



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :
N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Ecologie et environnement

Spécialité : Sciences de l'environnement

Par : BENDARA Abdelkader

Thème

Extraction des huiles essentielles de deux
plantes médicinales : *Artemisia herba alba* et
Cleome amblyocarpa

Soutenu publiquement le : .../.../2013

Devant le jury :

M. KEMASSI A	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	Président
M. MEHANI Mouna	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	Encadreur
M. HAMID OUDJANA A	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	Examineur
M. BENBEKHTI Z	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	Examineur

Année universitaire 2013/2014



Dédicace

Je dédie ce travail à:

*Mes très chers parents qui m'ont toujours
encouragé et que dieu les protège.*

Mes chers soeurs.

Toute ma famille paternelle et maternelle

Touts mes ami(e)s

Touts mes collegues

Toute la promotion 2013/2014

✧ ABDELKADER ✧



Remerciement

Nous remercions « deui » avoir offert les capacités d'apprendre les sciences qui sont effectivement la lumière de la vie des hommes dans son ensemble.

Que ces quelques lignes soient l'expression de notre profonde reconnaissance aux personnes qui vents :

Nous tenons à présenter nos remerciements les plus sincères à notre promotrice Mme Mehani Mouna pour ses orientations, ses conseils précieux et son perpétuel dévouement.

Grand et respectueux remerciement va a KEMASSI A d'avoir accepté de présider le jury de mon mémoire. Je vous remercie surtout pour votre entretien, vos conseils ainsi que vos précieuses discussions.

Merci aux membres du jury M^{me} HAMID OUDJANA A et Mr BENBEKHTI Z pour leur présence nécessaire et utile au sein du jury.

Enfin, nous témoignons notre reconnaissance à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de notre mémoire, surtout Melle Talli Alia, Bensemaoune Yousef, Et chef département Mr Ben Brahim Fouzi.



Sommaire

Sommaire

Sommaire

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Chapitre I : Etude bibliographique

I.1.	Plante medicinale.....	3
I.1.1.	Définition.....	3
I.2.	Plante aromatiques.....	3
I.2.1.	Définition.....	3
I.3.	Les huiles essentielles.....	3
I.3.1.	Composition chimique des huiles essentielles.....	4
I.3.1.1.	Composés terpéniques.....	4
I.3.1.2.	Composés aromatiques.....	5
I.3.1.3.	Composés d'origines diverses.....	5
I.3.2.	Caractéristique physico-chimique des huiles essentielles.....	6
I.3.3.	Rôle biologique des huiles essentielles.....	6
I.3.4.	Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	7
I.3.4.1.	En pharmacie.....	7
I.3.4.2.	En industrie alimentaire.....	7
I.3.4.3.	En parfumerie et cosmétologie.....	7
I.3.4.4.	En aromathérapie.....	8
I.3.4.5.	En médecine dentaire.....	8
I.3.5.	Répartition et localisation des huiles essentiell.....	8
I.4.	Mode d'obtention des huiles essentielles.....	9
I.4.1.	La technique de la pression.....	9
I.4.2.	Extraction par solvants.....	10
I.4.2.1.	Extraction par solvants volatils.....	10
I.4.2.2.	Epuisement par solvants fixes.....	10
I.4.2.2.1.	Effleurage ou extraction par la graisse froide.....	10
I.4.2.2.2.	Extraction par macération dans la graisse chaude.....	11
I.4.3.	Distillation.....	11
I.4.3.1.	Hydrodistillaiton.....	11
I.4.3.2.	Entraînement à la vapeur d'eau (ou Vapo-hydrodistillation).....	11
I.4.4.	Autres procédés d'extraction.....	12
I.4.4.1.	Hydrodiffusion.....	12
I.4.4.2.	Extraction assistée par micro-ondes.....	12
I.4.4.3.	Extraction à l'eau surchauffée.....	12
I.4.4.4.	Distillation par extraction simultanée (SDE).....	12
I.5.1.	Activité biologique des huiles essentielles.....	13

Chapitre II : Matériel et méthode

II.1.	Principe adopté	14
II.1.1.	Région	14
II.2.	Situation géographique	14
II.3.	Matière	15
II.3.1.	Matière végétale.....	15
II.3.1.1.	<i>Artemisia herba alba</i>	15
II.3.1.1.1.	Description botanique.....	15
II.3.1.1.2.	Position systématique.....	16
II.3.1.1.3.	Répartition géographique.....	16
II.3.1.1.4.	Utilisation.....	16
II.3.1.2.	<i>Cleome amblyocarpa L.</i>	17
II.3.1.2.1.	Description botanique.....	17
II.3.1.2.2.	Position systématique.....	17
II.3.1.2.3.	Utilisation	18
II.3.2.	Matière biologique.....	18
II.3.2.1.	<i>Escherichia coli</i> (colibacille)	18
II.3.2.1.1.	Définition.....	18
II.3.2.1.2.	Position systématique.....	18
II.3.2.1.3.	Habitat.....	19
II.3.2.1.4.	Caractéristiques.....	19
II.3.2.1.5.	Pouvoir pathogène et toxicité.....	19
II.3.2.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	19
II.3.2.2.1.	Définition.....	19
II.3.2.2.2.	Position systématique.....	20
II.3.2.2.3.	Habitat.....	20
II.3.2.2.4.	Caractéristiques.....	20
II.3.2.2.5.	Pouvoir pathogène et toxicité.....	21
II.3.2.3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
II.3.2.3.1.	Définition.....	21
II.3.2.3.2.	Position systématique.....	21
II.3.2.3.3.	Habitat.....	22
II.3.2.3.4.	Caractéristiques.....	22
II.3.2.3.5.	Pouvoir pathogène.....	22
II.3.2.4.	<i>Proteus vulgaris</i>	22
II.3.2.4.1.	Définition.....	22
II.3.2.4.2.	Position systématique.....	23
II.3.2.4.3.	Habitat.....	23
II.3.2.4.4.	Caractéristiques.....	23
II.3.2.4.5.	Pouvoir pathogène.....	23
II.4.	Matériel du laboratoire.....	24
II.4.1.	Méthode.....	24
II.4.1.1.	Préparation des extraits végétaux.....	24
II.4.1.1.1.	Hydrodistillation	24
II.4.1.1.2.	Rendement	25
II.4.1.2.	Suivie de l'activité antimicrobienne des extraits.....	25
II.4.1.2.1.	Préparation du milieu.....	25
II.4.1.2.2.	Préparation de l'inoculum.....	26
II.4.1.2.3.	Ensemencement.....	27

II.4.1.2.4.	Dépôt des disques.....	27
II.4.1.2.5.	Analyse d'antibiogramme.....	28

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1.	Rendement des huiles essentielles.....	29
III.2.	Activité antimicrobienne des huiles essentielles de la plante <i>Artemisia.herba alba et Cleome amblyocarpa L</i>	29
III.2.1.	Activité antimicrobienne pour les huiles essentielles de la plante <i>Artemisia.herba alba</i>	30
III.2.1.1.	<i>Escherichia coli</i>	31
III.2.1.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	31
III.2.1.3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
III.2.1.4.	<i>Proteus vulgaris</i>	32
III.2.2.	Activité antimicrobienne pour les huiles essentielles de la plante <i>Cleome amblyocarpa L</i>	33
III.2.2.1.	<i>Escherichia coli</i>	33
III.2.2.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	34
III.2.2.3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34
III.2.2.4.	<i>Proteus vulgaris</i>	35
III.3.	Activité antimicrobienne des hydrola de la plante <i>Artemisia.herba alba et Cleome amblyocarpa L</i>	35
III.3.1.	Activité antimicrobienne des hydrola de la plante <i>Artemisia.herba alba</i>	36
III.3.1.1.	<i>Escherichia coli</i>	37
III.3.1.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	37
III.3.1.3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38
III.3.1.4.	<i>Proteus vulgaris</i>	38
III.3.2.	Activité antimicrobienne des hydrola de la plante <i>Cleome amblyocarpa L</i>	39
III.3.2.1.	<i>Escherichia coli</i>	39
III.3.2.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	39
III.3.2.3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
III.3.2.4.	<i>Proteus vulgaris</i>	40
Conclusions Générale		43
Référence bibliographique		
Annexe		

Liste des Figures

Figure	Titre	Page
1	Situation géographique de la wilaya de Ghardaia (Source:NET)	14
2	Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition (mm)	30
3	Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition (mm)	36

List de tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Familles botaniques avec les organes sécréteurs des huiles essentielles ainsi que quelques exemples de végétaux	9
2	Résultats d'étude d'activité antimicrobienne d'extraits des huiles essentielles de <i>la plante Artemisia.herba alba et Cleome amblyocarpa L</i>	30
3	Résultats d'étude d'activité antimicrobienne d'extraits des hydrola de <i>la plante Artemisia.herba alba et Cleome amblyocarpa L</i>	36

Liste des Photos

Photos	Titre	Pages
1	<i>Artemisia.herba alba</i>	15
2	<i>Cleome amblyocarpa L</i>	17
3	Montage d'hydrodistillation	25
4	Etape de préparation de milieu de culture	26
5	Etapes de préparation de l'inoculum	27
6	Etape d'ensemencement	27
7	Etape de dépôt des disques	28
8	Aromatogramme <i>Escherichia coli</i> pour l'huile <i>Artemisia.herba alba</i>	31
9	Aromatogramme <i>Staphylococcus aureus</i> pour l'huile <i>Artemisia.herba alba</i>	31
10	Aromatogramme <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pour l'huile <i>Artemisia.herba alba</i>	32
11	Aromatogramme <i>Proteus vulgaris</i> pour l'huile <i>Artemisia.herba alba</i>	33
12	Aromatogramme <i>Escherichia coli</i> pour l'huile <i>Cleome amblyocarpa L</i>	33
13	Aromatogramme <i>Staphylococcus aureus</i> pour l'huile <i>Cleome amblyocarpa L</i>	34
14	Aromatogramme <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pour l'huile <i>Cleome amblyocarpa L</i>	34
15	Aromatogramme <i>Proteus vulgaris</i> pour l'huile <i>Cleome amblyocarpa L</i>	35
16	Aromatogramme <i>Escherichia coli</i> pour l'hydrola <i>Artemisia.herba alba</i>	37
17	Aromatogramme <i>Staphylococcus aureus</i> pour l'hydrola <i>Artemisia.herba alba</i>	37
18	Aromatogramme <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pour l'hydrola <i>Artemisia.herba alba</i>	38
19	Aromatogramme <i>Proteus vulgaris</i> pour l'hydrola <i>Artemisia.herba alba</i>	38
20	Aromatogramme <i>Escherichia coli</i> pour l'hydrola <i>Cleome amblyocarpa L</i>	39
21	Aromatogramme <i>Staphylococcus aureus</i> pour l'hydrola <i>Cleome amblyocarpa L</i>	39
22	Aromatogramme <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pour l'hydrola <i>Cleome amblyocarpa L</i>	40
23	Aromatogramme <i>Proteus vulgaris</i> pour l'hydrola <i>Cleome amblyocarpa L</i>	40

Liste des abréviations

HE	Huile Essentielle
PM	Plantes Médicinales
MH	Mueller Hinton
R	Rendement

Introduction

Introduction

Introduction

Un grand nombre de plante aromatique médicinales, des plantes épices et autres possèdent des propriétés biologiques très intéressantes qui trouvent une application dans divers domaines à savoir en médecine pharmacie cosmétologie et l'agriculture.

Cependant l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme antioxydant et antimicrobienne demeure une tâche très intéressante et utile en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquentes ou non connues dans la médecine et les traditions médicinales folklorique. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs. En effet les métabolites secondaires font et reste l'objet de nombreuses recherche in vivo comme in vitro notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels les composés phénoliques les saponosides et les huiles essentielles. (BURT., 2004)

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatiles isolées des plantes par hydro distillation ou par expression mécanique (BURT., 2004)

Le rôle physiologique des huiles essentielles pour le règne végétal est encore inconnu. Cependant la diversité des métabolites qu'elles contiennent leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés. De nombreuses huiles essentielles présentent un pouvoir antioxydant anti-inflammatoire antifongiques et anti-tumorales (MBAREK *et al.*, 2007)

La lutte biologique est une discipline scientifique basée sur les connaissances de la biologie de chacun des organismes impliqués mais aussi sur la prise en compte des relations complexes qui s'instaurent entre ces organismes. Pour mettre en place des programmes de lutte biologique, il est donc nécessaire de comprendre et évaluer les interactions entre organismes vivants ainsi que les interactions environnementales. Il faut aussi améliorer la connaissance de la biodiversité et des spécificités d'hôte et apprendre à gérer les diverses populations en présence (LYDIE, 2010).

Les ravageurs peuvent être des insectes, des arachnides (comme les tétranyques), des micro-organismes causant des maladies mais également des plantes comme certaines mauvaises herbes. Ils sont essentiellement des ravageurs de cultures (agricole, sylvicole ou horticole) en champ et post-récolte mais n'y sont pas restreint. L'utilisation de la lutte biologique peut aussi viser d'autres ravageurs, comme par exemple les insectes piqueurs afin de limiter la propagation de maladies (ex : virus du Nil occidental ou malaria ou les plantes invasives pouvant menacer la biodiversité (ex : *Salicaire pourpre*, *Lythrum salicaria Linnaeus*) (NOEMIE., 2010).

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes de la résistance bactérienne et de l'oxydation des aliments. Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien et antioxydant. Ainsi les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles possèdent de nombreuses activités biologiques. Selon les travaux d'OCHOA (2005); FREEMAN et CAREL (2006), ces activités sont liées essentiellement à la composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires de ces extraits et à leurs effets synergiques (BRUNETON., 1999).

Par ailleurs et dans le but de promouvoir la valeur commerciale de plantes *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L* et l'étude de l'activité antimicrobienne de huile essentielle permettre de mettre en évidence la qualité de cette huile. La présente étude comporte trois parties. La première partie est consacrée aux études bibliographiques incluant : des généralités sur les métabolites secondaires exactement les huiles essentielles. Dans la seconde partie de notre étude, la méthodologie est représentée par les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail suivie des principaux résultats et leurs discussions. L'étude est achevée par une conclusion générale et des perspectives

Chapitre I : Etude bibliographique

Chapitre I : Etude bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Plante médicinale

1.1. Définition

Les plantes médicinales (PM) sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (ROKIA, 2006).

2. Plante aromatiques

2.1. Définition

La définition des plantes aromatiques est simple, si on se réfère au dictionnaire, ce sont des plantes produisant des aromates, autrement dit des composés parfumés.

Elles rejoignent la cohorte des « herbes », terme par lequel on désignait autrefois toutes les plantes utiles à la cuisine, à la parfumerie, à la médecine, à l'agrément, et qui n'étaient pas toutes parfumées.

Elles avaient un rôle d'insecticide, entraient dans la préparation de la lessive et certaines étaient même parées de vertus magiques, bénéfiques ou maléfiques (BELYAGOUBI, 2008).

3. Huiles essentielles

La norme AFNOR (association Française de Normalisation, Norme) NF T 75-006 définit l'huile essentielle et appelée aussi essences, comme « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par Hydrodistillation » (ADOLPHE, 2012). Sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes (BEKECHI et ABDELOUAHIDI, 2010). Le terme « Huiles essentielles » est un terme générique qui désigne les composants liquides et hautement volatiles des plantes, marqués par une forte et caractéristique odeur (FANNY, 2008). L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques, par exemple la décantation, par l'utilisation d'un solvant plus volatil que l'eau (éther di éthylique, pentane, ...etc.) (ADOLPHE, 2012).

Les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes Comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages. Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes (mono terpènes,

sesquiterpènes,...etc). Il est admis que l'effet de ces composés purs peut être différent de celui obtenu par des extraits de plantes (BEKECHI et ABDELOUAHIDI, 2010). Environ cinquante familles végétales, soit 10 % des végétaux supérieurs, contiennent des principes aromatiques ou essences. Dans la plante, les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs (Origan), feuilles (Citronnelle, Eucalyptus), écorces (Cannelier), bois (Bois de rose, de santal), racines (Vétiver), rhizomes (Acore), fruits (Badiane) ou graines (Carvi) (ADOLPHE., 2012). il est important distinguer entre les huiles essentielles, les huiles fixes (huile d'Olive,...ect) et les graisses contenues dans les végétaux, En effet : Seules les huiles essentielles sont volatiles, Elles se distinguent des huiles fixes par leur composition chimique et leur caractéristique physique, Elles sont fréquemment associées à d'autres substances comme les gommages et les résines (BEKECHI et ABDELOUAHIDI, 2010).

3.1. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique d'une huile essentielle est assez complexe, on y trouve généralement de nombreux constituants appartenant principalement à deux grandes familles chimiques: les composés terpéniques et les composés aromatiques, dérivés du phénylpropane (CHAMI, 2005).

3.1.1. Composés terpéniques

Selon MALECKY en 2007 des composés terpéniques sont constitués par :

- Les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$) ;
- Les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$) ;
- Les diterpènes ($C_{20}H_{32}$) ;
- Les polyterpènes (C_5H_8) .

Dans le cas des huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus Volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : mono- et Sesquiterpènes. Même les diterpènes ont un point d'ébullition peu élevé qui détermine leur caractère volatil, ainsi les monoterpènes constituent, souvent avec les sesquiterpènes et les diterpènes, la plus grande partie des huiles essentielles (BELYAGOUBI, 2012).

3.1.2. Composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane ont une biogenèse différente de celle des terpènes. Les dérivés du phénylpropane (C₆-C₃) sont beaucoup moins fréquents que les précédents, très souvent des allyl- et propénylphénols, parfois des aldéhydes.

On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés C₆-C₁ comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'antranilate de méthyle (BEKECHI et ABDELOUAHIDI, 2010). Selon BOUGEURRA et ZEGHOU en 2008 les composés aromatiques et ces dérivés du phénylpropane sont présents dans les huiles essentielles, sont :

- Acide cinnamique (dans l'essence de Cannelle) ;
- Eugénol (chez le Girofle) ;
- Anéthol et aldéhyde anisique (chez l'Anis) ;
- Esters et les produits soufrés (dans les essences de la Lavande) .

Les lactones dérivées des Acides cinnamiques (les Coumarines) étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînaibles par la vapeur d'eau, elles seront également présentes dans certaines huiles essentielles (BELYAGOUBI, 2012).

3.1.3. Composés d'origines diverses

Il s'agit là de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles (composés issus de la dégradation d'acides gras ou de terpènes, autres composés). Ces composés contribuent souvent aux arômes de fruits. Compte tenu de leur mode de préparation, les concrètes et les absolues peuvent en renfermer. Il en est de même pour les huiles essentielles lorsqu'ils sont entraînaibles par la vapeur d'eau (BELYAGOUBI, 2012).

La composition chimique des huiles essentielles varie avec le milieu et l'saison de la végétation. Elle Peut aussi se modifier au cours de l'extraction et durant la conservation (BELYAGOUBI, 2012).

3.2. Caractéristique physico-chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante et très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau ; elles sont entraînaibles à la vapeur d'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée.

Les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles alimentaires. Elles sont solubles dans l'alcool et dans l'huile, mais pas dans l'eau. Ce sont des substances odorantes. Une huile essentielle n'a rien à voir avec une huile végétale obtenue par pression.

Elle ne contient en effet pas de corps gras, leur point d'ébullition varie de 160° à 240°C.

Ce sont parfums, et sont de conservation limitée.

Elle dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels.

Elles sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas).

Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire rétinoides.

A température ambiante, elles sont généralement liquides. (BOUGURRA et ZEGHOU, 2008).

3.3. Rôle biologique des huiles essentielles

La fonction biologique des terpénoïdes des huiles essentielles demeure le plus souvent obscure (BRUNETON, 1999). Les fonctions possibles des huiles essentielles sont multiples (protection contre les prédateurs de la plante, attraction des insectes pollinisateurs, inhibition de la germination et de la croissance, inhibition de la multiplication des bactéries et des champignons). Il est souvent difficile de les préciser pour chaque cas particulier (RICHTER, 1993). Le rôle des huiles essentielles n'a pas pu être clairement démontré. En effet, on considère qu'il s'agit de produits de déchets du métabolisme. Toutefois, certains auteurs pensent que la plante utilise son huile essentielle pour repousser les insectes, ou au contraire pour les attirer et favoriser la pollinisation (BLEAÏCHE, 1979).

3.4. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

Elles sont des produit stimulant, employés à l'intérieure, comme du extérieur des corps, quelque purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou solvant adapté (BOUGURRA et ZEGHOU, 2008).

3.4.1 En pharmacie

L'importance des plantes aromatiques est indiscutable. Leur contenu en essence et la nature chimique des constituants de celle –ci leur confèrent de grandes perspectives d'applications. Ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médical et pharmaceutique (BEKHECHI et ABDELOUAHID, 2010). Les spécialités pharmaceutiques à base d'huiles essentielles répondent à la définition du médicament à base de plantes : « Les médicaments à base de plantes sont des médicaments dont les principes actifs sont exclusivement des drogues végétales et/ou des préparations à base de drogue(s) végétale(s) » (CATHERINE, 2008).

3.4.2. En industrie alimentaire

Les huiles essentielles sont utilisés dans la conservation des denrées alimentaires, elles y sont rajoutées pour rehausser le goût et pour empêcher le développement des contaminants alimentaires (CHAMI., 2005). Le thym peut être utilisé dans diverses préparations alimentaires comme le smen par exemple. En effet, tous les secteurs alimentaires sont consommateurs : alcools, boissons non alcoolisées, confiserie, produits laitiers, produits carnés, sauces, soupes, produits de boulangerie, sans oublier la nutrition animale (BEKHECHI et ABDELOUAHID, 2010).

3.4.3. En parfumerie et cosmétologie

Un grand nombre d'huiles essentielles (400 à 500) est utilisé dans l'élaboration de la majorité des parfums et produits de toilette (CHAMI, 2005). Puisque la majorité des cosmétiques contiennent une certaine quantité d'huiles essentielle comme élément parfumant, il serait probable que ces essences servent aussi à préserver ces cosmétiques tout en leur assurant une odeur agréable (BEKHECHI et ABDELOUAHID, 2010). De même, certains constituants chimiques isolés à partir d'HE peuvent faire l'objet de transformations chimiques donnant naissance à de nouvelles odeurs; ainsi, à partir de l'eugénol tiré de l'essence de Girofle, on aboutira à l'isogénol qui a une odeur d'œillet (CHAMI, 2005).

3.4.4. En aromathérapie

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les huiles essentielles pour traiter un certain nombre de maladies. Beaucoup d'ouvrages décrivent des préparations à base d'huiles essentielles diverses prescrites pour le traitement de plusieurs maladies. Cependant, ces prescriptions ne possèdent pas de bases scientifiques rigoureuses car elles sont souvent tirées de pratiques empiriques (CHAMI, 2005).

3.4.5. En médecine dentaire

En médecine dentaire, l'exemple le plus couramment utilisé est la listérine ; solution constituée d'huiles essentielles de thymol et d'eucalyptol utilisée pour le lavage de la cavité orale et des dents et qui possède une activité bactéricide sur les microorganismes de la salive et de la plaque dentaire. Plusieurs huiles essentielles ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire et dans le traitement et la prévention des caries (CHAMI, 2005).

3.5. Répartition et localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : il y aurait, 17500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles, exemple: *Myrtaceae*, *Rutaceae*, *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Apiaceae*, *Cupressaceae*, *Poaceae*, *Zingiberaceae*, *Piperaceae* (BRUNETON, 1999).

Environ cinquante familles végétales, soit 10 % des végétaux supérieurs, contiennent des principes aromatiques ou essences. Dans la plante, les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs (Origan), feuilles (citronnelle, Eucalyptus), écorces (Cannelier), bois (Bois de rose, (Desantal), racines (Vétiver), rhizomes (Acore), fruits (Badiane) ou graines (Carvi) (ADOLPHE, 2012).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface (BRUNETON, 1993).

Tableau (1): Familles botaniques avec les organes sécréteurs des huiles essentielles ainsi que quelques exemples de végétaux (HAZZIT, 2002)

Familles	Organes sécréteurs ou Excréteurs	Plantes correspondantes
Labiacées	Poils sécréteurs	Lavande, thym, sauge, menthe, romarin, etc.
Ombellifères	Canaux excréteurs	Cumin, anis, fenouil, coriandre, etc.
Lauracées	Cellules excrétrices	Cannelle, camphrier, etc.
Myrtacées	Poches excrétrices	Eucalyptus, girofle, etc.
<i>Conifères</i>	Canaux excréteurs	Pin sylvestre et maritime, cyprès, genévrier, etc.
<i>Rutacées</i>	Poches excrétrices	Citron, orange, mandarine, etc.

4. Mode d'obtention des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles mais la plus utilisée est l'entraînement à la vapeur ou l'hydrodistillation à partir de la plante fraîche ou sèche (BRUNETON, 1993).

4.1. Technique de la pression

Peut être est-ce la plus ancienne ; les Egyptiens utilisaient la pression à l'aide d'un sac pour extraire l'essence des pétales de fleurs. Cette méthode consistait à écraser les parties odorantes d'une plante fraîchement coupée puis à les enfermer dans un sac en lin que l'on tordait à l'aide de deux bâtons enfilés dans deux anneaux placés à l'extrémité du sac. L'essence filtrait à travers la toile et était recueillie dans un récipient placé en dessous (PADIRINI et LUCHERONIM, 1996).

4.2. Extraction par solvant

4.2.1. Extraction par solvants volatils

Quant à l'extraction par solvants volatils, elle a l'inconvénient d'entraîner une récupération plus difficile des huiles essentielles, mais par ailleurs, elle a l'avantage de pouvoir traiter des végétaux présentant un pourcentage infime de principes odorants (CHIEJ, 1982).

Cette technique est elle aussi utilisée avec des fleurs ne supportant pas la chaleur, la distillation ne convient que pour les végétaux dont le rendement en huile essentielle est suffisamment important, les solvants très volatils par exemple l'éther et l'hexane qui s'évaporent rapidement sont employées. Le solvant lave la matière première qui subira après décantation et concentration une distillation partielle. Ce solvant volatil est alors séparé de la "concrète" par filtrage, puis glaçage de -12°C à 15°C . La précieuse substance ainsi obtenue est à nouveau filtrée et concentrée à faible pression (MOHAMMEDI, 2006). Le matériel végétal dont on veut extraire une huile est placé sur des grilles puis dans des cuves appelées extracteurs. On les remplit de solvant et on effectue ainsi plusieurs lavages successifs. Le mélange est ensuite envoyé dans un décanteur où on le laisse reposer : cette phase de repos va permettre d'obtenir deux phases. Celle au fond contiendra l'eau contenue dans les plantes, l'eau étant plus lourde que le solvant celui-ci sera à la surface. Les huiles essentielles étant très solubles dans le solvant, elles se retrouvent dans la même phase. Il suffit donc d'éliminer l'eau. Ensuite on fait s'évaporer le solvant afin d'obtenir un composé pur (WERNER, 2002).

4.2.2. Epuisement par solvants fixes

4.2.2.1. Effleurage ou extraction par la graisse froide

Cette méthode se rapproche quelque peu de l'extraction par solvants volatils mais dans ce cas on utilise des graisses comme solvant, ces dernières ayant elles aussi une forte affinité avec les composés odorants, cette méthode peut être réalisée à froid ou à chaud, et on obtient ainsi des absolues de pommade (LARDRY et HABERKORN, 2007).

Actuellement, cette technique n'est que rarement utilisée du fait de son coût élevé et on la réserve à certaines fleurs extrêmement délicates, comme le jasmin, la tubéreuse, les fleurs d'oranger.

La substance ainsi obtenue à une concentration très élevée et elle est ensuite diluée et traitée avec d'autres solvants qui dissolvent la matière grasse (PADRINI et LUCHERONI, 1996).

4.2.2.2. Extraction par macération dans la graisse chaude

La technique dite de la « digestion » se pratique à chaud, par immersion des organes végétaux dans le corps gras fondu. Le produit obtenu est une pommade florale. Le lavage de la pommade par un alcool fort aboutit à un extrait alcoolique. L'élimination de l'alcool se fait, comme dans le cas d'enfleurage par concentration sous vide à basse température. On obtient ainsi un « absolu de macération » (BRUNETON, 1993).

4.3. Distillation

La distillation convient aux huiles ayant une forte composante volatile et elle se fonde sur la caractéristique que possèdent ces composants qui peuvent être facilement transportées par des particules de vapeur d'eau en mouvement (PADRINI et LUCHERONI, 1996).

4.3.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (BRUNETON, 1999).

4.3.2. Entraînement à la vapeur d'eau (ou Vapo-hydrodistillation)

La distillation par l'entraînement à la vapeur est largement connue comme technique d'extraction des composés aromatiques du matériel végétal. Très simplement, on pourrait supposer que la vapeur d'eau pénètre dans les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles (BELLEAU, 1990). La distillation exerce une action non négligeable sur les caractéristiques des huiles essentielles, et les réactions d'hydrolyse sont parmi les plus importantes. C'est ainsi que qualitativement et quantitativement les huiles extraites par petites quantités au laboratoire sont différents de celles obtenues industriellement (BELAÏCHE, 1979).

4.4. Autres procédés d'extraction

4.4.1. Hydrodiffusion

Consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (0,02-0,15 bar) à travers la masse végétale, du haut vers le bas. La composition des produits obtenus est qualitativement sensiblement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classiques. Le procédé permet un gain de temps et d'énergie (BRUNETON, 1999).

4.4.2. Extraction assistée par micro-ondes

Dans ce procédé récemment développé, la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle. Très rapide et peu consommateur d'énergie, le procédé livre un produit qui le plus souvent, est de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation, traditionnelle (temps dix fois plus rapide et température plus basse) (BELYAGOUBI, 2006).

4.4.3. Extraction à l'eau surchauffée

Ce mode d'extraction utilise l'eau surchauffée à une température entre 125 et 175°C sous pression. Il utilise de l'eau désoxygénée qui traverse une cellule où se trouve la matière végétale. Cette cellule est maintenue à une pression d'environ 20 bar et à température constante dans une étuve. Ce procédé utilisé avec du romarin donne un rendement plus élevé en composés oxygénés que l'entraînement à la vapeur (BASIL *et al*, 1998).

4.4.4. Distillation par extraction simultanée (SDE)

L'extraction par distillation simultanée ou SDE (Simultaneous Distillation Extraction) est une extraction liquide-liquide qui est menée dans un appareil de Likens et Nikerson modifié. Son principe est le suivant : les composés volatils entraînés à la vapeur d'eau sont extraits par des vapeurs de solvant que l'on condense ensuite dans un réfrigérant puis on recycle en continu le solvant. Cet appareillage, initialement conçu pour l'étude de la bière par la suite été étendu à un grand nombre d'arômes (VERNIN, 1982).

5.1. Activité biologique des huiles essentielles

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son «totum» ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (LAHLOU, 2004). Les composés majoritaires des huiles essentielles présentent plusieurs activités biologiques intéressantes. Cependant, les activités biologiques d'une huile essentielle ne sont pas seulement dues aux composés majoritaires mais à l'ensemble des composés contenant dans cette huile (AKROUT, 1999).

Chapitre II : Matériel et méthode

Chapitre II : Matériel et méthode

ChapitreII : Matérielle et Methode

1. Principe adopté

Notre étude a pour objectif l'extraction des huiles essentielles de deux plantes *Artemisia herba alba* et *Cleome amblyocarpa L.*, et l'étude de l'effet biologique de ces huiles essentielles de ces espèces sur quelques souches bactériennes.

2. Region

2.1. Situation géographique

La wilaya de Ghardaïa se situe au centre de la partie Nord de Sahara à 632 km d'Alge (figure n°1), couvre une superficie 86,560 km² (géographia technica arabica), elle est limitée du côté Nord par la wilaya de Laghouat, au Nord-Est par la wilaya de Djelfa, à l'Est par la wilaya de Ouargla, au Sud par la wilaya de Tamanrasset, au Sud-Ouest par la wilaya d'Adrar et à l'Ouest par la wilaya d'El-Bayad (ATLAS, 2009). Ses coordonnées géographiques sont: 450 m d'altitude, latitude 32-23N et longitude 003-49E.



Figure n° 1: Situation géographique de la wilaya de Ghardaïa (Source:NET)

3. Matériel

3.1. Matériel végétal

Nous avons effectué notre étude sur *Artemisia herba alba* prise de la région de Oued Metlili wilaya de Ghardaïa, le 03/01/2014 (photo n° 1), et *Cleome amblyocarpa L.*, de la même région, le 17/01/2014 (photo n° 2), ce choix basé sur disponibilité et importance de ces plantes dans la région.

3.1.1. *Artemisia herba alba*

3.1.1.1. Description botanique

C'est une plante vivace formant un buisson à rameaux de 15 à 30 cm de haut, feuilles blanches argentées, laineuses, enchevêtrées et finement divisées (OZENDA, 1991).



Photo n° 1: *Artemisia herba alba*. (Oued Metlili, 2014).

1.1.1.2. Position systématique de *Artemisia herba alba*

Cette vivace très rustique dégage une odeur fraîche et très tonique. On retrouve plusieurs variétés de *Artemisia.herba alba*, qui poussent spontanément. (OZENDA, 1991).

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Genre : *Artemisia*

Famille : *Asteraceae*

Espèce : *Artemisia.herba alba* (OZENDA, 1991).

3.1.1.3. Répartition géographique

C'est une plant endémique assez répandue dans le Sahara septentrional Algérien. La Floraison est en mois d' Avril – Mai (OZENDA,1991).

3.1.1.4. Utilisation de *Artemisia herba alba*

L'armoise blanche est une plante très aromatique , utilisé en alimentation pour aromatiser les cafés, ainsi, en pharmacopée ont utilise ses feuilles, en infusion, macération ou bouillis ,et pour traiter des trouble digestifs et les rhumes. Elles sont encore utilisées en cataplasme pour traiter les varioles. Cette plante est broutée par les Ovins, Caprins et Camelins vue à son intérêt pastoral (OZENDA,1991).

3.1.2. *Cleome amblyocarpa* L

3.1.2.1. Description botanique

C'est une plante endémique vivace ramifiée d'un vert jaunâtre de 10 à 40 cm de haut à odeur fétide et désagréable tiges dressées feuilles trifoliolées (OZENDA, 1991).



Photo n° 2: *Cleome amblyocarpa* L. (Oued Metlili).

3.1.2.2. Position systématique de *Cleome amblyocarpa* L

Cette vivace très rustique dégage une odeur fraîche et très tonique. On retrouve plusieurs variétés de *Cleome amblyocarpa* L, qui poussent spontanées (OZENDA, 1991)

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Brassicales*

Genre : *Cleome* L.

Famille : *Cleomaceae* Horan

Espèce : *Cleome amblyocarpa* L (OZENDA, 1991)

3.1.2.3. Utilisation de *Cleome amblyocarpa L*

Le "Netile" est considéré, par les nomades, comme plante toxique provoquant des troubles nerveux (OZENDA.,1991). En Pharmacopée ,il est utilisé en pansement pour traiter des rhumatismes et soulager les douleurs (OZENDA.,1991). Cette plante n'est jamais broutée seule par les dromadaires mais en mélange avec d'autres plantes (OZENDA,1991).

3.2. Matériel biologique

Notre étude porte sur quelque espèces bactériennes fréquentes en pathologie humaine .Ces souches des microorganismes fournis du laboratoire de l'hôpital de Metlili le 05/02/2014 , nous avons retenu les espèces suivant : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*.

3.2.1. *Escherichia coli* (colibacille)

3.2.1.1. Définition

Escherichia coli est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique. Cette bactérie est connue depuis longtemps comme commensale du tube digestif et pathogène pour l'appareil urinaire. Au cours des dernières décennies, le rôle de certaines catégories de E. coli dans les syndromes diarrhéiques a été précisé et les mécanismes de ce pouvoir pathogène ont été analysés, est un type des bactéries organisme unicellulaire qui peut vivre dans de nombreux environnements différents (AVRIL *et al*, 1992).

3.2.1.2. Position systématique

Domaine: *Eubacteria*

Phylum: *Proteobacteria*

Classe: *Gammaproteobacteria*

Order: *Enterobacteriaceae*

Genre: *Escherichia*

Espèce: *Escherichia coli* (MURRY *et al*, 1926).

3.2.1.3. Habitat

Escherichia coli est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. Dans l'intestin, *E. coli* est l'espèce aérobie quantitativement la plus importante, présente à raison de 10^7 - 10^9 corps bactériens par gramme de selles. Cette population bactérienne ne représente qu'environ 1% de celle des anaérobies. La recherche d' *Escherichia coli* dans l'eau d'alimentation (colimétrie) est fait pour apprécier sa potabilité. La présence d' *Escherichia coli* dans l'eau est le témoin d'une contamination fécale récente et la rend impropre à la consommation (AVRIL *et al*, 1992).

3.2.1.4. Caractéristiques

Escherichia coli est une bactérie anaérobie facultative capable faire le métabolisme fermentatif et respiratoire. Sa température optimale est de 37° C et il pousse facilement sur un large éventail de milieu de culture simple et sur de simples supports synthétiques. Dans des conditions anaérobies de croissance il ya une exigence absolue pour les glucides fermentés. Glucose est fermenté à pyruvate, qui est converti en acide lactique, acétique et formique. Une partie de la lettre est convertie en hydrogène et dioxyde de carbone par hydrogenlyase formique, mais certaines souches ne produisent pas de gaz (ana érogènes) (SUSSMAN, 1997).

3.2.1.5. Pouvoir pathogène et toxicité

En médecine humaine, les *Escherichia coli* peuvent être de banals commensaux ou d'indiscutables agents pathogènes. Ils peuvent donner lieu à divers types d'infections (FLANDROIS., 1997). Il cause parfois des infections des voies urinaires, certains souches produisent des entérotoxines responsable de la turista (diarrhée des voyageurs) et provoquent occasionnellement de très graves maladies d'origine alimentaire telle que la maladie du hamburger (TORTORA *et al*, 2003) .

3.2.2. *Staphylococcus aureus*

3.2.2.1. Définition

L'espèce *Staphylococcus aureus*, est ainsi nommée à cause de la pigmentation jaune des colonies (aureus=dorés) (TORTORA *et al*, 2003). La bactérie cultive facilement sur les milieux usuels et aussi sur des milieux riches en NaCl. Elle doit son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies.

Elle possède une coagulase (enzyme provoquant la coagulation du plasma). Ce qui la distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques, et peut produire de nombreuses toxines (NAUCIEL et VILDE, 2005).

3.2.2.2. Position systématique

Domaine : *Eubacteria*

Phylum : *Firmicutes*

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Bacillales*

Famille : *Staphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus aureus* (MURRY et al, 1926).

3.2.2.3. Habitat

C'est un germe ubiquitaire, retrouvé dans le sol, l'air. C'est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme. On le trouve à l'état normal dans l'oropharynx, les fosses nasales, dans les selles au niveau du périnée ou des aisselles (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

3.2.2.4. Caractéristiques

Certaines caractéristiques des *staphylocoques* sont responsables de leur pathogénicité, qui revêt plusieurs formes. Les staphylocoques se développent relativement bien dans les conditions de pression osmotique élevée et de faible taux d'humidité (TORTORA et al, 2003). Cocci à gram positif, immobile, pigmenté à jaune, non sporulé en amas (grappes de raisin), température optimal à 37°C, PH optimal : 7.2-7.4, NaCl : 7.5%, anaérobie facultatif, oxydase+, catalase+ (FAUCHERE et AVRIL, 2002 et NUCIEL et VILDE, 2005).

3.3.2.5. Pouvoir pathogène et toxicité

Les manifestations pathogènes dues à *Staphylococcus aureus* sont très nombreuses, elles sont suppurations, nécrotiques ou entériques :

- Les suppurations localisées.
- Les septicémies et les endocardites.
- Les manifestations digestives.
- Le syndrome de choc toxique (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

Staphylococcus aureus, le danger tient dans la capacité de la bactérie à synthétiser une entérotoxines. Celle-ci est thermostable (un chauffage, même conséquent pas à la détruire). Pour fabriquer l'entérotoxines, les *S. aureus* doivent être présents en nombre élevé (HASNA *et al*, 2007).

3.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

3.2.3.1. Définition

Le genre *Pseudomonas* est fait de bacilles (à ciliature polaire), aérobies stricts, cultivant facilement sur les milieux usuels. *Pseudomonas aeruginosa* (ou bacille pyocyanique) se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ses colonies. En fonction de la nature des antigènes O (porté par le lipopolysaccharide) on distingue différents sérotypes (NAUCIEL et VILDE., 2005). C'est l'espèce la plus connue et la plus répandue du genre *Pseudomonas*. La plus pathogène, elle constitue l'espèce-type du genre (AVRIL *et al*, 1992).

3.2.3.2. Position systématique

Domaine : *Eubacteria*

Phylum : *Proteobactéria*

Classe : *Grammaproteobacteria*

Ordre : *Pseudomonadales*

Famille : *Pseudomonadaceae*

Genre : *Pseudomonas*

Espèce : *Pseudomonas aeruginosa* (MURRY *et al*, 1926).

3.2.3.3. Habitat

C'est une bactérie qui vit normalement à l'état de saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux. Elle résiste mal à la dessiccation. Cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'homme et de divers animaux. Le *B.pyocyanique* peut survivre et se multiplier dans une infinie variété de liquides et de milieux, sur des supports et des matériels surtout s'ils sont humides. Considéré comme une bactérie pathogène opportuniste c'est le germe-type des infections hospitalières ou nosocomiales (AVRIL *et al.*, 1992). *Pseudomonas aeruginosa* se trouve dans le tube digestif et plus rarement dans la saline (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

3.2.3.4. Caractéristiques

Bacille gram négatif, mobile à ciliature polaire monotriche, caractérisé par la pigmentation bleu, vert, sporule, température optimale : 30 à 43°C, pH optimal 6,5-8, aérobic strict, chimio-organotrophe, oxydas+, catalase+, gaz-, LDC-, AHD+, géatuie+, psychrotrophe (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

3.2.3.5. Pouvoir pathogène

La bactérie peut provoquer des infections parfois sévères chez les sujets dont les défenses sont amoindries. Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques (AUCIEL et VILDE., 2005). Responsable d'infection cutanée, d'infection de la sphère ORL et d'infection divers (BELKASMI et KASMI, 2010).

3.2.4 . *Proteus vulgaris*

1.2.4.1. Définition

Ce groupe *d'Enterobacteriaceae* rassemble des espèces qui ont en commun de posséder des enzymes permettant la désamination oxydative des acides aminés en corps cétoniques. Ceux-ci forment des complexes colorés avec les ions. Deux de ces enzymes sont recherchées en pratique courante. Ce sont :

- la tryptophane-désaminase ou TDA,
- la phénylalanine-désaminase ou PDA.

Dans la suite de ce chapitre, ce groupe de bactéries sera désigné comme « Entérobactéries TDA+ ». C'est un groupe très hétérogène. Ces bactéries sont en général mobiles, donnent des colonies lactose négatif et sont ONPG négatif

3.2.4.2. Position systématique

Domaine : *bacteria*

Phylum: *proteobacteria*

Famille :*Enterobacteriaceae*

Classe : *Gamma proteobacteria*

Ordre : *Enterobacteriales*

Genre : *Proteus vulgaris*

Espèce : *Proteus vulgaris* (HAUSER, 1885).

3.2.4.3. Habitat

Les Entérobactéries TDA+ sont extrêmement répandues dans l'environnement. On les trouve partout, sur le sol, dans les eaux de surface, dans les eaux d'égout etc. Ce sont des hôtes habituels du tube digestif de l'homme et des animaux (AVRIL *et al*, 1992).

3.2.4.4. Caractéristiques

Proteus vulgaris sont des bacilles très polymorphes. Dans une culture jeune, il peut exister des formes courtes et des formes longues. Les souches très mobiles sont pourvues de longs flagelles (AVRIL *et al*, 1992).

3.2.4.5. Pouvoir pathogène

Ces bactéries sont avant tout responsables d'infections urinaires. *P. mirabilis* est de loin l'espèce la plus fréquente. Les espèces rencontrées ensuite sont *M. morganii* et les *Providencia*. Une anomalie de l'appareil urinaire ou un diabète sont des circonstances favorisant la survenue de ces infections qui

peuvent être à l'origine de septicémies. Ces bactéries sont aussi isolées de produits pathologiques variés : sécrétions trachéo-bronchiques, brûlures, pus divers. Des méningites à *Proteus* ont été décrites chez le nourrisson. Le pouvoir entéro-pathogène des *Proteus* et des *Providencia* est très discutable. Ces espèces sont souvent présentes en grande quantité dans les selles lors des diarrhées par dysmicrobisme intestinal. En raison de la grande fréquence des Entérobactéries TDA+ dans l'environnement, il y a toujours lieu de s'interroger sur la qualité des prélèvements avant d'attribuer un rôle pathogène aux souches isolées (AVRIL *et al*, 1992).

4. Matériel du laboratoire

Afin de réaliser cette étude, plusieurs types d'appareillages ont été utilisés citant par exemple. Les matériels utilisés lors de l'extraction (photo n° 3), une ampoule décenter, Becher, Erlenmyer...etc. Et les matériels pour les manipulations des microorganismes tel que : Bec Bunsen, Etuve, Boîte de pétri, Autoclave, Anse de platine, Pipette pasteur, Bain-marie, Balance, Verre de montre, Disques d'absorbance et des milieux de culture : Mueller Hinton.

4.1. Méthode

4.1.1. Préparation des extraits végétaux

Pour la présente étude, il est adopté une méthode d'extraction par hydrodistillation pour extraire les huiles essentielles des plantes *Artemisia herba alba* et *Cleome amblyocarpa L*

4.1.1.1. Hydrodistillation

Elle est indiquée particulièrement dans l'extraction des huiles essentielles légères. Dans un Ballon de 1 litre, on met 200g des feuilles fraîches dans 1 L d'eau pour l' *Artemisia. herba alba* et 200 g des feuilles dans 1 L pour *Cleome amblyocarpa L*. L'eau est portée à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon pendant 2 heures, en prenant garde de ne pas chauffer jusqu'à sec. La vapeur d'eau entraîne les produits organiques volatils qui se condensent à l'aide de réfrigérant. après décantation dans une ampoule à décantation les huiles essentielles sont récupérées (BRUNETON, 1999).



Photo n° 3 : Montage d'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles.

4.1.1.2. Rendement

Le rendement des huiles essentielles est le rapport entre le poids des huiles essentielles extraites est le poids de la masse végétale à traiter (HELLAL, 2011). Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$R = (Ph / Pv) \times 100$$

(HELLAL., 2011).

R = Rendement en huile essentielle en %.

Ph =Poids de l'huile essentielle en gramme.

Pv = Poids de la masse végétale en gramme.

4.1.2. Suivre de l'activité antimicrobienne des extraits

4.1.2.1. Préparation du milieu

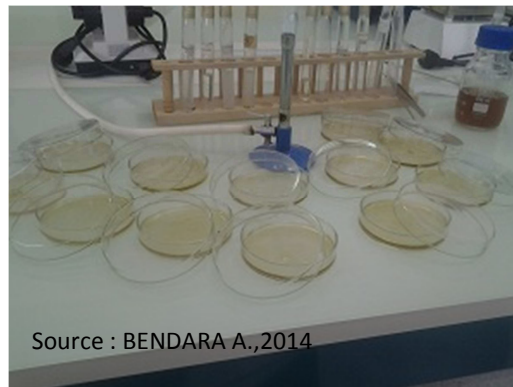
Les milieux de culture de type Muller Hinton sont préparés au laboratoire (Annexe 1), ainsi sont fondu au bain-marie à 80°C, ensuite coulés aseptiquement dans les boites de Pétri pour former 6 à 4 mm de hauteur puis, refroidis progressivement (BENJILALI *et al*, 1986)



A- Fondre les milieux au bain-marie



B - Refroidissement de milieu de culture

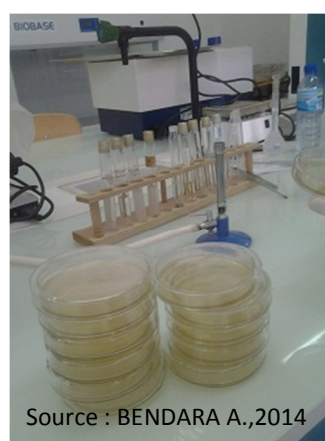


C- Remplissage des boites Piétri

Photo n° 4: Etape de préparation de milieu de culture.

4.1.2.2. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture jeune, on prélève à l'aide d'une anse de platine deux à trois colonies pures et isolées qu'on décharge dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique stérile(BELKASMI et KASMI, 2010)



A- Tube d'enrichissement B- Boites a testés

Photo n° 5: Etapes de préparation de l'inoculum.

4.1.2.3. Ensemencement

Sur des boites contenant le milieu gélosé Muller Hinton d'une épaisseur de 4mm bien séchées, on introduit 3 à 5 ml de l'inoculum. On obtient ainsi, un étalement uniforme en nappe. L'excès du liquide est aspiré à l'aide d'une pipette pasteur et rejeté dans un bac d'eau de javel et les boites sont mises à sécher pendant 15 minutes (BELKASMI et KASMI., 2010).



A- Versé et rejeter l'inoculum

Photo n° 6: Etape d'ensemencement

4.1.2.4. Dépôt des disques

Les disques d'un diamètre de 6mm, sont prélevés à l'aide d'une pince stérile, puis imbibés avec l'huiles essentielles de *Artemisia herba alba* jusqu'à imprégnation total du disque. Les disques ainsi traités sont déposés sur la surface de la gélose inoculée et laissés diffusés, puis incubés à 37°C à l'étuve pendant 24 heure pour les bactéries (BENJILALI *et al*, 1986)

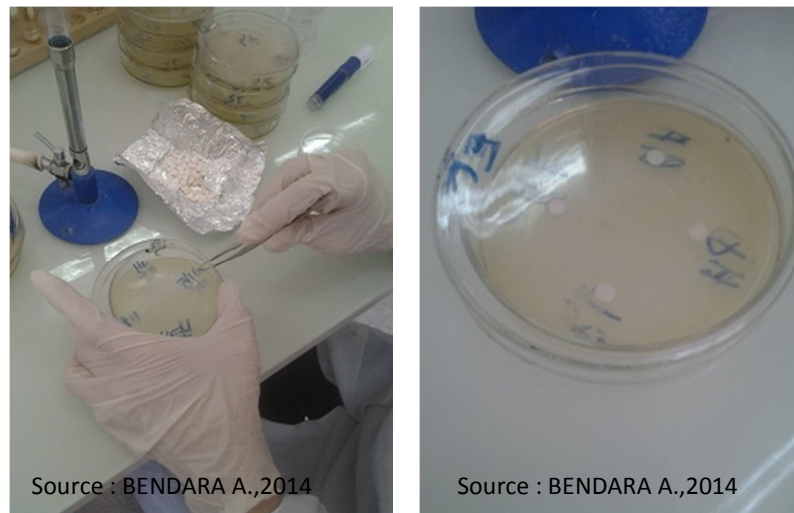


Photo n° 7: Dépôt des disques.

4.1.2.5. Analyse d'antibiogramme

Elle consiste à mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle à l'extérieure de la boîte :

- Diamètre <5 mm : absence d'activité.
- Diamètre entre 5 et 10 : activité faible.
- Diamètre entre 10 et 16 : activité moyenne.
- Diamètre > 16 mm : activité très forte (REMDANE, 2009)

Chapitre III : Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et Discussions

1. Rendement des huiles essentielles

L'hydrodistillation est réalisée sur la plante *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L.* Placées dans un hydrodistillateur avec un rapport d'eau matière végétale.

Les résultats relatifs au rendement de l'extraction de la plante *Artemisia.herba alba* est de 1.38 % et la plante *Cleome amblyocarpa* est de 0.29 % .

Le rendement obtenu à l'aide d'une extraction par hydrodistillation à l'échelle du laboratoire. Ce rendement de la plante *Cleome amblyocarpa* est très faible par rapport l'autre rendement de L' *Artemisia.herba alba* , cette faible teneur serait probablement due à la nature même de ces plantes aromatiques ainsi que la méthode d'extraction. Le rendement en huile essentielle de la plantes étudiée n'est pas fortement acceptable à l'échelle industrielle.

L'hydrodistillation reste la méthode d'extraction des huiles essentielles la plus convoitée par l'industrie. Cependant, l'extraction par le gaz carbonique(CO₂) supercritique sous haute pression engendre des rendements supérieurs et des huiles essentielles caractérisées par un profil organoleptique naturel, néanmoins l'utilisation de cette méthode reste limitée dans la pratique industrielle pour des raisons de rentabilité économique (HALLAL, 2011).

2. Activité antimicrobienne des huiles essentielles de la plante *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L*

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de ces huiles essentielles de *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L* en été effectuées via l'estimation de la surface de zone d'inhibition, cette dernière est réalisée par la méthode de diffusion sur la gélose (MH) sur des microorganismes pathogènes. Il s'agit de déterminer le diamètre d'inhibition à l'aide d'une règle et les résultats de notre étude sont résumés dans le (tableau n°2) et dans la (figure n° 2). Les résultats sur 4 souches bactériennes dont :*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteusvulgaris*

Tableau n° 2: Résultats d'étude d'activité antimicrobienne d'extraits des huiles essentielles de la plante *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L*

Les souches microbiennes	Diamètre de la zone d'inhibition <i>Artemisia</i>	L'effet dans les boîtes	Diamètre de la zone d'inhibition <i>Cleome</i>	L'effet dans les boîtes
<i>Escherichia coli</i>	11±1,41 mm	+	9±1,41 mm	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	16±1,41 mm	+	0 mm	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 mm	-	0 mm	-
<i>Proteus vulgaris</i>	13±1,41 mm	+	11±1,41 mm	+

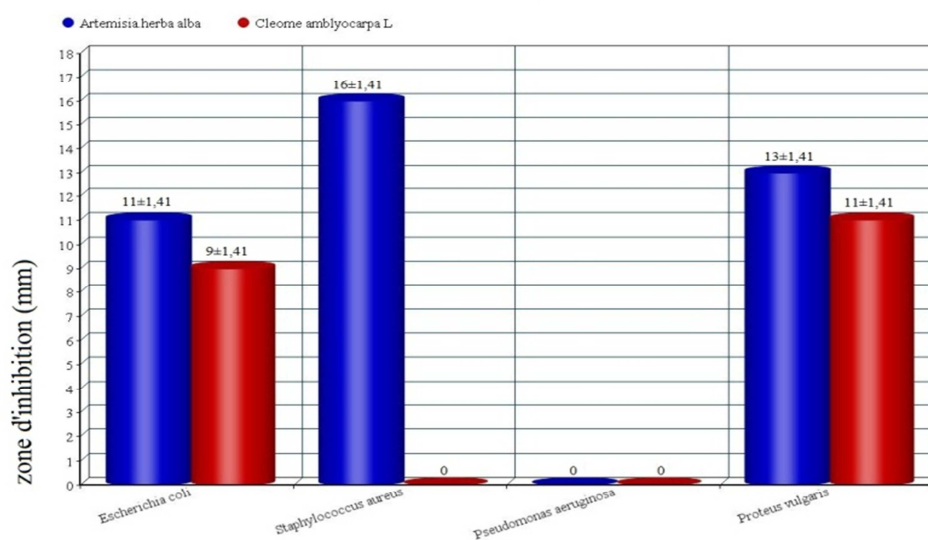


Figure n° 2: Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition (mm).

2.1. Activité antimicrobienne pour de huiles essentielles de la plante *Artemisia.herba alba*

Au vu le tableau n° 2 et la figure n° 2 il ressort que les résultats d'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L* sur 4 souches testées est :

2.1.1. *Escherichia coli*

Cette souche bactérienne montre une zone d'inhibition de (11 mm) observée autour d'un disque imbibé de huile essentielle (photo n° 8), donc l'extrait des huiles essentielles de la plante *Artemisia.herba alba* présente une activité moyenne contre cette espèce par rapport aux autres espèces, ce qui explique que cette espèce est sensible à cette huile essentielle, le résultat est positif.



Photo n° 8 : Aromatogramme *Escherichia coli*.

2.1.2. *Staphylococcus aureus*

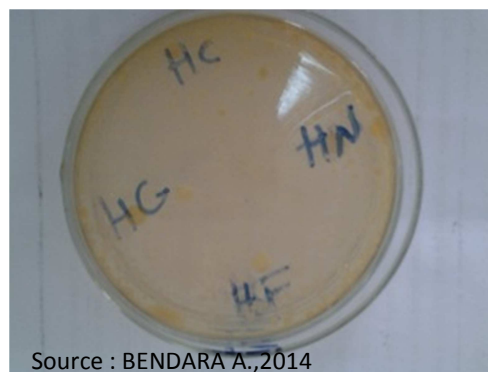
De même l'extrait de la plante *Artemisia.herba alba* présente une activité maximale contre *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de $16 \pm 1,41$ mm (photo n° 9), le résultat est aussi positif.



Photo n° 9: Aromatogramme *Staphylococcus aureus*.

2.1.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Aucune activité antibactérienne n'est constatée pour l'effet des huiles essentielles de la plante *Artemisia.herba alba* sur cette souche bactérienne (photo n° 10), le résultat est négatif.



Source : BENDARA A.,2014

Photo n° 10: Aromatogramme *Pseudomonas aeruginosa*

2.1.4. *Proteus vulgaris*

D'après la (photo n° 11) on remarque que l'extrait des huiles essentielles de la plante *Artemisia.herba alba* représente une activité contre la souche *Proteus vulgaris* avec une zone d'inhibition de 13 mm, cette activité aussi plus proche que l'effet des huiles essentielles sur *Staphylococcus aureus*, le résultat est positif.



Photo n° 11: Aromatogramme *Proteus vulgaris*.

2.2. Activité antimicrobienne pour de huile essentielles de la plante *Cleome amblyocarpa L*

2.2.1. *Escherichia coli*

Cette souche bactérienne montre qu'il y a une zone d'inhibition de (9 mm) observée autour d'un disque imbibé de huile essentielle (photo n° 12), donc l'extrait des huiles essentielles de *Cleome amblyocarpa L* présente une activité faible contre cette espèce par rapport aux autres espèces, ce qui explique que cette espèce est sensible à ce huile essentielle, le résultat est positif.



Photo n° 12 : Aromatogramme *Escherichia coli*.

2.2.2. *Staphylococcus aureus*

Aucune activité antibactérienne n'est constatée pour l'effet des huiles essentielles de plante *Cleome amblyocarpa L* sur cette souche bactérienne (photo n° 13), le résultat est négatif.



Photo n° 13: Aromatogramme *Staphylococcus aureus*.

2.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Aucune activité antibactérienne n'est constatée pour l'effet des huiles essentielles de la plante *Cleome amblyocarpa L* sur cette souche bactérienne (photo n° 14), le résultat est négatif.



Photo n° 14: Aromatogramme *Pseudomonas aeruginosa*

2. 2.4. *Proteus vulgaris*

D'après la (photo n° 15) on remarque que l'extrait des huiles essentielles de *Cleome amblyocarpa L* représente une activité contre la souche *Proteus vulgaris* avec une zone d'inhibition de $11\pm 1,41$ mm, cette activité aussi plus proche que l'effet des huiles essentielles sur *Staphylococcus aureus*, le résultat est positif.



Photo n° 15: Aromatogramme *Proteus vulgaris*.

3. Activité antimicrobienne des hydrolat de la plante *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L*

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de ces hydrolat de *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L* ont été effectuées via l'estimation de la surface de zone d'inhibition, cette dernière est réalisée par la méthode de diffusion sur la gélose (MH) sur des microorganismes pathogènes. Il s'agit de déterminer le diamètre d'inhibition à l'aide d'une règle et les résultats de notre étude sont résumés dans le tableau n° 3 et dans la (figure n° 3). Les résultats sur 4 souches bactériennes dont : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*

Tableau n° 3: Résultats d'étude d'activité antimicrobienne d'extraits des hydrolat de la plante *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L*

Les souches microbiennes	Diamètre de la zone d'inhibition <i>Artemisia</i>	L'effet dans les boîtes	Diamètre de la zone d'inhibition <i>Cleome</i>	L'effet dans les boîtes
<i>Escherichia coli</i>	10±1,41 mm	+	8±1,41 mm	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	0 mm	+	0 mm	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 mm	-	0 mm	-
<i>Proteus vulgaris</i>	12±1,41 mm	+	9±1,41 mm	+

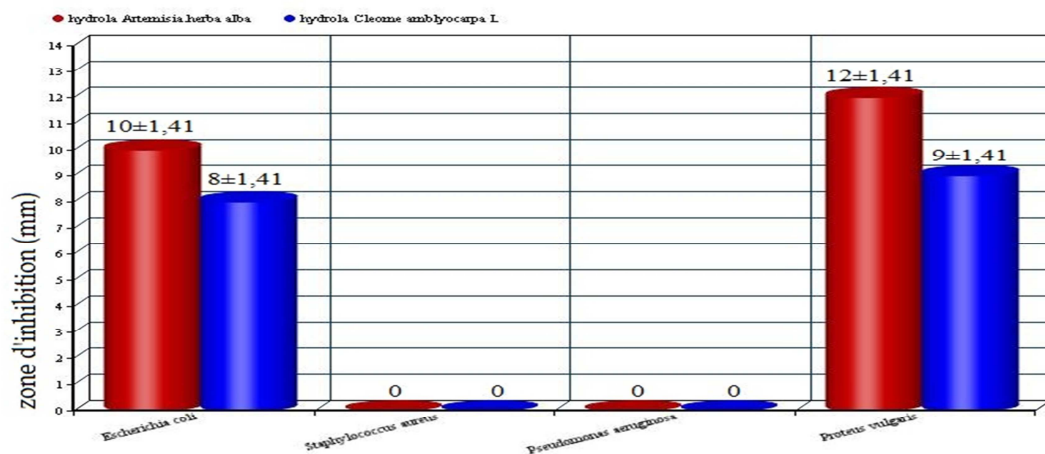


Figure n° 3: Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition (mm).

2.1. Activité antimicrobienne pour de hydrolat de la plante *Artemisia.herba alba*

Au vu le (tableau n°3) et la (figure n°3), elles ressortent que les résultats d'activité antimicrobienne des hydrola de *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L* sur 4 souches testées est :

2.1.1. *Escherichia coli*

Cette souche bactérienne montre qu'il y'a une zone d'inhibition de (10 mm) observée autour d'un disque imbibé de hydrolat (photo n° 16), donc l'extrait des hydrolat de la plante *Artemisia.herba alba* présente une activité moyenne contre cette espèce par rapport aux autres espèces, ce qui explique que cette espèce est sensible à ce hydrolat, le résultat est positif.



Photo n° 16 : Aromatogramme *Escherichia coli*.

2.1.2. *Staphylococcus aureus*

Aucune activité antibactérienne n'est constatée pour l'effet des hydrolat de plante *Artemisia.herba alba* sur cette souche bactérienne (photo n° 17), le résultat est négatif.



Photo n° 17: Aromatogramme *Staphylococcus aureus*.

2.1.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Aucune activité antibactérienne n'est constatée pour l'effet des hydrolat de la plante *Artemisia.herba alba* sur cette souche bactérienne (photo n° 18), le résultat est négatif.

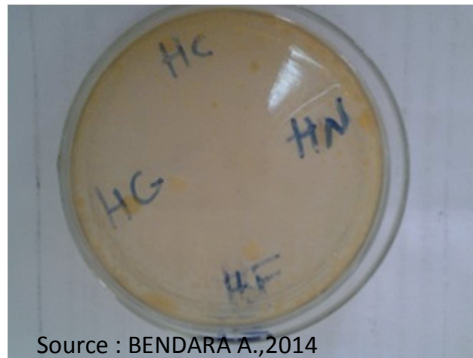


Photo n° 18: Aromatogramme *Pseudomonas aeruginosa*

2.1.4. *Proteus vulgaris*

D'après la (photo n° 19) on remarque que l'extrait des hydrolat de la plante *Artemisia.herba alba* représente une activité contre la souche *Proteus vulgaris* avec une zone d'inhibition de 12 mm, cette activité aussi plus proche que l'effet des hydrolat sur *Staphylococcus aureus*, le résultat est positif.



Photo n° 19: Aromatogramme *Proteus vulgaris*.

3.2. Activité antimicrobienne pour de hydrolat de la plante *Cleome amblyocarpa L*

2.2.1. *Escherichia coli*

Cette souche bactérienne montre qu'il ya une zone d'inhibition de (8 mm) observée autour d'un disque imbibé de hydrolat (photo n° 20), donc l'extrait des hudrolat de *Cleome amblyocarpa L* présente une activité faible contre cette espèce par rapport aux autres espèces, ce qui explique que cette espèce est sensible à cet hydrolat , le résultat est positif.

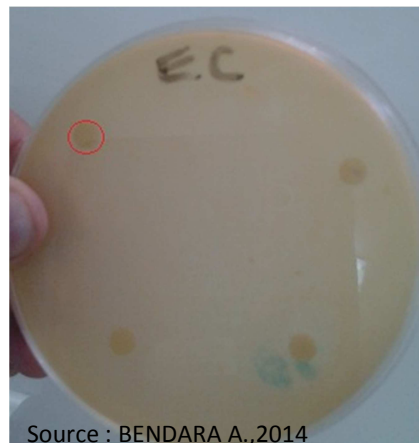


Photo n° 20 : Aromatogramme *Escherichia coli*.

3.2. 2. *Staphylococcus aureus*

Aucune activité antibactérienne n'est constatée pour l'effet des hydrolat de la plante *Cleome amblyocarpa L* sur cette souche bactérienne (photo n° 21), le résultat est négatif.



Photo n° 21: Aromatogramme *Staphylococcus aureus*.

3. 2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Aucune activité antibactérienne n'est constatée pour l'effet des hydrolat de la plante *Cleome amblyocarpa L* sur cette souche bactérienne (photo n° 22), le résultat est négatif.

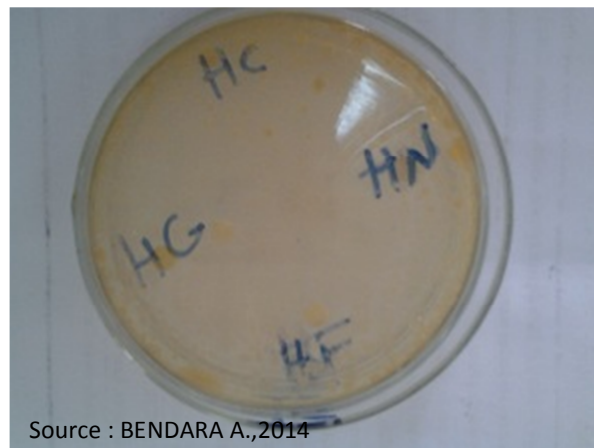


Photo n° 22: Aromatogramme *Pseudomonas aeruginosa*

3. 2.4. *Proteus vulgaris*

D'après la (photo n° 23) on remarque que l'extrait des hydrolat de *Cleome amblyocarpa L* représente une activité contre la souche *Proteus vulgaris* avec une zone d'inhibition de $9 \pm 1,41$ mm, cette activité aussi plus proche que l'effet des hydrolat sur *Staphylococcus aureus*, le résultat est positif.



Photo n° 23: Aromatogramme *Proteus vulgaris*.

Les résultats expérimentaux pour l'huile essentielle des *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L* présentés, montrent que l'huile essentielle d' *Artemisia.herba alba* est active sur toutes les souches à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*. La souche de *Pseudomonas aeruginosa* possède une résistance contre l'action antibactérienne des huiles essentielles de *Artemisia.herba alba*. Les autres souches se comportent différemment avec des diamètres compris entre $11\pm 1,41$ mm et $16\pm 1,41$ mm, et montrent que l'huile essentielle du *Cleome amblyocarpa L* est active sur les souches *Escherichia coli* et *Proteus vulgaris*, et Aucune activité sur les souches *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, donc cette dernière souches possède une résistance contre l'action antibactérienne des huiles essentielles de *Cleome amblyocarpa L*. Les autres souches se comportent différemment avec des diamètres de la zone d'inhibitions compris entre $9\pm 1,41$ mm et $11\pm 1,41$ mm. Mais pour l'hydrolat des *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L* présentés, montrent que l'hydrolat de la plante *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L* est active sur les souches *Escherichia coli* et *Proteus vulgaris*, et Aucune activité sur les souches *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, donc cette dernière souches possède une résistance contre l'action antibactérienne des hydrolat de la plante *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L*. Les autres souches se comportent différemment avec des diamètres compris entre $8\pm 1,41$ mm et $12\pm 1,41$ mm.

Staphylococcus aureus et *Proteus vulgaris* Gram(+) sont donc plus sensible à l'effet de l'extrait des huiles essentielle, L'activité de l'huile est importante sur cette espèce par rapport aux autres bactéries. Il est bien connu que les bactéries à Gram (+) sont plus sensible aux huiles essentielles que les bactéries à Gram (-) (BEKHECHI et al , 2008). Des résultats similaires ont été enregistrés avec d'autres types d'huiles essentielles AKIN et AKTUMSEK (2009). En testant l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* contre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, ces auteurs ont indiqué que *Staphylococcus aureus* était plus sensible à l'huile essentielle. D'après KALEMBA et KUNICKA (2003), la sensibilité d'un microorganisme aux huiles essentielle dépend des propriétés de l'huile essentielle et le microorganisme lui même.

ZAICA (1988) montre qu'il est communément reconnu que les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes aux huiles essentielles. An outre *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* Gram(-) présente une sensibilité moyenne à l'effet de l'extrait des huiles essentiel, plusieurs auteur ont démontré que les bactéries à Gram(-) peuvent être sensibles à l'action des huiles essentielle. Cependant CELIKEL et KAVAS (2008) ont souligné, que l'action des huiles essentielles volatiles a peu d'influence sur l'inhibition de la croissance des bactéries à Gram (-) et Gram (+). L'absence d'une zone

d'inhibition chez *Pseudomonas aeruginosa* Gram(-) est due prouvé à la résistance de cette souche contre l'huiles essentielles ou à la dégradation des huiles essentielles qui semble être due a l'effet de la température ou à nos conditions expérimentales telles que la faible rendement utilisée.

Conclusions Générale

Conclusions Générale

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

Annexe

Annexe

Conclusion

Au cours de ce travail, on a étudié l'activité biologique de *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L* sur quelques souches bactériennes à savoir : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*. Le rendement des huiles essentielles de *Artemisia.herba alba* est de 1.38 % et le rendement des huiles essentielles pour de *Cleome amblyocarpa L* 0.29 %.

L'activité antimicrobienne pour l' *Artemisia.herba alba* est importante chez la majorité des souches étudiées, avec un diamètre d'inhibition égal à $11\pm 1,41$ mm pour *Escherichia coli*, $16\pm 1,41$ mm pour *Staphylococcus aureus*, $13\pm 1,41$ mm pour *Proteus vulgaris* par contre la souche *Pseudomonas aeruginosa* ne présente aucune sensibilité vis-à-vis à l'extrait biologique, et l'activité antimicrobienne pour *Cleome amblyocarpa L* avec la même souches bactériennes, avec un diamètre d'inhibition égal à $9 \pm 1,41$ mm pour *Escherichia coli*, $11\pm 1,41$ mm pour *Proteus vulgaris* par contre la souche *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus* ne présente aucune sensibilité vis-à-vis à l'extrait biologique

L'activité antimicrobienne pour l' *Artemisia.herba alba* est importante chez la majorité des souches étudiées, avec un diamètre d'inhibition égal à $10\pm 1,41$ mm pour *Escherichia coli*, $12\pm 1,41$ mm pour *Proteus vulgaris* par contre la souche *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus* ne présente aucune sensibilité vis-à-vis à l' extrait biologique, et l'activité antimicrobienne pour *Cleome amblyocarpa L* avec la même souches bactériennes, avec un diamètre d'inhibition égal à $8 \pm 1,41$ mm pour *Escherichia coli*, $9\pm 1,41$ mm pour *Proteus vulgaris* par contre la souche *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus* ne présente aucune sensibilité vis-à-vis à l' extrait biologique

Il semble que l'espèce *Staphylococcus aureus* présente le minimum de résistance à l'effet d'extrait des huiles essentielles de *Artemisia.herba alba* par contre l'extrait des huiles essentielles de *Cleome amblyocarpa L* pour la même espèce présente le maximum de résistance , et l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* présente le maximum de résistance pour les deux extrait des huiles essentielles *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L* à l'effet toxique de l'extrait biologique, mais l'espèce *Escherichia coli* et *Proteus vulgaris* présente présente le minimum et la même résistance à l'effet d' extrait des hydroala de *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L* par contre l'espèce *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* présente le maximum de résistance pour les daux l'extrait des hydroala de *Artemisia.herba alba* et *Cleome amblyocarpa L*

Donc d'après ces résultats, l'huile essentielle et l'hydrolat de cette plante qui est obtenu par la méthode d'hydrodistillation possède un effet biologique sur la majorité des souches bactériennes étudiées, pour mieux étudier l'activité biologique des huiles essentielles et l'hydrolat de cette plante il faut augmenter le rendement d'extraction des huiles essentielles par l'utilisation d'autres techniques d'extraction comme l'entraînement à la vapeur d'eau et il faut élargir le nombre des souches testées.

Annexe 1

1-Préparation de milieu de culture utilisé : Muller Hinton gélosé

1.1.Produits chimiques :

Pour 400ml

Extrait de levure 4g

Extrait de malate 1.6g

Glucose 1.6g Agar 7g

1.2.Mode opératoire

Dans un flacon de 400ml on mélange 1.6g d'extrait de malate et glucose et 4g d'extrait de levure puis on remplit avec l'eau distillée, il faut homogénéiser puis mesurer PH de ce milieu et on ajoute NaCl jusqu'à PH= 7.2. Puis on ajoute 7 g de poudre de Agar et mélanger le milieu et en fin on met le milieu dans un autoclave pour la stérilisation durant 2 heure.

Références Bibliographiques

1. **ADOLPHE C., 2012-** Etude de synergie des effets chimiques et biologiques des lipides de réserves et des huiles essentielles des fruits et graines saisonniers de la sous-région Afrique Centrale. Thèse de doctorat, université de Toulouse. Paris : 169 p.
2. **AKIN M. , AKTUMSEK A., 2009-** Antibacterial activity and composition of the essential oils of eucalyptus camaldulensis dehn, and myrtus communes L. growing in northern Cyprus. African Journal of biotechnology-Turkey: pp 9,531-535.
3. **AKROUT A., 1999-** Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). Thèse, Institut des Régions Arides, Tunisie : 293 p.
5. **AVRIL J.L., DABRNAT H., DENIS F., MONTEIL H., 1992-** Bacteriologies Clinique, Ed marketing, France: 522 p.
7. **BURT S.A; 2004.** Des huiles essentielles, leurs propriétés antibactériennes et applications dans les aliments-Un examen. Journal de Microbiologie des Aliments,94, 223-253
- BENJILALI B, TANTAOUI-Elaraki A, Ismaïl-Alaoui M et AYADI A (1986).** Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. Plantes médicinales et phytothérapie. 20,155-167.
8. **BASIL A, JIMENEZ-CARMONA M.M, CLIFFORD A.A, 1998.** Extraction of rosemary by super heated water. Journal of Food chemistry, Vol.46, N°12, Pakistan, pp 5205-5209.
9. **BEKHECHI C., ABDELOUAHID D., 2010-** Les huiles essentielles. Ed office des publications universitaires. Alger : pp 35.
10. **BELAÏCHE P ., 1979-** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome l'aromatogramme. Ed Maloine S.A. Paris : pp 204.
11. **BELKASMI E., et KASMI N., 2010** –Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait foliaire brut de *Capparis spinosa* L. Thèse de magistère, Ouargla : pp 350.
12. **BELYAGOUBI L., 2006-** Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Thèse magistère, Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen: pp 76- 110.
13. **BOUGUERRA A, ZEGHOU K, 2009-** Etude des activités antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle des fleurs de Lavandula stoechas L, mémoire d'ingénieur, université mentouri. Constantine : pp 45- 74.
14. **BRUNETON J., 1999-** Pharmacognosie, Phytochimie. Plantes médicinales. Ed Technique et Documentation, 3éme Ed Lavoisier, Paris. 1120pages.
15. **CATHERINE D., 2008-** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Ed afssaps- France: pp17.
16. **CELIKEL N., KANAS G., 2008-** Antimicrobial Properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. Czech journal of Food science, 26, Pakistan : pp174-181.

17. **CHAMI F., 2005-** Evaluation in vitro de l'Action Antifongique des Huiles Essentielles d'Origan et de Girofle et de leurs Composés Majoritaires in vivo, Application dans la Prophylaxie et le Traitement de la Candidose Vaginale sur des Modèles de Rat et de Souris Immunodéprimés, Thèse de Doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdallah -Maghreb : pp 126- 129.
18. **CHIEJ R., 1982-** Les plantes médicinales, Guide vert, **Ed Solar-** Indian : pp446.
19. **DELARRAS C., 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire ou de contrôle sanitaire.Lavoisier. ISBN : 987-2-7430
20. **FAUCHERE J.L. et AVRIL J.L., 2002-** Bactériologie générale et médicale. Elleipsesdition Marketing, ISBN – Ouargla : pp 2-7289-0747-0.
21. **FANNY., 2008** - Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. **Ed techniques-** Encyclopédie des médecines naturelles. (Paris, France), phytothérapie, Aromathérapie- Paris : pp 2-20.
22. **HASNA E., VINCENT L. et GERARD P., 2007-** Le guide d'analyse des dangers bactériologiques. Cervia paris Ile-de-France, Paris : pp 35.
23. **HAZZIT M., 2002-** Arômes alimentaires. Thèse magister, USTHB, Alger : p 96.
24. **HELLAL Z., 2011-**Contribution a l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydante des certaines huiles essentielles extraites des citrus. Thèse de magister en biologie, Tiziouzou: pp78.
25. **KALEMBA D., KUNICKA A., 2003-** Antibacterial and Antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry10 - Poland: pp 813-829.
26. **LAHLOU M., 2004-** Methods to study photochemistry and bioactivity of essential oils. Phytotherapy Research, 18, Maroc : pp 435-448.
27. **LARDRY J.M et HABERKORN V., 2007-** Les Huiles Essentielles : principes d'utilisation ; Kinésithérapie, **Ed la Revue 61-** Paris : pp 18-23.
28. **LYDIE S., 2010-** La lutte biologique vers de nouveaux équilibres écologique. **Ed. Quae,** Paris: pp 44.
29. **MADHAVI D. L., DESHPANDE S. S., SALUNKHE D. K., 1996-** Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc , New York : pp 65.
30. **MALECKY ., 2007-** Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. Et de *Filipendula hexapetala* Gibb. Mémoire Magister Université Ferhat Abbas-Sétif : pp 75.
31. **MOHAMMEDI Z., 2006-** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse magistère, Université Abou Bakr Belkaïd, Tlemcen : pp78.
32. **NAUCIEL C. et VILDE J.L., 2005-** Bactériologie médicale. Ed : Masson, Paris.21-
OZENDA P., 2004-flore et végétation du Sahara. **Ed .Baranéoud,** France : pp 88-89/247-

33. **OZENDA, P. (1991):** Flore et végétation du Sahara. 3.ed. (mise à jour et augm.) de la Flore du Sahara. -Paris: Ed. du CNRS. 662 p.248.
34. **PDRINI F., LUCHERONI M ., 1996** -le grand livre des huiles essentielles. **Ed.** de vecchi, Paris: pp 212.
35. **PIBIRI M. C., 2005-** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat. École polytechnique fédérale de Lausanne : pp27 - 50.
36. **REMDANE F (2009).** Analyse et caractérisations de quelques métabolites secondaires de la plante *Nauplius graveolens* (Shousb) de Tamanrasset. Thèse de Magister, Université KASDI Merbah d'Ouargla p 16.88.
37. **ROKIA SANOGO (2006).** Le role des plantes Médicinales en Médecine Traditionnelle Dr Rokaia Sanogo ; Maitre assistante en Pharmacognosie, Faculte de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, Université de Bamako. *Adresse postale : DMT- B.P.1746 Bamako-Mali*
38. **RICHTER G ; 1993-** Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie. **Ed** Presses Polytechniques et universitaires romandes-Lausanne : pp 526.
39. **SUSSMAN M., 1997-** *Escherichia coli* mechanism of virulence. Cambridge University Press, Cambridge: pp 639.
40. **TORTORA G.J., FUNKE B. et CASE C.H., 2003-** Introduction à la microbiologie. **Ed** du renouveau pédagogique Inc., Saint Laurent: 1000 p.96.
41. **VERNIN G., 1982-** Arômes alimentaires et développements récents. **Ed** APRIA – Paris: pp 307.
42. **WERNER M., 2002-** Les Huiles Essentielles: réveil du corps et de l'esprit, **Ed** VIGOT, Collection Santé Bien- Etre, pp 60-95.
43. **ZAIK L.L., 1988-** Spices and herbs-their antimicrobial activity and its determination_ Journal of food safety: vol.9; n°2- New York: pp 97-118.