

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
Option : Biotechnologie et pathologie moléculaire

T H E M E

**Préparation et contrôle de qualité d'une forme phytopharmaceutique
à base de distillats aromatiques**

Présenté par

AMRANDI Yousra & ZIOUANI Rania

Date de Soutenance

06/07/25

Devant le jury composé de :

Mme ROUAKI F.	Enseignant-chercheur	Présidente	Univ. Blida 1
Mme BENAZOUZ F.	Enseignant-chercheur	Examinatrice	Univ. Blida 1
M. BOKHATAM M.N.	Enseignant-chercheur	Promoteur	Univ. Blida 1

REMERCIEMENTS

À notre encadreur pour sa disponibilité constante, ses conseils avisés et son accompagnement qui ont largement contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Aux membres du jury, pour l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de présider et d'examiner notre travail de mémoire de Master et pour toutes vos remarques et suggestions.

Nos remerciements s'adressent également au directeur du laboratoire cosmétique « ABM » de Blida, pour son accueil chaleureux, sa générosité et son accompagnement et conseils tout au long de la formulation des préparations dermocosmétiques.

Nous tenons à remercier le responsable du laboratoire de Rhéologie pour sa précieuse collaboration et son soutien lors des analyses rhéologiques.

Nos plus vifs remerciements vont également à la cheffe de service du laboratoire d'anatomie pathologique du CHU, ainsi qu'à tout le personnel du laboratoire, pour leur aimable coopération et collaboration dans l'examen histologique.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance au chef de service du laboratoire de bactériologie de l'EPH Blida et à toute son équipe pour leur aide technique, leur efficacité et leur bienveillance lors de la réalisation du screening antimicrobien.

Enfin, nous tenons à remercier l'ensemble des enseignants de la Faculté, et tout particulièrement ceux qui nous ont accompagnées tout au long de notre parcours universitaire. Leur dévouement et leur expertise ont grandement contribué à notre formation académique.

DEDICACES

Je dédie ce travail avec une profonde gratitude à tous ceux qui me sont chers et pour qui les mots ne suffiront jamais à exprimer toute ma reconnaissance et mon amour.

*À mon père **M. Abdelhalim** source précieuse et inépuisable de ma force et de mon inspiration. Tu es le pilier solide qui soutient ma vie, celui à qui je dois tout : mon être, mes réussites et mon respect le plus sincère.*

*À ma chère mère **Fathia**, la femme exceptionnelle qui a porté mes peines sans jamais me laisser les ressentir. Ta générosité sans limites et tes sacrifices constants ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*À mes frères **Isaak** et **Fethi**, mes complices et amis fidèles, qui ont toujours été présents à mes côtés. Merci pour toutes ces heures d'écoute patiente et pour votre soutien indéfectible dans chaque épreuve de ma vie.*

*À mes sœurs **Manar** et **Chaima**, mes amies proches et confidentes fidèles depuis toujours. Vous êtes mes précieux trésors, celles qui partagent à la fois mes joies et mes peines.*

*À mes amies fidèles, qui ont partagé avec moi les hauts et les bas de cette aventure. Un merci tout particulier à **Racha**, bien plus qu'une amie, ma sœur de cœur. Toi qui es toujours présente à mes côtés, dans les moments de joie comme dans les instants difficiles.*

*À mon binôme de travail **Rania**, compagnon de ce projet, ta compréhension, ton soutien et ta patience qui ont rendu cette aventure académique possible.*

DEDICACES

Avec l'aide d'Allah, source de force et de sagesse, j'ai pu franchir les étapes de ce parcours et achever ce travail Je dédie ce mémoire :

***A ma chère maman** que j'aime infiniment, merci d'être une source de tendresse et d'amour.*

A mon bien-aimé frère Abdoullah

A mes chères sœurs Hiba et Hanna

***A mes enseignants,** pour la richesse de leur savoir et leur accompagnement toute au long de ma formation*

A mes amies fidèles Asma et Melissa

*Du fond du cœur Je tiens à exprimer tout ma gratitude à ma précieuse **binôme Amrandi Yousra** pour sa douceur sa patience et sa présence constante à mes côtés tout au long de ce parcours.*

RANIA

2025

RESUME

Les huiles aromatiques présentent un large spectre d'activités pharmacologiques liées à la richesse et à la diversité de leurs composés bioactifs. De nombreuses huiles aromatiques possèdent des propriétés antimicrobiennes, antifongiques, analgésiques et antioxydantes, ce qui justifie leur utilisation traditionnelle et moderne en aromathérapie et en cosmétologie. Ces activités biologiques sont le plus souvent attribuées à des molécules majoritaires terpéniques, qui interagissent avec les membranes cellulaires et modulent divers mécanismes physiologiques.

Une utilisation sécurisée repose sur la connaissance précise de leur composition chimique, l'application de doses appropriées, et le respect des contre-indications liées à certains groupes de population.

Notre travail s'est axé sur l'évaluation des propriétés de l'extrait aromatique distillé d'une plante à parfum. Le pouvoir antibactérien a été évalué, *in vitro*, en utilisant deux techniques complémentaires. En aromatogramme, l'huile a présenté une inhibition totale sur la souche de référence *Staphylococcus*, et une activité modérée à forte a été également observée contre d'autres espèces.

En microatmosphère, l'espèce à Gram-positive a été fortement inhibée par les vapeurs de l'huile aromatique.

En ce qui concerne les préparations dermocosmétiques préparées, leur analyse toxicologique s'est révélée satisfaisante, avec absence de toute irritation. Et d'un point de vue rhéologique, ces formulations ont un comportement qui obéit aux fluides non newtoniens. Au final, l'utilisation des produits aromatiques naturels, distillés des plantes médicinales, comme bioactif dans les cosméceutiques, demeure une option pleinement justifiée, mais nécessite, au préalable, des études toxicologiques approfondies.

Mots-clés : Préparations phytopharmaceutiques ; Huiles aromatiques ; Composés terpéniques ; Distillats aromatiques.

ABSTRACT

Aromatic oils exhibit a wide spectrum of pharmacological activities, owing to the richness and diversity of their bioactive compounds. Many aromatic oils possess antimicrobial, antifungal, analgesic, and antioxidant properties, which justify their traditional and modern applications in aromatherapy and cosmetology. These biological activities are most often attributed to major terpenic molecules, which interact with cellular membranes and modulate various physiological mechanisms.

Safe use requires precise knowledge of their chemical composition, the application of appropriate doses, and adherence to contraindications concerning certain population groups.

Our work focused on the evaluation of the properties of the essential oil distilled from a fragrant plant. The antibacterial activity of the essential oil was assessed in vitro using two complementary techniques.

In aromatogram testing, the essential oil sample showed complete inhibition against the reference *Staphylococcus* strain, and moderate to strong activity was also observed against other species. In the microatmosphere test, the Gram-positive species was strongly inhibited by the vapors of the aromatic oil.

Regarding the prepared dermocosmetic formulations, their toxicological analysis was satisfactory, showing no signs of skin or ocular irritation. From a rheological perspective, these formulations exhibited non-Newtonian fluid behavior. In conclusion, the use of plant-derived oils and aromatic distillates from medicinal plants as bioactive agents in cosmeceuticals remains a fully justified option, but requires, beforehand, thorough toxicological studies.

Keywords: Phytopharmaceutical preparations; Aromatic oils; Terpenic compounds; Aromatic distillates.

ملخص

تُظهر الزيوت العطرية طيفًا واسعًا من الأنشطة الدوائية المرتبطة بغناها وتنوع مركباتها النشطة بيولوجيًا. إذ تمتلك العديد من الزيوت العطرية خصائص مضادة للميكروبات، مضادة للفطريات، مسكنة ومضادة للأكسدة، الأمر الذي يبرر استعمالها التقليدي والحديث في العلاج بالعطور والتجميل. وغالبًا ما تُعزى هذه الأنشطة البيولوجية إلى الجزيئات التربينية الرئيسية، التي تتفاعل مع الأغشية الخلوية وتعُدّل مختلف الآليات الفسيولوجية.

إن الاستعمال الآمن لهذه الزيوت يتطلب معرفة دقيقة بتركيباتها الكيميائية، وتطبيق الجرعات المناسبة، والالتزام بموانع الاستعمال الخاصة ببعض الفئات السكانية.

تركّز عملنا على تقييم خصائص الزيت العطري المقطر من نبات عطري. وقد تم تقييم الفعالية المضادة للبكتيريا لهذا الزيت في المختبر باستخدام تقنيتين مكملتين. ففي اختبار الأروماتوغرام، أظهر الزيت العطري المدروس تثبيطًا كليًا لسلالة مرجعية من المكورات العنقودية.

أما في اختبار الجو المصغّر (microatmosphere)، فقد تم تثبيط النوع الموجب لغرام (المكورات العنقودية الذهبية) بشكل ملحوظ بواسطة أبخرة الزيت العطري.

أما فيما يتعلق بالمستحضرات الجلدية-التجميلية المحضّرة، فقد أظهرت تحاليلها السمية نتائج مُرضية، مع غياب أي تهيج جلدي أو عيني. ومن الناحية الريولوجية، أظهرت هذه التركيبات سلوكًا يخضع للسوائل غير النيوتونية.

وفي الختام، يبقى استعمال الزيوت الأساسية والمستخلصات العطرية المقطرة من النباتات الطبية كعوامل نشطة حيويًا في المستحضرات التجميلية-الدوائية خيارًا مبررًا تمامًا، لكنه يتطلب مسبقًا دراسات سمية معمقة.

الكلمات المفتاحية: مستحضرات فيتوفارماكولوجية؛ زيوت عطرية؛ مركبات تربينية؛ مقطرات عطرية.

Table des Matières

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des Abréviations

Introduction	1
Chapitre 1 = SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	2
1.1. Aspect général et localisation.....	2
1.2. Composition chimique et métabolites secondaires.....	3
1.3. Propriétés pharmacologiques	5
1.3.1. Propriétés antibactériennes	5
1.3.2. Activités anti-inflammatoires, antinociceptives et cicatrisantes	5
1.3.3. Activité antivirale.....	6
1.4. Toxicité et précautions d'emploi.....	6
 Chapitre 2 = MATERIEL ET METHODES	 8
2.1. Matériel	8
2.1.1. Huile testée	8
2.1.2. Souches microbiennes	8
2.1.3. Animaux de laboratoire	8
2.1.4. Milieux de culture et produits chimiques	9
2.2. Méthodes	9
2.2.1. Etude de l'activité antibactérienne par diffusion (aromatogramme)	9
2.2.2. Etude de l'activité antimicrobienne par microatmosphère	10
2.2.3. Préparation des formes phytopharmaceutiques.....	11
2.2.3.1. Préparation à base d'huile aromatique	11
2.2.3.2. Préparation d'une forme topique	12
2.2.3.4. Préparation d'un gel.....	14
2.2.4. Etude comportement rhéologique par test d'écoulement	15
2.2.5. Etude de toxicité des préparations phytopharmaceutiques	15

2.2.5.1. Évaluation de l'irritation cutanée des phytopharmaceutiques -----	15
--	----

Chapitre 3 = RESULTATS ET DISCUSSION -----	19
---	-----------

3.1. Pouvoir antimicrobien de l'huile in vitro -----	19
--	----

3.2. Etude du comportement rhéologique des préparation topiques -----	22
---	----

3.3. Test de Draize pour la détermination de l'indice d'irritation primaire -----	23
---	----

3.4. Test d'irritation par technique HET-CAM-----	24
---	----

Conclusion -----	25
-------------------------	-----------

Références bibliographiques -----	26
--	-----------

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1. Constituants chimiques et principaux métabolites secondaires	4
Tableau 2.1. Informations sur les lapins utilisées pour l'évaluation du pouvoir toxicologique	9
Tableau 3.1. Activité antibactérienne de l'huile.....	19

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1. Aspect général et botanique de la plante aromatique.....	3
Figure 1.2. Structure des composés caractéristiques.	4
Figure 2.1. Technique de diffusion en milieu gélosé (test d'aromatogramme) de l'extrait in vitro.	10
Figure 2.2. Préparation de la forme phytopharmaceutique.....	12
Figure 2.3. Préparation d'une forme topique à base d'extrait aromatique.	13
Figure 2.4. Préparation d'un gel à base d'un extrait aromatique naturel.	14
Figure 2.5. Rhéomètre MCR 302 pour le test d'écoulement.	15
Figure 2.6. Réalisation du test de Draize (irritation) chez l'animal in vivo.	16
Figure 2.7. Test HET-CAM pour l'évaluation du pouvoir irritant des préparations topiques.....	18
Figure 3.1. Exemples de résultats de l'activité antimicrobienne in vitro en aromatogramme et microatmosphère.	21
Figure 3.2. Résultats du test de Draize après 24h d'application.	24

LISTE DES ABREVIATIONS

AINS	Anti-inflammatoire non stéroïdien
ATCC	American Type Culture Collection
CMB	Concentration minimale bactéricide
CMi	Concentration minimale inhibitrice
DZI	Diamètre de zone d'inhibition
EO	Essential oil
HET-CAM	Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane
i.p.	Intra-péritonéale
IL	Interleukine
MH	Gélose Muller-Hinton
NaOH	Hydroxyde de sodium
NO	Monoxyde d'azote
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Économiques
UV	Ultra-violets

INTRODUCTION

L'utilisation des plantes aromatiques et médicinales, et de leurs distillats aromatiques ou métabolites terpéniques dans les formulations cosmétiques, connaît un essor considérable et un engouement remarquable. Ce regain d'intérêt s'explique par la volonté des consommateurs de se tourner vers des produits plus naturels, une alternative à la chimie de synthèse (Sarkic et Stappen, 2018 ; Sharmeen et al., 2021).

Dans les soins cosmétiques classiques, les plantes médicinales et les distillats aromatiques sont utilisées pour soigner la peau, renforcer l'hydratation, ou apaiser les irritations. Des extraits végétaux sont souvent associés à des huiles végétales pour renforcer l'activité pharmacologique, tout en respectant la sensibilité cutanée (Shaaban, 2023 ; Orchard et van Vuuren, 2017).

De par leur mécanisme d'action, ces huiles agissent via différents mécanismes, comme par exemple l'inhibition de la croissance microbienne (effet antiseptique), modulation de l'inflammation par l'inhibition de médiateurs inflammatoires (Pérez et al., 2011 ; Saad et al., 2013 ; Sharifi-Rad et al., 2017)

En parallèle, la valorisation des huiles végétales aromatiques dans les formes phytopharmaceutiques et cosméceutiques nécessite une évaluation rigoureuse de leur innocuité et de leur stabilité, en particulier lorsqu'elles sont destinées à un usage topique (Couic-Marinier, 2018 ; Avenel-Audran, 2019 ; Tahri et al., 2024). Il est donc fondamental de mener des études toxicologiques approfondies, à la fois *in vitro* et *in vivo*, afin de mieux comprendre leur comportement biologique.

A cet effet, notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de l'huile distillée d'une plante à parfum comme bioactif naturel dans des préparations phytopharmaceutiques, et ce à travers l'évaluation de ses propriétés antibactériennes (*in vitro*). Aussi des préparations pharmaceutiques ont été formulées à base de cette huile.

Chapitre 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Aspect général et localisation

Près de 7 000 espèces appartenant à plus de 230 genres sont répertoriées dans la famille des Lamiaceae. Parmi ces espèces, le genre *Satureja* englobe plus de 200 espèces d'herbes ou d'arbustes différents, largement répandus dans la région méditerranéenne, en Asie et dans certaines régions des États-Unis (Zarshenas et Krenn, 2015 ; Jafari et al., 2016).

Cette plante aromatique, de la famille des lamiacées, est une espèce herbacée qui croît en touffes fleuries rose pâle à pourpre (Fig. 1.1-a), sur les pentes ensoleillées aux sols calcaires. La plante est originaire des régions au climat tempéré notamment le Sud de l'Europe et l'Afrique du Nord.

C'est un sous-arbrisseau de 15–40 cm, vert, à tiges ascendantes ou dressées, à rameaux raides, dressés, très feuillés. Ses petites feuilles étroites (Fig. 1.1-c), oblongues, coriaces et pointues dégagent un arôme fort et épicé, très appréciées en cuisine.

En été, apparaissent à l'aisselle des feuilles, de petites fleurs blanchâtres, ou roses-pâle qui attirent les abeilles (Fig. 1.1-d). Elles s'utilisent comme condiment pour rehausser de nombreux plats et pour faciliter la digestion (Ghedira et Goetz, 2019 ; Laurain-Mattar et al., 2023).

Elle préfère les sols calcaires, bien drainés et pas trop riches, mais elle peut pousser dans tous types de sols, excepté les sols humides en hiver, qui provoquent un pourrissement du système racinaire (Acimović et al., 2022).



[a] Partie aérienne



[c] Rameaux feuillés

Figure 1.1. Aspect général et botanique de la plante aromatique (Ghedira et Goetz, 2019).

1.2. Composition chimique et métabolites secondaires

L'huile aromatique est issue de la distillation des sommités fleuries et de la partie aérienne. D'autres espèces peuvent être cultivées dont on tire également un extrait aromatique à partir de ses sommités fleuries.

Les deux extraits peuvent être utilisées pour les mêmes indications étant donné leurs compositions proches (Mirjana et Nada, 2004 ; Tepe et Cilkiz, 2016).

L'huile aromatique est riche en composés phénoliques, carvacrol (59%) et thymol (20%) (Serrano et al., 2011]. Pourtant, sa composition en ses composants majeurs est variable. Une forte variabilité du profil chimique est observée (Ghedira et Goetz, 2019 ; Acimović et al., 2022).

Les principaux constituants chimiques et métabolites secondaires de cette espèce aromatique sont présentés dans le tableau 1.1 et sur la figure 1.2.

Tableau 1.1. Constituants chimiques et principaux métabolites secondaires (Ghedira et Goetz, 2019).

Familles chimiques	Constituants chimiques principaux
Huile	Chémotypes à carvacrol, parfois à thymol, carbures monoterpéniques (thujènes, α- et γ-terpinènes).
Acides-phénols	Acides quinique, protocatéchique, rosmarinique (0,2 à 1,3 %), caféique et chlorogénique
Flavonoïdes	Apigénine, quercétine, lutéoline, kaempférol, apigénine-7-O-β-D-rutinoside, linarine (acacétine-7-O-rutinoside) isomères 1 et 2, trihydroxy-triméthoxyflavone, dihydroxy-triméthoxyflavone.

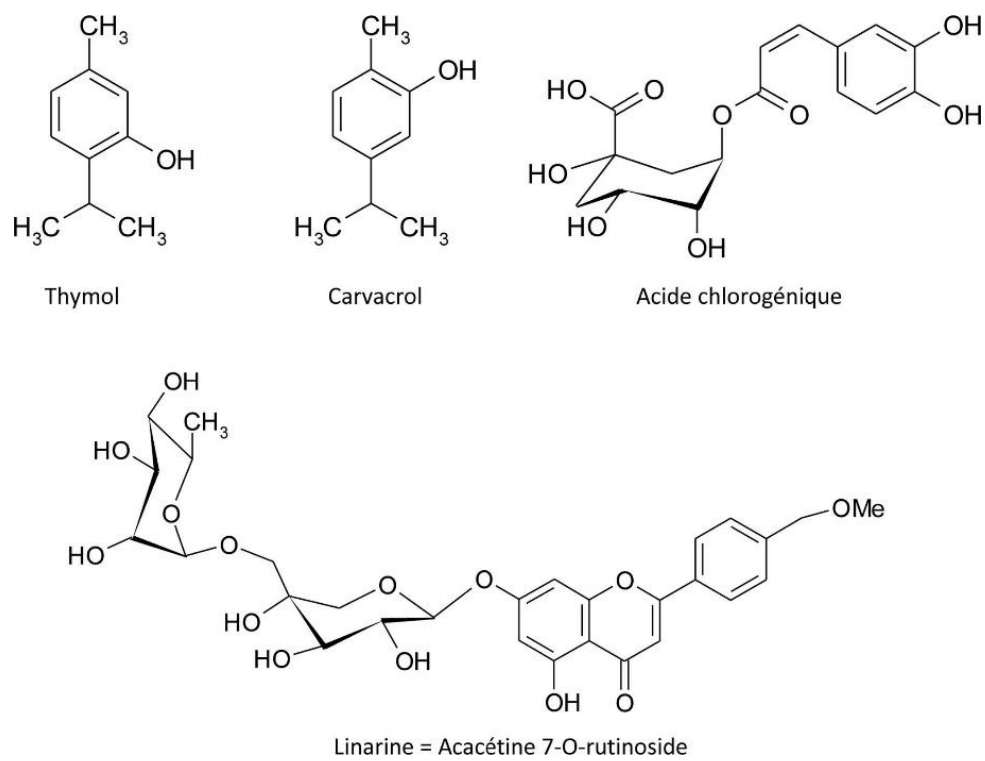


Figure 1.2. Structure des composés caractéristiques (Ghedira et Goetz, 2019).

1.3. Propriétés pharmacologiques

1.3.1. Propriétés antibactériennes

Ce qui fait la particularité de cette plante aromatique, c'est sa concentration majoritaire en carvacrol (phénols monoterpénoïdes), qui lui confère sa propriété antibactérienne. Des études confirment ses propriétés anti-infectieuses. Elle est utilisée dans le cas d'infections de la sphère digestive (gastro-entérite), d'infections gynécologiques et pulmonaires.

Elle a une composition majoritaire en phénols, principalement du carvacrol (Ghedira et Goetz, 2019 ; Laurain-Mattar et al., 2023). Les phénols ont par ailleurs un effet immunostimulant qui confère une action supplémentaire pour enrayer les infections et éviter les surinfections.

En raison de la riche quantité d'huile végétale, différentes espèces ont été évaluées pour leur pouvoir antimicrobien. En utilisant un test de diffusion sur disque, l'huile a démontré une activité contre *Pseudomonas* en comparaison avec l'érythromycine. En utilisant la méthode de dilution, la concentration minimale inhibitrice (CMI) était de 31 µg/mL (Pirbalouti et Dadfar, 2013).

Dans une autre étude utilisant des méthodes de diffusion sur disque et de dilution en gélose, l'activité antimicrobienne de l'huile contre 10 isolats cliniques d'*Helicobacter* a été observée. L'huile a présenté de puissants effets inhibiteurs (Falsafi et al., 2015).

Par ailleurs, l'activité antibactérienne de l'extrait aromatique et son potentiel d'inhibition du biofilm ont été évalués sur deux souches de *Salmonella typhimurium* (Miladi et al., 2016).

1.3.2. Activités anti-inflammatoires, antinociceptives et cicatrisantes

Les extraits hydroalcooliques et polyphénoliques ont été évalués pour d'éventuelles activités anti-inflammatoires et analgésiques. Le prétraitement avec ces extraits a diminué les contractions abdominales et l'œdème de la patte induits par l'acide acétique (Hajhashemi et al., 2012).

Pour évaluer les effets thérapeutiques dans l'inflammation parodontale, une étude a révélé que l'extrait de la plante peut réduire le rapport bactéries vivantes/mortes (Zeidán-Chuliá et al., 2015).

Une autre étude a confirmé les activités antinociceptives de l'extrait d'éthanolique en utilisant différents tests.

Concernant les tests de contraction de la queue et de plaque chauffante, l'extrait (100 mg/kg ; ip) a démontré un effet analgésique 15 minutes après l'injection (Saber et al., 2013).

De plus, il a été révélé que cette espèce possède des effets protecteurs chez les patients atteints de stomatite aphteuse. Dans un essai clinique randomisé contrôlé par placebo, l'huile (groupe A) et l'extrait hydroalcoolique (groupe B) ont été évalués, en comparaison avec un placebo. Le temps moyen d'élimination de la douleur dans les deux groupes a montré des différences significatives par rapport au placebo (Ghazanfari et al., 2006).

1.3.3. Activité antivirale

Parmi plusieurs espèces de ce genre, seule quelques espèces botaniques ont présenté une activité antivirale selon le modèle de cytopathogénicité induite par le virus de l'immunodéficience humaine 1 (VIH1) (Yamasaki et al., 1998).

Cette transcription est nécessaire à « l'implantation » et à la multiplication du virus. L'acide rosmarinique aurait un effet synergique avec un médicament inhibiteur de l'enzyme intégrase, d'où l'intérêt d'effectuer davantage d'études sur cet extrait (Suksawat et Panichayupakaranant, 2022).

1.4. Toxicité et précautions d'emploi

Elle ne doit jamais être utilisée pure sur la peau. En cas de brûlure ou de projection accidentelle, il convient de rincer à l'aide d'une huile végétale, en insistant bien au niveau du cul-de-sac conjonctival si les yeux sont concernés. Elle ne doit pas être utilisée par les femmes enceintes (Vostinaru et al., 2020 ; Soni et al., 2023).

Certains composés naturels contenus dans cette huile aromatique peuvent présenter un risque d'allergie chez certaines personnes sensibles lorsque l'HE est incorporée dans une composition cosmétique (selon le 7ème Amendement de la Directive Européenne relative aux produits cosmétiques (2003/15/CE)) : linalol, limonène, géraniol (Union Européenne, 2003).

Chapitre 2

MATERIEL ET METHODES

Au cours de notre stage pratique, nous avons eu l'opportunité de travailler au sein de plusieurs laboratoires. Les travaux de formulation dermocosmétique ont été menés dans la société de production des cosmétiques bio. L'étude des propriétés rhéologiques des préparations topiques a été réalisée au laboratoire de rhéologie du département de chimie. L'évaluation des propriétés antibactériennes de l'extrait aromatique a été effectuée au laboratoire de microbiologie de l'hôpital de Blida. Par ailleurs, les tests d'irritation cutanée *in ovo* ont été réalisés au laboratoire de toxicologie.

2.1. Matériel

2.1.1. Huile testée

L'extrait aromatique provient d'une distillerie locale située à Blida. Cette huile aromatique est conservée dans des flacons stériles et teintés à température ambiante pour limiter les phénomènes d'oxydation ou d'altération chimique et de contamination microbienne.

2.1.2. Souches microbiennes

Les Souches bactériennes utilisées sont fournies par le laboratoire de microbiologie. Certaines espèces sont de référence, origine ATCC (American type culture collection) alors que d'autres isolats sont isolés cliniquement des prélèvements.

2.1.3. Animaux de laboratoire

En ce qui concerne l'évaluation des propriétés toxicologiques *in vivo*, nous avons utilisés des lapins pour le pouvoir toxicologique des préparations phyto-pharmaceutiques (Tableau 2.1).

Tableau 2.1. Informations sur les lapins utilisées pour l'évaluation du pouvoir toxicologique.

Race des lapins	Albinos
Nom scientifique	<i>Oryctolagus Cuniculus</i>
Souche	New Zealand White
Poids (g)	2880 - 3000
Sexe	Mâles et femelles.
Nourriture	Granulés
Boisson	Eau de robinet
Température ambiante	18 - 28 °C

2.1.4. Milieux de culture et produits chimiques

Les milieux de culture utilisés sont la gélose Muller-Hinton (MH) pour les bactéries. Aussi, nous avons utilisé plusieurs antibiotiques comme contrôle positif, à savoir céfoxitine (30), teicoplanine (30 µg), Acide fusidique (10 µg), imipenème (10 µg), céfazoline (30 µg), ciprofloxacine (10 µg), céfotaxime (10 µg) et amoxicilline (30 µg).

2.2. Méthodes

2.2.1. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile par diffusion en milieu gélosé (aromatogramme)

L'évaluation du pouvoir antimicrobien de l'huile aromatique est menée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé, appelée aussi aromatogramme (Dobre et al., 2011 ; Ignatiuk et al., 2023). Cette technique est similaire à celle de l'antibiogramme (figure 2.1) utilisée en microbiologie.

L'aromatogramme constitue une méthode qualitative et semi-quantitative largement utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles.

Cette méthode présente l'avantage d'être simple, rapide et adaptée à l'évaluation comparative de plusieurs huiles aromatiques ou fractions volatiles contre différentes souches bactériennes. Elle permet également de mettre en évidence la variabilité de la sensibilité microbienne, notamment entre bactéries Gram-positives et Gram-négatives.

Des milieux Mueller-Hinton ensemencés avec des souches bactériennes ont reçu des disques de papier filtre imprégnés de différentes quantités d'extract aromatique, afin d'analyser une éventuelle relation dose-effet. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés pour évaluer l'efficacité inhibitrice de l'huile.



Préparation du milieu de culture
dans des boîtes Pétri.

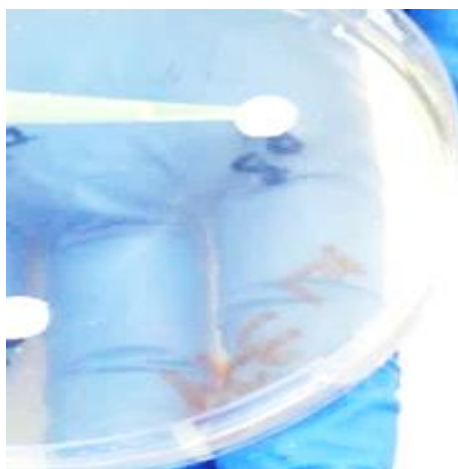


Figure 2.1. Technique de diffusion en milieu gélosé (test d'aromatogramme) de
l'extract *in vitro*.

2.2.2. Etude de l'activité antimicrobienne par microatmosphère (phase vapeur)

L'étude de l'activité antibactérienne de l'extract aromatique par la méthode de microatmosphère repose sur la diffusion de ses composés volatils dans l'espace clos d'une boîte de Pétri (Dobre et al., 2011 ; Ignatiuk et al., 2023).

La méthode de la microatmosphère, également appelée test en phase vapeur, constitue une approche alternative et complémentaire à l'aromatogramme classique pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Ce test repose sur la volatilité des composés aromatiques et sur leur capacité à inhiber la croissance microbienne dans l'espace gazeux au-dessus du milieu de culture. Il permet ainsi d'évaluer l'efficacité des huiles sous forme de vapeurs, reproduisant des conditions d'utilisation proches de celles rencontrées dans certains contextes d'aromathérapie, de conservation alimentaire ou de formulations cosmétiques.

Après ensemencement du milieu Mueller-Hinton avec une suspension bactérienne, un disque imprégné de différents volumes d'extrait végétal est fixé sur l'intérieur du couvercle, sans contact avec la gélose. L'activité est évaluée par mesure des zones d'inhibition (mm) formées autour des colonies.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne par microatmosphère constitue un outil efficace et complémentaire aux méthodes classiques. Elle permet de mieux comprendre le rôle des composés volatils dans l'action antimicrobienne des huiles et ouvre des perspectives intéressantes pour leur application dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire.

2.2.3. Préparation des formes phytopharmaceutiques

2.2.3.1. Préparation à base d'huile aromatique

Il s'agit d'une forme semi-solide obtenue par mélange d'une phase grasse et, selon la formule, d'une faible proportion de phase aqueuse. Cette formule galénique, traditionnellement représentée par le « cérat de Galien », est largement utilisée comme base protectrice et émolliente. L'incorporation des extraits aromatiques naturels permet d'associer les propriétés nourrissantes et protectrices du tissu cutané de la base cire-huile aux activités biologiques spécifiques des composés aromatiques.

Pour la préparation de cette forme, nous avons commencé par peser avec précision les différentes matières grasses, à savoir les beurres et les cires, les émulsifiants et la lanoline.



Pesée des ingrédients



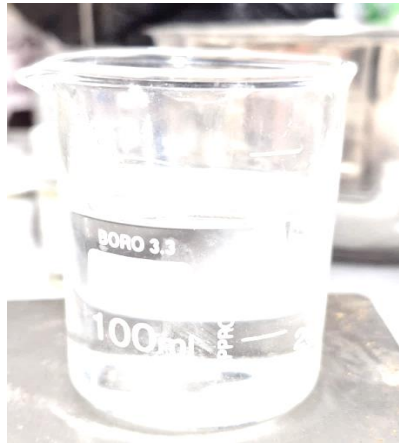
Refroidissement et conditionnement

Figure 2.2. Préparation de la forme phytopharmaceutique à base d'huile aromatique.

Dans un bain-marie, nous avons fondu lentement tous ces ingrédients jusqu'à l'obtention d'une phase homogène (figure 2.2). Une fois le mélange fondu et bien uniforme, nous avons retiré le récipient du bain-marie puis nous avons ajouté progressivement les huiles végétales telles que l'huile d'amande, l'huile aromatique et la vitamine E (antioxydant), tout en remuant doucement pour éviter l'introduction d'air. Lorsque le mélange commence à tiédir, il est versé dans un pot stérile et hermétique, puis laissé à température ambiante pour se solidifier.

2.2.3.2. Préparation d'une forme topique

La préparation d'une forme topique commence par la séparation des ingrédients en deux phases, grasse et aqueuse, selon les étapes illustrées dans la figure 2.3.



Préparation de la phase aqueuse



Test du pH de la forme

Figure 2.3. Préparation d'une forme topique à base d'extrait aromatique naturel.

Dans la phase grasse, nous avons introduit successivement un émulsifiant, de lanoline, et d'huile d'amande végétale. Ce mélange est chauffé au bain-marie à 70 °C jusqu'à fonte complète et homogénéisation des corps gras. En parallèle, la phase aqueuse est préparée en chauffant, à la même température, un mélange d'eau distillée.

Lorsque les deux phases sont à température équivalente, la phase aqueuse est lentement versée dans la phase grasse sous agitation constante pour former la forme topique. L'agitation est maintenue jusqu'au début du refroidissement de la préparation, afin de stabiliser la texture. Enfin, nous avons additionné les ingrédients thermosensibles tels que l'huile aromatique, le conservateur.

L'agitation est poursuivie jusqu'à complet refroidissement pour obtenir une forme homogène.

2.2.3.4. Préparation d'un gel

La préparation du gel (figure 2.4) commence par la pesée précise de tous les ingrédients. Dans un premier bécher, nous avons préparé la base gélifiante. Le mélange est ensuite mixé énergiquement jusqu'à obtention d'un gel homogène, lisse et sans grumeaux.

Dans un second bécher, nous avons rassemblé les composants hydrosolubles tels que l'eau distillée, et le conservateur. Par la suite, nous avons incorporé le mélange dans le bécher contenant la phase aqueuse (eau et extraits) en remuant doucement jusqu'à formation d'un gel uniforme.

Ensuite, l'huile végétale est ajoutée goutte à goutte au gel tout en mélangeant délicatement, afin d'assurer une bonne dispersion sans déstabiliser la texture. Enfin, le gel obtenu est transvasé dans un pot stérilisé et hermétique.



Mélange des deux phases
aqueuse et gélifiante



Conditionnement dans un pot

Figure 2.4. Préparation d'un gel à base d'un extrait aromatique naturel.

2.2.4. Etude comportement rhéologique par test d'écoulement

Les tests d'écoulement sont essentiels pour déterminer la viscosité d'un fluide en fonction de la contrainte qu'il subit, appelée taux de cisaillement. Ils révèlent comment le fluide se comporte dans diverses conditions. La procédure du test consiste à mesurer la viscosité apparente (en Pa.s) des préparations phytopharmaceutiques tout en faisant varier le taux de cisaillement ($\dot{\gamma}$) sur une plage étendue. Le résultat de cette analyse est un profil rhéologique qui montre l'évolution de la viscosité apparente. Pour réaliser ce test, nous utilisons un rhéomètre MCR 302 (figure 2.5).

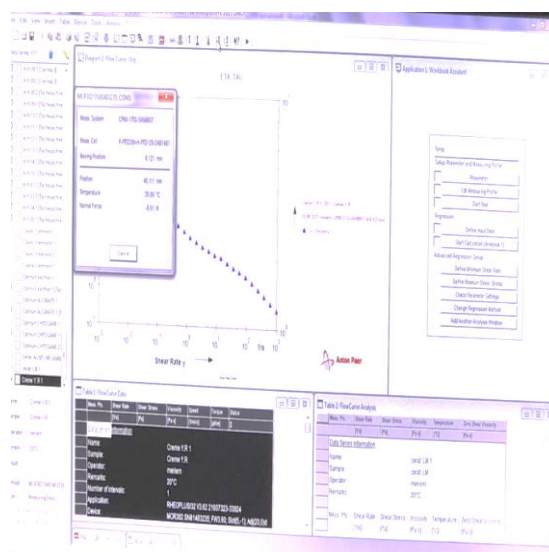


Figure 2.5. Rhéomètre MCR 302 pour le test d'écoulement.

2.2.5. Etude de toxicité des préparations phytopharmaceutiques

2.2.5.1. Évaluation de l'irritation cutanée des produits phytopharmaceutiques chez le lapin

Pour déterminer l'Indice d'Irritation Primaire (IIP) des préparations phytopharmaceutiques, nous avons suivi un protocole standardisé chez le lapin (figure 2.6) (OCDE, 2015).

Environ 24 heures avant l'application des produits, nous avons pesé les lapins et soigneusement rasé leur dos et leurs flancs sur une surface d'environ 14×14 cm. Cette étape a été réalisée avec la plus grande précaution pour éviter toute irritation ou blessure cutanée.

Le jour de l'essai, nous avons créé des scarifications superficielles (sans saignement) sur le flanc droit de chaque animal à l'aide d'un vaccinostyle.

Ces scarifications consistaient en trois lignes parallèles d'environ 2,5 cm de long, espacées de 0,5 cm.

Les pansements ont été retirés et les résidus de produit nettoyés délicatement à l'eau. Les observations cliniques et les lectures ont été effectuées 4 heures après l'application, puis à 24, 48 et 72 heures.

Les réactions inflammatoires locales ont été notées sur les zones incisées et non incisées. Pour chaque paramètre, une échelle de scores allant de 0 à 4 a été utilisée pour évaluer la sévérité de la réaction. L'IIPC est calculé selon la formule :

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

Si le résultat de IIP $\leq$ 0,5 : produit non irritant.

Lorsque les scores d'érythème et d'œdème sont nuls, le produit est considéré comme non irritant. Cela signifie qu'il n'a provoqué aucune réaction visible sur la peau, ce qui est idéal pour les applications cutanées.



3 Scarifications parallèles

Figure 2.6. Réalisation du test de Draize (irritation cutanée) chez l'animal (lapin) in vivo.

2.2.5.2. Évaluation du potentiel irritant des préparations topiques par la méthode HET-CAM

Pour déterminer le pouvoir irritant des préparations phytopharmaceutiques topiques à base d'huile aromatique, nous avons utilisé la méthode HET-CAM (Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane) (De Silva et al., 1992 ; Steiling et al., 1999).

Le test de la membrane chorioallantoïque de l'œuf de poule (HET-CAM) est devenu une méthode *in vitro* de référence pour l'évaluation du potentiel irritant oculaire et, par extension, l'évaluation de la tolérance des préparations topiques. Développé comme une alternative éthique et efficace au test de Draize sur lapin, il utilise la membrane chorioallantoïque (CAM) d'œufs de poule embryonnés, une structure très vascularisée qui présente des caractéristiques et une réactivité similaires à celles de la conjonctive et de l'iris de l'œil. L'objectif principal de ce protocole est de prédire le risque d'irritation pour les formulations, notamment les formulations dermiques ou les produits cosmétiques.

Le HET-CAM se distingue ainsi comme un outil de pré-screening rapide, simple et relativement peu coûteux, permettant aux fabricants de formuler des produits plus sûrs dès les premières étapes de développement et de répondre aux exigences réglementaires qui promeuvent activement les méthodes alternatives à l'expérimentation animale.

Cette technique repose sur l'observation des effets vasculaires que les produits provoquent sur la membrane chorioallantoïque (CAM). Dans un premier temps, les œufs fécondés sont mis en incubation dans une étuve à 37 °C pendant 10 jours.

Quatre œufs sont utilisés par produit testé. Avec une pince, une petite fenêtre est découpée dans la coquille pour exposer la membrane CAM. Celle-ci est d'abord humidifiée avec de l'eau physiologique, puis la fine membrane recouvrant la CAM est délicatement retirée pour une meilleure exposition.

À l'aide d'une micropipette réglable, 300 µL de chaque préparation liquide sont délicatement déposés sur la membrane CAM afin de la recouvrir entièrement (figure 2.7).

Après 22 secondes, la membrane est rincée avec de l'eau physiologique pour stopper l'action du produit.

Après les observations, l'embryon est euthanasié par injection de chlorure de potassium (KCl).



Découpe de la coquille
pour exposer la CAM.



Observation minutée des
altérations vasculaires

Figure 2.7. Test HET-CAM pour l'évaluation du pouvoir irritant des préparations topiques.

Chapitre 3

RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Pouvoir antimicrobien de l'huile *in vitro*

L'évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles constitue un axe majeur de la recherche, notamment face à l'émergence croissante de souches bactériennes multirésistantes.

Cette évaluation est classiquement réalisée *in vitro* via plusieurs méthodes, qui, bien que non standardisées internationalement, s'inspirent des protocoles utilisés pour les antibiotiques. La technique la plus courante est l'aromatogramme, équivalent de l'antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé (généralement Mueller-Hinton pour les bactéries).

L'étude des propriétés antimicrobiennes de l'huile aromatique a été réalisée sur des souches microbiennes de référence et des souches isolées cliniquement.

Les résultats de cette étude antimicrobienne sont rapportés dans le tableau 3.1., pour les deux techniques testées, l'aromatogramme la microatmosphère.

Tableau 3.1. Activité antibactérienne de l'huile aromatique.

Souches bactériennes	Aromatogramme			Microatmosphère		
	Volume huile					
	Diamètre de zone d'inhibition (DZI, mm)					
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC)	IT	IT	IT	31	57	66
<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC)	15	13	68	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	14	26	49	9	22	36

(-) Absence d'inhibition ; ATCC = American type culture collection ; IT = inhibition totale.

L'étude montre que l'activité antibactérienne de l'essence aromatique varie selon la technique utilisée, la souche bactérienne testée, et le volume appliqué.

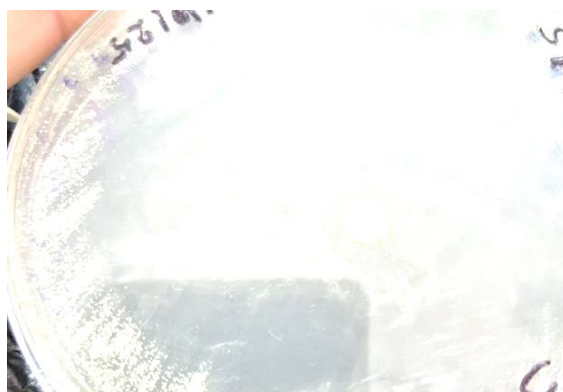
En technique d'aromatogramme, l'huile a montré une forte efficacité contre *S. epidermidis* (ATCC), avec une zone d'inhibition totale, quel que soit le volume utilisé (figure 3.1), suggérant une grande sensibilité de cette souche. Une activité modérée à forte est également observée contre *P. mirabilis*, avec une nette amélioration de l'effet inhibiteur lorsque le volume de l'huile végétale augmente, indiquant une relation dose-dépendante. Pour *S. typhimurium*, l'effet est irrégulier.

Par la méthode de microatmosphère, qui évalue la diffusion en phase vapeur, nous avons constaté que, contrairement à la technique précédente, une activité remarquable est également notée contre le *S. epidermidis*, avec une efficacité croissante en fonction du volume. En revanche, la bactérie Gram-négatif *S. typhimurium* demeure totalement insensible à l'action inhibitrice de la phase vapeur de l'huile. Un effet dose-dépendant a été aussi noté pour les deux souches Gram-négatif avec des diamètres des zones d'inhibition qui augmentent mm pour *P. mirabilis*.

Contrairement à l'aromatogramme classique (diffusion sur disque) où l'effet est dû à la fois à la diffusion dans le milieu gélosé et à la phase vapeur, la micro-atmosphère isole spécifiquement l'action de la fraction volatile. Cette méthode est cruciale pour les huiles riches en monoterpènes très volatils, car elle simule des conditions d'utilisation réelles où l'effet est recherché par voie aérienne ou dans des environnements confinés, comme la conservation alimentaire ou l'assainissement de l'air. Toutefois, l'absence de zone d'inhibition ne signifie pas une inefficacité totale, mais plutôt une faible activité de la phase vapeur à la concentration testée.

L'évaluation in vitro des huiles présente des défis méthodologiques uniques, principalement dus à leurs propriétés physico-chimiques, à savoir leur faible solubilité dans l'eau et leur haute volatilité. Dans les méthodes de diffusion sur disque (aromatogramme), la nature hydrophobe de l'huile aromatique peut limiter sa diffusion efficace dans le milieu gélosé, conduisant parfois à une sous-estimation de son pouvoir réel.

De plus, la volatilité des composés peut entraîner une perte de concentration pendant l'incubation, impactant la fiabilité des résultats quantitatifs. Pour pallier le problème de la solubilité dans les méthodes en milieu liquide (CMI/CMB), des agents émulsifiants ou dispersants sont utilisés, mais il est crucial de s'assurer que l'agent lui-même (comme le DMSO) n'ait aucune activité antimicrobienne propre ou qu'il n'interfère pas avec l'activité de l'HE, en incluant des témoins négatifs appropriés. Ces considérations sont essentielles pour garantir des résultats précis et interprétables.



S. epidermidis (ATCC) (Aromatogramme)



S. epidermidis ATCC (Microatmosphère)

Figure 3.1. Exemples de résultats de l'activité antimicrobienne *in vitro* en aromatogramme et microatmosphère.

L'huile aromatique est largement reconnue pour son puissant effet antibactérien, en particulier contre les bactéries à Gram positif. Cette activité a été démontrée à travers différentes méthodes *in vitro*, notamment par technique de diffusion en milieu gélosé.

Les résultats obtenus par cette méthode révèlent une forte sensibilité de *Staphylococcus epidermidis* à l'huile végétale, avec des zones d'inhibition significatives, souvent supérieures à celles observées avec certaines souches de bactéries à Gram négatif (Marin et al., 2012 ; Nedorostova et al., 2011 ; Santos et al., 2019).

Elle est aussi efficace dans l'inhibition des bactéries multi-résistantes telles que le *S. aureus* résistant à la méticilline (Nedorostova et al., 2011). L'efficacité de l'huile est principalement due à la synergie de ses composés phénoliques majoritaires. Ces monoterpènes phénoliques représentent souvent plus de 70-80% de la composition totale de l'huile. Ces composés lipophiles peuvent s'insérer dans la bicouche lipidique de la membrane cellulaire bactérienne et entraîner une augmentation de la perméabilité de la membrane, perturbant ainsi son intégrité et sa fonction (Xu et al., 2008 ; Kachur et Suntres, 2020 ; Hajibonabi et al., 2023).

En microatmosphère, des travaux scientifiques ont démontré que les vapeurs des huiles aromatiques possèdent une activité inhibitrice marquée sur la croissance de bactéries Gram-positives. Cette technique permet de mettre en évidence la capacité de l'huile à agir à distance, en créant un environnement toxique pour les bactéries.

Dans certaines études, les zones d'inhibition observées en phase vapeur sont comparables voire supérieures à celles en phase solide, suggérant une excellente volatilité et une capacité de pénétration des membranes bactériennes par les composés actifs présents dans l'air ambiant (Hashemi et al., 2022 ; Ács et al., 2018 ; Reyes-Jurado et al., 2020).

3.2. Etude du comportement rhéologique des préparations topiques

Un contrôle rhéologique précis permet aux formulateurs de garantir que le produit ne se séparera pas en phases (synérèse ou crémage) au fil du temps (stabilité), et qu'il présentera les caractéristiques d'étalement, d'adhérence et de pénétration attendues par le consommateur. La mesure de la viscosité apparente en fonction de la contrainte de cisaillement (ou vitesse de cisaillement) est l'outil principal pour cette caractérisation.

L'objectif de ce test est de caractériser le comportement rhéologique des préparations topiques qui sont en écoulement variable afin de déterminer leur modèle rhéologique.

Le tracé obtenu montre qu'à faible vitesse de cisaillement, la viscosité est très élevée ($> 10^4$ Pa.s) ce qui signifie que la crème est épaisse et stable. Le tracé montre que la viscosité des préparations topiques diminue progressivement avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement, typique d'un comportement non newtonien de type pseudo-plastique.

Autrement dit, la crème devient moins visqueuse lorsque la force de cisaillement augmente, ce qui est un comportement typique des formulations cosmétiques. Ce type de profil est recherché en dermocosmétique car il reflète une bonne applicabilité cutanée (Coussot et Grossiord, 2002).

3.3. Test de Draize pour la détermination de l'indice d'irritation primaire

Le Test de Draize était historiquement la méthode standard pour évaluer l'indice d'irritation primaire cutané des substances chimiques et des produits finis, y compris les préparations dermocosmétiques. Ce test *in vivo* visait à déterminer le potentiel d'une substance à provoquer des lésions ou des réactions inflammatoires sur la peau (irritation cutanée) ou les yeux (irritation oculaire).

L'évaluation de l'indice d'irritation primaire (IP) cutanée chez le lapin (Figure 3.2) a été réalisée afin d'estimer la tolérance dermique des préparations dermiques formulées à base d'huile végétale. Le test a été effectué sur deux lapins selon le protocole standardisé de scarification et d'application topique sur peau scarifiée et non scarifiée, avec une observation des signes d'érythème et d'œdème à différents temps (4 h, 24 h, 48 h et 72 h). Les résultats obtenus ont révélé un indice d'irritation primaire total quasi-nul.

Selon les critères d'interprétation, un indice inférieur ou égal à 0,5 correspond à un produit classé comme "non irritant" pour la peau. Ces résultats indiquent que les préparations phyto-pharmaceutiques sont bien tolérées par la peau, suggérant au passage une bonne innocuité cutanée des formulations à la concentration utilisée. Cette tolérance favorable appuie l'utilisation topique sécurisée des formes galéniques dermiques formulées à base d'huile en usage dermocosmétique ou thérapeutique local.



Figure 3.2. Résultats du test de Draize après 24h d'application.

3.4. Test d'irritation par technique HET-CAM

Le Test Hémorragie Chorioallantoïque de l'Œuf de Poule Embryonnée (HET-CAM, pour Hens Egg Test-Chorioallantoic Membrane) est une méthode alternative in vitro largement utilisée pour évaluer le potentiel irritant des ingrédients et des formulations cosmétiques et dermocosmétiques.

Le test HET-CAM utilise la membrane chorioallantoïque (CAM) d'un œuf de poule embryonnée (après 9 à 11 jours d'incubation). Cette membrane, richement vascularisée, constitue un modèle biologique pertinent car elle réagit aux irritants chimiques par des phénomènes vasculaires et inflammatoires similaires à ceux observés sur la conjonctive de l'œil.

Développé en réponse aux critiques éthiques et scientifiques du test de Draize oculaire sur lapin, le HET-CAM permet de classer les substances selon leur sévérité irritante (non irritant, légèrement irritant, irritant ou fortement irritant), sans recourir à l'expérimentation animale sur des espèces mammifères. Il est particulièrement pertinent pour les produits destinés à être utilisés près des yeux (mascaras, ombres à paupières, crèmes contour des yeux), mais peut également pour le cérat, indiquant l'absence totale de réaction vasculaire (aucune hémorragie, coagulation ou hyperémie) observée sur la membrane CAM.

Le témoin positif, a induit une notation supérieure à 10, traduisant une irritation sévère avec l'apparition des trois phénomènes vasculaires. L'eau physiologique, en tant que témoin négatif, a également obtenu une notation de 0, confirmant la validité du test. Nos résultats démontrent que les préparations topiques ne présentent de pouvoir irritant oculaire significatif selon le test HET-CAM. Elles sont donc classées comme non irritantes, ce qui appuie leur sécurité d'utilisation pour une application topique.

Les résultats obtenus dans le HET-CAM sont particulièrement encourageants compte tenu de la présence de composés phénoliques qui sont connus pour leurs effets antimicrobiens puissants mais parfois irritants à forte concentration (Lorenzi et al., 1995 ; Can Baser 2008). Leur incorporation dans une formulation dermique bien équilibrée, comprenant des excipients émoullients et apaisants (comme le beurre de karité, les huiles végétales ou la lanoline), pourrait expliquer la neutralisation de leur potentiel agressif et la bonne tolérance cutanée observée.

Conclusion

L'utilisation des huiles aromatiques dans les formulations cosmétiques connaît un essor remarquable, principalement alimenté par la tendance forte à la naturalité et le désir des consommateurs d'utiliser des produits perçus comme plus "sains" et "authentiques".

Les huiles aromatiques, extraits concentrés et volatils de plantes aromatiques, sont considérées comme des ingrédients de choix pour remplacer les parfums et certains actifs de synthèse. Leur origine végétale et leur mode d'extraction (souvent par distillation à la vapeur ou expression à froid, sans solvant chimique) s'alignent parfaitement avec les critères de la cosmétique biologique et naturelle.

Cet engouement ne se limite pas à l'odeur mais repose aussi sur la richesse de leur composition en molécules actives, qui confèrent aux produits finis un double bénéfice, à la fois sensoriel et fonctionnel. Ces huiles concentrent une grande variété de composés bioactifs leur conférant des vertus médicinales multiples.

Le pouvoir antibactérien a été évalué, *in vitro*, en utilisant deux techniques complémentaires. En aromatogramme, l'extrait aromatique exerce un effet inhibiteur variable selon la souche bactérienne testée et la dose utilisée. Cette huile a inhibée totalement le *Staphylococcus*.

Plusieurs préparations dermocosmétiques ont été préparées et analysées, d'un point de vue rhéologique, à travers le test d'écoulement à l'équilibre. Le tracé a montré que ces formulations obéissent à un comportement non newtonien.

En perspectives et pour garantir la sécurité d'emploi et l'efficacité de nos formulations cosmétiques naturelles, plusieurs analyses doivent encore être approfondies. Il est essentiel de réaliser des tests toxicologiques complets tels que l'étude de sensibilisation, la phototoxicité et cytotoxicité sur des modèles *in vitro* (comme les reconstructions épidermiques) et *in vivo*.

Références Bibliographiques

- 1) Aćimović, M., Šovljanski, O., Pezo, L., Travičić, V., Tomić, A., Zheljazkov, V. D., & Sofrenić, I. (2022). Variability in biological activities of *Satureja montana* subsp. *montana* and subsp. *variegata* based on different extraction methods. *Antibiotics*, 11(9), 1235.
- 2) Ács, K., Balázs, V. L., Kocsis, B., Bencsik, T., Böszörményi, A., & Horváth, G. (2018). Antibacterial activity evaluation of selected essential oils in liquid and vapor phase on respiratory tract pathogens. *BMC complementary and alternative medicine*, 18, 1-9.
- 3) Avenel-Audran, M. (2019). Allergie de contact aux huiles essentielles. *Revue Française d'Allergologie*, 59(3), 216-218.
- 4) Can Baser, K. H. (2008). Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Current Pharmaceutical Design*, 14(29), 3106-3119.
- 5) Couic-Marinier, F. (2018). Les huiles essentielles en pratique, administration et précautions d'emploi. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(580), 26-29.
- 6) Coussot, P., & Grossiord, J. L. (2002). Comprendre la rhéologie: de la circulation du sang à la prise du béton (p. 224). EDP SCIENCES.
- 7) de Silva, O., Rougier, A., & Dossou, K. G. (1992). The HET-CAM test: a study of the irritation potential of chemicals and formulations. *Alternatives to Laboratory Animals*, 20(3), 432-437.
- 8) Dobre, A. A., Gagi, V., & Petru, N. (2011). Antimicrobial activity of essential oils against food-borne bacteria evaluated by two preliminary methods. *Romanian Biotechnological Letters*, 16(6), 119-125.
- 9) Falsafi, T., Moradi, P., Mahboubi, M., Rahimi, E., Momtaz, H., & Hamed, B. (2015). Chemical composition and anti-*Helicobacter pylori* effect of *Satureja bachtiarica* Bunge essential oil. *Phytomedicine*, 22(1), 173-177.
- 10) Ghazanfari, G., Minaie, B., Yasa, N., Nakhai, L. A., Mohammadirad, A., Nikfar, S., & Abdollahi, M. (2006). Biochemical and histopathological evidences for beneficial effects of *Satureja Khuzestanica* Jamzad essential oil on the mouse model of inflammatory bowel diseases. *Toxicology mechanisms and methods*, 16(7), 365-372.

- 11)** Ghedira, K., & Goetz, P. (2019). Sarriette des montagnes. *Satureja montana* (Lamiaceae). *Phytothérapie*, 17(2), 101-105.
- 12)** Ghorani, V., Alavinezhad, A., Rajabi, O., Mohammadpour, A. H., & Boskabady, M. H. (2021). Safety and tolerability of carvacrol in healthy subjects: a phase I clinical study. *Drug and Chemical Toxicology*, 44(2), 177-189.
- 13)** Hajhashemi, V., Zolfaghari, B., & Yousefi, A. (2012). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Satureja hortensis* seed essential oil, hydroalcoholic and polyphenolic extracts in animal models. *Medical Principles and Practice*, 21(2), 178-182.
- 14)** Hajibonabi, A., Yekani, M., Sharifi, S., Nahad, J. S., Dizaj, S. M., & Memar, M. Y. (2023). Antimicrobial activity of nanoformulations of carvacrol and thymol: New trend and applications. *OpenNano*, 13, 100170.
- 15)** Hashemi, S. M. B., Jafarpour, D., & Gholamhosseinpour, A. (2022). Antimicrobial activity of *Carum copticum* and *Satureja khuzestanica* essential oils and acetic acid in vapor phase at different relative humidities and temperatures in peanuts. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(2), e16269.
- 16)** Ignatiuk, K., Dzikon, E., Hagdej, B., Slotwinska, W., Malm, M., Ossowski, M., & Kasela, M. (2023). Comparison of disc-diffusion and disc-volatilization assays for determining the antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* L. essential oil. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 36(3), 158-162.
- 17)** Jafari, F., Ghavidel, F., & Zarshenas, M. M. (2016). A critical overview on the pharmacological and clinical aspects of popular *Satureja* species. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 9(3), 118-127.
- 18)** Kachur, K., & Suntres, Z. (2020). The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(18), 3042-3053.
- 19)** Laurain-Mattar, D., Couic-Marinier, F., & Aribi-Zouioueche, L. (2023). L'huile essentielle de Sarriette des montagnes. *Actualités Pharmaceutiques*, 62(623), 53-55.
- 20)** Lorenzi, S., Placucci, F., Vincenzi, C., Bardazzi, F., & Tosti, A. (1995). Allergic contact dermatitis due to thymol. *Contact Dermatitis* (01051873), 33(6).
- 21)** Marin, M., Novaković, M., Tešević, V., Vučković, I., Milojević, N., Vuković-Gačić, B., & Marin, P. D. (2012). Antioxidative, antibacterial and antifungal activity of the essential oil of wild-growing *Satureja montana* L. from Dalmatia, Croatia. *Flavour and Fragrance Journal*, 27(3), 216-223.

- 22)** Mirjana, S., & Nada, B. (2004). Chemical composition and antimicrobial variability of *Satureja montana* L. essential oils produced during ontogenesis. *Journal of Essential Oil Research*, 16(4), 387-391.
- 23)** Nedorostova, L., Kloucek, P., Urbanova, K., Kokoska, L., Smid, J., Urban, J., & Stolcova, M. (2011). Antibacterial effect of essential oil vapours against different strains of *Staphylococcus aureus*, including MRSA. *Flavour and Fragrance Journal*, 26(6), 403-407.
- 24)** Orchard, A., & van Vuuren, S. (2017). Commercial essential oils as potential antimicrobials to treat skin diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017(1), 4517971.
- 25)** Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE). (2015). Test No. 404: Acute dermal irritation/corrosion (Lignes directrices pour les essais de produits chimiques, Section 4). OCDE.
- 26)** Pérez G, S., Zavala S, M., Arias G, L., & Ramos L, M. (2011). Anti-inflammatory activity of some essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 23(5), 38-44.
- 27)** Pirbalouti, A. G., & Dadfar, S. (2013). Chemical constituents and antibacterial activity of essential oil of *Satureja bachtiarica* (Lamiaceae). *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*, 70(5), 933–938.
- 28)** Reyes-Jurado, F., Navarro-Cruz, A. R., Ochoa-Velasco, C. E., Palou, E., López-Malo, A., & Ávila-Sosa, R. (2020). Essential oils in vapor phase as alternative antimicrobials: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(10), 1641-1650.
- 29)** Saad, N. Y., Muller, C. D., & Lobstein, A. (2013). Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal*, 28(5), 269-279.
- 30)** Saberi, A., Sepehrib, G., Esmaeili-Mahani, S., Rasoulilian, B., Sheibani, V., Esmaeilpour, K., & Abbasloo, E. (2013). *Satureja khuzestanica* extract elicits antinociceptive activity in several model of pain in rats. *Journal of Applied Sciences*, 13, 729–735.
- 31)** Santos, J. D., Coelho, E., Silva, R., Passos, C. P., Teixeira, P., Henriques, I., & Coimbra, M. A. (2019). Chemical composition and antimicrobial activity of *Satureja montana* byproducts essential oils. *Industrial Crops and Products*, 137, 541-548.
- 32)** Sarkic, A., & Stappen, I. (2018). Essential oils and their single compounds in cosmetics—A critical review. *Cosmetics*, 5(1), 11.

- 33)** Serrano, C., Matos, O., Teixeira, B., Ramos, C., Neng, N., Nogueira, J., & Marques, A. (2011). Antioxidant and antimicrobial activity of *Satureja montana* L. extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(9), 1554-1560.
- 34)** Shaaban, H. A. (2023). Potential use of essential oils and their individual components in cosmeceuticals: A review. *Annals of Biomedical Science and Engineering*, 7(1), 031-037.
- 35)** Sharifi-Rad, J., Sureda, A., Tenore, G. C., Daglia, M., Sharifi-Rad, M., Valussi, M., & Iriti, M. (2017). Biological activities of essential oils: From plant chemoecology to traditional healing systems. *Molecules*, 22(1), 70.
- 36)** Sharmeen, J. B., Mahomoodally, F. M., Zengin, G., & Maggi, F. (2021). Essential oils as natural sources of fragrance compounds for cosmetics and cosmeceuticals. *Molecules*, 26(3), 666.
- 37)** Soni, V., Bharti, D., Bharadwaj, M., Soni, V., Saxena, R., & Arora, C. (2023). Toxicity of essential oils. *Essential Oils: Sources, Production and Applications*, 253.
- 38)** Steiling, W., Bracher, M., Courtellemont, P., & De Silva, O. (1999). The HET-CAM, a useful *in vitro* assay for assessing the eye irritation properties of cosmetic formulations and ingredients. *Toxicology in vitro*, 13(2), 375-384.
- 39)** Suksawat, T., & Panichayupakaranant, P. (2022). Herbal Medicines for HIV Infection and AIDS. *Herbal Drugs for the Management of Infectious Diseases*, 307-340.
- 40)** Tahri, N., Belharti, K., Kaddar, K., Dikhaye, S., & Zizi, N. (2024). Eczéma photo-allergique à l'huile essentielle d'argan : Un rapport de cas. *Revue Française d'Allergologie*, 64, 103877.
- 41)** Tepe, B., & Cilkiz, M. (2016). A pharmacological and phytochemical overview on *Satureja*. *Pharmaceutical Biology*, 54(3), 375-412.
- 42)** Union européenne. (2003). Directive 2003/15/CE du Parlement européen et du Conseil du 27 février 2003 modifiant la directive 76/768/CEE du Conseil relative au rapprochement des législations des États membres concernant les produits cosmétiques. *Journal officiel de l'Union européenne*, L66, 26-35.
- 43)** Vostinaru, O., Heghes, S. C., & Filip, L. (2020). Safety profile of essential oils (Vol. 1). London, UK: IntechOpen.
- 44)** Xu, J., Zhou, F., Ji, B. P., Pei, R. S., & Xu, N. (2008). The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*. *Letters in Applied Microbiology*, 47(3), 174-179.

- 45)**Yamasaki, K., Nakano, M., Kawahata, T., Mori, H., Otake, T., Ueda, N., & Nakanishi, T. (1998). Anti-HIV-1 activity of herbs in Labiatae. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 21(8), 829-833.
- 46)**Zarshenas, M. M., & Krenn, L. (2015). Phytochemical and pharmacological aspects of *Salvia mirzayanii* Rech. f. & Esfand. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 20(1), 65-72.
- 47)**Zeidán-Chuliá, F., Keskin, M., Könönen, E., Uitto, V. J., Söderling, E., Moreira, J. C. F., & Gürsoy, U. K. (2015). Antibacterial and antigelatinolytic effects of *Satureja hortensis* L. essential oil on epithelial cells exposed to *Fusobacterium nucleatum*. *Journal of Medicinal Food*, 18(4), 503-506.

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
Option : Biotechnologie et pathologie moléculaire

THEME

**Préparation et contrôle de qualité d'une forme phytopharmaceutique
à base de distillats aromatiques**

Présenté par

AMRANDI Yousra & ZIOUANI Rania

Date de Soutenance

06/07/25

Devant le jury composé de :

Mme ROUAKI F.	Enseignant-chercheur	Présidente	Univ. Blida 1
Mme BENAZOUZ F.	Enseignant-chercheur	Examinatrice	Univ. Blida 1
M. BOKHATAM M.N.	Enseignant-chercheur	Promoteur	Univ. Blida 1