

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

Université « Dr. Moulay Tahar » de Saida

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire présenté en vue de l'obtention

Du diplôme de Master en: Biologie

Option: Microbiologie Appliquée

Par

AHMIDI Amel BOUAOU DJA Sarah

**Etude de l'effet antimicrobien de quelques huiles
essentielles commercialisées en Algérie**

Soutenu devant le jury composé de :

Président	Mr.Adli .D	MCA	Université de Saida
Examineur	Mr.Benreguieg .M	MCA	Université de Saida
Promoteur	Mr.Ghellai.L	MCA	Université de Saida

2018-2019

Remerciements

Nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenons tout particulièrement à adresser nos plus vifs remerciements, à notre promoteur, Mr GHALLAI, d'avoir accepté de nous encadrer et de nous avoir laissé la liberté nécessaire à l'accomplissement de notre travail, tout en y gardant un œil critique et avisé. Merci pour sa rigueur scientifique, ses conseils ainsi que sa sympathie. Nous le remercions également de nous avoir responsabilisées tout au long de notre travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à Monsieur le Docteur Adli DED et Monsieur le Docteur Benreguiég M D'avoir accepté de faire partie du jury de cette soutenance:

Nous tenons aussi à exprimer notre profonde gratitude aux enseignants de Microbiologie de l'Université Dr Moulay Tahar de SAIDA et en particulier à Mr Gacemí, pour tous les conseils qu'ils nous ont prodigués tout au long de notre cursus.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à Mr FLAMED.

Merci pour tous les gens qui ont contribué de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à ceux qui me sont chers,

A ma chère mère

Aucune dédicace ne serait assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as toujours été le père et la mère, rien au monde ne vaut les efforts fournis jours et nuit pour mon éducation et mon bien être, toute cette abnégation dont tu as fait preuve afin que je devienne ce que je suis, je t'en serai éternellement reconnaissante.

Que Dieu, tout puissant, te préserve et t'accorde la bonne santé, longue vie et bonheur.

A mon frère Amine.

A mes chères soeurs Chaïmaa , fatima et sa fille Ilef.

A ma chère binôme Sarah, et sa famille.

A tous mes amis Majda, Nourhane, Hanaa et Fatima.

*A toute la promotion master II Microbiologie Appliqué
2019.*

AMEL

DEDICACE

Je remercie dieu tout puissant de m'avoir donné santé, courage et patience tout au long de mes études.

C'est avec infiniment plaisir que je dédie ce mémoire aux êtres qui me sont très chers dans cette vie

A la mémoire de mon très cher père dont je regrette son absence en ce jour si important pour moi.

A ma très chère mère. En témoignage de l'amour, du respect et de la gratitude qui je lui porte, je ne la remercierai j'aimais assez pour son soutien, son dévouement sa compréhension et pour l'attention dont elle toujours fait preuve. Elle a fait de moi ce qui je suis aujourd'hui.

À mes deuxième parents qui étaient avec moi « Yousef et Dhaïba », je les remercie de me soutenir dans ma carrière universitaire et de tout ce qui me concerne, tout mon amour et mon respect pour eux.

A mes très chers frères : Mohamed, Réda, Yacine, Mimoun, Khelifa, chaleureusement, ainsi qu'à mes belles sœurs : Asmaa, Zahira, Saliha, Saadia, Kheira.

A mes petits anges : Ratil, Abdllhadi, Oussama, Nacer, Mostapha.

À ma chère amie et ma binôme Amel et sa mère

Enfin, à ma promotion Master II Microbiologie Appliquée 2019.

SARAH

Résumé

L'effet antimicrobien de quatre huiles essentielles commercialisées des plantes aromatiques suivants : *Thymus capitatus*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare* et *Eucalyptus globulus*, a été évalué contre 13 souches microbiennes par la méthode de diffusion en milieu gélosé. L'effet antimicrobien de ces huiles, achetées chez les herboristes de la région de Tlemcen en tant qu'huiles essentielles, a été comparé avec l'effet des mêmes huiles essentielles fournies par le Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire au Biomédical et à l'Environnement (**LMAABE**) provenant d'extraction par hydrodistillation. Ces dernières avaient un effet inhibiteur relatif sur la croissance de toutes les souches microbiennes testées alors que toutes les huiles commercialisées se sont avérées sans aucun effet antimicrobien vis-à-vis de ces souches. A la lumière des résultats obtenus, les huiles commercialisées testées dans cette étude, bien qu'elles soient odorantes et ayant l'aspect des vraies huiles essentielles, ne peuvent être recommandées en tant qu'huiles essentielles.

Mots clés : huiles essentielles commercialisées, effet antibactérien, effet antifongique.

ملخص

تم اختبار فعالية أربع زيوت أساسية متوفرة تجارياً ضد الميكروبات التي تمثلت في: زيت الزعتر، إكليل الجبل، الزعيترة و الكاليتوس. فقد تم اختبارها على 13 سلالة ميكروبية بواسطة طريقة الانتشار في وسط زرع جيلوزي .

تم مقارنة الفعالية الميكروبية لهذه الزيوت، التي تم شراؤها من عند بائعي الأعشاب في منطقة تلمسان على أساس أنها زيوت أساسية، مع الفعالية الميكروبية لنفس الزيوت لكنها مستخلصة بتقنية التقطير المائي (المقدمة من مخبر LAMAABE).

كان لهذه الأخيرة تأثير مثبط نسبياً على نمو جميع السلالات الميكروبية التي تم اختبارها، في حين أثبتت جميع الزيوت التي تم تسويقها أنها بدون أي تأثير مضاد للميكروبات فيما يتعلق بهذه السلالات.

في ضوء النتائج التي تم الحصول عليها بخصوص الزيوت التجارية التي تم اختبارها في هذه الدراسة و على الرغم من أنها عطرة وتبدو وكأنها زيوت أساسية حقيقية ، لا يمكن التوصية بها كزيوت أساسية.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية المسوقة ، التأثير المضاد للبكتيريا ، التأثير المضاد للفطريات

Abstract :

The antimicrobial effect of four commercially available essential oils, *Thymus capitatus*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare* and *Eucalyptus globulus*, was evaluated against 13 microbial strains by the diffusion method in agar medium. The antimicrobial effect of these oils, purchased from herbalists in the Tlemcen area as essential oils, was compared with the effect of the same essential oils (provided by the LAMAABE laboratory) from hydrodistillation extraction. Those essential oils extracted had a relative inhibitory effect on the growth of all the microbial strains tested, whereas all the oils purchased proved to be without any antimicrobial effect with respect to these strains. In light of the results obtained, the commercialized oils tested in this study, although they are odorous and have the appearance of real essential oils, can not be recommended as essential oils.

Key words: purchased essential oils, antibacterial effect, antifungal effect.

Table des matières

Introduction.....	02
-------------------	----

Partie I. Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles

1. Définition	05
2. Historique.....	06
3. Origine des huiles essentielles.....	06
4. Propriétés physiques.....	07
5. Composition chimique... ..	08
6. Mécanisme d'action des huiles essentielles.....	09
7. Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	10
7.1 En pharmacie	10
7.1.1 Activité antimicrobienne.....	10
7.1.2 Activité antifongique.....	10
7.2 En cosmétique	10
7.3 En industries agroalimentaire.....	11
7.4 En agriculture.....	11

Chapitre II : Législation et notions industrielles sur des huiles essentielles

1. Réglementation européenne.....	12
1.1 Les huiles essentielles utilisées comme substances actives de médicaments...12	
1.2 Les huiles essentielles à usage cosmétique.....	13

1.3. Les huiles essentielles à usage alimentaire.....	13
1.3 .1. Les huiles commercialisées pour un usage aromatique.....	13
1.3 .2. Les huiles commercialisées en tant que complément alimentaire.....	14
1.4 Les huiles essentielles à usage biocide.....	14
2. Méthodes d'extractions.....	15
2.1.Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	15
2.2 Extraction par hydrodistillation.....	15
2.3Expression à froid.....	16
2.4 Extraction par solvants organiques.....	16
2.5 Extraction par fluide à l'état supercritique.....	17
2.6 Extraction assistée par micro-onde.....	18
3. Conservation des huiles essentielles.....	18
4. Procédés d'encapsulation.....	19

Partie II. Matériel et Méthodes

1. Lieu d'étude.....	21
2.Matériel biologique.....	21
2.1. Huiles essentielles.....	21
2.1.1. Description générale des plantes aromatiques.....	22
2.1.1.1. <i>Thymus capitatus</i>	22
2.1.1.1.1. Taxinomie.....	22

2.1.1.1.2. Composants majoritaires de l'HE de <i>Thymus</i>	23
2.1.1.2 <i>Rosmarinus officinalis</i>	23
2.1.1.2.1 Taxinomie.....	23
2.1.1.2.2. Composants majoritaires de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus</i>	23
2.1.1.3. <i>Origanum vulgare</i>	24
2.1.1.3.1 Taxinomie.....	24
2.1.1.3.2. Composants majoritaires de l'huile essentielle d' <i>Origanum</i>	24
2.1.1.4. <i>Eucalyptus globulus</i>	25
2.1.1.4.1. Taxinomie.....	25
2.1.1.4.2. Composants majoritaires d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus</i>	26
2.2. Souches microbiennes.....	26
2.2.1. Souches bactériennes.....	26
2.2.2. Souches fongiques.....	26
2.3. Tests préliminaires d'identification.....	27
2.3.1. Souches bactériennes.....	27
2.3.1.1. Examen à l'état frais.....	27
2.3.1.2. Coloration de Gram.....	28
2.3.1.3. Conservation des souches.....	28
2.3.1.4. Test Catalase/ Oxydase.....	28
2.3.2. Souches fongiques.....	29
2.3.2.1. Moisissures.....	29

2.3.2.2. Levures.....	30
3. Evaluation de l'activité antimicrobienne des HE commercialisées.....	29
3.1. Préparation des disques.....	30
3.2. Activité antibactérienne.....	30
3.2.1. Précultures.....	30
3.2.2 Préparation des suspensions bactériennes.....	30
3.2.3. Aromatogramme sur milieu solide.....	31
3.3. Activité antifongique	33
3.3.1. Moisissures.....	33
3.3.1.1. Précultures.....	33
3.3.1.2 .Préparation des suspensions fongiques.....	33
3.3.1.3 Aromatogramme sur milieu solide	33
3.3.2. Levures.....	33
3.3.2.1 Préparation de l'inoculum.....	33

Partie III. Résultats et Discussion

1. Effet antimicrobien des huiles essentielles commercialisées.....	36
1.1. Effet antibactérien des HEs commercialisés.....	37
1.1.1. Effet antibactérien de <i>Thymus Capitatus</i>	37
1.1.2. Effet antibactérien de <i>Rosmarinus officinalis</i>	38
1.1.3. Effet antibactérien d' <i>Origanum vulgare</i>	39
1.1.4. Effet antibactérien d' <i>Eucalyptus globulus</i>	40

1.2	Activité antifongique des HEs commercialisés.....	41
1.	Moisissure.....	42
1.2.1.1.	Effet antifongique de <i>Thymus Capitatus</i>	43
1.2.1.2.	Effet antifongique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	43
1.2.1.3.	Effet antifongique d' <i>Origanum vulgare</i>	44
1.2.1.4.	Effet antifongique d' <i>Eucalyptus globulus</i>	45
2.	Levure	46
1.2.2.1	Effet antifongique de <i>Thymus Capitatus</i>	47
1.2.2.2.	Effet antifongique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	47
1.2.2.3.	Effet antifongique d' <i>Origanum vulgare</i>	48
1.2.2.4.	Effet antifongique d' <i>Eucalyptus globulus</i>	48
	Conclusion.....	51
	Références	
	Annexes	

Liste des abréviations

HE Huile essentielle

ANSM l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

DGCCRF Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes

CO₂ Le dioxyde de carbone

VMHD Vacuum Microwave Hydrodistillation

CPG- SM Chromatographie en phase gazeuse –spectrométrie de masse

ATCC American Type Culture Collection.

LMAABE Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire au Biomédical et à l'Environnement

C° degré Celcius

% Pourcentage

Na cl Chlorure de sodium

nm nanomètre

PDA Potato Dextrose Agar

MH Muller Hinton

µl microlitre

Cm centimetre

mm millimètres

h heure

E. coli *Escherichia. coli*

P. aeruginosa *Pseudomonas. aeruginosa*

S. aureus *Staphylococcus. aureus*

Sa. thyphimurium *Salmonella. thyphimurium*

L. monocytogenes *Listeria. monocytogenes*

B.cereus *Bacillus. cereus*

C.albicans *Candida. albicans*

Liste des figures

Figure 1 : Principales localisations des sites d'action des constituants des huiles...09 Essentielles	
Figure 2 : Montage d'extraction par entrainement à la vapeur d'eau	15
Figure 3 : Montage d'extraction par Hydro distillation.....	15
Figure 4 : Presse hydraulique pour la méthode d'expression à froid.....	16
Figure 5 : Les différents types d'extraction par solvants volatils.....	17
Figure 6 : Extraction assisté par micro-onde.....	18
Figure 07 : Photographie de <i>Thymus capitatus</i>	22
Figure 08 : Photographie de <i>Rosmarinus officinalis</i>	23
Figure 09 : Photographie d' <i>Origanum vulgare</i>	24
Figure 10 : Photographie des feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i>	25
Figure 11 : Schéma représentatif de l'aromatogramme.....	31
Figure 12 : Etapes de réalisation du test d'activité antibactérienne.....	32
Figure 13 : Observation microscopique à l'état coloré (coloration de Gram) des souches bactériennes testées. Grossissement x100 à immersion.....	36
Figure 14 : effet antibactérien de l'huile essentielle de <i>Thymus capitatus</i>	37
Figure15 : Effet antibactérien de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	38
Figure16 : effet antibactérien de l'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i>	39
Figure 17 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>	40
Figure 18 : Aspect macroscopique et microscopique des souches fongiques testées.	41
Figure 19 : effet antifongique de l'huile essentielle de <i>Thymus capitatus</i>	42
Figure 20 : Effet antifongique de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	43
Figure 21 : Effet antifongique de l'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i>	44
Figure 22 : Activité antifongique de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>	45
Figure 23 : Aspect microscopique des souches fongiques testées (Coloration au bleu de méthylène). Grossissement x40.....	45
Figure 24 : effet antifongique de l'huile essentielle de <i>Thymus capitatus</i>	46
Figure 25 : Effet antifongique de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> ..	47
Figure 26 : Effet antifongique de l'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i>	48
Figure 27 : Activité antifongique de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>	49

Liste des photos

Photo 01 : Méthode de scotch pour l'observation microscopique des moisissures....29

Photo 02 : Culture de *C.albicans* sur milieu Sabouraud.....33

Liste des tableaux


Tableau 01 : Caractéristiques des HEs commercialisées utilisées dans cette étude...21

Tableau 02 : Souches bactériennes utilisées dans cette étude.....26

Tableau 03 : Souches fongiques utilisées dans cette étude.....27

Tableau 04 : Les résultats des tests oxydase / catalase.....29

INTRODUCTION



Introduction

Depuis l'antiquité, et certainement bien avant, les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle et pragmatique pour l'homme. Personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissent, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet il est étonnant

qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique ou des troubles organiques (**Schauenberg et Paris, 2010**).

Après quelques siècles de domination de la synthèse chimique, la pharmacologie, mais aussi la nutrition et l'agroalimentaire redécouvrent les vertus des plantes dites médicinales, Elles sont de plus en plus considérées comme source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**).

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

Une huile essentielle est un produit odorant, de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage . Les végétaux riches en essences se trouvent surtout chez les Conifères, Myrtacées, Labiées, Ombellifères et Rutacées au niveau de différents organes de la plante (**Mautrait et Raoult, 2009**).

Le domaine d'application des huiles essentielles sont diversifiés malgré l'arrivée sur le marché des composés de synthèse ; C'est ainsi qu'elles trouvent de nombreuses applications dans l'industrie chimique et dans le domaine de l'agroalimentaire (condiments, épices,aromatisants,...) et l'aromathérapie (parfumerie, cosmétique et savonnerie) (**Petitjean, 1974**).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), en 2008, 80 % de la population mondiale repose sur la médecine traditionnelle pour leurs soins primaires. (**Pierangeli et al., 2009**). En Algérie, à l'instar de tout autre pays, l'utilisation des produits d'origine naturelle pour le traitement de certaines maladies, en cosmétique ou encore en alimentation culinaire, occupe une place importante dans la culture populaire.

Entre autres, les huiles essentielles de diverses plantes existent sur le marché algérien à des prix très faibles comparativement avec celles d'origine européenne. Ceci est l'une des

raisons pour lesquelles nous nous sommes intéressés à l'étude de l'effet antimicrobien de quelques huiles vendues en Algérie en tant qu'huiles essentielles en provenance d'Egypte.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Partie I : synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles

1. Définition

Les huiles essentielles (essences: huiles volatiles) sont des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation (**Brunton, 1993**).

« Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ». En plus des propriétés thérapeutiques des huiles essentielles à l'extérieur des plantes, il ne faut pas négliger non plus la fonction de ces huiles dans la plante. Toutefois, les parfums émis jouent un rôle attractif pour les insectes pollinisateurs (**Deroin, 1988**).

De plus, en règle générale, les huiles essentielles constituent un moyen de défense naturel contre les insectes prédateurs et les microorganismes. Les substances émises sont dans ce dernier cas appelées «phytoalexines». Ce type de toxine n'est produit qu'en cas d'infection et n'entre donc pas dans la composition d'une huile essentielle provenant d'une plante saine (**Mann, 1987**).

L'utilité des huiles essentielles pour les plantes désertiques, a été rattachée à la conservation d'une humidité indispensable à la vie des plantes. Les vapeurs aromatiques ont pour propriété de saturer l'air autour de la plante, empêchant la température du jour de monter jusqu'à un degré insupportable pour la vie végétale et la nuit de façon excessive, aussi les huiles essentielles constituent une ressource énergétique, facilitant certaines réactions chimiques (**Belaiche, 1979**).

2. Historique

L'utilisation des huiles essentielles remonte à l'Antiquité. Les Égyptiens les utilisaient sous forme de bains aromatiques. Les pharaons les utilisaient pour embaumer les corps des défunts. Les Romains et les Grecs ont aussi eu recours aux huiles essentielles pour leurs bains. À Athènes, au Vème siècle avant JC, lors de la

grande épidémie de peste, Hippocrate utilisait des jarres où brûlaient des fumigations aromatiques afin d'enrayer l'épidémie (**Valnet, 2014**).

Le terme « aromathérapie » vient du latin « *aroma* » qui signifie arôme, odeur agréable de certaines essences naturelles de végétaux, d'essences chimiques ou d'acides volatils et du grec « *therapeia* » qui signifie soin, cure. Le terme « aromathérapie » désigne l'utilisation des plantes afin de traiter des pathologies et d'améliorer sa santé et son bien-être. Il a été utilisé pour la première fois en 1930 par un pharmacien français, René-Maurice Gattefossé.

L'histoire raconte que René-Maurice Gattefossé se serait brûlé les mains, le visage et les avant-bras dans son laboratoire et qu'il aurait eu le réflexe de plonger sa main dans un récipient rempli d'huile essentielle de lavande vraie (*Lavendula vera*). La douleur se serait dissipée très rapidement et les processus de guérison et de cicatrisation auraient été d'une rapidité étonnante. C'est ainsi que lui est venue l'idée d'étudier les propriétés des huiles essentielles. De nombreux chimistes se sont penchés sur la question : Beauquesne, Cadéac, Caujolle, Cazin, Chamberland, Guyon, Martindale, Sévelinge, Valnet, et beaucoup d'autres.

Dans les années 1960, le Docteur Jean Valnet reprend les travaux de Gattefossé et publie des ouvrages de référence. En 1981, il crée la Société française de phytothérapie et d'aromathérapie, après avoir utilisé abondamment les plantes pendant la guerre d'Indochine en tant que chirurgien militaire (**Amyris, 2008**). C'est en 1975 que Pierre Franchomme, aromatalogue, apporte la notion de « chémotype » ou plus vulgairement la carte d'identité de l'huile essentielle. Le chémotype va définir les propriétés de chaque huile essentielle (**Hurtel, 2006**).

3. Origine des huiles essentielles

Toutes les parties des plantes aromatiques, tous leurs organes végétaux, peuvent contenir de l'huile essentielle.

- les fleurs: oranger, rose, lavande ; le bouton floral (girofle) ou les bractées (ylangylang)
- les feuilles: eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge, aiguilles de pin et sapin
- les organes souterrains: racines (vétiver, angélique), rhizomes (gingembre, acore)
- les fruits: fenouil, anis, épicarpes des Citrus

- les graines : noix de muscade
- le bois et les écorces: cannelle, santal, bois de rose

Les huiles essentielles sont stockées dans des structures cellulaires spécialisées (cellules à huile essentielle, cellules à poils sécréteurs (comme dans la menthe), canaux sécréteurs) et ont vraisemblablement un rôle défensif : protection du bois contre les insectes et les champignons, action répulsive contre les animaux herbivores. La concentration dans les plantes est en général faible, aux alentours de 1 à 2% voire moins, mais il y a des exceptions comme le clou de girofle avec 15% d'huile essentielle ou la noix de muscade, 5-15%.

Parmi les familles végétales les plus productrices d'huiles essentielles, on distingue les labiateae (famille du thym, de la lavande, de la menthe, du basilic), les asteraceae (camomille, absinthe), les myrtaceae (eucalyptus, melaleuca, myrte, girofle), les lauraceae (cannelle laurier). Beaucoup de végétaux contiennent des huiles essentielles ou des substances voisines mais en pratique peu d'espèces sont utilisées (**Hurtel, 2006**).

4. Propriétés physiques

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

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

- Les H.E incolores.
- Les H.E jaunes.
- Les H.E bleues.
- Les H.E vertes brunes ou jaunes verts.
- ✓ Leur point d'ébullition varie de 160°C à 240°C.
- ✓ Leur densité est inférieure à celle de l'eau, varie de 0,75 à 0,99.
- ✓ Elles ont un indice de réfraction élevé.
- ✓ Elles sont très altérables, sensibles à l'oxydation, elles sont donc de conservation limitée.

✓ Dissolves les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels
(**Legrand, 1978**).

5 .Composition chimique

Les cellules végétales sont capables en dehors de la synthèse des composés fondamentaux de la matière vivante (les protéines, les lipides, et les sucres) de Les plantes vertes sont de véritables petites usines chimiques (**Delaveau et al., 1985**). coordonner les multiples réactions chimiques conduisant à l'élaboration des essences (**Garnero, 1991**).

Dans le cas des huiles essentielles seuls sont rencontrés les terpènes les plus volatils c'est-à-dire ceux dont le poids moléculaire n'est pas élevé (**Belaiche, 1979**).

Le nombre des molécules chimiquement différentes qui constituent une huile essentielle est variable (**Belaiche, 1979**). A côté des composés majoritaires (entre 2 et 6 généralement), on retrouve des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces (**Pibiri, 2006**).

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes :

- le groupe de terpénoïdes ;
- le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Bruneton,1999**).

D'après (**Pibiri,2006**), la structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés. Selon (**Maihebiau,1994**), cette structure varie en fonction :

Du nombre d'atomes de carbone qui les constitue :

- Les monoterpènes
- Les sesquiterpènes
- Rarement les diterpènes

Du caractère saturé ou insaturé des liaisons

De leur agencement : linéaire ou cyclique

De la configuration spatiale (forme de chaise, de bateau, de trièdre...)

De la nature des groupes fonctionnels à savoir :

- Terpènes : $R_1-HC=CH-R_2$
- Alcools terpéniques : $R-OH$
- Cétones : R_1-CO-R_2
- Phénols : C_6H_6-OH
- Aldéhydes : $R-CHO$
- Esters : $R_1-COO-R_2$
- Ethers : R_1-O-R_2

6. Mécanisme d'action des huiles essentielles

La structure chimique des constituants des HE conditionne leur mode précis d'action antibactérienne (**Dorman , 2000**).

Compte tenu du nombre de différents groupes de composés chimiques présents dans les HES, il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuée a un mécanisme spécifique mais qu'il y ait plusieurs cibles dans la cellule [(**Carson, 2002**) ;(**Skandamis , 2001**)]. Les principales localisations des sites d'action des constituants des huiles essentielles sont indiquées dans la figure 1.

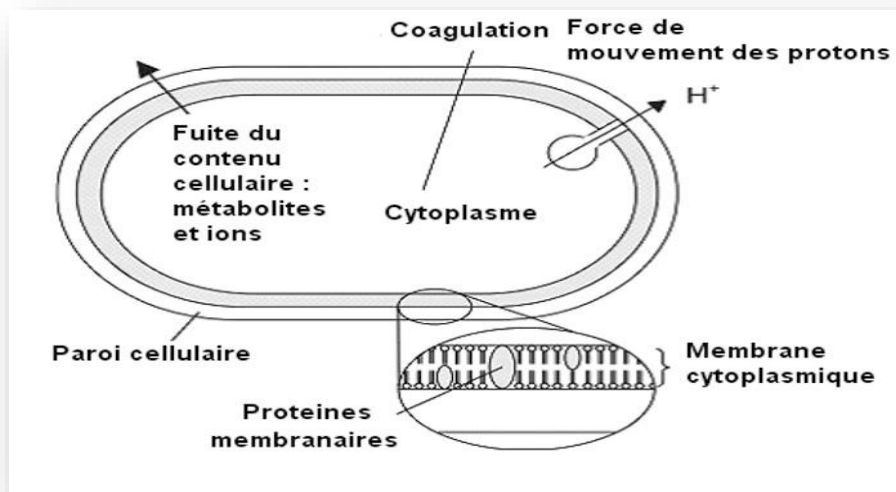


Figure 1 : Principales localisations des sites d'action des constituants des huiles Essentielles (**Burt ,2004**)

7 .Domaines d'utilisation des huiles essentielles

7.1. En pharmacie :

Le contenu des plantes en essence et la nature chimique des constituants leurs confèrent de grandes perspectives d'application, ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médicale et pharmaceutique.

En effet, les huiles essentielles ont un champ d'activité très large, elles inhibent la croissance des bactéries, et des levures (**Duarte et al., 2005**) et également des moisissures(**Koba et al., 2004**), de plus elles sont très efficaces sur les microorganismes résistants aux antibiotiques.

7.1.1. Activité antibactérienne

les plantes n'ont pas un système immunitaire proprement dit qui peut identifier une infection spécifique, leurs propriétés antimicrobiennes sont généralement efficaces contre une large gamme de microorganisme, ces propriétés sont utiles pour les infections chez les humains [(**Remmal, 1993**) ; (**Chami, 2005**) ; (**Caillet et al., 2009**)].

7.1.2. Activité antifongique

le pouvoir antifongique des huiles essentielles des plantes médicinales a été mis en évidence par de nombreux chercheurs contre les champignons pathogènes et opportunistes (**De Bellerbeck, 2002**).

7.2. En cosmétique

Le secteur d'hygiène et l'industrie des cosmétiques sont également des consommateurs, la majorité des produits cosmétiques contiennent une quantité de l'huile essentielle comme élément parfumant et aussi élément assurant une odeur agréable (**Bruneton, 1999**).

7.3. En industries agroalimentaires

Les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées dans la conservation des denrées alimentaires et cela grâce à leur activité antimicrobienne à large spectre sans pour autant dénaturer le goût car ces aromates entrent dans la composition des préparations alimentaires (**Kurita et Koike, 1982**).

7.4. En agriculture

Les pesticides naturels basés, notamment, sur les huiles essentielles représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons [(**Isman, 2000**) ; (**Dayan et al., 2009**)]. Les huiles essentielles sont utilisées comme agent de lutte biologique dans plusieurs cas y compris le cas de niébé infectée par *Callosobruchus maculatus* (**Ilboudo, 2009**).

Chapitre II : Législation et notions industrielles sur des huiles essentielles

1. Réglementation européenne :

La réglementation applicable dépend de l'usage préconisé :

Les huiles essentielles ne doivent pas être présentées sans fonction déterminée. De fait, il incombe au responsable de leur mise sur le marché d'informer les consommateurs sur le mode et les précautions d'emploi (**Article L111-1 ; 2014**). C'est donc la destination (cosmétique, alimentaire, etc.) mentionnée par le fabricant qui détermine la réglementation applicable et par suite les exigences auxquelles le produit doit répondre.

On ne choisit pas une huile essentielle au hasard et il convient d'être attentif à son mode d'emploi. Les huiles essentielles sont en effet très concentrées en éléments chimiques actifs et peuvent présenter certains dangers. L'Union européenne classe certaines d'entre elles comme substances dangereuses et exige, à ce titre, la présence de mentions claires destinées à informer le consommateur (**Reglement (CE) No1223 ; 2009**).

Toute allégation laissant penser qu'une huile essentielle en vente libre pourrait prévenir ou traiter une pathologie est par ailleurs interdite. Elle ferait de l'huile essentielle un médicament par présentation au sens du Code de la santé publique. Certaines huiles essentielles entrent d'ailleurs dans la composition de médicaments.

1.1 Les huiles essentielles utilisées comme substances actives de médicaments :

Le code de la santé publique dispose que les médicaments à base de plantes, c'est-à-dire les médicaments « *dont les substances actives sont exclusivement une ou plusieurs substances végétales ou préparations à base de plantes, ou une association de plusieurs substances végétales ou préparations à base de plante* », peuvent être dispensés d'autorisation de mise sur le marché et être soumis à une simple obligation d'enregistrement auprès de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) (**Article L5121-14-1 ;2011**).

1.2 Les huiles essentielles à usage cosmétique :

Les huiles essentielles sont des ingrédients qui entrent fréquemment dans la composition des parfums et des savons. A ce titre, elles sont considérées comme des ingrédients et la réglementation européenne relative aux cosmétiques ne leur est pas directement applicable (**Règlement (CE) n°1223 ; 2009**).

Néanmoins, certaines huiles essentielles non diluées sont vendues comme produit fini, afin d'être utilisées pour préparer des produits cosmétiques « maison ». Dans ce cas, le règlement « Cosmétiques » peut les inclure seulement si elles sont destinées à « être mis en contact avec les parties superficielles du corps humain ou avec les dents et les muqueuses buccales » et que leur fonction est « exclusivement ou principalement de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'apparence, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles ». L'application de ce règlement prévoit un certain nombre de dispositions (respect du principe d'innocuité, règles de composition particulières, production d'un dossier d'information sur le produit, règles d'étiquetage, notification de ces produits sur le portail européen des produits cosmétiques). En pratique, peu d'huiles essentielles non diluées ont la qualification de produit cosmétique.

Toutefois, dans le cas où l'étiquetage d'une huile essentielle non diluée prévoit une fonction cosmétique et une fonction non-cosmétique et que la fonction exclusive ou principale d'être un cosmétique ne peut pas être identifié, le produit ne peut pas être considéré comme un cosmétique.

1.3. Les huiles essentielles à usage alimentaire :

Dès lors que le fabricant indique qu'une huile essentielle est destinée à être ingérée, elle doit être de qualité alimentaire. On trouve deux types d'utilisation dans ce domaine : Les huiles à usage aromatique et celles utilisées en tant que complément alimentaire.

1.3 .1. Les huiles commercialisées pour un usage aromatique :

Beaucoup d'huiles essentielles peuvent être utilisées en cuisine. La réglementation européenne relative aux arômes a prévu un certain nombre de dispositions, notamment celles relatives à l'étiquetage et aux obligations des responsables de la

première mise sur le marché. Les huiles essentielles provenant de plantes dont l'usage est reconnu pour la fabrication d'arômes peuvent donc être utilisées dans l'alimentation, à condition que leur dose d'emploi soit compatible avec une utilisation en tant qu'arôme (de l'ordre de 2 % maximum) (**Règlement (CE) No1334/2008**).

1.3 .2. Les huiles commercialisées en tant que compléments alimentaires :

Certaines huiles essentielles peuvent être utilisées pour compléter le régime alimentaire normal. Dans ce cas, la réglementation a introduit une obligation de déclaration auprès de la DGCCRF. Les allégations de santé figurant sur ces produits sont également soumises à autorisation préalable (**Décret n°2006-352 ; 2006**).

1.4. Les huiles essentielles à usage biocide

Certaines huiles essentielles sont utilisées dans des produits pour une action de désinfection. Elles entrent dans la catégorie des produits biocides et doivent comporter un étiquetage spécifique (avec le nom de l'huile utilisée, sa concentration).

Aux termes de la réglementation, les produits entrant dans cette catégorie ne peuvent être mis sur le marché que si les substances actives qui les composent sont autorisées pour un usage biocide. Une déclaration préalable à la mise sur le marché doit également être effectuée ainsi qu'une déclaration annuelle des quantités de produits mis sur le marché auprès du ministère en charge de l'environnement. Une déclaration de toxicovigilance, que le produit soit classé dangereux ou non, doit également être déposée (**Règlements (UE) No528 ; 2012**).

2. Méthodes d'extractions

Le procédé d'obtention des HEs intervient d'une façon déterminante sur sa Composition chimique (**Garnero, 1977**).

Différentes méthodes sont mises en oeuvre 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 (**Legrand, 1993**).

2.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction (**figure 2**), le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées. L'injection de vapeur se fait à la base de l'alambic (**Richard et Peyron, 1992**).

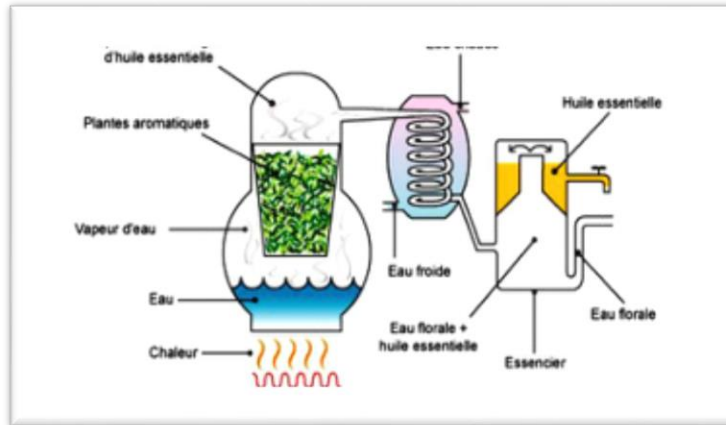


Figure 2 : Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (**Guerrouf, 2017**)

2.2. Extraction par hydro distillation

Ce mode d'extraction a été proposé par Garnier en 1891, c'est la méthode la plus Utilisée pour extraire les HEs et pouvoir les séparer à l'état pur mais aussi de fournir de meilleurs rendements. Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparée par différence de densité(**figure3**) (**Bruneton, 1993**).

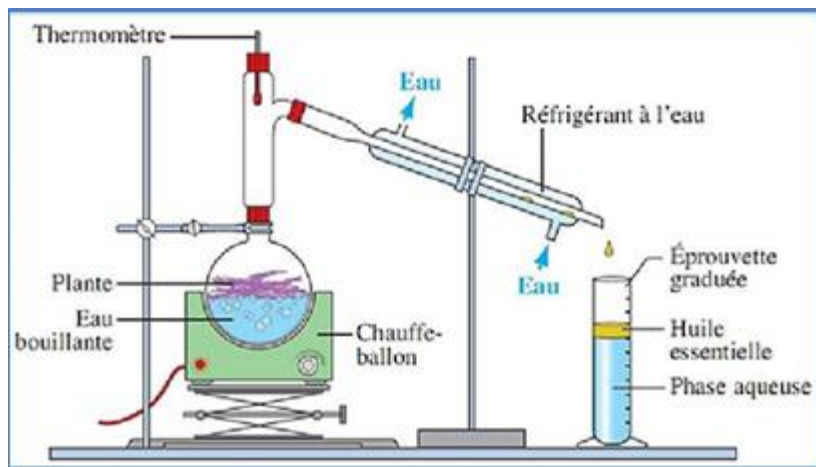


Figure 3 : Montage d'extraction par Hydro distillation (**Guerrouf, 2017**)

2.3. Expression à froid

L'expression à froid (**figure4**) est réservée à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices (**Basil et al., 1998**).



Figure 4 : Presse hydraulique pour la méthode d'expression à froid (**Guerrouf, 2017**)

2.4. Extraction par solvants organiques

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée (**figure5**). Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone [**Legrand, 1993**] ; (**Dapkeviciuset al., 1998**) ; (**Kim et Lee,2002**).

En fonction de la technique et du solvant utilisé, on obtient :

- Des hydrolysats : extraction par solvant en présence d'eau
- Des alcoolats : extraction avec de l'éthanol dilué traitées par l'éthanol ou des mélanges éthanol/eau.
- De résinoïdes ou extraits éthanoliques concentrés

L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement (**Rivera, 2006**).

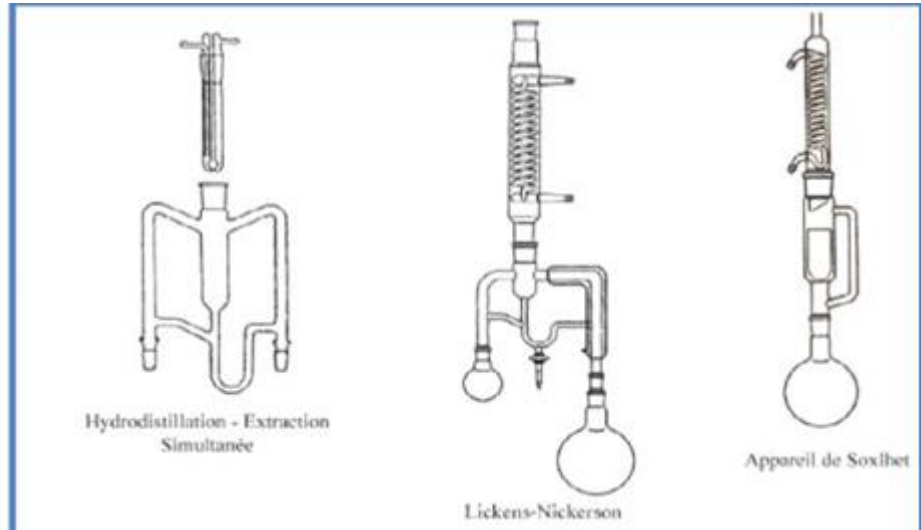


Figure 5 : Les différents types d'extraction par solvants volatils (Guerrouf, 2017)

2.5. Extraction par fluide à l'état supercritique

L'extraction par gaz liquéfié ou par fluide à l'état supercritique met en oeuvre généralement le dioxyde de carbone (Aghelet *al.*, 2004).

D'autres travaux de recherche montrent l'utilisation de l'eau dans son état supercritique. Dans ce système, le solvant est utilisé en boucle par interposition d'échangeurs de chaleur, d'un compresseur et d'un détendeur afin de porter le solvant à l'état désiré à chaque stade du processus. La séparation de l'extrait a lieu en phase gazeuse par simple détente [(Luque de Castro et Jiménez, 1998) ; (Gámiz-Gracia et Luque de Castro, 2000) ; (Ozelet *al.*, 2003) ; (Deng *et al.*, 2005)].

L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus, les températures d'extraction sont basses dans le cas de dioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles. A ces différents avantages s'ajoutent ceux de l'innocuité, d'inertie et d'ininflammabilité de CO₂ (Rivera, 2006).

Le frein du développement de cette technologie est le coût élevé des appareillages lié à l'application de pressions de plusieurs centaines de bars (Rivera, 2006).

2.6. Extraction assistée par micro-onde

L'extraction par micro-onde (figure 06) est une technique qui a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques. Le procédé d'extraction par

microondes appelée Vacuum Microwave Hydrodistillation (VMHD) consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences. Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de la matière végétale fraîche entre brutalement en ébullition. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en oeuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivants: rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel (Ayaidaia, 2011).



Figure 6 : Extraction assisté par micro-onde (Elisabeth, 2005)

3. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles se conservent plusieurs années. Elles ont même tendance à se bonifier avec le temps (à l'exception des huiles essentielles extraites des zestes d'agrumes qui ne se conservent pas plus de 2ans).

Il est recommandé de les stocker dans des flacons en verre ambre ou foncé, de manière à les protéger de la lumière, il faut éviter les forts écarts de température et le contact avec l'air, il faut bien refermez les flacons après usage car les arômes

s'évaporent dans l'atmosphère. Tenir les flacons hors de portée des enfants. Les flacons doivent être stockés en position verticale, en position horizontale, il y a un risque que le bouchon soit attaqué par l'huile (les huiles ont une action corrosive sur le plastique). Dans ces conditions, les huiles essentielles se conservent plusieurs années (**Abadlia, 2014**).

4. Procédés d'encapsulation :

L'encapsulation est un procédé qui a pour but de piéger une substance ou un mélange de substances précis à l'aide de matériaux adaptés. Les substances qui feront l'objet d'une encapsulation peuvent être liquides, solides ou gazeuses.

Généralement, ce sont des principes actifs sensibles ou instables à certains facteurs environnementaux et qui ont une action bien ciblée. Il peut aussi s'agir de substances dont on souhaite modifier l'état comme par exemple la transformation d'un liquide en solide (**Kerdudo et al., 2015**).

Quant aux matériaux d'encapsulation, ils sont principalement des polymères d'origine naturelle ou synthétique, ou des molécules amphiphiles pour leur double polarité. Généralement, les produits d'encapsulation se présentent sous deux formes différentes :

- Soit une capsule: «particule réservoir» comportant un actif liquide ou solide au cœur de sa structure. Le cœur est entouré d'un matériau enrobant constituant une membrane solide.
- Soit une sphère: particule comportant un réseau polymérique ou lipidique continu constituant une matrice dans laquelle un composé actif finement y est dispersé à l'état de molécules, de particules fines et solides, ou de gouttelettes de solution (**Kerdudo et al., 2015**).

MATÉRIEL ET MÉTHODES



Partie II : Matériel et Méthodes

1. **Lieu d'étude :** Ce travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie de l'Université Dr Moulay Tahar Saida.

2. **Matériel biologique :**

2.1. **Huiles essentielles :**

Les huiles essentielles utilisées dans cette étude ont été choisies par rapport à leur utilisation massive et courante par la population locale en tant que substances naturelles ayant des effets thérapeutiques soit par voie locale en cosmétique ou par voie orale pour le traitement traditionnel de certaines maladies ou encore en usage culinaire.

Nous avons utilisé quatre huiles essentielles achetées chez des herboristes de la région de Tlemcen. Le tableau comporte les indications nécessaires à propos de ces huiles commercialisées.

Tableau 01 : Caractéristiques des HEs commercialisées utilisées dans cette étude

Huiles essentielles (HE)	Partie extraite	Couleur de l'HE	Volume/flacon	Nom commercial du producteur	Pays d'origine
<i>Thymus capitatus</i>	feuilles	transparente	30ml	Société du El Capitaine (CAP PHARM)	Egypte
<i>Rosmarinus officinalis</i>	feuilles	transparente	30ml	El Hawag	Egypte
<i>Origanum vulgare</i>	feuilles	transparente	30ml	Société du El Capitaine (CAP PHARM)	Egypte

<i>Eucalyptus globulus</i>	feuilles	transparente	30ml	El Hawag	Egypte
----------------------------	----------	--------------	------	----------	--------

Par ailleurs, à des fins de comparaison nous avons utilisé parallèlement les mêmes huiles précédemment citées mais extraites localement par hydro-distillation. Ces dernières nous ont été aimablement fournies par le Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement de l'Université de Tlemcen.

2.1.1. Description générale des plantes aromatiques :

Dans ce qui suit nous allons donner une description générale des plantes aromatiques dont proviennent les huiles essentielles testées dans cette étude.

2.1.1.1. *Thymus capitatus*

Le thym est un sous arbrisseau ramifié à tiges ligneuses (**figure 07**), ne dépasse pas les 40 cm de hauteur, retrouvé un peu partout sur le pourtour Ouest du bassin méditerranéen, caractérisé par ses tiges portant de nombreuses petites feuilles pointues très odorantes, ses racines forment une touffe dense ce qui permet à la plante de pousser n'importe où (**Iserin, 2001**).



Figure 07 : Photographie de *Thymus capitatus* (**Anonyme 1**)

2.1.1.1.1. Taxinomie (Quezel et Santa, 1963)

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : Thymus

Espèce : *Thymus capitatus*

2.1.1.1.2. Composants majoritaires de l'HE de *Thymus* :

Les résultats de l'analyse des huiles essentielles par CPG-SM montrent que les composants majeurs de *Thymus* sont le γ -terpinène (22,25 %) et le thymol (41,39%) et ceux les plus abondants dans l'huile essentielle du *Thymus satureioides* sont p-cymène (27,59%) et le thymol (14,09). Les chercheurs n'ont pas pris en considération les composés ou les constituants dont les concentrations sont inférieures à 0,1% (El oualilalami ,2013).

2.1.1.2 *Rosmarinus officinalis* :

Le genre *Rosmarinus* appartient à la famille des *Lamiacées*. L'espèce appelée romarin est un arbrisseau qui peut atteindre jusqu'à 1,5 mètre de hauteur. Il est facilement reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes sans pétiole, coriaces beaucoup plus longues que larges, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous (Delbano, 2004).



Figure 08 : Photographie de *Rosmarinus officinalis* (Anonyme 2)

2.1.1.2.1 Taxinomie : (Quezel et Santa, 1963)

Embranchement: Spermaphytes

Classe: Dicotylédones

Ordre : Lamiales (labiales)

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce: *Rosmarinus officinalis*

2.1.1.2.2. Composants majoritaires de l'huile essentielle de *Rosmarinus* :

Le composé majoritaire de l'huile essentielle du Romarin varie d'une région à l'autre. On trouve le 1-8 cinéole, le camphre, le pinène, le linalool, le limonène.

Pour le romarin d'origine algérienne dans la région de Tlemcen, les composants majoritaire sont : α -pinène 23,1%, Camphre 14,5 %, β -pinène 12,2% (**Atik Bekkara et al, 2007**).

2.1.1.3. *Origanum vulgare* :

L'origan est une herbacée vivace de 30 à 60 cm de hauteur, au feuillage et aux fleurs très odorants quand on les froisse (**figure 09**). Elle est ainsi reconnaissable à son odeur et à sa saveur phénolée, épicée et chaude [(**Arvy et Gallouin, 2003**) ; (**Teuscher et al. 2004**)].

Les tiges dressées, souvent rougeâtres et velues, portent les feuilles ovales opposées et espacées. Celles-ci possèdent des glandes sécrétrices sessiles non apparentes. Les fleurs blanches ou rose sont groupées en inflorescences [(**Baba Aissa, 1990**) ; (**Teuscher et al, 2004**) ; (**Figueredo, 2007**)].



Figure 09 : Photographie d'*Origanum vulgare* (**Anonyme 3**)

2.1.1.3.1 Taxinomie : (**Guignard ,1996**)

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Origanum*

Espèce: *Origanum vulgare*

2.1.1.3.2. Composants majoritaires de l'huile essentielle *d'Origanum* :

Composition de l'huile essentielle est caractérisée par un pourcentage élevé de composés monoterpéniques hydrocarbonés et oxygénés. Les éléments majoritaires de l'huile essentielle d'*Origanum Vulgare* étant le para-cymène à 25.615%, et le

carvacrol 20.321%. Le gamma-terpinène (16.612%) est aussi présent à une concentration significative.

2.1.1.4. *Eucalyptus globulus* :

L'*Eucalyptus globulus* est un arbre qui mesure 30 à 60 mètres de haut et il peut atteindre jusqu'à 100 mètres dans certains Cas. Son tronc est lisse et sa couleur varie du blanc au gris.

Les jeunes feuilles sont cireuses, ovales, claires, opposées et sessiles. Mais ce sont les feuilles poussant sur les vieilles branches qui sont officinales car ce sont les seules à posséder des poches à essences sur la face inférieure. Ces feuilles peuvent atteindre 25 centimètres de long (**figure 10**). Elles sont falciformes, alternes, pétiolées, de couleur gris-vert. La plante coupée est reconnaissable par la présence de nombreuses poches sécrétrices sur la face inférieure de la feuille (**Nathalie, 2015**).



Figure 10 : Photographie des feuilles d'*Eucalyptus globulus* (**Anonyme 4**)

2.1.1.4.1. Taxinomie (Ghidira et al. 2008)

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : *Eucalyptus*

Espèce : *Eucalyptus globulus*

2.1.1.4.2. Composants majoritaires d'huile essentielle d'*Eucalyptus*:

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est également inscrite à la Pharmacopée Européenne. D'après celle-ci, elle contient :

α -pinène : 0,05 à 10 %, β -pinène : 0,05 à 1,5 %, sabinène : au maximum 0,3%, α -phellandrène : 0,05 à 1,5%, limonène : 0,05 à 15%, 1,8-cinéole : au minimum 70%, camphre : au maximum 0,1% (Nathalie, 2015).

2.2. Souches microbiennes :

2.2.1. Souches bactériennes:

Les souches bactériennes de référence utilisées dans ce travail nous ont été aimablement fournies par le Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement de l'Université de Tlemcen. Nous avons utilisé trois souches Gram-positif et trois souches Gram-négatif (**Tableau 02**).

Généralement, les souches choisies sont souvent impliquées dans certaines pathologies et toxi-infections alimentaires.

Tableau 02 : Souches bactériennes utilisées dans cette étude

Type	souche	Référence
Bactéries à Gram positif	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
	<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 19115
Bactéries à Gram négatif	<i>E. coli</i>	ATCC 25922
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	ATCC 13311
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853

2.2.2. Souches fongiques :

Nous avons utilisé trois souches de moisissures isolées et identifiées dans une étude effectuée sur la Sebkhha d'Oran (Benariba et Hadj Sayah, 2015) ; la quatrième

souche (LMB2030A) était isolée au cours de cette étude dans le laboratoire de microbiologie de Saïda.

Les souches de levures nous ont été fournies par le Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement de l'Université de Tlemcen. Les références des souches fongiques utilisées sont indiquées dans le tableau suivant :

Tableau 03 : Souches fongiques utilisées dans cette étude

Souches	Références
LMB2030A	souche sauvage
LMB20306	souche sauvage
LMB20308	souche sauvage
LMB20311	souche sauvage
<i>Candida albicans</i>	ATCC 26790
<i>Candida albicans</i>	ATCC IP444
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231

2.3. Tests préliminaires d'identification

2.3.1. Souches bactériennes :

Toutes les souches microbiennes ont été préliminairement identifiées. Ces souches ont été soumises à des examens microscopiques à l'état frais et coloré.

2.3.1.1. Examen à l'état frais

Cet examen permet d'apprécier, la mobilité, la forme et le mode de regroupement des bactéries.

Technique :

- Déposer aseptiquement sur une lame porte objet, quelques gouttes d'eau Physiologie.
- Prélever à l'aide d'une anse de platine stérile une a deux colonies a partir du milieu gélosé.
- Emulsionner dans la goutte d'eau physiologique.
- Recouvrir d'une lamelle tout en évitant la formation des bulles d'air.
- Observer sous microscope optique à grossissement (×40).

2.3.1.2. Coloration de Gram

La coloration de Gram est une technique qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne. Elle permet de colorer les bactéries et de distinguer leur aptitude à fixer le violet de gentiane (Gram+) ou la fuchsine (Gram-). Cette opération se déroule en sept étapes seulement la technique suivante :

- ✓ Réaliser un frottis sur une lame de microscope a partir d'une suspension bactérienne, agiter la suspension afin de l'homogénéiser et d'éviter d'avoir un culot au fond du tube.
- ✓ Etaler une goutte de la suspension bactérienne sur une lame propre.
- ✓ Procéder à la fixation du frottis en faisant passer la lame trois fois dans la flamme du bec bunsen.
- ✓ Plonger La lame pendant une minute dans le violet de gentiane, puis rincée a l'eau déminéralisée.
- ✓ Etaler le lugol et laisser agir une minute puis rincer a l'eau. Cette étape a pour but de stabiliser la coloration violette.
- ✓ Verser goutte a goutte de l'alcool sur la lame inclinée obliquement. Surveiller la coloration (15 à 30 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincer avec de l'eau.
- ✓ Réaliser une contre coloration avec de la fuchsine : laisser agir 30 secondes à une minute, laver doucement a l'eau déminéralisée. Sécher la lame entre 2 feuilles de papier buvard.
- ✓ Enfin, observer à l'objectif a immersion ($\times 100$) apres déposer d'une goutte de l'huile d'immersion.

Les bactéries Gram+ apparaissent en violet foncé, tandis que les bactéries Gram- sont colorées en rose.

2.3.1.3. Conservation des souches

Les souches bactériennes après avoir été soumises aux examens microscopiques ont été conservées à 4°C sur la gélose nutritive inclinée jusqu'à l'utilisation ultérieure.

2.3.1.4. Test catalase / oxydase:

Catalase : Le test de la catalase permet de vérifier si une bactérie possède l'enzyme de la catalase ayant comme utilité de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau (H₂O) ainsi qu'en oxygène (O₂).

Oxydase :

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé.

Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N diméthyl paraphénylène diamine.

Tableau 04 : Les résultats des tests oxydase / catalase

souches	Test oxydase	Test catalase
<i>S.aureus</i>	/	+
<i>B.cereus</i>	/	+
<i>L. monocytogenes</i>	/	+
<i>P. aeruginosa</i>	+	/
<i>E.coli</i>	-	/
<i>Sa.Typhimurium</i>	-	/

2.3.2. Souches fongiques

2.3.2.1. Moisissures :

L'identification des moisissures fait essentiellement appel aux caractères cultureux et morphologiques.

Caractères cultureux: ce sont les critères macroscopiques tels que, la vitesse de croissance, la taille de la colonie, la texture, la couleur du thalle et la couleur du revers de la culture.

Caractères morphologiques: c'est l'étude microscopique du mycélium et la nature des organes différenciés (Botton et al, 1990).

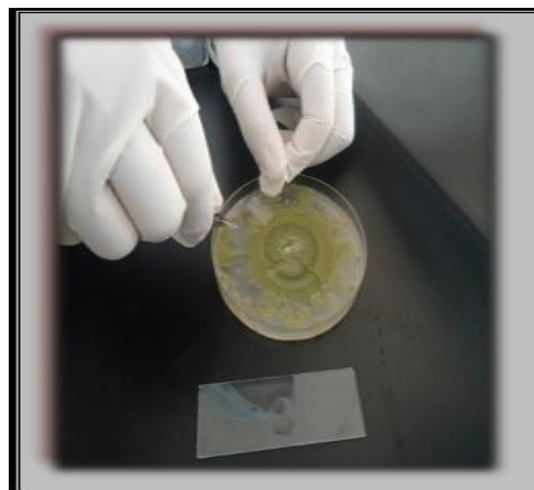


Photo 01 : Méthode de scotch pour l'observation microscopique des moisissures.

2.3.2.2. Levures :

L'identification des levures est basée au moins au départ sur les caractères morphologiques. Par ailleurs, l'auxanogramme reste la méthode référentielle pour l'identification biochimique des levures. Dans notre cas les souches de références utilisées ont été soumises à des examens microscopiques à l'état coloré.

3. Evaluation de l'activité antimicrobienne des HEs commercialisées

L'effet antibactérien et antifongique des 4 huiles essentielles précédemment décrites a été évalué contre les différentes souches microbiennes choisies dans cette étude. La technique utilisée est celle de la diffusion des disques sur milieu gélosé.

3.1. Préparation des disques

Les disques de 6 mm de diamètre ont été préparés à partir d'un tissu de viseline, ensuite elles étaient mises dans un tube à essai hermétiquement fermé puis stérilisés par autoclavage pendant 30 à 40 min. Les tubes contenant les disques sont stockés à une température ambiante jusqu'à l'utilisation ultérieure.

Ces disques ont été utilisés pour l'évaluation de l'effet antibactérien et antifongique des huiles essentielles.

3.2. Activité antibactérienne

3.2.1. Précultures :

Les souches bactériennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive et incubées pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir une culture jeune de 18-24h.

3.2.2 Préparation des suspensions bactériennes

A l'aide d'une pipette Pasteur, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ont été prélevées et mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile 0.9% NaCl.

3.2.3. Aromatogramme sur milieu solide

L'étude a été réalisée par la méthode de diffusion, conçue initialement pour les antibiotiques, mais en substituant les disques d'antibiotiques par des disques imprégnés d'huiles essentielles (**Figure 11**).

Une suspension bactérienne correspondant aux normes de Mc Ferland a été préparée à partir d'une culture pure et jeune de 18 heures. Ces normes équivalentes à une densité optique de 0,08-0,13 à 610 nm. Cet inoculum sert à ensemercer par écouvillonnage les géloses de Mueller Hinton (MH) coulées dans des boîtes de Pétri.

Pour chaque souche testée, des disques de Viseline de 6mm de diamètre stériles ont été déposés sur la surface de la boîte de Pétri contenant des géloses ensemencées puis imprégnés de 10 μ l de chaque HE. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les diamètres des zones d'inhibitions ont été mesurés (**Figure 12**).

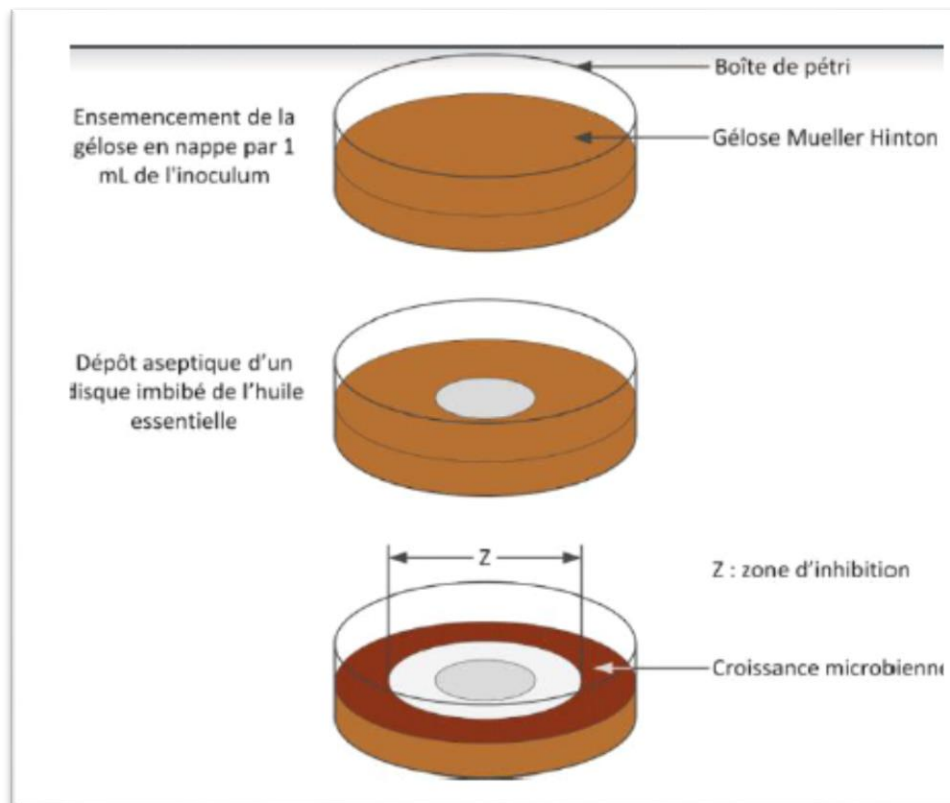


Figure 11: Schéma représentatif de l'aromatogramme (**Boubrit, 2016**)

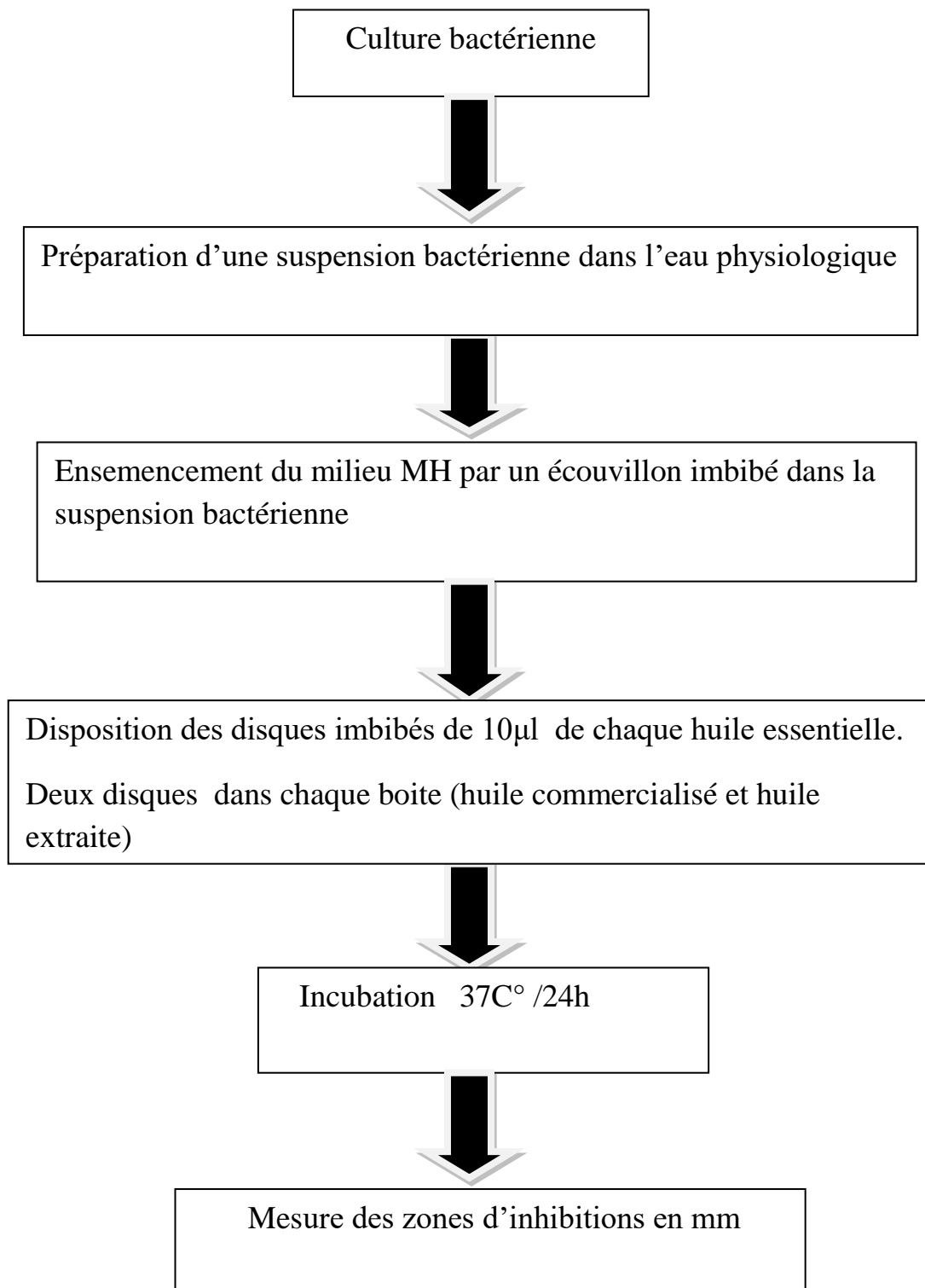


Figure 12 : Etapes de réalisation du test d'activité antibactérienne.

3.3. Activité antifongique :

3.3.1. Moisissures

3.3.1.1. Précultures :

Les moisissures testées ont été cultivées dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA et incubées pendant 3 à 5 jours à 25°C afin d'obtenir des colonies de moisissures bien développées.

3.3.1.2 .Préparation des suspensions fongiques :

A l'aide d'une anse de platine un fragment mycélien est prélevé et mis dans 10 ml d'eau physiologique stérile 0.9% Na Cl .Dans un spectre a longueur d'onde 530nm la valeur de la densité optiques doit être limitée entre 0.080 et 0.13.

3.3.1.3. Aromatogramme sur milieu solide :

5 ml de la suspension fongique précédente est coulée dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA acidifié. Après 5min de contact on jette le surplus et on laisse la surface de la gélose sécher.

Pour chaque souche testée, deux disques de Viseline stériles ont été déposés sur la surface de la boîte de Pétri contenant le PDA acidifié puis imprégnés de 10µl de chaque HE (disque pour HE et disque pour l'huile commercialisé). Après 3-5 jours d'incubation à 25°C, les diamètres des zones d'inhibitions ont été mesurés.

3.3.2. Levures :

Les souches de levures du genre candida ont été entretenues par repiquage successif dans une gélose Sabouraud.

3.3.2.1 Préparation de l'inoculum :

À partir d'une culture jeune de *Candida albicans* en boîte sur gélose Sabouraud (**Photo 02**), nous avons prélevé 5 colonies d'1 mm de diamètre que nous avons placé dans un tube à essai contenant 5 ml d'eau physiologique stérile.

Photo 2 : Culture de *C.albicans* sur milieu Sabouraud.

Cet inoculum sert àensemencer les géloses Sabouraud coulées dans des boites de Pétri par un écouvillon imbibé dans la suspension par des stries serrées.

Pour chaque souche testée, deux disques de papier Visline de 6mm de diamètre stériles ont été déposés sur la surface de la boite de Pétri contenant des géloses ensemencées puis imprégnés de 10µl de chaque HE. Après 24 heures à 48 heures d'incubation à 25°C, les diamètres des zones d'inhibitions ont été mesurés.

RÉSULTATS ET DISCUSSION



Partie III : Résultats et discussion

1. Effet antimicrobien des huiles essentielles commercialisées

L'activité antimicrobienne de quatre huiles essentielles (*Thymus capitatus*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare* et *Eucalyptus globulus*) a été évaluée contre les 13 souches microbiennes figurant dans les tableaux 2 et 3 de la section précédente. L'effet de ces huiles a été comparé avec l'effet des mêmes huiles essentielles provenant d'extraction par hydrodistillation au niveau du laboratoire. Ces dernières nous ont été fournies par le laboratoire LAMAABE.

Cette étude a porté sur les huiles provenant d'Egypte et vendues dans le commerce algérien chez les herboristes en tant qu'huiles essentielles.

Les huiles testées dans cette étude sont souvent utilisées par la population locale en médecine alternative, en alimentaire ou encore dans des préparations cosmétiques.

Ces huiles sont très privilégiées à cause, d'une part de leur disponibilité chez presque tous les herboristes locaux, d'autre part de leur faible prix d'environ 5DA/ml. Ce prix est très faible par rapport aux huiles essentielles provenant d'Europe, il est de 320DA/ml, 177 DA/ml, 400 DA/ml et 200 DA/ ml pour les HEs de thym, de romarin, d'Eucalyptus et d'origan, respectivement.

Certaines études ont été effectuées sur la composition et l'activité biologique des huiles essentielles commercialisées en provenance d'Europe (Allemagne, Espagne, Italie, Polonde) ; ces huiles semblent avoir un effet antimicrobien et insecticide significatif [(Bialon et al, 2014) ; (Murcia-Meseguer, 2018)].

Par ailleurs, la problématique de la présente étude est la suivante :

Est-ce que ces huiles essentielles vendues dans le commerce algérien répondent aux critères exigibles des huiles essentielles naturelles? Pour répondre à cette question nous avons tenté de tester leur efficacité antimicrobienne.

Pour ce faire, la méthode utilisée est celle de diffusion sur milieu gélosé, ainsi après que la gélose ait été écouvillonnée par la suspension microbienne, un disque de papier chargé de 10 µl des huiles essentielles est déposé à la surface du milieu gélosé. Dans la littérature relative aux huiles essentielles, les résultats de l'aromatogramme sont exprimés en diamètre de la zone d'inhibition en mm (Kunel. O et al, 2003).Après une incubation de 24h en aérobose, l'activité antimicrobienne a été

estimée en mesurant la distance autour du disque où nous constatons une absence totale de croissance microbienne (Ponce et al, 2003) :

Souche sensible (+) : diamètre compris entre 9 et 14 mm.

Souche résistante (-) : diamètre < 8mm

Souche très sensible (++) : diamètre compris entre 15 et 19 mm.

Souche extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

1.1. Effet antibactérien des HEs commercialisées

L'effet des quatre HEs précitées a été testé vis-à-vis de trois bactéries Gram-positif : *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus cereus* ATCC11778 et *Listeria monocytogenes* ATCC19115, et trois souches Gram-négatif : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Salmonella Typhimurium* ATCC13311 et *Escherichia coli* ATCC25922.

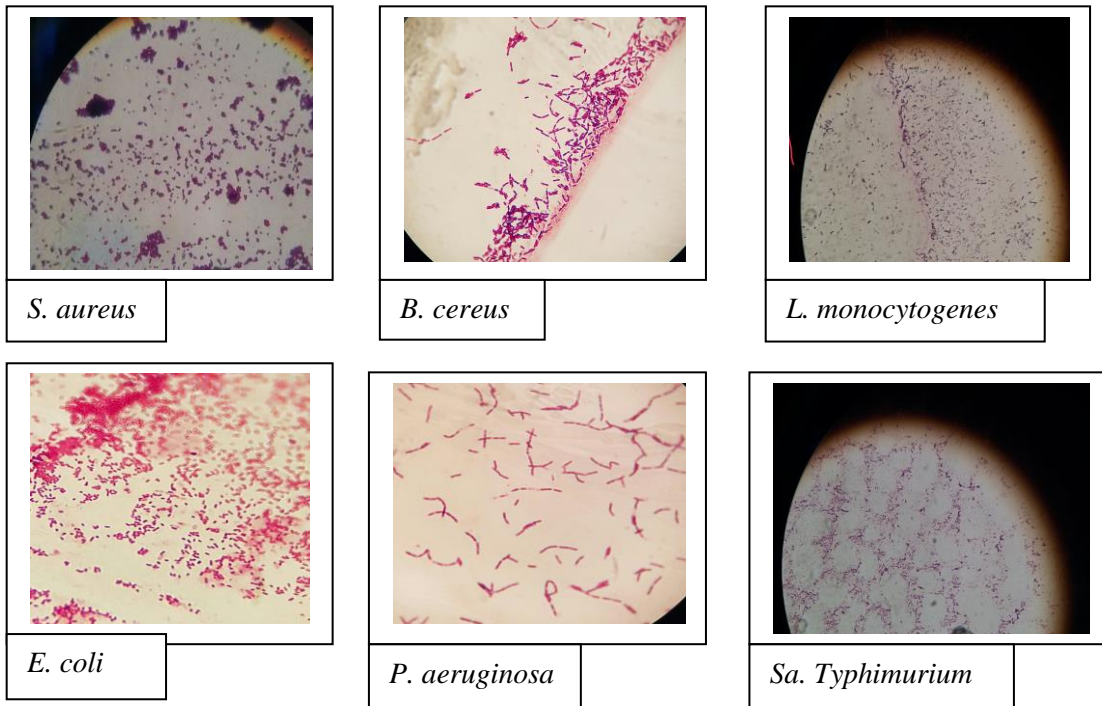


Figure13: Observation microscopique à l'état coloré (coloration de Gram) des souches bactériennes testées. Grossissement x100 à immersion.

1.1.1. Effet antibactérien de *Thymus Capitatus*

Les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *T. capitatus* vis-à-vis des bactéries testées sont résumés en **annexe** (tableau 1)

D'après les résultats de l'activité antibactérienne concernant l'HE de *T. capitatus* les diamètres d'inhibition les plus grands étaient obtenus pour *Staphylococcus aureus* (50mm) suivi par *Salmonella Typhimurium* (45mm), *Listeria monocytogenes*

(40mm), *Pseudomonas aeruginosa* (35 mm), *Bacillus cereus* (30mm) et *E. coli* (25mm) ce qui signifie une forte activité antibactérienne (++++).

Par contre, concernant les huiles essentielles commercialisées aucune activité antimicrobienne n'a été révélée (-) vis-à-vis les six souches testées (**Figure 14**)

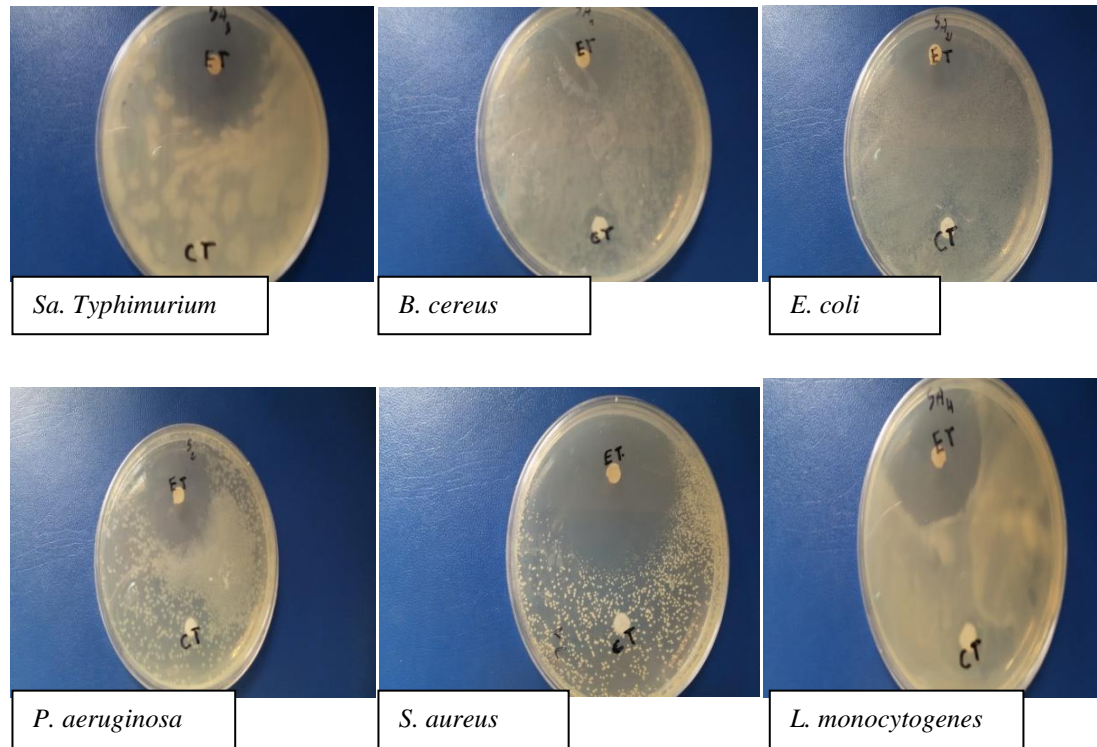


Figure 14: effet antibactérien de l'huile essentielle de *Thymus capitatus* (disque en haut pour l'HE extraite, en bas pour l'HE commercialisée)

Selon (**Bouhdid et al,2006**), L'huile de *T. capitatus* a un effet inhibiteur sur la croissance d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* à partir d'une faible concentration de l'ordre de 1/2000 v/v.

1.1.2. Effet antibactérien de *Rosmarinus officinalis*

Les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *R. officinalis* vis-à-vis des bactéries sont résumés en **annexe** (Tableau 02)

D'après les résultats concernant l'HE de *Rosmarinus officinalis* les plus grands diamètres d'inhibition étaient obtenus pour *Bacillus cereus* (25mm) et *Staphylococcus aureus* (20mm) ce qui signifie une forte activité antimicrobienne (++++).

Par contre, cette activité est élevée (+++) vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* (15 mm), De plus cette HE a exercé une activité antimicrobienne modeste (++) pour

Salmonella Typhimurium (10mm), on révèle aucune activité antimicrobienne (-) vis-à-vis *Listeria monocytogenes* et *E. coli*.

Par contre, on révèle aucune activité antimicrobienne pour l'huile essentielle commercialisée vis-à-vis les six souches que nous avons cités précédemment.

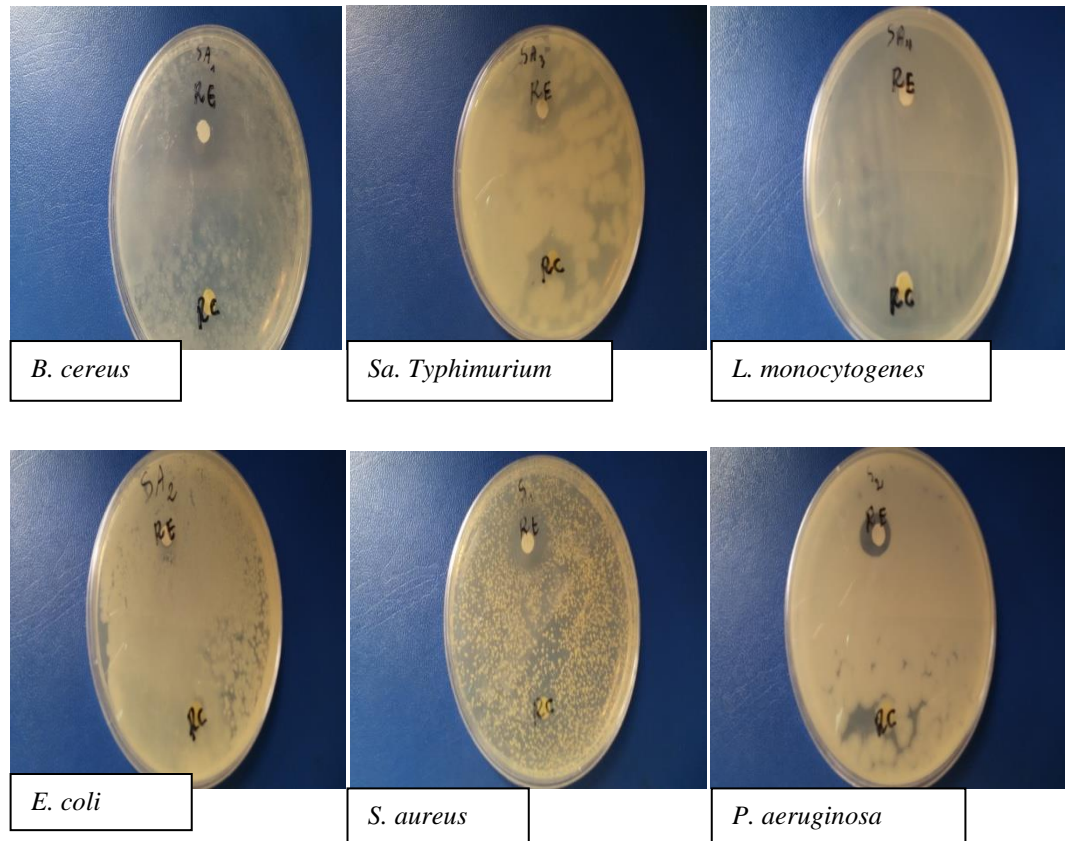


Figure15 : Effet antibactérien de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* (disque en haut pour l'HE extraite, en bas pour l'HE commercialisée)

1.1.3. Effet antibactérien d'*Origanum vulgare*

Les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*O. vulgare* vis-à-vis des bactéries sont résumés en **annexe** (Tableau 03)

D'après les résultats concernant l'HE d'*O. vulgare* on note que les plus grands diamètres d'inhibition sont obtenus avec *Staphylococcus aureus* (45mm) suivi par *Listeria monocytogenes* (45mm), *Salmonella Typhimurium* (30mm), *Bacillus cereus* (30mm), *E. coli* (30mm) et *Pseudomonas aeruginosa* (25 mm), ce qui signifie une activité antimicrobienne très forte (++++).

L'huile commercialisée n'a aucune activité antimicrobienne.

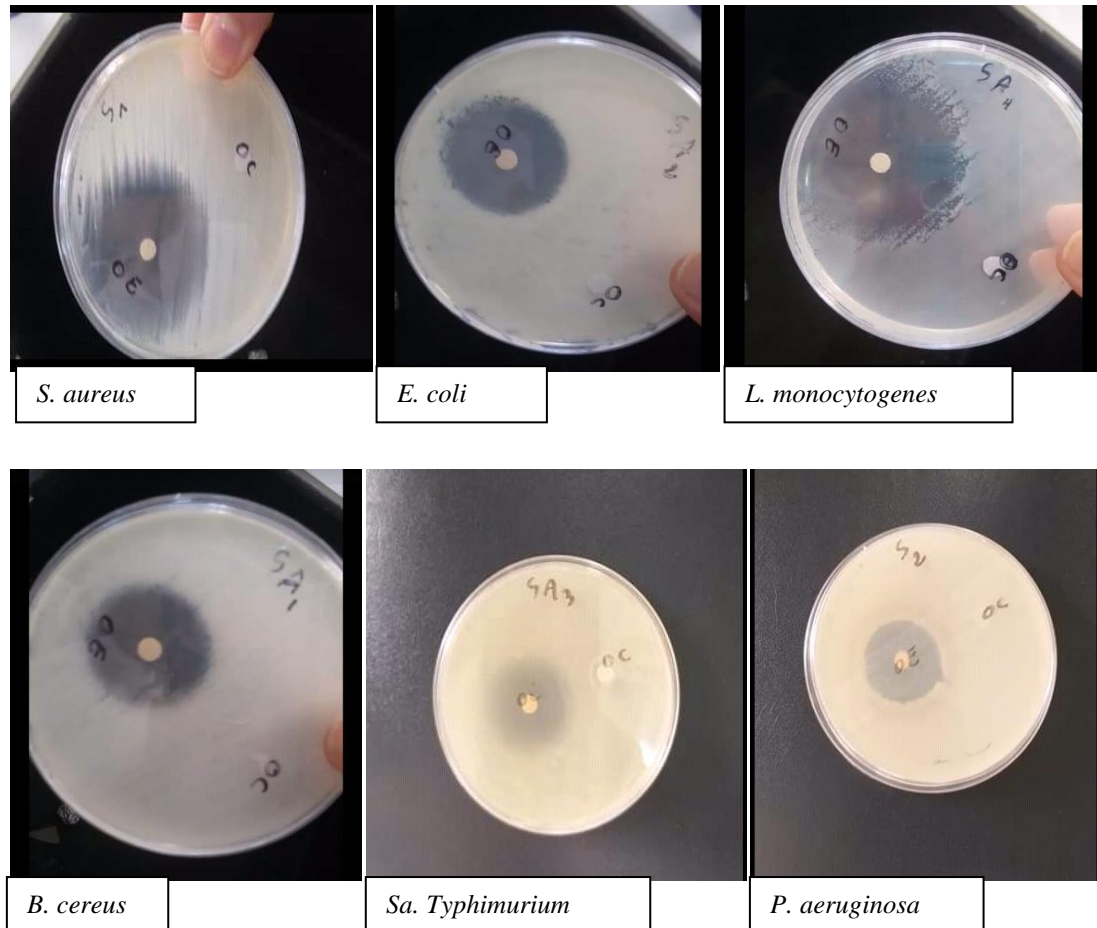


Figure 16: Effet antibactérien de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*. OC :HE commercialisée, OE : HE extraite

1.1.4. Effet antibactérien d'*Eucalyptus globulus*

Les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus* vis-à-vis des bactéries sont résumés en **annexe** (tableau 04).

D'après les résultats concernant l'HE d'*Eucalyptus* on note que le plus grand diamètre d'inhibition est obtenu avec *Staphylococcus aureus* (17.5mm), *Pseudomonas aeruginosa* (13.5mm), *E. coli* (13mm) ce qui signifie une activité antimicrobienne élevée (+++).

D'autre part, on a remarqué une activité antimicrobienne modeste (++) Pour *Bacillus cereus* (11mm), *Listeria monocytogenes* (10mm), et on révèle une activité antimicrobienne très faible pour *Salmonella Typhimurium* (7.5mm).

Par contre on observe aucune activité antimicrobienne (-) pour l'huile commercialisée vis-à-vis les six souches que nous avons testé.

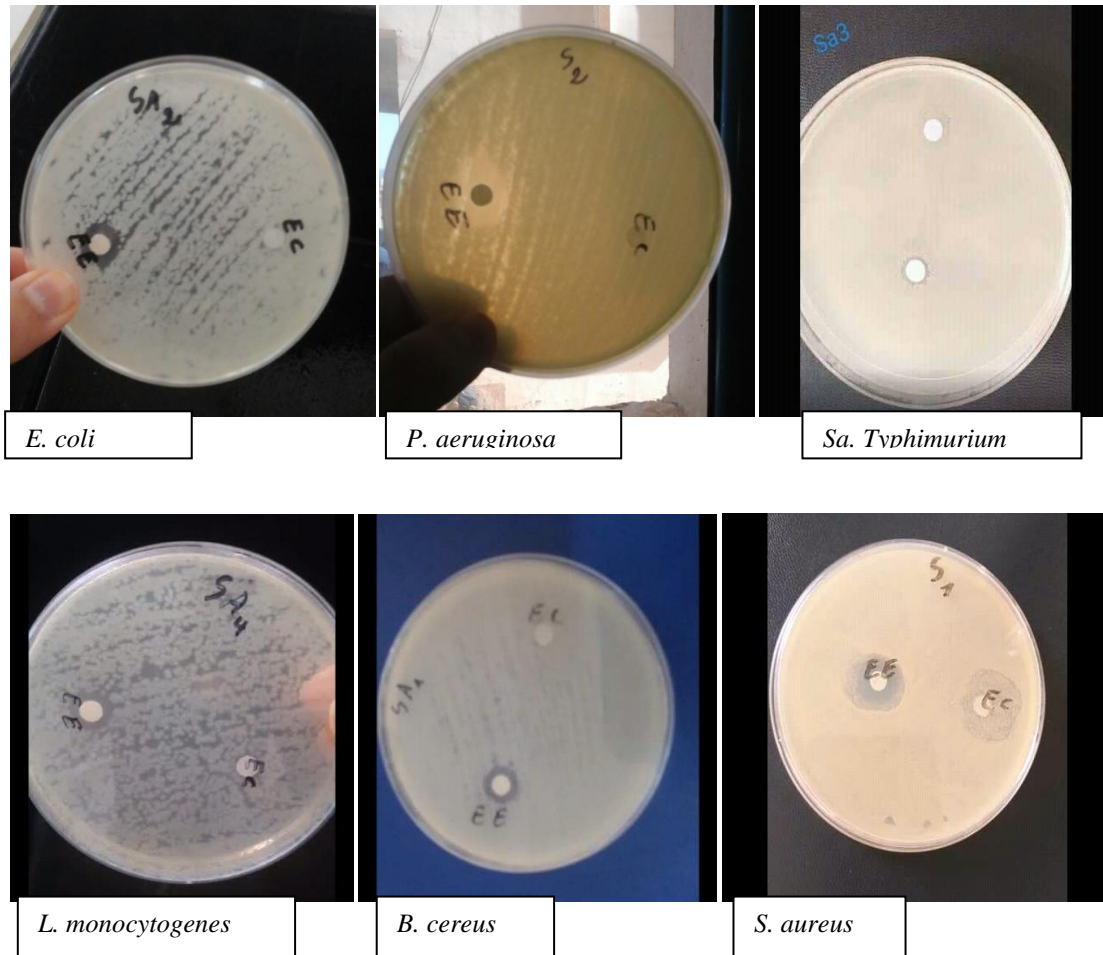


Figure 17: Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*.

EC : HE commercialisée, EE : HE extraite

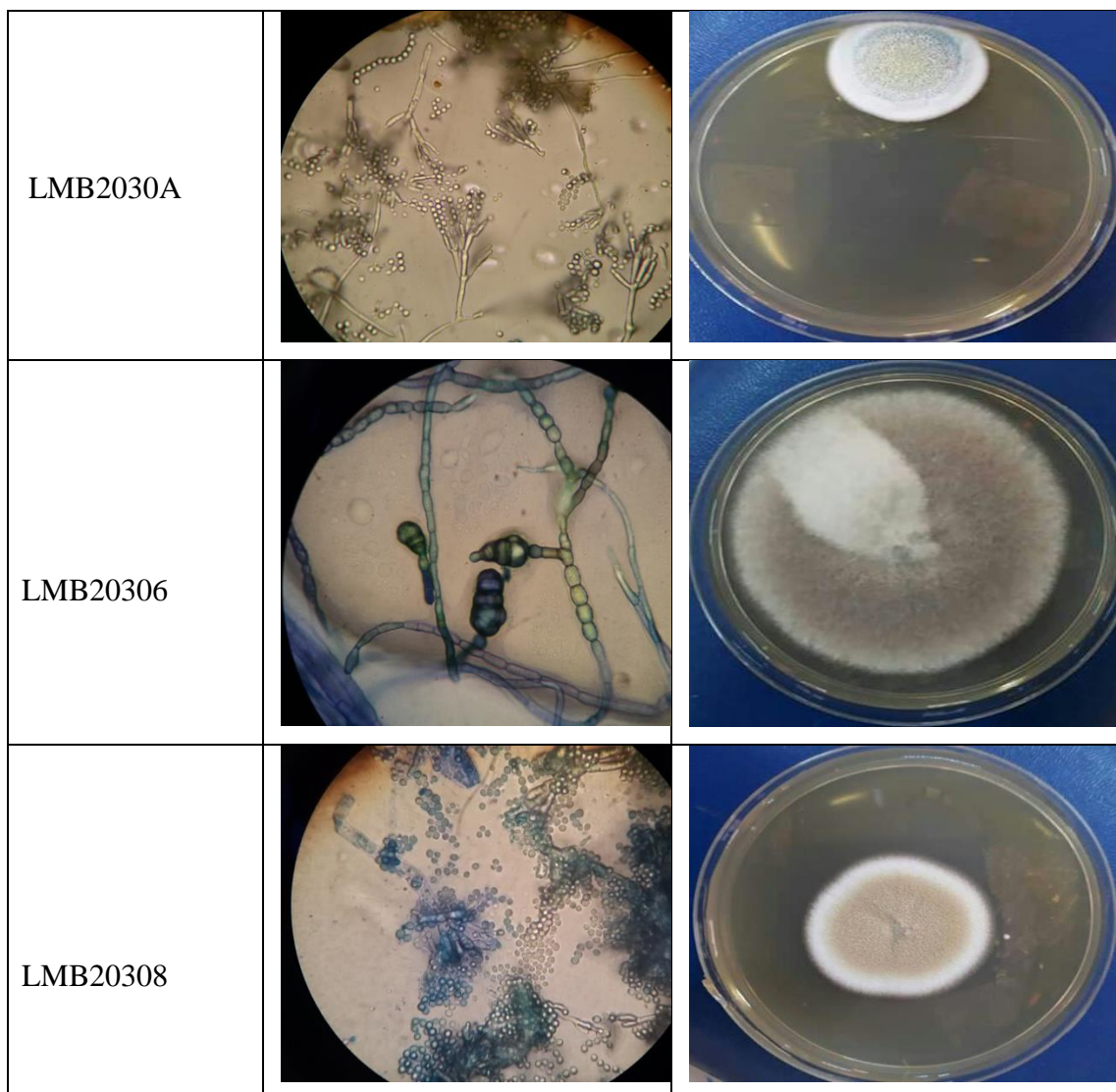
Selon **Kalemba et kunicka. (2003)** la sensibilité d'un microorganisme aux HEs dépend des propriétés de L'HE et du microorganisme lui-meme. Il est bien connu que les bactéries à Gram positive sont plus sensible aux HEs que les bactéries à Gram négative. Plusieurs études testant l'activité inhibitrice des HEs confirment ce phénomène (**Poole, 2001; Burt, 2004; Bekhechi et al., 2008**). Cependant, d'autres

études ne révèlent aucune activité antimicrobienne sélective vis-à-vis les bactéries Gram (+) ou Gram (-) (Guesmi et Boudabous, 2006).

1.2 Activité antifongique des HEs commercialisés :

L'effet des quatre HEs précitées a été testé vis-à-vis de sept souches fongiques : quatre moisissures (LMB2030A, LMB20306, LMB20308, LMB20311) et trois levures : (*Candida albicans* ATCC 26790, *Candida albicans* ATCC IP444, *Candida albicans* ATCC 10231).

1. Moisissure



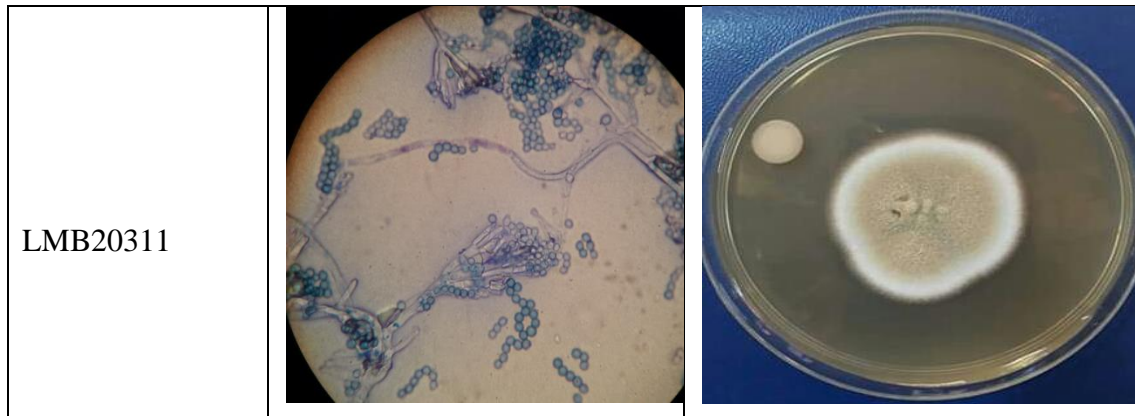


Figure 18: Aspect macroscopique et microscopique des souches fongiques testées. Coloration au bleu de méthylène, grossissement x40.

1.2.1.1. Effet antifongique de *Thymus Capitatus*

Les résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus* vis-à-vis des moisissures sont résumés en **annexe** (tableau 5)

Nous avons remarqués que toutes les souches sont extrêmement sensible (+++) à cette huile essentielle, Nous avons obtenu des très grandes zones d'inhibitions : LMB20306 (75mm), LMB2030A (65 mm), LMB20308 (45 mm), LMB20311 (40 mm).

Par contre, concernant les huiles essentielles commercialisées les quatre souches testées sont résistantes (-).

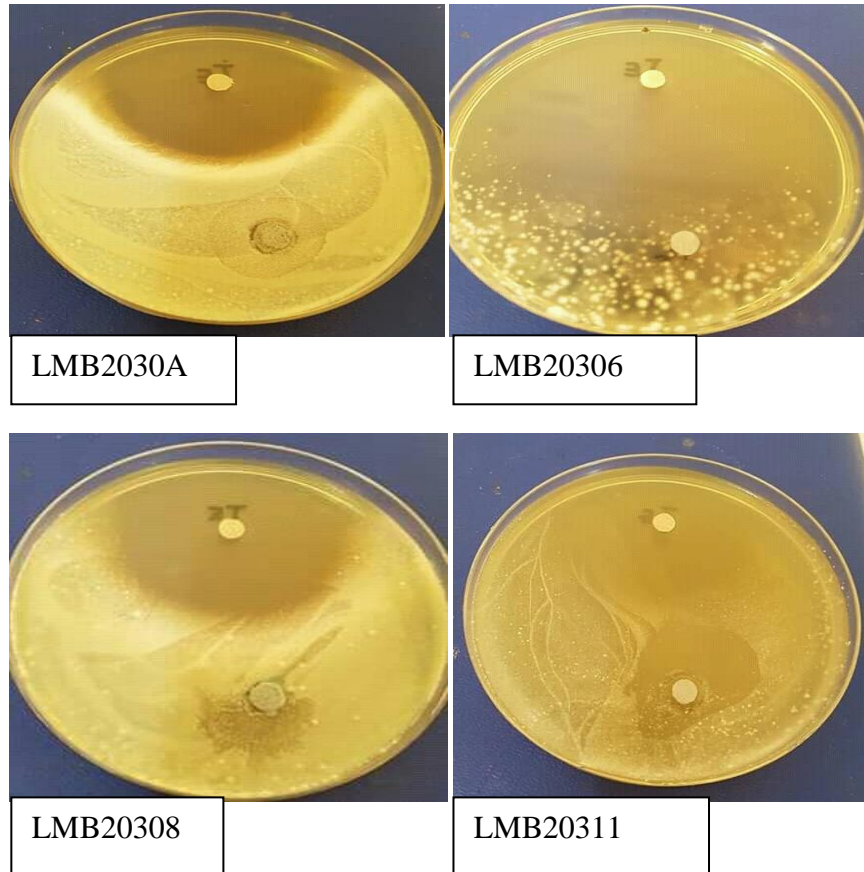


Figure 19: effet antifongique de l'huile essentielle de *Thymus capitatus* (disque en haut pour l'HE extraite, en bas pour l'HE commercialisée)

1.2.1.2. Effet antifongique de *Rosmarinus officinalis*

Les résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis les moisissures sont résumées en **annexe** (Tableau 06).

D'après les résultats concernant l'HE de *Rosmarinus officinalis* on note que les plus grands diamètres d'inhibition sont obtenus avec les souches : LMB20306 (40 mm) et LMB20308 (20mm) ce qui signifie que les deux souches sont extrêmement sensible (+++).

En revanche, on note aussi que les deux autres souches sont sensible (+) avec les diamètres d'inhibition suivants : LMB2030A (10mm) et LMB20311 (10 mm).

Par contre, pour l'huile essentielle commercialisée on révèle aucune activité antifongique (-) vis-à-vis les quatre souches que nous avons cités précédemment.

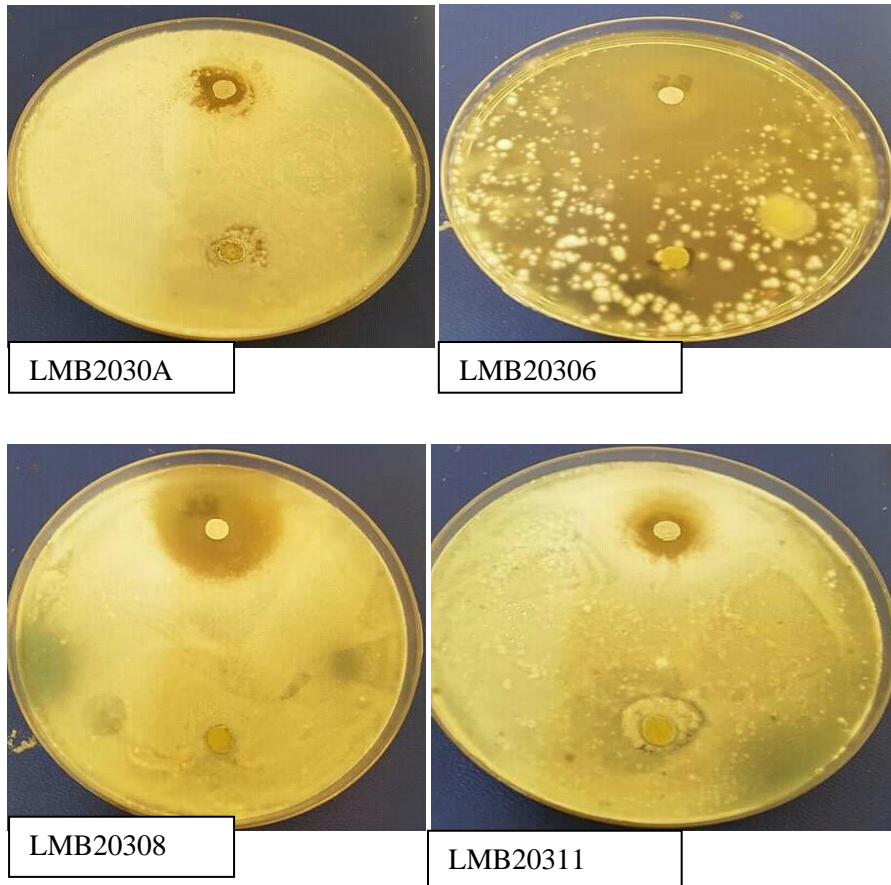


Figure 20 : Effet antifongique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* (disque en haut pour l'HE extraite, en bas pour l'HE commercialisée)

1.2.1.3. Effet antifongique d'*Origanum vulgare*

Les résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*Origanum* vis-à-vis les moisissures sont résumées en annexe (Tableau 07)

D'après les résultats concernant l'HE d'*Origanum vulgare*, on note que les plus grands diamètres d'inhibition sont obtenus avec tous les souches : LMB20311 (70mm), LMB20308 (65mm), LMB2030A (60mm) et LMB20306 (55mm), ce qui signifie que les souches sont extrêmement sensibles (+++).

L'huile commercialisée n'a aucune activité antimicrobienne.

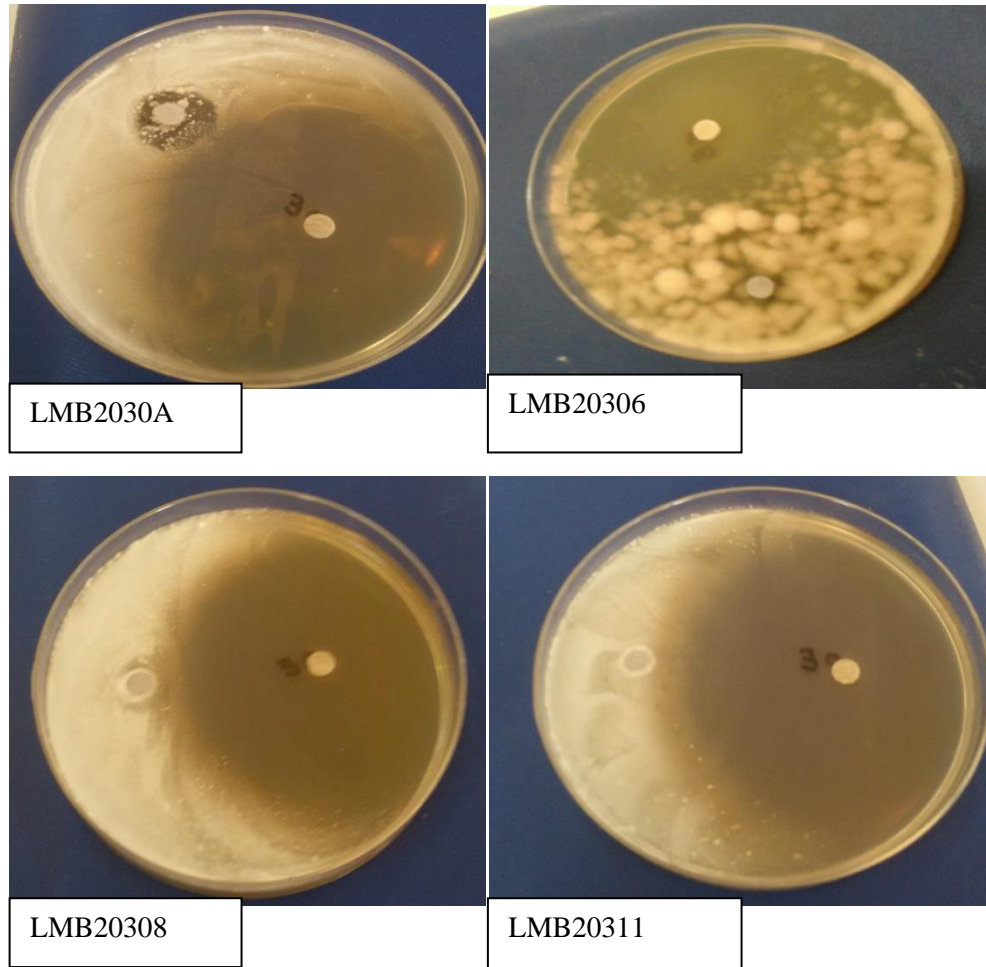


Figure 21 : Effet antifongique de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* (disque à gauche pour l'HE commercialisée, à droite pour l'HE extraite)

1.2.1.4. Effet antifongique d'*Eucalyptus globulus*

Les résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*Eucalyptus* vis-à-vis des champignons sont résumés en annexe (tableau 08).

D'après les résultats concernant l'HE d'*Eucalyptus globulus*, on note les diamètres d'inhibition suivants : LMB20311 (39mm), LMB20308 (30mm), LMB2030A (28mm) et LMB20306 (27.5mm), ce qui signifie que les souches sont extrêmement sensible (+++).

Par contre, l'huile commercialisé n'a aucune activité antifongique (-) vis-à-vis les six souches testées. .

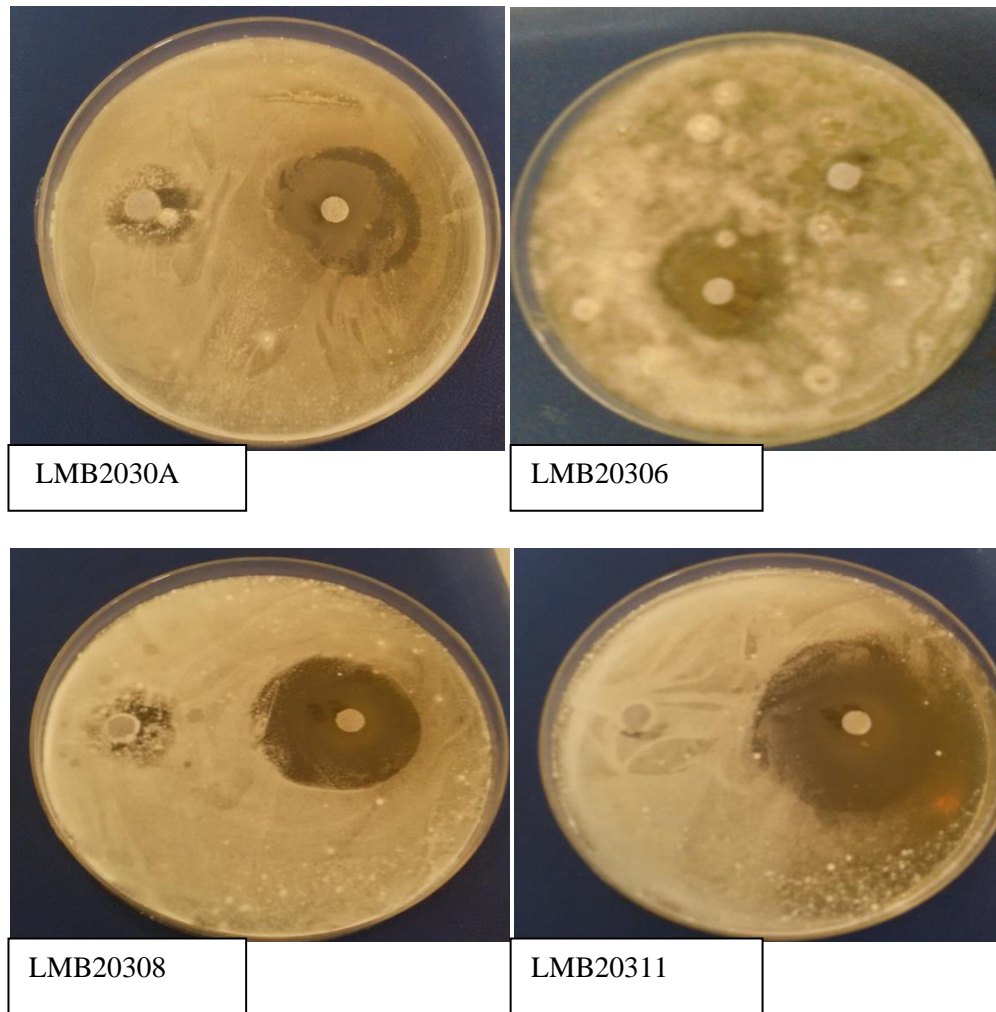


Figure 22 : Activité antifongique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* (disque à gauche pour l'HE commercialisée, à droite pour l'HE extraite)

2 .Levure

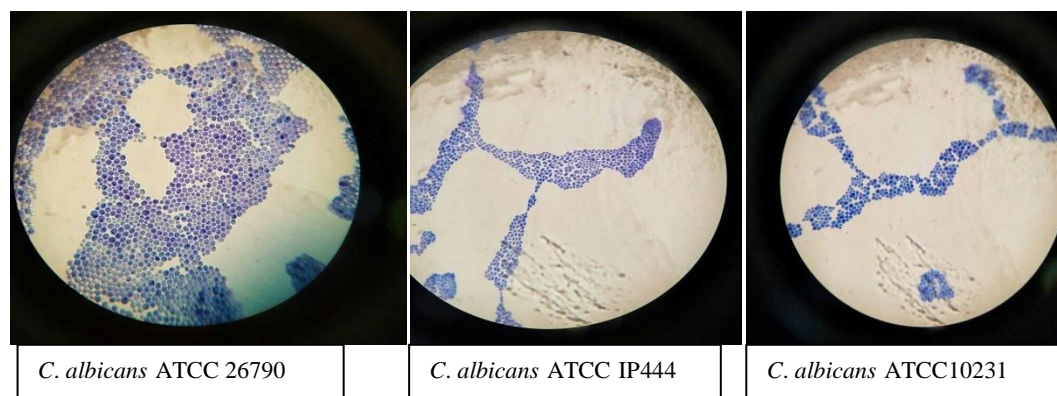


Figure 23 : Aspect microscopique des souches fongiques testées (Coloration au bleu de méthylène). Grossissement x40.

1.2.2.1. Effet antifongique de *Thymus Capitatus*

Les résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus* vis-à-vis des levures sont résumés en **annexe** (tableau 5)

Nous avons remarqués que toutes les souches sont extrêmement sensible (+++) à cette huile essentielle.

Par contre, concernant les huiles essentielles commercialisées aucune activité antifongique n'a été révélée (-) vis-à-vis les trois souches testées (Figure 24)

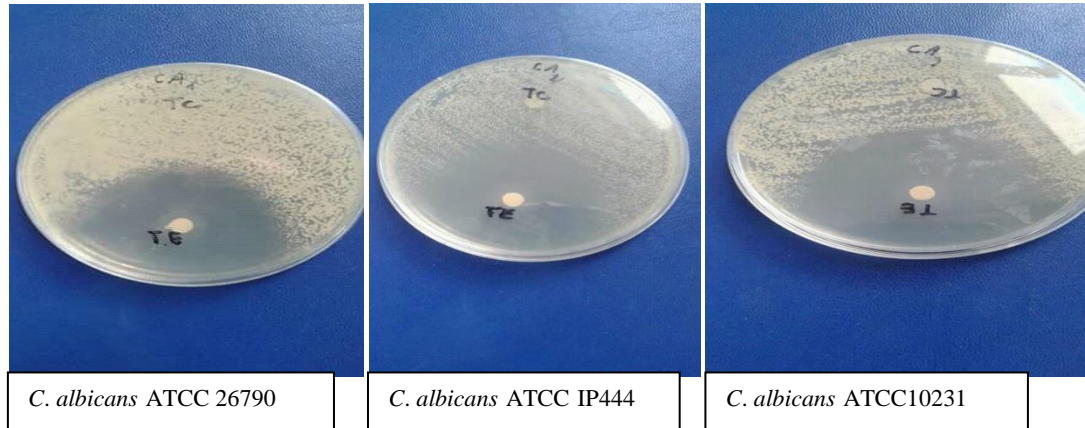


Figure 24: effet antifongique de l'huile essentielle de *Thymus capitatus*

1.2.2.2. Effet antifongique de *Rosmarinus officinalis*

Les résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis des levures sont résumés en **annexe** (Tableau 06).

D'après les résultats obtenus pour l'HE de *Rosmarinus officinalis* les diamètres d'inhibition étaient les suivants : *C. albicans* ATCC 26790 et *C. albicans* ATCC 10231 (15mm), ce qui signifie que les deux souches sont très sensibles (++). Par ailleurs, *C. albicans* ATCC IP444 était sensible (+) avec une zone d'inhibition de 10mm.

Par contre, les huiles essentielles commercialisées étaient sans aucune activité antifongique (-) vis-à-vis les trois souches testées (Figure 25).

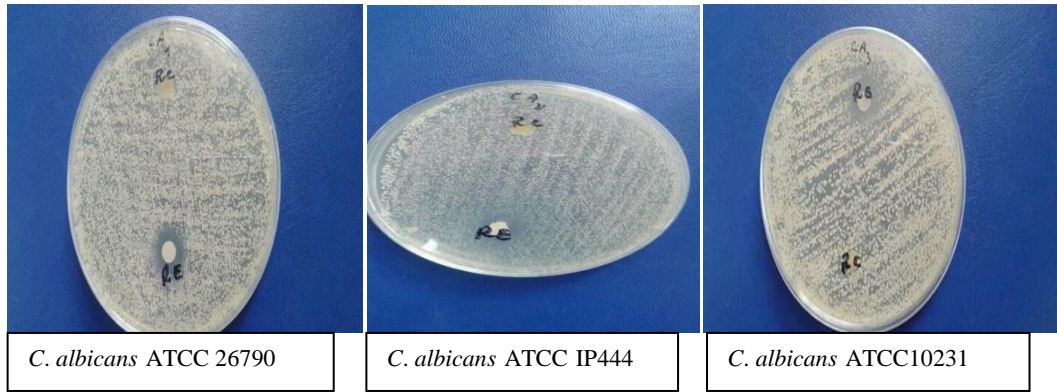


Figure 25 : Effet antifongique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

1.2.2.3. Effet antifongique d'*Origanum vulgare*

Les résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*Origanum* vis-à-vis des levures sont résumés en **annexe** (Tableau 07)

D'après les résultats concernant l'HE d'*Origanum vulgare* on note que les diamètres d'inhibition étaient comme suit : *C.albicans* ATCC 26790 (40mm), *C.albicans* ATCC IP444 (40mm) et *C.albicans* ATCC 10231(57.5mm) ce qui signifie que les souches sont extrêmement sensibles (+++).

Enfin, nous avons remarqués que l'huile commercialisée n'a aucune activité antifongique.

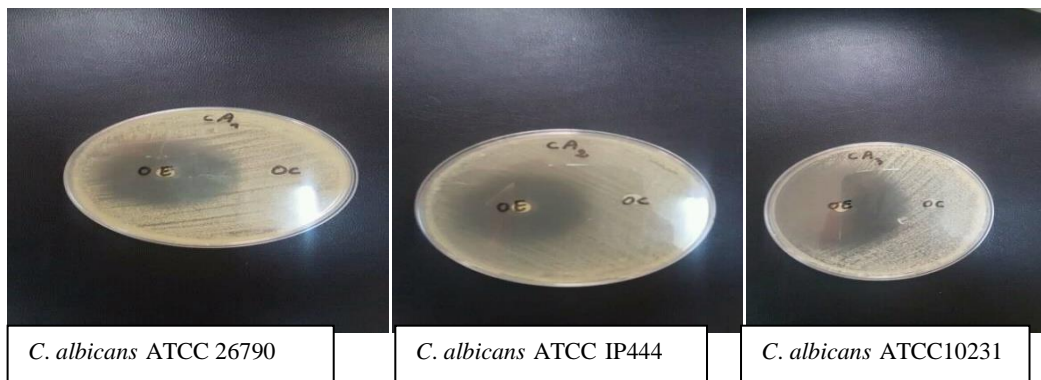


Figure 26 : Effet antibactérien de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*

1.2.2.4. Effet antifongique d'*Eucalyptus globulus*

Les résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*Eucalyptus* vis-à-vis des levures sont résumés en **annexe** (tableau 08).

Nous avons remarqués que toutes les souches sont extrêmement sensible (+++) à cette huile essentielle, Nous avons obtenu de très grandes zones d'inhibitions: C.

albicans ATCC 26790 (35mm), *C. albicans* ATCC IP444 (25 mm), *C. albicans* ATCC 10231 (30mm).

Par contre, pour l'huile commercialisée on observe aucune activité antifongique (-) vis-à-vis les trois souches que nous avons cités précédemment.

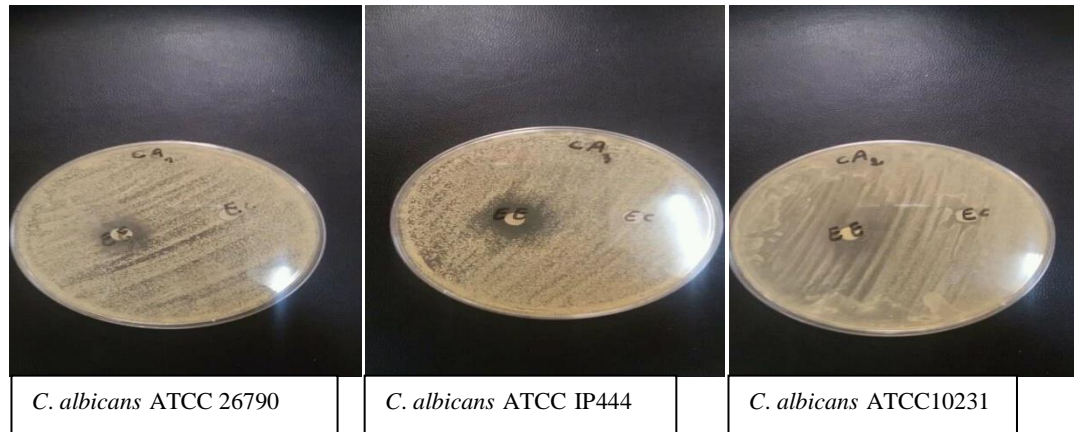


Figure 27 : Activité antifongique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*

CONCLUSION



Conclusion

Les huiles essentielles sont la quintessence des plantes. Leur composition biochimique constitue un ensemble de principes actifs qui permet de résoudre, dans certains cas, divers troubles organiques. Il est connu depuis l'antiquité que les huiles essentielles (HE) présentent une activité antiseptique non négligeable. Elles sont utilisées dans de nombreux domaines, en médecine, pharmacie, cosmétiques et en agro-alimentaire.

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre huiles provenant d'Egypte et commercialisées en tant qu'huiles essentielles en Algérie. L'effet de ces huiles a été comparé avec celui des huiles essentielles extraites dans le laboratoire. Ces dernières ainsi que les souches microbiennes utilisées nous ont été fournies par le laboratoire LAMAABE.

Selon les résultats obtenus par la méthode de diffusion sur milieu gélosé, nous avons constaté que les deux huiles essentielles extraites de *Thymus capitatus* et *Origanum vulgare* avaient une bonne activité antibactérienne car toutes les souches testées se sont avérées extrêmement sensibles dont les zones d'inhibition étaient de l'ordre de 25-50 mm et 25-45mm pour *T. capitatus* et *O. vulgare*, respectivement.

L'HE d'*Eucalyptus globulus* extraite avait une activité antibactérienne acceptable (zones d'inhibitions comprises entre 10 et 17,5 mm) contre les cinq souches testées excepté *Salmonella Typhimurium*, pour laquelle une faible activité était enregistrée (zone d'inhibition : 7.5mm)

L'HE de *Rosmarinus officinalis* extraite avait une bonne activité antibactérienne (zones d'inhibitions comprises entre 10 et 25 mm) contre les quatre souches à l'exception d'*Escherichia coli* et *Listeria monocytogenes* dont on ne note aucune activité antibactérienne.

Par ailleurs, les huiles essentielles extraites, avaient toutes, une activité antifongique considérable contre les moisissures et levures testées dans cette étude. Dans le cas des moisissures, les zones d'inhibition étaient de 40-75mm, 10-40mm, 55-70mm et 27,5-39mm vis-à-vis de *T. capitatus*, *R. officinalis*, *O. vulgare* et *E. globulus*, respectivement. Dans le cas des levures les trois souches de *Candida*

albicans se sont montrées sensibles vis-à-vis des huiles extraites avec des zones d'inhibition de 10-15mm pour *R. officinalis* et >20mm pour *T. capitatus*, *O. vulgare* et *E. globulus*.

Cependant, toutes les huiles commercialisées testées dans cette étude se sont avérées sans aucune activité antimicrobienne, bien au contraire, dans certains cas nous avons observé même une croissance microbienne sur les disques contenant ces huiles commercialisées.

Enfin nous souhaitons bien que les résultats préliminaires obtenus dans cette étude puissent être complétés par d'autres démarches plus approfondies sur la composition détaillées de ces huiles vendues dans le commerce algérien.

Référence bibliographique

A

Abadlla M, 2014. Etude des huiles essentielles de la plante mentha piperita et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires. Mémoire de master : Biologie végétal de Constantine, p30

Aghel N., Yamini Y., Hadjiakhoondi A. & Mahdi Pourmortasavi

S., 2004, Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium* L. essential oil *Talanta*, p. 407-411.

Amyris, 2008

Baudoux, Dominique. L'aromathérapie se soigner par les huiles essentielles. Bruxelles.

Anonyme 1 : <https://www.naturalmedicinefacts.info/plant/thymus-capitatus.html>

Anonyme 2 : <http://www.herbgarden.co.za/mountainherb/herbinfo.php?id=158>

Anonyme 3 : <https://www.plantrescue.co.nz/contact.html>

Anonyme 4 : <https://www.bio-enligne.com/alimentation/tisanes/feuilles-eucalyptus-bio.html>

Arvy M.P. & Gallouin F., 2003. Epices, aromates et condiments. Ed. Belin, Paris. 412 p.

Assan S, 1991. *Thesis Master.* Biochemistry., Ain Shams Univ.

Atik Bekkara et al (2007): Composition chimique de L'huile essentielle de

Romarin officinalis L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen.

Biologie & santé .7 :6-11.

Auzias D., Labourdette J, Lafont E et Metenier E., 2008. Petit futé. Tanzanie, Zanzibar. 4^{ème} éditions, p270.

Ayaidia M, 2011. Etude comparative de trois variétés d'huiles essentielles de menthe dans la région d'Ouargla. Mémoire de fin d'étude : science et technique d'Ouargla, p34.

B

Baba Aissa F., 1991. Les plantes médicinales d'Algérie: identification, description, principes actifs, propriétés et usage traditionnel des plantes communes en Algérie. Ed. Bouchène et Ad. Diwan, Alger. p: 121.

Basil A, Jimenez-carmonna M.M. & Clifford A.A., 1998, Extraction of rosemary by superheated water. *Journal of food chemistry*, p:5205-5209.

Belaiche P., 1979, L'aromatogramme, Traite de phytothérapie et d'aromathérapie, M.S.A. Editeur, Paris, Tome 1, p :204

Benariba Oum El Khir, Hadj Sayah (2015). Etude de quelques souches bactériennes et fongiques isolées de la Sebkhia d'Oran. Mémoire de Master, Université de Tahar Moulay de Saida.

Bialon M, Krzys'ko-Lupicka T, Koszalkowska M, Wieczorek PP (2014). The Influence of Chemical Composition of Commercial Lemon Essential Oils on the Growth of *Candida* Strains. *Mycopathologia* , 177:29–39.

Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M., Chaabouni MM., 2008, Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*, *Société Chimique de Tunisie*, p. 119 - 125.

Bruneton J., 1993,Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales, Tec & Doc,Lavoisier, Paris, p: 915.

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

Burt S ,2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods — A review. *International Journal of Food Microbiology* 94(3): 223–253

Boubrit .S, Boussad .N. Détermination "in vitro " du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'eucalyptus, myrte, clous de girofle et sarriette, et leur application à la conservation de la viande fraîche type hachée. – Consulté le 11 octobre 2016
http://www.memoireonline.com/10/11/4897/m_Determination-in-vitro--du-pouvoir-antibacterien-des-huiles-essentielles-deucalyptus-myrte-2.html

Bouhdid S, Idaomar M, Zihi A, et al. (2006) Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial

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

Bekhechi.C, Atik-Bekkara.F et Abdelouahid.D.E. (2008). Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie*, 6, 153-159.

C

Caillet,L,2009. Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de recherche en science appliquées a l'alimentation (RESALA), INRS-Institut Armand-Frappier.

Carson CF, Mee BJ, Riley TV ,2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46(6): 1914–1920

D

Dapkevicius A., Venskutonis R, Van Beek T.A. & Linssen J.P.H., 1998,Antioxydantactivity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbgrown in Lithuania. *Journal of Science Food and Agriculture*.p: 140-146.

Dayan F., Cantrell C.L., et Duke S.O.,2009. Natural products in crop protection. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17(12), 4022-4034.

Debillerbeck K.V.G., Roques C., Vanière P., et Marquier P, 2002. Activité antibactérienne et antifongique de produits a base d'huiles essentielles.

Delbano M.J. (2004). Flavonoid distribution the development of leaves, flower, stems and roots of *Rosmarinus officinalis*. Postulation of biosynthetic pathway. *J Agric food*, 32(16): 4987-92.

Deleveau P., Lorrain M., Mortier F., Rivolier C., Rivolier J., Sche Weitzer A.R., 1985, Secrets et vertus des plantes medicinales, Ed. Selection du Reader's Digest, Paris.

Deroin T., 1988, Biologie florale d'une Annonaceae introduite en Cote D'Ivoire : *Cananga* diagnosis and epidemiology of fungal infections, p: 249-257.

Dorman HJD, Deans SG ,2000, Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol* 88: 308–316

Duarte M.C.T., Fingueira G.M., Sartoratto., Rehder V.L.G and Delarmelina C,2005.Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(2), 305-311.

Dupont F, Guignard JL et Botanique, 2007. systématique moléculaire, Issy-les-Moulineaux: Masson, p :285.

E

Edrissi A., 1982. Thèse de troisième cycle: Etude des huiles essentielles de quelques Espèces *Salvia*, *Lavandula* et *Mentha* du Maroc, Faculté des Sciences de Rabat, Maroc, 1982,18-22.

Elisabeth L, 2005,thèse sur : Extraction sans solvasnt assistée par Microondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles, université de la reunion, ,P 59-71.

El ouali lalami A,2013.Le thym vu au microscope - Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques *Thymus vulgaris* et *Thymus satureioidis*.

F

Figueredo G., 2007. Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (*Lamiaceae*) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse de Doctorat, Université Clermont-Ferrand, France.

G

Gámiz-Gracia L. et Luque de Castro M.D., 2000, Continuous subcritical water extraction of medicinal plant essential oil: comparison with conventional techniques, *Talanta*, p:1179-1185.

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

Gurrouf A, 2017 . Application des huiles essentielles dans la lutte microbiologique cas d'un cabinet dentaire. Ouaregla, 01/06/2017.P11-15

Ghedira K., Goetz P., Le jeune R. (2008) : Eucalyptus globulus labill, monographie médicalisée
Phytothérapie 6 : 197-200

Ghedira K; Goetz P et Le jeune R, 2010. *Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry (Myrtaceae), Giroflier. Formation continue. Matière médicale pratique. Springer-Verlag France.

H

Hurtel J, 2001. Phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie, huiles essentielles.

Hurtel JM., 2006. Huiles essentielles et Médecine. Aromathérapie et santé. (Consulter le 02/09/2014) sur: www.phytomania.com

I

Iserin

P, 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. Ed : Larousse Bourdasse. Paris. P335.

Isman M.B, 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop protection*, 19(8), 603-608.

J

Jahandiez E. et Marie R., 1934 . Catalogues des plantes du Maroc, Spermatophytes et ptérydophytes. Tome III, P. Lechevalier, librairie 12, rue de Tournon VIe, Alger-Paris. 1934, 42.

Jean-Luc, 1991. Les huiles essentielles: synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Paris : Frison-Roche, **Jean**

V | Docteur Valnet aromathérapie. [en ligne]. [Consulté le 31 octobre 2014]. Disponible à l'adresse : <http://www.docteurvalnet.com/hst-drvalnet.php>

Journal of Ethnopharmacology, **2007**, 111, 341-364

Journal officiel de l'Union européenne, 2008 règlement (CE) No1334/2008 du parlement Européen et du conseil du 16 décembre 2008.

Journal officiel de l'Union européenne, 2009 L342/59 règlement (CE) No1223/2009 du parlement Européen et du conseil du 30 novembre 2009.

Journal officiel de l'Union européenne, 2012 (Actes législatifs) règlement (UE) No528/2012 du parlement Européen et du conseil du 22 mai 2012.

K

Kim N.S. et Lee D.S., 2002, Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography* . 98, p. 31-47.

Koba K.,

Sanda K., Raynaud C., Nenonene Y.A., Millet J. et Chaumont J.P,2004. Activités antimicrobienne d'huile essentielle de trios *Cymbopogon sp.* Africains vis-à vis de germe pathogène d'animaux de compagnie. Ann. Méd. Vét. 148 : 202-206 **Kurita, Koike,1982.** Systematic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils componements. Agric. Biol. Chem., p 46-159-165.

Kerdudo A., Kerdudo A., De O., Kerdudo A., Antipolis N.S. & Directeur C., 2015. Optimisation de la conservation des cosmétiques : impact de la formulation, recherche de nouveaux conservateurs naturels , encapsulation. *Thèse.*

Kalemba D and Kunicka A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current medicinal chemistry, 10, 813-829.

L

Laredj

H,2004. Les plantes médicinales: Extracti on des huiles essentielles et activités antibactériennes. Premières journées de pharmacie. Université, Badji Mokhtar -Faculté de Médecine, Annaba (Algérie),p17-29

Legrand G., 1978, Manuel

préparatoire en pharmacie, 8éme Edition, Ed. Masson, Paris. **Luque de Castro M.D. et**

Jiménez-Carmona M.M., 1998, Conventional techniques for the isolation of valuabales essential oils, Trends Anal. Chem., p. 441.

Le service public de la diffusion du droit France, 2011 Code de la santé publique -Article L5121-14-1 **LOI n°2011-2012 du 29 décembre 2011 - art. 5**

Le service public de la diffusion du droit France, 2014 Code de la consommation - Article L111-1 **LOI n°2014-344 du ,17 mars 2014 - art. 6 (V).**

M

Maihebiau P., 1994,La nouvelle aromathérapie: biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs, Lausanne,p. 635.

Mann J., 1987, Secondary metabolism, Clarendon Press, Oxford, p. 374.

Maurice N., 1997, De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIesiècle, Ed : Lavoisier, Paris,p. 12- 14

Mautrait C. et Raoult R., 2009., la préparation : mode d'emploi (officine, sous-traitance et BP), 2éme édition, Porphyre France,p. 468.

Murcia-Meseguer A, J. S. Alves T, Budia F, Ortiz A, Medina P (2018). Insecticidal toxicity of thirteen commercial plant essential oils against *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). Phytoparasitica, 46:233–245.

N

Nathalie K. Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora* : qualité, efficacité et toxicité. UNIVERSITE DE LORRAINE 2015,49P.

Nisrin B, 2008 .Thèse sur: les huiles essentielles extraite par plantes médicinales marocaine : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées, Université Mohammed V– Agdal de Rabat, Novembre 2008, 13-30.

O

Ozel M.Z.,

Gogus F. et Lewis A.C., 2003, Subcritical water extraction of essential oils from *Thymbra spicata*, *Food Chemistry* 82, p. 381-386.

P

Padrini F.

et Lucheroni M.T., 1997, La nature des huiles essentielles, Ed. Dexecchi.

Petitjean A., 1974, These de doctorat d'Etat, Montpellier, p.118.

Philippe Jean-Marie, 1993.Le guide de l'apiculture, La Calade: Edisud.

Pibiri M.C,

2006, Assainissement microbiologique de l'air et des systemes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, Thèse de Doctorat, Lausanne, Canada, p.77

Pierangeli, G., Vital, G. and Windell, R., 2009, Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Chromolaena odorata* (L. f.) King and Robinson and *Uncaria perrottetii* (A. Rich) Merr. Extracts. *J. Medicinal Plants Res.* **3(7)**, p. 511-518

Ponce AG, Fritz R, Del Valle C, Roura SI (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologic.* 36, 679-684.

Povh P, Marcia M, Angela A., 2001. *J. of Supercritical Fluids* 21, 245-256.

Q

Quezel P., Santa S(1963): Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, CNRS, Paris, (1963) : pp 600.

R

Richard H. et Peyron F., 1992, Epices et aromates, Ed .Tec & Doc-Lavoisier, Paris, p. 339.

POOLE K. (2001). Multidrug resistance in Gram negative bacteria. *Current Opinion in Microbiology*, 4, 500-508.

S

Scalia S, Giuffreda L, Pallado P, 1998. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 21: 549-558.

Scaria J, Palaniappan R, Chiu D, Ann Phan J, Ponnala L, McDonough P, Grohon Y, Porwollik S, McClelland M, Chiou C, Chu C, Chang Y-F.:(2008). Microarray for molecular typing of *Salmonella enteric* serovars, *Molecular and Cellular Probes*, 22p, 238-243.

Schauenberg P. et Paris F., 2010, Guide des plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes, Ed. Delachaux et Niestlé, p.396.

Skandamis PN, Nychas G-JE, 2001. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal of Applied Microbiology* 91: 1011–1022

Slimani.N et Dahmane.M ; « Effet des huiles essentielles extraites à partir des feuilles de *Mentha Spicata*, *Mentha pulegium*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia citriodora*, *Ocimum basilicum* sur quelques bactéries pathogènes » ; thèse de master ; université de Hassiba Ben Bouali-Chlef ; 2013.

T

Taleb-Toudert.K ; « Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de *Aloysia Triphylla*. Evaluation in vitro de son effet sur la croissance de certains agents pathogènes de l'homme » ; thèse de master ; 2002.

Teuscher E., Anton R. & Lobstein A., 2004. Plantes aromatiques: Épices, aromates condiments et huiles essentielles. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

Teuscher E., Anton R., Lobstein A., 2005. Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles, Ed. Française Tec & Doc., Lavoisier.

Treiner J., 2000. Extrait du Bulletin officiel n° 6 du 12 août 1999, France. 39-143.

U

USDA, 2010. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service, Beltsville Area.

W

Wagenvoort JHT, Werink TJ, Gronenschild JMH, Davies BJ. Optimisations of detection and yield of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Phage type III-29. *Infect Control Hosp Epidemiol* .1996, 17: 208-9.

Wichtl M. et Anton R., 1999. Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinales, sciences et thérapeutique, Ed. Tec et Doc.

Annexe I: Composition des milieux de culture.

PDA (Potatoes Dextrose agar)

Dextrose (ou saccharose).....	10 g
Agar.....	20 g
Eau distillée.....	1000 ml

Mueller-Hinton

Infusion de viande de boeuf.....	300 ml
Hydrolysate acide de caséine.....	17.5g
Amidon.....	01.5g
Agar	17g

Eau distillée.....1000ml

Gélose nutritive

Extrait de levure.....2 g

Extrait de viande.....1g

Peptone.....

gNacl.....5g

Eau distillée.....1000 ml

Agar agar.....20g

5

Sabouraud

D.Glucose.....20 g

Peptone.....10 g

Extrait de levure.....3g

Agar agar.....15 g

Eau distillée.....1000 ml

Bouillon nutritif

Extrait de levure.....2 g

Extrait de viande.....10g

Peptone..... 5 g

Glucose.....20 g

Nacl.....5g

Eau distillée.....1000 ml

Eau physiologique

Na Cl.....9 g

Eau distillée..... 1000 ml

Annexe II: Résultats d'activité antibactérienne

Tableau 1: Les diamètres d'inhibition relatifs aux souches testées par l'huile de

Thym

Diamètre de la zone d'inhibition « D » en mm		
Huile souche	H. essentielle	H.commercialisé
<i>Staphylococcus aureus</i>	50	0
<i>Salmonella thyphimurium</i>	45	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	40	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35	0
<i>Bacillus cereus</i>	30	0
<i>E. coli</i>	25	0

Tableau 2: Les diamètres d'inhibition relatifs aux souches testées par l'huile de *Rosmarinus officinalis*

Diamètre de la zone d'inhibition « D » en mm
--

Huile souche	H. essentielle	H.commercialisé
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	0
<i>Salmonella thyphimurium</i>	10	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15	0
<i>Bacillus cereus</i>	25	0
<i>E. coli</i>	0	0

Tableau03: Les diamètres d'inhibition relatifs aux souches testées par l'huile de d'*Origanum*

Diamètre de la zone d'inhibition « D » en mm

Huile souche	H. essentielle	H.commercialisé
<i>Staphylococcus aureus</i>	45	0
<i>Salmonella thyphimurium</i>	30	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	45	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25	0
<i>Bacillus cereus</i>	30	0
<i>E. coli</i>	30	0

Tableau04: Les diamètres d'inhibition relatifs aux souches testées par l'huile de *Eucalyptus globulus* :

Diamètre de la zone d'inhibition « D » en

		mm	
Huile souche	H. essentielle	H.commercialisé	
<i>Staphylococcus aureus</i>	17.5	0	
<i>Salmonella thyphimurium</i>	7.5	0	
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	0	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13.5	0	
<i>Bacillus cereus</i>	11	0	
<i>E. coli</i>	13	0	

Annexe III: Résultats d'activité antifongique

Tableau 05: Les diamètres d'inhibition relatifs aux souches testées par l'huile de *Thym*

		Diamètre de la zone d'inhibition « D » en mm	
Huile souche	H. essentielle	H.commercialisé	
LMB2030A	65	0	
LMB20306	75	0	
LMB20308	45	0	
LMB20311	40	0	
<i>C.albicans</i> ATCC 26790	50	0	
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	50	0	
<i>C.albicans</i> ATCC IP444	55	0	

Tableau 06: Les diamètres d'inhibition relatifs aux souches testées par l'huile de *Rosmarinus officinalis*

Diamètre de la zone d'inhibition « D » en mm		
Huile souche	H. essentielle	H.commercialisé
LMB2030A	10	0
LMB20306	40	0
LMB20308	20	0
LMB20311	10	0
<i>C.albicans</i> ATCC 26790	15	0
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	10	0
<i>C.albicans</i> ATCC IP444	10	0

Tableau07: Les diamètres d'inhibition relatifs aux souches testées par l'huile de *Origanum*

Diamètre de la zone d'inhibition « D » en mm		
Huile souche	H. essentielle	H.commercialisé
LMB2030A	60	0
LMB20306	55	0
LMB20308	65	0
LMB20311	70	0
<i>C.albicans</i> ATCC 26790	40	0
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	40	0
<i>C.albicans</i> ATCC IP444	57.5	0

Tableau08: Les diamètres d'inhibition relatifs aux souches testées par l'huile de *Eucalyptus globulus* :

Diamètre de la zone d'inhibition « D » en mm		
Huile souche	H. essentielle	H.commercialisé
LMB2030A	28	0
LMB20306	27.5	0
LMB20308	30	0
LMB20311	39	0
<i>C.albicans</i> ATCC 26790	35	0
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	25	0
<i>C.albicans</i> ATCC IP444	30	0