des propriétés biologiques diverses (Antioxydants, antibactériennes, anti-inflammatoires...etc) (**Michel, 2011**) et sont considérées comme les meilleurs candidats dans la recherche des alternatives.

L'utilisation des combinaisons de molécules bioactives naturelles à pouvoir antimicrobien, pourrait être prometteuse et envisageable en industrie agro-alimentaire dans la mesure où elle permet d'optimiser leurs effets antimicrobiens tout en limitant leurs effets secondaires.

Selon l'organisation mondiale de la santé (**O.M.S, 2002**), près de 80 % des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire.

En Algérie, la phytothérapie fait partie intégrante de la culture locale. La population possède un savoir autochtone important acquis de manière empirique au fil des générations. Sa situation géographique et sa diversité climatique ont permis le développement d'une flore très riche et très diversifiée répartie sur tout le territoire algérien; qui a été utilisé depuis des temps immémoriaux pour traiter plusieurs maladies(**Bouasla et al., 2017**).

Dans le cadre de la connaissance et la valorisation des produits naturels Algériens principalement d'origine végétale, nous nous sommes intéressées à l'étude des huiles essentielles extraites à partir de quatre plantes médicinales : *Lauris nobilus*, *Mentha pulegium*, *Lavandula dentata* et *Lavandula steochas*.

C'est dans cette optique dans le cadre de la valorisation de ces espèces médicinales que nous sommes intéressées à l'étude de l'effet de leurs huiles essentielles afin de tester leur propriétés biologiques: antimicrobienne, antioxydante et anti-inflammatoire de chacune de ces plantes.

Notre travail, présenté dans ce manuscrit, est réparti en deux volets :

Le premier volet est consacré pour l'étude bibliographique scindée en quatre chapitres :

- Le premier chapitre est réservé aux généralités sur la phytothérapie.
- Le deuxième chapitre quant à lui est consacré aux huiles essentielles.
- Le troisième chapitre fera l'objet de l'étude des plantes médicinales, présentation de la plante, sa description botanique, ses propriétés ainsi que son domaine d'application.
- Le quatrième chapitre est un rappel sur les activités biologiques étudiées.

Le deuxième volet expérimental comprend :

- L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.
- Une étude biologique *in vitro* visant à évaluer le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles. Les tests antimicrobiens sont réalisés sur 4 souches bactériennes et une souche fongique.
- La mise en évidence *in vitro* du potentiel antioxydant des huiles essentielles par le test du piégeage du radical libre DPPH.
- Enfin l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par deux tests : test de stabilisation membranaire par la chaleur et test d'hémolyse.

Les résultats obtenus suivis des interprétations et quelques fois des comparaisons sont faits avec certains travaux réalisés dans le même contexte. Le manuscrit est achevé par une conclusion présentant une synthèse des meilleurs résultats obtenus avec les perspectives envisagées.

Partie I
Synthèse
bibliographique

Chapitre 01 :
Etude des plantes
médicinales

Depuis une dizaine d'années, face à la perte de confiance progressive de la population au regard de la médecine classique, les gens se tournent de plus en plus vers des thérapeutiques plus naturelles. Parmi elles, on retrouve la phytothérapie.

1- La phytothérapie

Phytothérapie : est un mot d'origine grecque : « phyto » qui veut dire plante et « therapeuein » qui veut dire soigner. Autrement dit, au sens étymologique, c'est « la thérapeutique par les plantes ». La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir ou 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 (**Chabrier, 2010**).

2- Définition des plantes médicinales

Selon la pharmacopée française (1965), une plante médicinale est une plante, qui utilisée entière ou sous forme de parties, possède des propriétés médicamenteuses. Ces plantes peuvent aussi avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (**Bouaine, 2017**).

On peut distinguer deux types de plantes médicinales : en premier lieu se trouve l'allopathie dans laquelle les plantes ont une action importante et immédiate. Beaucoup des plantes utilisées dans ce mode de traitement peuvent s'avérer toxiques. En effet deux tiers des médicaments sur le marché sont d'origine naturelle, principalement végétale (**Moreau, 2003**). Puis on différencie les plantes dépourvues d'effet iatrogène, mais ayant une activité faible. Elles sont utilisées en l'état ou dans des fractions réalisant le totum de la plante, soit la totalité des constituants (**Moreau, 2003**).

3- Les métabolites secondaires

Le métabolisme secondaire dérive du métabolisme primaire et fournit des métabolites à faible concentration, mais dont l'application dans différents domaines, en particulier à intérêt pharmaceutique et cosmétique, voir nutritionnel, est de la plus grande importance (**Harbone, 1998**).

3.1- Définition

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisés par les plantes autotrophes.

Les métabolites secondaires sont bio-synthétisées à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Ils ont essentiellement pour rôle d'accroître la compétitivité de l'organisme qui les bio-synthétise en lui conférant un avantage sur d'autres organismes (**Coffi *et al.*, 2012**).

Les métabolites secondaires ont donc des fonctions biologiques qui peuvent s'avérer essentielles : (**Scharf *et al.*, 2014**)

- les pigments isoprénoïdes et les parfums (isoprénoïdes volatils) des plantes attirent les insectes pollinisateurs (essentiels pour la reproduction) ;
- moyens de défense contre des agressions d'origines biotiques et abiotiques ;
- communication entre plantes, micro-organismes ou animaux (hormones, phéromones, ...)

Chapitre 02 :

*Généralités sur les huiles
essentielles*

1- Historique des huiles essentielles

Depuis longtemps, les hommes avaient cherché le moyen de séparer les éléments huileux des produits aromatiques. Ils réussirent en soumettant la matière à l'action de la chaleur. Les substances aromatiques étaient transformées en vapeur ; il suffisait de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide.

Ce procédé, qui se faisait à feu nu, prit le nom de distillation. Il était certainement connu des Chinois et des Indiens depuis 20 siècles avant J.C. Les Égyptiens et les Arabes ont prévalu des caractéristiques médicinales et aromatiques des plantes : la conservation des momies, l'aromatisation des bains, la désinfection des plaies avec les onguents, les parfums et la fabrication des boissons aromatiques. **(Möller, 2008)**

À l'apogée de leurs conquêtes en Afrique du Nord et en Espagne, les arabes le firent connaître aux Espagnols, lesquels à leur tour le propagèrent en Europe, à travers les possessions du Royaume d'Aragon, échelonnées tout le long des Côtes du Nord de la Méditerranée **(Berthier, 1980 ; Möller, 2008)**.

2- Définition des huiles essentielles

L'huile essentielle (HE), ou essence végétale, se définit comme étant un liquide hydrophobe des composés odoriférants volatils sécrétés par une plante. Ce mélange complexe de diverses molécules (alcools, terpènes, cétones, etc.) est obtenu par distillation à la vapeur d'eau, expression ou distillation sèche **(Fernandez et Chemat, 2012)**.

L'Association Française de Normalisation **(AFNOR, 2000)** définit les huiles essentielles comme étant « des produits obtenus à partir de matières naturelles végétales soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle ainsi obtenue est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques.

3- Production mondiale des huiles essentielles

Plusieurs pays tirent une grande partie de leurs ressources de l'exploitation des plantes à huiles essentielles. On estime aujourd'hui à environ 40 000 le nombre d'espèces aromatiques croissant dans le monde dont 3 000 ont été étudiées et 300 espèces sont

exploitées industriellement (**De Souza et al. 2006**). Plus de 90 % des espèces à étudier et à valoriser poussent dans les pays tropicaux (**Ouamba, 1991**).

4- Localisation des huiles essentielles dans les plantes

Les huiles essentielles sont retrouvées dans tous les organes de la plante (racine, écorce, feuille, fleur, fruit, graine...) elles proviennent d'une sécrétion élaborée par certains végétaux et contenue dans des structures spécialisées (poils, poches et canaux sécréteurs) situées le plus souvent dans les fleurs et les feuilles (**Lardry et Haberkorn, 2007; Couic-Marinier et Lobstein 2013**).

5- Rôle des huiles essentielles dans les plantes

Les huiles essentielles jouent un rôle important dans les plantes :elles sont sécrétées en réaction à l'environnement, en tant que moyen de protection (inhibition de la germination en hiver par exemple, le déclenchement de la floraison ou la protection contre les parasites, les insectes ou herbivores) ou pour aider en attirant pollinisation certains insectes Interviennent également sur les conditions de pluviosité pour lutter contre la sécheresse (**Vigan, 2010 ; Soualeh et Soulimani, 2016**).

6- Propriétés physiques des huiles essentielles

Malgré leurs différences de composition, les huiles essentielles présentent un certain nombre de caractères en communs.

Liquides à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles « fixes ».Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (les huiles essentielles de girofle ou de cannelle constituent des exceptions).Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée.

Solubles dans les solvants organiques usuels et très peu solubles dans l'eau (**Bruneton, 1999**)

7- La composition chimique des huiles essentielles

Comme toute substance, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable.

Leur composition est variable en fonction de la partie concernée de la plante, mais aussi selon l'origine géographique des végétaux utilisés (**Bourrain, 2013**). Les huiles essentielles sont un mélange de constituants, qui appartiennent à trois catégories de composés : terpénique, aromatique et composé d'origine variée (**Ouis, 2015**).

7.1- Composés terpéniques

Les terpènes sont des hydrocarbures résultant de la combinaison de plusieurs unités isoprène (C_5H_8) (**Hyldgaard et al., 2012**). Ils sont volatils, car leur poids moléculaire n'est pas trop élevé (**Messai, 2011**). C'est le groupe le plus important. Les terpènes sont des molécules organiques constituées par un multiple de 5 atomes de carbone de formule générale $(C_5H_8)_n$ (**Bouaine, 2017**).

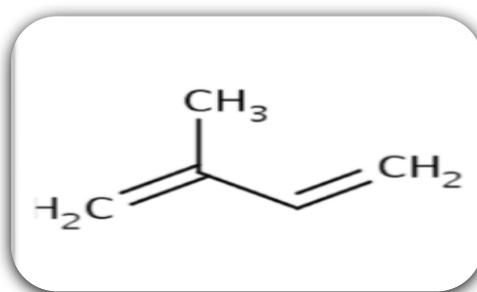


Figure 01 : Structure chimique d'isoprène (C_5H_8)_n

Selon le nombre de carbone, ce groupe est constitué de :

7.1. 1-Les monoterpènes

Ils sont formés de l'union de deux unités isoprènes (C_{10}). Leur formule chimique est $(C_{10}H_{16})$ (**Bakkali et al., 2008**). Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques (**Messai, 2011**).

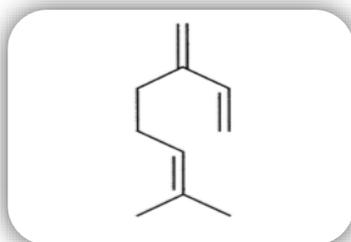


Figure 02 : Structure acyclique : myrcène

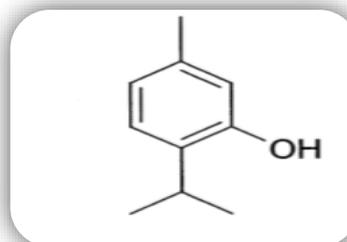


Figure 03 : structure monocyclique : thymol

7.1. 2-Les sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en C₁₅H₂₂ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones (**Bouaine, 2017**).

7.2- Composés d'origines diverses

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation : carbures, acides et lactones (**Teisseire, 1991**). Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras et de terpènes. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister, mais sont rares (**Bruneton, 1999**).

8- Facteurs influençant la composition chimique

Le rendement et la composition chimique des huiles essentielles varient d'une espèce à une autre. Cette variabilité peut être liée à plusieurs facteurs qui sont relatifs à la plante productrice, son environnement, et leurs conditions de l'extraction et de stockage.

8.1- Facteurs intrinsèques

Une huile essentielle doit avant d'être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue pour éviter toute dénomination trompeuse du matériel végétal, l'influence du stade végétatif, l'organe de la plante et le polymorphisme chimique « chimio types ou formes physiologiques » sont les principaux facteurs intrinsèques qui influencent la composition et le rendement des huiles essentielles (**Aissani, 2015**).

8.2- Facteurs extrinsèques

Il s'agit de l'indice des facteurs de l'environnement et des pratiques culturales. La température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime des vents exercent une influence directe, surtout chez les espèces qui possèdent des structures histologiques de

stockage superficiel (Ex: poils sécréteurs des lamiaceae). Lorsque la localisation est plus profonde la qualité est beaucoup plus constante (**Jean, 2009**).

9- Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Le procédé d'obtention des HEs intervient d'une façon déterminante sur sa composition chimique, différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales, cette diversité est due à la variété des matières premières et à la sensibilité considérable de certains de leurs constituants (**Garnero, 1991**).

9.1-Hydrodistillation

L'hydrodistillation (water distillation), est la méthode la plus simple 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'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau surnage au-dessus de l'hydrolat (**Lucchiesi, 2005**).

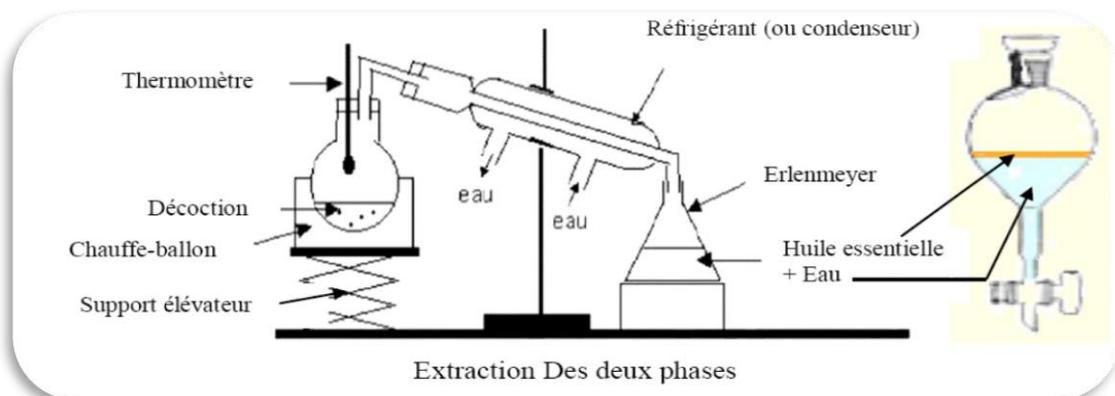


Figure04 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile (**Lagunez, 2006**)

9.2- Entraînement à la vapeur d'eau

Cette technique ne met pas en contact direct de l'eau et la matière végétale à traiter, de la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille entraîne l'éclatement des cellules et la libération de l'huile essentielle (**Herzi, 2013**).

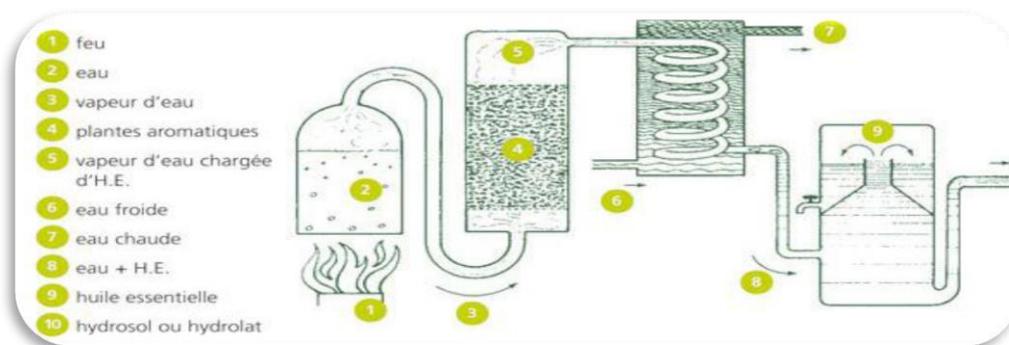


Figure 05 : Appareillage utilisé pour entrainement à la vapeur d'eau (**Herzi 2013**).

9.3- L'hydrodiffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant (**Kesbi, 2011**).

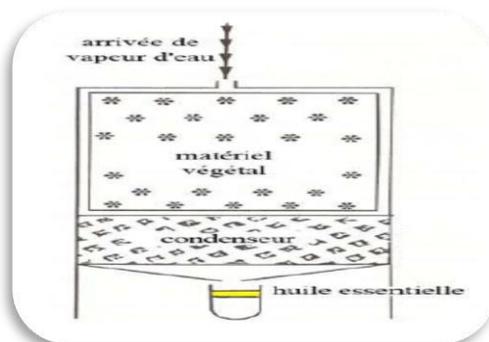


Figure 06 : Montage pour l'extraction par l'hydrodiffusion (**Naitachour, 2012**).

9.4- Extraction par les solvants organiques

La technique d'extraction par solvant est utilisée pour les matières végétales fragiles telles que les fleurs, qui ne tolèrent pas la chaleur de distillation à la vapeur. Son principe est de mélanger le solvant avec le matériel végétal, puis de chauffer le mélange, ensuite de concentrer le filtré en évaporant le solvant. Ce concret peut ensuite être mélangé avec de l'alcool absolu pour extraire l'huile, et distillé à basse température. L'huile est récupérée après évaporation de l'alcool (**Ottai et al., 2012**).

9.5- Enfleurage

L'enfleurage est une technique assez difficile. Elle date de l'antiquité égyptienne et est basée sur la forte affinité des molécules odorantes pour les graisses. Elle est réservée

principalement aux organes fragiles que sont les fleurs. Le principe consiste à placer les fleurs odorantes dans la graisse, afin de laisser les arômes y pénétrer. Une fois saturées, celles-ci sont ensuite lavées à l'alcool. Ce procédé a tendance à disparaître car il nécessite une forte main d'œuvre (**Besombes ,2008 ; Lucchesi, 2005**).

10-Toxicité des huiles essentielles

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise (**Degryse et al. 2008**).

Les huiles essentielles semblent n'être toxiques par ingestion que si celle-ci est faite en de grandes quantités et en dehors du cadre classique d'utilisation. Les huiles ne seront toxiques par contact que si des concentrations importantes sont appliquées (**Degryse et al., 2008**).

Les huiles essentielles qui sont utilisées en parfumerie peuvent irriter les muqueuses respiratoires et favoriser le déclenchement de crises d'asthmes pour les asthmatiques (comme par exemple les sprays désodorisants) (**Beidjord, 2015**).

Une ingestion accidentelle d'huile essentielle peut, selon la sorte et la quantité, générer une intoxication grave qui peut conduire à un coma et même la mort. Les huiles essentielles très liquides peuvent parvenir dans les voies respiratoires si elles sont malencontreusement avalées ou vomis. Cela peut conduire à une inflammation des poumons (pneumonie) (**Beidjord, 2015**).

Chapitre 03 :

*Les activités biologiques
étudiées*

1- Définitions

Les vertus des huiles essentielles sont connues et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles et des applications sans bases scientifiques précises. De nos jours, leur emploi se fait sur des bases scientifiques et rationnelles puisque de nombreux travaux de recherche ont porté sur les activités antimicrobiennes (antibactériennes et antifongiques), antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des plantes aromatiques.

1.1 L'activité antimicrobienne

- L'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été la plus étudiée. On distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur ces microorganismes :

- Effet bactéricide: exerçant une activité létale
- Effet bactériostatique : entraînant une inhibition de la croissance

Plusieurs travaux montrent que les HEs et leurs composés majoritaires ont un effet antimicrobien vis-à-vis des bactéries à Gram négatif et à Gram positif (**Carson et Riley, 1995**). L'effet des composés quantitativement minoritaires n'est parfois pas négligeable (**Tantaoui-Elaraki et al., 1993**). En effet, des dommages au niveau des cellules de différents microorganismes ont été rapportés, illustrés par microscopie électronique. Citons l'effet bactéricide des huiles essentielles riches en monoterpénols et en phénols sur *Staphylococcus aureus*, ou encore celui de *l'Origanum compactum* sur *Escherichia coli* (**Burt et Reinders, 2003**).

L'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles dépend de deux principaux paramètres : l'huile essentielle et sa composition chimique d'une part car les composés chimiques connus pour leur efficacité antimicrobienne et leur large spectre sont les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools, (α -terpineol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes, les cétones et plus rarement les carbures, et le microorganisme (type, structure...) d'autre part (**Cosentino et Tuberoso, 1999; Dorman et Deans, 2000**).

- L'activité antifongique

Les huiles essentielles peuvent être utilisées comme des agents antifongiques sans effets secondaires pour l'homme ou de pollution de l'environnement car elles possèdent une activité antifongique qui peut être liée à certains composants (**Chang et al. 2005; Vidyasagar et Nuzhat, 2013; Hamdani et Allem, 2015**).

Selon **Buchbaur et Lang (2012)**, l'HE de *Citrus sinensis* (L.) qui est riche en limonène exerce son pouvoir antifongique contre *Aspergillus niger* en détruisant sa paroi mycélienne, son effet fongicide augmente avec l'augmentation de sa concentration,

Plusieurs huiles essentielles appartenant aux familles des *Lamiaceae* exercent un effet inhibiteur contre les levures essentiellement *Candida albicans* (**Buchbaur et Lang, 2012**)

1.2- L'activité anti-oxydante

Depuis une quinzaine d'années, la recherche d'antioxydants naturels ou d'extraits à pouvoir antioxydant a suscité beaucoup d'intérêts. Par conséquent, les huiles essentielles sont considérées comme des ressources potentielles de molécules bioactives naturelles, qui ont été étudiées pour leurs propriétés anti-oxydantes. Les composés phénoliques, comme le thymol, la carvacrol et l'eugénol font partie des molécules des HEs présentant les plus fortes activités anti-oxydantes ainsi que d'autres composés qui contribuent à cette activité tels que les monoterpènes alcools, cétones, aldéhydes, hydrocarbures et éthers (**Gabriel et al., 2013**).

1.3- L'activité anti-inflammatoire

Les constituants des huiles essentielles tels que les monoterpènes hydrocarbonés, les sesquiterpènes hydrocarbonés et les alcools sesquiterpéniques ont montré une activité inhibitrice de la 5-lipoxygénase qui est une enzyme responsable de la production de leucotriènes suspectés de jouer un rôle importante dans la maladie d'Alzheimer (**Chao, Hua, Hsu, Cheng, Liu & Chang, 2005**).

Chapitre 04 :

*Présentation des plantes
Etudiées*

*“ Le don d’une plante utile me paraît plus précieux
que la découverte d’une mine d’or et d’un monument plus
durable qu’une pyramide”*

Bernardin de Saint-Pierre

Généralités :

Le bassin méditerranéen d'une manière générale, et l'Algérie en particulier présente une large gamme diversifiée en espèces végétales et présente un grand intérêt pour toute étude scientifique, vu sa grande richesse floristique, liée à l'hétérogénéité des facteurs historiques, paléo-climatiques, géologiques et écologiques qui favorise la culture des plantes aromatiques et médicinales. La production des huiles essentielles à partir de ces plantes pourrait constituer à ce titre une source économique importante pour notre pays.

La famille des Lamiacées connue également sous le nom des Labiées du nom latin "*labium*" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles, comprend environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites, mais dont la plupart se concentre dans le bassin méditerranéen tel que le thym, la lavande et le romarin (**Botineau, 2010**). La plupart des genres ont une importance économique due à leur richesse en huiles essentielles et leur utilisation en tant que condiments ainsi que infusions très prisées. Ainsi, ils sont faits l'objet de plusieurs études scientifiques dans le but d'évaluer la présence de certains métabolites secondaires typiques (**Wink, 2003**).

La famille des Lauracées est une famille de plantes angiospermes de divergence ancienne, qui comprend plus de 2000 espèces réparties en une cinquantaine de genres. Ce sont des arbres ou des arbustes à feuilles quasi persistantes.

Dans cette optique, notre choix s'est porté sur quatre plantes répandues en Algérie : *Laurus nobilis* ; *Mentha pulegium* ; *Lavandula stoechas* et *Lavandula dentata*

1- Laurier sauce (*Laurus nobilis*)

Laurus nobilis, ou Laurier noble, Laurier vrai, Laurier-sauce ou simplement Laurier, est une espèce d'arbustes à feuillage persistant de la famille des Lauracées. Il est originaire du bassin méditerranéen. Il ne doit pas être confondu avec les « faux lauriers » : **le Laurier-cerise**, **le Laurier-rose** qui sont toxiques et **le Laurier-tin** :

1.1 - Position systématique

D'après (Quezel et Santa,1962).

• Règne :	Plantes
• Embranchement :	Spermaphytes
• Sous embranchement :	Angiospermes
• Classe :	Dicotylédones
• Sous –classe :	Dialypétales
• Ordre :	Laurales
• Famille :	Lauraceae
• Genre :	Laurus
• Espèce:	<i>Laurus nobilis</i> L

1.2- Description botanique

Laurus nobilis, arbuste ou arbre aromatique de 2 à 10m de haut à tige droite grise dans sa partie basse et verte en haut. Ses feuilles sont alternés, coriaces, légèrement ondulées sur les bords, longues de 16 cm sur 8 cm de large, persistantes vert foncé et glacés sur leur face supérieure et plus pale en dessous. Les fleurs sont dioïques (petites fleurs mâles et femelles sur des pieds séparés), jaunes, groupées par 4 à 5 en petites ombelles. Le fruit est une petite baie ovoïde de 2cm de longueur sur 1cm de largeur, noir vernissé à maturité (Iserin, 2001 ; Demir et al., 2004 ; Beloued 2005).

Cultivé dans les jardins comme ornement et pour ses feuilles condimentaires. C'est un arbre dioïque. Les jeunes rameaux, flexibles et de couleur vert, portent des feuilles alternes, coriaces, ovales lancéolées à bord ondulé (Maurice, 2014).



Figure 07 : photo de plante de laurier noble (*Lauris nobilus*)

1.3- Composition chimique de l'huile essentielle du laurier

Les feuilles du *Laurus nobilis* renferment plusieurs substances actives dont les huiles essentielles. Ces dernières représentent 1 à 3% du poids sec, elles contiennent 30 à 70% de 1-8Cinéol (eucalyptol), ainsi que plusieurs composés terpéniques : linalol (8 à 16%), sabinène, géraniol, eugénol 3%, pinène et terpinène (**Brunneton, 1993**). Entre autres, on retrouve dans les feuilles également des alcaloïdes saporphiniques, comme la cryptodorine ou l'actinodaphnine (**Kivcak et Mert,2002**), des flavonoïdes polaires (dérivéesglycosylées de quercétine, kaempferol et de catéchine) et apolaires (quatre dérivés acylés de kaempferol) (**Fiorini et al.,1998; Kivcak B., Mert T.,2002**) et sesquiterpènes lactones. Les feuilles peuvent aussi contenir des tanins.

1.4- Utilisation de l'huile essentielle du laurier

- 1- Alimentaire: ses feuilles sont utilisées en cuisine pour leur arôme. Les fleurs de Laurier-sauce séchées peuvent aussi s'utiliser en infusion avec une cuillère de miel et les baies séchées ont les mêmes propriétés culinaires que les feuilles, en effet le Laurier-sauce entre dans la composition de certains phyto-médicaments à visée amaigrissante. Ses bio-composants sont excellents pour la digestion s'ils sont pris pendant ou après le repas (exemple: en infusion) et à l'inverse une tisane de feuilles de Laurier-sauce avant de manger peut couper l'appétit.
- 2- Ornementale: pour l'art topiaire (La Belgique est connue pour ses pépinières spécialisées dans la culture de laurier noble). La branche de Laurier-sauce s'utilisait aussi comme ornement, par les Romains notamment qui confectionnaient des couronnes pour les vainqueurs (les "lauréats").
- 3- Médicinale: la feuille de laurier-sauce s'emploie également pour traiter les crampes abdominales en infusion et Le savon d'Alep est traditionnellement fabriqué avec de l'huile de baies ou de feuilles de laurier.
- 4- Comme répulsif: Au Maroc et en Tunisie, on frictionne les chevaux avec des feuilles fraîches afin d'éloigner les mouches, mais on utilise aussi la feuille broyée en poudre pour lutter contre les fortes migraines en la prisant. Les feuilles de laurier sauce contiennent du benzaldéhyde, de la pipéridine et du géraniol à un dosage de 50 ppm,

ces molécules sont toutes trois connues pour leurs qualités répulsives sur les insectes (Nora Saim, Clifton E. Meloan, 1986).

2- La menthe pouliot (*Mentha Pulegium*)

Le nom de la menthe pouliot, *Mentha Pulegium*, dérive du latin *Pulex*. Elle fait partie de la sixième et la dernière série de la famille des labiées (ou lamiacées) qui renferme 4000 espèces en 200 genres, nombreuses dans les pays méditerranéens dont 146 espèces en Algérie (Lahrech, 2010).

Mentha pulegium est une plante odorante qui appartient à la famille des Lamiacées, est très répandue dans le nord de l'Europe, dans la région méditerranéenne et dans l'Asie (Bouchikhi Tani Z, 2011).

2. 1- Position systématique

D'après (Quézel et Santa, (1963) et Guignard et Dupont, (2004).

• Règne	Plantes
• Embranchement:	Phanérogames ou Spermaphytes
• Sous-embranchement:	Angiospermes
• Classe :	Eudicots
• Sous-classe :	Astéridées
• Ordre :	Lamiales
• Famille :	Lamiacées
• Genre :	<i>Mentha</i> (Tourn.) L.
• Espèce :	<i>Mentha pulegium</i> L

2. 2- Description botanique

La *Mentha pulegium* est une plante herbacée de 15 à 40 cm, dressée, ramifiée, quadrangulaire, grisâtre parfois rougeâtre très feuillée, ses feuilles sont opposées, décussées, petites courtement pétiolées, longues de 15 à 25 cm crénelées sur les bords (Beniston, 1985). Les fleurs sont petites hermaphrodites, pédonculées rosées ou violacées, Calice veiné à 5 sépales inégaux presque bilabié tubuleux, velu, à gorge formée par des poils connivents (T.J, Vander -Jagt, 2002 et Beloued, 1998), Corolle tubuleuse avec une lèvre supérieure à 2 dents formées par deux pétales soudées et une lèvre inférieure à trois dents formés par trois pétales soudées (Abdel, 2003).



Figure 08 : photo de plante de menthe pouliot (*Mentha pulegium*).

2. 3- Composition chimique de l'huile essentielle du *Mentha pulegium*

L'huile essentielle du *Mentha pulegium* est composée de 75 à 80 % de pulégone liquide incolore d'odeur aromatique et de menthol de limonène lévogyre de dipentène, la menthe pouliot contient également du tanin, des matières cellulosiques et pectiques, du sucre etc (**Beloued, 1998**).

L'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. est caractérisée par la prépondérance de la (+)-pulegone (70-90 %) accompagnée d'autres cétones monoterpéniques : isomenthone, menthone, piperténone (**Bremness, 2001**).

Aussi la composition chimique révélée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de *Mentha pulegium* ont montré que la Pulégone (un monoterpène oxygéné) est un composé majoritaire d'après différentes Provinces : au Maroc : le pulégone 85.4% (**Chebli et al., 2003**), Portugal : le pulégone 80.6 % (**Reiset et al., 1999**) et Iran : le pulégone 37.8 % (**Aghel et al., 2004**).

2. 4- Utilisation de l'huile essentielle du *Mentha pulegium*

La menthe pouliot, connue sous le nom vernaculaire arabe de « fliyou », est largement utilisée en médecine populaire dans de nombreuses cultures (**Agnihotri et al., 2005 ; Diaz-Maroto et al., 2007**). Les parties aériennes fleuries de cette plante sont traditionnellement utilisées pour leurs propriétés antimicrobiennes, expectorantes, carminatives et antispasmodiques dans le traitement du rhume, la bronchite, la tuberculose, la sinusite, le

choléra, les intoxications alimentaires, les flatulences et les coliques intestinales (**Zargari, 1990 ; Delille, 2007**).

Depuis l'antiquité, Les Menthes conservent une grande diversité d'emplois et occupent une large place dans la thérapeutique. Elles fortifient tout le système nerveux, en étant un stimulant diffusible et aussi un sédatif diffusible, la menthe rend d'éminents services contre la nervosité et les différentes manifestations nerveuses (**Benayad, 2008**).

3- Le lavande papillon (*Lavandula Stoechas*)

Lavandula Stoechas est communément appelée Lavande Française, Lavande Italienne, Lavande Espagnole, Lavande des Stoechades, Lavande maritime, Lavande papillon ou Lavande à toupet (**Chu et Kemper, 2001**).

Elle a été historiquement la première lavande à être formellement décrite et elle est aussi la lavande dont le territoire géographique est le plus vaste. Elle est répandue dans tout le bassin méditerranéen (Europe méridionale, l'Afrique du Nord et le Moyen Orient) (**Chuet Kemper, 2001**).

3.1- Position systématique

Selon Dupont et Guignard (2007) citée dans (**Chemloul, 2014**), la lavande appartient à l'embranchement des Spermaphytes, et suivant la systématique classique des plantes à fleurs, elle est classée comme suit :

- | | |
|-------------------------------|------------------------------|
| • Règne : | Plantes |
| • Embranchement : | Spermaphytes |
| • Sous-embranchement : | Angiospermes |
| • Classe : | Dicotylédones |
| • Sous-classe : | Dialypétales |
| • Ordre : | Lamiales (Labiales) |
| • Famille : | Lamiaceae |
| • Genre : | Lavandula |
| • Espèce : | <i>Lavandula stoechas</i> L. |

3.2- Description botanique

C'est un sous arbrisseau qui préfère les endroits ensoleillés et les sols riches. Les tiges étroites sont quadrangulaires à feuilles opposées. Elles tendent à être plus vertes que grises, à son extrémité une inflorescence terminée par un toupet de longues bractées violettes. L'ensemble fleurs et feuilles est très aromatique (Allaby, 1992; Chu et Kemper, 2001).

3.3- Composition de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*

La composition chimique de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* en Algérie analysée au stade de pleine floraison contient : Le cinéole, l' α pinène, le p cymène, le fenchone, le camphre, et le lavandulyl acétate (Dob et al., 2006).

Les huiles essentielles de *Lavandula stoechas* sont des antifongiques naturels très efficaces et peuvent être une source très importante de constituants phytopharmaceutiques utilisés pour éradiquer les infections d'origine fongique. Ce mérite revient à la composition chimique de l'HE et peut être aux composés majoritaires, essentiellement le cinéole et le camphre (Dob et al., 2006).



Figure 09 : photo de plante de lavande papillon (*Lavandula stoechas*)

3.4- Utilisation de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*

L'huile essentielle de lavande est utilisée dans l'industrie de la lessive et de la savonnerie, ainsi qu'en parfumerie. La lavande est également employée en herboristerie, en aromathérapie et est considérée comme une plante médicinale pour l'action de son huile. En effet, celle-ci est utilisée pour soigner des plaies et brûlures superficielles et présente des effets sédatifs, antibactériens, antifongiques, antidépresseurs et anti-inflammatoires. Les propriétés médicinales et le parfum des huiles essentielles de lavande sont principalement

attribués aux composés organiques volatils de la famille des terpènes (Yann, 2010). (Nedjai et al., 2017) signale que, la lavande est utilisée contre plusieurs maladies, y compris, les spasmes, les insomnies, les maladies infectieuses, les affections des voies respiratoires (asthme, bronchite, tuberculose...).

4- Lavande dentée (*Lavandula dentata* L)

Lavandula dentata, la lavande dentée, est un arbrisseau de la famille des Lamiacées. *Lavandula dentata* est très peu présente naturellement en France, elle est surtout distribuée en Espagne, Italie et sur les îles méditerranéennes.

4.1- Position systématique

D'après (Mark.W.,2009)

• Règne :	Plantes
• Embranchement :	Spermaphytes
• Sous-embranchement :	Angiospermes
• Classe :	Dicotylédones
• Ordre :	Lamiales
• Famille :	Lamiacées
• Genre :	Lavandula
• Espèce :	<i>Lavandula dentata</i>

4.2- Description botanique

D'après (Lazarin et Couplan, 2010), la *Lavande dentée* est un sous arbrisseau vivace formant des touffes à tiges quadrangulaires ligneuses, feuillées à la base et longuement dénudées sous les épis floraux. Elle mesure entre 50 et 90 cm de hauteur. Ces feuilles finement dentées sur les bords, vertes, claires et très aromatiques.

Les fleurs de *Lavandula dentata* L. sont bleuâtres en épi court, dense, surmonté de bractées de même couleur (Baba Aissa, 2011). Cette lavande fleurit deux fois dans l'année, une première fois au printemps (entre février et juin) puis une seconde fois à l'automne (entre septembre et novembre) (Lazarin et Couplan, 2010). Le fruit est un tétrakène (Benabdelkader, 2012).

4.3- Composition chimique de l'huile essentielle de *Lavandula dentata*

La composition de l'huile essentielle de *Lavandula dentata* varie plus au moins selon l'environnement d'une région à l'autre. Les HE isolées sont des mélanges complexes d'hydrocarbures monoterpéniques, alcools, aldéhydes, cétones, époxydes, phénols et esters et sont caractérisées par la prédominance des hydrocarbures monoterpéniques (**Bettaieb et al., 2017**).

Ainsi le 1,8-cinéole (41,3%) et le sabinène (13,9%), le sabinol (6,8%) et le myrténique (5,1%) ont été les principaux constituants de l'huile *Lavandula dentata* du Maroc (**Imelouane et al., 2009**).

De même, le 1,8-cinéole (33,5%), le camphre (18,9%) et le fenchone (8,4%) étaient des composants majeurs présents dans l'huile de *Lavandula dentata* en provenance de Tunisie (**Touati et al., 2011**). *Lavandula dentata* du Yémen avait des concentrations élevées de monoterpénoïdes oxygénés (51,8%), d'hydrocarbures de sesquiterpène (13,9%) et de sesquiterpénoïdes oxygénés (22,5%) (**Mothana et al., 2012**).



Figure10:photo de plante de lavande dentée (*Lavandula dentata*)

4.4- Utilisation de l'huile essentielle de *Lavandula dentata*

Lavandula dentata L était utilisée par les médecins musulmans qui la considéraient comme céphalique (tonique), résolvente, désobstruants, et carminative, ils la prescrivait pour lutter contre des infections pulmonaires et pour l'expulsion des humeurs bilieuses et flegmatiques est également utilisée comme insectifuge (**Heywood, 1996**).

La plante est également utilisée dans la médecine populaire comme antispasmodique dans les douleurs des coliques (**Judd et al., 2002**), expectorant, stimulant et pour les

différentes maladies du système nerveux central, comme l'épilepsie et la migraine. Elle est appelée le balai du cerveau (**Heywood, 1996**).

Cette lavande a aussi des effets positifs sur les plaies, les infections urinaires, les maladies cardiaques et l'eczéma (**Girre, 2001**).

Finalement, elle possède également des vertus analgésiques, sédatives, antiseptiques et antimicrobiennes

Partie II

Matériel et Méthodes

Ce travail a été effectué au niveau du laboratoire pédagogique du Département de Science de la Nature et de la Vie - Centre Universitaire Belhadj Bouchaib - Ain Témouchent.

Notre travail a été divisé en deux parties :

- La première partie est l'extraction des huiles essentielles
- La deuxième partie, c'est l'évaluation des activités biologiques *in vitro* (l'activité antimicrobienne, l'activité anti-oxydante et l'activité anti-inflammatoire) des quatre plantes médicinales.

Objectifs d'étude

L'intérêt de ce travail est la valorisation de quatre plantes médicinales : *Lauris nobulis*, *Mentha pulegium*, *Lavandula dentata* et *Lavandula steochas* issues de la région d'Ain Témouchent qui consiste à l'extraction des huiles essentielles et mettre en évidence l'évaluation de leurs différentes activités biologiques.

1- Matériel végétal

Les plantes sélectionnées pour cette étude ont été récoltées de deux régions d'Ain Témouchent **tableau 01**, elles ont été débarrassées de tous éléments étrangers, placées dans des sacs et transportées au laboratoire dans les 24 heures qui ont suivi la récolte.

Tableau 01 : les plantes médicinales étudiées

Plante	Région	La date de la récolte	Présentation morphologique
<i>Lauris nobilis</i>	Ain tolba	Mars 2020	
<i>Mentha pulegium</i>	Ain tolba	Juin 2019	
<i>Lavandula dentata</i>	Terga	Février 2020	
<i>Lavandula steochas</i>	Terga	Février 2020	

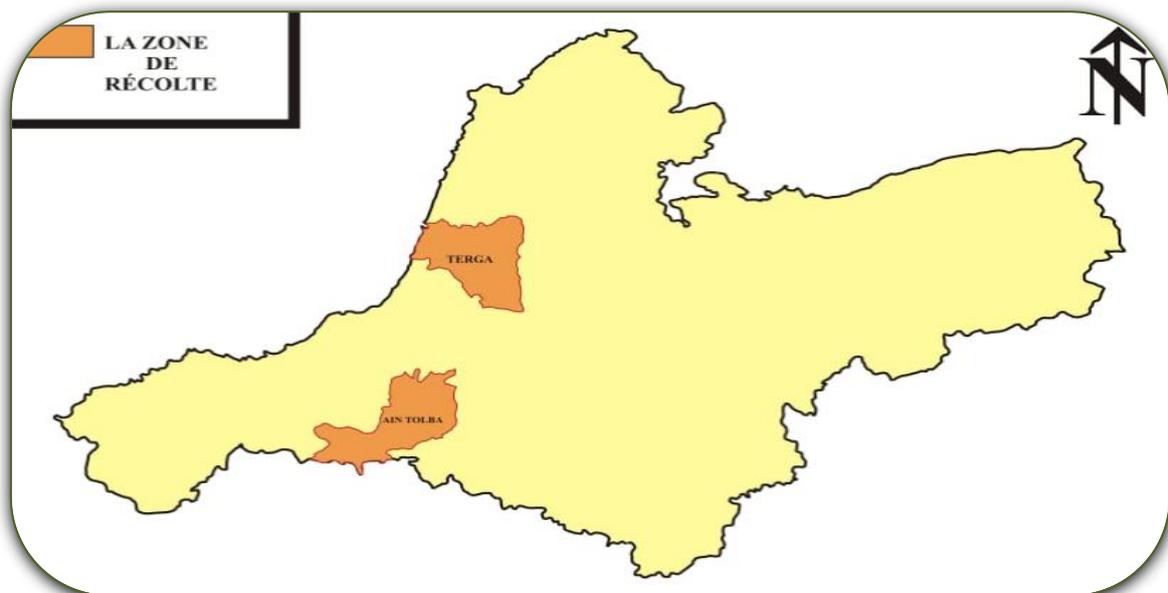


Figure 11 : Situation géographique de la région de la récolte des plantes étudiées, AinTémouchent

Les situations géographiques de ces stations figurent dans le **tableau 02**.

Tableau 02 : Situation géographique des stations de récolte.

Région	Altitude	Latitude	Longitude	Etage bioclimatique
Terga	34 m	35° 25' 7" Nord	1° 10' 39" Ouest	semi-aride sec et froid
Ain tolba	277 m	35°14'54" Nord	1°14'56"Ouest	semi-aride sec et froid

Les organes végétaux destinés pour l'extraction sectionnée dans le **tableau 03** :

Tableau 03 : Organes végétaux destinés pour l'extraction.

L'espèce végétale	Les parties étudiées	Poids de matière végétale (g)	L'eau distillée (ml)
<i>Lavandula stoechas</i>	Feuilles + tiges	50	700
<i>Lavandula dentata</i>	Feuilles +tiges	50	860
<i>Mentha pulegium</i>	Feuilles+tiges+fleurs	40	700
<i>Laurus nobilis</i>	Feuilles	80	800

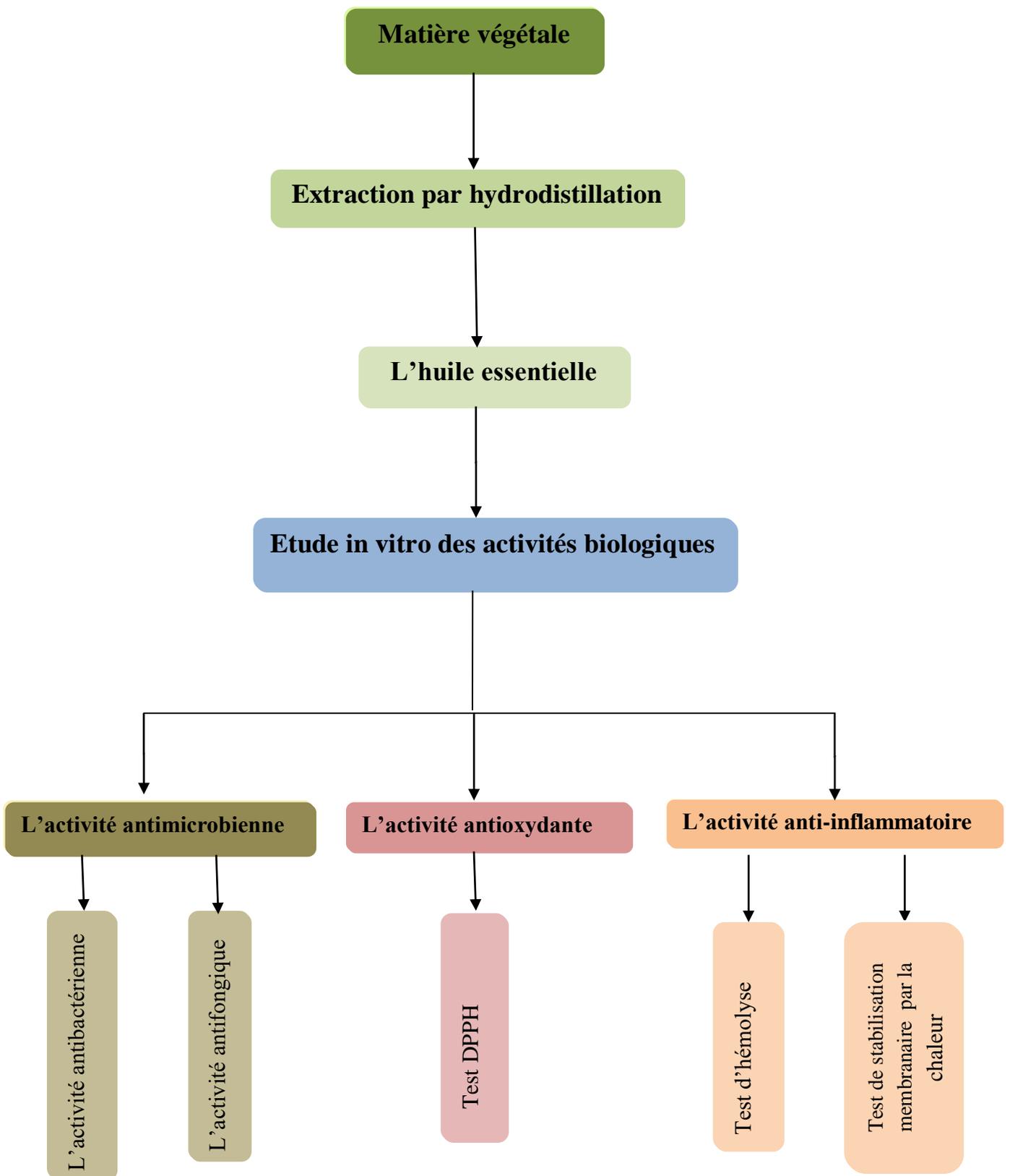


Figure 12 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental

1.1- Extraction de l'huile essentielle

Le procédé d'extraction est réalisé sans aucun prétraitement sur les plantes. La technique utilisée pour extraire de l'huile essentielle des plantes étudiées est l'hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. On introduit une masse de matière végétale dans le ballon avec un volume d'eau approprié. Le mélange est porté à ébullition pendant 2 à 3 heures.

Grâce à un chauffe ballon, les vapeurs chargées d'huiles essentielles sont condensées dans le réfrigérant. Le distillat est recueilli dans une burette à décanter. Le mélange eau – huile essentielle se sépare par différence de densité. L'opération est reproduite plusieurs fois afin de recueillir une quantité suffisante d'huile essentielle. La quantité totale d'huile essentielle extraite est conservée au frais dans des flacons en verre hermétiques et ombrés.

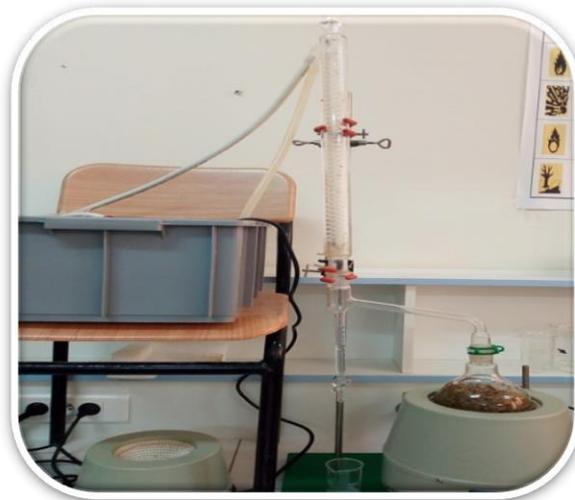


Figure 13:Le montage utilisé pour l'extraction d'huile essentielle

1.2- Conservation de l'huile essentielle obtenue

L'huile essentielle étant volatile et pouvant sa conservation nécessite certaines conditions. L'huile essentielle ainsi obtenue est conservée à 4 °C dans des flacons en verre brun jusqu'à son analyse. (Mzabri, Amar et al)

1.3- Détermination de rendement

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle et la masse du matériel végétal utilisé pour cent grammes de matière végétale

Sèche. Après récupération d'huiles essentielles, le rendement est calculé par la formule suivante :

$$RHE = \frac{M}{M_0} \times 100$$

RE : Le rendement en huile essentielle(%)

M : la masse de l'huile essentielle en gramme

M0 : la masse de la plante en gramme (Saadi, Adjir et al., 2018).

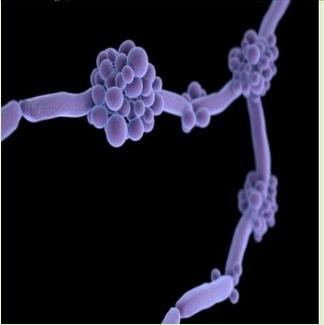
2- Etude de l'activité antimicrobienne

Pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne in vitro de l'HE de : *Mentha pulegium*, *Lauris nobilus*, *Lavandula dentata* et *Lavandula stoechas*, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disques (aromatogramme) pour tester la sensibilité des souches et l'évaluation de l'activité synergétique des HEs et en association avec les antibiotiques.

2.1- Les microorganismes

Le choix des souches microbiennes testées dans cette étude a été basé sur l'implication dans la pathologie humaine, l'altération des aliments ainsi que leurs résistances aux antibiotiques. Pour cela nous avons sélectionné : deux bactéries à Gram+ (*Staphylococcus aureus* ATCC43300 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25922), deux bactéries à Gram- (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), et la levure (*Candida albicans*).

Tableau 04 : Descriptions des différents microorganismes utilisés dans cette étude

Souches microbiennes	Morphologie et type de Gram	Habitat et origine	Pouvoir pathogène	
<i>Escherichia coli</i>	Coccobacilles à Gram négatif	Commensale du tube digestif de l'homme et des animaux	Diarrhées, gastro-entérites, infections urinaires (Nauciel et Vildé, 2005).	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacilles à Gram négatif	Germe ubiquitaire, vivant en milieu humide et fréquent en milieu hospitalier	Infections pulmonaires, infections urinaires, méningites, septicémies (Nauciel et vildé, 2005).	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci à Gram positif immobile (Haris et al., 2002)	Ubiquitaire dont le réservoir est localisé au sein de la peau et des muqueuses	Intoxications alimentaires, infections cutanées et des muqueuses, septicémies, pneumonies	
<i>Candida albicans</i>	Petites levures rondes ou ovalaires de 2 à 4 microns, bourgeonnantes, souvent accompagnées de filaments mycéliens ou pseudo-mycéliens	Commensale de la bouche, sur la peau, dans le tube digestif et dans la flore vaginale	Candidose sur les muqueuses digestives et gynécologiques, candidémie, érythème fessier chez les nouveau-nés, bronchopneumonie et pneumonie, vaginite, balanite et infections profondes (Segal, 2005).	

2.2- Milieux de culture

Pour l'étude de l'activité antimicrobienne, nous avons utilisé :

-Le milieu Muller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries et le bouillon Muller Hinton pour l'étude de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des bactéries.

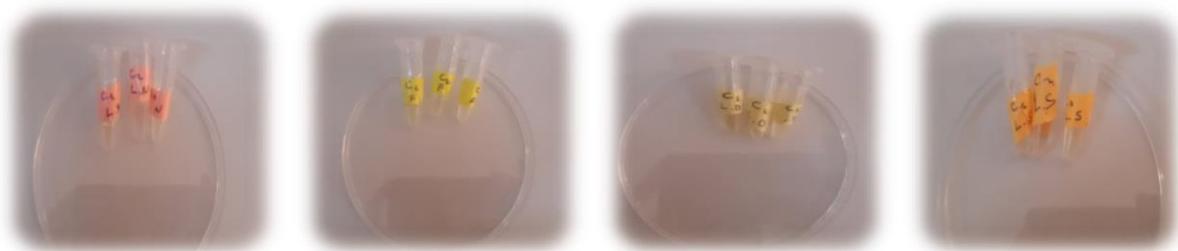
-Le milieu et le bouillon PDA pour l'étude de la sensibilité des levures.

2.3- Antibiotiques

Les disques d'antibiotiques, utilisés pour cette étude sont : Gentamycine (GEN 10 µl) Ofloxacin (OFX 5µl) et Trimethoprime + Sulfamethoxazole (SXT 25µl), ils ont été sélectionnés selon leur disponibilité.

2.4- Préparation des concentrations des huiles essentielles

Une série de dilution d'HE a été réalisée avec un solvant organique Dimethyl sulfoxyde (DMSO) en vue d'obtenir un mélange homogène à différentes concentrations 50mg/ml, 100mg/ml et 200mg/ml. On a opté pour le DMSO pour son innocuité vis-à-vis des microorganismes, et pour l'absence d'interférence avec l'HE.



Lauris nobilus

Mentha pulegium

Lavandula dentata

Lavandula stoechas.

Figure 14 : Les différentes concentrations d'HE pour chaque espèce

2.5- Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode d'aromatogramme (étude qualitative)

La méthode de diffusion ou aromatogramme consiste à déposer un disque de 6 mm de diamètre stérile découpé à partir du papier Wattman, et imbibé d'un volume donné du produit à tester, à la surface d'une gélose préalablement coulée dans une boîte de Pétri. Un volume de 20 ml de milieu gélosé est coulé dans des boîtes de Pétri. Après solidification, la gélose est inondée avec l'inoculum bactérien à tester d'une densité de 10⁷-10⁸ ufc/ml (**Khribch et Nassik 2018**)

2.6- Préparation des disques

On a coupé le papier Wattman N°3 en disques de 6mm (0.28cm² de surface) par l'emporte-pièce, ces disques doivent posséder un contour régulier pour donner une zone

d'inhibition que l'on peut mesurer facilement. Les disques sont ensuite stérilisés dans un autoclave pendant 15 à 20 min à 120°C, et stockés à une température ambiante (le tube à essai est hermétiquement fermé).

2.7- Ensemencement et dépôt des disques

Dans une zone complètement aseptisée, nous avons coulé 16 boîtes de pétri de milieu MH pour les souches bactériennes et 4 boîtes de pétri de milieu PDA pour la souche fongique et nous les avons laissés les milieux se solidifier, nous avons trempé un écouvillon stérile dans la suspension microbienne en évitant la contamination du manipulateur et de la paillasse ensuite nous avons frotté l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées, et avons répété l'opération deux fois, en tournant la boîte de pétri de 30° à chaque fois.

Pour ce faire, quatre disques pour aromagrammes sont déposés au centre de la boîte à l'aide d'une pince bactériologique, trois disques sont ensuite imprégnés (20 µl) d'huile essentielle de chaque concentration. Le quatrième disque est imprégné de 20 µl de DMSO est utilisé comme (témoin).

La boîte est ensuite fermée et laissée à la température ambiante pendant 20 min afin que les germes puissent bien adhérer à la surface de la gélose et mise dans l'étuve à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 30°C pendant 48h pour la levure. La lecture des résultats a été faite par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition en mm.

Les diamètres mesurés ont été comparés au tableau conventionnel d'interprétation des zones d'inhibition **tableau 05** pour la détermination de la sensibilité des germes.

Tableau 05: Tableau conventionnel d'interprétation des zones d'inhibition

Norme	Grade	Sensibilité
$\varnothing < 8$	-	Non sensible
$8 \leq \varnothing \leq 14$	+	Sensible
$15 \leq \varnothing \leq 19$	++	Très sensible
$\varnothing \geq 20$	+++	Extrêmement sensible

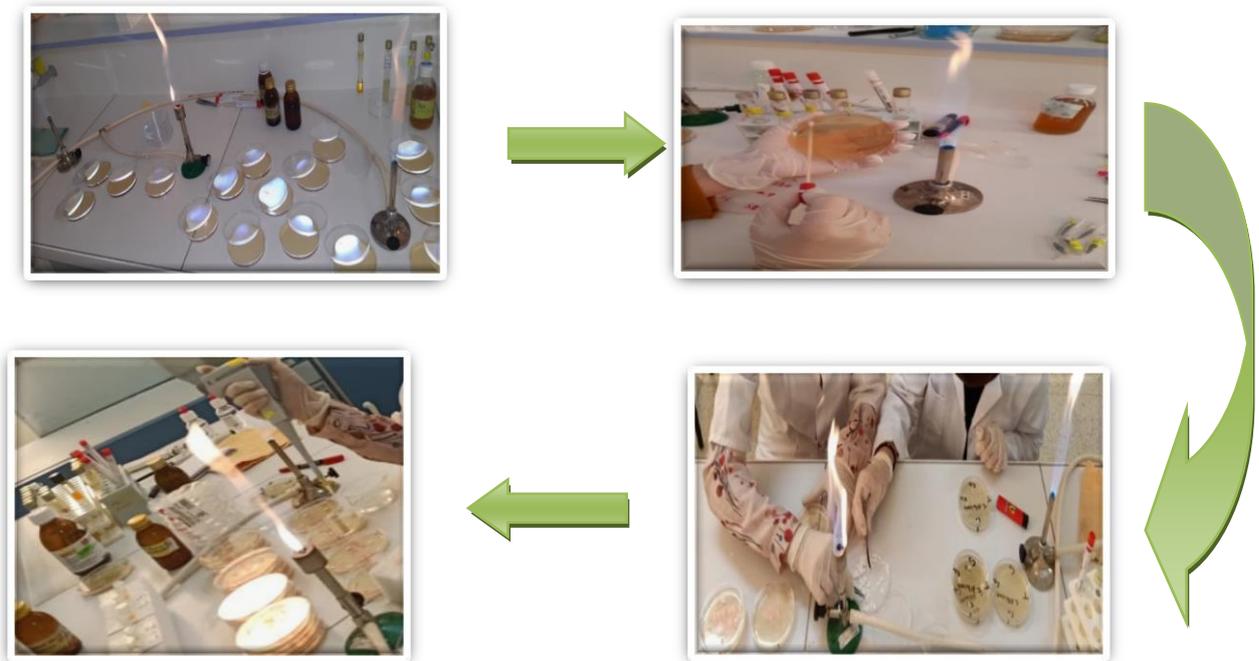


Figure 15 : Méthode de diffusion sur les disques (aromatogramme)

2.8- Méthode des micro-dilutions en milieu liquide (étude quantitative)

L'efficacité des huiles essentielles testées est évaluée par la mesure de 2 concentrations : la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) ou la concentration minimale fongicide (CMF). Ces concentrations nous permettent de connaître la nature de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle : bactériostatique ou bactéricide

2.9- Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) « Les micro dilutions »

La CMI de chacune des huiles essentielles a été déterminée à l'aide d'une microplaque de 96 puits à fond U(8 rangées de 12 puits numérotés de 1 à 12).

Les tests ont été effectués dans des conditions aseptiques. Les colonnes de la microplaque ont été divisées en trois zones distinctes ; colonne n°11 étant le témoin stérile (témoin négatif); la colonne n°12 étant le témoin de croissance (témoin positif) et le reste des colonnes a été utilisé pour la détermination des huiles essentielles.

- 100µl de bouillon Muller Hinton sont déposés dans chaque puits, ensuite chaque puits estensemencé par 20µl de la suspension bactériennes (chaque 4rangées ont été réservées pour une seule souche bactériennedéterminée) sauf la ligne de la colonne n°11.
- puis 100µl de la solution mère (100mg/ml)d'huiles essentielles sont introduits dans le premier puits de chaque ligne à partir duquel on réalise une série de dilution de 50 mg/ml jusqu'à 0.097mg/ml
- après avoir bien mélangé le contenu du premier puits, 100µl ont été prélevés et déposés dans le deuxième puits ainsi de suite jusqu'au le dixième puits ou 100µl restants sont éliminé.
- Les puits 11et 12 sont des témoins « témoin négatif contenant le milieu de culture et 50µl d'huiles essentielles et témoin positif contenant le milieu de culture et les souches testées»
- La microplaque a été fermée hermétiquement par le parafilm et incubée 24 h à 37°C et 48 h à 30°C.

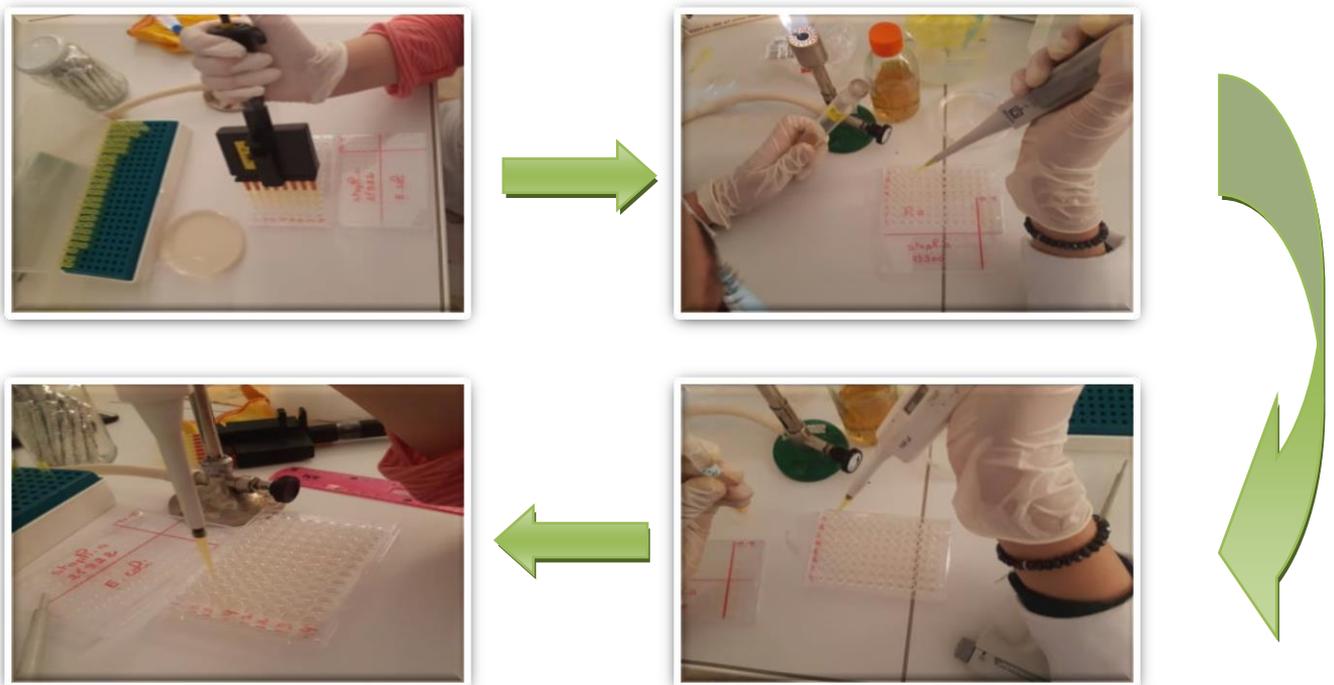


Figure 16: Méthode de micro dilution (CMI)

2.10- Lecture des résultats

La lecture des résultats se fait à l'œil nu par observation du changement de turbidité dans les puits après incubation et par comparaison avec le témoin (Nouadri, Remache et *al.*, 2018)

2.11- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration de l'HE capable de tuer 99.9% de l'inoculum bactérien initial, elle définit l'effet bactéricide de l'HE (Brahimi Merzouk et al., 2018).

Le contenu des puits de microplaque dans lesquels aucun trouble n'a été observé, a servi à ensemercer le milieu gélosé M.H , par des stries de 5 cm de long à l'aide d'une anse de platine en commençant par le tube correspondant à la CMI. La boîte de Pétri est ensuite incubée à 37°C pendant 24h et à 30°C pendant 48h (Oussou et al., 2004).

Les CMBs sont définies comme la concentration la plus basse de l'huile essentielle, qui a montré un liquide clair sans le développement de la turbidité et sans croissance bactérienne visible sur la boîte de pétri.

2.12- Caractère bactéricide et bactériostatique

Le rapport CMB/CMI nous a permis de déterminer les pouvoirs bactéricide et bactériostatique de l'huile essentielle étudiée. Lorsque ce rapport est supérieur à 4, l'huile essentielle a un pouvoir bactériostatique, et bactéricide quand il est inférieur ou égal à 4 (Guinoiseau, 2010).

2.13- Etude de l'effet de la combinaison entre les huiles essentielles

Cette technique est réalisée afin de tester l'activité antimicrobienne et de voir s'il y a une éventuelle synergie entre nos quatre huiles combinées sur les souches à tester.

Ce test consiste à mélanger à proportions égales les quatre huiles *L.nobilus*, *M.pelugium*, *L.denata* et *L.steachus*.

Dans une zone stérile entre deux becs bunsen, huit boîtes de pétri du milieu MH deux boîtes du milieu PDA sont coulées etensemencées avec des suspensions standardisées des cinq souches suscitées, chaque souche a étéensemencée dans deux boites, une fois cela est fait, un prélèvement de 10 µl de la combinaison de deux huiles est pipeté et déposé sur un disque de papier Wattman stérile au milieu de la boîte qu'onferme. L'opération est répétée jusqu'à la combinaison de toutes les HEs.

Les boîtes sont alors incubées à l'étuve réglée à 37°C pendant 24 h pour les souches bactériennes et à 30°C pendant 48 h pour la souche fongique. On calcule la zone d'inhibition et on la compare à celles des agents antimicrobiens testés seuls préalablement.

Les différentes combinaisons d'agents antimicrobiens consistent à fusionner :

1. L'huile de *L.nobilus* avec l'huile *M.pulegium* (1+2)
2. L'huile de *L.nobilus* avec l'huile *L.dentata* (1+3)
3. L'huile de *L.nobilus* avec l'huile *L.steochas* (1+4)
4. L'huile *M.pulegium* avec l'huile *L.dentata* (2+3)
5. L'huile *M.pulegium* avec l'huile *L.steochas* (2+4)
6. L'huile de *L.dentata* avec l'huile *L.steochas* (3+4)



Figure17 : l'interaction entre les huiles essentielles

2.14- Etude de l'association des huiles essentielles avec les antibiotiques vis-à-vis des souches bactériennes

L'association des huiles essentielles aux antibiotiques peut être employée pour augmenter le spectre antimicrobien, empêcher l'apparition des mutants résistants, réduire au minimum la toxicité et minimiser les effets secondaires de l'antibiotique. La méthode utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'association HE/Atb est celle de la diffusion sur milieu solide préconisée par **Halawani (2009);Mandal et al., (2010) et Toroglu, (2011)**.

Dans une zone stérile entre deux becs bunsen, 16 boîtes de Pétri sont coulées en milieu MH et ensemencées avec des suspensions standardisées des quatre souches bactériennes ,chaque souche ensemencée dans quatre boîtes, ensuite à l'aide d'une pince

bactériologique , déposer deux disques d'antibiotique sur le milieu de chaque boîte (Gentamicine , Ofloxacin et Sulfamétzole / Trimethoprim) , puis à l'aide d'une micropipette 20 μ l d'HE sont déposés sur l'un de ces disques, mais l'autre disque reste comme un témoin positif . Les boîtes sont laissées à la température ambiante pendant 20 min puis incubées à 37°C pendant 24 h.

Les diamètres des zones d'inhibition seront mesurés à l'aide d'une règle graduée en millimètre de l'extérieur de la boîte fermée.

Les données seront analysées comme suit :

- **Indifférence** : les deux zones d'inhibition de l'ATB seul et de l'association HE/ATBs restent inchangées.
- **Antagonisme** : la zone d'inhibition de l'association HE/ATB est moins importante que celle de l'ATB tout seul.
- **Synergie** : la zone d'inhibition de l'association HE/ATB est plus importante que celle de l'ATB tout seul.

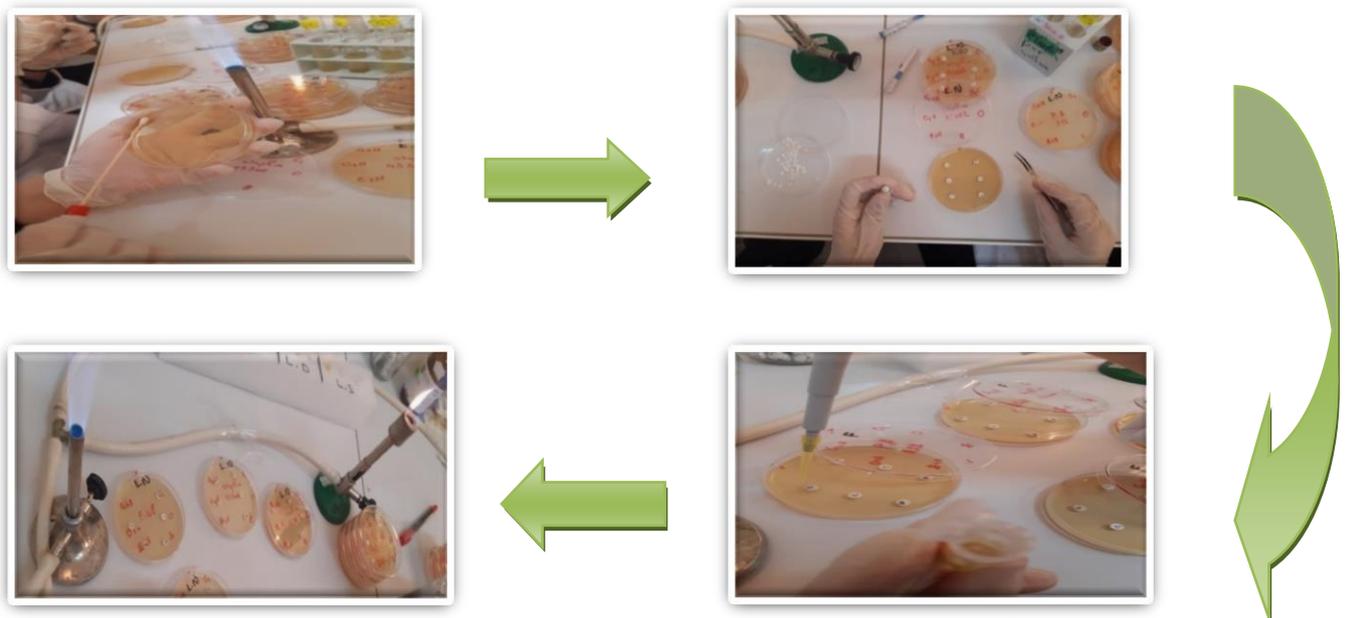


Figure 18 : Méthode de l'association des huiles essentielles avec les antibiotiques

3-Evaluation de l'activité anti-oxydante

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité anti-oxydante des huiles essentielles a été réalisée par le piégeage du radical libre DPPH.

3.1- Test de DPPH

Il s'agit d'un dosage spectrophotométrique basé sur le balayage des radicaux DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle). Il est un test de décoloration qui mesure la capacité des antioxydants à réagir directement avec les radicaux DPPH en surveillant la diminution de l'absorbance à 517nm due à la réduction des antioxydants ou à la réaction avec une espèce radicalaire (R•) . Le DPPH est un radical libre stable présentant une absorbance maximale à 517 nm.

Cependant, lorsqu'il rencontre un substrat donneur de proton tel qu'un antioxydant, les radicaux sont piégés et l'absorbance est réduite. La réduction de l'absorbance est la mesure du DPPH libre due à l'action de l'antioxydant (Denys, 2013).

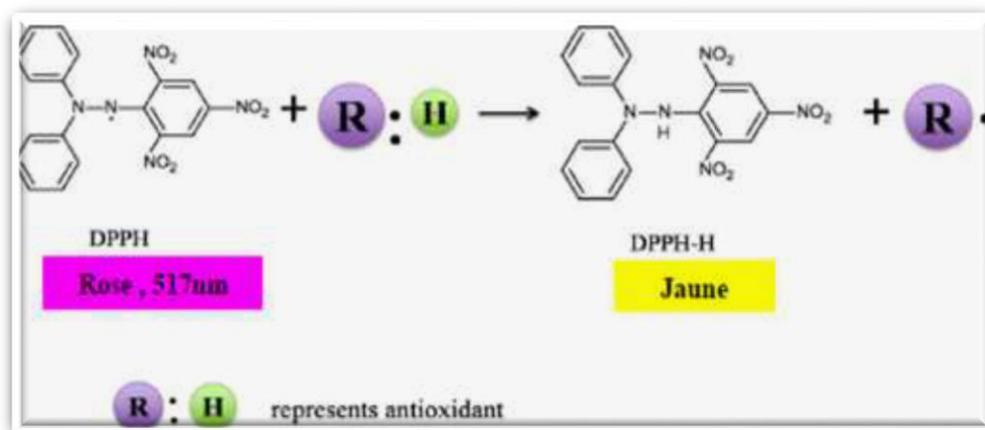


Figure 19 :Forme libre et réduite du DPPH (Liang et Kitts, 2014)

3.2- Mode opératoire

Un volume de 100µl de différentes concentrations de chaque huile essentielle exprimée est ajouté à 2 ml de la solution méthanoïques du DPPH· fraîchement préparée. Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance est mesurée à 517 nm par spectrophotométrie contre un témoin

composé de 1 ml de la solution de DPPH et de 100 ml de méthanol, la préparation des échantillons et du témoin (acide ascorbique, catéchol et a-tannique) est réalisée dans les mêmes conditions opératoires.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH· donné par la formule suivante :

$$I(\%) = 100 \times \frac{Ac - Ae}{Ac}$$

A control : Absorbance du blanc (DPPH dans le méthanol).

A échantillon : Absorbance de la prise d'essai. (**Sharififar et al., 2007**).

3.3- Calcul de la concentration inhibitrice IC50

L'étude de la variation de l'activité en fonction de la concentration des huiles essentielles testées permet de déterminer la concentration qui correspond à 50 % d'inhibition du radical DPPH (**Bouhaddouda, 2015**).

L'IC50 utilisée comme une estimation de l'activité antioxydante par DPPH, a été estimée par extrapolation en traçant la courbe des pourcentages d'inhibition (PI %) en fonction de différentes concentrations des l'HEs. Cette valeur est comparée à celle trouvée pour le composé de référence (acide ascorbique) (**Mansouri et al., 2001**).

Une faible valeur d'IC50 indique une forte capacité de l'extrait à agir comme piègeur du DPPH (**Bouhaddouda, 2015**).

4-Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Principe

L'activité anti-inflammatoire d'une huile peut être étudiée in vitro par l'utilisation des membranes des érythrocytes qui représentent des similitudes avec d'autres membranes cellulaires notamment des lysosomes et nous indiquent ainsi sur leur stabilisation en présence d'agent hémolytique (**Shobana et Vidhya, 2016**).

Dans le présent travail, l'activité anti-inflammatoire in vitro est évaluée par deux tests : test de stabilisation membranaire par la chaleur et test d'hémolyse en se basant sur la méthode suivie par Shinde et ces collaborateurs (**Shinde et al., 1999**).

4.1- Matériel utilisé

- Le sang (hématies humaines)
- Tampon PBS du pH 7.4
- Une solution de NaCl (0,9%)
- L'acide salicylique
- L'éthanol

4.2- Préparation de la suspension érythrocytaire

Le sang a été prélevé d'un volontaire sain (6 ml) qui n'a pas pris des médicaments anti-inflammatoires pendant 15 jours avant le prélèvement au niveau de laboratoire du centre universitaire BELHADJ Bouchaib. Le sang humain frais a été centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min, le surnageant a été éliminé et le culot récupéré, est lavé trois fois avec une solution de NaCl (0,9%), et reconstitué dans une solution tampon iso-saline (pH=7.4), à 40% (v/v). Le volume du sang a été mesuré et reconstitué en tant que 10% v / v de suspension avec le tampon PBS (**Shinde et al., 1999**).

4.3- Test de stabilisation membranaire par la chaleur

Ce test a été réalisé par préparation de deux séries de tubes, une est incubée à 54°C et l'autre à 0°C, pendant 20min. Le mélange réactionnel est constitué de 0.5ml de l'échantillon de l'huile essentielle à tester à 50,100 et 200 µg/ml ajoutée 4.5ml d'une solution tampon phosphate (pH=7.4) plus 30µl de la suspension érythrocytaire à 40% et 0.5 ml de l'éthanol. En parallèle un tube contenant l'acide salicylique (500 µg/ml) a été utilisé comme un contrôle positif et un tube contenant de l'éthanol a été utilisé comme un contrôle négatif. Après incubation des tubes et récupération des surnageant par centrifugation pendant 3 min, l'absorbance est mesurée à 540 nm (**Shinde et al., 1999**).

- **Calcul du pourcentage d'inhibition**

- Le pourcentage d'inhibition ou d'accélération de l'hémolyse, est calculé par l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage inhibition de l'hémolyse} = 100 \times \left(1 - \frac{DO2 - DO1}{DO2' - DO1'}\right)$$

DO1 : Echantillon à 0°C

DO2 : Echantillon à 54°C.

DO1' : Contrôle négative à 0°C

DO2' : Contrôle négatif à 54°C.

4.4- Test d'hémolyse

Ce test a été réalisé par préparation de deux séries de tubes, une traitée par une solution tampon phosphate isotonique (pH=7.4) et l'autre par une solution tampon hypotonique (pH=7.4) pendant 10min. Le mélange réactionnel est constitué de 0.5ml de l'échantillon de l'huile essentielle à tester à 50,100 et 200 µg/ml ajoutée 4.5ml d'une solution tampon phosphate isotonique ou hypotonique (pH=7.4) additionnée 30 µl de la suspension érythrocytaire à 40% et 0.5 ml de l'éthanol. En parallèle un tube contenant l'acide salicylique (500µg/ml) a été utilisé comme un contrôle positif et un tube contenant de l'éthanol a été utilisé comme un contrôle négatif. Après incubation des tubes et récupération des surnageant par centrifugation pendant 3 min, l'absorbance est mesurée à 540nm.

- **Calcul du pourcentage d'inhibition**

-Le pourcentage d'inhibition ou d'accélération de l'hémolyse, est calculé par l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage inhibition de l'hémolyse} = 100 \times \left(1 - \frac{DO2 - DO1}{DO2' - DO1'}\right)$$

DO1 : Echantillon traité par la solution hypotonique.

DO2 : Echantillon traité par la solution isotonique.

DO1' : Contrôle négative traité par la solution hypotonique.

DO2' : Contrôle négatif traité par la solution isotonique



Figure 20 : préparation de déférente concentration de quatre huiles essentielles testées

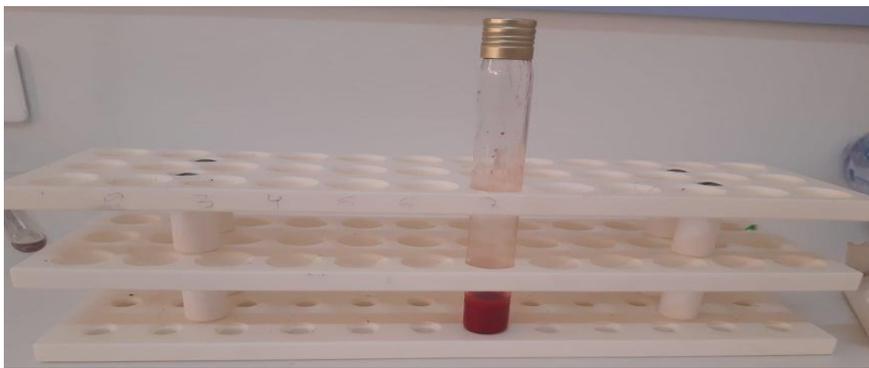


Figure21 : préparation de la suspension érythrocytaire



Figure 22: préparation des solutions de test de stabilisation membranaire par la chaleur



Figure 23 : préparation des solutions de test d'hémolyse

Partie III
Résultats et discussion

1- Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

Les propriétés organoleptiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. A l'issue des distillations, les paramètres organoleptiques de nos HEs sont indiqués dans le tableau ci- dessous.

Tableau 06 : Tableau exprimé les propriétés organoleptiques

HE de :	L'aspect	La couleur	L'odeur
<i>Laurus nobilis</i>	un liquide mobile et limpide	légèrement jaune claire	caractéristique agreste, cinéolée
<i>Mentha pulegium</i>	Liquide limpide	Jaune pale	Dégage une forte odeur menthée caractéristique
<i>Lavandula dentata</i>	Liquide	Jaune	Forte odeur
<i>Lavandula stoechas</i>	Liquide	jaune foncé	Forte odeur

2- Rendement des huiles essentielles

Les rendements moyens en huiles essentielles ont été calculés en fonction de la matière végétale de la partie aérienne de la plante. L'huile essentielle extraite de chaque plante étudiée donne un rendement variable illustré dans **le tableau 07**

Tableau 07:Le rendement de l'huile essentielle extrait de chaque plante étudiée

Huile essentielles	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Laurus nobilis</i>	<i>Lavandula dentata</i>	<i>Lavandula stoechas</i>
Poids d'HE en (g)	0.862	0.156	0.2	0.79
Rendement en (%)	1.725	0.312	0.4	1.58

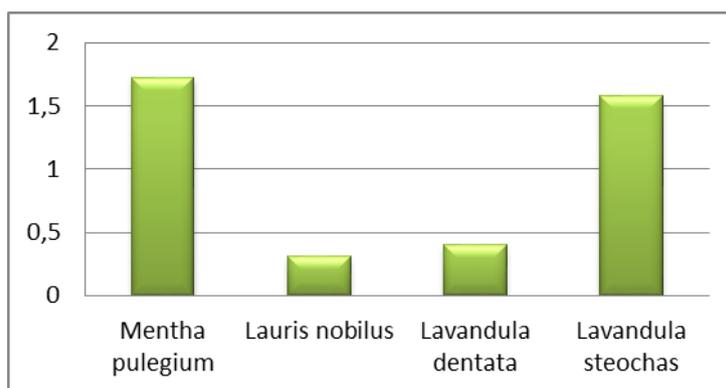


Figure 24 : Représentation graphique du rendement de l'huile essentielle extraite de chaque plante étudiée

Les résultats ont montré que l'huile essentielle de *M.pulegium* et *L. stoechas* ont le taux plus élevé 1.725% et 1.58% respectivement tandis que *L.dentata* et *L.nobilus* ont le plus faible rendement avec 0.4% et 0.312 % respectivement.

Les feuilles de laurier ont donné un rendement de 0.312%, ce qui est inférieur aux pourcentages rapportés dans d'autres travaux tels que (**Haddouchiet al., 2009**), un rendement de 1,2% et 0,71% pour (**Amira OUIBRAHIM et al., 2015**) de la région d'El Kala. Ce faible taux peut-être dû aux conditions climatiques.

En revanche, le rendement en huile essentielle obtenu avec *Mentha pulegium* est supérieur à celui obtenu par (**Belghazi et al., 2002**) qui est égale à 0,82% et par (**Lahrech, 2010**) dans la région d'Oran qui est de 0.33%. Ce qui confirme que la région d'origine influence fortement la sécrétion de l'huile d'une plante aromatique.

Le rendement en huiles essentielles de la partie aérienne de *L. dentata* est 0.4 % ce qui est inférieur aux pourcentages rapportés dans les travaux de (**Lamia Bachiri et al., 2017**). Les échantillons de *L. dentata* du Maroc ont fourni un taux d'environ 2,60% ± 0,01.

Pour *Lavandula stoechas*, le rendement enregistré dans notre étude est 1.58 %, est supérieur à celui obtenu par l'étude (**Tiachadine et Mendil, 2017**), qui ont enregistré un rendement de 0.43 % pour des échantillons de la même espèce, comportant toute la partie aérienne (tiges, feuilles et fleurs), récoltés en novembre 2016 de la région de Timezrit wilaya de Boumerdes, et traités par hydrodistillation.

Cette différence du rendement en huiles essentielles entre les deux espèces de la lavande est normale, puisque le rendement dépend de plusieurs facteurs à savoir l'espèce, le

génotype, en plus de l'environnement, de la période de la récolte, de lieu de séchage et de l'origine géographique. (Svoboda et al., 1982)

3- Etude de l'activité antimicrobienne

3.1- Résultats de test d'aromatogramme

Lors de cette étude, nous avons testé l'action de différentes concentrations d'huile essentielles de l'espèce végétale de *Laurus nobilis* ; *Mentha pulegium* ; *lavandula dentata* ; *Lavandula stoechas* contre souches microbiennes (*S.aureus* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 43300, *P.aeruginosa*, *E.coli* et *C.albicans*).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est évaluée en fonction du diamètre qui indique leur pouvoir d'inhibition. Les résultats des tests sont présentés dans les figures (25, 26, 27 et 28).

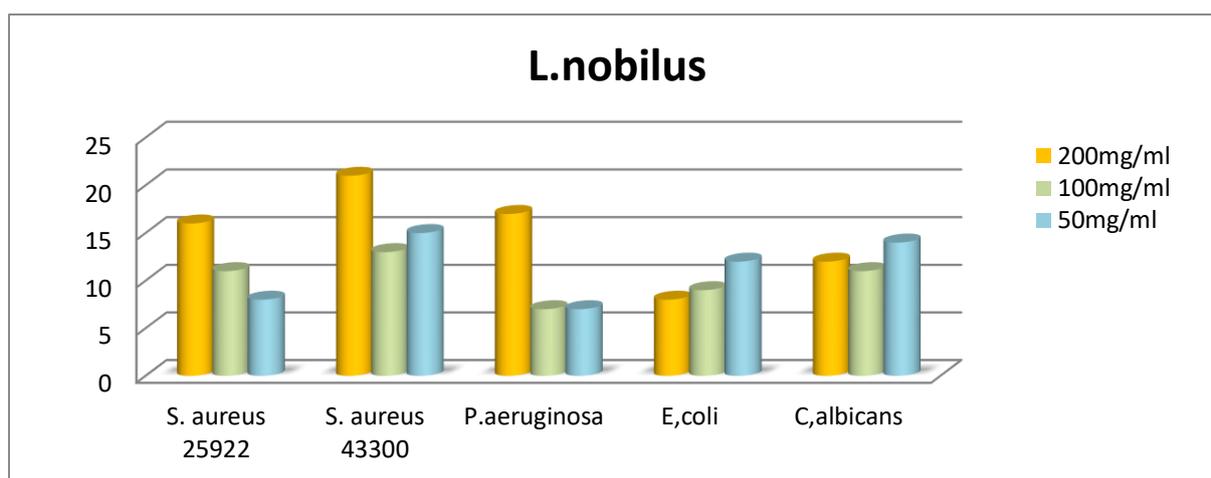


Figure 25: Représentation graphique de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle *Laurus nobilis* réalisé par la méthode de diffusion sur disque.

D'après la figure 25, on constate que les zones d'inhibition de *L. nobilis* sont importantes, ce qui montre leurs pouvoirs antimicrobiens. Dans la première concentration 200 mg/ml de l'HE ont montré une forte activité contre les trois souches bactériennes à l'exception d'*E.coli* qui a donné une très faible activité inhibitrice et une légère activité contre la souche fongique. La deuxième concentration 100 mg/ml de l'HE a induit une activité légère contre *C.albicans* et les bactéries à gram positif et un faible effet contre les bactéries à gram négatif. La troisième concentration 50mg/ml de l'HE a montré une activité

inhibitrice légère contre *S.aureus* 43300, *E.coli* et *C.albicansen* plus cette concentration a montré une très faible activité contre *S.aureus*25922 et *P.aeruginosa*.

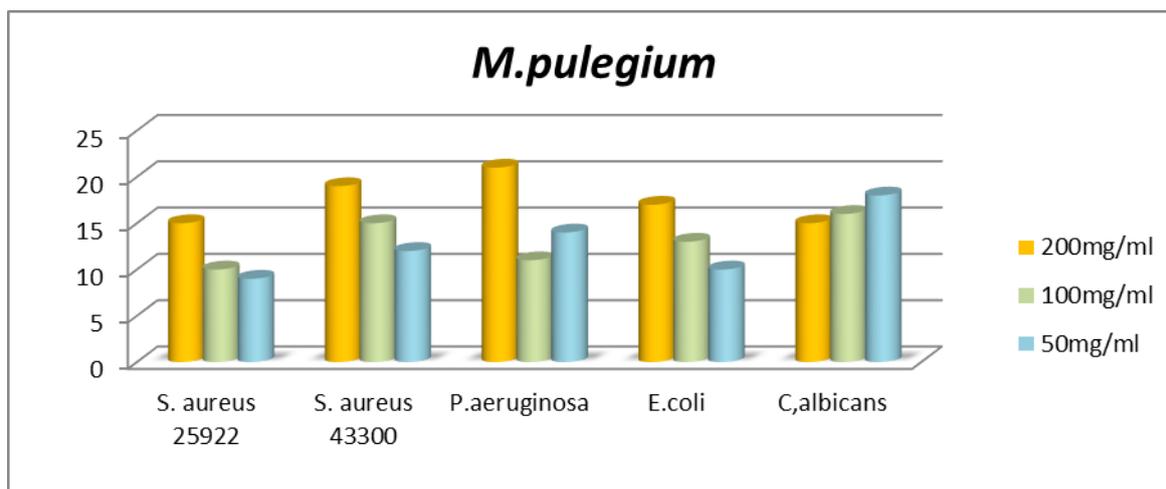


Figure 26: Représentation graphique de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle *Mentha pulegium* réalisé par la méthode de diffusion sur disque

D'après la **figure 26** les valeurs enregistrées dans la première concentration 200mg/ml ont montré une sensibilité modérée de l'HE de *M. pulegium* dans la quasi-totalité des souches microbiennes testées, dans la deuxième concentration 100mg/ml de l'HE a montré une activité inhibitrice légère contre les souches testées, les mêmes résultats ont obtenu dans la troisième concentration 50mg/ml sauf que l'HE a montré une activité modérée contre *C.albicans*.

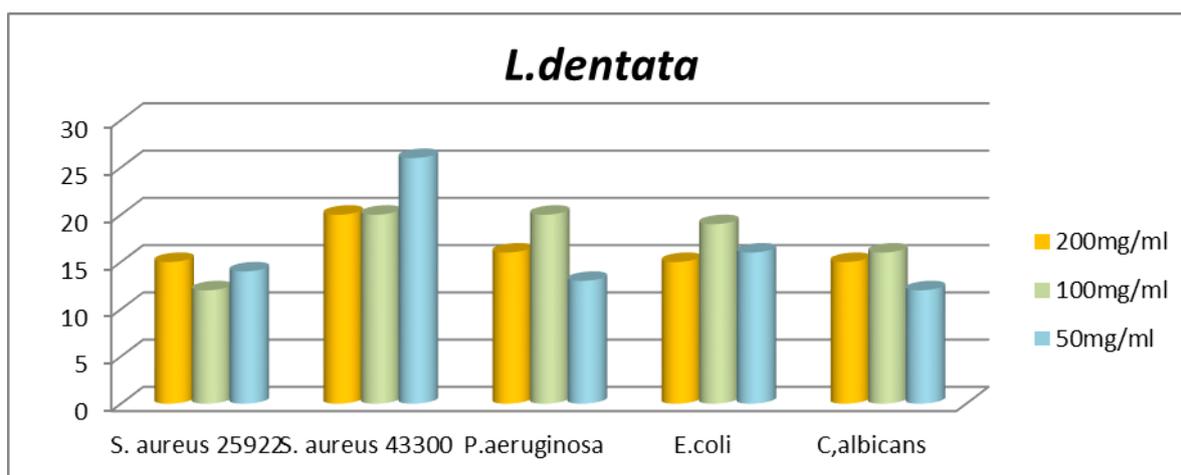


Figure 27 : Représentation graphique de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle *Lavandula dentata* réalisé par la méthode de diffusion sur disque

D'après la **figure 27** , les résultats obtenus, dans la première concentration l'HE de *L.dentata* 200mg/ml a montré une activité inhibitrice modéré contre les souches microbiennes testées, en deuxième concentration 100 mg/ml HE a montré une activité modéré aussi contre les souches microbiennes à l'exception de *S.aureus* 25922 qui a montré une légère activité , pour la troisième concentration 50mg/ml l'HE de *L.dentata* a enregistré une forte activité inhibitrice contre *S.aureus* 43300 et une légère activité contre *S.aureus* 25922 , *P.aeruginosa* , *E.coli* et *C.albicans*.

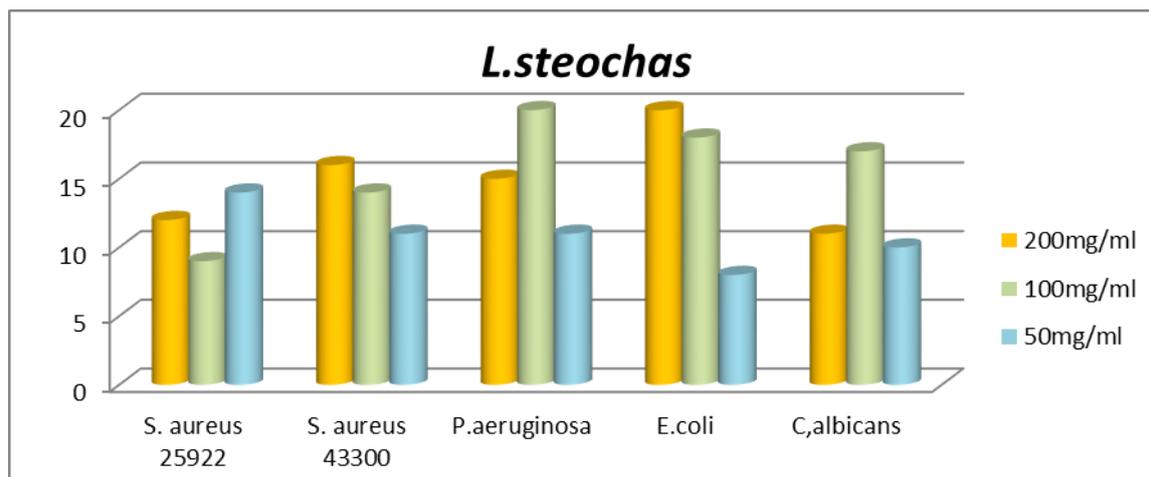


Figure 28 : Représentation graphique de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle *Lavandula stoechas* réalisé par la méthode de diffusion sur disque.

D'après la **figure 28** ,les résultats obtenus dans la première concentration 200 mg/ml d'HE de *L.stoechas* ont montré une activité légère contre *S.aureus* 25922, *P.aeruginosa* et *C.albicans* et une activité modéré contre *S.aureus* 43300 et *E.coli* , dans la deuxième concentration 100 mg/ml l'HE a un faible effet contre *S.aureus* 25922 et une activité modéré contre *S.aureus* 43300 ,*P.aeruginosa*, *E.coli* et *C.albicans*. Pour la troisième concentration 50mg/ml HE a montré une activité inhibitrice légère contre les souches bactériennes testées sauf *E.coli* et *C.albicans* qui ont aucun effet antimicrobien.

Selon l'étude de (**Kamal Ouled Taarabtet al., 2017**) qui ont montré qu'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sont deux bactéries gram négatifs, tant que *Staphylococcus aureus* est une bactérie gram positif. Nous pouvons dire que les BGN sont insensibles à l'HE du *Laurus nobilis* L. vu peut être leur mécanisme de résistance qui se manifeste au niveau de la structure de leur enveloppe bactérienne (**Ouibrahim et al., 2013** H. MITH et al., 2014)

ainsi qu'au niveau de leurs arsenaux enzymatiques. Les champignons sont nettement plus sensibles que les bactéries à l'HE du *Laurus nobilis* L.

(**Kheyer et al., 2014**), l'huile essentielle du *L. nobilis* d'une autre région de l'Est algérien, plus précisément de Bejaia a également été étudiée pour son action sur cinq souches bactériennes de références : *S. aureus* ATCC 6538, *P. aeruginosa* ATCC27853, *E. coli* NAR, *K.pneumoniae*E47 et *Listeria innocua* CLIP74915. L'HE a été efficace sur la totalité des micro-organismes testés, donnant des diamètres d'inhibitions nettement supérieurs aux nôtres ; soient 29,5 mm pour *E. coli* NAR, 26,5 mm pour *K. pneumoniae* E47 et 29,5 mm pour *S. aureus*. La souche de *P. aeruginosa* ATCC27853 a été plus résistante à l'HE du laurier de Bejaïa qu'ait nôtre. Dans la même année, (**Nehir et al., 2014**) ont rapporté la bonne activité antibactérienne de l'HE du laurier de Turquie obtenue par deux méthodes d'extraction : (hydrodistillation et assistée par micro-ondes).

Dans d'autre étude réalisée par (**Khadidja Lahrech, 2010**), l'extrait de l'huile du *Mentha pulegium* L, montre une activité antifongique élevée, mais pour l'activité antibactérienne elle est totalement nulle contre la *Pseudomonas aeroginos*, moyenne pour *Staphylococcus aureus* et limite vis-à-vis *E.coli*, on remarque que cette dernière augmente avec la concentration de l'huile.

D'après (**Lamia Bachiri et al., 2017**). Les résultats de l'activité antimicrobienne montrent que l'huile essentielle de *L.dentata* sont actives vis-à-vis des bactéries Gram (-) (*E. coli*, *K. pneumoniae* et *P.mirabilis*) et Gram (+) (*S. aureus*), l'effet inhibiteur d'HE testée augmente significativement avec le volume.

Les résultats obtenus dans notre étude sont en accord avec d'autres rapports indiquant que les HEs des populations non-algérien de *L.stoechas* possèdent également des activités antimicrobiennes. Il a été rapporté que l'huile volatile de *L.stoechas* en provenance de Tunisie exerce antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* et une activité antifongique contre *C.albicans* (**Bouzouita et al., 2005**).

En général, le premier site d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes est la membrane plasmique. Ceci est directement lié à l'hydrophobicité des molécules qui entrent dans la composition des huiles essentielles. Cette propriété facilite leur insertion entre les phospholipides membranaires et assure leur solubilisation dans la bicouche lipidique. Il s'ensuit une déstabilisation de la structure de la membrane plasmique et une modification de

sa perméabilité aux ions, protons et autres constituants cellulaires (Sikkema *et al.*, 1994; Cox *et al.*, 2000; Ultee *et al.*, 2002; Carson *et al.*, 2006). En plus des altérations membranaires provoquées, ces molécules peuvent franchir la bicouche lipidique, pénétrer à l'intérieur des cellules et interagir avec des cibles intra-cytoplasmiques (Cristani *et al.*, 2007). Compte tenu de la diversité moléculaire des huiles essentielles, il semble plus probable que leur activité antibactérienne résulte de l'association de plusieurs mécanismes, qui s'exercent sur différentes cibles cellulaires (Burt, 2004). Les huiles essentielles d'*I. graveolens* et de *S. corsica* semblent agir simultanément sur la paroi cellulaire et la membrane plasmique.

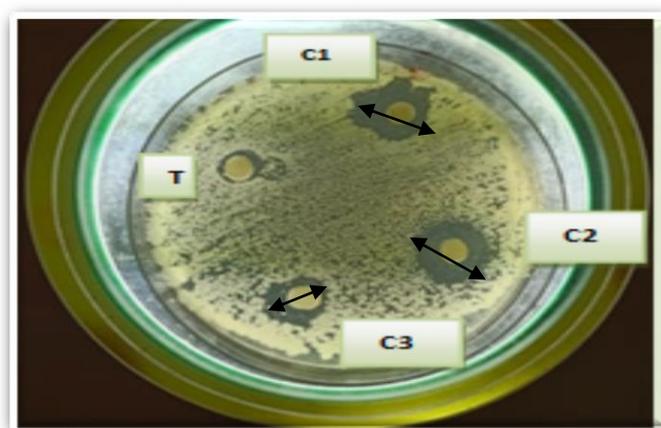


Figure 29 : Résultat d'aromatogramme d'HE de *L.nobilus* contre *S.aureus* ATCC 43300

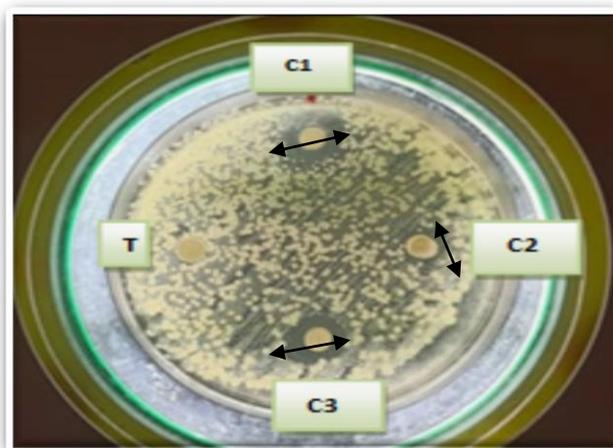


Figure 30 : Résultat d'aromatogramme d'HE de *M.pulegium* contre *P.aeruginosa*

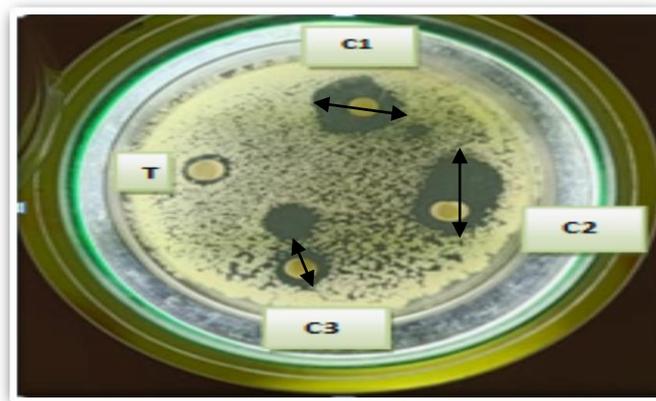


Figure 31: Résultat d'aromatogramme d'HE de *L.dentata* contre *S.aureus* ATCC43300

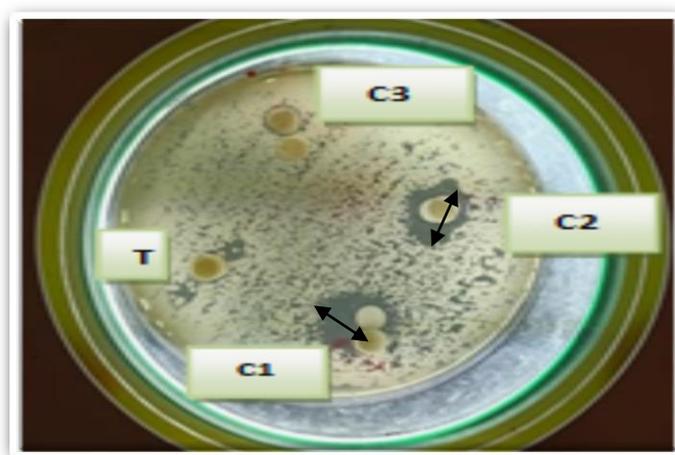


Figure 32 :Résultat d'aromatogramme d'HE de *L.stoechas* contre *E.coli*

3.2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les CMI ont été déterminées pour les huiles essentielles de *Laurus nobilu*, *Mentha pulegium*, *Lavendula dentata* et *Lavendula stoechas* avec une concentration de 100 mg/ml .les résultats des CMI des HEs vis-à-vis des souches microbiennes présentées dans la figure 33:

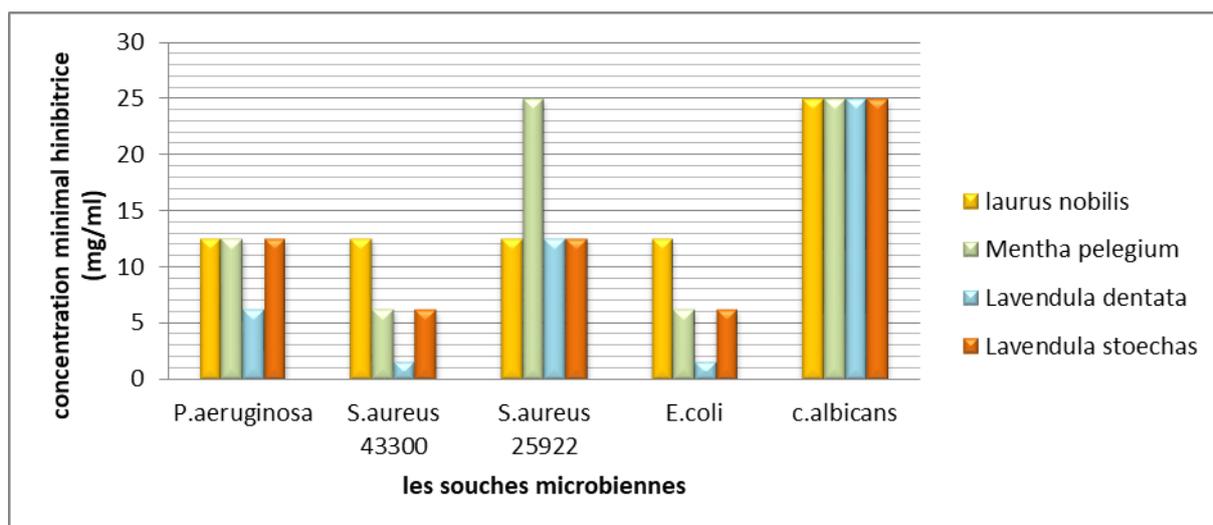


Figure 33: Représentation graphique des CMI des huiles essentielles relatives aux souches microbiennes

Selon les valeurs de la CMI exprimé en mg/ml, les résultats ont été appréciés comme suit:

- pas sensible (-) pour une valeur comprise entre 50.0 et 25.0 mg/ml.
- moyennement sensible (+) pour une valeur comprise entre 12.5 et 3.0 mg/ml.
- sensible (++) pour une valeur comprise entre 2 et 0.4 mg/ml.
- extrêmement sensible (+++) pour une valeur égale ou inférieure à 0.2 mg/ml (**Djabou et al., 2013**).

Dans cette étude, l'activité antimicrobienne des HES de *Laurus nobilis*, *Mentha pulegium*, *Lavendula dentata* et *Lavendula stoechas* a été évaluée sur la croissance in-vitro des quatre souches bactériennes et une souche fongique.

Les résultats obtenus montrent que les HES ont une activité antibactérienne et antifongique acceptable contre les souches microbiennes testées dans une gamme de CMI variée entre (25 mg/ml à 1.56 mg/ml) et 25 mg/ml respectivement.

A travers les résultats, l'HE de *L. nobilis* présente un effet inhibiteur remarquable et le seuil de l'activité antibactérienne dans les quatre souches bactériennes se trouve dans la concentration 12.5 mg/ml. Tandis que pour la CMI de l'activité antifongique est 25 mg/ml.

D'après les résultats obtenus, l'HE de *M. pulegium* montre une activité antibactérienne contre les souches étudiées, alors la concentration 6.25 mg/ml a été suffisante pour arrêter la croissance de *S.aureus ATCC 43300* et de *E.coli* qui sont montrés les plus vulnérables à

cette huile. Suivi de *P.aeruginosa* qui a été inhibé à partir de la concentration minimale de 12.5mg/ml. Par contre *S.aureus* ATCC 25922 a été inhibé à la concentration en huile essentielle de 25mg/ml. Tandis que *C.albicans* a été inhibé à la concentration de 25mg/ml.

Les résultats obtenus montrent que la plus faible valeur des paramètres antimicrobiens d'HE de *L.dentata* a été obtenue avec la souche fongique *C. albicans* avec une valeur de CMI de 25mg/ml. Alors que *S.aureus* ATCC 25922 a marqué une faible activité antibactérienne avec une valeur de CMI de 12.5mg/ml, suivie par la moyenne valeur enregistrée par *P.aeruginosa* avec une CMI de 6.25mg/ml. *S.aureus* ATCC 43300 et *d'E.coli* ont marqué une bonne activité antibactérienne qui semblait être les plus sensibles dont la CMI de 1.56mg/ml.

D'après la **figure 33**, la concentration de 6.25mg/ml d'HE de *L.stoechasa* a été suffisante pour inhiber la croissance de *S.aureus* ATCC 43300 et *d'E.coli* et les deux souches *P.aeruginosa* et *S.aureus* ATCC 25922 ont marqué une moyenne activité antibactérienne pour une valeur comprise entre 12.5 mg/ml. Suivi de *C.albicans* qui a été inhibé à la concentration de 25mg/ml.

Nos résultats sont différents de ceux indiqués par (**Bouchaale, 2014**) dans une étude comparative du pouvoir antibactérien de l'HE de *L.nobilis* de deux régions (Algérie et Tunisie) qui ont trouvé que la souche *P.aeruginosa* du *L. nobilis* tunisien et celle du *L.nobilis* algérien sont égales et sont de 10mg/ml et pour *Escherichia coli*, la CMI de l'huile essentielle du *L.nobilis* tunisien est de 20mg/ml tandis que celle de l'algérien est de 5mg/ml et pour la dernière souche *S.aureus* la CMI de l'huile tunisien est de 10mg/ml et 5mg/ml pour l'huile algérien. Il est à noter que l'activité antibactérienne de l'HE du laurier tunisien est bien meilleure que celle du laurier algérien. Ce résultat pourrait être expliqué par la différence des constituants des deux huiles essentielles qui pourrait être due à une différence du climat et du sol.

Les résultats obtenus avec l'huile essentielle de *M.pulegium* sont différents de ceux indiqués par (**Bouhaddouda, 2015**) qui ont enregistré une valeur de CMI de l'ordre de 12.5mg/ml pour *S.aureus* et *E.coli*. Par ailleurs, pour la souche *P.aeruginosa* n'est pas résistante car elle a enregistré une valeur de CMI comprise entre 50 et 25mg/ml. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *M.pulegium* peut être attribuée à la forte concentration en pulegone (**Hajlaoui et al., 2009**) ou encore à l'effet synergique du piperitone avec les autres constituants de cette huile essentielle (**Mahboubi et al., 2008**).

Nos résultats sont différents à ceux indiqués par (**L.Bachiri et al.,2016**) qu'ils ont trouvé que l'HE de *Lavandula dentata* a montré une bonne activité antibactérienne contre les souches bactériennes où *S.aureus* a montré une activité très sensible avec une valeur de CMI=0.08mg/ml suivi par *E.coli* (CMI=0.14mg/ml). Le fort potentiel des huiles essentielles est dû principalement aux terpènes qui constituent les principaux composants des huiles essentielles ; ainsi, des recherches sur les effets des terpénoïdes sur la membrane bactérienne isolée suggèrent que cette activité est due à des propriétés lipophiles des terpènes, à la puissance de leurs groupements fonctionnels et à leurs solubilités aqueuses. Plusieurs processus comprenant l'inhibition du transport des électrons, la translocation des protéines, la phosphorylation et d'autres réactions enzymatiques peuvent avoir lieu (**Dorman et al., 2000**).

En revanche, les résultats obtenus avec (**Benabdelkader 2012**) qui a estimé l'activité antimicrobienne des HEs des 11 populations de *Lavandula stoechas* algérienne vis-à-vis des souches microbiennes sont différents avec les résultats de cette étude. Généralement ils ont trouvé que l'HE de la population *L.stoechas*3 présente une bonne activité inhibitrice contre *E.coli* et *P.aeruginosa* avec une valeur de CMI=0.23 mg/ml et la même valeur a été enregistrée pour la souche à Gram positif (*B.subtilis*), tandis que la levure *C.albicans* a affiché une valeur de CMI=4.48 mg/ml. et l'HE de la population *L. stoechas* 8 était la moins active avec une valeur de CMI de 8.52 mg/ml contre les deux souches *E. coli* et *P.aeruginosa*. Bien que, la souche à Gram positif a présenté une valeur de CMI=11.36 mg/ml. Alors que la souche *C.albicans* a enregistré une valeur de CMI=8.52mg/ml. Dus à ces différences de résultats peut être attribuée aux facteurs biotiques et abiotiques incontrôlés ou aux différences génétiques inhérentes.

L'HE de la population *L.stoechas*3 qui présentait le plus fort pouvoir antimicrobien était caractérisé par la présence dominante du fenchone. Le fenchone est, cependant, connu pour être peu, voire pas, actif. (**Lis-Balchin & Roth, 2000**) Il ne peut donc être responsable des effets générés par les HEs sur les microorganismes. En outre, l'activité antibactérienne des extraits de plantes dépend d'un certain nombre de facteurs tels que, la période de récolte, les conditions édaphoclimatiques, la méthode d'extraction, la composition chimique, ainsi que les types de microorganismes testés et les conditions de réalisation des tests (**Al-Reza et al., 2010; Obeidat et al., 2012**).

3.3- Détermination de la concentration minimale bactéricide et fongicide (CMB), (CMF):

La détermination du CMB et CMF en milieu solide est un paramètre permettant de déterminer l'effet bactéricide et fongicide des HEs. Les résultats de la concentration minimale bactéricide et fongicide des HEs par rapport aux souches bactériennes et fongiques sont présentés dans la figure 34 :

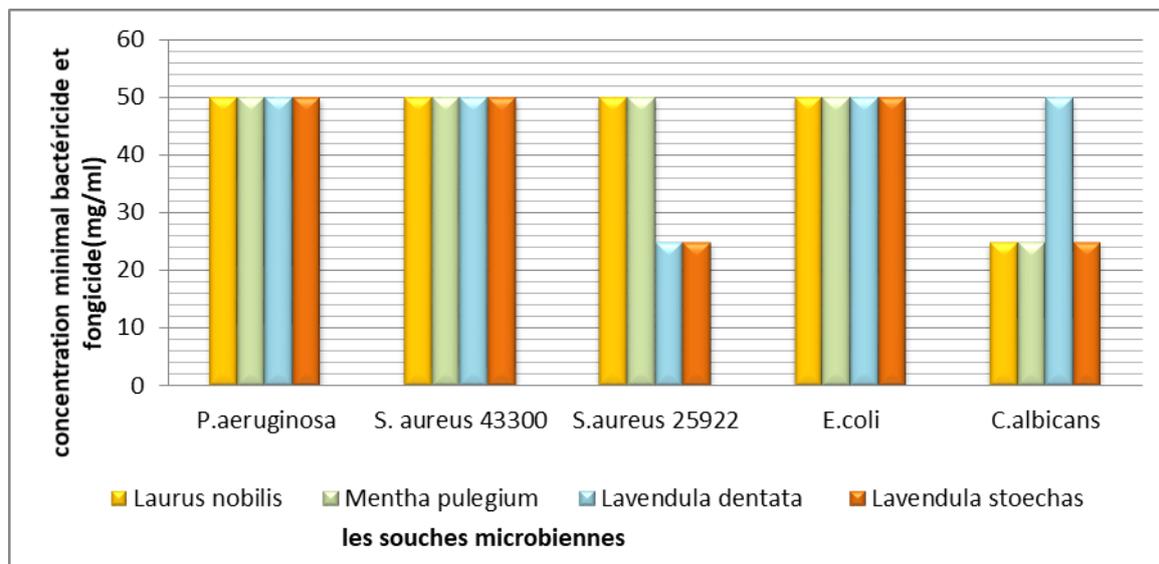


Figure 34: Représentation graphique des CMB et CMF des huiles essentielles des plantes médicinales relative aux souches bactériennes et fongiques.

La figure 34 montre que les HEs de *L. nobilis*, *M.puleguim*, *L. dentata* et *L.stoechas* présentent une activité bactéricide sur les quatre souches bactérienne testées avec des valeurs variables d'une souche à une autre.

Tous les HEs des quatre plantes présente des CMB (50mg/ml) supérieur à CMI contre les quatre souches bactérienne sauf *L. dentata* et *L. stoechas* ont marqué une valeur de CMB (25mg/ml) contre *S. aureus ATCC 25922*.

Selon les résultats du tableau, les HEs de *L. nobilis*, *M.puleguim* et *L.stoechas* présentent une activité fongicide identique à la CMI contre la souche *C. albicans* (CMB=CMI=25mg/ml) ainsi que l'HE de *L.dentata* à marqué un effet fongicide supérieur sur *C.albicans* avec une valeur de CMF (50mg/ml)

3.4- Qualification de l'activité antimicrobienne de l'HE

Le rapport CMB/CMI ou CMF/CMI permet de déterminer les propriétés bactériostatiques ou bactéricides et/ou fongistatiques ou fongicides des HEs *L. nobilis*, *M.pulegium*, *L.dentata*, et *L.stoechas*.

D'après (Marmonier, 1990), si le rapport d'activité CMB/CMI ou CMF/CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égal à 4, cette dernière est qualifiée de substance bactéricide ou fongicide et si le rapport est supérieur à 4, elle est alors dite bactériostatique ou fongistatique.

Les résultats du rapport CMB/CMI et CMF/CMI sont affichées dans le **tableau 08**.

Tableau 08: Les résultats du rapport CMB/CMI et CMF/CMI

Les souches microbiennes	La CMB, CMF /CMI (mg/ml)				L'effet microbien
	<i>Laurus nobilis</i>	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Lavendula dentata</i>	<i>Lavendula stoechas</i>	
<i>P. aeruginosa</i>	4	4	8	4	Bactéricide/bactériostatique
<i>S.aureus ATCC43300</i>	4	8	32	8	Bactéricide/bactériostatique
<i>S. aureus ATCC 25922</i>	4	2	2	2	Bactéricide
<i>E.coli</i>	4	8	32	8	Bactéricide/bactériostatique
<i>C.albicans</i>	1	1	2	1	fongicide

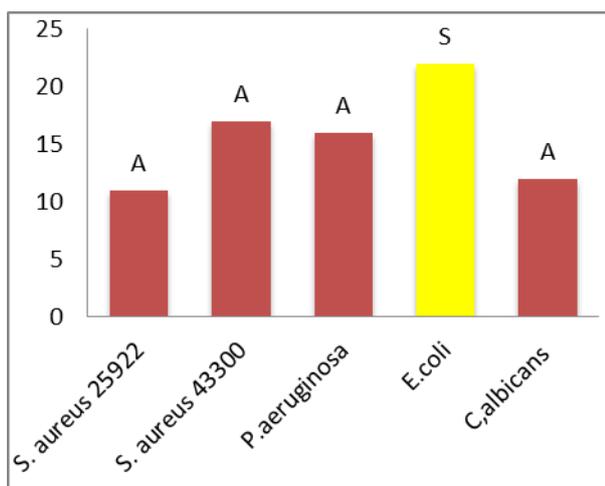
3.5- Effets de la combinaison entre les huiles essentielles

Les HEs peuvent être utilisées comme agents antimicrobiens contre des espèces pathogènes pour l'Homme. Afin de réduire la dose efficace de ces agents, celles-ci peuvent être combinées avec d'autres agents ce qui peut donner naissance à un effet synergique ou additif (Horvath et al., 2016).

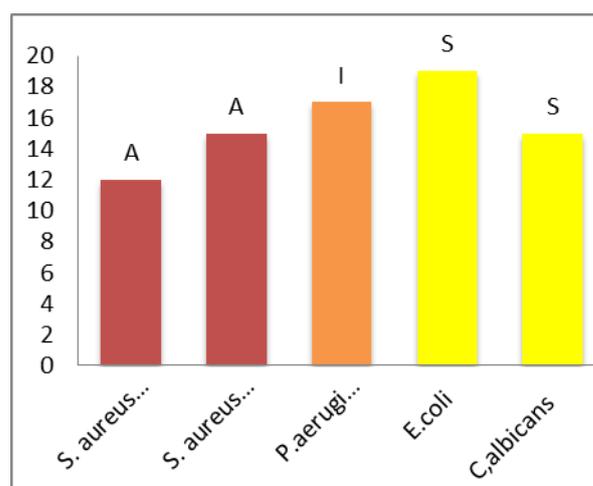
L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité des huiles essentielles végétales en combinaison à deux avec d'autres agents microbiens.

Le test de la sensibilité microbienne à nos huiles essentielles est regroupé dans la **figure 35**, L'action inhibitrice se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut étudié. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre.

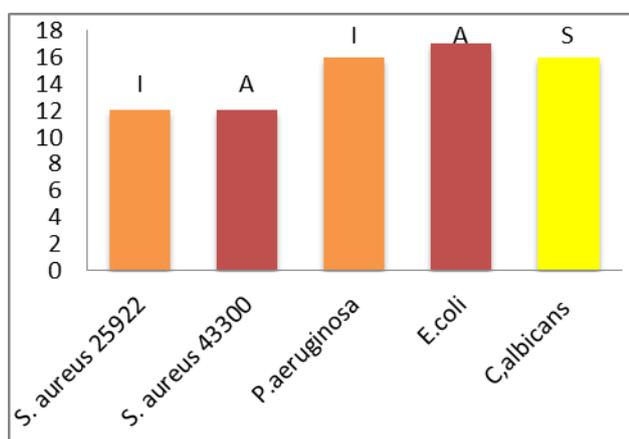
L.nobilis + M.pulegium



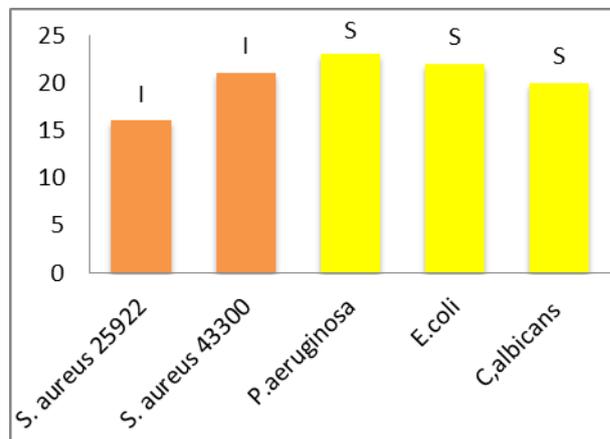
L.nobilis + L.dentata



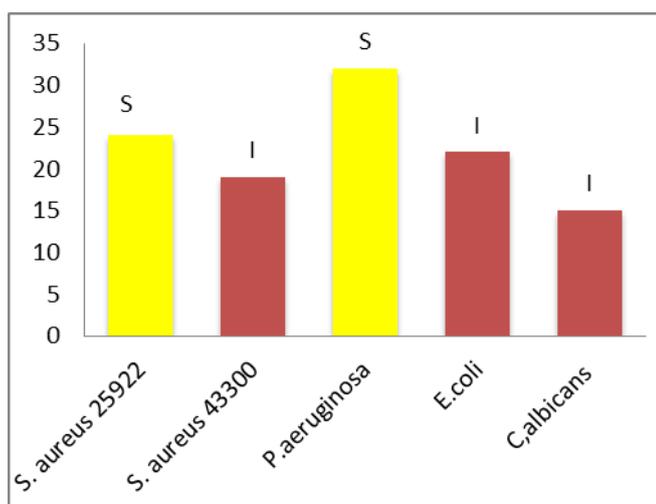
L.nobilis + L.stoechas



M.pulegium + L.dentata



M.pulegium + L.stoechas



L.dentata + L.stoechas

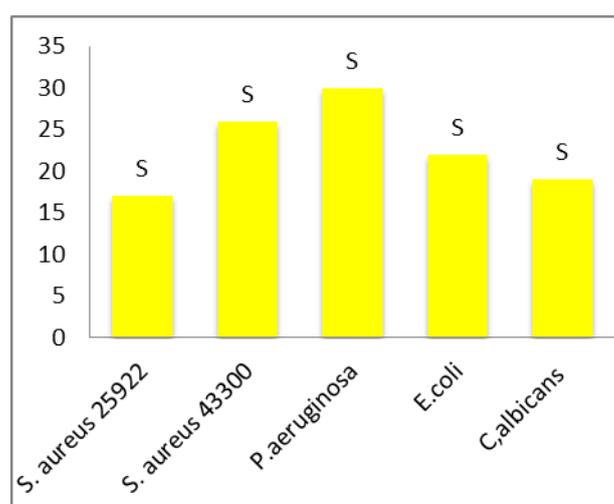


Figure 35 :Représentation graphique de l'effet inhibiteur de la combinaison de nos quatre huiles essentielles

D'après la **figure 35**, les résultats obtenus de la combinaison entre *L.nobilus* et *M.pulegium* ont montré un pouvoir antagoniste pour les souches bactériennes *S.aureus* 25922 (11mm), *S.aureus*43300 (17mm) *P.aeruginosa* (16 mm) et un pouvoir synergétique contre *E.coli* (22mm) par rapport les deux huiles seules et pour la souche fongique *C.albicans* l'association a montré un effet antagoniste (12mm) par rapport huile de *M.pulegium* seule et indifférencié par rapport *L.nobilus*.

Le mélange des huiles essentielles de *L.nobilus* et *L.dentata* a montré une interaction antagoniste pour *S.aureus* 25922 (12mm) et *S.aureus* 43300 (15 mm) par rapport aux deux huiles seules, et une interaction indifférenciée pour *P.aeruginosa* (17mm) par rapport aussi les huiles seules, et enregistré une interaction synergétique pour *E.coli* (19mm) en comparant par les huiles seules. il a montré une interaction synergétique pour *C.albicans* par rapport à l'huile *L.nobilus* et indifférenciée par rapport *L.dentata*.

L'association de HE de *L.nobilus* et *L.steochas* a montré un effet synergique pour *C.albicans* (16 mm) par rapport aux deux huiles seules et pour *E.coli* par rapport l'huile *L.nobilus* et un effet antagoniste par rapport *L.steochas*, et pour *P.aeruginosa* a enregistré un effet indifférencié (16 mm) par rapport aux huiles seules et un effet antagoniste pour *S.aureus* 43300 (12 mm) par rapport aux deux huiles seules et pour *S.aureus* 25922 par rapport *L.nobilus* et indifférencié par rapport *L.steochas* .

La combinaison de HE de *M.pulegium* et *L.dentata* a montré une activité synergétique pour *P.aeruginosa* (23 mm), *E.coli* (21mm) et *C.albicans* (20mm) par rapport aux deux huiles seules. et une activité indifférenciée pour *S.aureus* 25922 (16mm) et *S.aureus* 43300 (21 mm) aussi par rapport aux huiles seules.

Le mélange de HE de *M.pulegium* et *L.steochas* a montré un pouvoir synergétique pour *S.aureus* 25922 (24mm) et *P.aeruginosa* (32mm) par rapport aux deux huiles seules, les mêmes résultats obtenus pour *S.aureus* 43300 et *C.albicans* un pouvoir synergétique par rapport à l'huile de *L.steochas* et indifférencié par rapport à *M.pulegium* contrairement pour *E.coli* un pouvoir synergétique par rapport à l'huile *M.pulegium* et indifférencié par rapport *L.steochas*.

L'association de HE de *L.dentata* et *L.steochas* a montré un pouvoir synergétique important pour tous les souches étudiées *S.aureus* 25922(17mm), *S.aureus*43300 (26mm), *P.aeruginosa* (30mm), *E.coli* (22 mm) et *C.albicans* (19mm) .

Un meilleur pouvoir inhibiteur obtenu est contre *P.aeruginosa* pour le mélange de l'huile de *M.pulegium* et *L.steochas* (32mm) et de *L.denata* avec *L.steochas* (30mm)

Des résultats similaires à ceux publiés par **(Moon et al., 2016)** qui expliquaient l'effet antibactérien du mélange thymol avec le carvacrol contre *Escherichia coli* O157 qui agit sur la paroi bactérienne des Gram(-).

Selon **(Horvath et al., 2016)**, la combinaison des huiles essentielles de : cannelle, clou de girofle, thym et menthe verte peut conduire à un effet synergique contre les levures et les moisissures du genre *Condida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Fusarium solani*... Par ailleurs la meilleure combinaison a été le clou de girofle/ cannelle conduisant à un effet additif dans tous les cas.

En outre l'effet synergique apparaît aussi entre les huiles essentielles de l'origan mexicain, moutarde (*Brassicinigras*), et le thym (*Thymus vulgaris*) qui ont été évalués en combinaisons binaires contre *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, ou *Salmonella enteritidis* (**Reyes-Jurado. 2016**).

Une étude a été réalisée afin d'évaluer les possibles interactions synergiques et leur efficacité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de graines de cumen et de coriandre par rapport à six bactéries d'origines alimentaires importantes (*Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*). Les résultats prouvent que la combinaison coriandre / huile essentielle de graines de cumin pourrait effectivement être utilisée comme source potentielle d'agents antimicrobiens et antioxydants naturels sûrs et efficaces dans les industries pharmaceutique et alimentaire. (**Baga, 2015**).

Selon **(Chebaibiet al. 2016)**, qui a évalué le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc, ont conclu que les huiles essentielles testées sur *P.aeruginosa* sont inefficaces, mais l'association des huiles, présentent un effet synergique important contre *P.aeruginosa* avec une activité bactéricide intéressante.

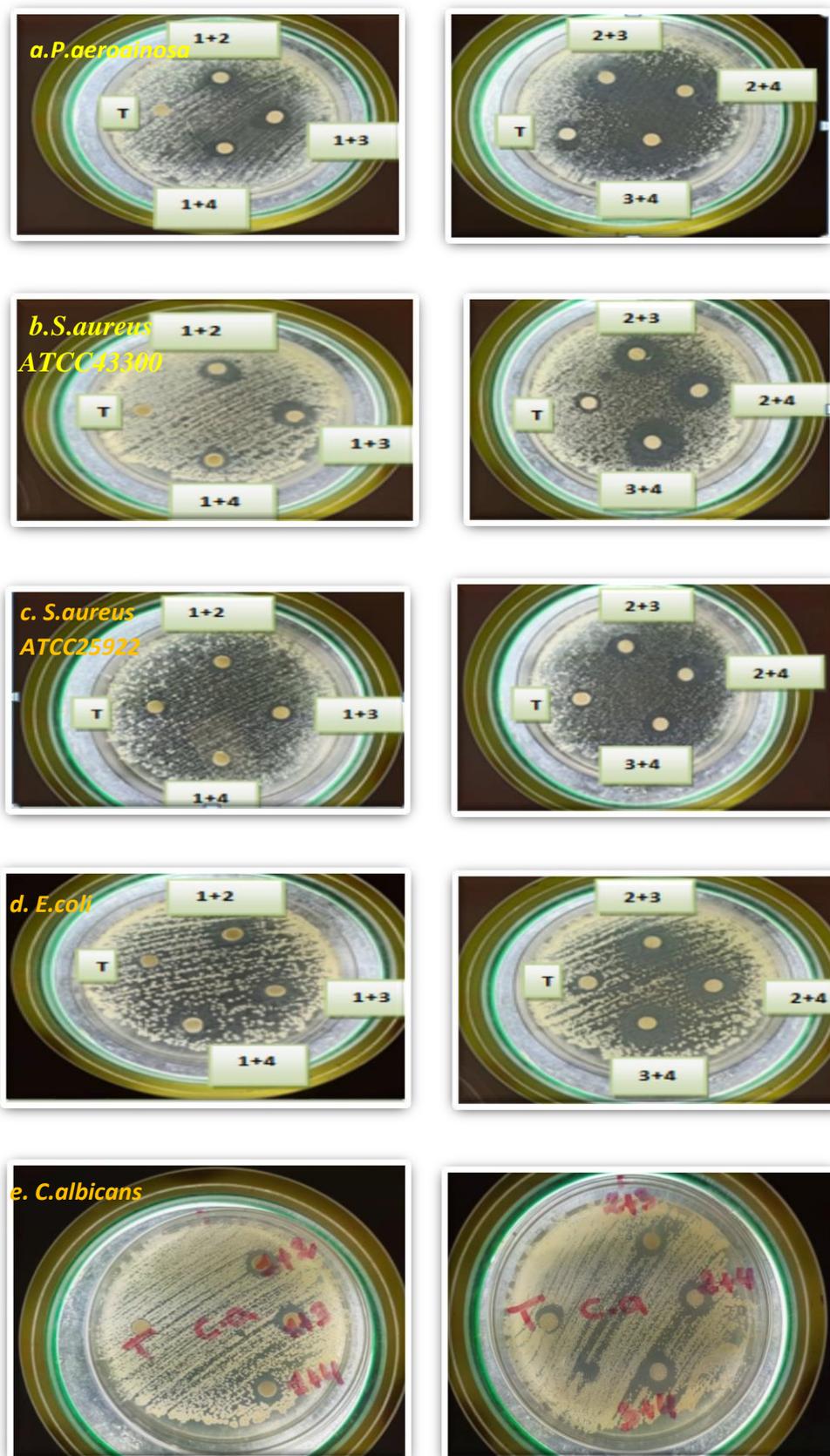


Figure 36 : résultats de la combinaison entre les quatre huiles essentielles (a.*P.aeruginosa* ;b.*S.aureus* ATCC43300 ; c.*S.aureus*ATCC25922 ; d. *E.coli* et e. *C.albicans*)

3.6- Effet de l'association des huiles essentielles avec les antibiotiques vis-à-vis les souches étudiées

L'antibiogramme est réalisé dans le but de tester la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes vis-à-vis des antibiotiques (témoin positif).

L'association des huiles essentielles de *L. nobilus*, *M.pulegium*, *L. dentata* et *L.stoechas* aux différents antibiotiques, et de l'antibiotique seul présentent des effets qui sont statistiquement différents, nous avons réalisé ce test synergétique par la méthode classique de diffusion en disques sans oublier que l'huile essentielle est incorporée dans la gélose, agit contre les souches microbiennes testées, Les résultats sont présentés dans les figures (37, 38, 39 et 40)

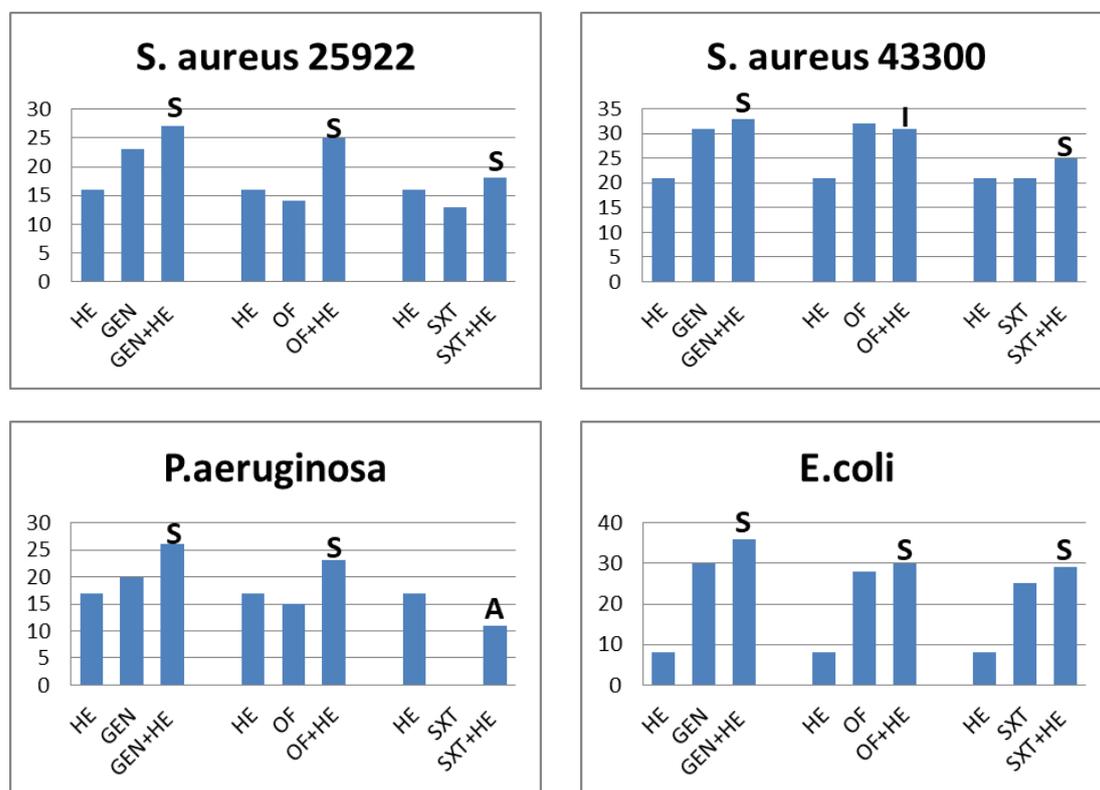


Figure37 : Représentations graphiques des effets des différentes associations « HE /Antibiotiques », l'antibiotique et HE *Lauris nobilissur* les quatre souches bactériennes

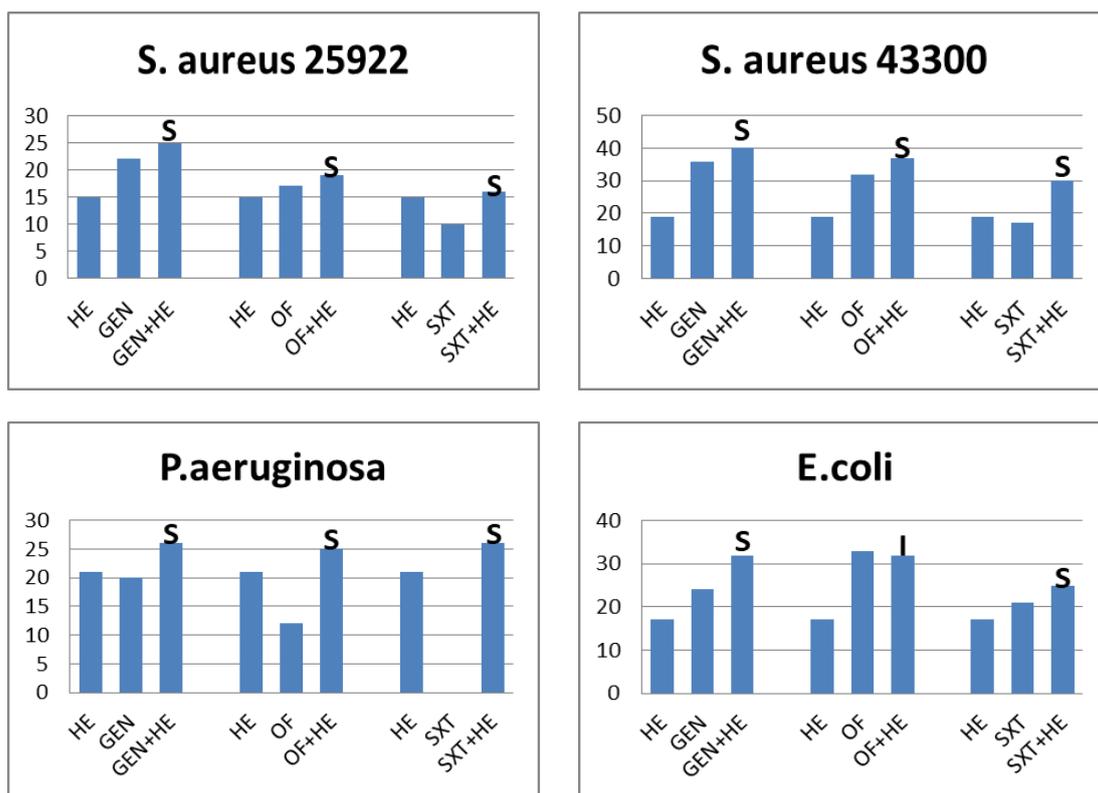


Figure 38 : Représentations graphiques des effets des différentes associations « HE /Antibiotiques », l'antibiotique et HE *Mentha pulegium* sur les quatre souches bactériennes

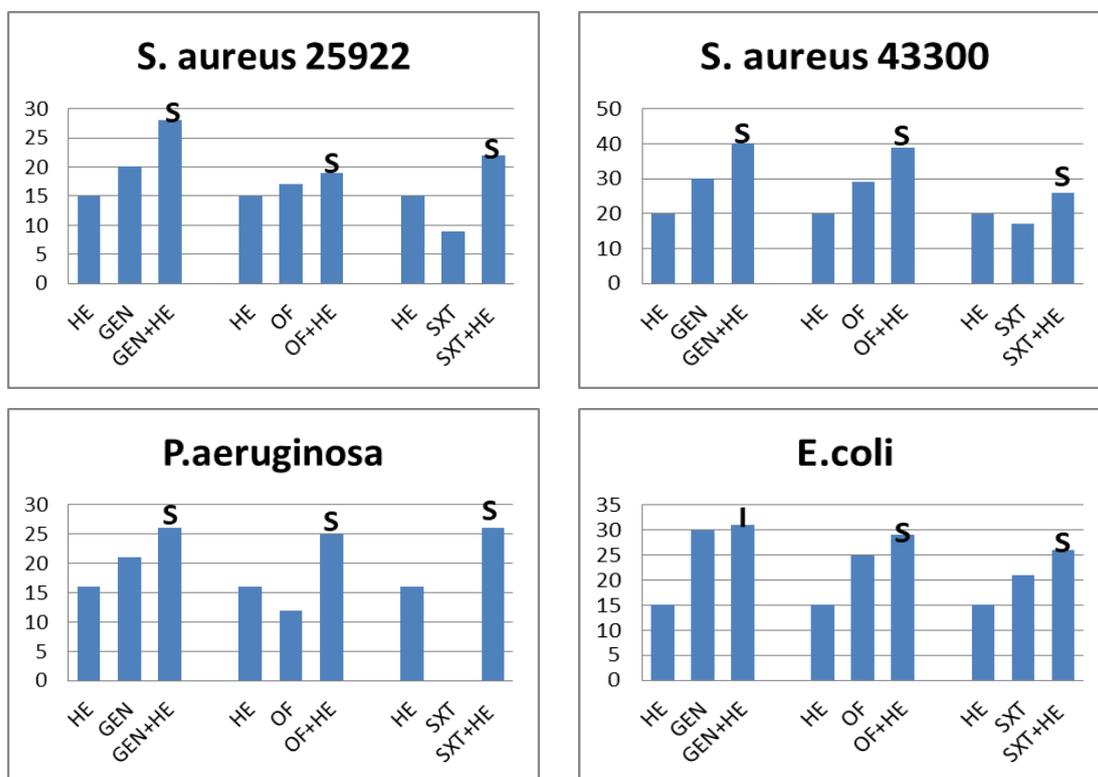


Figure 39: Représentation graphique des effets des différentes associations « HE /Antibiotiques », l'antibiotique et HE *Lavandula dentata* sur les quatre souches bactériennes.

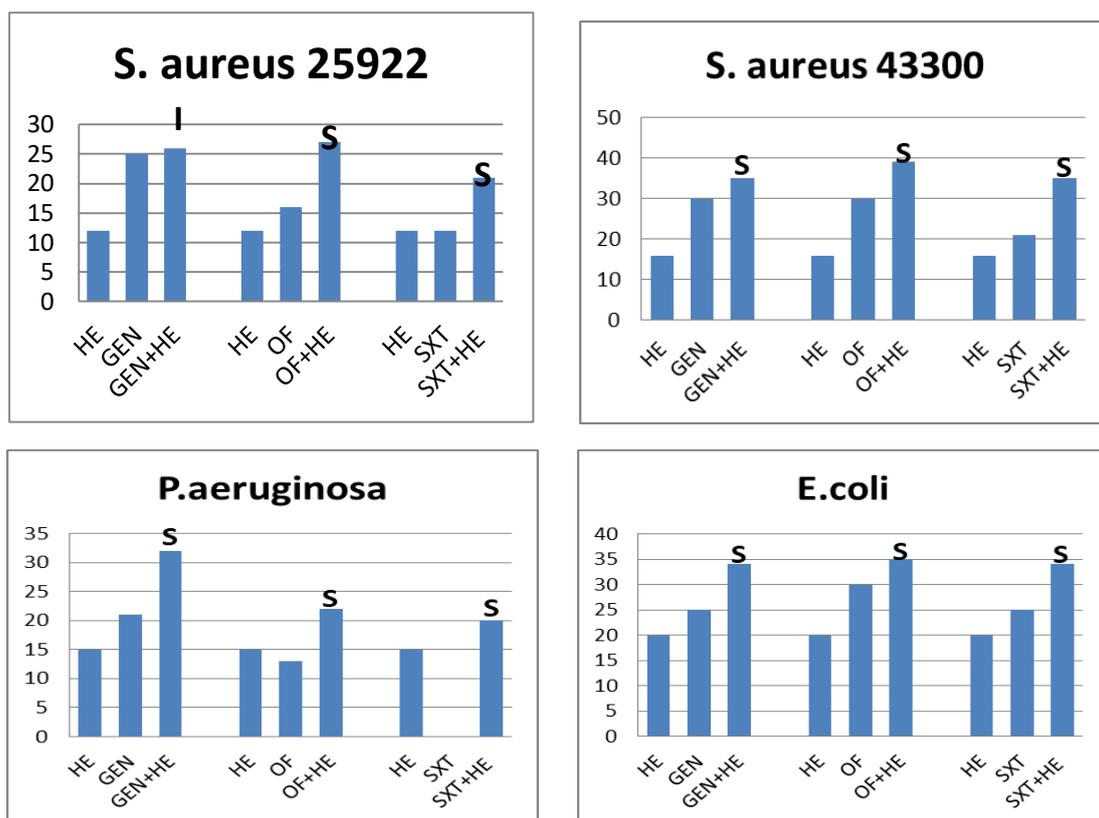


Figure 40: Représentation graphique des effets des différentes associations « HE /Antibiotiques », l'antibiotique et HE *Lavandula stoechas* sur les quatre souches bactériennes

A partir des figures précédentes, on constate que la résistance ou la sensibilité des souches aux ATB diffèrent et ce en fonction de la souche et de l'ATB utilisé ; par exemple toutes les souches bactériennes sont extrêmement sensibles à GEN. *S. aureus 25922* est sensible aux OFX et SXT, *S. aureus 43300* et *E. coli* ont une grande sensibilité aux OFX et SXT par contre *P. aeruginosa* est sensible au OFX et résistant au SXT.

D'après la figure 37, on remarque que l'association de *L. nobilis* aux ATB a montré une activité inhibitrice différente entre une forte inhibition synergétique contre les souches bactériennes dont l'association de GEN+L.N, OFX+ L.N et SXT+L.N à l'exception de *S. aureus 25922* qui a montré une activité inhibitrice modérée, pour *S. aureus 43300* une activité antimicrobienne indifférenciée .

D'après la figure 38, l'association HE/ATB de GEN+ MP, OFX+ MP et SXT+ MP ont montré une forte activité synergétique contre *S. aureus 43300* 40mm, 37 mm, 30 mm respectivement, et une activité synergétique contre toutes les souches bactériennes testés sauf que *E. coli* a montré une activité indifférenciée dont l'association OFX+MP.

D'après la **figure 39**, l'association de l'huile de *L.dentata* aux ATB a montré une activité synergétique contre les souches bactériennes dont l'association de **GEN+L.D**, **OFX+L.D** et **SXT+L.D**. À l'exception d'*E.coli* qui a été montré une activité inhibitrice indifférenciée dont l'association **GEN+L.D**.

D'après la **figure 40**, on remarque que l'association de l'huile *L.steochas* aux ATB a montré une activité synergétique contre toutes les souches bactériennes dont l'association de **GEN+L.S**, **OFX+L.S** et **SXT+L.S** à l'exception de *S.aureus 25922* qui a été montré une activité inhibitrice indifférenciée dont l'association **GEN+L.S**.

Le travail de (**Fadli et al., 2012**), en testant l'effet de l'association de deux huiles de Thym avec vingt sept antibiotiques sur un ensemble de bactéries Gram positif et Gram négatif, rapportent 57/80 associations synergiques. Ils montrent aussi que la synergie se manifeste plus souvent chez les Gram positif que chez les Gram négatif.

Un effet synergique entre l'amoxicilline et les huiles essentielles (*Embilica officinalis* et *Nymphae odora*) contre douze SARMs a été rapporté par (**Mandal et al., 2010**).

L'étude menée par (**Rosato et al., 2010**) donne des associations synergiques entre les huiles essentielles de *Pelargonium graveolens* et *Aniba rosaeodora* et la gentamicine sur les souches Gram négatif avec une forte synergie sur *A.baumannii*.

Gallucci et al., (2006) ont rapporté dans leurs études que l'utilisation des terpènes combinés avec la pénicilline a pu augmenter l'activité de ces dernières contre des souches bactériennes à Gram négatifs en leur conférant une meilleure capacité de transport à l'intérieur de la cellule bactérienne cible

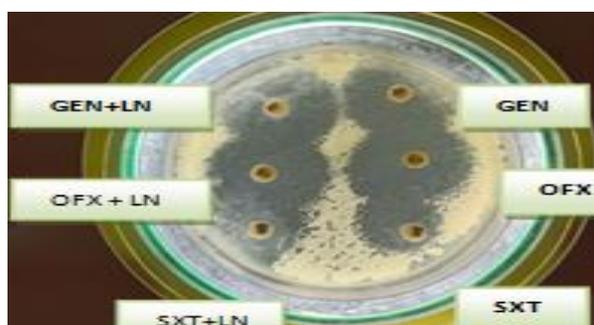


Figure 41 : résultats de l'interaction synergétique d'HE *L.nobilus* avec les antibiotiques contre *S.aureus ATCC43300*

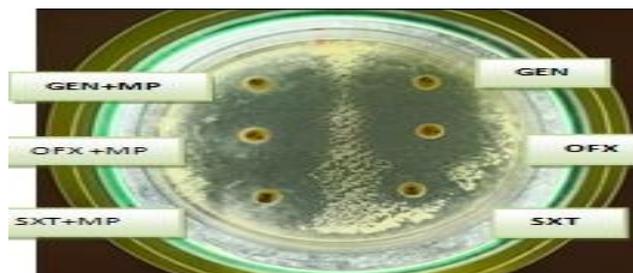


Figure 42 : résultats de l'interaction synergétique d'HE *M.pulegium* avec les antibiotiques contre *S.aureus* ATCC43300

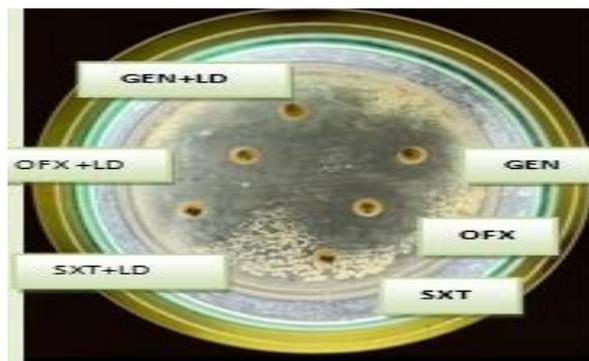


Figure 43 : résultats de l'interaction synergétique d'HE *L.dentata* avec les antibiotiques contre *E.coli*

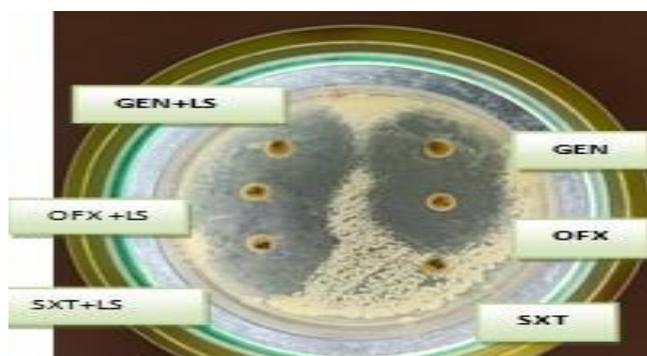


Figure 44 : résultats de l'interaction synergétique d'HE *L.stoechas* avec les antibiotiques contre *S.aureus* ATCC43300

4-Etude de l'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité anti-oxydante *in vitro* est faite par plusieurs techniques. Ces méthodes se basent exclusivement sur la capacité réductrice ou piégeage des radicaux comme étant un indicateur de son potentiel antioxydant.

La mise en évidence de l'activité anti-oxydante *in vitro* des huiles essentielles des quatre plantes testées a été réalisée par la méthode : le piégeage du radical libre DPPH.

4.1- Calcul du pourcentage d'inhibition (I%)

Les mesures de l'inhibition d'absorbance du DPPH provoquée par la présence des HEs de *L.nobilis*, *M.pulegium*, *L.denata* et *L.stoechas* après 30 minutes d'action ont permis de déterminer le pourcentage d'inhibition (I%) de chaque dilution .

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons introduit deux paramètres :

- Le calcul d'IC50 : il définit la concentration efficace de l'huile qui cause la réduction de 50 % du DPPH en solution.
- Les valeurs d'IC50 des huiles étudiées ont été estimées, en utilisant la courbe de tendance polynomiale :

$$Y = ax^2 + bx + c$$

Avec :

Y : 50% (pourcentage de réduction de DPPH).

X : IC50 (Concentration d'échantillon).

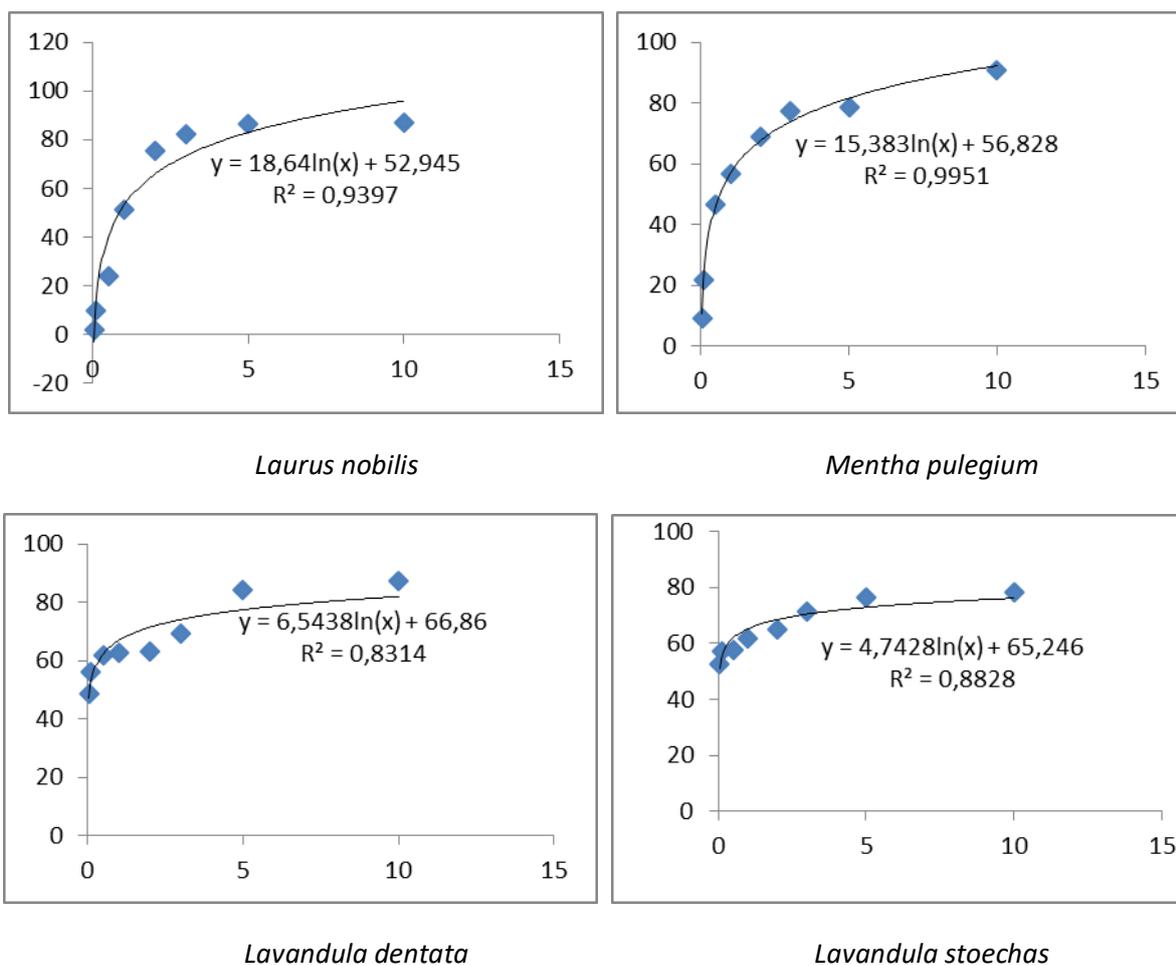


Figure 45 : Activité anti-radicalaire des HEs

4.2- Calcul de l'IC50

L'activité antioxydante des HEs de *L.nobilis*, *M.pulegium*, *L. dentata* et *L.stoechas* a été évaluée par le test DPPH est exprimée en IC50. L'IC50 est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH.

Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante est grande. Les valeurs d'IC50 pour les quatre HEs, ainsi que pour les composés de référence, l'acide -ascorbique, catéchol et acide -tannique, sont présentées dans **la figure45**

L'IC50 est calculé graphiquement par la courbe donnant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en huile essentielle qui représente dans **la figure46**

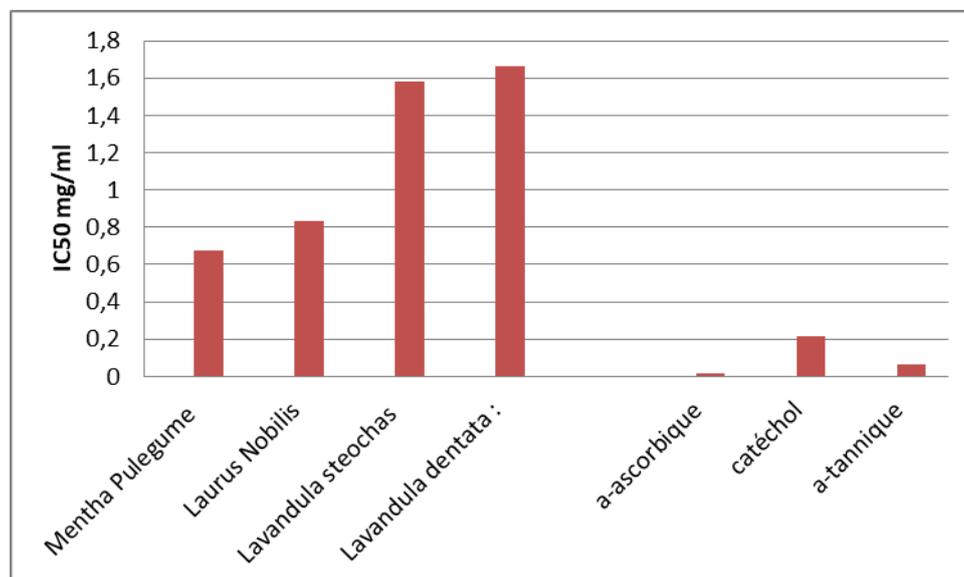


Figure 46 : représentation graphique des IC50 des HEs et les témoins.

Sur la base de ce test, nos quatre HEs ont montrés des différences significatives dans leur capacité de piégeage du radical libre (**figure 46**). Les HEs *M.pulegium* et *L.nobilis* étaient les plus actives et pouvaient ramener le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) violet en diphényl-picrylhydrazine jaune avec des IC50 de 0.6739 mg/ml et de 0.8356 mg/ml, respectivement. Les HEs de *L.stoechas* et *L.dentata* étaient les moins actives avec des IC50 respectifs de 1.5802 mg/ml et 1.6607 mg/ml. Lorsque l'activité anti-oxydante des huiles est comparée à celle des substances de référence (a-ascorbique, catéchol et a-tannique) toutes les HEs étaient trouvées moins efficaces.

L'a-ascorbique, catéchol et a-tannique présentent des IC50 très inférieure de 0.018 mg/ml, 0.218 mg/ml et 0.0615 mg/ml respectivement.

L'activité anti-oxydante est attribuée à la composition chimique des huiles essentielles. Cependant, elle peut être due à l'un des constituants majoritaires ou à d'autres constituants minoritaires ou également à une synergie entre eux (**Wang et al., 2008**)

D'après (**Amira OUIBRAHIM et al.,2015**) l'huile essentielle de *L.nobilis* testée issue de la région d'El Kala a manifesté un potentiel antioxydant modeste avec les trois méthodes : la décoloration du β -carotène avec un taux de 41,97%, test de DPPH avec l'IC50 $1,55\pm 0,02$ mg/ml et l'activité réductrice du fer de l'huile essentielle a montré une activité réductrice modérée avec une de 0.432 à la concentration 0.5 mg/ml .

HE de *L.nobilis* contient des monoterpènes à des taux assez élevés. Dans une étude antérieure, les huiles avec une prédominance monoterpénique ont montré une activité assez modeste (**Gachkar et al., 2007**). **Ruberto et Barata, (2000)** ont attribué le modeste potentiel antioxydant de l'HE de *L. nobilis*, à la présence de monoterpènes oxygénés dont le 1,8-cinéole, ce dernier a été considéré comme un faible antioxydant avec un IC50 assez élevé 9,360 mg/ml.

L'activité anti-oxydante des huiles essentielles de *M. pulegium* étudiée, peut être attribuée à sa composition chimique (**Ruberto et Baratta, 2000**).

Les résultats obtenus par **Hajlaoui et al.,(2009)** qui ont montré que l'huile essentielle de *M. pulegium* L du Tunisie a une bonne activité anti-oxydante sur le radical DPPH avec IC50=0.01 mg/ml.

Le composé majoritaire de cette huile, le pulégone (61.11%), s'est révélé être un bon antioxydant (**Ruberto et Baratta, 2000**), ceci peut donc expliquer le fort pouvoir antioxydant de cette huile essentielle.

Selon (**Barbara Justus et al., 2018**) l'activité anti-oxydante la plus élevée de l'HE de *L. dentata* obtenue par la méthode DPPH a été testée à la plus forte concentration (20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), ce qui a donné une activité de $5,7 \pm 1,4$ %. Si l'on compare avec les étalons, l'acide gallique et la rutine, ces résultats sont inférieurs aux 96,7 et 97,8 % des étalons, respectivement.

D'après (Mohammedi Z., Atik F, 2012) l'huile de *Lavandula* de la région Oum el AlouTlemcen est dotée d'un pouvoir antioxydant avec une IC50 égale 1.85 mg/ml et reste moins efficace par rapport l'huile essentielles de *L.stoechas* d'Ain Temouchent.

Cette activité peut être entendue à la forte proportion de sesquiterpènes oxygénés (Cherrat, 2013). En outre, la présence du méthyl de l'eugénol peut jouer un rôle important dans les propriétés anti-oxydantes de cette HEs (Ruberto et Baratta, 2000), ce qui peut mener à des résultats variables selon le test employé.

5-Etude de l'activité anti-inflammatoire

Pour mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire in vitro de l'huile essentielle de *L.nobilis*, *M.pulegium*, *L.dentata* et *L.stoechas* deux tests sont réalisés : test d'hémolyse et test de stabilisation membranaire par la chaleur.

L'acide salicylique est utilisé comme un anti-inflammatoire de référence. Les résultats sont montrés dans les tableaux suivants :

5.1- Test de stabilisation membranaire par la chaleur

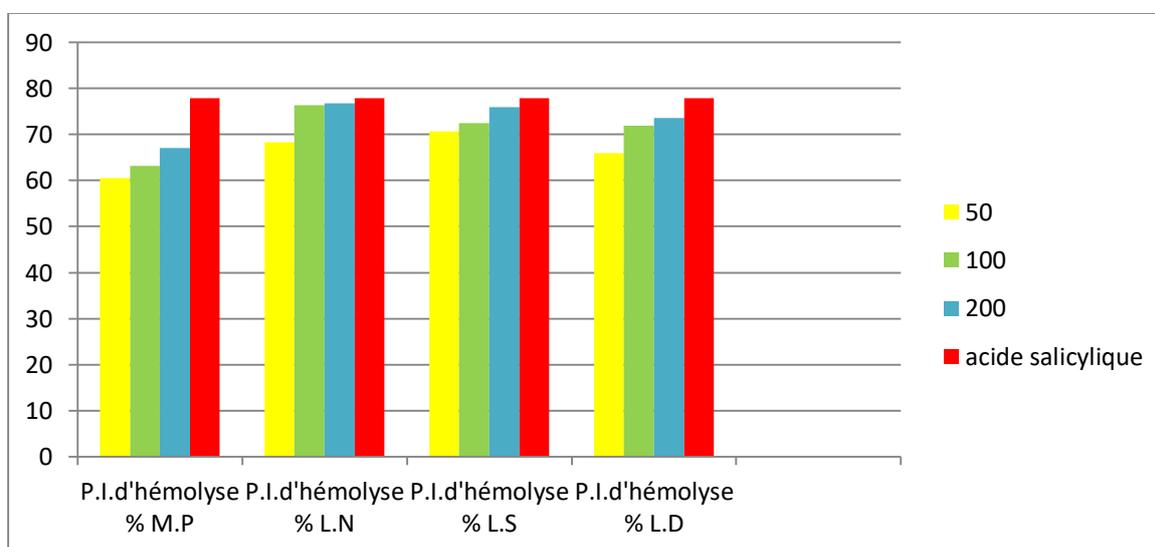


Figure 47: Représentation graphique de l'effet des huiles essentielles contre l'hémolyse des membranes érythrocytaires, induit dans la solution hypotonique.

D'après les données de la figure 47, toutes les huiles essentielles à tester inhibent la lyse de la membrane érythrocytaire induite dans la solution hypotonique avec des pourcentages d'inhibition intéressamment élevés de 70.61 % à 86.8 %. Nous constatant que lorsque la concentration augmente, la vitesse d'hémolyse diminue et la protection des membranes

augmente. Dans les mêmes conditions l'effet de l'acide salicylique a montré un effet supérieur par rapport les huiles avec un pourcentage égale 87.93 %. Les résultats de pourcentage d'inhibitions des huiles essentielles sont rapprochés au résultat de l'acide salicylique.

5.2- Test d'hémolyse

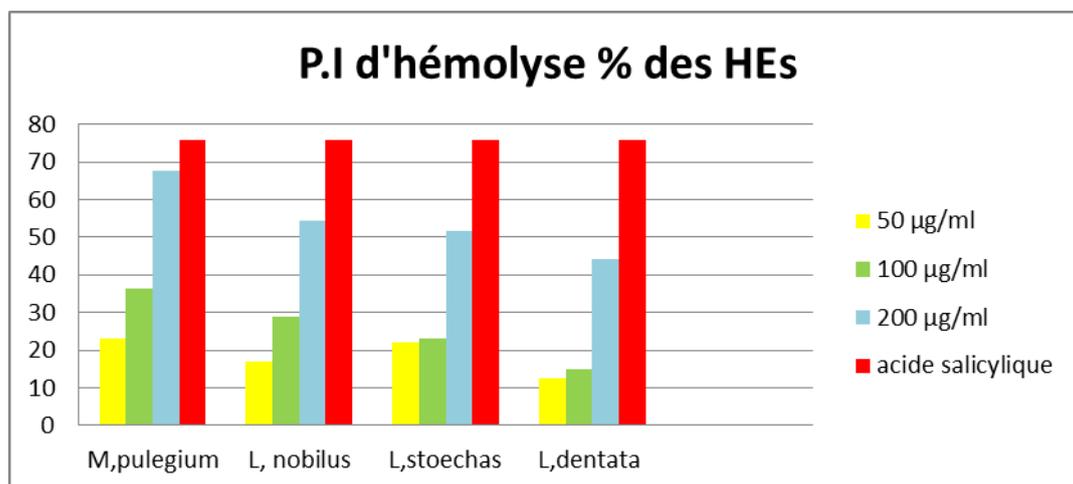


Figure 48 : Représentation graphique de l'effet des huiles essentielles contre l'hémolyse des membranes érythrocytaires, induit dans la chaleur.

D'après les données de **la figure48**, toutes les huiles essentielles à tester montre une activité anti-inflammatoire importante qui protégé les membranes érythrocytaires contre l'hémolyse induite dans la chaleur, avec des pourcentages d'inhibition moyens de 12.43% à 67.79 %. Nous constatant que lorsque la concentration augmente, la vitesse d'hémolyse diminue et la protection des membranes augmente. Dans les mêmes conditions l'acide salicylique a montré un effet également supérieur par rapport les huiles avec un pourcentage égale 75.82 %. Les résultats de pourcentage d'inhibitions des huiles essentielles sont rapprochés au résultat de l'acide salicylique.

Dans la réponse inflammatoire, il y a une augmentation de la perméabilité des cellules de la muqueuse endothéliale et afflux de leucocytes sanguins dans l'interstitium, éclatement oxydatif et libération de cytokines [interleukines et facteur de nécrose tumorale - α (TNF- α)]. Dans le même temps, il y a également une induction de la de plusieurs enzymes (oxygénases, synthases d'oxyde nitrique, peroxydases) ainsi que l'activité le métabolisme de l'acide arachidonique. Dans le processus inflammatoire, il y a également l'expression de l'acide arachidonique cellulaire. Les molécules d'adhésion, telles que la molécule d'adhésion intercellulaire (ICAM) et l'adhésion des cellules vasculaires molécule (VCAM) (**Gomes et**

al., 2008). Outre la capacité de certaines huiles essentielles à éliminer les radicaux libres, il existe également des preuves que certaines huiles essentielles possèdent une activité anti-inflammatoire.

Selon (Loukhaoukha, R et Saidi, F, 2017) les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de *L. stoechas* est riche en composés bioactifs (monoterpènes oxygénés) qui est responsable de l'activité anti-inflammatoire. Ces résultats indiquent que l'effet de l'HE de *L. stoechas* est proportionnel à la dose. Cependant, l'HE de *L. stoechas* a des propriétés anti-inflammatoires nettement plus faibles que celles du diclofénac.

Les résultats de (Guerfa et Ounaissia, 2015) qui ont étudié l'activité anti-inflammatoire par le test d'hémolyse ou la stabilité membranaire et le test de dénaturation protéique, les deux huiles d'*Origanum vulgare* et *Thymus vulgaris* ont montré un effet positif qui semble être complètement absent avec l'huile d'*Artemisia herbaealba* et *Mentha pulegium*.

Plusieurs enzymes, comme la lipoxigénase ou l'hyaluronidase, sont impliquées dans le développement de l'inflammation (Werz & Steinhilber, 2006; Gautam & Jachak, 2009). La lipoxigénase peut être rencontrée dans les cellules et les organes. Le métabolisme des acides gras polyinsaturés (AGPI) dans le corps humain par la lipoxigénase cause la formation de leucotriènes (Vane & Botting, 1987). Ces enzymes sont aussi impliquées dans la biosynthèse de médiateurs de lipides inflammatoires, comme les prostaglandines, et leur inhibition est considérée comme un des objectifs de la prévention de maladies dont les développements sont liés au stress oxydatif et aux inflammations (Dzoyem & Eloff, 2015).

D'autres exemples sur l'activité inhibitrice de la lipoxigénase incluant les huiles essentielles de plusieurs espèces du genre *Salvia* du sud d'Afrique dont Kamatou et al. (2006) l'attribue à la présence de 1,8-cineole, α -pinène et β -caryophyllène présentes dans les huiles essentielles.

D'autres études réalisées par (Bagora Bayala, 2014) sur quelques plantes médicinales de la famille Lamiaceae qui ont montré une activité anti-inflammatoire par l'inhibition de la peroxygénase. Cette activité est justifiée par l'action du composé hydrocarboné sesquiterpène *Ocimum americanum* Linnæus, *Ocimum basilicum* Linnæus, *Hyptis spicigera* Lamarck. En effet, plusieurs études ont montré l'effet anti-inflammatoire des sesquiterpènes (Cengiz et al., 2011).

Le thymol est le principal composant de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*, et a reçu une attention en raison de son activité anti-inflammatoire (**Dewhirst FE: 1980– Youdim KA, Deans SG 1999**)

Selon (**Chien-Tsong Lin., et al 2008**) le mécanisme exact de l'activité anti-inflammatoire des huiles essentielles utilisées dans la présente étude n'est pas clair. Cependant, d'autres chercheurs ont rapporté que l'huile essentielle de fruit de *Cinnamomum insularimontanum* Hayata de la famille lauraceae a été analysée par GC/MS et son composé dominant le citral (35.89%) ont montré activité inhibitrice significative de la production de NO, cet étude a révélé que Citral inhibait le TNF- α dans les cellules RAW 264.7 stimulées par le lipopolysaccharide.

Si certaines huiles essentielles sont capables d'inhiber la production de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α , certains d'entre eux, leurs principaux composants (Citral, géraniol, citronellol et carvone), peuvent également supprimer les réponses d'adhérence des neutrophiles induites par le TNF- α (**Abe S., et al 2003**).

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source potentielle de principes actifs, comme les huiles essentielles, ayant des propriétés thérapeutiques et couvrant différents champs d'activités biologiques. L'utilisation excessive des plantes médicinales a contribué à un épuisement important de cette source naturelle et l'établissement de stratégies pour leurs productions et leurs conservations est indispensable.

Ce travail a pour objectif de contribuer à une meilleure gestion et protection de l'environnement et de chercher de nouveaux principes actifs afin de valoriser des ressources végétales aromatiques (huiles essentielles) utilisées en médecine traditionnelle en Algérie et s'inscrit dans une démarche de développement durable.

Nous avons pour cela sélectionné quatre plantes aromatiques médicinales utilisées par les populations dans le traitement de divers pathologies : *Lauris nobilus* ; *Mentha pulegium* ; *Lavandula dentata* ; *Lavandula stoechas*, et mettre en évidence leurs propriétés antimicrobiennes ; anti-oxydantes et anti-inflammatoire.

Les huiles essentielles issues de la partie aérienne des plantes étudiées, ont été extraites par hydrodistillation à l'aide d'un hydrodistillateur de type Clevenger.

Selon nos résultats, nous avons conclu que l'huile essentielle de *M.pulegium* et *L. stoechasa* enregistré un rendement élevé 1.725% et 1.58% respectivement par rapport *L.dentata* et *L.nobilus* ont un faible rendement avec 0.4% et 0.312 % respectivement. Ainsi que les huiles essentielles étudiées présentent des propriétés antimicrobiennes intéressantes contre *S.aureus* ATCC25922 ; *S.aureus* ATCC43300 ; *E.coli* ; *P.aeruginosa* et *C.albicans*. D'après les résultats des CMF toutes les espèces étudiées peuvent être considéré comme des fongicides contre *C.albicans*. La combinaison des huiles essentielles avec les antibiotiques a montré un large spectre d'inhibition par rapport l'action des antibiotiques seuls. Les mêmes résultats obtenus pour l'association des huiles essentielles qui va augmenter les zones d'inhibitions, un meilleur pouvoir inhibiteur obtenu est contre *P.aeruginosa* pour le mélange de l'huile de *M.pulegium* et *L.stoechas* (32mm) et de *L.denata* avec *L.stoechas* (30mm).

Nous pouvons dire aussi que huiles essentielles des espèces étudiées ont une bonne activité anti-oxydante et une capacité de piégeage de radicaux libres. Les HEs de *M.pulegium* et *L.nobilus* étaient les plus actives avec des IC50 égalent 0.6739 mg/ml et de 0.8356 mg/ml, respectivement, et pour les HEs de *L.stoechas* et *L.dentata* étaient les moins actives avec des IC50 respectifs de 1.5802 mg/ml et 1.6607 mg/ml, mais elles sont moins efficaces par rapport

des substances de référence (a-ascorbique $IC_{50}= 0.018$ mg/ml, catéchol $IC_{50} = 0.218$ mg/ml et a-tannique $IC_{50}= 0.0615$ mg/ml). Les plantes aromatiques et médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médicale.

Le pouvoir anti-inflammatoire étudié en utilisant la méthode de la stabilisation membranaire des érythrocytes, a montré des propriétés anti-inflammatoires assez importantes de nos huiles essentielles, semblable à celle de l'acide salicylique.

Ces résultats restent préliminaires et nécessitent des études complémentaires approfondies à différents niveaux de l'approche par d'autres techniques d'extraction et d'autres analyses. Les activités antimicrobiennes et anti-oxydantes et anti-inflammatoires doivent être évaluées dans d'autres systèmes in vitro (cellulaires et enzymatiques) comme in vivo afin de mieux cerner les interactions moléculaires de ces huiles vis-à-vis de leurs cibles.

Références bibliographiques

« A »

Abdel,H. *Biosystématique végétale*. **2003**, INA El-Harrach, 1-17

Abe S, Maruyama N, Hayama K, et al. Suppression of tumor necrosis factor-alpha-induced neutrophil adherence responses by essential oils. *Mediators of Inflammation*. **2003**;12(6):323–328

Aghel,N.; Yamini,Y.; Hhadjiakhoondi,A.; Pourmortazavi,S.M. *Talanta*. **2004**, 62,407-411

Agnihotri V.K., Agarwal S.G., Dhar P.L.,Thappa Baleshwar R.K., Kapahi B.K., Saxena R.K. & Qazi G.N., 2005. Essential oil composition of *Mentha pulegium L.* growing wild in the north-western Himalayas India.*Flavour Frag. J.* **20**: 607–610.

Aissani, F. (2015). Analyse sensorielle de la viande bovine additionnée aux huiles

Allaby, M. (1992).The Concise Oxford Dictionary of Botany, Oxford University Press.

Al-Reza, S.M., Rahman, A., and Kang S.C. Inhibition of plant pathogens in vitro and in Vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum L*: Pesticide biochemistry and Physiology, Vol 96: 86-92, **2010**.

Amira Ouibrahim, Yasmina Tlili-Ait Kaki, Salima Bennadja, Roukaya Mansouri, Sabrina Ait kaki, Samiha Khbizi et Mohamed-Reda Djebar, Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis L.* provenant de la région d'El Kala (Nord–Est Algérien), *Algerian J. Nat. Products*, 3:3 (**2015**) 209-216.

Association française de normalisation (AFNOR), 2000. Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles ». Tome 2 : Monographie relative aux huiles essentielles. Ed. AFNOR, Paris.

« B »

Baba Aissa F. (2011)Encyclopedie Des Plantes Utiles. Elmarifa, Beo Alger. 496p.

BAGA, CHATTOPADHAY RR. (2015). Evaluation of Synergistic Antibacterial and Antioxidant Efficacy of Essential Oils of Spices and Herbs in Combination.10(7):e0131321.

Bagora Bayala. Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti prolifératives et antimigratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes. Sciences agricoles. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II; Université de Ouagadougou (Burkina-Faso), **2014.** Français. NNT : 2014CLF22502. tel-01166321

Bakkali, F. Averbeck, S. Averbeck, D. Idaomar M.(2008). Biological effects of essential oils – A. review. Food and Chemical toxicology, 46, 446-475.

Barbara Justus¹, Valter Paes de Almeida¹, Melissa Marques Gonçalves², Daniele Priscila da Silva Fardin de Assunção¹, Debora Maria Borsato¹, Andres Fernando Montenegro Arana¹, Beatriz Helena Lameiro Noronha Sales Maia², Josiane de Fátima Padilha de Paula¹, Jane Manfron Budell¹, Paulo Vitor Farago¹. Chemical Composition and Biological Activities of The Essential Oil And Anatomical Markers Of *Lavandula Dentata* L. Cultivated In Brazil. Braz. Arch. Biol. Technol. v.61: e18180111 **2018**

Beidjord, A. (2015). Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*Ammoides Verticillata* de la région de Tlemcen

Belghazi,L.; Lahlou,N.; Alaoui,I.M. ; Aboussaouira,T. ; Habti,N. ; Tantaoui,I.A. ; Talbi,M. ; Blaghen,M. ;Fellat- Zarrouck,K. extraction et analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de la Menthe pouliot test antifongique. *Biochimie et santé*, **2002**,40-38

Beloued A. (2005) Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires. Alger. Pp : 124.

Beloued, A. *Plantes médicinales d'Algérie*. 1998, OPU, Alger, 270

Ben Abdelkader T., (2012). Biodiversité, Bioactivité Et Biosynthèse Des Composés Terpéniques Volatiles Des Lavandes Ailles, *Lavandula Stoechas*, Un Complexe D'espèces Méditerranéennes D'intérêt Pharmacologique. Thèse De Doctorat Ens De Kouba, Algérie, P 24-25.

Ben Abdelkader T., (2012). Biodiversité, Bioactivité Et Biosynthèse Des Composés Terpéniques Volatiles Des Lavandes Ailles, *Lavandula Stoechas*, Un Complexe D'espèces Méditerranéennes D'intérêt Pharmacologique. Thèse De Doctorat Ens De Kouba, Algérie, P.135-136

Benayad N., 2008. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Faculté des Sciences Rabat, Maroc

Beniston ,N.T.. *Fleur d'Algerie*. 1985, ENAL, Algérie, 359

Berthier A., 1980 : Epices-aromates leurs huiles essentielles et oléorésines. parfums, cosmétiques, arômes n°34- août/septembre 1980 ; pp 39-44.

Besombes C., (2008) : Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, 289p.

Bettaieb Rebey, I., Bourgou, S., Saidani Tounsi, M., Fauconnier, M. L., & Ksouri, R. (2017). Etude de la composition chimique et de l'activité antioxydante des différents extraits de la Lavande dentée (*Lavandula dentata*). *Journal of New Sciences Agri & Biotech*, 39(2), 2096-2105

Botineau M., 2010. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. pp: 1021-1043

Bouaine, A. (2017). Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles extraites des deux plantes aromatiques et médicinales: Lentisque et Myrte. Master, Faculté des sciences et techniques, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Fès : 44 p

Bouasla, A., Bouasla, I., (2017). Ethnobotanical survey of medicinal plants in northeastern of Algeria. *Phytomedicine*, 7113(17)30122-8. DOI: 10.1016/j.phymed.2017.09.007

Bouchaale Ikram., 2014. Etude comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Laurus nobilis* de deux régions (Algérie et Tunisie). 56-64

Bouchikhi tani, Z. (2011). Lutte contre la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae) et la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera, Tineidae) par des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles. 189p.

Bouhaddouda N., 2015: Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium* these , Université Badji Mokhtar-Annaba , 205p

Bouhaddouda Nabila., 2015. Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. 119-120

Bourrain J. L. Allergies aux huiles essentielles: aspects pratiques. *Revue Française d'Allergologie* 2013:53, 30-2.

Bouzouita, N., Kachouri, F., Hamdi, M., Chaabouni, M., Aissa, R. B., Zgoulli, S. et Lognay, G.C. (2005). Volatile constituents and antimicrobial activity of *Lavandula stoechas* L. oil from Tunisia. *Journal of Essential Oil Research*, 17(5): 584-586

Brahimi, H., A. Merzouk, et al. (2018). "Effets antimicrobiens des extraits de romarin (*Rosmarinus officinalis*) chez *Staphylococcus aureus*."

Bremness, L. *Plantes aromatiques et médicinales*. 2001, BORDAS, France, 303

Bruneton J. 1999. Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. 3^{ème} éd. Paris :

Brunneton J., 1993 : Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. Edition.

Buchbauer G., Lang G. (2012). A review on recent research results (2008-2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. *Flavour and Fragrance Journal*, 1(27) : 13-39.

Burt S (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94: 223-253

Burt S. A.; Reinders R. D. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Lett. Appl. Microbiol.* 36(3),162-7.

« C »

Carson C.F. & Riley T.V., 1995. « Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* » *J. Appl Bacteriol*, 78(3): 264-269.

Carson CF, Hammer KA, Riley TV (2006) *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin.Microbiol. Rev.* 19: 50-62

Cengiz, S., Cavas, L., Yurdakoc, K., Pohnert, G., 2011. The sesquiterpene caulerpenyne from *Caulerpa* spp. is a lipoxygenase inhibitor. *Mar. Biotechnol. N. Y.* N 13, 321–326. doi:10.1007/s10126-010-9303-1

Chabrier J-Y. *Plantes Médicinales et Formes d'utilisation en phytothérapie.* Université Henri Poincare-Nancy. 2010

Chang S.T., Wang S.Y. et Chen P.F. (2005). Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against wood decay fungi. *Bioresource Technology*, 96 : 813-818.

Chao, L. K., Hua, K. F., Hsu, H. Y., Cheng, S. S., Liu, J. Y., & Chang, S. T. (2005). Study on the anti-inflammatory activity of essential oil from leaves of *Cinnamomum mosmophloeum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 7274–7278.

Chebaibi A., Marouf Z., Rhazi-Filali F., Fahim M. et Ed-dra A. (2016). Evaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie.*, 6(14): 355-362

Chebli, B.; Mohamed, A.; L. M. Idrissi Hassani. ; Mouhamed, H. *Journal of Ethnopharmacology*. 2003, 89, 165-169

Chemloul, F. (2014). Etude De L'activité Antibactérienne De L'huile Essentielle De *Lavandula officinalis* de La Région De Tlemcen. Mémoire Pour L'obtention Du Diplôme De Master, Département D'agronomie, Université Abou Beker Belkaid, Tlemcen : 35 p

Cherrat Lamia. 2013 : Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de 5 plantes aromatiques et médicinales du Maroc et évaluation de leurs effets combinés avec des méthodes de conservation alimentaire. Université Abdelmalek Essaadi. Faculté des sciences et techniques- Tanger

Chien-Tsong Lin , Chi-Jung Chen , Ting-Yu Lin , Judia Chen Tung , Sheng-Yang Wang, Anti-inflammation activity of fruit essential oil from *Cinnamomum insularimontanum*. 2008

Chu C. J et Kemper, K. J. (2001). Lavender (*Lavandula* spp.). Longwood Herbari Task Force. p. 32.

Coffi , R. Philippe , E. T. Zannou Boukari Et I. Glitho. 2012. Efficacité Des Composés Métabolites Secondaires Extraits Des Folioles Du Palmier A Huile Contre Les Larves De La Mineuse Des Feuilles, *Coelaenomenodera lameensis* (Coleoptera: Chrysomelidae) Bulletin De La Recherche Agronomique Du Bénin (BRAB) Numéro Spécial Productions Végétales & Animales Et Economie & Sociologie Rurales.

Cosentino S.; Tuberoso C. I. G. (1999). In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett. Appl. Microbiol.* 29(2), 130-5.

Couic-Marinier, F. and A. Lobstein (2013). "Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine." *Actualités pharmaceutiques* 52(525): 18-21.

Cox SD, Mann CM, Markham JL, Bell HC, Gustafson JE, Warmington JR, Wyllie SG (2000) The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J. Appl. Microbiol.* 88: 170-175

Cristani M, D'Arrigo M, Mandalari G, Castelli F, Sarpietro MG, Micieli D, Venuti V, Bisignano G, Saija A, Trombetta D (2007) Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity. *J. Agric. Food Chem.* 55: 6300-6308
de certaines huiles essentielles (mémoire de master)
UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA

« D »

De Souza, E. L., Guerr, N. B., Stamford, T. L. M., & de Oliveira Lima, E. (2006). Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. *Rev. Bras.*

Degrysea A., Delpla I., Voinier M. (2008): Risque et bénéfices possibles des huiles essentielles. Ingénieure du Génie Sanitaire, atelier santé environnement

Delille L., 2007. Les plantes médicinales d'Algérie. Berti Editions, Alger. 240 p.

Demir V., Guhan T., Yagcioglu A.K., Ddegirmencioglu A., (2004) Mathematical modeling and the Determination of some Quality Paramaters of Air-dried Bay leaves. *Biosystems Engineering.* 88 (3) : 325-335

Denys, C., (2013). Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. Springer, Germany. 612p. ISBN 978-1-4614-4310-0

Dewhirst FE: Structure-activity relationship for inhibition of prostaglandin cyclooxygenase by phenolic compounds. *Prostaglandins* **1980**; 20: 209–222.

Diaz-Maroto M.C., Castillo N., Castro-Vazquez L., Gonzalez-Vinas M.A. & Perez-Coello M.S., 2007. Volatile composition and olfactory profile of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) plants. *Flavour Frag. J.* **22**: 114-118.

Dob, T., Dahmane, D., Agli, M. et Chelghoum, C. (2006). Essential Oil Composition of *Lavandula stoechas*. from Algeria. *Pharmaceutical biology*, 44(1) : 60-64.

Dorman H. J. D. ; Deans S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88(2), 308-16.

Dzoyem J. P. & Eloff J. N. (2015). Anti-inflammatory, anticholinesterase and antioxidant activity of leaf extracts of twelve plants used traditionally to alleviate pain and inflammation in South Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, 160: 194–201.
essentielles *Thymus ciliatus* (Zaitra) et *Ammoïdes verticillata* (Nunkha).

« F »

Fadli M, Saad A, Sayadi S, Chevalier J, Mezrioui NE, Pagès JM et Hassani L. (2012). Antibacterial activity of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* essential oils against nosocomial infection – bacteria and their synergistic potential with antibiotics. *Phytomedicine*. 19, 464-471 *Farm*, 87(1), 22-25.

Fernandez X. et Chemat F., 2012: La chimie des huiles essentielles. Ed. Vuibert. p:274

Fiorini C., David B., Fouraste I., Vercauteren J., 1998: Acylated kaempferol glycosides from *Laurus nobilis* leaves. *Phytochemistry*. 47: 821–824.

« G »

Gabriel I., Alleman F., Dufourcq V., Perrin F., Gabarrou J-F- 2013, INRA Productions Animales, 26 (1), 13-24.

Gachkar, L.; Yadegari, D.; Rezaei, M.B.; Taghizadeh, M.; Astaneh, S.A.; Rasooli I. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry* 102 (2007). 898-904.

Gallucci N, Casero C, Oliva M, Zygadlo J et Demo M. (2006). Interaction between terpenes and penicillin on bacterial strains resistant to beta-lactam antibiotics. *Molecular Medicinal Chemistry*. 10, 30-32

Garnero J., 1991. Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed. *Encyclopédie des médecines naturelles*, Paris, France, pp. 2-20. .

Gautam R. & Jachak S. M. (2009).Recent developments in anti-inflammatory natural products. *Med. Res. Rev.*, 29(5): 767–820.

Girre L., (2001). Les Plantes Et Les Médicaments. Delachaux Et Niestle, Paris

Gomes, A.; Fernandes, E.; Lima, J.L.F.C.; Mira, L.; Corvo, M.L. Molecular mechanisms of antiinflammatory activity mediated by flavonoids. *Curr. Med. Chem.* 2008, 15, 1586-1605.

Guerfa Souhila et Ounaissia Nabila 2015.Contribution à l'étude d'activités antioxydante et antiinflammatoire

Guinoiseau, E. (2010). Molécules, antibactérienne issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. *Thèse de Doctorat*, Univ. Corse, Option: Biochimie- Biologie moléculaire ; France ; P50.

« H »

H. MITH, R. DURÉ, V. DELCENSERIE, A. ZHIRI, G. DAUBE, A. CLINQUART, Antimicrobial activities of commercial essential oils and their components against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. *Food Science & Nutrition*, 2 (4) (2014) 403 - 416.

Haddouchi, F. ; Lazouni, H.A. ; Meziane, A. ; Benmansour, A. Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique SCIENCE*. 05(2) (2009). 246 – 259.

Hajlaoui H., Trabelsi N., Noumi E., Snoussi M., Fallah H., Ksouri R., & Bakhrouf A., 2009. Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 25: 2227–2238.

Hajlaoui H., Trabelsi N., Noumi E., Snoussi M., Fallah H., Ksouri R. et Bakhrouf A., 2009: Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Menthapulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 25, 2227-2238.

Halawani E., 2009. Antibacterial Activity of Thymoquinone and Thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and Their Interaction with Some Antibiotics. *Advan. Biol. Res.* 3 (5-6), 148-152.

Hamdani F.Z., Allem R. (2015). Propriétés antifongiques des huiles essentielles des feuilles de Citrus vis-à-vis d'*Alternaria alternata* et *Penicillium* sp in vitro. *Phototherapies*, 3: 1-4

Harbone J.B. 1998. *Phytochemical Methods A Guide To Moderns Techniques Of Plants Analysis*, 3rd Edition. P. 412.

Hayata. Bioresource. Technol., 99(18), 8783-8787 (2008).

Herzi, N. (2013). Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles, INPT.

Heywood V.,(1996)-Flowering Plants Of The World 3 Th Edition, Oxford University Press, Oxford, Pp 141-145-149-152.

Horvathg, Jenei JT, Vagvolgyi C, Boszormenyi A, Krisch J. (2016). Effects of essential oil combinations on pathogenic yeasts and moulds. *Acta Biol Hung.* 67(2):205-14. doi: 10.1556/018.67

Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). « Essential oils in Food preservation: mode of action, synergies, and interactions with Food matrix components. *Front.Microbiol* »

« I »

Imelouane, B., Elbachiri, A., Ankit, M., Benzeid, H., & Khedid, K. (2009). Physico chemical compositions and antimicrobial activity of essential oil of eastern Moroccan *Lavandula dentata*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11(2), 113-118.

Iserin P. (2001) Encyclopédie des plantes médicinales. 2 ème Ed. Larousse. Londres Pp : 143 et 225-226.

« J »

Jean, B. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.): Lavoisier.

JuddWs, Campbell Cs, Kellogg Ea, Stevens P. (2002); Botanique Systématique: Une Perspective Phylogénétique; Ed 1: Deboeck, P. 84-336.

« K »

Kamal OULED TAARABT 1, 2 *, Tayeb KOUSSA 1 et Mohamed NAJIB ALFEDDY 2
Caractéristiques physicochimiques et activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L. au Maroc *Afrique SCIENCE 13(1) (2017) 349 – 359.*

Kamatou G. P. P.; van Zyl R. L.; van Vuuren S. F.; Viljoen A. M.; Figueiredo A. C.; Barroso J. G.; Pedro L. G. & Tilney P. M. (2006). Chemical composition, leaf trichome types and biological activities of the essential oils of four related *Salvia* species indigenous to Southern Africa. *J. Essent. Oil Res.*, 18: 72-79.

Kessbi, A.(2011).Etude des propriétés physicochimique et évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles d'eucalyptus globulus dans la région d'Ouargla. (Master en Génie des Procédés, Univ Kasdi Marbah, Ouargla).

Khadidja LAHRECH Extraction et analyse des huiles essentielles de *Mentha pulegium l.* et de *saccocalyx satureioide*. Tests d'activités antibactériennes et antifongiques(2010) p :88

Kheyer N., Meridja D., Belhamel K., 2014. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. *Algerian Journal of Natural Products*.**2(1):** 18-26.

Khribch, J., S. Nassik, et al. (2018). "Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire." *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires***6(3):** 300-307.

Kivcak B., Mert T., 2002:Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurusnobilis* L.leafextracts. *Fitoterapia*. **73:** 242-243

« L »

Lagunez –Rivera L. (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe ; Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de TOULOUSE ; p. 31-42

Lahrech Khadidja, 2010.Extraction et Analyse des huiles essentielles de *Mentha Puleguim.L* et de *Saccocalyx satureioide* , tests d'activités antimicrobiennes et 82 antifongiques ,Mémoire de Magister spécialité chimie Moléculaire (Analyse ,Modalisation ,synthèse) Université d'Oran ES –sénia

Lahrech, K. (2010). Extraction et analyse des huiles essentielles de *Mentha pulgium L.* et *Saccocalycs satureioide*. Tests d'activité antibactériennes et antifongiques . 121 p.

Lamia Bachiri , Mohamed Bammou, Ghizlane Echchegadda, Jamal Ibijbijen, Lhoussaine El Rhaffari, Zoubida Haloui, Laila Nassiri *European Scientific Journal* July 2017 edition Vol.13, No.21 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 743

Lardry, J.-M. and V. Haberkorn (2007). "L'aromathérapie et les huiles essentielles." Kinésithérapie, la revue 7(61): 14-17.

Lazarin A., Couplan F., (2010). Lavande Aromes Et Bienfaits. Edition Sang De La Terre, P14-15-25-26-96.

Liang, N. and D.D. Kitts, 2014: Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*.**19**(11): p. 19180-19208

Lis-Balshin, M. and Roth, G. (2000). Composition of the essential oils of *Pelargonium odoratissimum*, *P. exstipulatum* and *P. x fragras* (Geraniaceae) and their bioactivity. *Flavour Fragr. J.* 15, 391-394.

Lognay, G.C. (2005). Volatile constituents and antimicrobial activity of *Lavandula stoechas* L. oil from Tunisia. *Journal of Essential Oil Research*, 17(5): 584-586

Loukhaoukha Rahma et Saidi Fairouz. Evaluation of antimicrobial and anti-inflammatory properties of *Lavandula stoechas* l. ESSENTIAL OIL Laboratory of Biotechnologies, Environment and Health - University of Blida 1- Faculty of Nature and Life Sciences Department of Biology and Cellular Physiology, B.P.270, Soumaa road, Blida, Algeria

Lucchesi M. E., (2005) : Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. *Thèse de doctorat*. Université de La Réunion, 72p.

Lucchesi M.E., 2005 : *Extraction Sans Solvaont* Assistée par micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles, thèse doctorat : Université de la Reunion, Faculté des Sciences et Technologies France, p146.

« M »

Mahboubi M. & Haghi G., 2008.Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil.J. Ethnopharmacol. 119: 325–327.

Mandal S, DebMandal M, Pal N.K et Saha K., 2010. Synergistic anti *Staphylococcus aureus* activity of amoxicillin in combination with *Emblica officinalis* and *Nymphae odorata* extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*: 711-714.

Mandal S, Manda MD, Pal NK et Saha K. (2010).Synergistic anti *Staphylococcus aureus* activity of amoxicillin in combination with *Emblica officinalis* et *Nymphae odorata* extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 3, 711-714

Mansouri Nazik., Satrani Badr ., Ghanmi Mohamed ., El ghadraoui Lahsen ., Guedira Abdehamid ., Aafi abderaman.,2001: composition chimique , activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Juniperus communis* du Maroc . *Bulletin de la société royale des sciences de liege* , vol . 80. P.791-805.

Mark,W.,(2009).Applii *TheLinnean Botanical Journal Of The Linnea Society* ».Edition The Linnean Society Of London.P116.

Marmonier A.A, 1990, Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques. *Bactériologie Médicale, techniques usuelles*. DOIN édition, Paris, France, 227-236p

Maurice R. (2014) - Livre Angiospermes Arbres et arbustes feuillus France

Messai.L(s.d.).2011 « Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'Est Algérien. Thèse de doctorat en chimie organique , université de Constantine ».

Michel T. (2011). Nouvelles Méthodologies d'Extraction, de Fractionnement et d'Identification: Application aux Molécules Bioactives de l'Argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse de Doctorat, Chimie Analytique-Phytochimie, Université D'Orléans, France, 288p.

Mohammedi Zohra, Atik Fawzia .Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Laboratoire des Produits Naturels, Université Abou Bakr Belkaid, BP 119, Tlemcen 13000, Algérie.Revue « Nature & Technologie ».*(2012). Pages 34 à 39

Möller K., 2008 : La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Editorial UNICO. 152 P.

Moon H., Rhee MS. (2016).Synergism between carvacrol or thymol increases the antimicrobial efficacy of soy sauce with no sensory impact. *Microbioly Food.* 18,217,35-41.

Moreau B., maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie, 2003.

Mothana, R. A., Alsaid, M. S., Hasoon, S. S., Al-Mosaiyb, N. M., Al-Rehaily, A. J., & Al-Yahya, M. A. (2012). Antimicrobial and antioxidant activities and gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) analysis of the essential oils of *Ajuga bracteosa* Wall. ex Benth. and *Lavandula dentata* L. growing wild in Yemen. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(15), 3066-3071

Mzabri, M., A. Amar, et al. "Effet du stress salin sur la teneur et la composition del'huile essentielle de la Sauge (*Salvia officinalis*)." *Annales des sciences de la santé*1(20): 29-36.

Nait Achour K. (2012). Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'Eucalyptus poussant dans la région de Tizi-Ouzou. Thèse de Magistère. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou ,Algérie.

« N »

Nauciel Cet vildé J.L.2005.Bactériologie médicale vétérinaire ,2emeédition, Paris ,P52.

Nedjai, S.; Nedjai , I. (2017). activité antimicrobienne des huiles essentielles. mémoire de master, département de microbiologie, Université Amira, Bejaia : 64 p.

Nehir El S., Karagozlu N., Karakaya S. and Sahn S., 2014. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils Extracted from *Laurus nobilis* L. Leaves by Using Solvent-Free Microwave and Hydrodistillation. *Food and Nutrition Science*. **5**: 97-106.

Nora Saim, Clifton E. Meloan(1986)-Compounds from leaves of bay (*Laurus nobilis* L.) as repellents for *Tribolium castaneum* (Herbst) when added to wheat flour - Department of Chemistry, Kansas State University, Manhattan, KS 66506, U.S.A. (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022474X8690007X>)

Nouadri, F. Z., S. Remache, et al. (2018). "Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne des produits purifiés synthétisés sur les bases de schiff."

« O »

O.M.S ., 2002 : Organisation Mondiale de la santé (OMS) Rapport sur la médecine traditionnelle : Besoins et

Obeidat,M., Shatnawi,M. , Al-alawi,M., Al-Zu'bi E., Al-Dmoor H., Al-Qudah M.,and El-Qudah I. Antimicrobial activity of crude extracts of some plant leaves: Research Journal of Microbiology, Vol 7: 59-67, **2012**.

Organisation mondiale de la Santé (OMS). (2003). Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales. Genève, Suisse, 96 p

Ottai, M.E.S ; Sayeda, S.A. (2012). Mona, MED. Aust. J. Basic. Appl. Sci. 6 (3). 185-192

Ouamba, J.-M. (1991). Valorisation chimique des plantes aromatiques du Congo: extraction et analyse des huiles essentielles: oximation des aldéhydes naturels. Montpellier 2.

Ouibrahim. A, Tlili-Ait-Kaki. A, Bennadja .S, Amrouni .S, Djahoudi A. G, Djebar M. R., Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. *Afr. J. Microbiol. Res.*, Vol. 7 (42), **(2013)** 4968 – 4973 pp.

Ouis , N. (2015).Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre de fenouil et de persil.(Docteur en chimie organique. Univ,d'Oran 1).

Oussou K.R., Kanko C., Guessenn K.N., Yolou S., Koukoua G., Dosso M., N'guessan Y.T., Figueredo G., Chalchat J.-C, 2004, Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes de Côte d'Ivoire. C. R. Chimie, 7(10-11), 1087-1086p

« P »

Pelt J.M., 2001. Les nouveaux actifs naturels. Ed. Marabout, Paris. pp: 219-124.
potentiel. N° 4. 6 p.Press. 442p.

« Q »

Quézel P. & Santa S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome 2. CNRS. Ed. Paul Le chevalier, Paris. **Guignard J.L., & Dupont F., 2004.** Botanique : Systématique moléculaire, 13 ème éd. Ed. Masson, Paris. 237 p§§§§

Quezel P. Et Santa S.(1962) - Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales .Ed C.N.R.S. Tome I. 565 p.

« R »

Reda DJEBAR, Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. provenant de la région d'El Kala (Nord-Est Algérien), *Algerian J. Nat. Products*, 3:3 (2015) 209-216.

Reis,V.E.M.C.; Coelho,J.A.P. and Palavra,A.M.F. *Flavour Fragr. Journal.* **1999**, 14,156-160

Reyes-Jurado F., Lopez-Malo A., Palou E. (2016).Antimicrobial Activity of Individual and Combined Essential Oils against Food borne Pathogenic Bacteria. *Food Pro.* 79(2): 309-15.

Rosato A, Piarulli M, Corbo F, Muraglia M, Carone A, Vitali M E et Vitali C. (2010). In vitro synergistic action of certain combinations of gentamicin and essential oils. *Current Medicinal Chemistry*. 17, 3289-3295

Ruberto G. & Baratta M.T., 2000: Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem*. 69: 167–174

« S »

Saadi, F., H. Adjir, et al. (2018). "Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de deux plantes médicinales locales: *Thymus munbyanus* Bioss. & Reut. & *Rosmarinus officinalis* L."

Scharf DH, Heinekamp T, Brakhage A.2014. Human And Plant Fungal Pathogens: The Role Of Secondary Metabolites. *Plos Pathog* 10:E1003859. <https://doi.org/10.1371/Journal.Ppat.1003859>

Segal E.2005.*Candida*, still number one –what do we know and where are going from there. *Mycoses* 48Suppl1,3-11.

Sharififar, F. ;Moshafi M.H. ; Mansouri , S.H. ; Khodashenas, M. *Food Control* 2007;18,800-805

Shinde, U., Phadke, A., Nair, A., Mungantiwar, A., Dikshit, V., & Saraf, M. (1999). Membrane stabilizing activity—a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil. *Fitoterapia*, 70(3), 251-257.

Shobana, S., & Vidhya, R. (2016).Evaluation of in vitro hemolytic activity of different parts of *Abutilon indicum* (linn.). *World J Pharm Pharm Sci*, 5, 1182-1196.

Sikkema J, de Bont JAM, Poolman B (1994) Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem*. 269: 8022-8028

Soualeh, N. and R. Soulimani (2016)."Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts." *Phytothérapie* 14(1): 44-57

Suffredini, J. B., Sader, H. S., Goncalves, A. G., Reis, A. O., Gales, A. C., Varella, A. D., et al. (2004). Screening of antimicrobial extracts from plants native to the Brazilian Amazon rainforest and Atlantic forest. *Brazil. J.Med. Biol. Res* , 37, pp. 379-384

Svoboda, K.P., Hampson, J.B., Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Ed: Plant Biology Department, **1999**.

« T »

T.J,Vander-Jagt.;R,Ghattas.;D.J,Vander.;M,Crossey.;R.H,Glem. *Life science.*,**2002**,70, 1035-1040

Talbi,M. ; Blaghen,M. ;Fellat- Zarrouck,K. extraction et analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de la Menthe pouliot test antifongique. *Biochimie et santé*, **2002**,40-38

Tantaoui-Elaraki A., Ferhout H & Errifi A. 1993. « Composition and antimicrobial activity of the essential oils of Thymus », TEC&DOC et IME Editions Technique et documentaire, 3eme édition. 484, 489, 548, 555,634 p.

Teisseire P.J., 1991.Chimie des substances odorantes. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

Tiachadine, W. et Mendil, M. (2017). Caractérisation phytochimique de parite aérienne et des huiles essentielles de *Lavandula stoechas L.* (Lamiaceae) de la région de Timezrit (Boumerdes). Diplôme de Master, Département de biologie, Université M'hamed Bougara, Boumerdes : 44 p

Toroglu S., 2011. *In-vitro* antimicrobial activity and synergistic/antagonistic effect of interactions between antibiotics and some spice essential oils. *Journal of Environmental Biology.* **32** (1), 23-29.

Touati, B., Chograni, H., Hassen, I., Boussaïd, M., Toumi, L., & Brahim, N. B. (2011). Chemical composition of the leaf and flower essential oils of Tunisian *Lavandula dentata* (Lamiaceae). *Chemistry & Biodiversity*, 8(8), 1560-1569.

« U »

Ultee A, Bennik MH, Moezelaar R (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 1561-1568

Upson, T. et Andrews, S. (2004). *The genus Lavandula*. Portland and Oregon, USA: Timber

« V »

Vane J. & Botting R. (1987). Inflammation and the mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *FASEB J.*, 1(2): 89–96

Vidijasagar G.M., Nuzhat T. (2013). Antifungal investigation on plant essential oils. A review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 2(5) : 19-28.

Vigan, M. (2010). "Essential oils: renewal of interest and toxicity." *European Journal of Dermatology* 20(6): 685.

« W »

Wang, W.; Wu, N.; Zu, Y.G.; Fu, Y.J., Antioxidant activity of *Rosmarinus officinalis* L oil compared to its main compounds. *Food chemistry* 108 (3) (2008). 1019-1022.

Werz, O. & Steinhilber, D., (2006). Therapeutic options for 5-lipoxygenase inhibitors. *Pharmacol. Ther.* 112, 701–718.

WHO Media Centre (2002). Résistance aux Antimicrobiens. Aide-mémoire N°194. OMS/Genève.

Wink M., 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*. **64**: 3–19.

« **Y** »

Yann, G. (2010). Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula* : Aspects évolutifs et physiologiques. Thèse de Doctorat, Département des sciences, ingénierie et santé, Université de Saint-Etienne- Jean-Monnet Jean-Monnet : 253 p .

Youdim KA, Deans SG: Beneficial effects of thyme oil on age-related changes in the phospholipid C20 and C22 polyunsaturated fatty acid composition of various rat tissues. *Biochim Biophys Acta* **1999**; 1438: 140–146

« **Z** »

Zargari A., 1990. Herbal Medicines. Publication of Tehran University, Iran. pp: 14-18.

Résumé

Les plantes aromatiques sont des sources inépuisables de substances naturelles douées de propriétés biologiques présentant un intérêt réel. Dans notre étude les huiles essentielles de quatre plantes médicinales provenant de la région Ain Temouchent, et qui sont : *Lauris nobilis* ; *Mentha pulegium* ; *Lavandula dentata* et *Lavandula stoechas* ont été comparées et analysées ces propriétés biologiques in vitro. La comparaison a été effectuée en termes de rendement, d'activité antimicrobienne, anti-oxydante et anti-inflammatoire de ces huiles essentielles.

Ces huiles essentielles extraites par hydrodistillation à l'aide d'un appareil du type Clenvenger. Le rendement en huile essentielle le plus élevé a été obtenu chez *M.pulegium* (1.725%), *L.stoechas* (1.58%), *L.dentata* (0.4%), *L.nobilis* (0.312%).

La capacité des huiles essentielles à inhiber les micro-organismes a été testée sur quatre souches bactériennes *S.aureus* ATCC43300 ; *S.aureus* ATCC 25922 ; *E.coli* ; *P.areoginosa* et une souche fongique *C.albicans* par la méthode d'aromatogramme. L'activité antibactérienne s'est révélée variable selon la nature de la souche et de l'huile essentielle les zones d'inhibition de *L.nobilis* est entre [07-21 mm] ; *M.pulegium* [10-21 mm] ; *L.dentata* [12-20 mm] et *L.stoechas* [09-20 mm]. L'activité antifongique a été détectée chez toutes les huiles essentielles étudiées et la valeur la plus élevée a été repérée chez *M.pulegium* et considéré comme un bon fongicide. Des interactions synergétiques est aussi étudiées entre les quatre HEs, avec quelques antibiotiques. Cette combinaison permet d'augmenter les zones d'inhibition de quelques souches bactérienne qui ont présenté une résistance vers les antibiotiques testés seuls. Et évaluation de l'association entre les HEs a été effectués et donné des interactions antagonistes et synergiques contre les souches étudiées.

L'activité anti-oxydante des HEs testées a été évaluée par un test DPPH. Parmi les HEs à tester l'huile essentielle de *M.pulegium* avoir le pouvoir antioxydant le plus haut avec IC50 (0.6739mg/ml) et qui inférieur par rapport à l'antioxydant de référence, l'acide ascorbique (0.018 mg/ml) les IC50 des autres huiles essentielles *L.nobilis* (0.8356 mg/ml) *L.stoechas* (1.5802 mg/ml) *L.dentata* (1.6607mg/ml). En revanche, l'activité anti-inflammatoire étudiée en utilisant la méthode de la stabilisation membranaire des érythrocytes, a montré des propriétés anti-inflammatoires intéressantes de nos huiles essentielles, semblable à celle de l'acide salicylique.

Mot clés: huile essentielle ; *Lauris nobilis* ; *Mentha pulegium* ; *Lavandula dentata* ; *Lavandula stoechas* ; test DPPH.

Abstract

Aromatic plants are inexhaustible sources of natural substances endowed with biological properties of real interest. In our study the essential oils of four medicinal plants from the region Ain Temouchent, and which are: *Lauris nobilis*; *Mentha pulegium*; *Lavandula dentata* and *Lavandula stoechas* were compared and analyzed these biological properties in vitro. The comparison was made in terms of yield, antimicrobial, anti-oxidant and anti-inflammatory activity of these essential oils. These essential oils were extracted by hydrodistillation using a Clenvenger type apparatus. The highest yield of essential oil was obtained in *M.pulegium* (1.725%), *L.stoechas* (1.58%), *L.dentata*(0.4%), *L.nobilis* (0.312%). The ability of essential oils to inhibit microorganisms was tested on four bacterial strains *S.aureus* ATCC43300; *S.aureus* ATCC 25922; *E.coli*; *P.areoginosa* and a fungal strain *C.albicans* by the aromatogram method. The antibacterial activity was found to be variable depending on the nature of the strain and the essential oil. The inhibition zones of *L.nobilis* are between [7-21 mm]; *M.pulegium* [10-21 mm]; *L.dentata* [12-20 mm] and *L.stoechas* [09-20 mm]. Antifungal activity was detected in all essential oils studied and the highest value was found in *M.pulegium* and considered a good fungicide. Synergistic interactions were also studied between the four EO, with some antibiotics. This combination increases the inhibition zones of some bacterial strains that have shown resistance to the antibiotics tested alone. And evaluation of the association between the EO was carried out and gave antagonistic and synergistic interactions against the strains studied. The antioxidant activity of the EO tested was evaluated by a DPPH test. Among the EO tested, the essential oil of *M.pulegium* had the highest antioxidant power with IC50 (0.6739mg/ml) and lower than the reference antioxidant, ascorbic acid (0.018 mg/ml) than the IC50 of the other essential oils *L.nobilis* (0.8356 mg/ml) *L.stoechas*. (1.5802mg/ml) *L.dentata* (1.6607mg/ml). On the other hand, the anti-inflammatory activity studied using the method of erythrocyte membrane stabilization, showed interesting anti-inflammatory properties of our essential oils, similar to that of salicylic acid.

Keywords: essential oil; *Lauris nobilis*; *Mentha pulegium*; *Lavandula dentata*; *Lavandula stoechas*; DPPH test