

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. *Pseudomonas aeruginosa*

I.1.1. Historique

Pseudomonas aeruginosa a été isolée pour la première fois en 1882 par Gessard. Il l'a appelé *Bacillus pyocyaneus*. C'est en 1862 que Luke a mis en œuvre l'implication de *P. aeruginosa* dans des infections chez l'homme. Il a observé des particules de forme circulaire dans un pus de coloration bleu-vert. La même coloration a été observée par Sedillot. C'est le pigment pyocyanique (la pyocyanine) produit par *P. aeruginosa* qui est à l'origine de cette coloration. La pyocyanine est diffusible dans le milieu extracellulaire, d'où le nom du bacille pyocyanique. (Chaker, 2012).

I.1.2. Taxonomie

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*) est une bactérie de la famille des *Pseudomonadaceae*.

Cette famille renferme dix genres : *Azomonas*, *Azomonotrichon*, *Azorhizophilus*, *Azotobacter*, *Cellvibrio*, *Mesophilobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobacter*, *Rugamonas*, et *Serpens*. Le genre *Pseudomonas* regroupe 7 espèces : *P. aeruginosa*, *P. chlororaphis*, *P. fluorescens*, *P. pertucinogena*, *P. putida*, *P. stutzeri* et *P. syringae*. *P. aeruginosa* est l'espèce type du genre *Pseudomonas*. Sa taxonomie est présentée dans le tableau I : (Chaker, 2012).

Tableau I : Taxonomie de *P. aeruginosa*

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Prokaryot</i>
Division	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>aeruginosa</i>

(Chaker, 2012)

I.1.3. Caractéristiques

Communément appelé bacille pyocyanique (mot grec : *bacille agent du pus bleu*), c'est la principale espèce du genre *Pseudomonas* (Diop, 2001). C'est un petit bacille fin, Gram négatif, mobile grâce à une ciliature de type polaire monotriche en « vol de moucheron », oxydase positif. (Diop, 2001).

La culture est facile sur milieu complexe avec ou sans production de pigment. Ils sont capables de cultiver sur des milieux minéraux synthétiques avec une source simple de carbone : acétate, pyruvate. Ces bactéries ont une longévité faible en culture même à 4°C. (Eyquem *et al.*, 2000). Elles peuvent cultiver à 40°C (Denis, 2007).

I.1.4. Génome

Le génome de *P. aeruginosa* a été séquencé. Il est très grand (environ 6,3 millions de paires de bases) et beaucoup plus complexe que celui d'*E. Coli*. Bien qu'à peu près 50% de ses cadres de lectures ouverts soient semblables à ceux d'*E.coli*. *P. aeruginosa* possède un nombre inhabituellement grand de gènes pour le catabolisme, pour le transport, pour l'efflux de molécules organiques et pour la régulation métabolique. Ceci peut expliquer sa capacité à croître dans de nombreux environnements et à résister aux antibiotiques (Prescott *et al.*, 2003, 2010)

Depuis le séquençage du génome de 6,3Mb composé de 5570 cadres de lecture de la souche modèle PAO1 (Stover *et al.*, 2000), six autres souches ont été entièrement séquencées : PA14, PA7, LES, B58, C3719 et PA2192 (seules les trois premières souches sont complètement annotées) (Winstanley *et al.*, 2009; Mathee *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2006) . La taille de ces génomes varie entre 5 et 7 Mb.

La comparaison entre les différentes souches montre que le génome de *P. aeruginosa* peut être comparé à une mosaïque composée d'un squelette commun d'environ 5000 gènes, interrompus dans chaque souche par une combinaison de blocs de gènes spécifiques (dits accessoires) qui confèrent à chaque souche un répertoire génétique unique (Qiu *et al.*, 2009; Mathee *et al.*, 2008).

I.1.5. Habitat et distribution environnementale

P. aeruginosa est largement répandue dans l'environnement. C'est une bactérie ubiquitaire. Elle peut vivre à l'état saprophyte dans l'eau, le sol, les végétaux, les solutions antiseptiques et sur

des surfaces inorganiques (Floret, 2009). Il peut vivre dans n'importe quel milieu humide et est capable de se développer sur une infime quantité de matière organique, telle qu'un film de savon ou l'adhésif utilisé pour maintenir un pansement ou pour coller le joint d'un bouchon, on le trouve aussi dans les humidificateurs et les pots de fleurs, et sur les balais à franges mouillées (Tortora *et al.*, 2003).

Pseudomonas aeruginosa ou bacille pyocyanique est une bactérie à Gram négatif. Agent pathogène opportuniste actif, il contamine particulièrement tous les milieux aqueux. On le retrouve sur les mains du personnel soignant, mais surtout dans les canalisations d'eau, les réservoirs, les siphons et surtout dans les aérosols issus de l'utilisation des chasses d'eau dans les sanitaires (Isoard, Calop *et al.*, 1982). Bien que rare, la présence dans l'air de cette bactérie est connue depuis 1954 (Haxhe et Zumofen, 1999).

I.1.6. Pouvoir pathogène

I.1.6.1. Un pathogène opportuniste et multirésistant

P. aeruginosa représente le type même de l'espèce bactérienne opportuniste et multirésistante aux antibiotiques. Cette bactérie ne provoque une maladie chez l'homme que lorsqu'il existe une défaillance locale ou systémique du système immunitaire et n'adhère pas à l'épithélium normal intact. *P. aeruginosa* colonise les patients immunodéprimés, notamment les personnes atteintes du virus du SIDA, les grands brûlés ou les patients traités par des chimiothérapies neutropéniantes (Lyczak, 2000). Elle infecte également des personnes hospitalisées suite à une intervention chirurgicale ou munis de cathéters pendant une longue durée (Lyczak *et al.*, 2000). Sa multirésistance est due à la relative imperméabilité de sa membrane, la synthèse de bêta-lactamases à large spectre et la présence de nombreuses pompes d'efflux (Mao *et al.*, 2002; Germ *et al.*, 1999).

Une antibiothérapie prophylactique favorise les surinfections à *Pseudomonas aeruginosa*, dont le taux de mortalité est élevé (Fauchère et Avril, 2002). Les difficultés de traitement et la grande résistance sont connus (Borrel, 2000). Elle représente 11 % des infections nosocomiales (Régner, 2005), sous forme d'infections urinaires, d'infections du sang, des plaies et de l'appareil respiratoire (de Billerbeck, 2005).

Suite aux signaux environnementaux, *P. aeruginosa* est capable de provoquer une infection aiguë ou chronique. Chaque type d'infection est caractérisé par un certain nombre de facteurs de virulence exprimés par la bactérie (Hogardt and Heesemann, 2010; ventre *et al.*, 2006). Le type de l'infection dépend aussi de l'efficacité du système immunitaire de l'hôte.

I.1.6.2. Les infections à *P. aeruginosa*

A l'exception d'infections cutanées superficielles et de l'otite externe, les infections à *P. aeruginosa* sont rares chez les individus sains. Ce bacille cause cependant des infections opportunistes des voies respiratoires chez les personnes affaiblies par une déficience immunitaire (naturelle ou d'origine médicamenteuse) ou par une maladie pulmonaire chronique, et en particulier la mucoviscidose (ou fibrose kystique du pancréas) (**Tortora et al., 2003**).

Parmi les infections causées par *P. aeruginosa* :

- Sinusites nosocomiales de l'adulte : favorisé par l'intubation, la sonde nasogastrique et les antécédents de sinusite.
- Exacerbation des broncho-pneumopathies chroniques obstructives (BPCO) : suite à la pression de sélection (hospitalisation, antibiothérapie).
- Pneumonie aigue communautaire (PAC) en cas de mucoviscidose.
- Infections ostéoarticulaires : infection de prothèse ostéo-articulaire, ostéite et ostéoarthrite post-traumatique ; pied diabétique.
- Infections intra-abdominales : péritonite (communautaire ou associée aux soins).
- Endocardite infectieuse (sp).
- Infection sur cathéter.
- Infections urinaires associées aux soins.
- Pneumonies associées aux soins (classées selon les jours d'hospitalisation et l'existence ou non d'antibiothérapie dans les 15 jours précédents (**LE POPI, 2012**)).

I.1.7. Les facteurs de virulence et physiopathologie de *P. aeruginosa*

P. aeruginosa possède et utilise un vaste arsenal de facteurs de virulence. Ces derniers lui permettant de s'adapter à différents environnements et coloniser divers types d'hôtes. Ces différents facteurs de virulence sont employés par la bactérie à des niveaux différents au cours du processus infectieux.

I.1.7.1. Facteurs de virulence impliqués dans la motilité et l'adhérence

Dans le tableau II sont expliquées les fonctions de chaque facteur

Tableau II : Les principaux facteurs de virulence impliqués dans la motilité et l'adhérence

Facteur	Définition
Le flagelle	<p>Le flagelle est une organelle complexe multiprotéique. Il s'agit de l'appendice le plus important dans la motilité des bactéries à Gram négatif. <i>P. aeruginosa</i> possède un seul flagelle monotriche polaire lui conférant une mobilité de type « swimming » dans un environnement aqueux et une mobilité de type « swarming » permettant le déplacement sur des surfaces semi solides (Kaiser, 2007; Kohler et al., 2000; McCarter, 2006; Toutain et al., 2005).</p> <p>Le flagelle est impliqué dans la pathogénie de la bactérie.</p>
Les pili de type IVa	<p>sont des appendices de surfaces polaires présents en plusieurs copies sur la surface de la bactérie. Ils sont impliqués dans la motilité de type « twitching » qui permet le déplacement sur une surface solide grâce à l'extension puis à la rétraction du pili et la mobilité de type « swarming » (Asikyan et al., 2008)</p>
Les rhamnolipides	<p>sont des glycolipides hémolytiques résistants à la chaleur capables d'inhiber la phagocytose et d'induire la nécrose des PMN (leucocytes PolyMorphoNucleaire) (Jensen et al., 2007). Ces composés possèdent une activité détergente envers les phospholipides de la membrane eucaryote et participent aussi à l'architecture du biofilm (Filloux and Vallet, 2003).</p>
fimbriae,	<p>appelés Cup (pour Chaperone Usher Pathway) sont également impliqués dans l'adhésion des bactéries sur une variété de surfaces biotiques et abiotiques. Ce sont des appendices de nature protéique composés de sous-unités de type piline. L'adhérence aux cellules est possible grâce à l'interaction entre une adhésive (retrouvée en surface du pili) et son récepteur spécifique sur la cellule (Kostakioti et al., 2005; Vallet et al., 2001, Ruer, 2007)</p>
Les lectines	<p>Les lectines solubles de <i>P. aeruginosa</i>, LecA et LecB, sont des glycoprotéines qui reconnaissent respectivement le galactose et le fructose (Glick and Garber, 1983).</p> <p>Elles sont principalement présentes dans le cytoplasme de la bactérie et la présence du calcium est essentielle pour qu'elles soient actives. (Tielker et al., 2005). Cependant, d'autres études indiquent que la protéine LecB est présente en grande quantité sur la membrane externe de la bactérie (Tielker et al., 2005).</p> <p>Ces deux lectines représentent deux facteurs de virulences importants pour l'infection. Leur expression est sous le contrôle du système du quorum sensing</p>

	(Schuster <i>et al.</i> , 2003; Wagner <i>et al.</i> , 2003; Winzer <i>et al.</i> , 2000). Et jouent un rôle important dans l'adhésion et la cytotoxicité de <i>P. aeruginosa</i> envers les cellules épithéliales (Chemani <i>et al.</i> , 2009)
LPS	Il s'agit de composés amphiphiles constitués d'une partie hydrophobe, le lipide A, et d'une partie hydrophile constituée de chaînes polysaccharidiques, l'antigène O. La fixation des LPS sur les récepteurs eucaryotes asialo-GM1 et TLR4 entraîne la stimulation de la réponse inflammatoire (Kipnis <i>et al.</i> , 2006) tandis que leur fixation sur la protéine CFTR (cystic fibrosis transmembrane regulator) diminue la clairance de <i>P. aeruginosa</i> au sein des poumons de patients atteints de la mucoviscidose (Pier <i>et al.</i> , 1997).

I.1.7.2. Les facteurs de virulence associés à la formation de biofilm et l'infection chronique.

Le rôle de chaque facteur est expliqué dans le tableau III

Tableau III : facteurs de virulence associés à la formation de biofilm et l'infection chronique

Facteur	Définition
Les alginates	sont des exopolysaccharides qui donnent à la bactérie un aspect dit mucoïde; ils sont composés de polymères répétés d'acide mannuronique et d'acide glucuronique. (Shankar <i>et al.</i> , 1995). Ils participent à l'architecture des biofilms, mais ne sont pas cruciaux au développement du biofilm (Wozniak <i>et al.</i> , 2003; Hentzer <i>et al.</i> , 2001). La surproduction d'alginates permettrait cependant de protéger la bactérie de la phagocytose et des antibiotiques ainsi que d'atténuer la réponse immunitaire (Cobb <i>et al.</i> , 2004; Hentzer <i>et al.</i> , 2001).
Psl et Pel	Les polysaccharides Psl et Pel sont essentiels au développement du biofilm et sont des composants indispensables de l'EPS des souches non-mucoïdes (Ryder <i>et al.</i> , 2007). La structure des Psl vient d'être décrite ; il s'agit d'un pentasaccharide répété de D-mannose, D-glucose et D-rhamnose. (Byrd <i>et al.</i> , 2009). Les Pel sont des polysaccharides riches en glucose dont la structure exacte n'a pas encore été définie (Ryder <i>et al.</i> , 2007). Contrairement aux alginates, ces polysaccharides sont aussi produits par <i>P. aeruginosa</i> sous sa forme planctonique (Ryder <i>et al.</i> , 2007).

I.1.7.3. Les principaux facteurs de virulence extracellulaires impliqués dans la phase d'infection aiguë.

Les principaux facteurs et leurs rôles dans l'infection sont mentionnés dans le tableau IV

Tableau IV : facteurs de virulence extracellulaires impliqués dans la phase d'infection aiguë.

Facteur	Définition
Exotoxine A	L'exotoxine A (ETA) est considérée comme la protéine la plus toxique sécrétée par <i>P. aeruginosa</i> . Il s'agit d'une enzyme de 66 kDa codée par le gène <i>toxA</i> et sécrétée dans l'espace extracellulaire sous forme d'une protoxine inactive via le système de sécrétion de type II (Gray et al., 1984; Iglewski and Kabat, 1975). Elle est reconnue par les récepteurs CD91 et LRP (LDL related protein) (Herz et al., 1990). L'exotoxine A inhibe la libération de certaines cytokines pro inflammatoires tel que le TNF- α , IL-10, IL-6 et l'IL-8. Ceci affaiblit la réponse immunitaire de l'hôte et aggrave l'état de l'infection (Schultz et al., 2000; Schultz et al., 2001). L'exotoxine A est cruciale pour la virulence de <i>P. aeruginosa</i> . Des mutants déficients de l'exotoxine A ont été 20 fois moins virulents par rapport à la souche sauvage (Lory, 1986; Miyazaki et al., 1995). La production de l'exotoxine A dépend de la quantité du fer dans le milieu.
La protease alcaline AprA	C'est une métalloprotéine à zinc qui dégrade les composants du complément C1q et C3, les cytokines et les chemokines. Ces cibles suggèrent que cette protéase jouerait le rôle d'immunomodulateur pendant l'infection (Leidal et al., 2003)
L'elastase B	est une métalloprotéine a zinc capable de détruire les jonctions entre les cellules épithéliales en clivant l'élastine et le collagène. Cette destruction augmente la perméabilité épithéliale et facilite le recrutement des neutrophiles. Elle joue de plus un rôle pro-inflammatoire en augmentant le niveau de IL-8 mais peut aussi diminuer la réponse immunitaire innée en clivant des protéines du surfactant, SP-A et SP-D, et des récepteurs a protéases afin de les rendre inactifs (Azghani et al., 2000)

<p>Les phospholipases C (PLC)</p>	<p>sont des enzymes extracellulaires thermolabiles dont l'activité majeure est l'hydrolyse de la phosphatidylcholine (Lazdunski et al., 1990), très abondante dans le surfactant pulmonaire ce qui favorise la colonisation bactérienne des poumons (Kipnis et al., 2006).</p>
--	--

I.1.7.4. Système de sécrétion de type III

Le SST3 diffère des autres systèmes de sécrétion par sa capacité à transloquer les protéines substrats directement depuis le cytosol bactérien dans le cytosol de la cellule cible. Il est présent chez de nombreuses bactéries à Gram-négatif notamment des pathogènes humains, animaux mais aussi chez les pathogènes de plantes ou des bactéries symbiotiques. Selon les bactéries, le SST3 peut avoir des fonctions diverses comme permettre l'internalisation de la bactérie, induire l'apoptose des cellules cibles ou créer des relations symbiotiques. Cette fonction dépend de la nature des toxines transloquées qui sont spécifiques à chaque espèce bactérienne (**Pallen et al., 2005**).

Remarque : Il existe d'autres facteurs de pathogénicité qui entrent en jeu lors du processus infectieux de *P. aeruginosa* tels que : la leucocidine, la pyoverdine, les phénazines et d'autres protéases (figure 1).

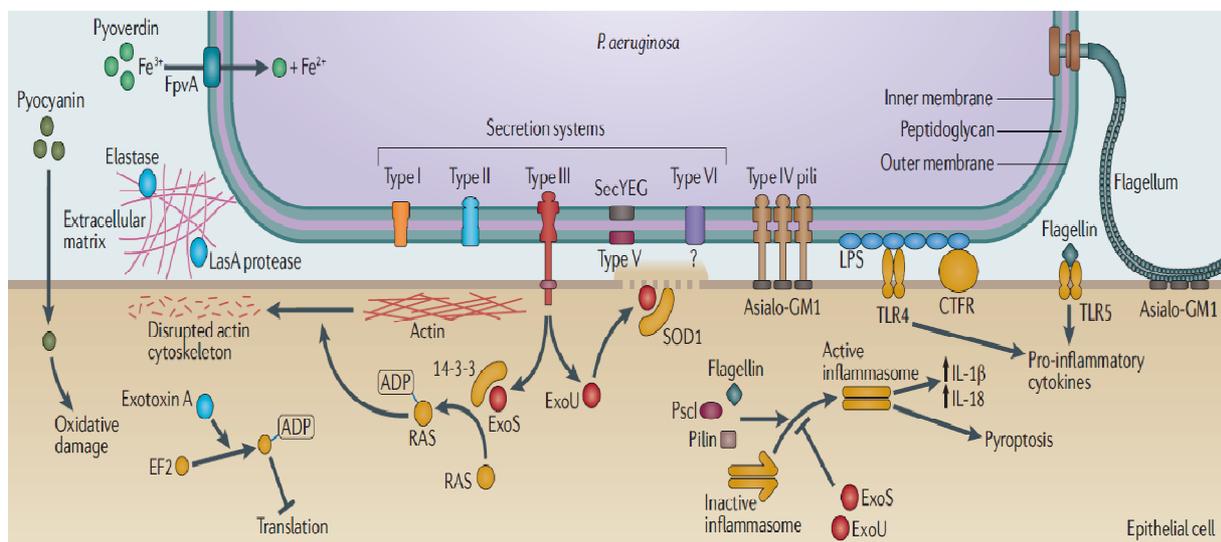


Figure 1: physiopathologie de *P. aeruginosa* (**Hauser and Ozer, 2011**).

I.1.8.Métabolisme :

Pseudomonas est aérobie, respiratoire strict, toutefois certaines espèces respirent en anaérobiose les nitrates (NO₃⁻ accepteur final des électrons). Ces bactéries croissent sur les

milieux usuels non enrichis et sur les milieux électifs pour *Enterobacteriaceae*, à 30°C plutôt qu'au 37°C.

Les membres du genre *Pseudomonas* montrent une grande adaptabilité nutritionnelle, la plupart peuvent croître sur plus de 50 substrats différents et certains peuvent utiliser plus de 100 composés organiques différents, en raison de cette capacité d'adaptation nutritionnelle, les espèces de *Pseudomonas* sont très importantes pour la dégradation des composés organiques dans le sol et dans l'environnement aquatique. Parmi les substrats utilisés il ya les sucres, les acides gras, les acides di et tricarboxyliques, les alcools, les hydrocarbures aliphatiques, les acides aminés, divers amines et d'autres composés naturels aussi que des produits chimiques de synthèse comme les hydrates de carbone chlorés. (Perry *et al.*, 2004)

La plupart des espèces de *Pseudomonas* sont phototrophes, c'est-à-dire capables de se développer en milieu minéral défini, contenant une source unique de carbone et d'énergie. Ils utilisent la voie d'Entner-Doudoroff. (Larpent, 2000)

Ce processus de production d'énergie où l'accepteur final d'électrons est une molécule inorganique autre que l'oxygène est appelé *respiration anaérobie* (Dupuy et Nougier, 2005).

P. aeruginosa possède une ADH, une gélatinase, et parfois une lécithinase et une uréase et est capable de dégrader le glucose et le mannitol et d'utiliser le citrate comme seule source de carbone (Denis, 2007).

I.1.9. Antibiothérapie

La durée d'antibiothérapie est de 10 à 15 jours (tableaux V). Elle est prolongée en cas de terrain fragilisé (immunodéprimé) ou de localisations secondaires (infections ostéo-articulaires, endocardites) ou selon la nature des microorganismes (*P. aeruginosa*). (Le POPI, 2012).

Tableau V : Choix d'antibiotiques pour le traitement de *P. aeruginosa*

Microorganisme présumé	Premier choix	Alternative
<i>P. aeruginosa</i> (communautaire, ticar-S)	Tic ou Pip + Ak	Cip+ Ak
<i>P. aeruginosa</i> (Nosocomial, ticar-R)	Céftazidime ou Céfépime ou Imipénème ou Méropénème ou doripénème ou aztréonam + Amikacine	

(Le POPI, 2012)

✓ Antibiorésistance

Le traitement des infections de *P. aeruginosa* est rendu de plus en plus difficile par les niveaux de montée de la résistance de drogue ; les isolats résistants à tous les antibiotiques conventionnels sont de plus en plus communs. Les mécanismes de la résistance de drogue peuvent être spécifiques pour une classe ou en général particulière d'une drogue, affectant différents types d'antibiotiques. Les mécanismes spécifiques incluent le changement de cibles antibiotiques (telles que topoisomérase IV et gyrase, qui sont visés par des fluoroquinolones ; et LPS, qui est visé par la colistine), canaux de prise (tels qu'OprD, qui négocie l'afflux des carbapénèmes) ou systèmes de normalisation (tels qu'AmpD, qui réprime indirectement le codage AmpC β -lactamase de gène). Les mécanismes généraux incluent les pompes de flux de drogue, qui enlèvent une série d'antibiotiques de la bactérie (figure 2). Les pompes de flux se composent des protéines de canal-formation de membrane externe (OMFs), d'un antiporteur associé à la membrane cytoplasmique (RND) et d'une protéine périplasmique de fusion de membrane (MFP). Les plasmides, les transposons et les intégrons peuvent coder des facteurs de résistance antibiotiques additionnels, y compris métallo- β -lactamases, qui sont en activité contre presque tout le β -lactamines, et enzymes qui inactivent des aminoglycosides.

(Hauser and Ozer, 2011).

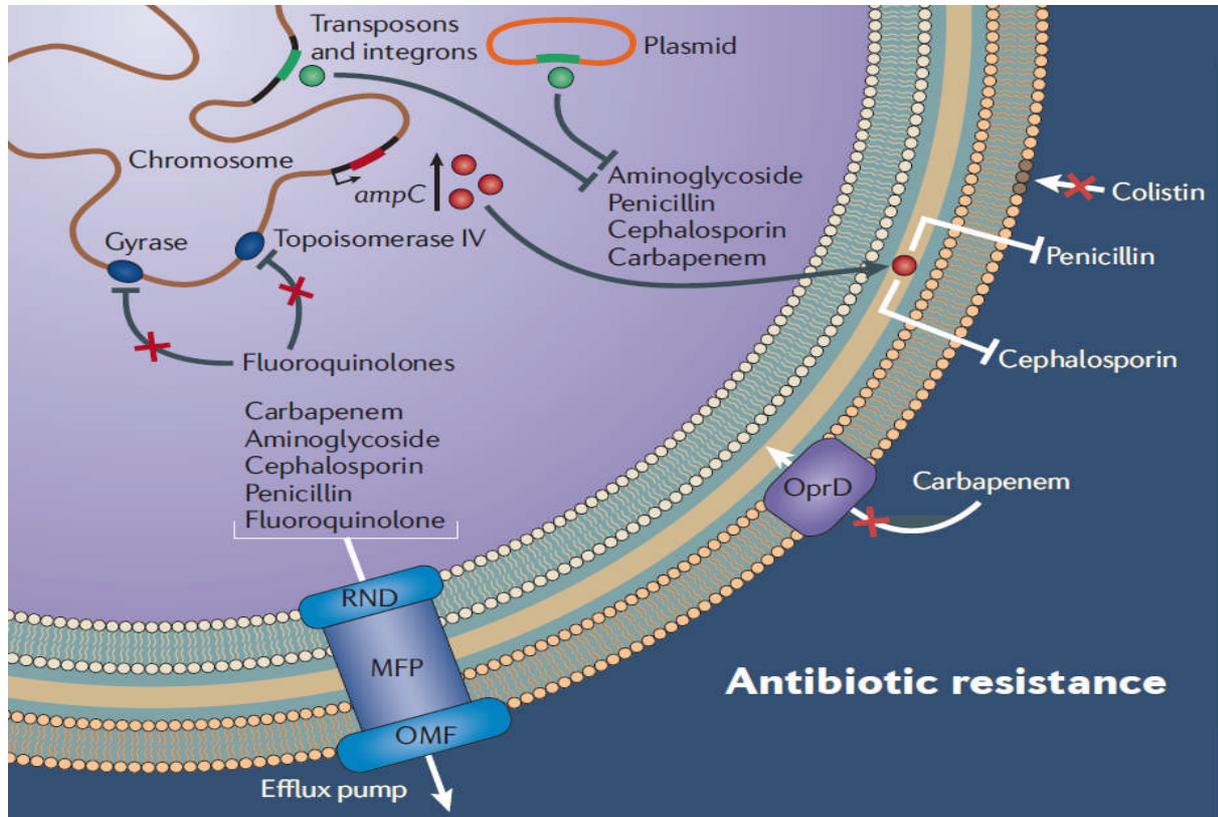


Figure 2: différents mécanismes de résistance chez *P. aeruginosa* (Hauser and Ozer, 2011).

I.1.10. Prévention

La contamination par *P. aeruginosa* se fait par tous les modes décrits classiquement pour les pathogènes bactériens à partir de surfaces ou manuportée mais aussi à partir de circuits d'eau, d'éléments réutilisables de circuits ventilatoires ou de fibroscopes bronchiques (**Cornich et al., 2005**). Face à ces modes de dissémination, il n'ya pas de mesures de prévention spécifiques à *P. aeruginosa* mais plutôt toute la gamme des mesures de prévention à respecter, allant de l'hygiène des mains avec récemment l'utilisation de solutions hydroalcooliques, jusqu'à la mise en place de protocoles de procédures de soins à risque tels que les aspirations endotrachéales et la mise en place de procédures de décontamination traçables de matériels tels que les endoscopes (**Cornich et al., 2005**)

Dans le cas de bactéries où les anticorps anti-LPS sont nécessaires pour conférer une bonne protection il est possible d'inclure dans le vaccin soit le LPS détoxifié chimiquement soit d'utiliser sa fraction polysaccharidique couplée à une protéine porteuse pour favoriser la mise en place d'une mémoire immunitaire. C'est le cas par exemple pour une préparation vaccinale anti-*Pseudomonas* (**Cryz, 1989**).

Un inconvénient de cette stratégie ciblant les chaînes O des LPS est dû à leur grande variabilité d'une souche à l'autre si bien qu'un vaccin efficace doit comporter, pour être multivalent, les polysaccharides O des sérotypes les plus fréquents, tous couplés à la protéine porteuse selon les techniques qui doivent quelquefois être adaptées en fonction de la structure particulière de chaque chaîne O. un vaccin anti-*Pseudomonas* octavalent a par exemple été décrit (**Campbell, 1996**). Mais en plus du coût important qu'implique cette stratégie, un phénomène de compétition antigénique peut avoir lieu et diminuer l'efficacité du vaccin.

I.2. Les huiles essentielles

I.2.1. Définition

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatiles, isolées des plantes par hydrodistillation ou par expression mécanique (**Kalemba et Kunicka, 2003**). Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs, de brindilles, d'herbes, d'écorces, de bois, de racines ou de fruits (**Burt, 2004**), mais également à partir des gommés qui s'écoulent du tronc des arbres.

L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. La matière première végétale peut être fraîche, flétrie, sèche, entière, contusée ou pulvérisée, à l'exception des fruits du genre citrus qui sont toujours traités à l'état frais (**Ollier, 2011**).

Selon la *pharmacopée européenne*, les HE peuvent subir un traitement ultérieur approprié ; elles peuvent être commercialement dénommées comme étant déterpénées, désesquiterpénées, rectifiées, ou privées d'un composant spécifique (**Ollier, 2011**).

I.2.2.Extraction des huiles essentielles

Distillation :

La plupart des composés odorants contenus dans les végétaux sont entraînable à la vapeur d'eau. Le flux de vapeur d'eau et les composés organiques volatils sont entraînés par distillation azéotropique, et, après condensation par refroidissement dans un réfrigérant, se séparent par différence de densité. L'huile essentielle, la plupart du temps plus légère que l'eau, surnage et peut être récupérée dans des séparateurs, dont le fameux « vase florentin ». on distingue deux types de distillation des plantes :

Hydrodistillation : le végétal est immergé dans l'eau portée à ébullition ;

Entrainement vapeur, où seule la vapeur d'eau traverse la masse végétale, avec deux variantes selon que la vapeur est humide ou sèche (**Fernandez et Chemat, 2012**).

I.2.3. Composition chimique des huiles essentielles

La composition de nombreuses huiles essentielles a été décrite dans la littérature. Elle varie en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte (**Delaquis et al., 2002 ; Gonny et al., 2004 ; Burt, 2004**). L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (**Salzer, 1977**). La résonance magnétique nucléaire (RMN) peut également être utilisée pour identifier les constituants des huiles essentielles (**Tomi et al., 1995**).

I.2.4. Constituants des huiles essentielles

Les constituants des huiles essentielles possèdent un squelette hydrocarboné qui peut être linéaire, cyclique ou encore aromatique. Ils peuvent posséder toutes les grandes fonctions de la chimie organique : alcools, composés carbonylés (principalement aldéhydes et cétones), esters, phénols et, dans une moindre mesure, dérivés azotés et soufrés (tableau). Néanmoins, les terpènes (hydrocarbures en C₁₀ ou C₁₅) et terpénoïdes (terpènes fonctionnalisés) sont de loin les plus abondants (**Fernandez et Chemat, 2012**).

Les constituants des huiles essentielles peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes (**Buchanan et al., 2000**).

La classe des terpénoïdes est la plus variée au niveau structural. Les terpénoïdes, dont 25000 sont connus comme métabolites secondaires, dérivent du précurseur isoprénique à cinq carbones, l'isopenténylpyrophosphate. Les plus petits terpénoïdes sont les hémiterpénoïdes (C₅), qui sont formés d'une seule unité isoprénique. Les autres molécules, appartenant à cette classe, résultent de la condensation de plusieurs isoprènes. Ainsi, les monoterpénoïdes (C₁₀) sont constitués de deux unités isopréniques alors que les sesqui-terpénoïdes (C₁₅) sont formés par l'association de trois isoprènes. Les mono- et les sesquiterpénoïdes sont les plus représentés dans les huiles essentielles.

Les phénylpropanoïdes, ou composés phénoliques, sont biosynthétisés à partir des acides aminés aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine. Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle.

Les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes confèrent aux huiles essentielles leurs propriétés antibactériennes. L'activité de ces molécules dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées. Une liste, visant à classer les constituants des huiles essentielles en fonction de l'intensité de leur activité, a d'ailleurs été établie (**Kalemba et Kunicka, 2003**). Les composés phénoliques, comme le thymol, le carvacrol et l'eugénol, sont, du fait du caractère acide de leur substituant hydroxyle, les plus actifs. Aussi, il n'est pas étonnant de constater que les huiles essentielles riches en phénols, comme les huiles de thym, d'origan et de clou de girofle, démontrent les plus hautes activités antibactériennes.

I.2.5. Avantages :

Les huiles essentielles sont des produits très actifs car elles représentent un concentré par rapport aux principes aromatiques contenus dans la plante. Mais contenant pas les constituants non volatils de la plante, elles ont une activité thérapeutique propre qui n'est pas entièrement superposable à celles des plantes dont elles sont issues (**Ollier, 2011**).

Plusieurs huiles essentielles confèrent une activité antimicrobienne en endommageant la paroi cellulaire et la membrane, menant à la lyse de cellules, à la fuite du contenu de cellules, et à l'inhibition de la force motrice de proton (**Burt, 2004**). En outre, évidemment elles tuent effectivement des bactéries sans favoriser l'acquisition de la résistance (**Ali et al., 2005 ; Ohno et al. 2003**).

I.2.6. Inconvénients :

Ils procèdent de leur activité thérapeutique élevée à l'origine d'une toxicologie spécifique qui impose des règles d'utilisation précises des huiles essentielles. (**Ollier, 2011**).

La toxicité des HE ne doit pas être sous-estimée en cas de mauvaise utilisation. Elle est directement liée à leur composition chimique : les risques dépendent des familles biochimiques auxquelles ces composés appartiennent et de leur concentration dans l'HE (**Ollier, 2011**).

I.2.7. Comment utiliser les HE ?

Il existe quatre voies principales d'administration des HE : orale, cutanée, respiratoire et rectale. Le choix de l'une ou de l'autre dépend de l'HE elle-même, de l'objectif thérapeutique, de l'âge du patient et de sa sensibilité (**Ollier, 2011**).

I.2.8. Les activités antibactériennes des huiles essentielles

La première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (**Boyle, 1955**). Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (**Burt, 2004**).

Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**Kalemba et Kunicka, 2003**). Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries Gram positives que sur les bactéries Gram négatives. Toutefois, les bactéries Gram négatives paraissent

moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire (**Burt, 2004**). Il existe cependant quelques exceptions. Les bactéries Gram négatives *Aeromonas hydrophila* (**Wan et al., 1998**) et *Campylobacter jejuni* (**Wannissorn et al., 2005**) ont été décrites comme particulièrement sensibles à l'action des huiles essentielles. La bactérie reconnue comme la moins sensible à leurs effets reste néanmoins la bactérie Gram négatif *P. aeruginosa* (**Dorman et Deans, 2000**).

Les recherches ont montré que la fonction antimicrobienne s'exerce de deux manières selon les types de micro-organismes et de biomolécules :

- activité inhibitrice ou microbiostatique : blocage de la multiplication des cellules microbiennes ;
- activité létale ou microbicide : mort des cellules microbiennes (**Fernandez et Chemat, 2012**).

Il est très probable que chacun des constituants des HE ait son propre mécanisme d'action. D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases : (Figure 3)

- attaque de la paroi bactérienne par l'HE, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ;
- acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire (ATP) due à la perte d'ions et la réduction du potentiel membranaire ;
- destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (**Fernandez et Chemat, 2012**).

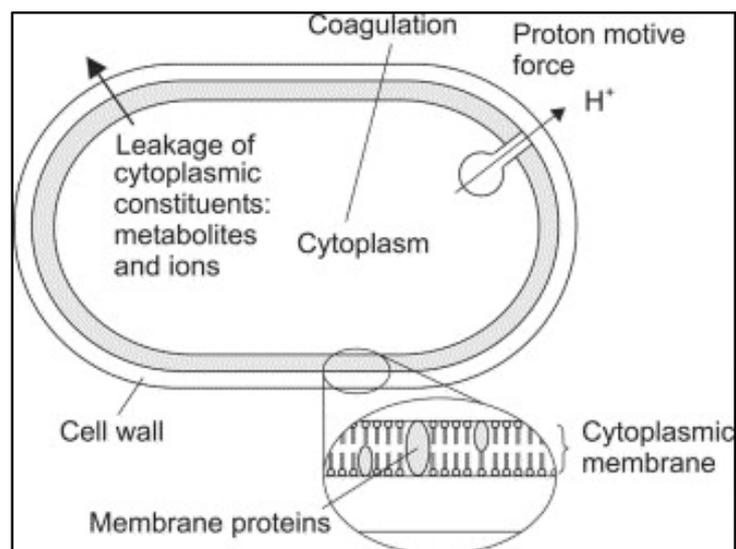


Figure 3 : Mécanisme d'action des HE au niveau de la cellule microbienne. (**Burt, 2004**)