

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et la Vie
Département de Biotechnologie et Agro-Ecologie



Laboratoire des Sciences Animales & Recherche en Biobanking
Laboratoire de Biotechnologie de Productions Végétales

Mémoire de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du Diplôme de
Master Académique en Biotechnologies
Option : BIOTECHNOLOGIES ET PATHOLOGIES MOLECULAIRES

THEME

**Activités pharmacologiques des distillats aromatiques
et préparations dermo-cosmétiques**

Présenté par
AIT ALI Amira & KASMI Rania
Date de Soutenance
08/07/2025

Devant le jury composé de :

Mme ROUAKI F.	MCA	Présidente	Univ. Blida 1
Mme DJAZOULI-ALIM F.Z.	Pr	Examinatrice	Univ. Blida 1
M. BOKHATEM M.N.	Pr	Promoteur	Univ. Blida 1
Mme AFFER M.	Pr	Co-promotrice	EHS ElKettar

❧ Promotion = 2024-2025 ❧

REMERCIEMENTS

À l'issue de ce travail de mémoire de master en Biotechnologie et Pathologie Moléculaire, nous tenons à exprimer notre plus profonde gratitude et nos vifs remerciements à toutes les personnes qui, par leur soutien, leur encadrement ou leurs encouragements, ont contribué à la réalisation de ce projet.

Nous remercions vivement les membres de ce respectable jury :

- Notre promoteur et co-promotrice pour avoir encadré ce mémoire ainsi que pour votre aimable disponibilité et vos conseils éclairés dispensés à notre égard, tout au long de la réalisation de ce travail. Nous vous prions de croire en notre respect et notre sincère gratitude.
- Mme ROUAKI. Nous sommes très honorées et heureuses que vous ayez accepté la présidence du jury de ce mémoire de master en Biotechnologies. Permettez-nous, Madame, de vous exprimer nos remerciements les plus sincères et notre profonde gratitude.
- Mme DJAZOULI-ALIM. Vous nous avez honoré d'avoir examiné notre mémoire de fin d'études ; Nous vous sommes très reconnaissantes et nous vous adressons nos sincères remerciements et soyez assurée de notre profond respect.

■ Nous vifs et sincères remercions à Mme SLIMANI Eps. KASMI, directrice technique et responsable du laboratoire recherche et développement de l'entreprise « Vague de Fraicheur » sise à Blida, pour son accueil chaleureux, sa disponibilité constante et ses conseils éclairés tout au long de notre parcours, ainsi que ses orientations et conseils dans la réalisation des préparations dermocosmétiques et le contrôle de qualité.

■ Sincères et profonds remerciements s'adressent également à Mme BOULETINE Eps. AIT ALI., responsable du laboratoire « Méthodes physiques d'analyses » au niveau du département génie des procédés, pour sa disponibilité bienveillante et ses conseils éclairés, ainsi que tous ses collègues, particulièrement Pr. DJEDRI S., et Pr. AYACHI N. (Université Blida 1) pour leur aimable et précieuse contribution tout le long de notre stage pratique.

■ Un immense remerciement s'adresse aussi à la cheffe de service de bactériologie de l'EHS El-Kettar d'Alger, Pr. ZIANE, ainsi qu'à tous les membres du laboratoire pour leur précieuse aide, leur soutien technique, leur efficacité, leur gentillesse et leur disponibilité au quotidien dans réalisation du screening antimicrobien.

■ Tous les chefs de service (Dr. KERSANI et Pr. MOKADEM) et personnel du laboratoire anatomie-pathologique de l'EPH Koléa et ceux de l'hôpital Douéra. Nous tenons à vous remercier chaleureusement et vivement de nous avoir accepté dans votre laboratoire et guidé tous au long de notre stage. Mention spéciale à Dr. BOUDOUR pour sa disponibilité et ses orientations techniques dans l'analyse histologique.

■ Nous tenons à remercier la cheffe de service pharmacotoxicologie de l'Agence Nationale des Produits Pharmaceutiques (ANPP) d'Alger, Pr. AMMI, ainsi que tous les membres de son laboratoire, particulièrement Mme MOKHATRI, dont le dévouement, la compétence et la réactivité ont grandement facilité la réalisation de nos expérimentations animales. Leur assistance précise, leurs conseils avisés et leur esprit collaboratif ont constitué une aide précieuse au quotidien.

■ Sincères et profonds remerciements s'adresseront aussi au directeur et aux membres du Centre National de Toxicologie (CNT) d'Alger pour leur précieuse aide et soutien dans la réalisation des tests toxicologiques, particulièrement Dr OUGRINE.

■ Mention spéciale au chef de service des laboratoires de la faculté SNV (Université Blida 1), M. Abderrahmane, pour sa disponibilité et bienveillance.

■ Nous adressons nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance à tout le corps enseignant de la Faculté SNV de l'Université Blida 1, et particulièrement toutes celles et tous ceux qui nous ont enseigné durant notre cursus universitaire.

DEDICACES

Je dédie ce mémoire à ceux qui ont illuminé mon chemin, soutenu mes pas et partagé mes doutes comme mes joies.

À mon père, Karim AIT ALI, pour son courage, ses sacrifices et sa confiance qui m'a portée plus loin que je ne l'aurais cru.

À ma mère, Zahira BOULETINE, pour son amour infini, sa force et sa présence dans chaque étape de ma vie.

À ma grand-mère Mama Nina, pour sa tendresse et ses prières.

En hommage de ma défunte grand-mère Rabea, partie trop tôt, mais dont la mémoire reste gravée dans mon cœur.

À mon frère Mohamed Faiz d'avoir toujours été là à sa manière pour me soutenir, m'encourager et me faire rire quand il le fallait

À mon binôme et meilleure amie Rania KASMI, pour sa complicité, son énergie et tout ce que nous avons traversé ensemble.

À son père, Tayeb KASMI et sa mère SLIMANI Hafida pour leur bienveillance et leur soutien sincère ainsi que sa sœur Imane et ses frères

À mes amis rencontrés à l'université, devenus une seconde famille. Merci pour les fous rires, les longues discussions, les moments de stress partagés et cette belle aventure humaine que nous avons vécue ensemble.

Ce mémoire est bien plus qu'un travail académique : c'est le reflet d'un parcours rempli de liens forts, de souvenirs et de gratitude.
Merci à chacun de vous.

Humblement

AMIRA

DEDICACES

Je dédie ce mémoire à toutes celles et ceux qui ont été là, qui m'ont soutenue, portée et aimée tout au long de mon chemin.

À mon père, KASMI Tayeb, pour tous ses sacrifices et sa confiance. Merci d'être ma source de force et de courage. Ta présence est mon refuge et mon inspiration.

À ma mère, Hafida KASMI, pour son amour, sa tendresse et sa force. Merci d'avoir toujours cru en moi.

À mon grand-père paternel, Messoud, pour ses prières constantes et son amour sincère, qui m'ont toujours accompagnée.

À ma grand-mère paternelle, Aïcha, partie trop tôt, mais qui vit en moi à travers sa force et son courage.

À mes défunts grands-parents maternels Fatouma et Belkacem, que je garde en moi le souvenir de leurs Tendresse et de leur amour.

À mes frères, Hichem et Tarek, pour leur soutien moral et leur bienveillance.

À ma petite sœur, Imène, pour sa patience et son amour discret mais si précieux.

À mes nièces d'amour, Salima et Aïcha, pour la lumière et la joie qu'elles apportent à ma vie.

À ma cousine Yasmine, à ma tante Assia et à Amou Krimo, son époux, pour leur accueil chaleureux et leur amour sincère.

À mon binôme et sœur de cœur, Ait Ali Amira, pour sa complicité, sa patience, son soutien fidèle, et tout ce que nous avons traversé ensemble durant ce parcours.

À ses parents, Ait Ali Karim et Bouletine Zahira, pour leur bienveillance, leur soutien et l'amour qu'ils m'ont offert comme si j'étais des leurs et leur fils Faïz.

Enfin, à tous mes amis de l'Université, pour toutes les nuits blanches, les fous rires, les doutes, les efforts. Merci d'avoir rendu cette aventure si belle.

De tout cœur, humblement

Rania

RESUME

L'objectif assigné à notre travail consiste à évaluer, *in vitro* et *in silico*, le pouvoir inhibiteur des huiles essentielles (HE) sur la croissance des bactéries multi-résistantes (BMR), et de déterminer, *in vivo*, leurs propriétés anti-inflammatoires. En aromatogramme, l'HE a présenté une activité antibactérienne sur l'ensemble des souches testées, en particulier sur toutes les BMR. Cette huile est également efficace sur toutes les BMR de *Staphylococcus* résistants à la méticilline. En phase vapeur, elle a présenté aussi un profil d'activité efficace sur *K. pneumoniae*, montrant une forte dose-dépendance. Le pouvoir anti-inflammatoire topique des HE, réalisé par le test d'induction d'œdème chez les souris, a révélé la présence d'un œdème modéré, en comparaison avec le contrôle positif qui a présenté une efficacité importante dans la réduction de l'œdème inflammatoire. Des préparations dermocosmétiques (crèmes dermiques et gels hydro-alcooliques) ont été formulées à base d'HE. Le contrôle de leur qualité microbiologique et rhéologique s'est avéré satisfaisant et en conformité avec les normes en vigueur. L'étude histologique a révélé une efficacité comparable entre les crèmes à base d'HE à travers une ré-épithélialisation complète. En définitive, les résultats obtenus laissent entrevoir, éventuellement, de nouvelles perspectives d'application cosméceutiques des HE comme un ingrédient actif dans des préparations galéniques à visée thérapeutique. Reste à confronter ces résultats avec les données toxicologiques.

Mots-clés : Huiles essentielles ; Distillats naturels ; Plantes aromatiques ; Bactéries multi-résistantes ; Cosméceutiques.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate, both in vitro and in silico, the inhibitory potential of essential oils (EOs) against the growth of multidrug-resistant bacteria (MDR), and to assess, in vivo, their anti-inflammatory and wound healing properties. In aromagram assays, the EO exhibited antibacterial activity against all tested strains, particularly against all MDR strains. The oil also demonstrated effectiveness against all methicillin-resistant *Staphylococcus* (MRSA) isolates. In vapor phase testing, it showed a strong dose-dependent antibacterial profile, notably against *Klebsiella pneumoniae*. The topical anti-inflammatory effect of the EO, assessed using the xylene-induced ear edema model in mice, revealed the presence of moderate edema, in comparison with the positive control which showed a greater efficacy in reducing inflammation. Dermocosmetic preparations (dermal creams and hydroalcoholic gels) were formulated using EO. Microbiological and rheological quality control tests showed satisfactory results and compliance with regulatory standards. Histological analysis revealed comparable efficacy between the EO-based creams, demonstrated by complete re-epithelialization. Overall, the results suggest promising new cosmeceutical applications for essential oils as active ingredients in therapeutic topical formulations. Further studies are required to compare these findings with toxicological data.

Keywords: Essential oils; natural distillation ; Aromatic plants ; Multidrug-resistant bacteria; Cosmeceuticals.

يهدف هذا العمل إلى تقييم القدرة التثبيطية للزيوت الأساسية (HE)، في المختبر وحواسبياً (in silico)، ضد نمو البكتيريا المقاومة لعدة أدوية (BMR)، بالإضافة إلى تحديد خصائصها المضادة للالتهاب والمحفزة للالتئام في الجسم الحي (in vivo). في اختبار الأروماتوغرام، أظهرت الزيوت الأساسية نشاطاً مضاداً للبكتيريا على جميع السلالات المختبرة، خصوصاً تلك المقاومة للمضادات الحيوية. كما أثبتت فعاليتها ضد جميع سلالات Staphylococcus المقاومة للميثيسيلين. في الطور البخاري، أظهرت الزيت الأساسية فعالية واضحة ضد Klebsiella pneumoniae، مع اعتماد كبير على الجرعة. تم تقييم التأثير المضاد للالتهاب موضعياً باستخدام اختبار وذمة الأذن المحفزة بالزيت لذي الفئران، وقد أظهر الزيت إحداث وذمة معتدلة مقارنةً بالشاهد الإيجابي الذي أظهر فعالية كبيرة في الحد من الالتهاب. تم تحضير مستحضرات جلدية-تجميلية (كريمات وجل كحولي) تعتمد على الزيوت الأساسية. وقد أظهرت اختبارات الجودة الميكروبيولوجية والريولوجية نتائج مرضية ومتوافقة مع المعايير المعمول بها. وقد كشفت الدراسة النسيجية عن فعالية مماثلة بين الكريمات المحتوية على الزيوت الأساسية، وذلك من خلال إعادة التظهير الكامل (re-epithelialization). في الختام، تشير النتائج إلى إمكانيات واعدة لاستخدام الزيوت الأساسية كمكونات فعالة في مستحضرات تجميلية علاجية. إلا أن الأمر يتطلب مقارنتها بالبيانات السمية قبل التوصية باستخدامها سريرياً.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية؛ النباتات العطرية؛ البكتيريا المتعددة المقاومة؛ المستحضرات التجميلية العلاجية.

Table des Matières

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des Abréviations

Introduction	1
Chapitre 1 = SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	2
1.1. Définition d'une huile essentielle	2
1.2. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	2
1.3. Composition chimique des huiles essentielles	3
1.4. Conservation des huiles essentielles	4
1.5. Qualité, normes et labellisation	5
1.6. Propriétés des huiles essentielles	5
1.7. Précautions d'emploi et toxicité des huiles essentielles	5
1.8. Rôle des huiles essentielles chez les plan	6
Chapitre 2 = MATERIEL ET METHODES	7
2. Matériel	7
2.1. Huiles essentielles testées	7
2.2. Souches microbiennes	7
2.3. Animaux de laboratoire	7
2.4. Milieux de culture et produits chimiques	8
2.2. Méthodes	8
2.2.1. Etude du pouvoir antibactérien <i>in vitro</i>	8
2.2.1.1. Evaluation des propriétés antibactériennes par aromatogramme	8
2.2.1.2. Evaluation des propriétés antibactériennes <i>in vitro</i> par microatmosphère	8
2.2.2. Etude de l'activité antibactérienne <i>in silico</i>	9
2.2.2.1. Structures des ligands	9
2.2.2.2. Structure et préparation de l'enzyme	10
2.2.2.3. Processus du docking moléculaire	10
2.2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire topique des huiles essentielles <i>in vivo</i>	12
2.2.4. Préparations galéniques dermocosmétiques	13
2.2.4.1. Préparation d'une crème dermique hydrophile	13
2.2.4.2. Préparation d'un gel hydro-alcoolique	13
2.2.4.3. Contrôle de la qualité microbiologique et physicochimique	14
2.2.5. Détermination du pouvoir toxicologiques des crèmes dermiques	14
2.2.5.1. Test d'irritation cutanée primaire chez le lapin	14
2.2.5.2. Détermination du pouvoir irritant par HET-CAM	16
2.2.6. Évaluation de l'activité cicatrisante de la crème dermique sur brûlures	16
2.2.7. Examen histologique	16
2.2.8. Etude Statistique	16
Chapitre 3 = RESULTATS ET DISCUSSION	17

3.1. Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles <i>in vitro</i> -----	17
3.2. Etude du pouvoir antibactérien <i>in silico</i> par docking moléculaire -----	19
3.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire topique des huiles essentielles -----	24
3.4. Qualité physico-chimique et microbiologique des préparations dermocosmétiques -----	25
3.5. Comportement rhéologique par test d'écoulement à l'équilibre -----	25
3.6. Pouvoir irritant des préparations dermocosmétiques -----	26
3.6.1. Détermination de l'indice d'irritation primaire cutané -----	26
3.6.2. Détermination du pouvoir irritant <i>in ovo</i> -----	27
3.7. Evaluation des propriétés cicatrisantes des crèmes dermiques -----	27
3.7.1. Etude macroscopique et planimétrique -----	27
Conclusion -----	29
Références bibliographiques -----	30

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1. Ligands testés pour le docking moléculaire *in silico*.

Tableau 2.2. Echelle numérique pour le calcul de l'indice d'irritation primaire cutané.

Tableau 2.3. Notation en fonction du temps et expression des résultats.

Tableau 3.1. Résultats du pouvoir antibactérien sur le récepteur PBP des composés terpéniques majeurs de l'HE en comparaison avec des antibiotiques *in silico*.

Tableau 3.2. Types des interactions formées entre les ligands et le site actif de la PBP.

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1. Structures chimiques de certains composés des huiles essentielles.

Figure 2.1. Aromatogramme et microatmosphère

Figure 2.2. Structure chimique des molécules terpéniques utilisées dans le docking.

Figure 2.3. Structure chimique des antibiotiques testés dans le docking moléculaire.

Figure 2.4. Structure 3D tétramérique de la protéine de liaison à la pénicilline (PBP).

Figure 2.5. Structure monomérique de la protéine de liaison à la pénicilline (PBP).

Figure 2.6. Site catalytique localisé au niveau de la sous unité A de la protéine.

Figure 2.7. Interaction du ligand (pénicilline G) avec le site catalytique de la PBP.

Figure 2.8. Etapes du test HET-CAM pour la détermination du pouvoir irritant.

Figure 3.1. Mécanisme d'action des HE sur la cellule bactérienne (Maurya et al., 2021).

Figure 3.2. Interactions formées et visualisées entre l'amoxicilline et le site actif de la PBP.

Figure 3.3. Interactions établies entre l'acétate d'eugénol et le site catalytique de la PBP.

Figure 3.4. Interactions formées entre le limonène et le site catalytique de la PBP.

Figure 3.5. Micrographies de quelques observations histologiques des tissus auriculaires chez des animaux traités en comparaison avec le témoin.

Figure 3.6. Résultats du test de Draize (irritation cutanée chez le lapin) après 72h d'application des crèmes dermiques à base d'huile essentielle.

Figure 3.7. Coupes histologiques (Hématoxyline-éosine) du tissu cutané cicatrisé des rats en comparaison avec le témoin.

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR	Association Française de Normalisation
AFSSAPS	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
AINS	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
AIS	Anti-inflammatoires stéroïdiens
ANOVA	Analyse de variance
ANPP	Agence Nationale des Produits Pharmaceutiques
ATCC	American type culture collection
BMR	Bactéries multi-résistantes
CID	Identifiant du composé
COX-2	Cyclo-oxygénase-2
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
CPG-SM	Chromatographie phase gazeuse-Spectrométrie de masse
DZI	Diamètre de la zone d'inhibition
ESBL	Béta-lactamase à spectre étendu
FC	Formule chimique
HE	Huile essentielle
H&E	coloration Hématoxyline-Eosine
HEBBD	Huile essentielle botaniquement et biochimiquement définie
HECT	Huile essentielle chémotypée
HET-CAM	Hen's Egg Test on Chorioallantoic Membrane
IIPC	Indice d'irritation primaire cutané
IL	Interleukine
ISO	Organisation Internationale de Normalisation
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> productrice de carbapénémases
MH	gélose Muller-Hinton
NaOH	Hydroxyde de sodium
NF- κ B	Facteur nucléaire kappa B
NO	Monoxyde d'azote
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Économiques
OMS	Organisation mondiale de la santé
PBP	Protéine de liaison aux pénicillines
PDB	Protein Data Bank
PGE2	Prostaglandines E2
pH	potentiel d'Hydrogène
PM	Poids moléculaire
ppm	parties par million
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline
SMILES	Simplified molecular input line entry system
TNF- α	Facteur de nécrose tumorale alpha

INTRODUCTION

L'antibiorésistance est aujourd'hui reconnue par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) comme l'une des plus graves menaces pesant sur la santé humaine. Elle se manifeste par l'incapacité croissante des antibiotiques à inhiber la croissance de certaines souches bactériennes, telles que le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) et le *Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémases (KPC) (Kim et Jeong, 2022).

De même, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) peuvent provoquer des effets indésirables gastro-intestinaux qui sont dus à l'inhibition de la production de prostaglandines qui protègent normalement la muqueuse gastrique. Les AINS peuvent également affecter la fonction rénale, particulièrement chez les personnes âgées ou celles souffrant déjà d'insuffisance rénale (Sostres et al., 2010 ; Arfeen et al., 2024).

L'utilisation des plantes à parfum et les huiles essentielles (HE), comme alternatives à ces médicaments de synthèse, suscite un intérêt croissant en raison de leurs propriétés thérapeutiques, en particulier pour un usage topique contre les inflammations et infections cutanées (Zhao et al., 2017 ; Chouhan et al., 2023 ; Kor et al., 2025). Cependant, l'utilisation des HE doit être abordée avec prudence. Leur efficacité peut varier en fonction de la qualité, de la méthode d'extraction et de la concentration des composés actifs. Par conséquent, des études plus approfondies seront nécessaires pour établir leur place précise dans l'arsenal thérapeutique.

De ce fait, l'objectif assigné à notre travail consiste à étudier le pouvoir inhibiteur des huiles essentielles sur des bactéries multi-résistantes (BMR) *in vitro* à travers l'application de deux méthodes complémentaires (aromatogramme et microatmosphère) et *in silico* par docking moléculaire. Aussi, nous avons évalué, *in vivo*, leur pouvoir anti-inflammatoire. De plus, des préparations dermocosmétiques (crèmes dermiques et gels hydro-alcooliques) ont été formulées, suivi par un contrôle de la qualité microbiologique, toxicologique et de leur comportement rhéologique.

Chapitre 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Définition d'une huile essentielle

En se référant à la Pharmacopée Européenne (Ph. Eur., 2023), une huile essentielle (HE) est un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par l'entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Cela désigne l'expression à froid qui concerne généralement le traitement du péricarpe du genre *Citrus*. Une HE est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

En France, le Code de la santé publique précise, dans son article L5311-1, que les HE sont des « produits à finalités sanitaires » au même titre que les plantes médicinales. Autrement dit, ce sont des produits de santé (Légifrance, 2024).

1.2. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

La norme ISO (2021) définit plusieurs modes d'obtention d'une HE. Elle peut être extraite soit :

- Entraînement à la vapeur d'eau : La vapeur d'eau traverse la matière végétale, entraînant les composés volatils. Le mélange vapeur-huile est ensuite condensé, et l'huile essentielle est séparée par décantation.
- Distillation sèche : Chauffage sans eau d'une matière première végétale pour en extraire les constituants volatils.
- Expression mécanique à froid (cold expression) : Procédé mécanique (sans chauffage) réservé aux péricarpes d'agrumes.
- Procédé physique sans modification chimique : toute autre méthode physique (filtration, centrifugation, décantation) utilisée sans solvant ni traitement chimique, n'entraînant pas de changement significatif de la composition.

Les méthodes innovantes d'extraction des HE incluent l'extraction par fluide supercritique (SFE), l'extraction assistée par micro-ondes et la distillation aux ultrasons. Ces techniques offrent des avantages tels qu'une meilleure préservation des composés sensibles à la chaleur, une réduction des temps

d'extraction, et une diminution de l'utilisation de solvants chimiques. Par exemple, l'extraction assistée par micro-ondes consiste à utiliser des micro-ondes pour accélérer le processus de distillation à la vapeur d'eau (Chemat et al., 2012 ; Kant et Kumar, 2022).

1.3. Composition chimique des huiles essentielles

Une huile peut contenir de 20 à 60 composés biochimiques différents. Sa composition chimique est déterminée par la chromatographie en phase gazeuse (CPG). Les principales composantes sont les terpènes et terpénoïdes et les constituants aromatiques (De Sousa et al., 2023 ; Siddiqui et al., 2024).

Les terpénoïdes sont représentés par les monoterpènes et dérivés tels que les carbures monoterpéniques, acycliques ou cycliques, des aldéhydes et des alcools monoterpéniques, des cétones et des époxydes monoterpéniques (figure 1.1).

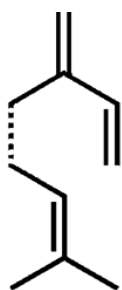
Les composés aromatiques sont des dérivés du phénylpropane ; ils comprennent les aldéhydes (cinnamaldéhyde), les alcools (alcool cinnamique), les phénols (eugénol), les dérivés méthoxy (anéthole, estragole, méthyl eugénol) (Kaloustian and Hadji-Minaglou, 2012).

Seuls les monoterpènes en C₁₀ et les sesquiterpènes en C₁₅ peuvent être extraits par distillation, les autres terpènes (diterpènes en C₂₀ et triterpènes en C₃₀) n'étant pas entraînés par la vapeur d'eau.

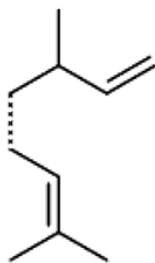
Les terpènes peuvent être classés selon :

- leurs fonctions : alcools (géraniol, linalol), esters (acétate de linalyle), aldéhydes (citrал, citronellal), cétones (menthone, camphre, thuyone), éthers-oxydes (cinéole) ;
- leur structure : linéaire (farnésène, farnésol), monocyclique (zingiberène), bicyclique (caryophyllène, chamazulène) ou tricyclique (patchoulol, viridiflorol) (Kaloustian and Hadji-Minaglou, 2012).

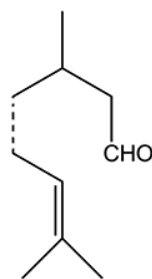
**Monoterpènes
acycliques**



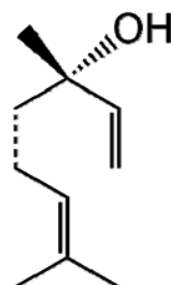
Myrcene



Ocimene

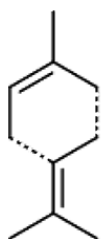


Citronellal



Linalool

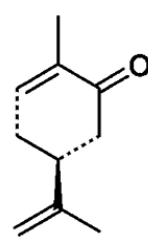
**Monoterpènes
monocycliques**



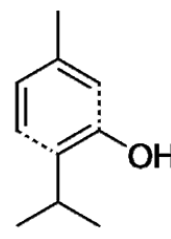
Terpinolene



Phellandrene

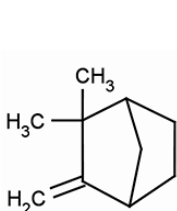


Carvone

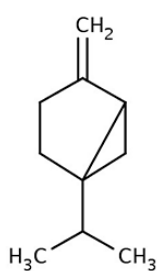


Thymol

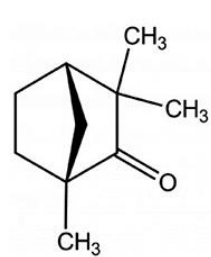
**Monoterpènes
bicycliques**



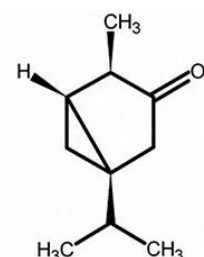
Camphene



Sabinene

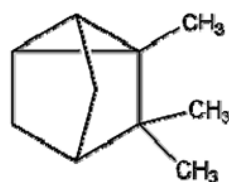


Fenchone



Thujone

**Monoterpène
tricyclique**



Tricyclene

Hydrocarbonné

Figure 1.1. Structures chimiques de certains composés des huiles essentielles (Morsy, 2017).

I.4. Conservation des huiles essentielles

Elles se présentent et se conservent dans des flacons de verre fumé, fermés par un bouchon bien hermétique, ce qui les préserve de la lumière et de l'air pour éviter leur oxydation (à l'air) et leur polymérisation (à la lumière). Elles se conservent à une température ambiante qui varie entre 3 C° et 4 C° (Sallé, 1991).

1.5. Qualité, normes et labellisation

Les méthodes d'analyse sont normalisées et font l'objet d'une monographie dans la Pharmacopée européenne 7^e édition, ainsi que dans les normes AFNOR NF T 75-400 et 401 (AFNOR, 1988), équivalent ISO 7359 et 7609.

Les HE qui sont labellisées "HEBBD" (huile essentielle botaniquement et biochimiquement définie) sont extraites de plantes botaniquement identifiées et ont subi une analyse chimique type CPG-SM afin de déterminer le chémotype. C'est un gage de qualité. Une HE "HEBBD" est réputée pure et naturelle.

Elle est pure quand elle n'est pas contaminée par un composant appartenant à une autre HE (fraude) et qu'elle est obtenue à partir d'un ensemble homogène de plantes (même producteur si possible, sinon même région de production, plantes récoltées au même moment). Elle est naturelle en l'absence de toute trace de solvant chimique et de molécule de synthèse (Laurain-Mattar, 2018).

1.6. Propriétés des huiles essentielles

Les bienfaits des HE sont multiples et leurs champs d'action très diversifiés. De plus, chaque HE contient une plusieurs molécules aromatiques différentes. De cette incroyable diversité biochimique résulte une grande diversité de propriétés et de bienfaits potentiels. Les HE possèdent de nombreuses propriétés pharmacologiques, notamment antibactériennes, anti-inflammatoires, antioxydantes, et antifongiques (Sadgrove et al., 2021 ; De Sousa et al., 2023 ; Zhao et al., 2023).

Une HE peut rentrer dans la composition d'un produit cosmétique. La réglementation européenne n'édicte pas de règle spécifique quant à l'incorporation d'une ou plusieurs HE dans un produit cosmétique. Néanmoins, l'annexe II du règlement européen contient une liste de substances interdites dans ce type de produits (Union Européenne, 2009).

1.7. Précautions d'emploi et toxicité des huiles essentielles

S'il est indéniable que les HE suscitent un véritable engouement, il n'en demeure pas moins que l'aromathérapie ne doit laisser aucune place à l'improvisation. Cette toxicité est cependant très variable et dépend de la nature de l'HE et de son utilisateur (Wojtunik-Kulesza, 2022 ; Soni et al., 2023).

Certaines HE peuvent provoquer diverses toxicités. De nombreux médicaments à base de dérivés terpéniques issus des HE ont ainsi été retirés du marché après le signalement de nombreux cas de convulsions et de difficultés respiratoires chez les enfants (Touboul, 2021).

1.8. Rôle des huiles essentielles chez les plantes

Les huiles essentielles sont des messagers chimiques utilisés par les plantes aromatiques pour interagir avec leur environnement. Les huiles essentielles permettent d'éloigner les maladies, les parasites, mais aussi jouent un rôle protecteur face aux rayonnements du soleil. Les huiles essentielles jouent un rôle important dans la reproduction et la dispersion des espèces végétales puisqu'elles permettent d'attirer les insectes pollinisateurs.

Les huiles essentielles (HE) sont des mélanges complexes de composés volatils, principalement des monoterpènes, sesquiterpènes et phénylpropanoïdes, produits par les plantes aromatiques dans des structures spécialisées (glandes sécrétoires, trichomes, canaux oléifères). Leur rôle principal est écologique, contribuant à la protection de la plante contre les stress biotiques et abiotiques. Elles agissent notamment comme barrière chimique contre les microorganismes pathogènes (bactéries, champignons) et les ravageurs herbivores, par des mécanismes d'action variés : perturbation des membranes cellulaires, inhibition enzymatique ou interférence avec les voies métaboliques des agresseurs.

De nombreuses huiles essentielles possèdent une activité antimicrobienne intrinsèque qui permet à la plante de se défendre contre les infections. Par exemple, le carvacrol et le thymol, présents dans l'origan et le thym, perturbent la membrane cytoplasmique des microorganismes, entraînant une fuite des composants intracellulaires. Cette action contribue à limiter la prolifération des agents pathogènes au niveau des tissus végétaux, réduisant ainsi les risques de maladies fongiques ou bactériennes.

Les huiles essentielles jouent également un rôle répulsif contre les insectes phytophages. Leur forte odeur, parfois couplée à une toxicité directe, agit comme un signal d'alerte chimique pour éloigner les prédateurs ou inhiber la ponte. Certaines molécules volatiles peuvent aussi attirer des insectes auxiliaires, comme les pollinisateurs ou les prédateurs naturels des ravageurs, contribuant à un équilibre écologique favorable à la plante.

Chapitre 2

MATERIEL ET METHODES

Nos différentes expérimentations ont été effectuées dans les structures suivantes :

- Laboratoire de microbiologie de l'EHS El Hadi Flici d'Alger pour tester le pouvoir antimicrobien des HE de *in vitro* sur des bactéries multi-résistantes (BMR).
- Laboratoire de rhéologie (Département de chimie, Université de Blida 1) pour l'étude des propriétés viscoélastiques des préparations cosmétiques.
- Laboratoire pharmaco-toxicologie de l'ANPP d'Alger pour l'évaluation des propriétés pharmacologiques *in vivo*.
- Laboratoire d'anatomie pathologique pour l'analyse histologique.

2. Matériel

2.1. Huiles essentielles testées

Les HE ont été fournies par la société Extral de production des HE (Blida). L'extraction des HE a été faite à échelle industrielle (alambic) de la partie aérienne récoltés dans la région de Blida. Ces HE ont été conservées dans des flacons stériles et teintés à température ambiante.

2.2. Souches microbiennes

Nous avons utilisé des BMR et des souches de référence pour le screening antimicrobien des HE *in vitro*. Au total, des souches de *Klebsiella pneumoniae* résistantes, et des souches des *Staphylococcus aureus* résistantes ont été utilisées.

2.3. Animaux de laboratoire

En ce qui concerne l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire topique *in vivo*, nous avons utilisé des souris, de sexe femelle, avec un poids variant entre 22-28 g. Des lapins albinos néo-zélandais ont été utilisés pour évaluer le potentiel d'irritation cutanée des préparations topiques. Tous ces animaux de laboratoire ont été stabulés dans des cages en plastique, à une température ambiante avec un régime alimentaire de granulés, de l'eau de manière *ad-libitum*.

2.4. Milieux de culture et produits chimiques

Les deux milieux de culture utilisés sont la gélose Muller-Hinton (MH) pour les bactéries. Aussi, nous avons utilisé plusieurs antibiotiques comme contrôle positif. Concernant l'étude histologique, plusieurs solvants et colorants ont été utilisés à l'exemple de l'acétone, le xylène, l'éthanol (à différents degrés), le formol, l'hématoxyline et l'éosine.

2.2. Méthodes

2.2.1. Etude du pouvoir antibactérien *in vitro*

2.2.1.1. Evaluation des propriétés antibactériennes par aromatoگرامme

Cette technique est basée sur le pouvoir migratoire des HE sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte Pétri (Pibiri, 2006). Nous avons utilisé des disques stériles (9 mm de diamètre) imprégnés d'une quantité précise en huiles. Par la suite, le disque est déposé au centre d'une boîte Pétri contenant un milieu gélosé préalablementensemencé (Figure 2.1). A noter que la densité optique de la suspension microbienne a été préalablement ajustée (0.5 Mac Farland) afin d'obtenir une concentration de 10^8 germes/mL. Les boîtes seront incubées à température adéquate ($37^{\circ}\text{C}/24\text{h}$). A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance bactérienne se traduit par l'apparition d'un halo translucide autour du disque et dont le diamètre de la zone d'inhibition (DZI) sera mesuré et exprimé en millimètres.

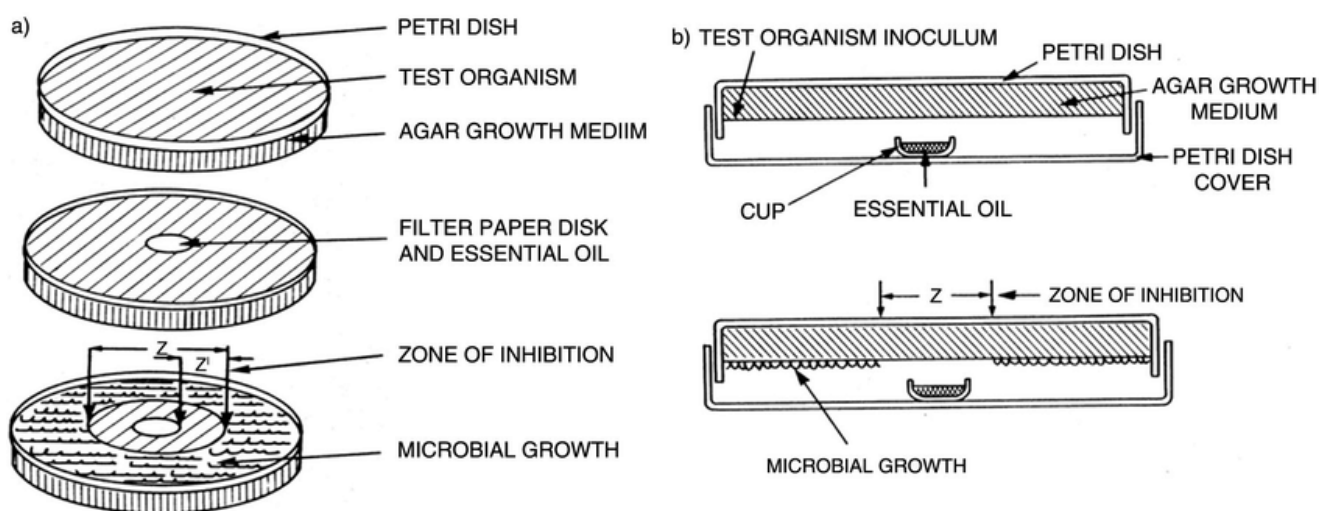


Figure 2.1. Aromatogramme et microatmosphère

2.2.1.2. Evaluation des propriétés antibactériennes par microatmosphère

Nous avons adopté cette technique dans le but de vérifier les propriétés inhibitrices de la phase volatile des HE (Pibiri, 2006). La différence entre cette technique et l'aromatoگرامme réside dans la position du disque imprégné en HE qui sera déposé au centre du couvercle de la boîte Pétri.

2.2.2. Etude de l'activité antibactérienne *in silico*

Nous avons procédé, en premier, à la méthode du docking moléculaire des composés terpéniques des HE *in silico*.

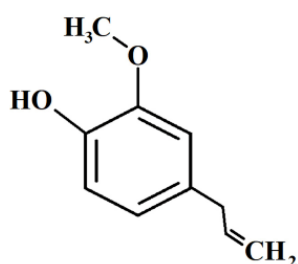
2.2.2.1. Structures des ligands

Nous avons utilisé 5 molécules terpéniques (figure 2.2) détectées majoritairement dans les HE (limonène, linalool et acétate de linalyle, eugénol et acétate d'eugénol) en comparaison avec 5 antibiotiques (figure 2.3).

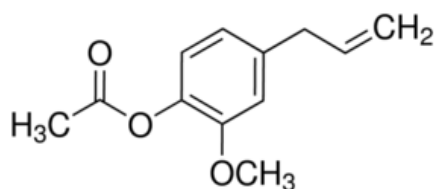
Tous les ligands (tableau 2.1) sont téléchargés de la base de données PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

Tableau 2.1. Ligands testés pour le docking moléculaire *in silico*.

CID	Composé	FC	PM
3314	Eugénol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164
7136	Acétate d'eugénol	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	206
22311	Limonène	C ₁₀ H ₁₆	136
6549	Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	154
8294	Acétate de linalyle	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196
33613	Amoxicilline	C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₅ S	365
5904	Pénicilline G	C ₁₆ H ₁₈ N ₂ O ₄ S	334
6196	Oxacilline	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₅ S	401
441199	Céfoxitine	C ₁₆ H ₁₇ N ₃ O ₇ S ₂	427
104838	Imipénème	C ₁₂ H ₁₇ N ₃ O ₄ S	299



Eugénol



Acétate d'eugénol

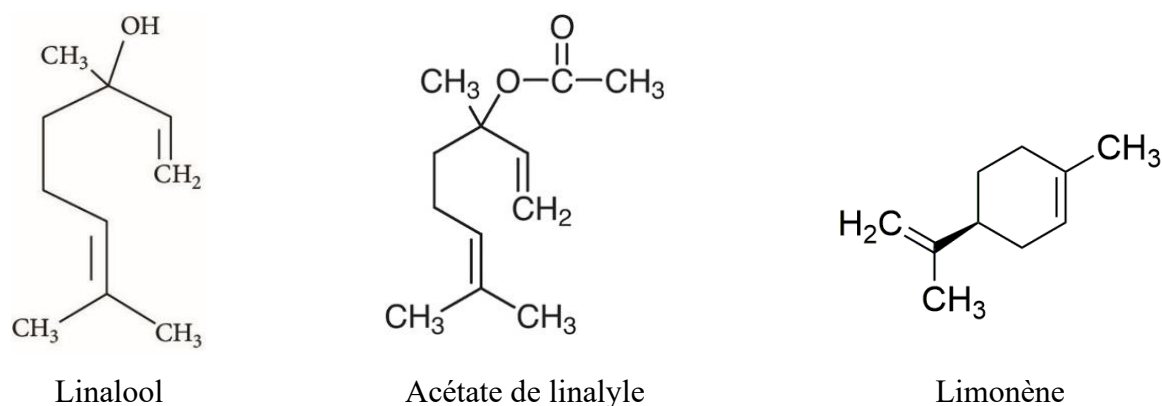


Figure 2.2. Structure chimique des molécules terpéniques utilisées dans le docking.

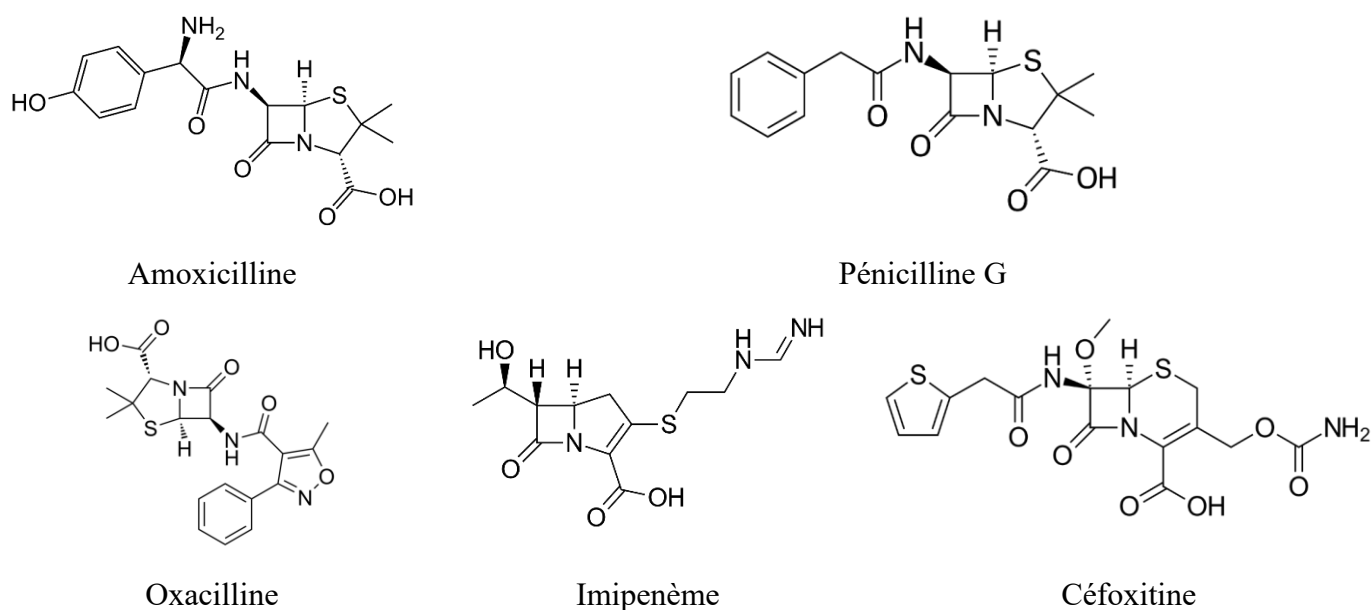


Figure 2.3. Structure chimique des antibiotiques testés dans le docking moléculaire.

2.2.2.2. Structure et préparation de l'enzyme

La structure 3D de protéine de liaison à la pénicilline (PBP2) a été téléchargée sous format PDB de la base de données Protein Data Bank (www.rcsb.org). Cette protéine (figure 2.4), en complexation avec un antibiotique nommé pénicilline G (figures 2.6 et 2.7), a été déposée sous le thème « Structure of penicillin G acyl-Penicillin binding protein 2a from methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strain ».

Les PBP sont des protéines importantes impliquées dans la construction du peptidoglycane, qui est le principal constituant des parois cellulaires bactériennes. La synthèse de la paroi cellulaire bactérienne est essentielle à la croissance, à la division cellulaire et au maintien de la structure cellulaire des bactéries (Zervosen et al., 2012).

Notre choix pour la PBP est motivé par le fait que c'est une cible médicamenteuse connue pour l'inhibition de la biosynthèse de la paroi cellulaire bactérienne. L'inhibition des PBPs est l'un des principaux mécanismes d'action des antibiotiques β -lactames, tels que les pénicillines, les céphalosporines et les carbapénèmes.

2.2.2.3. Processus du docking moléculaire

Le docking moléculaire est une méthode computationnelle pour prédire l'interaction tridimensionnelle entre deux molécules (ligands) et une macromolécule biologique (protéine). Notre étude portera sur l'interaction entre le site actif de l'enzyme PBP et les composés terpéniques des HE et ce afin de former un complexe stable. Tous les ligands testés ont été considérés comme flexibles, alors que la chaîne principale de l'enzyme a été maintenue rigide. L'amoxicilline, la pénicilline G, l'oxacilline, la céfoxitine et l'imipénème ont été choisis pour comparer leurs énergies d'affinité avec celles des constituants des HE.



Figure 2.4. Structure 3D tétramérique de la protéine de liaison à la pénicilline (PBP).

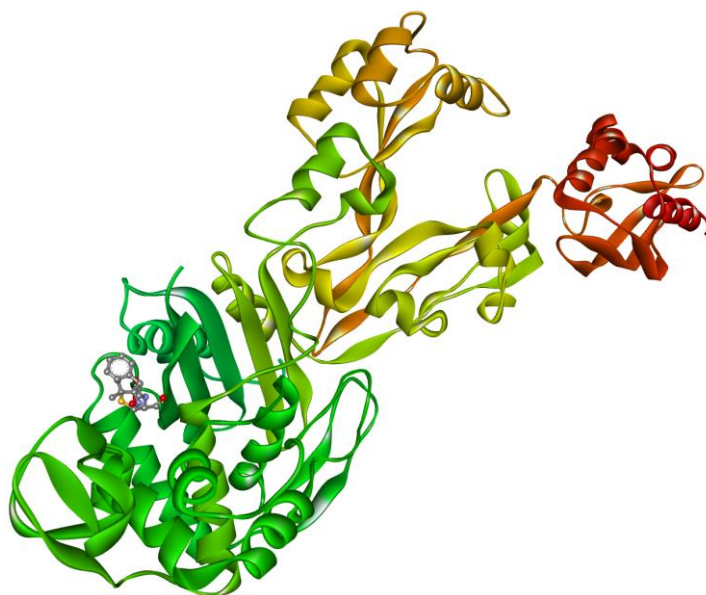


Figure 2.5. Structure monomérique de la protéine de liaison à la pénicilline (PBP).

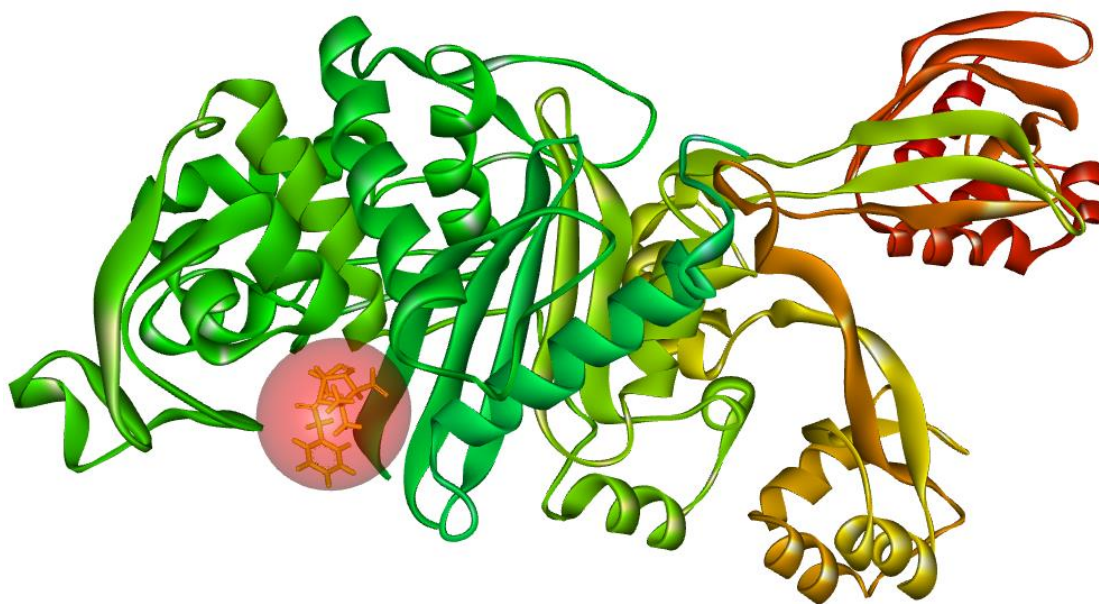


Figure 2.6. Site catalytique localisé au niveau de la sous unité A de la protéine.

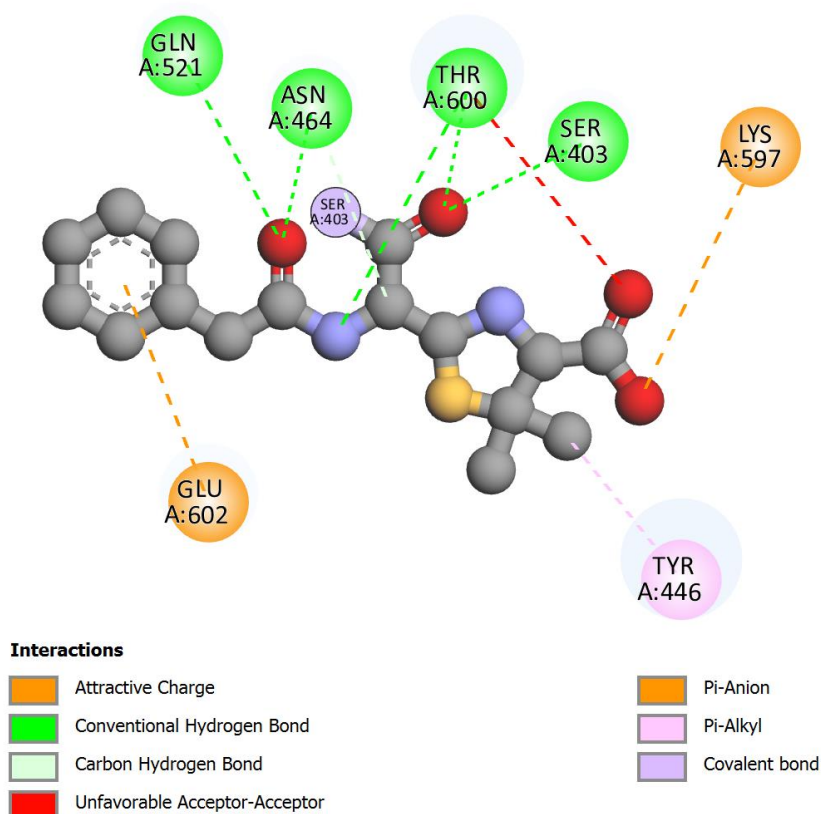


Figure 2.7. Interaction du ligand (pénicilline G) avec le site catalytique de la PBP.

2.2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des huiles essentielles *in vivo*

L'activité anti-inflammatoire topique des HE a été évaluée *in vivo* sur des souris provenant de l'Institut Pasteur d'Alger. La réaction inflammatoire a été induite au niveau auriculaire de chaque animal par application d'une solution de xylène (20 μ L). A cet effet, 11 lots d'animaux ont été constitués contenant chacun 3 souris. Un lot contrôle négatif recevra l'huile d'amande (véhicule) par application cutanée au niveau des deux pavillons auriculaires (droit et gauche).

Les autres groupes recevront, localement, une dose déterminée en HE. A la fin de cette étude expérimentale, toutes les souris seront sacrifiées par dislocation cervicale, et des pièces circulaires auriculaires ont été coupées et retirées et conservées dans du formol à 10% pour l'étude histologique.

2.2.4. Préparations galéniques dermocosmétiques

2.2.4.1. Préparation d'une crème dermique hydrophile

L'objectif assigné à cette étude sera la mise au point d'une formule galénique topique adaptée aux HE. La forme pharmaceutique choisie est celle d'une émulsion hydrophile largement utilisée pour le traitement local des pathologies cutanées (**Martini, 2011**).

La préparation de la crème dermique a été réalisée selon un procédé en trois phases : phase huileuse, phase aqueuse, puis phase de finition.

L'émulsification a été faite en ajoutant la phase aqueuse progressivement à la phase huileuse sous agitation continue à l'aide d'un agitateur à hélice. L'agitation a été maintenue pendant 10 minutes pour permettre la formation d'une émulsion stable, jusqu'à refroidissement.

Enfin, les ingrédients thermosensibles ont été ajoutés successivement à savoir le benzoate de sodium en solution aqueuse. Le produit final a été homogénéisé doucement jusqu'à obtention d'une crème dermique qui sera conditionnée dans des pots stériles, puis conservée à température ambiante à l'abri de la lumière.

2.2.4.2. Préparation d'un gel hydro-alcoolique

La préparation du gel dermique a été réalisée par dispersion à froid, suivie d'une neutralisation progressive. Dans un bécher propre, l'eau traitée a été versée, puis le carbomer a été saupoudré lentement à la surface du liquide tout en agitant modérément pour éviter la formation de grumeaux. L'apparition d'une texture gélifiée et claire a confirmé la formation du gel.

Le gel obtenu, homogène, transparent et fluide, a été conditionné dans des flacons préalablement nettoyés et désinfectés. Les échantillons ont été conservés à température ambiante, à l'abri de la lumière.

2.2.4.3. Contrôle de la qualité microbiologique et physicochimique

- Evaluation de la qualité microbiologique

L'objectif de ce contrôle est d'apporter les moyens de vérifier que les préparations topiques répondent aux exigences microbiologiques spécifiées dans les monographies de Pharmacopée Européenne (Ph. Eur., 2014). Les analyses réalisées se résument en la recherche et le dénombrement des germes aérobies viables totaux et la recherche des germes spécifiés (coliformes et champignons).

- Mesure du pH

L'acidité de la crème formulée est très importante étant donné que cette dernière est destinée à être appliquée sur la peau. La mesure du pH a été effectuée à l'aide d'un pH mètre de type HANNA®. Cet instrument est équipé d'une électrode spécifique pour la mesure du pH des gels et des crèmes.

2.2.5. Détermination du pouvoir toxicologiques des crèmes dermiques

2.2.5.1. Test d'irritation cutanée primaire chez le lapin

Le test d'irritation cutanée primaire est fondée sur l'observation des réactions cutanées provoquée par l'application unique du produit. Il a été réalisé conformément à la Ligne Directrice 404 de l'OCDE adoptée le 18 juillet 2015, en utilisant des lapins albinos adultes (race New Zealand), pesant entre 2,5 et 3 kg (Roy et al., 2010).

L'indice d'irritation primaire (IIP) a ensuite été déterminé pour classer le potentiel irritant du produit selon les critères définis dans les réglementations internationales. Les observations sont faites selon l'échelle numérique rapportée dans le tableau 2.2.

Tableau 2.2. Echelle numérique pour le calcul de l'indice d'irritation primaire cutané.

Erythème	Œdème	Score	Résultats	Indice d'irritation primaire
Absence	Absence	0	Non irritant	$IIP \leq 0,5$
Léger	Très léger	1	Légèrement irritant	$0,5 < IIP \leq 2$
Visible	Léger	2	Irritant	$2 < IIP \leq 5$
Important	Moyen	3	Très irritant	$5 < IIP \leq 8$
Grave	Grave	4		

L'indice d'irritation primaire cutané (IIPC) est calculé en utilisant les résultats des observations cliniques sur les réactions cutanées. La formule de calcul de l'IIPC peut être exprimée comme suit :

$$IIPC = \frac{\text{Somme scores d'irritation}}{\text{Nombre total des sites testés}}$$

2.2.5.2. Détermination du pouvoir irritant par HET-CAM

Le test HET-CAM (Hen's Egg Test on Chorioallantoic Membrane) est une méthode *in ovo* utilisée pour évaluer le potentiel irritant des substances chimiques. C'est une méthode rapide, économique et relativement simple pour évaluer le potentiel irritant des substances, offrant une alternative intéressante aux tests sur animaux, en particulier pour le dépistage des irritants sévères. Ce test exploite la membrane chorioallantoïque (CAM) d'un œuf de poule fécondé, qui est riche en vaisseaux sanguins (Cazedey et al., 2009).

HET CAM ASSAY

(Chorioallantoic Membrane assay)

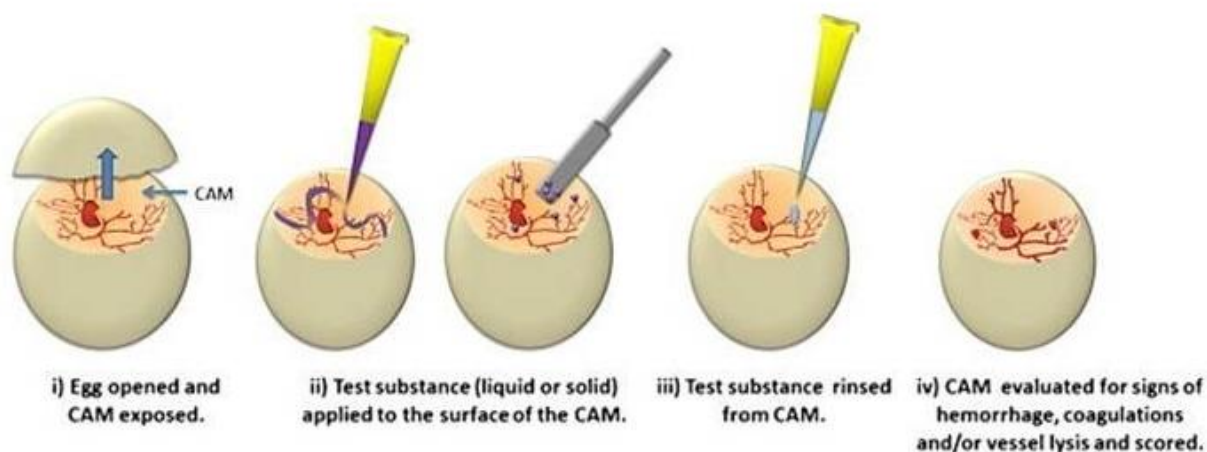


Figure 2.8. Etapes du test HET-CAM pour la détermination du pouvoir irritant.

Les phénomènes observés (hyperémie, hémorragie, coagulation) ne sont pas retenus en fonction de leur intensité mais en fonction de leur présence : il s'agit d'une réponse de type tout ou rien. Ces réactions sont notées sur une échelle de temps définie. Le score final permet de classer la substance comme non irritante, légèrement, modérément ou fortement irritante

Tableau 2.3. Notation en fonction du temps et expression des résultats.

Phénomène	Temps	Score	Notation (N)	Classification
Hyperémie	$T \leq 30 \text{ s}$	5	$N < 1$	Pratiquement non irritant
	$30 \text{ s} < T \leq 2 \text{ min}$	3		
	$2 \text{ min} < T \leq 5 \text{ min}$	1		
Coagulation	$T \leq 30 \text{ s}$	9	$5 \leq N < 9$	Modérément irritant.
	$30 \text{ s} < T \leq 2 \text{ min}$	7		
	$2 \text{ min} < T \leq 5 \text{ min}$	5		
			$9 \leq N$	Irritant.

2.2.6. Évaluation de l'activité cicatrisante

L'évaluation de l'activité cicatrisante d'une crème dermique chez le rat a été faite en comparaison avec une crème de référence (Somboonwong et al., 2012).

2.2.7. Examen histologique

Afin de confirmer l'activité anti-inflammatoire des HE au niveau tissulaire, des coupes histologiques ont été faites sur les pièces auriculaires coupées précédemment. La coloration effectuée était celle de l'hématoxyline-éosine (H&E) (Martoja et Martoja-Pierson, 1967).

2.2.8. Etude Statistique

Les résultats de l'expérimentation animale sont exprimés en moyenne $\pm$ écart-moyen. La signification statistique a été déterminée au moyen du test d'analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivi par le test *post-hoc* de Tukey pour comparaison par paire.

Chapitre 3

RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles *in vitro*

L'étude des propriétés antimicrobiennes des HE a été réalisée sur deux souches microbiennes de référence et des BMR. A noter que le diamètre du disque (9 mm) a été inclus dans le calcul de la zone d'inhibition.

L'HE montre une activité antimicrobienne très limitée sur la majorité des souches testées. Elle est inefficace dans l'inhibition de la croissance bactérienne de l'espèce *E. coli* ATCC et la plupart des souches de *Klebsiella* à toutes les concentrations testées. Elle présente une activité faible à modérée aussi bien sur *S. aureus* ATCC, que sur *K. pneumoniae*, et une absence d'inhibition de la croissance bactérienne à 30 et 40 μ L, ce qui est inhabituel et pourrait indiquer une variabilité expérimentale (absence de répétition).

Nous avons observé aussi une tendance générale à l'augmentation des DZI avec l'augmentation du volume d'HE.

En phase vapeur (technique de microatmosphère), l'HE présente un profil d'activité très sélectif et variable. Elle a une efficacité limitée sur les bactéries Gram-négatives. Elle est totalement inefficace sur *E. coli* ATCC et toutes les souches de *Klebsiella*, et ce à tous les volumes testés. Cela suggère que ses composés volatils ne sont pas suffisamment puissants ou ne diffusent pas efficacement pour inhiber ces bactéries Gram-négatives. Par contre et sur les staphylocoques résistants, elle présente un potentiel significatif mais sélectif, avec une forte dose-dépendance.

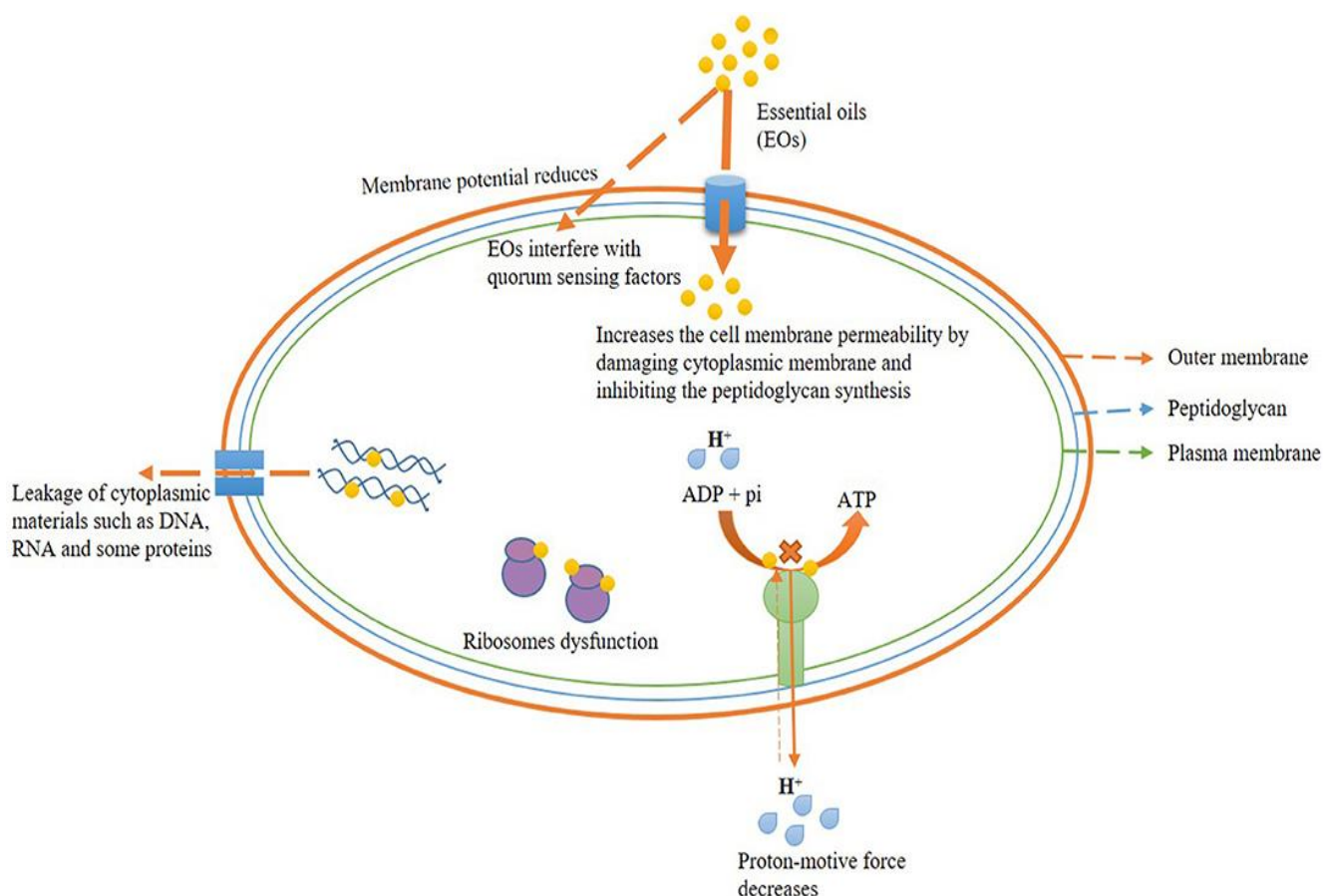


Figure 3.1. Mécanisme d'action des HE sur la cellule bactérienne (Maurya et al., 2021).

Des études scientifiques antérieures ont montré que l'HE présente un pouvoir inhibiteur significatif contre *E. coli*, *K. pneumoniae*, et *S. aureus*, démontrant son potentiel antibactérien à large spectre (Băicuș et al., 2022 ; Cruz et al., 2024). Des concentrations spécifiques d'HE ont montré une activité notable contre *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 700603, et des souches d'*E. coli* productrices de β -lactamase à spectre étendu (ESBL) (Ginting et al., 2021).

Il a été rapporté aussi, que les phénols sont doués de propriétés antibactériennes avérées. Le terpène phénolique agit en perturbant l'intégrité membranaire des bactéries, entraînant une fuite des ions et des composés intracellulaires. Cette action est particulièrement efficace contre les bactéries Gram-positives comme le SARM (Yadav et al., 2015 ; El-Far et al., 2021), mais également contre certaines Gram-négatives telles que *K. pneumoniae*, malgré leur membrane externe plus complexe (Marchese et al., 2017 ; Kashi et al., 2015).

3.2. Etude du pouvoir antibactérien *in silico* par docking moléculaire

Notre étude s'est axée sur l'estimation des interactions entre le site actif de la PBP2 et les composés terpéniques majoritaires des HE pour former un complexe stable. Plusieurs antibiotiques ont été testés pour comparer leurs énergies d'affinité avec celles des constituants terpéniques des HE.

Les valeurs d'énergie d'affinité (en kcal/mole) indiquent la force de l'interaction entre le ligand et la protéine cible. Plus la valeur est négative, plus l'affinité est élevée. A la lecture des résultats obtenus par docking moléculaire (Tableau 3.1), il apparaît clairement que parmi les ligands testés, l'oxacilline se distingue avec l'énergie d'affinité la plus basse, suivie de la céfoxitine et de la pénicilline G. Ces résultats suggèrent que ces antibiotiques sont les plus efficaces pour se lier au récepteur PBP. Concernant les composés terpéniques des HE, l'ester monoterpénique (acétate d'eugénol) et son phénol (eugénol), deux composés majoritaires dans l'HEC Cela indique qu'ils ont une affinité significative pour le récepteur PBP, bien que légèrement inférieure à celle des antibiotiques classiques.

Tableau 3.1. Résultats du pouvoir antibactérien sur le récepteur PBP des composés terpéniques majeurs de l'HE en comparaison avec des antibiotiques *in silico*.

Famille	Energie d'affinité (kcal/mole)
β-Lactamines (Pénicillines)	-19,3
Céphalosporines 2 ^{ème} génération	-15,9
β-Lactamines (Pénicillines)	-14,9
Ester monoterpénique	-11,8
Phénol monoterpénique	-10,5
β-Lactamines (Pénicillines)	-9,6

Concernant les interactions enregistrées, il a été constaté que plusieurs types de liaison sont impliqués dans l'inhibition du site actif de la PBP. Un aperçu global de ces interactions et la nature des liaisons formées entre cette protéine et les différents ligands est aussi illustré (Figures 3.2, 3.3. et 3.4). L'analyse des interactions entre les ligands et le site actif de la protéine PBP, comme présentée dans le tableau 3.2, fournit des informations clés sur la façon dont les différents composés se lient à la cible bactérienne.

L'amoxicilline a établi plusieurs liaisons hydrogène avec des acides aminés tels que SER377, ASN438. Ces liaisons sont cruciales pour la stabilisation de la structure du ligand au sein du site actif. Des interactions hydrophobes sont également formées.

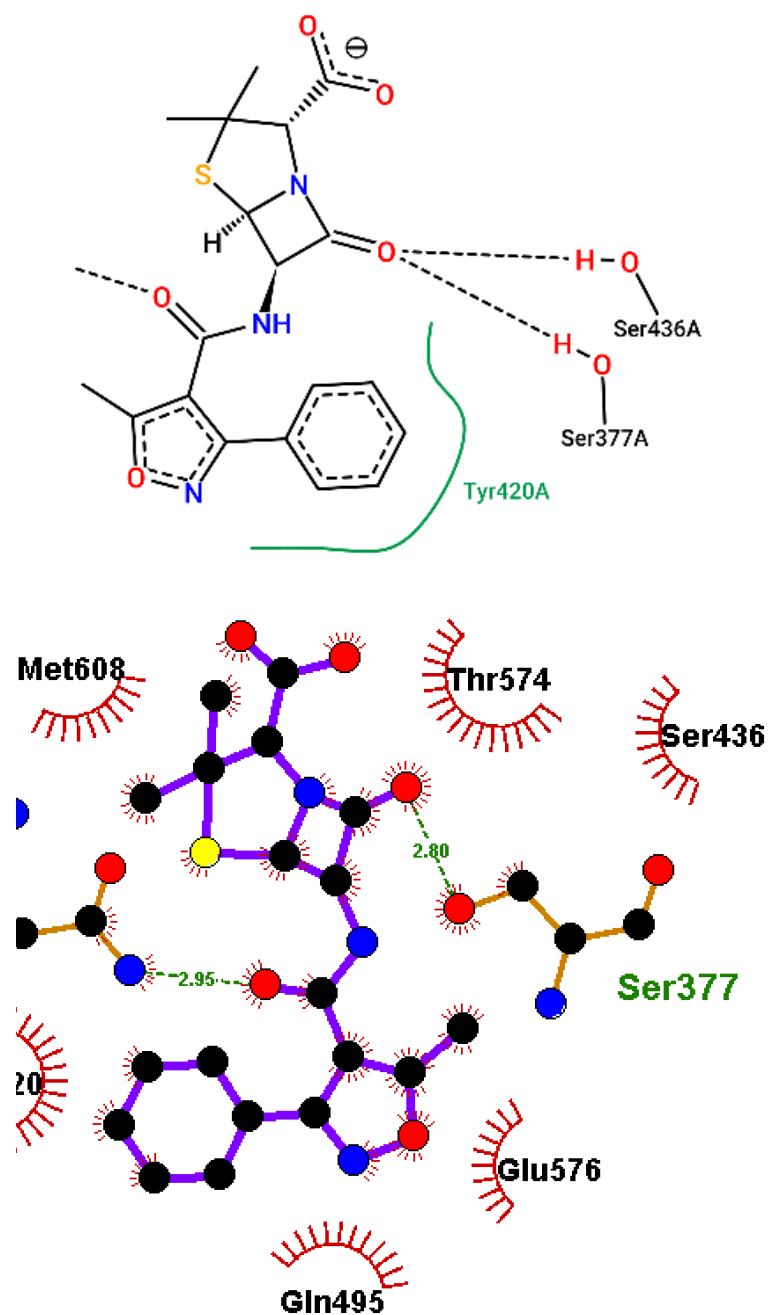
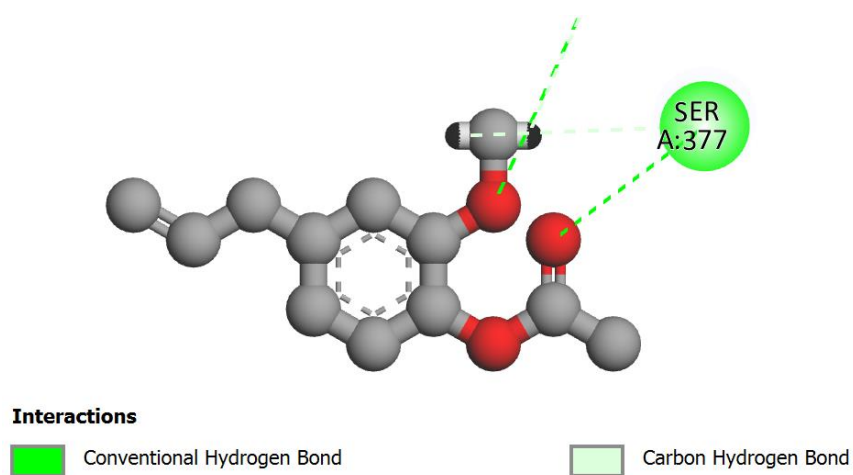


Figure 3.2. Interactions formées et visualisées entre l'antibiotique et le site actif de la PBP.



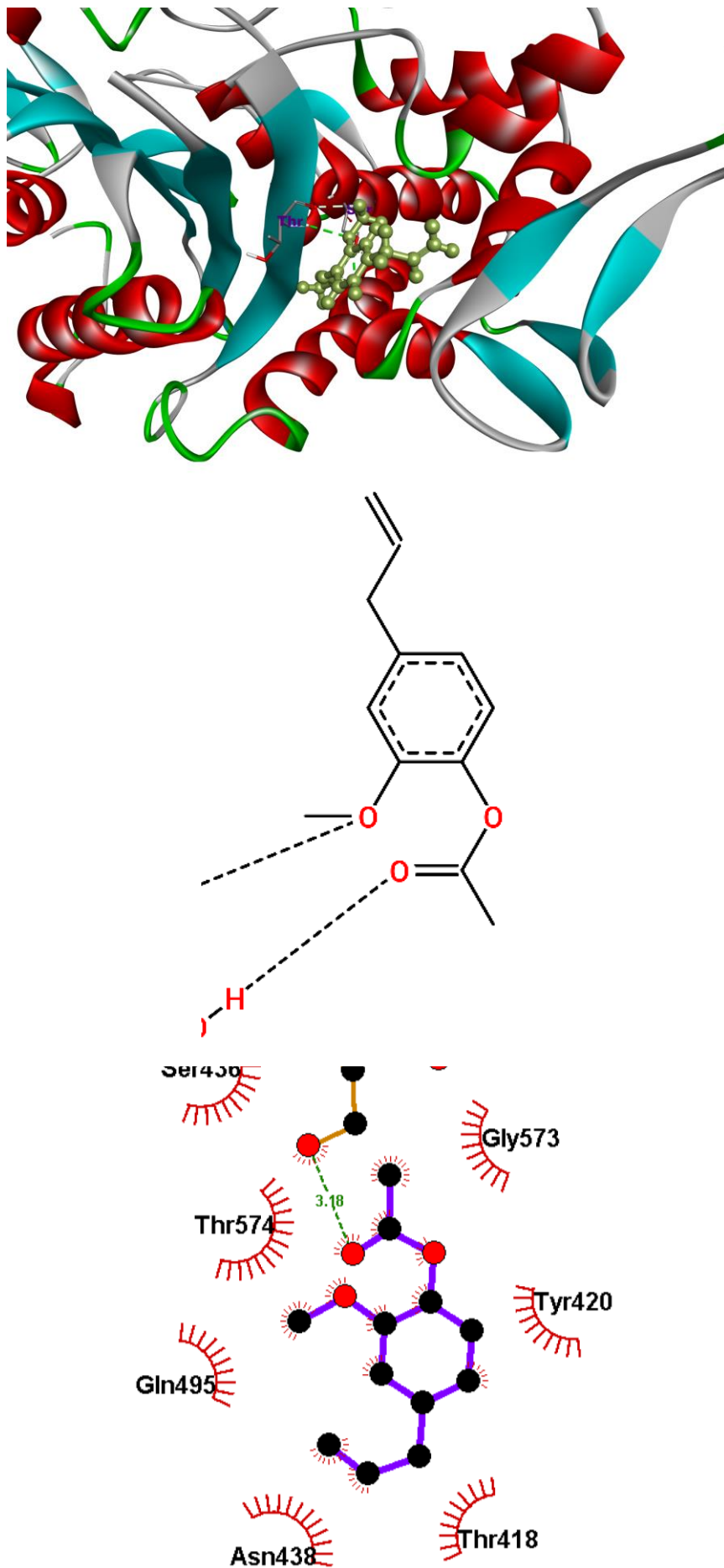


Figure 3.3. Interactions établies entre l'estér phénolique et le site catalytique de la PBP.

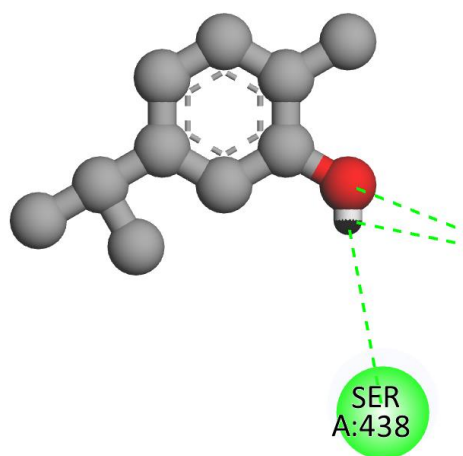
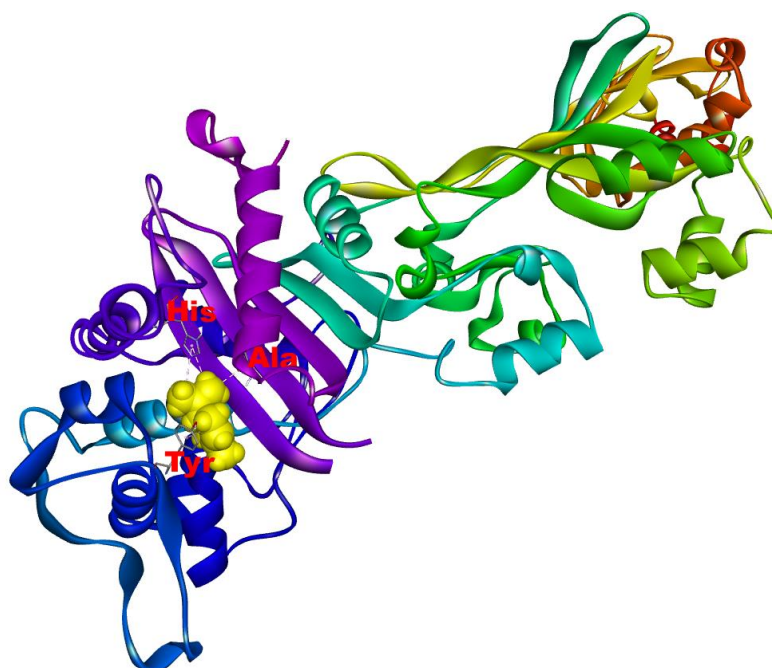
ALA
A:609

HIS
A:557

Interactions

Alkyl

P



Interactions

Conventional Hydrogen Bond



Figure 3.4. Interactions formées entre le monoterpène hydrocarboné et le site catalytique de la PBP.

Tableau 3.2. Types des interactions formées entre les ligands et le site actif de la PBP.

Ligand	Acide aminé	Distance (Å)	Nature de liaison	Type de liaison
Amoxicilline	SER37	1,79808	Hydrogène	Liaison hydrogène conventionnelle
	TYR42	3,04974		
	ASN43	2,09446		
	LYS57	3,07295		
	SER43	2,53155		Liaison carbone-hydrogène
	TYR42	5,08665	Hydrophobe	Pi-Pi T-shaped
	ALA60	4,41362		Alkyl
	MET60	4,23283		Alkyl
	MET60	4,54792		Alkyl
	TYR42	4,04919		Pi-Alkyl
Ester phénolique	SER37	2,17098	Hydrogène	Liaison hydrogène conventionnelle
	THR57	2,74569		
	SER37	2,6049		Liaison carbone-hydrogène
	THR57	2,642		
Monoterpène hydrocarboné	ALA60	3,58805	Hydrophobe	Alkyl
	TYR42	5,17892		Pi-Alkyl
	HIS55	5,18776		Pi-Alkyl
	HIS55	4,94502		Pi-Alkyl

Dans le cadre de la recherche de composés anti-infectieux, le docking moléculaire peut être utilisé pour identifier de nouvelles molécules candidates ayant le potentiel de se lier et d'inhiber des récepteurs microbiens, tels que les PBP, ou encore identifier de nouveaux inhibiteurs de PBP pouvant perturber l'intégrité de la paroi. Le docking moléculaire peut servir à étudier les interactions moléculaires entre les ligands et les résidus amino-acides de la poche de liaison de la cible, afin de comprendre les déterminants structuraux de l'activité antimicrobienne. A titre d'exemple, le ceftaroline est un excellent exemple de médicament antimicrobien dont le développement a grandement bénéficié de l'utilisation du docking moléculaire. C'est une céphalosporine de 5^{ème} génération approuvée pour le traitement des infections bactériennes graves. Son activité antimicrobienne est notamment due à sa capacité à se lier et à inhiber les PBP chez les SARM. Grâce au docking moléculaire, les chercheurs ont pu mieux comprendre les interactions entre le céftazoline et les PBPs. Le ceftaroline a ainsi pu être développé avec succès comme un nouvel agent antimicrobien efficace contre les infections à SARM (Moisan et al., 2010).

3.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire montrent les variations des poids des oreilles des différents essais (contrôles positifs et HE), en comparaison avec le contrôle négatif. Les souris traitées avec l'HE ont présenté une masse la plus faible, suivi par les animaux traités avec l'HE pure. Cependant et sur le plan statistique, aucune différence significative n'a été constatée entre les différents traitements, raison pour laquelle nous avons peaufiné cette analyse macroscopique par une étude histologique au niveau de toutes les oreilles par la technique de coloration H&E, en comparaison avec le lot témoin (sans traitement).

Les observations ont révélé la présence d'un revêtement cutané régulier qui surmonte d'un derme avec la présence des annexes au niveau du tissu auriculaire du lot témoin (sans traitement).

Chez les animaux qui ont reçu l'huile d'amande (véhicule) et le xylène (agent irritant), nous avons remarqué la présence d'un œdème diffus, d'une congestion vasculaire et d'un infiltrat riche en polynucléaires neutrophile témoignant d'une inflammation d'intensité importante.

Concernant nos échantillons des HE *in vivo*, les coupes histologiques au niveau des oreilles ont montré, d'une façon générale, la présence d'un œdème modéré, d'un infiltrat focal et quelques éléments inflammatoires uniquement à forte dose.

Plusieurs études ont mis en évidence sa capacité à moduler les médiateurs de l'inflammation, notamment par l'inhibition de la production des cytokines pro-inflammatoires comme le facteur de nécrose tumorale-alpha (TNF- α), les interleukines IL-1 β et IL-6, ainsi que par la diminution de l'expression de cyclo-oxygénase 2 (COX-2) et NO dans les macrophages activés (Alqahtani et al., 2023 ; Ren et al., 2024).

Cette activité est, probablement liée à la composition chimique de cette huile riche en limonène qui est douée de multiples propriétés pharmacologiques multiples, dont une activité anti-inflammatoire bien documentée.

Il agit en inhibant l'activation du facteur nucléaire kappa B (NF- κ B), un régulateur clé de la réponse inflammatoire, ainsi qu'en réduisant la production de prostaglandines (PGE2) via l'inhibition de COX-2 (Kummer et al., 2013 ; Sousa et al., 2020 ; Anandakumar et al., 2021).

Une étude publiée dans la revue « Current Dermatology Report » (Buonomo et Warshaw, 2021) souligne que plusieurs HE, notamment celles d'agrumes, de cannelle ou de girofle, figurent parmi les allergènes de contact les plus fréquemment identifiés en dermatologie.

3.4. Qualité physico-chimique et microbiologique des préparations dermocosmétiques

La gamme de pH des préparations obtenues s'échelonnent entre 5,46 pour les crèmes dermiques, à 6,02 pour les gels hydro-alcooliques. Les crèmes dermiques et gels topiques sont formulés de manière à être compatibles avec le pH physiologique de la peau qui est légèrement acide, compris entre 4,5 et 6.

Le pH des crèmes dermiques et gels est crucial pour leur efficacité et leur tolérance cutanée. Idéalement, ces produits doivent avoir un pH proche de celui de la peau afin de ne pas perturber la barrière cutanée.

L'analyse microbiologique a révélé un taux de contamination bactérienne et fongique nulle. Les préparations dermocosmétiques sont déclarées conformes aux normes et exigences microbiologiques de la norme ISO 17516 (2014).

3.5. Comportement rhéologique par test d'écoulement à l'équilibre

L'objectif de ce test est de caractériser le comportement rhéologique de la crème qui est en écoulement variable afin de déterminer son modèle rhéologique.

Le test d'écoulement permet une mesure macroscopique de la force nécessaire pour vaincre les résistances à l'écoulement, et d'évaluer la stabilité et la facilité de prise au moment de l'emploi. Les profils obtenus représentent une courbe d'écoulement en termes de viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement. A première vue, le comportement des essais et des crèmes dermiques est globalement non newtonien, car la viscosité ne reste pas constante lorsque la contrainte appliquée varie.

3.6. Pouvoir irritant des préparations dermocosmétiques

3.6.1. Détermination de l'indice d'irritation primaire cutané

Le test d'irritation primaire cutanée chez le lapin est un protocole classique d'évaluation toxicologique permettant de déterminer la tolérance cutanée d'un produit appliqué sur la peau. Dans le cas présent, les crèmes dermiques contenant des HE ont obtenu un score IIP nul, ce qui signifie qu'aucune réaction d'érythème (rougeur) ni d'œdème (gonflement) n'ont été observées à aucun des temps d'évaluation et, par conséquent, confirme que ces produits sont susceptibles d'être bien tolérés, en particulier pour un usage topique. Ce résultat indique que ces crèmes ne provoquent aucune irritation visible sur la peau des animaux testés, et sont donc classées comme non irritantes.

L'absence de réaction inflammatoire ou irritative montre que les formules cosmétiques sont dermocompatibles à la concentration utilisée. Bien que certaines HE soient connues pour leur potentiel irritant lorsqu'elles sont utilisées à forte dose ou sur une peau sensible (Wojtunik-Kulesza, 2022 ; Soni et al., 2023), leur intégration dans une formulation cosmétique bien équilibrée (pH adapté, base émolliente, concentration faible) peut atténuer, voire éliminer, leur effet nocif.



Zone scarifiée

Figure 3.6. Résultats du test de Draize (irritation cutanée chez le lapin) après 72h d'application des préparations topiques.

3.6.2. Détermination du pouvoir irritant in ovo

Le test HET-CAM est une méthode alternative utilisée pour évaluer le potentiel irritant de substances appliquées sur la peau ou les muqueuses. Il repose sur l'observation des effets d'une substance appliquée sur la membrane chorioallantoïque très vascularisée de l'embryon de poulet. Les résultats de ce test sont consignés dans le tableau 3.3.

Tableau 3.3. Résultats du HET-CAM des crèmes dermiques testées.

Produit testé	Phénomène observé	Classification
Crème à base d'huile	Aucun	Non irritant
Soude (NaOH)	Coagulation Hyperhémie Hémorragie	Irritant
Eau physiologique	Aucun	Non irritant

Lors de l'application de la crème dermique, aucune réaction inflammatoire ou vasculaire significative n'a été observée dans les cinq minutes suivant l'application. Cela se traduit par un score HET-CAM nul, ce qui classe le produit comme non irritant selon les critères standards (score < 1).

En revanche, l'application d'une solution de NaOH, reconnue pour ses propriétés caustiques, a entraîné l'apparition rapide de phénomènes tels que l'hémorragie, la coagulation et la lyse des vaisseaux de la CAM, dans les 30 premières secondes suivant l'application. Cette réponse intense conduit à un score HET-CAM élevé (11), ce qui classe le NaOH comme irritant sévère.

3.7. Evaluation des propriétés cicatrisantes des crèmes dermiques

3.7.1. Etude macroscopique et planimétrique

L'évolution de la cicatrisation des plaies induites a été étudiée par planimétrie numérique. Le principe général de cette méthode repose sur la prise d'empreintes numériques des plaies, à intervalle régulier, suivie d'une étude de l'évolution de leur surface par un logiciel de traitement d'image.

Dans cette étude, l'activité cicatrisante de l'HE a été effectuée *in vivo* par l'application du crème dermique en comparaison avec une crème naturelle comme contrôle positif, sur des plaies, préalablement provoquées, au niveau de la région dorso-cervicale des rats.

À J0, la surface des plaies est comparable entre les groupes, ce qui indique que la blessure initiale était uniforme. Jusqu'au 13^{ème} jour, nous avons noté une diminution progressive de la surface de la plaie dans tous les groupes, sans différence statistiquement significative ($p > 0,05$) entre les traitements. Cela reflète une phase de réparation initiale naturelle, partagée par tous les groupes, y compris le témoin négatif. À partir du 20^{ème} jour, les plaies traitées par la crème de référence montrent une réduction nette de la surface de la plaie, significativement inférieure à celle du témoin négatif ($p < 0,05$). La crème à l'HE présente également une activité cicatrisante marquée, avec des résultats proches du témoin positif, sans différence significative entre les deux.

Ces résultats indiquent que les deux crèmes à base d'HE accélèrent la réduction de la surface de la plaie par rapport au groupe témoin, qui se rapproche de l'efficacité du traitement de référence. À la fin de l'expérimentation, toutes les plaies ont pratiquement cicatrisées. Aucune différence significative n'est notée entre les groupes.

Les coupes histologiques ont été réalisées en utilisant, dans un premier temps, la coloration H&E sur des lambeaux cutanés prélevés au 26^{ème} jour chez les rats des différents lots. Avec le lot témoin négatif, nous avons remarqué une désorganisation architecturale marquée au niveau de l'épiderme et du derme.

L'épiderme est discontinu, voire absent à certains endroits, suggérant une ré-épithélialisation incomplète, avec présence d'une large zone lacunaire ou nécrotique qui pourrait correspondre à une croûte. Le derme présente une structure lâche et peu organisée, avec une néo-angiogenèse visible.

En revanche et avec le lot traité par la crème dermique à base d'HE, nous avons observé une ré-épithélialisation complète, avec la présence d'un épiderme continu et bien différencié. La présence de vaisseaux sanguins normaux en zone superficielle.

Concernant les animaux du lot contrôle positif, nous avons observé que le tissu cutané est en phase avancée de cicatrisation avec une ré-épithélialisation complète et la présence d'un épiderme continu et différencié, une organisation structurée du derme, la présence des vaisseaux sanguins normaux dans les couches superficielles.

Le mécanisme d'action mis en jeu dans le processus de cicatrisation cutané implique des effets anti-inflammatoires, antimicrobiens, antioxydants et des modulations cellulaires qui favorisent la régénération tissulaire. Ils inhibent la production de cytokines pro-inflammatoires telles que TNF- α , IL-1 β et IL-6, ainsi que la voie de signalisation NF- κ B, réduisant ainsi le recrutement des cellules inflammatoires et le stress tissulaire (Khan et al., 2024 ; Al-Harrasi et al., 2022).

CONCLUSION

Produites comme métabolites secondaires par les plantes aromatiques, les huiles essentielles sont toujours utilisées comme substances aromatiques en parfumeries, en industrie cosmétique et comme ingrédients actifs en médecine alternative.

En aromathérapie scientifique, il s'agit de mettre en valeur les propriétés pharmacologiques des huiles aromatiques en s'appuyant sur leurs profils chimiques.

Le premier objectif de notre étude était l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles *in vitro* sur des bactéries multi-résistantes. L'HE démontre une activité antibactérienne bien plus large et généralement plus puissante que celle du bigaradier sur l'ensemble des souches testées.

Leur mode d'action multifactoriel, ciblant différentes structures bactériennes simultanément, pourrait limiter le développement de résistances, un avantage significatif par rapport aux antibiotiques classiques. En phase vapeur (technique de microatmosphère), l'HE présente un profil d'activité très sélectif et variable.

L'autre objectif assigné à notre travail consiste à évaluer, *in vivo*, le pouvoir cicatrisant d'une préparation galénique topique de type crème dermique contenant l'huile essentielle comme ingrédient actif chez les rats. Une cicatrisation totale a été enregistrée après un traitement journalier avec la crème.

En définitive, les résultats obtenus laissent entrevoir, éventuellement, de nouvelles perspectives d'application parapharmaceutique des huiles comme un ingrédient actif dans des préparations galéniques à visée thérapeutique.

Comme perspectives, il serait intéressant de combiner l'utilisation des métabolites terpéniques avec des antibiotiques et des anti-inflammatoires non stéroïdiens. C'est là une nouvelle stratégie pour limiter les effets indésirables inhérents aux médicaments synthétiques ou encore pour surmonter le problème de l'antibiorésistance.

Références Bibliographiques

- 1) AFNOR. (1988). NF T 75-401 – Huiles essentielles – Identification par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire. Association Française de Normalisation.
- 2) AFSSAPS – Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. (2008). Produits cosmétiques à base de terpénoïdes : camphre, eucalyptol, menthol – Recommandations à l'attention des fabricants et responsables de la mise sur le marché. Saint-Denis : AFSSAPS.
- 3) Ahmad, N., Alam, M. A., Ahmad, F. J., Sarafroz, M., Ansari, K., Sharma, S., & Amir, M. (2018). Ultrasonication techniques used for the preparation of novel Eugenol-Nanoemulsion in the treatment of wounds healings and anti-inflammatory. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 46, 461-473.
- 4) Alanazi, A. K., Alqasmi, M. H., Alrouji, M., Kuriri, F. A., Almuhanha, Y., Joseph, B., & Asad, M. (2022). Antibacterial activity of *Syzygium aromaticum* (clove) bud oil and its interaction with imipenem in controlling wound infections in rats caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 27(23), 8551.
- 5) Al-Harrasi, A., Bhatia, S., Sharma, P. B., Ahmed, M. M., & Anwer, K. (2022). Anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects of EOs. In *role of essential oils in the management of COVID-19* (pp. 239-255). CRC Press.
- 6) Alonso, V. P., Queiroz, M. M., Gualberto, M. L., & Nascimento, M. S. (2019). *Klebsiella pneumonia* carbapenemase (KPC), methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), and vancomycin-resistant *Enterococcus* spp.(VRE) in the food production chain and biofilm formation on abiotic surfaces. *Current Opinion in Food Science*, 26, 79-86.
- 7) Alqahtani, A., Abdelhameed, M. F., Abdou, R., Ibrahim, A. M., Dawoud, M., Alasmari, S. M., & Attia, H. G. (2023). Mechanistic action of linalyl acetate: Acyclic monoterpene isolated from bitter orange leaf as anti-inflammatory, analgesic, antipyretic agent: Role of TNF- α , IL1 β , PGE2, and COX-2. *Industrial Crops and Products*, 203, 117131.
- 8) Al-Reza, S. M., Yoon, J. I., Kim, H. J., Kim, J. S., & Kang, S. C. (2010). Anti-inflammatory activity of seed essential oil from *Zizyphus jujuba*. *Food and Chemical Toxicology*, 48(2), 639-643.
- 9) Anandakumar, P., Kamaraj, S., & Vanitha, M. K. (2021). D-limonene: A multifunctional compound with potent therapeutic effects. *Journal of Food Biochemistry*, 45(1), e13566.
- 10) Arfeen, M., Srivastava, A., Srivastava, N., Khan, R. A., Al-mahmoud, S., & Mohammed, H. A. (2024). Design, classification, and adverse effects of NSAIDs: A review on recent advancements. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 117899.
- 11) Ashjzadeh, M., Jahandideh, A., Abedi, G., Akbarzadeh, A., & Hesarakhi, S. (2019). Histopathology and histomorphological study of wound healing using clove extract nanofibers (Eugenol) compared to zinc oxide nanofibers on the skin of rats. *Archives of Razi Institute*, 74(3).
- 12) Băicuș, A., Mattuzzi, F. C., Paraschiv, A. M., Dinu, R. S., Dumitrescu, M. C., Marinescu, A. A., & Dragos, D. (2022). Antibacterial activity of clove, oregano, thyme, eucalyptus, and tea tree essential oils against

Escherichia coli and *Klebsiella pneumoniae* strains. Revista Romana De Medicina De Laborator, 30(3), 327-338.

- 13) Banerjee, K., Madhyastha, H., Sandur, R., NT, M., & Thiagarajan, P. (2020). Anti-inflammatory and wound healing potential of a clove oil emulsion. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 193, 111102.
- 14) Barboza, J. N., da Silva Maia Bezerra Filho, C., Silva, R. O., Medeiros, J. V. R., & de Sousa, D. P. (2018). An overview on the anti-inflammatory potential and antioxidant profile of eugenol. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2018(1), 3957262.
- 15) Buonomo, M., & Warshaw, E. (2021). Contact dermatitis to essential oils. Current Dermatology Reports, 1-25.
- 16) Cazedey, E. C. L., Carvalho, F. C., Fiorentino, F. A. M., Gremião, M. P. D., & Salgado, H. R. N. (2009). Corrositex®, BCOP and HET-CAM as alternative methods to animal experimentation. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 45, 759-766.
- 17) Chemat, F., Vian, M. A., & Cravotto, G. (2012). Green extraction of natural products: Concept and principles. International Journal of Molecular Sciences, 13(7), 8615–8627.
- 18) Cherukuri, S., Paramanayagam, A., Prabakaran, R., Mayakannan, M., & Vuppalapati, L. (2023). Evaluation of cutaneous wound healing activity of *Citrus aurantium* fruit peel extract-based ointment in albino rats. Research Journal of Pharmacy and Technology, 16(1), 250-254.
- 19) Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. Medicines, 4(3), 58.
- 20) Cruz, A. P. M., Nishimura, F. G., Santos, V. C. O. D., Steling, E. G., Von Zeska Kress, M. R., Marins, M., & Fachin, A. L. (2024). Essential oil-based soap with Clove and Oregano: A promising antifungal and antibacterial alternative against multidrug-resistant microorganisms. Molecules, 29(19), 4682.
- 21) Damasceno, R. O. S., Pinheiro, J. L. S., Rodrigues, L. H. M., Gomes, R. C., Emídio, J. J., & de Sousa, D. P. (2024). Anti-inflammatory and antioxidant activities of eugenol: An update. Pharmaceuticals, 17(11), 1505.
- 22) De Sousa, D. P., Damasceno, R. O. S., Amorati, R., Elshabrawy, H. A., de Castro, R. D., Bezerra, D. P., & Lima, T. C. (2023). Essential oils: Chemistry and pharmacological activities. Biomolecules, 13(7), 1144.
- 23) Dornic, N., Ficheux, A. S., & Roudot, A. C. (2016). Qualitative and quantitative composition of essential oils: A literature-based database on contact allergens used for safety assessment. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 80, 226-232.
- 24) El-Far, A., Samir, S., El-Gebaly, E., Taha, N. Y., Fahmy, E. M., Diab, T. M., & El-Shenawy, A. (2021). Assessment of eugenol inhibitory effect on biofilm formation and biofilm gene expression in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Egypt. Infection, Genetics and Evolution, 89, 104722.
- 25) Filaire, E., Nachat-Kappes, R., Laporte, C., Harmand, M. F., Simon, M., & Poinot, C. (2022). Alternative *in vitro* models used in the main safety tests of cosmetic products and new challenges. International Journal of Cosmetic Science, 44(6), 604-613.
- 26) Ginting, E. V., Retnaningrum, E., & Widiastih, D. A. (2021). Antibacterial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) and cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) essential oil against extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria. Veterinary World, 14(8), 2206.
- 27) Guerriaud, M. (2018). Réglementation des huiles essentielles, un besoin de sécurité. Actualités Pharmaceutiques, 57(580), 21-25.

- 28) Han, X., & Parker, T. L. (2017). Anti-inflammatory activity of clove (*Eugenia caryophyllata*) essential oil in human dermal fibroblasts. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 1619-1622.
- 29) Hiwandika, N., Sudrajat, S. E., & Rahayu, I. (2021). Antibacterial and antifungal activity of clove extract (*Syzygium aromaticum*). *Eureka Herba Indonesia*, 2(2), 86-94.
- 30) Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F. (2012). *La connaissance des huiles essentielles : qualitologie et aromathérapie — Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée* (1^{re} éd.). Paris : Springer-Verlag France / Tec & Doc.
- 31) Kanekar, S., Rao, S. S., Yuvarajan, S., Surya, S., & Rekha, P. D. (2022). Linalool-encapsulated alginate microspheres as anti-virulence target against wound infections using *in vitro* and *in vivo* models. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 77, 103848.
- 32) Kant, R., & Kumar, A. (2022). Review on essential oil extraction from aromatic and medicinal plants: Techniques, performance and economic analysis. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 30, 100829.
- 33) Karadag, A. E., Demirci, B., Şakar, Z. Z., & Biltekin, S. N. (2024). Investigation of *in vitro* wound healing properties of *Salvia sclarea* and *Citrus aurantium* essential oil combinations. *Journal of Research in Pharmacy*, 28(5).
- 34) Kashi, M., Farahani, A., Ahmadi, A., Shariati, A., & Akbari, M. (2025). Antibacterial and antibiofilm efficacy of eugenol, carvacrol, and cinnamaldehyde against colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Molecular Biology Reports*, 52(1), 1-11.
- 35) Khan, T., Haq, S.U., Ashfaq, K., Kharl, R.B. (2024). Anti-Inflammatory effect of essential oils. In: Zafar MA, Abbas RZ, Imran M, Tahir S and Qamar W (eds), *Complement Altern Med*, Unique Scientific Publishers, Faisalabad, Pakistan, Vol. x: 162-169.
- 36) Kim, D., & Jeong, S. H. (2022). Current status of multidrug-resistant bacteria. *Journal of Korean Medical Association*, 65(8), 468-477.
- 37) Kim, M. J., Yang, K. W., Kim, S. S., Park, S. M., Park, K. J., Kim, K. S., & Hyun, C. G. (2014). Chemical composition and anti-inflammation activity of essential oils from *Citrus unshiu* flower. *Natural Product Communications*, 9(5), 1934578X1400900538.
- 38) Kor, N., Alinaghizadeh, M. M., Heydari, F., Molaei, R., Hajipour, P., Azizi, S., & Sakhaee, E. (2025). The antibacterial and wound-healing effects of Clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil on burn wounds contaminated with *Pseudomonas aeruginosa* in rats. *Veterinary and Comparative Biomedical Research*, 1-13.
- 39) Kummer, R., Fachini-Queiroz, F. C., Estevão-Silva, C. F., Grespan, R., Silva, E. L., Bersani-Amado, C. A., & Cuman, R. K. N. (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of *Citrus latifolia* Tanaka essential oil and limonene in experimental mouse models. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2013(1), 859083.
- 40) Laurain-Mattar, D. (2018). Critères de qualité des huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(580), 18-20.
- 41) Legifrance. (2024). Code de la santé publique – Article L5311-1. République française.
- 42) Lemmens-Gruber, R. (2020). Adverse effects and intoxication with essential Oils. In *Handbook of essential oils* (pp. 517-541). CRC Press.

- 43) López, P., Sánchez, C., Batlle, R., & Nerín, C. (2007). Vapor-phase activities of cinnamon, thyme, and oregano essential oils and key constituents against foodborne microorganisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4348-4356.
- 44) Marchese, A., Barbieri, R., Coppo, E., Orhan, I. E., Daglia, M., Nabavi, S. F., & Ajami, M. (2017). Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. *Critical Reviews in Microbiology*, 43(6), 668-689.
- 45) Martini, M. C. (2011). *Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie*. Edition Lavoisier, France.
- 46) Mohammed, M. S. O., Babeanu, N., Cornea, C. P., & Radu, N. (2022). Limonene-a biomolecule with potential applications in regenerative medicine. *Scientific Bulletin Series F. Biotechnologies*, 26(2).
- 47) Moisan, H., Pruneau, M., & Malouin, F. (2010). Binding of ceftaroline to penicillin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(4), 713-716.
- 48) Morsy, N. F. S. (2017). Chemical structure, quality indices and bioactivity of essential oil constituents. In *Active ingredients from aromatic and medicinal plants*. IntechOpen.
- 49) Muthaiyan, A., Biswas, D., Crandall, P. G., Wilkinson, B. J., & Rieke, S. C. (2012). Application of orange essential oil as an antistaphylococcal agent in a dressing model. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12, 1-8.
- 50) Organisation internationale de normalisation (ISO). (2021). *ISO 9235:2021 – Aromatic natural raw materials – Vocabulary*. Genève : ISO.
- 51) Perteghella, S., Garzoni, A., Invernizzi, A., Sorrenti, M., Boselli, C., Icaro Cornaglia, A., & Bonferoni, M. C. (2023). Nanoemulsions of clove oil stabilized with chitosan oleate—antioxidant and wound-healing activity. *Antioxidants*, 12(2), 273.
- 52) Pharmacopée Européenne. (2023). *Huile essentielle (monographie 01/2023:2098)*. 11e éd. Strasbourg : Conseil de l'Europe, Direction européenne de la qualité du médicament (EDQM).
- 53) Pibiri, M. C. (2006). *Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles*. Thèse de Doctorat en Sciences, École Polytechnique Fédérale de Lausanne, Suisse.
- 54) Pimentel, E. F., Portes, D. B., & Endringer, D. C. (2023). HET-CAM method as an alternative model to ocular irritation test for natural product. *InterSciencePlace*, 18(3).
- 55) Ren, W., Wang, S., Zhang, J., & Liu, D. (2024). Ethnopharmacology, chemical composition and functions of *Citrus aurantium* L. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 18(10), 8843-8864.
- 56) Roy, N., Saha, N., Humpolicek, P., & Saha, P. (2010). Permeability and biocompatibility of novel medicated hydrogel wound dressings. *Soft Materials*, 8(4), 338-357.
- 57) Sadgrove, N. J., Padilla-González, G. F., Leuner, O., Melnikovova, I., & Fernandez-Cusimamani, E. (2021). Pharmacology of natural volatiles and essential oils in food, therapy, and disease prophylaxis. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 740302.
- 58) Selka, M. A., Chenafa, A., & Achouri, M. Y. (2022). Mise au point et activité biologique d'une crème à base d'huile essentielle de clou de girofle. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 80(4), 507-518.
- 59) Shen, C. Y., Jiang, J. G., Zhu, W., & Ou-Yang, Q. (2017). Anti-inflammatory effect of essential oil from *Citrus aurantium* L. var. amara Engl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(39), 8586-8594.

- 60) Siddiqui, T., Khan, M. U., Sharma, V., & Gupta, K. (2024). Terpenoids in essential oils: Chemistry, classification, and potential impact on human health and industry. *Phytomedicine plus*, 4(2), 100549.
- 61) Somboonwong, J., Kankaisre, M., Tantisira, B., & Tantisira, M. H. (2012). Wound healing activities of different extracts of *Centella asiatica* in incision and burn wound models: an experimental animal study. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12, 1-7.
- 62) Soni, V., Bharti, D., Bharadwaj, M., Soni, V., Saxena, R., & Arora, C. (2023). Toxicity of essential oils. *Essential Oils: Sources, Production and Applications*, 253.
- 63) Sostres, C., Gargallo, C. J., Arroyo, M. T., & Lanas, A. (2010). Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. *Best practice & Research Clinical gastroenterology*, 24(2), 121-132.
- 64) Sousa, C., Leitão, A. J., Neves, B. M., Judas, F., Cavaleiro, C., & Mendes, A. F. (2020). Standardised comparison of limonene-derived monoterpenes identifies structural determinants of anti-inflammatory activity. *Scientific Reports*, 10(1), 7199.
- 65) Touboul, A. (2021). Précautions et sécurité d'emploi des huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques*, 60(604), S17-S19.
- 66) Turek, C., & Stintzing, F. C. (2013). Stability of essential oils: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 12(1), 40-53.
- 67) Union européenne. (2009). Règlement (CE) n° 1223/2009 du Parlement européen et du Conseil du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques. Annexe II : Liste des substances interdites dans les produits cosmétiques. *Journal officiel de l'Union européenne*, L342, 59–209.
- 68) Vázquez-Ucha, J. C., Martínez-Gutián, M., Lasarte-Monterrubbio, C., Conde-Pérez, K., Arca-Suárez, J., Álvarez-Fraga, L., & Beceiro, A. (2020). *Syzygium aromaticum* (clove) and *Thymus zygis* (thyme) essential oils increase susceptibility to colistin in the nosocomial pathogens *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, 110606.
- 69) Wojtunik-Kulesza, K. A. (2022). Toxicity of selected monoterpenes and essential oils rich in these compounds. *Molecules*, 27(5), 1716.
- 70) Yadav, M. K., Chae, S. W., Im, G. J., Chung, J. W., & Song, J. J. (2015). Eugenol: a phyto-compound effective against methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* clinical strain biofilms. *PloS One*, 10(3), e0119564.
- 71) Zervosen, A., Sauvage, E., Frère, J. M., Charlier, P., & Luxen, A. (2012). Development of new drugs for an old target—the penicillin binding proteins. *Molecules*, 17(11), 12478-12505.
- 72) Zhao, Q., Zhu, L., Wang, S., Gao, Y., & Jin, F. (2023). Molecular mechanism of the anti-inflammatory effects of plant essential oils: A systematic review. *Journal of ethnopharmacology*, 301, 115829.
- 73) Maurya, A., Prasad, J., Das, S., & Dwivedy, A. K. (2021). Essential oils and their application in food safety. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 653420.

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Blida 1



Laboratoire ISARDIO

Faculté des Sciences de la Nature et la Vie
Département de Biotechnologie et Agro-Ecologie



Laboratoire des Sciences Animales & Recherche en Biobanking
Laboratoire de Biotechnologie de Productions Végétales

Mémoire de Fin d'Études en vue de l'obtention du Diplôme de
Master Académique en Biotechnologies
Option : BIOTECHNOLOGIES ET PATHOLOGIES MOLECULAIRES

THEME

**Activités pharmacologiques des distillats aromatiques
et préparations dermo-cosmétiques**

Présenté par

AIT ALI Amira & KASMI Rania

Date de Soutenance
08/07/2025

Devant le jury composé de :

Mme ROUAKI F.	MCA	Présidente	Univ. Blida 1
Mme DJAZOULI-ALIM F.Z.	Pr	Examinatrice	Univ. Blida 1
M. BOKHATEM M.N.	Pr	Promoteur	Univ. Blida 1
Mme AFFER M.	Pr	Co-promotrice	EHS ElKettar

🌀 Promotion = 2024-2025 🌀