

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté des sciences Agronomiques Vétérinaires et Biologiques

Département de Biologie

MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : Biotechnologie Végétale

**ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DE DEUX
HUILES ESSENTIELLES, APPLICATION IN VIVO SUR LES
DIARRHEES BACTERIENNES**

Par

Mme. SIDI MOUSSA Nefissa Faiza

Devant le jury composé de :

Pr. F. SAIDI	Professeur, Université de Blida	Président
Dr. M. OUMOUNA	Maitre de conférences A, Université de Blida	Examineur
Dr. M.S. HAMAI	Maitre de conférences A, Université de Blida	Examineur
Pr. R. KAIDI	Professeur, Université de Blida	Promoteur
Mme. A KAIDI	Maitre assistante A, Université de Blida	Co-Promotrice

Blida, Mars 2012

RESUME

Notre expérimentation porte sur l'étude *in vitro* du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* Mill. (lavande) et *Salvia officinalis* L. (sauge) et une application *in vivo* sur les diarrhées bactériennes chez les souris.

Le rendement en huile essentielle est de 0,11% et 0,60% pour *Lavandula angustifolia* Mill. et *Salvia officinalis* L. respectivement.

L'aromatogramme réalisé par la technique de diffusion sur gélose en utilisant cinq souches bactériennes *Escherichia coli*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 a montré une activité antibactérienne importante pour les deux huiles essentielles. Les diamètres des zones d'inhibition varient entre 14,00 mm et 28,50 mm pour la lavande et entre 14,00 mm et 32,50 mm pour la sauge.

Les valeurs des CMI des deux huiles essentielles sont égales pour toutes les bactéries étudiées alors que les CMB sont plus ou moins différentes.

L'effet antidiarrhéique, des huiles essentielles étudiées, réalisé sur des souris expérimentalement infectées, a été signalé clairement après 24 heures du gavage. Le nombre d'*Escherichia coli* et de *Salmonella typhimurium* a diminué après l'administration du traitement.

L'observation au microscope photonique des coupes réalisées sur les trois parties de l'intestin grêle (duodénum, jéjunum et iléon) des différents lots étudiés, nous a permis de signaler l'installation de l'infection et un effet antidiarrhéique plus ou moins modéré.

Mots clé : *Lavandula angustifolia* Mill. ; *Salvia officinalis* L. ; huiles essentielles ; pouvoir antimicrobien ; diarrhées bactériennes.

SUMMARY

Our experiment focuses on the *in vitro* antimicrobial activity of essential oils of *Lavandula angustifolia* Mill. (lavender) and *Salvia officinalis* L. (sage) and *in vivo* application on bacterial diarrhea in mice.

The essential oil yield is 0.11% and 0.60% for *Lavandula angustifolia* Mill. and *Salvia officinalis* L. respectively.

The aromatogram realised with the agar diffusion technique using five bacterial strains *Escherichia coli*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 showed significant antibacterial activity for both oils. The diameters of inhibition zones ranged from 14.00 mm and 28.50 mm for lavender and between 14.00 mm and 32.50 mm for sage.

MIC values of the two essential oils are equal for all bacteria studied, while the MBC are more or less different.

The antidiarrheal effect of studied essential oils, performed on mice experimentally infected, was plainly reported after 24 hours of feeding. The number of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* decreased after treatment administration. Observation of sections under light microscope, made on the three parts of the small intestine (duodenum, jejunum and ileum) of the different groups studied, allowed us to report the installation of the infection and an antidiarrheal effect more or less moderate.

Key words : *Lavandula angustifolia* Mill. ; *Salvia officinalis* L. ; essential oils ; antimicrobial activity ; bacterial diarrhea.

المخلص

تجربتنا تركز على الدراسة المخبرية للقدرة المضادة للميكروبات للزيوت الأساسية المستخلصة من البكتيري عدد الفئران. *Lavandula angustifolia* Mill. (الخرامي) و *Salvia officinalis* L. (المريمية) و تطبيقها على الإسهال

أعطى مردود الزيوت الأساسية 0.11 % و 0.60 % ل *Salvia officinalis Lavandula angustifolia* على التوالي.

أظهر اختبار الفعالية ضد بكتيرية باستخدام خمسة سلالات بكتيرية *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 نشاط فعال مضاد للجراثيم بالنسبة لكلتا الزيتين. تراوحت أقطار تثبيط النمو بين 14.00 ملم و 28.50 مم للخرامي وبين 14,00 مم و 32.50 مم للمريمية. كل قيم التركيز الأدنى المثبط للزيتين الأساسيتين متساوية لجميع البكتيريا التي تمت دراستها ، في حين اختلفت قيم التركيز الأدنى للقاتل للبكتيريا .

التأثير مضاد الإسهال، للزيوت الأساسية التي تمت دراستها، و التي أجريت على فئران مصابة تجريبيا، كان واضحا بعد 24 ساعة من إعطاء الدواء. انخفض عدد *Salmonella typhimurium* و *Escherichia coli* بعد العلاج.

الملاحظة تحت المجهر الضوئ للمقاطع المجرات على ثلاثة أجزاء من الأمعاء الدقيقة الاثنى عشر، الصائم والفانفي لمختلف المجموعات التي درست، مكننا من تأكيد الإصابة و تأثير مضاد الإسهال نوعا ما معتبر .

الكلمات المفتاحية : الخرامة، المريمية، الزيوت الأساسية، القدرة المضادة للميكروبات، الإسهال البكتيري.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier, en premier lieu, Dieu de m'avoir donné la santé, le courage et la patience pour réaliser ce travail.

Je remercie Monsieur KAIDI R. et Madame KAIDI A. pour m'avoir proposé ce sujet et pour avoir encadré et dirigé mon travail avec patience. Qu'ils trouvent ici le témoignage de toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude.

Mes remerciements s'adressent aussi aux membres de jury :

- Madame SAIDI F. pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider la soutenance de ce mémoire.
- Monsieur OUMOUNA M. et Monsieur HAMAIDI M.S. pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Merci à ceux qui ont généreusement partagé leur temps et leur bienveillance pour contribuer à la réalisation du fonds et de la forme de cette étude. Je tiens à remercier Madame CHAOUIA C. et l'ensemble de l'équipe de la station expérimentale de la faculté des sciences Agro-vétérinaires, les ingénieurs des laboratoires pédagogique et de recherche du département de biologie et vétérinaire, ainsi que Monsieur RACHID du laboratoire d'anatomie pathologique de l'ENV et la responsable du laboratoire Madame DERDOUR S.

Mes plus sincères remerciements s'adressent à mes parents, à la mémoire de mon père, que Dieu repose son âme en paix, et ma mère, que Dieu protège, pour m'avoir toujours soutenue aveuglément même quand les autres n'y croyaient pas.

Je remercie vivement mon époux, qu'il trouve ici l'expression de mon affection pour son soutien et sa compréhension.

Enfin, un simple merci ne serait pas suffisant pour traduire ce que je dois à mes proches. Merci à tous et à toutes.

TABLE DES MATIERES

RESUME	
SUMMARY	
الملخص	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES	
INTRODUCTION	12
SYNTHESE BIBLIOGRQPHIQUE	
1. Les huiles essentielles	14
2. Description générale des plantes étudiées	22
3. Les diarrhées infectieuses	35
MATERIELS ET METHODES	
2.1 Matériel	46
2.2 Méthodes	48
2.2.1. Identification botanique des plantes étudiées.....	48
2.2.2 Détermination du taux d'humidité.....	49
2.2.3 Extraction des huiles essentielles.....	49
2.2.4 Calcul du rendement en HE.....	51
2.2.5 Contrôle analytique des HE.....	51
2.2.6 Etude de l'activité antimicrobienne des HE <i>in vitro</i>	51
2.2.7 Etude de l'activité antimicrobienne des HE <i>in vivo</i> : application sur les diarrhées infectieuses	55

RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 Résultats de l'identification botanique des plantes étudiées.....	71
3.2 Résultats de la détermination du taux d'humidité des plantes.....	83
3.3 Rendement en huile essentielle.....	83
3.4 Résultats du contrôle analytique des HE.....	84
3.5 Résultats de l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentiels <i>in vitro</i>	85
3.6 Résultats de l'étude de l'activité antimicrobienne des HE <i>in vivo</i> : application sur les diarrhées infectieuses.....	90
CONCLUSION	105
REFERENCES	
APPENDICES	

LISTES DES TABLEAUX ET FIGURES

Tableau 2.1 : Détails de la récolte des plantes étudiées	47
Tableau 2.2 : Les microorganismes utilisés	47
Tableau 3.1: Taux d'humidité des plantes étudiées	83
Tableau 3.3 : Propriétés organoleptiques des huiles essentielles extraites	85
Tableau 3.4: Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des huiles essentielles étudiées	89
Tableau 3.5 : Etude de la flore intestinale des souris	90
Tableau 3.6 : Etat général des souris après gavage	91
Tableau 3.7 : Incidence de la diarrhée	93
Figure 1.1 : Structure chimiques de quelques composés de plantes	16
Figure 1.2 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne	18
Figure 1.3 : Vue générale de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	24
Figure 1.4 : Vue générale de <i>Salvia officinalis</i> L.	30
Figure 1.5 : Structure de la muqueuse intestinale	36
Figure 1.6 : Cycle parasitaire de <i>Cryptosporidium sp.</i>	43
Figure 2.1 : Montage du dispositif de Clevenger	50
Figure 2.2 : Souris utilisées	55
Figure 2.3 : Mort instantanée des souris ayant reçues des doses en HE équivalentes aux CMI	56
Figure 2.4 : Inoculation des souris par voie orale	52
Figure 2.5 : Sacrifice des souris et fixation de l'appareil digestif	62
Figure 2.6: Protocole général des coupes histologiques	66
Figure 3.1 : Tige de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	63
Figure 3.2 : Feuille de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	64
Figure 3.3 : Calice de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	68

Figure 3.4 : Corolle de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	67
Figure 3.5 : Ovaire de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	71
Figure 3.6 : Stigmate bilobé de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	72
Figure 3.7 : L'androcée de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	72
Figure 3.8 : La graine de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	72
Figure 3.9 : La tige <i>Salvia officinalis</i> L.	73
Figure 3.10 : Feuille de <i>Salvia officinalis</i> L.	73
Figure 3.11 : Calice de <i>Salvia officinalis</i> L.	73
Figure 3.12 : Corolle de <i>Salvia officinalis</i> L.	73
Figure 3.13 : Anneau de poils de <i>Salvia officinalis</i> L.	74
Figure 3.14 : Carpelle de <i>Salvia officinalis</i> L.	74
Figure 3.15 : L'ovaire de <i>Salvia officinalis</i> L.	75
Figure 3.16 : Stigmate bifurqué de <i>Salvia officinalis</i> L.	75
Figure 3.17 : Androcée de <i>Salvia officinalis</i> L.	75
Figure 3.18 : Etamines de <i>Salvia officinalis</i> L.	76
Figure 3.19 : Le fruit de <i>Salvia officinalis</i> L.	76
Figure 3.20: coupe transversale de la tige de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	76
Figure 3.21: coupe transversale de la tige de <i>Salvia officinalis</i> L.	76
Figure 3.22 : Poils tecteurs de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	76
Figure 3.23 : Poils sécréteurs de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	77
Figure 3.24 : Poils tecteurs de <i>Salvia officinalis</i> L.	79
Figure 3.25 : Poils sécréteurs de <i>Salvia officinalis</i> L.	80
Figure 3.26 : Rendement en huile essentielle des plantes étudiées	81
Figure 3.27: Diamètres des zones d'inhibition des huiles essentielles étudiées	86
Figure 3.28: L'aromatogramme de l'huile essentielle de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	87
Figure 3. 29: L'aromatogramme de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.	87
Figure 3. 30: Aspect des diarrhées apparues après administration d' <i>Escherichia coli</i> .	92
Figure 3. 31: Evolution du nombre d' <i>Escherichia coli</i> (A) et <i>Salmonella typhimurium</i> (B) seules et après administration des HE testées.	94
Figure 3.32 : Coupes longitudinales de l'intestin du lot témoin	99

Figure 3.33 : Coupes longitudinales de l'intestin des animaux sains traités	100
Figure 3.34 : Coupes longitudinales de l'intestin des animaux malades	101
Figure 3.35 : Coupes longitudinales de l'intestin des animaux malades traités	102

INTRODUCTION

Depuis des milliers d'années, l'homme a su exploiter les richesses naturelles qui l'entouraient pour se nourrir et se soigner. C'est en consommant les baies, les feuilles et les racines des végétaux qui poussaient autour de lui et en observant les effets qu'ils avaient sur le bétail et sur lui-même qu'il a progressivement identifié les propriétés curatives des plantes. Sur chaque continent se sont ainsi développées différentes traditions, basées sur un savoir empirique qui s'est transmis et enrichi au fil des générations [1].

Les plantes représentent la principale source de médicaments pour une grande partie de la population mondiale, en particulier dans les pays en voie de développement, malgré les progrès de la chimie pharmaceutique au cours du XX^e siècle, qui ont permis la synthèse d'une grande variété de médicaments et le traitement de maladies auparavant incurables et / ou mortelles telles que : les diarrhées infectieuses [2].

Cependant, et suite à l'utilisation anarchique sans contrôle médical, ces médicaments ne sont plus aussi efficaces qu'avant. Ainsi, l'émergence de nouvelles maladies infectieuses et la multirésistance des agents pathogènes tournent à nouveau l'intérêt des industries pharmaceutiques, les médecins et les chercheurs vers les ressources naturelles pour isoler des matières premières irremplaçables parmi lesquelles les huiles essentielles occupent une place de choix.

L'Algérie, de part sa position géographique, jouit de plusieurs facteurs de pédogenèse et de grandes variations climatiques auxquels s'ajoutent les ressources hydriques, tous favorables au développement des cultures intensives des plantes aromatiques et médicinales. Cependant, rares sont les cultures des plantes à parfum qui ont fait l'objet d'études scientifiques très approfondies [3].

Ceci nous a amené à nous pencher sur l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de deux plantes médicinales *Lavandula angustifolia* Mill. et *Salvia officinalis* L. ainsi que leur effet sur les diarrhées d'origine bactériennes.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Les huiles essentielles

1.1 Définition

Le terme huile essentielle dérive du nom inventé au 16^{ème} siècle par le médecin Suisse, Paracelsus von Hohenhein [4]. Une huile essentielle est la fraction odorante volatile extraite des végétaux. C'est le parfum concrétisé de la plante, un véritable concentré [5]. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal [6].

1.2 Historique

L'usage des huiles essentielles, tant en parfumerie qu'en cosmétique, remonte à l'aube des plus grandes civilisations, l'Égypte pharaonique en étant un exemple. En thérapeutique, Hippocrate les a utilisées déjà contre la peste qui sévissait à Athènes [7].

1.3 Rôles dans les plantes

Les HE n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles peuvent être stockées surtout dans les fleurs mais aussi dans les feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits et graines. La synthèse et l'accumulation des HE sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellules sécrétrices, poches sécrétrices, poils sécréteurs et canaux sécréteurs [8].

La présence d'HE dans les végétaux est d'une importance capitale pour les plantes elle-même, car elles sont une protection face aux maladies et aux parasites. Elle agit aussi au niveau de leur reproduction. En effet, certaines plantes attirent à elles des insectes qui, friands de leur pollen, vont le transporter jusqu'à leur partenaire et permettre ainsi de perpétuer l'espèce végétale [9].

1.4 Extraction des HE

La distillation est la technique la plus utilisée pour l'extraction des HE. D'autres méthodes peuvent aussi être envisagées [6], [9],[10] ,telles que:

- Enfleurage (ou extraction par les corps gras)
- Extraction mécanique (ou extraction par pression à froid).

1.5 Propriétés physiques

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques [8], [11], [12] :

- Elles sont généralement liquides à la température ordinaire ;
- Elles sont volatiles et entraînaibles à la vapeur d'eau ;
- Elles sont généralement incolores ou jaune pâle quelques fois colorées ;
- Leur densité est généralement inférieure à 1 ;
- Elles sont peu solubles dans l'eau mais solubles dans la plupart des solvants organiques et dans les huiles fixes ;
- Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée ;
- Très altérable, elles s'oxydent avec la lumière et au contact de l'air.

1.6 Composition chimique

Chaque huile essentielle est très complexe ; elle est constituée par un mélange de composants qualitativement définis pour une même espèce et quantitativement variables suivant le lieu de développement de la plante [7].

Ces constituants appartiennent à deux grands groupes chimiques : les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane [7], [8], [10].

1.6.1 Les composés terpéniques

Dans le cas des huiles essentielles, seuls les terpènes les plus volatils sont rencontrés, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée: mono- et sesquiterpènes. Les carbures peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques et porteurs de groupements fonctionnels variés à savoir : alcools (géraniol, menthol, bornéol), cétones (camphres, thuyones), esters (acétate d'isobornyl) et les phénols (thymol) [8], [11] (Figure 1.1).

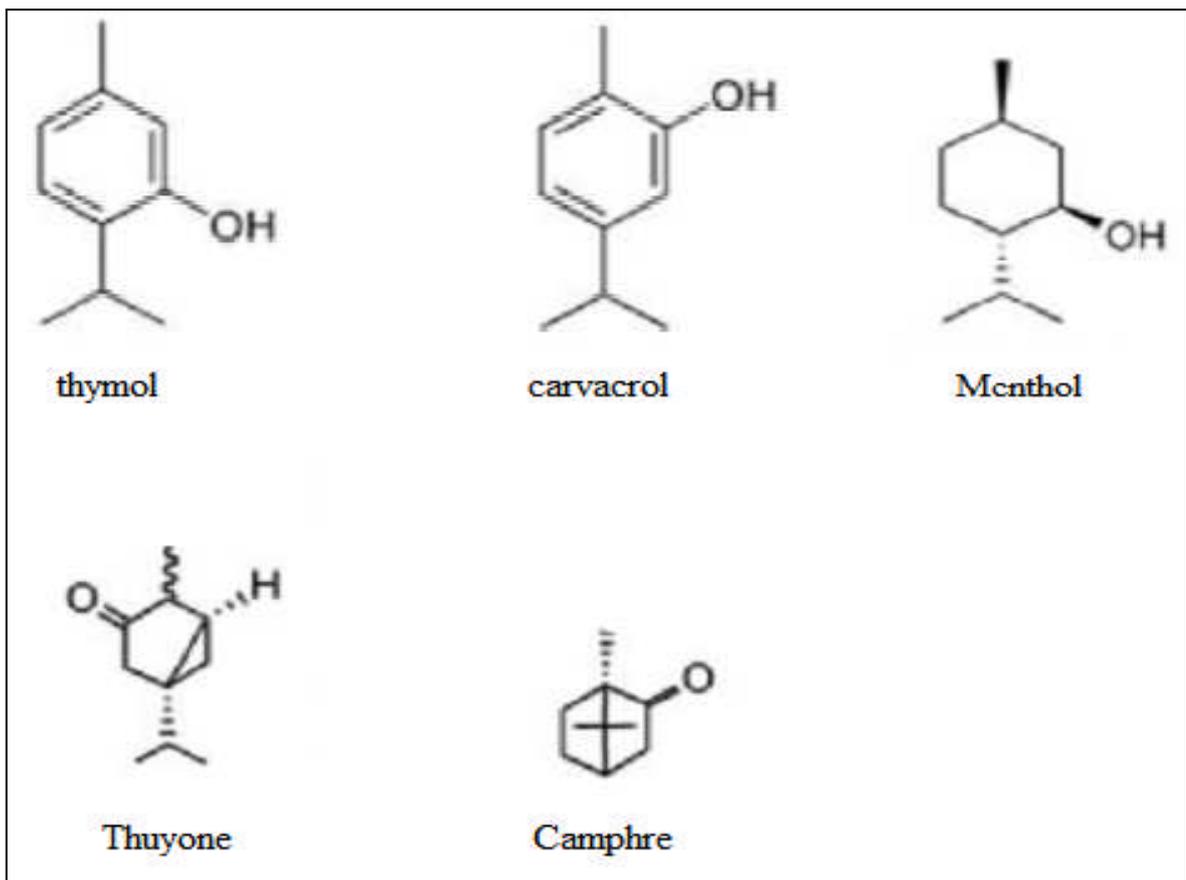


Figure 1.1 : Structure chimiques de quelques composés de plantes [12]

1.6.2 Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Ils sont moins répandus que les précédents, ce sont souvent des allylphénols ou quelques fois des aldéhydes. La vanilline est assez fréquente parmi les composés aromatiques [10], [12].

1.7 Mode de conservation des HE

Par nature, l'HE est très volatile et très fragile. Elle doit être conservée à l'abri de la lumière, dans un flacon opaque, de l'air car elle s'oxyde facilement, et dans un endroit frais. En général, le délai de conservation peut aller de 6 mois à 3 ans, selon la nature de l'HE et la qualité de la conservation [9].

1.8 Propriété antimicrobienne des huiles essentielles

La plus spécifique des propriétés des huiles essentielles est celle qui concerne l'amplitude du spectre antimicrobien vis-à-vis des virus, bactéries, champignons, y compris leurs spores, les protozoaires, les mites et les insectes. De plus les huiles essentielles sont actives sur des germes pathogènes résistants aux antibiotiques tels que le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA), le *Streptococcus pneumoniae* résistant à la pénicilline, l'*Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine et le virus de l'herpès résistant à l'acyclovir. Cette activité est due au mécanisme original des huiles essentielles. Celles-ci sont sélectivement absorbées et perturbent les fonctions vitales des classes inférieures d'organismes, et non pas les organismes évolués comme les mammifères [13].

1.8.1 Mode d'action

En considérant la diversité des composants chimiques constituant les huiles essentielles, leur activité antimicrobienne n'est probablement pas due à un seul mécanisme bien déterminé mais à plusieurs cibles dans la cellule [14] (Figure 1.2).

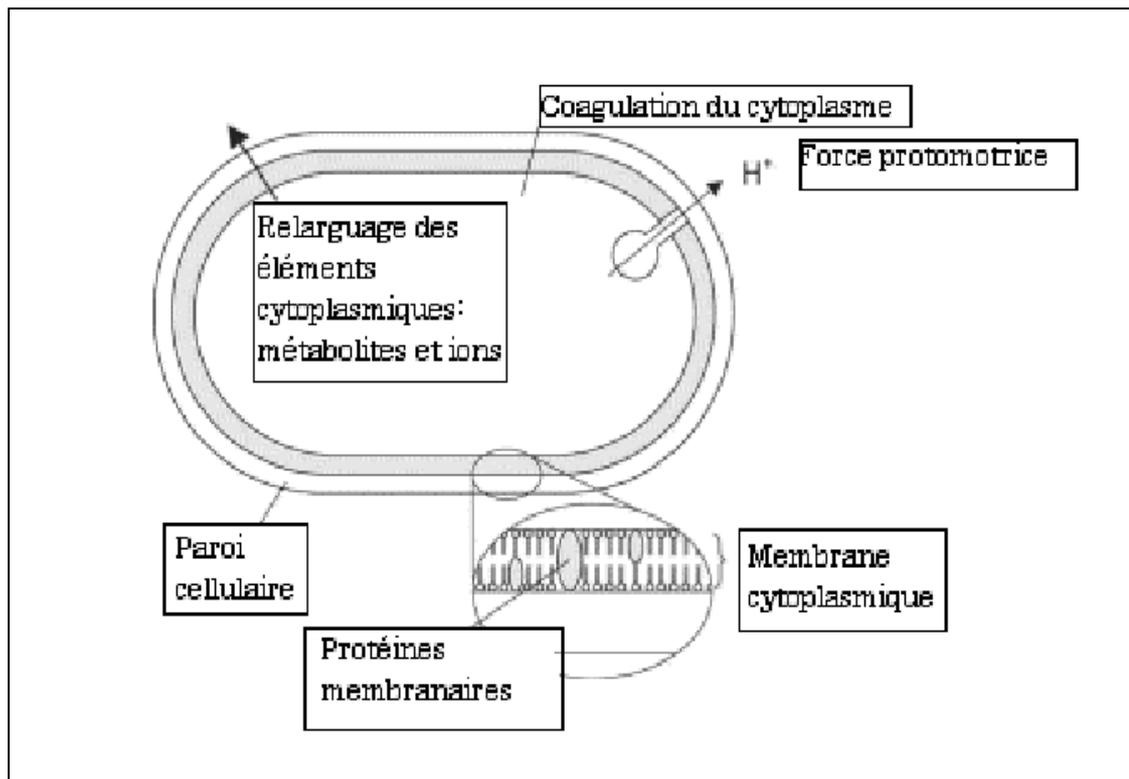


Figure 1.2 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne [14]

L'huile essentielle, lorsqu'elle manifeste un pouvoir bactéricide, agit selon deux modalités [15]:

- Une activité bactéricide de type direct (de contact) lorsqu'elle est mise en contact avec le germe à des taux supérieurs à sa CMI ;
- Une activité bactéricide sans action directe sur le germe, qualifiée d'activité de terrain.

Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude qui puisse nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des HE. Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des HE ait son propre mécanisme d'action [16].

Quelques investigations sur le mécanisme d'action antimicrobienne des HE ou de leurs constituants ont été menées par différents auteurs :

- Kurita *et al.*, [17] pensaient que l'activité inhibitrice de ces composés serait due à leur affinité avec les groupements SH impliqués dans la division cellulaire.
- Cox *et al.*, [18] ont démontré que l'huile essentielle de l'arbre à thé inhibe ou diminue la croissance d'*Escherichia coli*, inhibe la respiration glucose- dépendante et stimule la fuite de K⁺ intracellulaire.
- Carson *et al.*, [19] suggèrent que l'huile essentielle de l'arbre à thé provoque des déformations de la membrane cytoplasmique de *Staphylococcus aureus* ainsi une prédisposition à la lyse cellulaire.

1.9 Posologie et voie d'administration

En aromathérapie, il existe de nombreuses voies d'administration des huiles essentielles, le but recherché étant toujours le même : obtenir un maximum d'efficacité pour un minimum d'effets secondaires [5].

Les principales voies d'utilisation :

En usage externe : excepté les possibles réactions d'intolérances cutanées, l'usage externe est une méthode très pratique, car aisément applicable par tous. Cela peut aller de la friction au bain, en passant par l'inhalation et les compresses[9].

En usage interne : les huiles essentielles peuvent être utilisées par voie orale, rectale ou vaginale [5], [9], [20], [21].

1.10 Domaines d'utilisation des huiles essentielles

1.10.1 En médecine : l'aromathérapie

Le néologisme « aromathérapie » est dû à R.M. Gattefossé, qui le créa dans les années 1920 [22]. L'aromathérapie ce terme savant est composé de deux racines grecques : « aroma » signifiant parfum ou odeur et « thérapia » : soins [21], [9]. Il s'agit donc d'une forme médicale qui utilise les principes odoriférants ou huiles

essentielles comme moyens thérapeutiques [22]. L'aromathérapie est une branche spécialisée de la phytothérapie (phyto : plante) : elle n'utilise, quant à elle, qu'une partie de la plante ce qui lui confère un champ d'action un peu moins large, mais en certains domaines lui procure une action plus intense que la phytothérapie [22].

Les huiles essentielles plaisent, soignent et guérissent d'où leurs utilisation pour traiter une foule de maladies depuis des siècles. La proportion des divers éléments composant chaque huile essentielle diffère beaucoup. Les propriétés de l'huile essentielle se distinguent donc selon l'importance de tel ou tel élément présent dans sa composition. Cependant, certaines propriétés se retrouvent fréquemment pour un grand nombre d'huiles essentielles telles que : les propriétés antiseptiques et anti-infectieuses, anti-inflammatoire, antioxydantes et antiradicalaires [6],[9], [10], [11], [21] .

1.10.2 En industrie

1.10.2.1 Agro-alimentaire

Douées de propriétés antimicrobiennes et antioxydante, des tonnes d'huiles essentielles sont utilisés par l'industrie alimentaire afin d'éviter la détérioration des aliments [14], [23]. A cet effet, plusieurs produits à base d'huile essentielle sont commercialisés. En alimentation animale, les effets de synergie des huiles essentielles sur la production d'enzymes endogènes et sur la flore microbienne sont utilisés pour augmenter les performances des animaux [24].

1.10.2.2 Cosmétique

Un grand nombre d'HE est utilisé dans l'élaboration de la majorité des parfums et produits de toilette. Ces essences servent à préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique tout en leur assurant une odeur agréable. De même, certains constituants chimiques isolés à partir d'HE peuvent faire l'objet de transformations chimiques donnant naissance à de nouvelles odeurs; ainsi, à

partir de l'eugénol tiré de l'essence de girofle, on aboutira à l'isogénol qui a une odeur d'œillet [25].

1.11 Toxicité et précautions d'emploi

L'huile essentielle est un produit hautement concentré ; sa concentration conduit obligatoirement au respect de la dose et de la fréquence ainsi que de la durée des prises et des traitements [21]. A cet effet, mal employées, les huiles essentielles peuvent être responsables d'effets secondaires. Il est impossible de donner un seuil toxique à ne pas dépasser : celui-ci dépend de chaque HE, mais il peut être très rapidement atteint [5].

Nous devons toujours poser des questions sur les huiles essentielles que nous souhaitons utiliser [9], à savoir :

- Leur toxicité envers certains organes (notamment le foie et le système nerveux) ;
- Les réactions allergiques possibles ;
- Leur effet photosensibilisant éventuel, telle que des réactions inflammatoires ou des pigmentations à la suite d'une exposition au soleil ;
- Leur possible contre indications dans certains états ou pour certaines pathologies (grossesses, hypertension, diabète et cancer).

2. Description générale des plantes étudiées

2.1 La famille des lamiacées

Les labiées possèdent quelques caractères leur imprimant un faciès si caractéristique que la famille a été une des premières distinguées par les botanistes [26]. C'est une famille très importante dans la flore de l'Algérie [27].

Ce sont des arbustes, sous-arbrisseaux ou plantes herbacées annuelles ou vivaces à tiges habituellement dressées, quadrangulaires devenant ronde après lignification. Feuilles en général simples, opposées-décussées dépourvues de stipules. Les fleurs sont hermaphrodites, zygomorphes réunies en cymes axillaires contractées en glomérules [26], [28]. Le fruit est un tétrakène formé de 4 nucules. La graine est pratiquement dépourvue d'albumen et referme le plus souvent un embryon droit [29].

La famille qui possède 260 genres et 7000 espèces environ, possède une aire de dispersion extrêmement étendue, mais avec une prépondérance pour les régions méditerranéennes [30]. Plusieurs espèces de cette famille sont utilisées comme herbes médicinales et comme sources d'essence dont l'odeur se dégage par simple contact tel que : la lavande et la sauge.

2.2 *Lavandula angustifolia* Mill.

2.2.1 Origine du nom

Le nom *Lavandula* dérive du latin lavare (=laver), en effet, les Romains l'utilisaient pour leurs ablutions [6].

2.2.2 Synonymes botaniques

Lavandula angustifolia Mill. est encore nommée : *Lavandula officinalis* Chaix ex-Villars = *Lavandula vera* DC. [31].

2.2.3 Noms vernaculaires

Lavandula angustifolia Mill. possède plusieurs autres appellations à travers le monde : [32], [33]

- Français : Espidet, garde-robe, nard d'Italie, lavande commune, lavande vraie, lavande femelle, faux nard.
- Anglais : English lavender
- Arabe : Khezzama.

2.2.4 Systématique

Selon Quezel et Santa [27], la classification de *Lavandula angustifolia* Mill. est la suivante :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous- embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : *Lamiale*

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Lavandula*

Espèce : *Lavandula angustifolia* Mill.

2.2.5 Description générale

Sous-arbrisseau vivace par une racine pivotante à rameaux dressés, lignifiés, dépourvus de feuilles à la base, desquels partent de nombreuses pousses herbacées, pouvant mesurer jusqu'à 1cm de hauteur, de section quadrangulaire, grisâtres très pubescentes [34] (Figure 1.3).

Feuilles : opposées, lancéolées, oblongues ou linéaires, 2-5cm de long, d'abord tomenteuses blanches, puis face supérieure glabrescente et verte, roulées sur les bords [35].



Figure 1.3 : Vue générale de *Lavandula angustifolia* Mill. (Originale 2010)

Les fleurs sont situées sur un long pédoncule en verticilles denses, et formant un faux épi à l'aisselle de larges bractées brunâtres [36]. Elles sont petites de 5 à 8 mm de long, sessiles, comportent un calice tubuleux, bleuté, marqué de nervures longitudinales et terminé par 5 dents, une corolle bleue violacée bilabée, la lèvre supérieure ayant 2 lobes, l'inférieure 3. Les étamines sont au nombre de 4, incluses, les inférieures plus longues. Ovaire quadrilobé ; style très court, à peu près de la longueur du calice, terminé par un stigmate divisé en 2 lobes allongés rapprochés l'un de l'autre [37], [38].

Le fruit est formé de 4 akènes ovales, allongés, marron foncé renfermant une graine noirâtre [39].

2.2.6 Culture et habitat

La lavande pousse dans les endroits dégagés et ensoleillés, mais tolère la mi-ombre. Elle se développe mal sous les climats froids et humides. Elle préfère les terres bien drainées sans être nécessairement riches [40]. Elle peut être cultivée

par semis au début du printemps ou par bouturage soit en avril ou en septembre [37], [41], [42], [43].

Elle peut être cultivée industriellement, dans les régions chaudes, par semi en planches et repiquage en lignes distantes de 50cm [44].

2.2.7 Répartition géographique

2.2.7.1 En Algérie

Particulièrement cultivée dans la wilaya de Tlemcen, la lavande vraie se cultive partout comme plante d'ornement et pour son essence [35].

2.2.7.2 Dans le monde

La lavande n'est trouvée à l'état sauvage que dans la région méditerranéenne, mais on la trouve cultivée ailleurs même à l'état subspontané [45].

2.2.8 Parties utilisées

En thérapeutique, la fleur séchée sans pédoncule est la plus utilisée. L'essence se prépare à partir des sommités fleuries, quelquefois munies de leurs feuilles [46].

2.2.9 Récolte et conservation

Les fleurs sont récoltées avant qu'elles ne soient complètement ouvertes et les inflorescences juste avant la floraison [47]. La période générale de récolte s'étale de juin à septembre, mais elle est variable suivant l'altitude et les conditions climatiques [38], [43]. La lavande est séchée en suspendant des bouquets dans un endroit sec aéré et sombre puis conservée dans un sac en papier [40], [42].

2.2.10 Composition chimique

2.2.10.1 Huile essentielle

Généralement, le rendement en huiles essentielle de la lavande est de 0,1 à 1% à partir des fleurs fraîches et entre 1 à 3% à partir des fleurs sèches. La composition de l'huile essentielle varie selon de nombreux facteurs dont les facteurs de l'environnement [8]. En générale, et selon plusieurs études pharmacologiques [8], [11], [35], [37], [44], l'huile essentielle de la lavande vraie renferme surtout :

- Des alcools terpéniques dont le principal est le linalol (25 à 38%) accompagné de géraniol et de bornéol ;
- Des esters principalement l'acétate de linalyle (25 à 45%) ;
- D'autres composants en moindre quantités tel que : cinéol, limonène, camphre, α -terpinéol.

2.2.10.2 Autres constituants

D'autres composants chimiques ont été isolés à partir de la lavande tels que : tanins (>12%), flavonoïdes, hydroxycoumarines et des dérivés de l'acide caféique dont l'acide rosmarinique [35], [45], [48].

2.2.11 Utilisation

2.2.11.1 Parfumerie

La plus grande consommation de l'essence de lavande se fait au niveau des industries cosmétologiques. La lavande est un excellent additif parfumé, l'une des principales composantes de l'eau de cologne et les divers produits cosmétiques ainsi que dans la parfumerie industrielle notamment les détergents, produits d'entretien et désodorisants, dans lesquels le « parfumage » rend le produit plus agréable, mais aussi masque les odeurs parfois désagréables des composants actifs [43], [49].

2.2.11.2 Culinaire

La lavande n'a vraiment aucune vertu culinaire et son parfum contrarie celui des herbes aromatiques [50]. Les fleurs et les feuilles fraîches ou séchées servent à parfumer les sucres, les confitures, les glaces et les fromages frais. Les fleurs peuvent aussi être confites pour la décoration des gâteaux [40], [42], [51].

2.2.11.3 Artisanale

La lavande sert à confectionner des pots pourris ou des sachets odorants qui ont en outre la propriété de chasser les mites [42].

2.2.11.4 Thérapeutique

- Humaine

La lavande a de nombreuses propriétés médicinales ; notamment,

- Activité sédatrice

La principale activité de la lavande est de calmer, c'est un relaxant, un antispasmodique tout en étant un tonique nerveux. Elle sera bonne pour les gens irrités ou stressés, pour les migraineux, les insomniaques et ceux qui ont des palpitations nerveuses. Elle contribue à faire passer la fatigue. Et son côté relaxant en fait une plante bonne pour la digestion pour peu que la mauvaise digestion soit due à des tensions [52], [53]. D'après les études *in vivo* cette propriété est due au linalyl et l'acétate de linalyl [54].

- Activité antimicrobienne

La lavande, par son HE, exerce un effet antimicrobien modéré. Elle est active sur *E. faecalis*, *Bacillus sp.* Etc. les propriétés fongicides insecticides et acaricides sont aussi connues [35], [55]. La lavande est plutôt spécialisée dans les voies respiratoires (trachéites, toux) mais aussi génito-urinaires et intestinales, le gros intestin notamment [54].

➤ Activité cicatrisante

La lavande possède la propriété de réparer les tissus après un traumatisme, lors de plaies [56]. Elle peut être posée directement sur la peau d'un adulte, même sur une plaie ouverte [57].

➤ Activité anti-inflammatoire

En friction, *Lavandula angustifolia* est anti-inflammatoire, apte à soulager les douleurs rhumatismales ou contusions diverses [54].

➤ Autres propriétés

Cette espèce est encore protectrice vis-à-vis de la peroxydation lipidique, hypoglycémiant, cholérétique, cholagogue, diurétique, contre les piqûres d'insecte [35], [48], [58], [59].

• Vétérinaire

En médecine vétérinaire, la lavande est utilisée comme antiseptique et cicatrisant: Bronchophytol, et comme diurétique et cholérétique : Aromaphytol [60].

2.2.12 Toxicité et effets secondaires

Il n'y a pas de toxicité avec l'HE de la lavande officinale, elle fait même partie des rares autorisées pendant la grossesse, y compris durant les trois premiers mois. Cependant, à fortes doses elle est stupéfiante et soporifique. Dans de rares cas, elle peut occasionner des allergies [5], [22], [46], [61], [62], [63].

2.3 *Salvia officinalis* L.

2.3.1 Origine du nom

« Qui a de la sauge dans son jardin n'a pas besoin de médecin » disait déjà un dicton de l'antiquité. La sauge en effet, était considérée comme la plante de toutes les vertus, comme en témoigne d'ailleurs son nom botanique *Salvia* du latin *salvare*, qui signifie sauver [64].

2.3.2 Dénomination vernaculaire

Plusieurs noms sont utilisés pour désigner l'espèce *Salvia officinalis* L., à savoir : [32], [46], [65]

Français : grande sauge, sauge officinale, sauge commune, herbe sacrée, thé de France, thé de grèce, thé d'Europe ;

Arabe : kheyet ledjrah, souaq en nebi, salma ;

Anglais : common sage, garden sage ;

Targui ou berbère : agourim imeksaouen, tazzourt.

2.3.3 Systématique

Selon Quezel et Santa [27], la classification de *Salvia officinalis* L. est la suivante :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous- embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Salvia*

Espèce : *Salvia officinalis* L.

2.3.4 Description générale

Sous-arbrisseau buissonnant et persistant, formant une touffe ligneuse pouvant atteindre jusqu'à 80cm de haut et dont les tiges émettent de nombreux rameaux dressés, quadrangulaires et laineux, présentant des nœuds saillant sur lesquels sont insérées des feuilles longuement pétiolées, de 3 à 10cm de long et jusqu'à 3 à 4cm de large, oblongues-ovoïdes à lancéolées, très pubescentes sur les deux faces [66], [67]. Les feuilles supérieures sont sessiles et plus petites. Toutes possèdent un bord distinctement denticulé, rugueux, et une nervure réticulée profondément enfoncée, saillante sur la face inférieure. La base du limbe est arrondie, simplement ou doublement auriculée [68] (Figure 1.4).



Figure 1.4: Vue générale de *Salvia officinalis* L. (originale 2010)

Les fleurs sont groupées en pseudo-verticilles de 5-10 fleurs chacun, en inflorescence lâche et terminale. Les bractées sont plus courtes que le calice, ovoïdes-lancéolés, plus tard caduques. Le calice peut atteindre 14mm de long, à poils duveteux, ponctués de glandes, souvent pourpres. La corolle est bilabée, de couleur violette rarement rose à bleu. La lèvre supérieure est bilobée, presque droite, alors que la lèvre inférieure est trilobée. La fleur de la sauge ne contient que deux étamines, à filet court surmonté d'un long connectif à 2 branches

inégales l'un portant une loge de l'anthère et l'autre, le plus court, une écaille, ou bien terminé en pointe [27], [67].

Le fruit est un tétrakène lisse persistant longtemps au fond du calice, de couleur brune foncée à noire, chaque akène, de forme globuleuse, d'environ 2mm de diamètre, présente une cicatrice blanche et ne renferme qu'une seule graine exalbuminée [66].

2.3.5 Habitat et culture

La sauge pousse sur les sols légers, calcaires, secs et bien drainés, en situation ensoleillée [41]. Deux voies de propagation sont envisagées : la voie sexuée par semis direct ou sous couches et la voie asexuée par bouturage ou encore par division de souches [41], [66].

2.3.6 Répartition géographique

2.3.6.1 Algérie

En Algérie, la sauge est très répandue. Elle est cultivée ou pousse spontanément [65].

2.3.6.2 Dans le monde

Originaire de la région méditerranéenne particulièrement de l'Adriatique, la sauge est actuellement cultivée dans différents pays européens, depuis l'Espagne jusqu'à la Yougoslavie [67].

2.3.7 Récolte

Les feuilles se récoltent tout au long de l'année. Celles que l'on destine au séchage doivent être cueillies au début de l'été, juste avant la floraison, car c'est à ce moment que leur parfum est à son zénith [41].

2.3.8 Parties utilisées

En thérapeutique, toute la partie aérienne (herbe) de la sauge fraîche ou séchée peut être utilisée [69].

2.3.9 Composition chimique

2.3.9.1 Huile essentielle

Chimiquement l'huile essentielle de sauge est un mélange complexe surtout riche en thuyones avec une teneur comprise entre 35-50% (mélange de (-) – α thuyone et de (+) – α thuyon, la forme – α étant dominante le plus souvent) ; présence également de 1,8- cinéole, bornéol, camphre, caryophyllène, acétate de linalyl et d'autres terpènes [66].

2.3.9.2 Autres constituants

Plusieurs autres constituants chimiques composent la sauge à savoir : les flavonoïdes (1-3%), des triterpènes (acide oléanique et ursolique), des diterpènes de type abiétane (carnosol, rosmanol) et des acides phénols (acide rosmarinique) [46].

2.3.10 Utilisation

2.3.10.1 Culinaire

La sauge est une plante indissociable de la cuisine méditerranéenne. On l'utilise pour agrémenter les plats de viande et de poisson, les soupes, les salades, les sauces, le fromage blanc et les omelettes. Les pâtisseries sucrées ou salées peuvent aussi être additionnées d'un peu de sauge (petit pains, beignets). Sous forme pulvérisée ou sous forme d'extraits, la sauge évite le rancissement des graisses, d'où un effet conservateur [53], [66].

2.3.10.2 Thérapeutique

- Humaine

- Activité antisudorale

La sauge est active contre les sueurs nocturnes, notamment celles des tuberculeux et les sueurs d'origine psychosomatique. Cette action débute 2 heures après l'absorption et peut se prolonger plusieurs jours [67].

- Activité antispasmodique sur le système digestif

La sauge est excellente pour la digestion, son action antispasmodique y contribue. Elle stimule l'ensemble de ce système, en particulier en cas de digestion difficile, d'indigestion et d'intoxication alimentaire. Elle encourage le travail de l'estomac. L'infusion augmente considérablement la sécrétion biliaire et convient aux vésicules paresseuses. C'est un antidiarrhéique conseillé en particulier en cas de gastro-entérite [55], [61].

- Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de la sauge est largement discutée dans la littérature. Cette activité est souvent liée à l'huile essentielle qui est effectivement bactéricide vis-à-vis de germes Gram + et Gram- (telle que : *Shigella sonnei*, *Bacillus subtilis*), mais aussi antifongique vis-à-vis de *Candida sp.* et *Aspergillus flavus*. Des propriétés antivirales sont encore notées sur plusieurs virus. Ceci est probablement dû aux constituants diterpéniques [67], [70].

- Activité oestrogénique

La sauge favorise l'équilibre hormonal de l'organisme féminin. Elle calme les douleurs des règles et diminue les troubles de la ménopause [55].

➤ Activité antioxydante

Les extraits de sauge sont de bons antioxydants et inhibent la peroxydation lipidique en raison de leurs contenus en phénols diterpéniques, en acide rosmarinique et en flavonoïdes qui agissent à la fois comme donneurs d'hydrogène et capteurs de radicaux libres [66].

➤ Autres activités

La sauge est également réparatrice des troubles circulatoires, cicatrisante, anti-inflammatoire, hypoglycémiant, préservatrice de la carie dentaire, anticholinestérase [63], [67].

• Vétérinaire

La sauge est utilisée pour ses propriétés tonique et stomachique (Synergil lapin) et pour son action sur la fièvre (Bronchophytol) [60].

2.3.10.3 Autres emplois

L'huile essentielle est employée dans l'industrie de la parfumerie. Sous forme d'extrait, la sauge est également incorporée dans des préparations cosmétiques à visée anti-transpirante, pour les soins des peaux grasses, dans des préparations pour bains, des solutions d'hygiène buccale et gargarisme [66].

2.3.11 Toxicité et précautions d'emploi

L'huile essentielle, notamment, par sa richesse en thuyone, est neurotoxique et convulsivante, de même, la plante elle-même ne doit pas être utilisée en cures continues ; il faut l'éviter en cas de grossesse et d'allaitement, et respecter les contre-indications en cas d'insuffisance rénale ou d'instabilité neurovégétative [89]. Cependant, aucune toxicité aiguë ou chronique n'a été signalée après emploi aux doses usuelles des feuilles de sauge et de son Huile essentielle (jusqu'à 15 gouttes /jour) [66], [71].

3. Les diarrhées infectieuses

3.1 Définition

La diarrhée se définit comme l'apparition brutale de selles trop nombreuses (dépassant trois exonérations non moulées par jour) et trop abondantes.

Selon sa durée, elle est considérée comme aiguë lorsqu'elle dure moins de 14 jours (définition de l'Organisation mondiale de la santé [OMS]), persistante entre 14 et 28 jours et chronique au-delà. Son origine est généralement infectieuse [72].

3.2 Epidémiologie

Dans le monde entier, les diarrhées représentent de très loin la cause de morbidité et de mortalité la plus fréquente, avant les pathologies des pays industrialisés (pathologies cardiaques, cancers, accidents vasculaires). Dans les pays en voie de développement, elles représentent l'une des causes principales de mortalité infantile ; elles tuent en effet plus de 5 millions d'enfants chaque année. De plus elles jouent un rôle important dans la malnutrition et dans les retards de développement physique et mental. C'est pour ces raisons que l'OMS a choisi les diarrhées comme un de ses programmes majeurs de santé [73].

3.3 Pathogénie des diarrhées infectieuses

3.3.1 La flore digestive normale

Chez l'Homme, la flore intestinale normale est composée d'une variété de près de 400 espèces bactériennes, fongiques et parasitaires. Les bactéries coliques sont présentes approximativement au 1/100 de leur concentration limite théorique, sans entraîner aucun trouble intestinal. La simple présence de cette flore normale aide à résister à l'invasion par des agents pathogènes [73].

3.3.2 Physiologie de l'intestin grêle

La muqueuse de l'intestin grêle est constituée d'une mono- couche de cellules épithéliales. Elle comprend l'étage des villosités et l'étage des cryptes (figure 1.5). Les entérocytes des villosités sont responsables des fonctions de digestion et d'absorption. Ces cellules se distinguent par leur forme cylindrique typique et leur structure polarisée; elles sont délimitées par deux membranes distinctes séparées par les jonctions serrées. La membrane de bordure en brosse située au pôle apical de l'entérocyte exprime de nombreuses enzymes hydrolytiques (peptidases, amino-peptidases, disaccharidases, phosphatase alcaline) nécessaires à la digestion des nutriments. Elle comporte également des protéines impliquées dans l'absorption des nutriments [74].

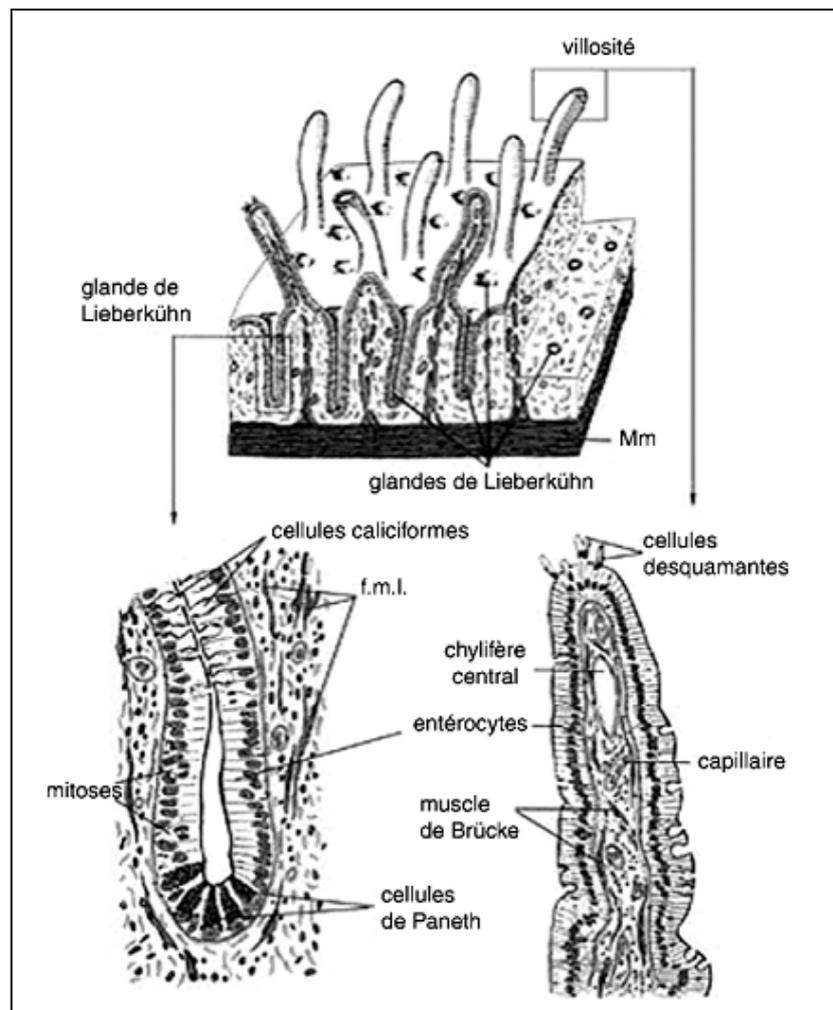


Figure 1.5 : Structure de la muqueuse intestinale [74].

3.3.3 Mécanismes

Le mécanisme de la diarrhée dépend de l'agent en cause. Ainsi, les diarrhées infectieuses peuvent être divisées en diarrhée sécrétoire et diarrhée invasive [75].

- La diarrhée sécrétoire

C'est une diarrhée aqueuse liée à des bactéries productrices d'entérotoxines, aux virus et à certains parasites. La production d'une entérotoxine aboutit via la stimulation de l'adénylcyclase ou du GMP cyclique au sein de l'entérocyte à une fuite d'eau et d'électrolytes. Ces diarrhées sécrétoires abondantes dites cholériformes ne s'accompagnent pas de fièvre. Ce mécanisme est typiquement décrit avec l'entérotoxine de *Vibrio cholerae* ou les toxines LT et ST des *E.coli* entérotoxinogènes.

Les virus et certains parasites comme *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium parvum* où les microsporidies tapissent et/ou envahissent les entérocytes au niveau de l'intestin grêle. Ils aboutissent à une destruction limitée des structures villositaires, perturbent les fonctions d'absorption et provoquent la fuite de protéines sériques dans la lumière intestinale [76].

- La diarrhée invasive

Elle est caractérisée par une invasion destructrice de la muqueuse, en général au niveau du colon qui provoque une dysenterie avec sang et pus ainsi qu'une importante destruction villositaire et effraction vasculaire. La forme la plus achevée est le syndrome dysentérique, rencontré essentiellement avec *Shigella dysenteriae* et *Entamoeba histolytica* [75].

Pour pénétrer dans l'organisme et s'y multiplier, le micro-organisme doit affronter quatre barrières : la flore microbienne normale, le mucus intestinal, la barrière immunitaire et la muqueuse intestinale [75].

3.3.4 Etiologie

3.3.4.1 Les causes bactériennes

- *Escherichia coli*

Appelée communément « colibacille » est l'espèce type du genre *Escherichia* [77]. Il s'agit de bacilles à Gram négatif, mobiles par ciliature péritriche ou immobiles, parfois capsulés. Aéro-anaérobies facultatives. La plupart des souches d'*E.coli* se multiplient rapidement (18 à 24h) sur les milieux ordinaires formant des colonies rondes, plates à bords réguliers et d'un diamètre de 2mm en moyenne. Elles produisent habituellement de l'indole, fermentent le lactose, mais ne produisent pas d'acétoïne et n'utilisent pas le citrate comme source de carbone [77], [78].

Habitat

E.coli est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers [79].

Caractères antigéniques

Les caractères antigéniques d'*E.coli* permettent de reconnaître différents sérotypes [77].

- Antigènes O ou somatiques

Ce sont des antigènes de paroi constitués de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostables et résistent à l'alcool ou à l'acide [77]. Il existe environ 160 antigènes O différents. Au moyen d'immunosérums spécifiques de ces antigènes, il est possible de classer sérologiquement les *E.coli* [78].

- Antigènes K ou capsulaires

De nature polysaccharidique. Environ 70 antigènes d'enveloppe différents ont été reconnus [78].

- Antigènes H ou flagellaires

Sont associés aux protéines des flagelles. Une cinquantaine de types différents ont été identifié [77].

- Antigènes de surface de type F

Sont présents chez les souches ayant des propriétés d'adhésion. Ils sont souvent associés aux « fimbriae » ou aux pilis et sont donc de structure fibrillaire, ce qui explique la désignation F souvent employée [77].

Les différents pathovars

Les diarrhées à *E. coli* peuvent revêtir des formes différentes en fonction des facteurs de virulence codés par les gènes hébergés par ces souches. Les mécanismes physio-pathologiques varient selon les pathovars [78].

➤ *E. coli* entérotoxinogènes (EPEC)

Les EPEC adhèrent très fortement aux entérocytes. Ils produisent des lésions d'attachement et d'effacement caractérisées par la destruction localisée des microvillosités de la bordure en brosse et induisent des altérations du cytosquelette des cellules épithéliales [78].

➤ *E. coli* entérohémorragiques (EHEC)

Ils adhèrent fortement à la cellule intestinale et libèrent une toxine très voisine de celle de *Shigella dysenteriae*, la Shiga-like toxin. Elle inhibe les synthèses protéiques et entraîne la mort cellulaire [79].

➤ *E. coli* entérotoxigènes (ETEC)

Les ETEC sont une cause majeure de diarrhées infantiles dans les pays en voie de développement et sont la principale cause de diarrhées dites du « voyageur ». Les ETEC colonisent la surface de l'intestin grêle et produisent des entérotoxines qui sont à l'origine de diarrhées aqueuses, cholériformes pour les formes les plus sévères. Ces souches produisent des toxines de type thermolabile (LT) et thermostable (ST) qui induisent toutes deux une sécrétion active de fluide et sont tenues pour responsables de l'apparition de la diarrhée [80].

➤ *E. coli* entéroinvasives (EIEC)

Les *E. coli* invasives ne produisent pas d'entérotoxines, mais pénètrent dans les cellules de l'épithélium intestinal. Ces souches sont responsables de syndromes dysentériques [80].

➤ *E. coli* entéroaggrégants (EAEC)

Ce sont des souches qui adhèrent aux cellules en formant des agrégats, grâce à des fimbriae dont les gènes sont plasmidiques. Elles augmentent la sécrétion de mucus par les entérocytes et provoquent des diarrhées prolongées [79].

Symptômes

E. coli peut être responsable de gastro-entérites ayant des traductions cliniques variables : diarrhée d'allure banale, diarrhée sanglante, diarrhée cholériforme. Chez le nourrisson la diarrhée peut entraîner assez rapidement un état de déshydratation [79].

- *Salmonella*

Les salmonelles sont des bacilles Gram négatif généralement immobiles. Elles

peuvent être présentes dans le tube digestif de l'homme et /ou des animaux, malades et porteurs sains [81].

Il existe de nombreuses variétés de salmonelles ou sérotypes. Les bactéries se multiplient et envahissent la muqueuse intestinale où elles produisent une entérotoxine et une cytotoxine qui détruisent les cellules épithéliales [82].

Symptômes

Les salmonelles mineures provoquent une diarrhée liquide fétide avec douleurs abdominales, fièvre à 38°C- 39°C et céphalées [83].

- *Shigella*

Les shigelles sont des bacilles à Gram négatif, immobiles, strictement humaines à caractère invasif [81].

Symptômes

Après une incubation de 2 à 4 jours, survient une diarrhée glairo-sanglante avec douleurs abdominales intenses, épreintes, lénesme et fièvre élevée 39-40°C. Dans les formes les plus sévères, il peut s'y associer des manifestations neurologiques [83].

- *Yersinia enterocolitica*

C'est un bacille à Gram négatif, ubiquitaire largement répandu dans le sol et les eaux [81].

Symptômes

Yersinia enterocolitica est responsable de diarrhée à début brutal, faite de huit à dix selles par 24heures, sanglante dans 10 à 30% des cas, fébrile accompagnée de douleurs abdominales. La diarrhée a une évolution prolongée souvent

supérieure à 2 semaines. Des phénomènes immunitaires réactionnels sont rencontrés fréquemment [84].

3.3.3.2 Les causes virales

Les virus les plus souvent en cause sont les rotavirus (responsables d'environ 30 à 50 % des gastro-entérites aiguës de l'enfant). D'autres virus comme les coronavirus, les aichivirus (picornavirus), ou certains entérovirus peuvent être responsables d'épidémies sporadiques [85].

- Les rotavirus

Ce sont des virus de taille moyenne (70 nm), dont la double capsid e a la forme caractéristique d'une roue en microscopie électronique (en latin, rota signifie la roue). Le génome est constitué de onze fragments d'ARN double brin.

L'analyse du profil électrophorétique des fragments permet de différencier les souches, et d'obtenir ainsi des informations épidémiologiques. On connaît 7 sérogroupes de Rotavirus (A à G). Les Rotavirus sont la cause principale de diarrhée chez les enfants de moins de cinq ans. Le diagnostic repose sur la microscopie électronique, la détection antigénique, l'électrophorèse de l'ARN génomique, ou la RT PCR [86].

Symptômes

Les rotavirus sont très contagieux et peuvent provoquer des petites épidémies dans les collectivités (crèches, service pédiatrie). Ils sont faiblement invasifs et provoquent une diarrhée fébrile aqueuse, avec rarement présence de sang et de mucus [83].

3.3.3.3 Les causes parasitaires

- *Cryptosporidium*

Les *Cryptosporidium* sont des protozoaires cosmopolites, de la classe des coccidies [87].

Cycle du parasite

Le cycle vital du *Cryptosporidium* comprend deux phases : asexuée et sexuée (Figure 1.6). Le cycle commence avec l'ingestion, par l'hôte, d'ookystes qui subissent alors un dékystement, libérant ainsi des sporozoïtes qui parasitent les cellules épithéliales gastro-intestinales. Les sporozoïtes mûrissent en trophozoïtes, puis en mérozoïtes qui infectent d'autres cellules épithéliales. Les mérozoïtes initient la reproduction sexuée en donnant naissance à des gamètes qui se développent finalement en ookystes. La majorité des ookystes développent cependant une double paroi épaisse et sont évacués avec les selles, contaminant ainsi l'environnement [88].

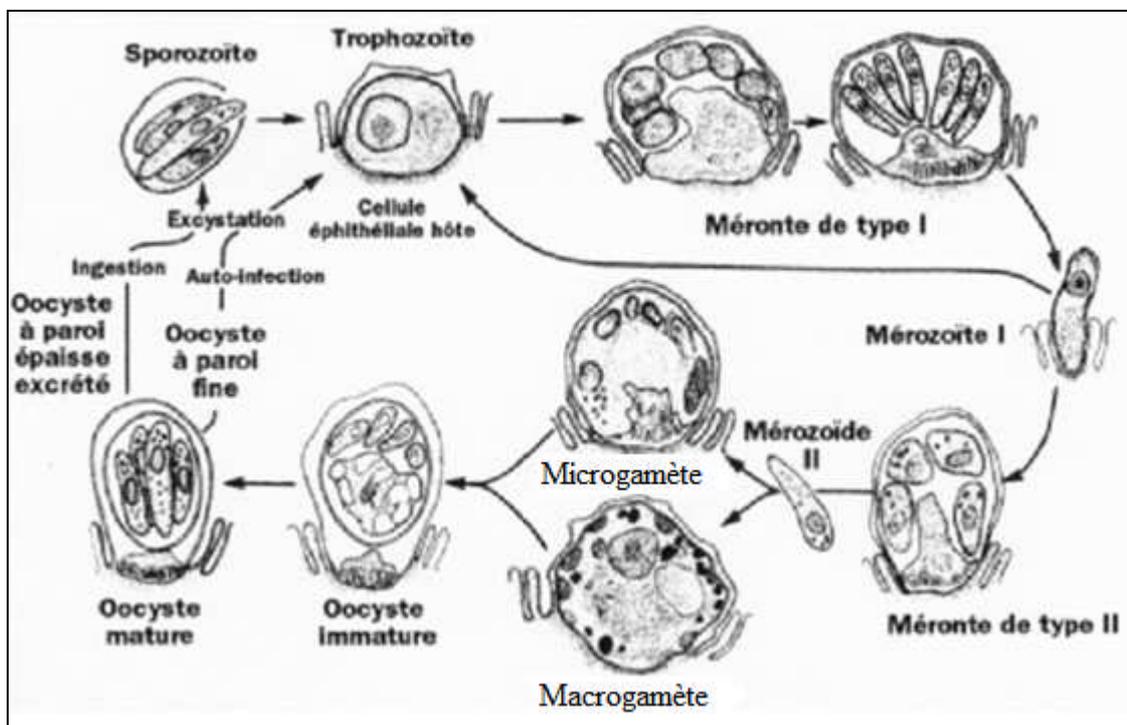


Figure 1.6 : Cycle parasitaire de *Cryptosporidium* sp. [89].

3.4 Traitement

3.4.1 La réhydratation

La présence de glucose stimule l'absorption de sodium, l'eau suivant passivement le sodium : cette découverte donne toute son importance à la

réhydratation par voie orale. Le but de celle-ci n'est pas de réduire les pertes fécales hydroélectrolytiques, mais d'entraîner une réabsorption importante d'eau et d'électrolytes pour compenser ces pertes. La réhydratation doit être systématique car toute diarrhée aiguë entraîne une déperdition hydroélectrolytique [90].

3.4.2 L'antibiothérapie

Elle doit être limitée, car peut être nuisible ou inutile : c'est le cas des diarrhées aiguës virales ou des diarrhées aiguës bactériennes agissant par la sécrétion d'une endotoxine. Elle se discute dans les diarrhées aiguës par germes invasifs. Une diarrhée aiguë grave nécessite l'hospitalisation et un traitement approprié [90].

3.5 Les modèles animaux

Le comité national des Etats-Unis pour la recherche scientifique a défini le modèle animal de laboratoire comme étant un modèle pour qui les normes de la biologie et du comportement sont étudiées. Selon ce modèle, les phénomènes pathologiques spontanés ou induits présentent un ou plusieurs aspects de la maladie qui ressemblent à ceux observés chez l'homme ou chez d'autres espèces animales [25]. Ainsi, les modèles animaux sont classés en 5 catégories :

1. le modèle animal spontané: c'est un modèle de maladies rencontrées chez l'homme ou l'animal utilisant des espèces mutées génétiquement telles que les souris nude.
2. Le modèle négatif: dans ce modèle, la maladie est non induite par un agent ou une souche quelconque, mais apparaît de façon spontanée.
3. le modèle orphelin: c'est un modèle où la maladie s'observe naturellement chez certaines espèces animales mais non encore chez l'Homme.
4. le modèle transgénique: c'est un modèle où l'on procède à une manipulation du génome embryonnaire, ce qui a pour résultat une anomalie s'exprimant dans les

cellules germinales de l'animal; ainsi, plusieurs modèles sont devenus disponibles au sein de la communauté scientifique.

5. le modèle animal induit: ce modèle utilise des animaux sains chez lesquels on provoque expérimentalement l'infection à étudier; c'est ce dernier modèle qui a été utilisé dans le présent travail.

Plusieurs modèles expérimentaux ont été utilisés pour l'étude des diarrhées infectieuses ce qui a permis de grands progrès dans la physiopathologie cellulaire, notamment dans la compréhension des phénomènes d'invasion [84]. Ces connaissances ont aidé, par la suite, à l'étude de l'activité antidiarrhéique de nombreux composés: Marcin *et al.*, [91], Salud Pérez *et al.*, [92], Teke *et al.*, [93], Théodorou *et al.*, [94].

MATERIEL ET METHODES

Notre étude expérimentale s'est étalée sur une période de 24 mois de juin 2009 jusqu'à juin 2011. Elle a été réalisée au niveau :

- Du laboratoire de recherche en biotechnologie végétale du département de biologie de l'USDB
- Du laboratoire des biotechnologies liées à la reproduction animale du département de vétérinaire de l'USDB
- Station expérimentale de l'USDB
- Du laboratoire de l'unité Extral bio de Chiffa Blida
- Du laboratoire d'anatomie pathologique de l'école nationale supérieure de vétérinaire (ENSV).

2.1 Matériel

2.1.1 Matériel biologique

2.1.1.1 Matériel végétal

Notre étude est basée sur deux espèces de labiées *Lavandula angustifolia* Mill. et *Salvia officinalis* L., connues pour leurs effets thérapeutiques notamment leur pouvoir antimicrobien et antidiarrhéique [35], [55].

Les informations relatives à la récolte des plantes, sont résumées dans le tableau 2.1.

Tableau 2.1 : Détails de la récolte des plantes étudiées

Plantes	Parties récoltées	Date de récolte	Région de récolte	Quantités récoltées
<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	Sommités fleuries	Entre 28 Juin et 3 Juillet 2009 Matinée	Université Saad Dahleb Blida	10 kg
<i>Salvia officinalis</i> L.	Partie aérienne (Tiges et feuilles)	Entre 06 et 15 Avril 2009 Matinée	Forêts de Chréa	10 kg

Les plantes ainsi récoltées sont séchées dans un endroit ombré et bien aéré à une température ne dépassant pas 37°C.

Les feuilles et les fleurs sont sèches dès qu'elles deviennent cassantes sans pour autant s'effriter et se réduire en poudre dès le touché [4].

Les plantes séchées sont conservées dans des sacs en papier étiquetés et bien fermés jusqu'au moment de leur utilisation.

2.1.1.2 Microorganismes

Nous avons utilisé cinq souches bactériennes comme indiqué par le tableau 2.2.

Tableau 2.2 : Les microorganismes utilisés

Bactéries	Espèces	Origine
Gram négatif	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella typhimurium</i>	Institut Pasteur, Alger Veau diarrhéique CHU Médéa
Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Saidal, Alger Institut Pasteur, Alger

2.1.1.3 Matériel animal

L'étude *in vivo* a été réalisée sur des souris NMRI (Naval Medical Research Institute, Bethesda, Maryland, USA) de race Albinos provenant de l'animalerie de l'institut Pasteur de Kouba, Alger.

2.1.2 Matériel non biologique (appendice B)

2.2 Méthodes

2.2.1 Identification botanique des plantes étudiées

L'identification botanique des plantes étudiées a été faite au niveau du département d'agronomie de l'USDB ainsi qu'à l'INA d'El Harrach en examinant macroscopiquement des échantillons frais et secs des deux plantes.

Après cette orientation et pour une éventuelle précision, nous avons effectué une observation de la morphologie externe, à la loupe binoculaire, et interne, au microscope photonique, à la recherche des sites sécréteurs d'huile essentielle.

2.2.1.1 Observation à la loupe binoculaire

Pour chaque plante, nous nous sommes intéressés aux : tiges, face inférieure et supérieure des feuilles, la fleur, le fruit et /ou la graine. Pour cela nous avons utilisée une loupe binoculaire (CARL ZEISS) avec un grossissement (10 x 2,5).

2.2.1.2 Observation au microscope photonique

Suite à une difficulté rencontrée lors de la réalisation des coupes histologiques sur les feuilles et les fleurs des deux plantes étudiées, nous nous sommes limités aux tiges seulement.

Le protocole suivi est celui de la double coloration validé au laboratoire de biologie végétale du département de biologie de l'USDB comme suit :

- A l'aide d'une lame à rasoir et à mains levées nous découpons transversalement les tiges fraîchement récoltées
- Les coupes ainsi préparées sont plongées dans l'hypochlorite de sodium à 12° pendant 10 à 15 min pour vider les cellules,
- Après rinçage à l'eau courante 5 à 10 min, les coupes sont traitées par l'acide acétique (10%) pendant 1 à 2 min pour faciliter la diffusion des colorants,
- Un deuxième rinçage à l'eau courante 5 à 10 min puis coloration au vert de méthyle pendant 15 à 20 min,
- Les coupes sont rincées à l'eau courante 5 à 10 min puis plongées dans le rouge Congo 15 à 20 min,
- Un dernier rinçage à l'eau courante, puis observation au microscope photonique de marque motic au grossissement (10x40).

2.2.2 Détermination du taux d'humidité

L'humidité est la quantité d'eau contenue dans la poudre végétale. Son taux qui ne doit pas dépasser 12 à 15% témoigne la bonne qualité de la plante [95].

Une prise d'essai d'1g ± 0,1 de la poudre végétale déposée dans un creuset sec et préalablement pesé, est mise dans une étuve pendant 2h à 105°C jusqu'à la stabilisation du poids. Trois répétitions sont faites pour chaque plante.

Le taux d'humidité (H%) est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$H\% = \frac{M - M_1}{M} \times 100$$

Avec

M : poids de l'échantillon frais en gramme

M₁ : poids de l'échantillon après séchage en gramme

2.2.3 Extraction des huiles essentielles (HE)

En vue d'obtenir la fraction volatile des plantes étudiées, nous avons utilisé le procédé d'hydrodistillation.

2.2.3.1 Principe

L'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité [8].

2.2.3.2 Mode opératoire

Pour l'hydrodistillation des plantes étudiées, nous avons utilisé un dispositif de type Clevenger (Figure 2.1).

Le matériel végétal séché (200g) est introduit dans un ballon de 3 litres remplie d'eau au 2/3. Le tout est porté à ébullition pendant 2 heures. Une surveillance continue du dispositif est préconisée afin d'assurer une meilleure distillation.

La séparation HE-eau est faite par décantation simple. Le sulfate de sodium anhydre peut être utilisé si certaines gouttelettes d'eau persistent. L'HE ainsi extraite est stockée à 4°C dans un flacon en verre fumé et hermétiquement fermé jusqu'à son utilisation.



Figure 2.1 : Montage du dispositif de Clevenger (Originale 2010).

2.2.4 Calcul du rendement en HE

Le rendement en HE est le rapport entre la masse d'huile essentielle extraite et la masse de la matière végétale utilisée. Il a été calculé suivant la formule :

$$R_{HE} = \frac{M_{HE}}{M_{MV}} \times 100$$

R_{HE} : Rendement en huile essentielle (%)

M_{HE} : Masse d'huile essentielle (g)

M_{MV} : Masse de la matière végétale (g)

2.2.5 Contrôle analytique des HE

2.2.5.1 Propriétés organoleptiques

Pour chaque HE extraite, nous avons déterminé son aspect, sa couleur et son odeur.

2.2.5.2 Caractéristiques chromatographiques

L'analyse des huiles essentielles par CG /MS n'a pas été faite par manque de moyens. La composition de l'HE de la lavande et de la sauge étudiée est considérée la même que celle étudiée par Latreche [97] et Dif [98] en respectant les mêmes conditions de travail de la récolte à l'extraction.

2.2.6 Etude de l'activité antimicrobienne des HE *in vitro*

2.2.6.1 Technique qualitative en milieu solide : aromatoigramme

2.2.6.1.1 Principe

L'aromatoigramme inspiré de l'antibiogramme est un examen de laboratoire simple qui permet d'étudier *in vitro* dans des conditions précises et rigoureuses la

sensibilité des germes à différentes HE par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque de cellulose imprégné d'HE [62],[99].

2.2.6.1.2 Mode opératoire

Le protocole expérimental a été mené suivant les recommandations du NCCLS (Clinical and Laboratory Standards Institute) [100] et du SFM (comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) [101].

a) Revivification des souches

En vue d'obtenir des cultures jeunes, les souches conservées sont repiquées sur gélose nutritive 24h avant les essais antimicrobiens.

b) Coulage des boîtes de Pétri

Après la fonte des géloses par autoclavage à 120°C pendant 15 à 20mn, nous coulons aseptiquement une couche de 5mm d'épaisseur dans des boîtes de Pétri en plastique, stériles et rondes de 90mm de diamètre.

c) Préparation de l'inoculum microbien

A partir d'une culture jeune de 18 à 24h, nous réalisons des suspensions en solution saline (0,9% NaCl) d'une opacité équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une DO de (0,08 à 0,1) à 620 nm.

L'inoculum ainsi préparé doit êtreensemencé dans les 15 mn qui suivent sa préparation.

d) Ensemencement

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension microbienne, l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube puis le froter sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées. Cette dernière opération a été répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois. Après

ensemencement, nous déposons aseptiquement sur la gélose les disques stériles en papier Watman (Schleicher et Schuell) de 9 mm de diamètre préalablement imprégnés de 25 μ l d'HE. Les boîtes de pétri sont laissées sur la paillasse pendant 30 mn afin de permettre la diffusion des HE.

e) Incubation et lecture des résultats

L'incubation a été faite à 37°C pendant 24h. La lecture des résultats se fait par la mesure précise du diamètre de la zone d'inhibition (D) autour du disque à l'aide d'un pied à coulisse ce qui permet de classer l'activité antimicrobienne des HE dans l'une des catégories ci-dessous établies par Meena et Sethi [102] :

- Fortement inhibitrice si $D \geq 28$ mm
- Modérément inhibitrice si $16 \geq D > 28$ mm
- Légèrement inhibitrice si $10 \geq D > 16$ mm
- Non inhibitrice si $D < 10$ mm

2.2.6.2 Techniques quantitatives en milieu liquide

2.2.6.1.1 Concentration minimale inhibitrice (CMI)

C'est la concentration d'agent antimicrobien, la plus faible, pour laquelle il n'y a pas de culture visible [9].

a) Préparation de l'inoculum microbien

Les suspensions microbiennes ont été préparées selon le même protocole que celui de l'aromatogramme.

b) Protocole expérimental

La technique suivie est celle des dilutions en milieu liquide en utilisant le bouillon Muller Hinton (ou bouillon nutritif) additionné d'agar à 0,15% (w /v) [103], selon les étapes ci-dessous :

- Mettre 500µl du milieu de culture dans chaque tube à essai ;
- Préparer une dilution de l'HE à 32% en diluant 320 µl d'HE dans 1ml du milieu de culture, c'est la dilution n° 1 ;
- Prélever 500µl de la dilution n°1, les transférer dans le tube n°2, bien homogénéiser c'est la dilution 16% ;
- Procéder de la même manière jusqu'à la dilution 0,06% ;
- Mettre 10µl de l'inoculum dans chaque tube à essai ;
- Ajouter à la fin 500µl du milieu de culture dans les tubes ce qui donnera des dilutions finales de 16% à 0,03% ;
- Bien Homogénéiser.

c) Incubation et lecture des résultats

L'incubation a été faite à 37°C pendant 24h. Le premier tube ne présentant pas de trouble visible à l'œil nu correspond à la CMI.

2.2.6.1.2 Concentration minimale bactéricide (CMB)

C'est la concentration minimale d'agent antimicrobien qui est requise afin d'éliminer 99,9% de l'inoculum [104].

a) Protocole expérimental

Prélever 0,1ml à partir des tubes à essai ne présentant pas de croissance visible, les étaler à la surface de boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive.

b) Incubation et lecture des résultats

L'incubation a duré 24H à 37°C. La première boîte ne présentant pas de croissance visible correspond à la CMB.

2.2.7 Etude de l'activité antimicrobienne des HE *in vivo* : application sur les diarrhées infectieuses

2.2.7.1 Animaux utilisés et conditions d'élevage

Nous avons utilisé 45 souris NMRI de race *Albinos* âgées de cinq semaines, de sexe indifférent et d'un poids de 18 à 20g. Ces souris sont réparties en lots de cinq individus chacun. Chaque groupe est logé dans des cages DESCO® (430 x 270 x 150mm) et alimenté avec des granules du commerce destinée à l'élevage des rongeurs, l'eau est administrée *ad libitum* (Figure 2.2).



Figure 2.2 : Souris utilisées (Originale 2011).

2.2.7.2 Répartition des lots

Les souris sont réparties en quatre lots de cinq individus chacun. Les individus du même lot sont mis ensemble dans une cage étiquetée.

Les animaux sont mis à jeun 24 heures avant le début des essais *in vivo* avec un accès libre à l'eau.

Lot 1 : Animaux sains

Lot 2 : Animaux malades

Lot 3 : Animaux sains traités

Lot 4 : Animaux malades traités.

2.2.7.3 Préparation des dilutions en huile essentielle

Les huiles essentielles ont été diluées dans de l'eau distillée stérile additionnée d'une goutte de tween 80 pour éviter la formation d'émulsion et permettre une dispersion des huiles essentielles dans l'eau.

Nous avons utilisé des dilutions de l'huile essentielle inférieures aux CMI trouvées dans l'étude *in vitro*, car ces doses –ci se sont révélées toxiques et ont provoqué la mort instantanée après administration aux souris (Figure 2.3). Après une série de dilution des huiles essentielles et par rapport au poids des souris, nous avons utilisé une dose de 5 µl/ml (v/v) pour chaque huile essentielle. Les dilutions sont préparées au moment de l'expérience pour réduire l'évaporation de l'huile essentielle et dans des conditions d'asepsie rigoureuses afin d'éviter tous types de contamination.



Figure 2.3 : Mort instantanée des souris ayant reçues des doses en HE équivalentes aux CMI (Originale 2010).

2.2.7.4 Préparation des suspensions bactériennes

Seules *E.coli* et *Salmonella typhimurium* ont montré un pouvoir infectieux considérable lors de l'administration aux souris.

Les bactéries sont repiquées sur gélose nutritive 24 heures avant l'expérimentation afin de les revivifier.

Juste avant le début du gavage, les souches sont retirées, une colonie bien isolée est suspendue aseptiquement dans de l'eau physiologique stérile. Après homogénéisation, un ajustement de la densité optique de 0,08 à 0,1 à une longueur d'onde de 620 nm a été fait à l'aide d'un spectrophotomètre.

2.2.7.5 Analyse de la flore intestinale des souris

L'analyse microbiologique des fécès de souris a pour but la recherche des germes suivant :

- *Escherichia coli* ;
- *Salmonella typhimurium* et/ou autres espèces de salmonelles ;
- Les coliformes totaux et fécaux ;
- Les entérocoques ;
- *Staphylococcus aureus* ;
- Germes mésophiles totaux ;
- Levures et moisissures.

Trois répétitions ont été faites pour chaque germe.

2.2.7.5.1 Prélèvement des fécès

Les échantillons de fécès ont été prélevés le matin à l'aide d'écouvillons stériles soit de l'anus soit directement de la cage s'ils sont fraîchement émis. Les échantillons sont rapidement ramenés au laboratoire pour poursuivre les analyses.

2.2.7.5.2 Préparation de la solution mère

Une noisette d'excréments a été diluée aseptiquement dans 10ml d'eau physiologique stérile. Cette suspension a servi pour l'ensemble des recherches ci-après.

2.2.7.5.3 Recherche des germes

a. *E.coli*

- Ensemencement et incubation

Prélever aseptiquement quelques gouttes de la solution mère, les étaler sur gélose Mc Conkey. Incuber 24 heures à 37°C.

- Lecture des résultats

Les colonies d'*Escherichia coli* sont roses. Si les cultures sont positives nous procédons à des tests d'identification biochimique en utilisant la galerie API 20E.

b. *Salmonella typhimurium* et/ou autres salmonelles

- Ensemencement et incubation

A l'aide d'une anse de platine, prélever aseptiquement quelques gouttes de la solution mère, les déposer à la surface de boîte Pétri contenant la gélose Hektoen, les étaler par stries larges. Incuber 24 heures à 37°C.

- Lecture des résultats

Les colonies de *Salmonella* sur hektoen, sont rondes, régulières et de couleur bleue.

c. Coliformes totaux et fécaux

Le terme coliforme correspond à « des organismes en bâtonnets, non sporogènes, à coloration de Gram négative, oxydase négative, aérobies ou facultativement anaérobies, capables de croître en présence de sels biliaires, et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 48 heures, à des températures de 35 à 37 °C. Les coliformes thermotolérants sont des

coliformes qui présentent les mêmes propriétés caractéristiques que les coliformes, après incubation à la température de 44°C. [105].

- Ensemencement et lecture des résultats

Nous avons utilisé le milieu VRBL (gélose lactosée au rouge neutre et au cristal violet), un milieu sélectif des coliformes. L'ensemencement a été fait par stries larges à partir de la solution mère. L'incubation a durée 24 heures à 37°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux. Sur gélose VRBL, les colonies de coliformes sont rouges.

d. Entérocoques ou streptocoques fécaux

La recherche et le dénombrement des Streptocoques fécaux fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- Test de présomption

A partir de la suspension mère, porter aseptiquement :

- 50 ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu ROTHE D/C,
- 5 fois 10 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE D/C,
- 5 fois 1 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C

Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

➤ Incubation et lecture des résultats

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures. Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien.

- Test de confirmation

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des Streptocoques fécaux éventuellement présents dans le test de présomption.

Les tubes de ROTHE trouvés positifs feront donc l'objet d'un repiquage dans des tubes contenant le milieu EVA LITSKY. Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

➤ Incubation et lecture des résultats

L'incubation se fait cette fois-ci à 37°C, pendant 24 heures. Sont considérés comme positifs, les tubes présentant :

- Un trouble microbien, et/ou
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du nombre le plus probable NPP.

e. *Staphylococcus aureus*

• Ensemencement

A l'aide d'une anse de platine, prélever aseptiquement deux à trois gouttes de la solution mère, les répartir à la surface d'une boîte Pétri contenant le milieu Chapman par stries larges.

• Incubation et lecture des résultats

Incuber 24 heures à 37°C. Les colonies typiques de *Staphylococcus aureus* sont jaunâtres, rondes et lisses. Si les cultures sont positives des tests d'identification sont utilisés.

f. Germes mésophiles totaux

La flore totale aérobie, encore appelée flore aérobie mésophile, est l'ensemble des microorganismes capables de se multiplier en présence d'oxygène à une température située entre 25 et 40°C [105].

- Ensemencement et incubation

L'ensemencement a été fait sur gélose glucose tryptone à partir de la solution mère. L'incubation a déroulé 72 heures à deux températures : 20°C et 37°C.

f. Levures et moisissures

- Ensemencement et incubation

Sur gélose Sabouraud additionnée de chloramphénicol, ensemencher deux à trois gouttes de la suspension mère. Incuber les boîtes 48 heures à 35°C.

2.2.7.6 Voie d'administration

En général et dans le cas de maladies digestives, l'administration se fait par voie orale, en utilisant une sonde de gavage d'un diamètre ne dépassant pas 0,8 mm dans le cas des souris [106].

Dans notre étude et par manque de moyens, nous avons utilisé des seringues à injection, stériles et à usage unique. Le volume total administré est de 0,5 ml. La souris est retenue par son cou allongé, et l'aiguille passé doucement dans l'œsophage. Il faut prendre soin de ne pas endommager l'œsophage, ou de mettre l'aiguille dans la trachée [107] (Figure 2.4).

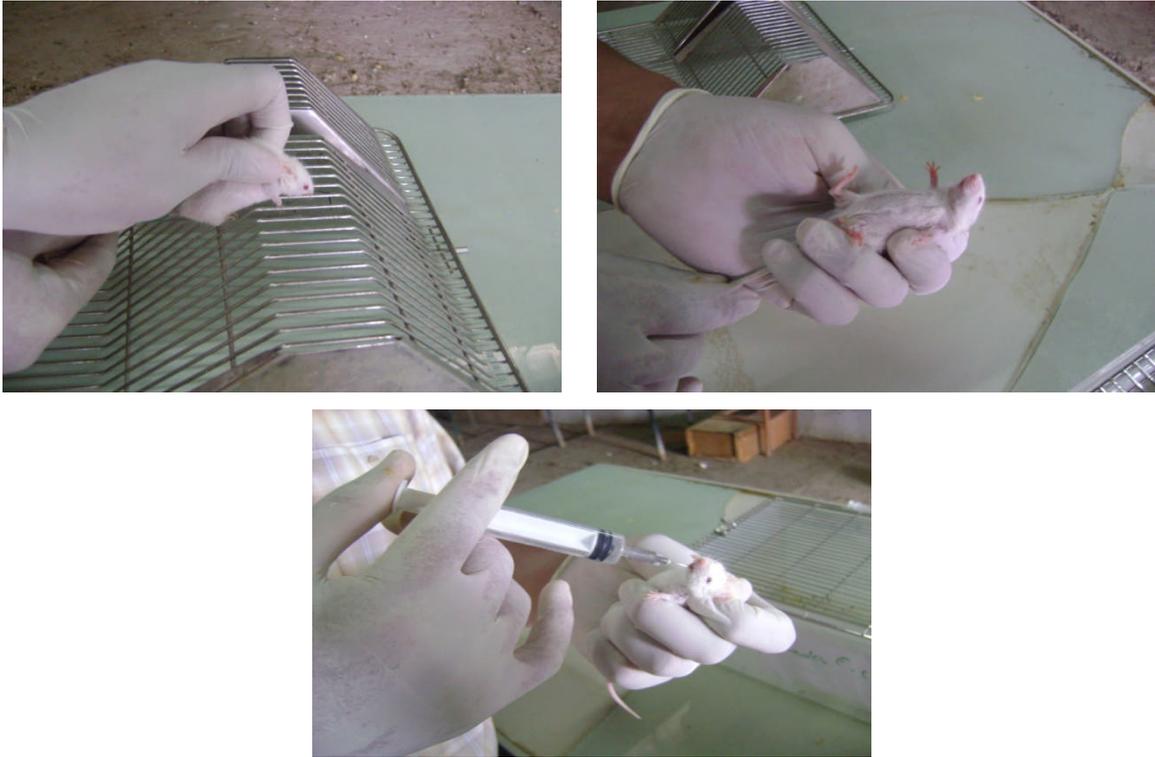


Figure 2.4 : Inoculation des souris par voie orale (Originale 2010).

Les lots utilisés ont été inoculés comme suit :

- Lot 1

Administration de 0,5 ml d'eau physiologique stérile.

- Lot 2

A – les cinq souris recevront 0,5 ml de la suspension d'*Escherichia coli*.

B - les cinq souris recevront 0,5 ml de la suspension de *Salmonella typhimurium*.

- Lot 3

A - les cinq souris recevront 0,5 ml de la solution d'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* Mill.

B - les cinq souris recevront 0,5 ml de la solution d'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

- Lot 4

A - les cinq souris recevront 0,5 ml de la suspension bactérienne d'*Escherichia coli*. Après 2 heures, administration de 0,5 ml de la solution d'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* Mill.

B - les cinq souris recevront 0,5 ml de la suspension bactérienne d'*Escherichia coli*. Après 2 heures, administration de 0,5 ml de la solution d'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

C - les cinq souris recevront 0,5 ml de la suspension bactérienne de *Salmonella typhimurium*. Après 2 heures, administration de 0,5 ml de la solution d'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* Mill.

D - les cinq souris recevront 0,5 ml de la suspension bactérienne de *Salmonella typhimurium*. Après 2 heures, administration de 0,5 ml de la solution d'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

2.2.7.7 Détermination de l'efficacité du traitement thérapeutique

24 heures après inoculation, et durant sept jours, une surveillance des paramètres suivants a été faite pour tous les groupes d'animaux étudiés : état général des animaux, incidence de la diarrhée et une analyse microbiologique des fécès. Une semaine après gavage, une étude histologique a été faite.

2.2.7.7.1 Etude microbiologique

- Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli* et de *Salmonella typhimurium*

La recherche et le dénombrement des espèces bactériennes infectantes ont été réalisés par la technique des dilutions suivant les étapes ci-après :

a. Préparation des tubes à essai

Laver, stériliser puis marquer les tubes à essai suivant les dilutions utilisées;
Répartir dans chaque tube à essai 9ml d'eau distillée stérile ;

b. Préparation de la solution mère

Mettre 1g de fécès à analyser dans 9ml d'eau physiologique stérile, bien homogénéiser par aspiration et refoulement, trois fois.

c. Préparation des dilutions

- Les dilutions sont successives décimales de raison 10 : 10^{-1} 10^{-7} ;
- Prélever aseptiquement 1ml de la solution mère à l'aide d'une pipette stérile munie d'une poire d'aspiration ;
- Introduire aseptiquement dans le premier tube (dilution 10^{-1}). Eviter le contact entre pipette et diluant ;
- Procéder de même du tube 10^{-1} au tube 10^{-2} et ainsi de suite jusqu'au tube 10^{-7} , en utilisant à chaque prélèvement une pipette nouvelle.

d. Ensemencement et incubation

L'ensemencement a été fait en masse, sur gélose Mac conkey, comme suit :

- Faire fondre le milieu d'ensemencement au bain-marie. Le maintenir en surfusion à $45 \pm 1^{\circ}\text{C}$;
- Marquer les boîtes de Pétri vides suivant les dilutions ;
- Homogénéiser les tubes de dilution ;
- À l'aide d'une pipette stérile, transférer aseptiquement 1 ml de la dilution 10^{-1} , les déposer sous forme de gouttes dans le fond des boîtes de Pétri ;
- Couler dans la zone d'asepsie environ 15 ml du milieu gélosé, liquéfié, dans chaque boîte de Pétri ;
- Bien homogénéiser l'inoculum au milieu, par rotation dans les deux sens en mouvements de 8 ;
- Laisser les boîtes dans la zone d'asepsie, sur la paillasse quelques minutes ;
- Une fois le milieu solidifié, retourner les boîtes afin de les incuber.

e. Lecture et interprétation des résultats

L'incubation a été faite à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Seules les boîtes inoculées et incubées, comportant entre 15 et 300 colonies sont retenues. En considérant deux dilutions successives ayant données au moins une boîte

contenant plus de 15 colonies, le nombre N de microorganismes présents dans l'unité de mesure de l'échantillon, est donné selon la formule [105]:

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0,1 n_2)d} \cdot \frac{1}{V}$$

$\sum c$ = nombre total de colonies comptées sur les boîtes retenues.

n_1 = nombre de boîtes comptées à la dilution retenue la plus faible.

n_2 = nombre de boîtes comptées à la seconde dilution retenue.

d = facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages sont réalisés : dilution la plus faible.

V = volume de prise d'essai inoculé en ml.

2.2.7.7.2 Etude histologique

Les coupes histologiques ont été faites suivant le protocole utilisé au niveau du laboratoire d'anatomie pathologique de l'école nationale supérieure de vétérinaire (ENSV) d'El-harrach, Alger. Le protocole général est représenté dans la figure 2.6. Les étapes ainsi réalisées sont les suivantes :

a. Préparation et fixation des organes

24 heures avant sacrifice, les animaux ont été mis à jeun, avec accès à l'eau, afin de vider le tractus intestinale de tous déchets alimentaires. Les souris ont été sacrifiées par saignée après anesthésie par le diéthyl éther comme indiquent De Man *et al.*, [108].

L'appareil digestif est immédiatement récupéré et totalement immergé de formol à 10%, dans des flacons fermés et étiquetés (Figure 2.5). C'est la fixation, qui est l'étape la plus importante dans la préparation histologique. Elle prévient l'autolyse, préserve les structures et renforce l'intensité de la coloration ultérieure [109].

Les échantillons sont fixés 48 heures en minimum. Pour les coupes histologiques, nous nous sommes intéressés aux trois parties de l'intestin grêle à savoir : le duodénum, le jéjunum et l'iléon.



Figure 2.5: Sacrifice des souris et fixation de l'appareil digestif (Originale 2010)

A : Fixation et dissection de l'animal sur le plan de travail; **B** : Fixation du tractus digestif dans le formol à 10%.

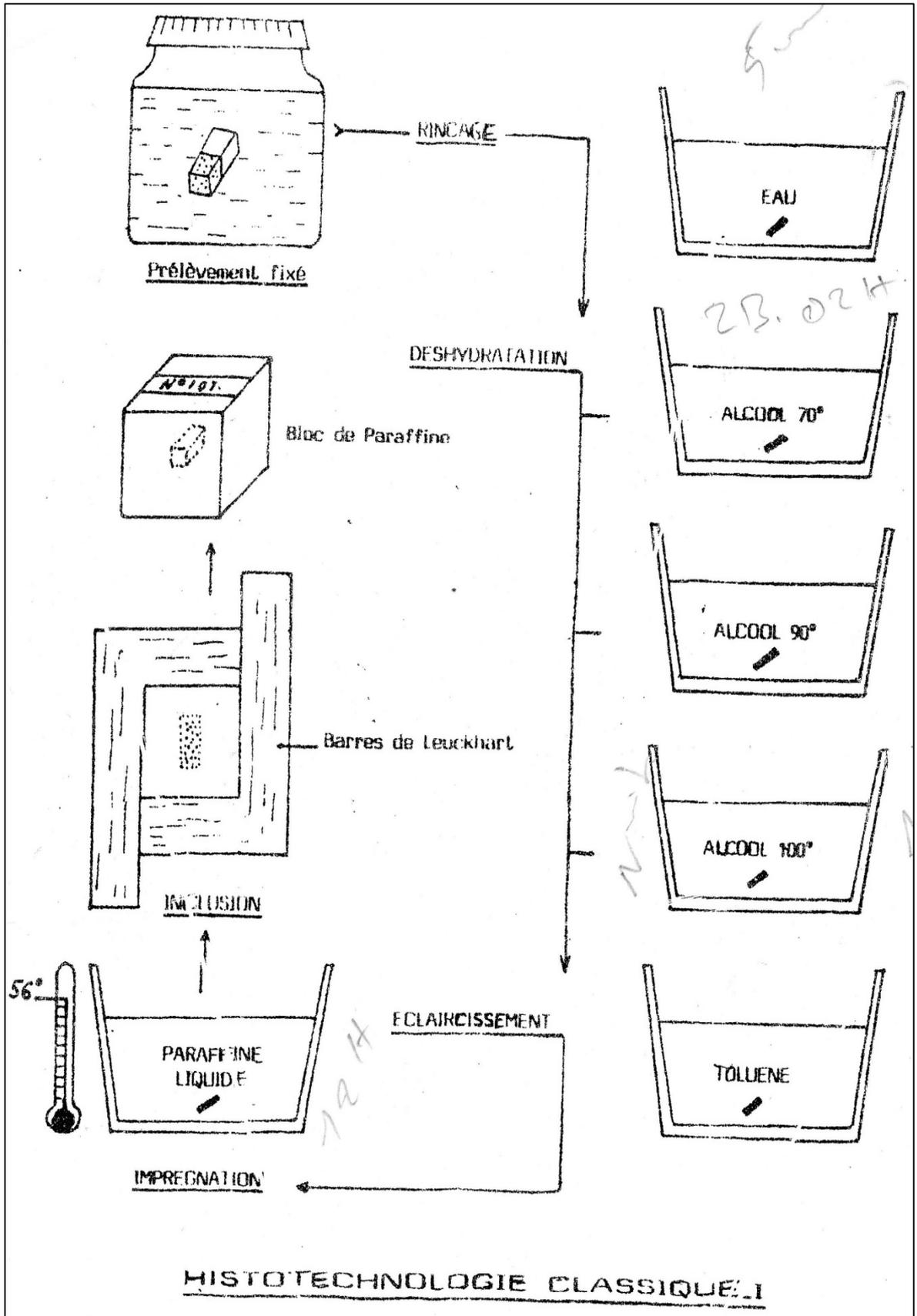


Figure 2.6 : Protocole général des coupes histologiques

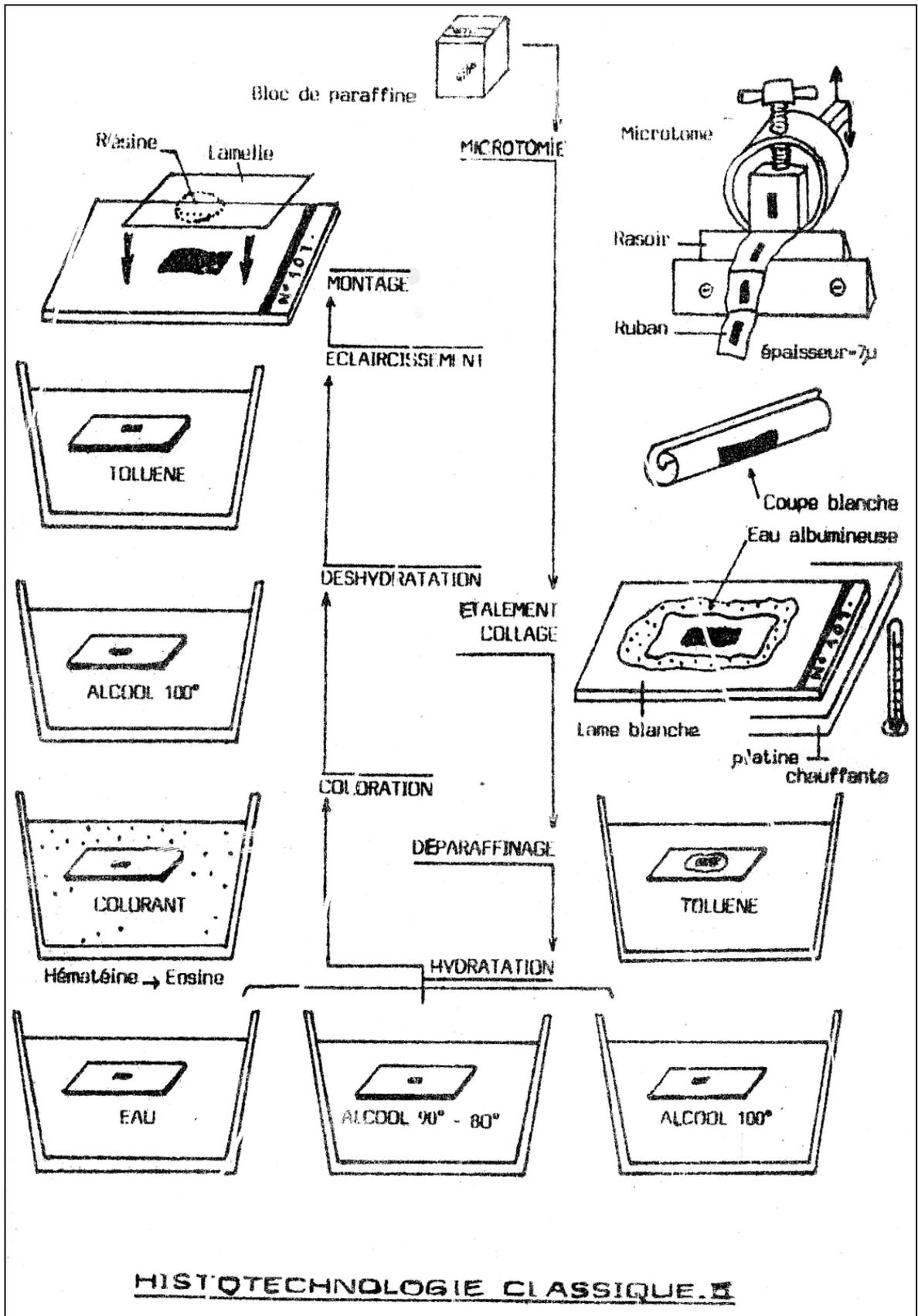


Figure 2.6 : Protocole général des coupes histologiques (suite)

b. Inclusion

Les échantillons sont ensuite rincés à l'eau, puis déshydratés dans des bains successifs d'alcool éthylique de concentration croissante 70, 90 et 100°. La déshydratation a pour effet de faciliter la pénétration ultérieure des substances d'inclusion dans les tissus.

Après déshydratation, les pièces sont imprégnées par un solvant des lipides : le toluène toute la nuit à l'étuve, puis incluses dans la paraffine liquide pendant 12 heures pour former des blocs après refroidissement. Le but de l'inclusion est de donner aux pièces la consistance ferme nécessaire à la coupe.

c. Préparation des coupes

Les coupes sont réalisées au moyen du microtome. Ce dernier comporte trois parties essentielles :

- Un support d'objet ;
- Un support de rasoir ;
- Un système d'avance mécanique

Les blocs de paraffine contenant les fragments tissulaires à étudiés sont fixés sur un porte – objet. L'objet se déplace en direction du rasoir permettant d'effectuer des coupes fines de 5µm d'épaisseur et qui se soudent entre elles pour former un ruban.

Les coupes ainsi réalisées, sont étalées et collées sur des lames de verre propres et étiquetées, nous déposons au centre de la lame une goutte du liquide d'étalement : l'eau albumineuse, sur lequel les coupes sont placées, l'ensemble est mis sur une platine chauffante. Dès que les coupes parfaitement étalées, elles sont maintenues et le liquide est égoutté.

d. Déparaffinage et coloration

Le déparaffinage, qui consiste à éliminer le milieu d'inclusion, précède la coloration. Il permet de réhydrater le tissu et suit donc, en les inversant, les principales étapes de l'inclusion [110]. Les coupes ont été mise dans deux bains successifs de solvant de la paraffine : le toluène, puis réhydratées dans des bains successifs d'alcool éthylique à 100° et 80-90° et enfin rincer longuement les coupes à l'eau.

Plusieurs colorations existes pour mettre en évidence les composants tissulaires, mais c'est la coloration à l'hématéine-éosine qui est la plus couramment utilisée. L'hématéine est une laque basique préparée à partir de l'hématoxyline (colorant) et, suivant les cas, d'alunine, d'un sel de fer ou d'un sel de chrome (mordant). L'éosine est un colorant acide [109].

e. Montage

La protection des coupes colorées est réalisée grâce à des lamelles. Les coupes colorées ne supportant pas le dessèchement, il est nécessaire d'interposer, entre lame et lamelle, un milieu de montage : le baume de Canada [110].

Nous avons déshydraté les coupes dans de l'alcool éthylique à 100°, sans laisser sécher, les lames sont plongées dans deux bains successifs de toluène afin d'éliminer totalement l'alcool.

Une goutte de résine a été déposée sur les lamelles que l'on applique sur les lames dès leur sortie du toluène, sans laisser sécher. L'ensemble est porté sur une platine chauffante pour bien étaler la résine. Laisser sécher les lames à plat.

f. Observation au microscope photonique

Les lames histologiques sont observées et photographiées (au grossissement x10) grâce à un microscope photonique muni d'un procédé de capture d'image (Motic Co., Ltd).

RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 Identification botanique des plantes étudiées

Après examination macroscopique des échantillons frais et secs des plantes étudiées au niveau du laboratoire de botanique de l'USDB et de l'INA d'El Harrach nous avons pu identifier les deux espèces : *Lavandula angustifolia* Mill. et *Salvia officinalis* L. Cependant pour plus de précision nous avons effectué des observations à la loupe binoculaire et au microscope photonique.

3.1.1 Observation à la loupe binoculaire

3.1.1.1 *Lavandula angustifolia* Mill.

La tige de la lavande est quadrangulaire, finement pubescente (Figure 3.1).

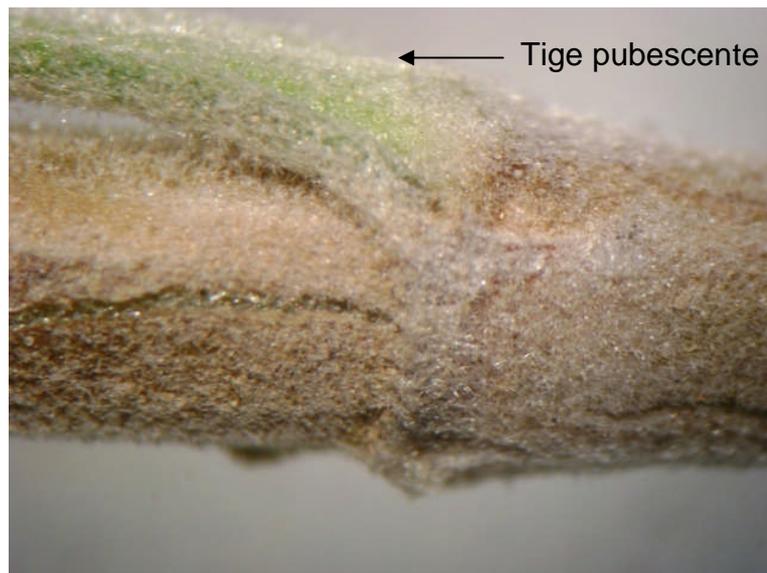


Figure 3.1 : La tige de *Lavandula angustifolia* Mill. (Loupe G : 10 x 2,5) (Originale 2010)

Les feuilles sont lancéolées, étroites, de couleur vert grisâtre et présentant un duvet de poils épidermiques sur les deux faces : inférieure et supérieure (Figure 3.2).

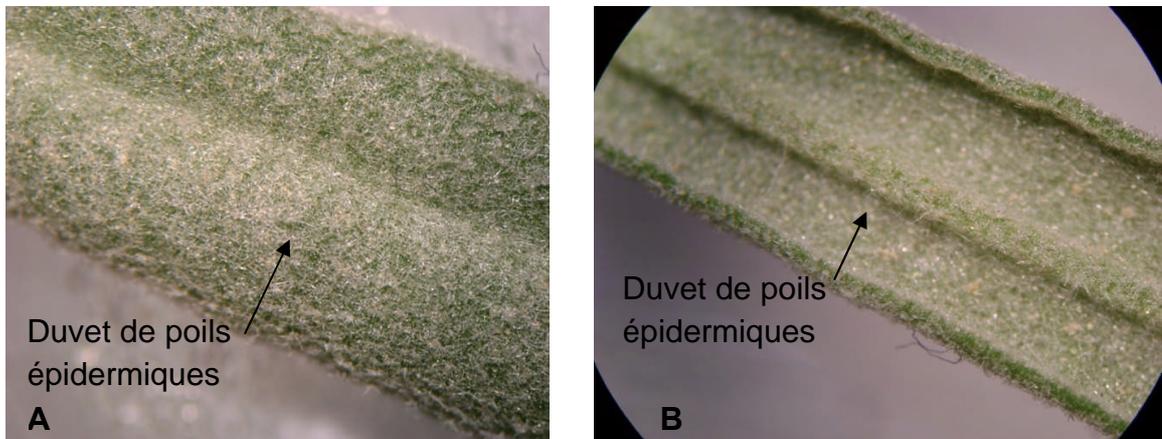


Figure 3.2 : Feuille de *Lavandula angustifolia* Mill. **A** : Face supérieure, **B** : Face inférieure (loupe G : 10 x4) (Originale 2010)

Les fleurs sont petites, de couleur rose violacée et regroupées en épi. Le calice est ovoïde, strié, riche en poils épidermiques (figure 3.3). La corolle est bilabée, pubescente en dehors (figure 3.4). L'ovaire est formé de 4 loges uniovulées, style court de la longueur du calice terminé par un stigmate divisé en 2 lobes (Figure 3.5 et 3.6). L'androcée est formé de 4 étamines, les inférieures plus longues, didynames surmontés d'anthères ovoïdes (figure 3.7).

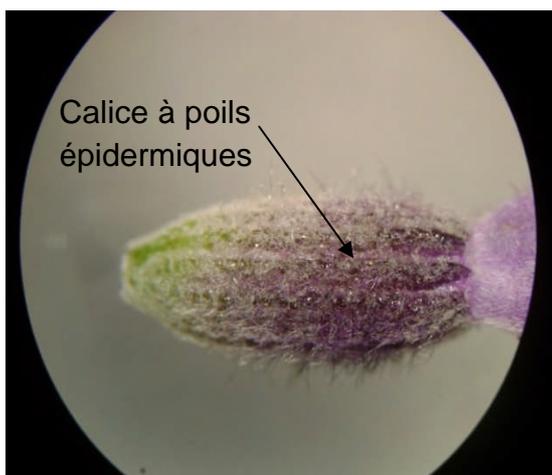


Figure 3.3 : Le calice (loupe G :10 x2,5) (Originale 2010)

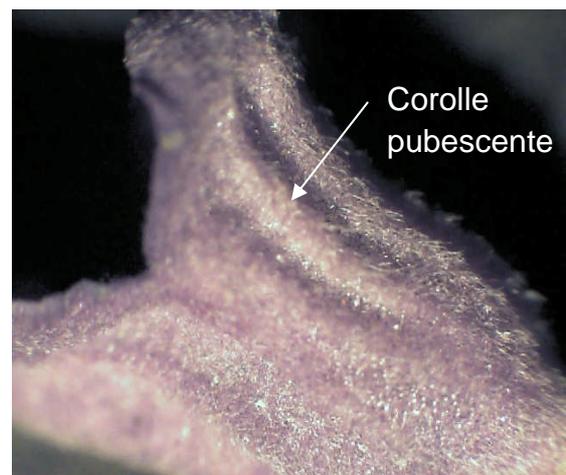


Figure 3.4 : La corolle (loupe G :10 x2,5) (Originale 2010)

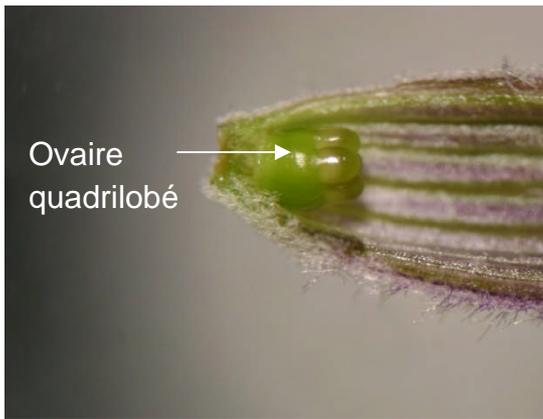


Figure 3.5 : L'ovaire (loupe G : 10 x2,5)
(Originale 2010)

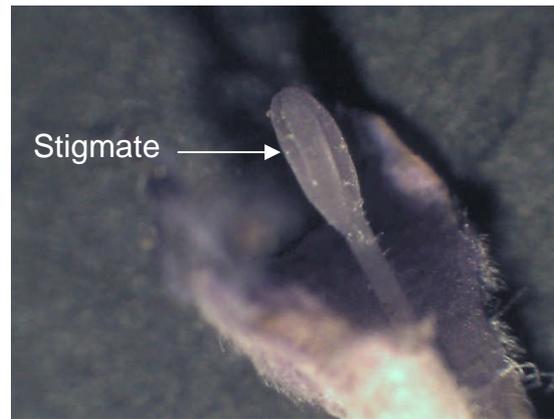


Figure 3.6 : Le stigmate bilobé
(loupe G :10 x4) (Originale 2010)



Figure 3.7 : L'androcée de *Lavandula angustifolia* Mill. (loupe G :10 x2,5)
(Originale 2010)



La graine de la lavande est très petite, lisse et de couleur noire (Figure 3.8).

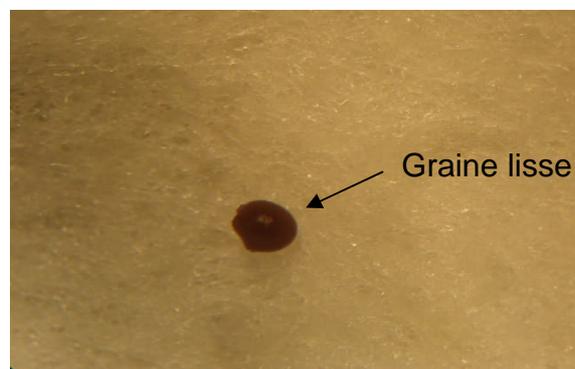


Figure 3.8 : La graine de *Lavandula angustifolia* Mill. (loupe G :10 x2,5) (Originale 2010)

Nos résultats concernant l'observation à la loupe binoculaire de la tige, des feuilles, des fleurs et de la graine de *Lavandula angustifolia* Mill. sont conformes à la description de l'espèce citée par Lis-Balchin (2002) [111].

3.1.1.2 *Salvia Officinalis* L.

Les tiges sont carrées, velues et feutrées (Figure 3.9).

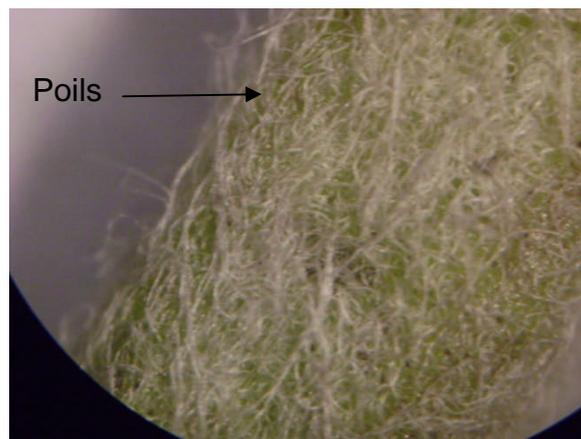


Figure 3.9 : La tige (loupe G : 10x 2,5) (Originale 2010)

Les feuilles sont ovales, allongées, finement crénelées, couvertes de poils blancs laineux sur les deux faces, plus abondant au niveau inférieur. Ces poils sont de deux types : poils tecteurs et poils sécréteurs à extrémité gonflée (Figure 3.10).

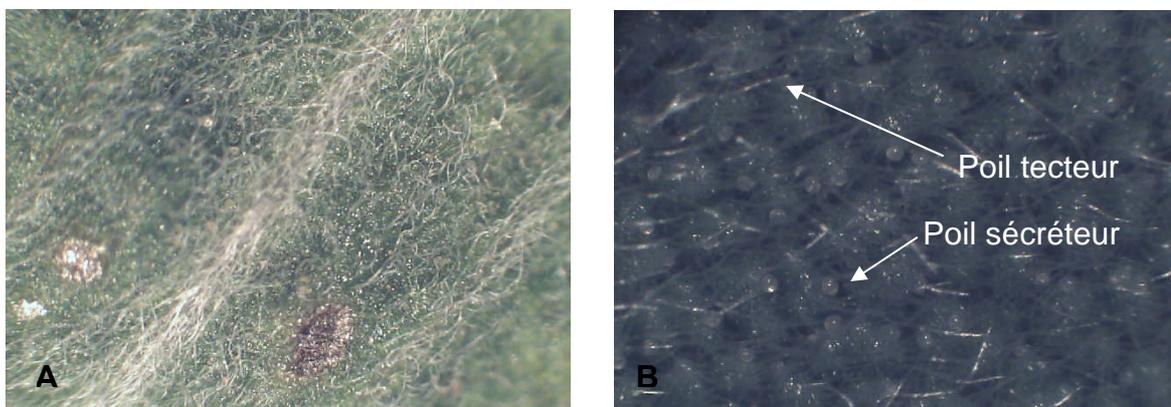


Figure 3.10 : Feuille de *Salvia officinalis* L. **A** : Face inférieure, **B** : Face inférieure (loupe G : 10 x 2,5) (Originale 2010)

Les fleurs de *Salvia officinalis* L. sont zygomorphes, leur calice est pubescent ponctué de glandes, la corolle d'un violet clair comprend 5 pétales soudés et garnie à la base d'un anneau de poils (Figure 3.11, 3.12 et 3.13). Le carpelle est formé d'un ovaire infère portant quatre ovules et surmonté d'un stigmate bifurqué au sommet (Figure 3.14, 3.15 et 3.16). L'androcée est constitué de deux étamines dont la base du connectif qui unit les deux loges de l'anthere est divisée en deux branches inégales : la plus longue portant la loge fertile, la plus petite réduite à un petit appendice recourbé qui sert de balancier pour les pollinisateurs (Figure 3.17 et 3.18) [37].



Figure 3.11 : Le calice
(loupe G : 10 x2,5) (Originale 2010)

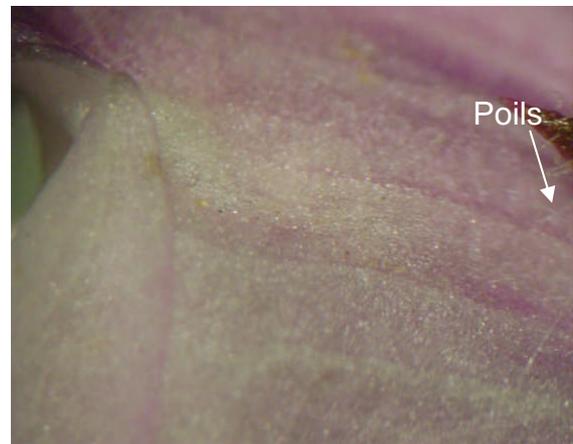


Figure 3.12 : La corolle
(loupe G : 10 x2,5) (Originale 2010)

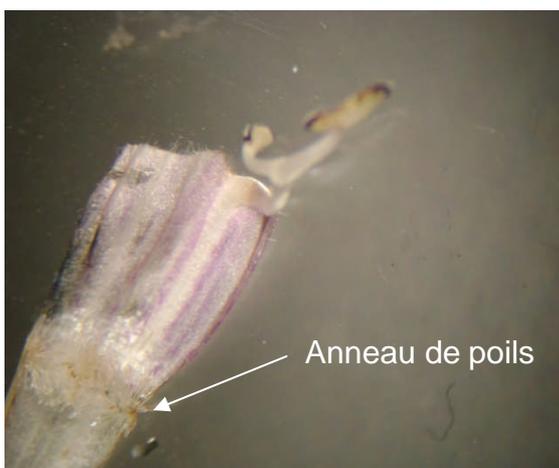


Figure 3.13 : Anneau de poils (loupe G : 10x 2,5) (Originale 2010)





Figure 3.14: Le carpelle
(loupe G :10x2,5) (Originale 2010)

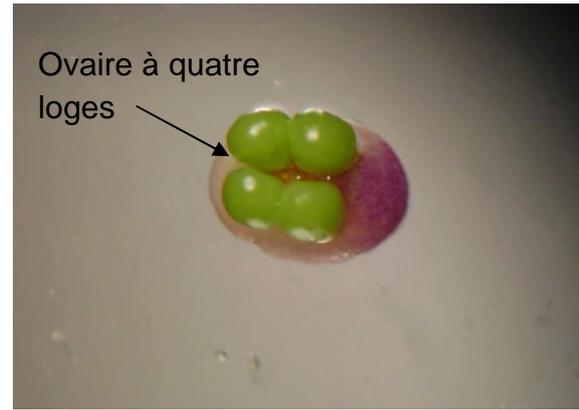


Figure 3.15 : L'ovaire
(loupe G :10x2,5) (Originale 2010)

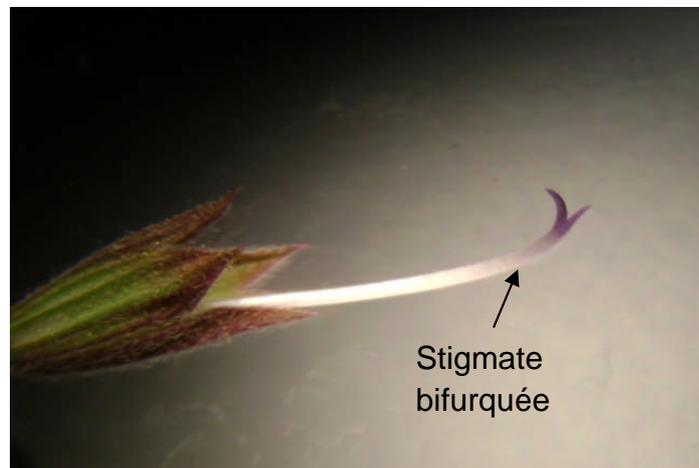


Figure 3.16 : Le stigmate (loupe G : 10x2,5) (Originale 2010)



Figure 3.17 : L'androcée
(loupe G:10 x2,5) (Originale 2010)



Figure 3.18 : Les étamines
(loupe G:10x2,5) (Originale 2010)

Le fruit de la sauge officinale est un tétrakène de couleur brune foncée (Figure 3.19).



Figure 3.19 : Le fruit (loupe G :10x2,5) (Originale 2010).

L'observation à la loupe binoculaire des organes végétatifs et reproducteurs de *Salvia officinalis* L. est parfaitement identique avec les descriptions citées dans la bibliographie [112].

3.1.2 Observation au microscope photonique

L'observation au microscope photonique de coupes histologiques des plantes étudiées nous a permis de voir la structure anatomique des tiges ainsi que les différents poils tecteurs et sécréteurs.

3.1.2.1 Structure anatomique

3.1.2.1.1 La lavande

La tige de *Lavandula angustifolia* Mill. est de section quadrangulaire. Elle est formée de l'extérieur, d'une cuticule suivie d'une assise épidermique. Le collenchyme, tissu de soutien vivant, est de type angulaire occupant surtout les angles ; sclérenchyme, tissu de soutien mort, à cellules polyédriques se présentant en îlot. Le Parenchyme cortical, occupant toute la partie centrale de la tige, formé de cellules parenchymateuses à méats.

Les éléments conducteurs ou faisceaux criblo-vasculaires, au nombre de quatre, se trouvent dans les angles. Ils sont formés de l'extérieur vers l'intérieur, par, le phloème, liber et bois (Figure 3.20).

Nos résultats sont conformes avec ceux trouvés par Latrache (2009) [97].

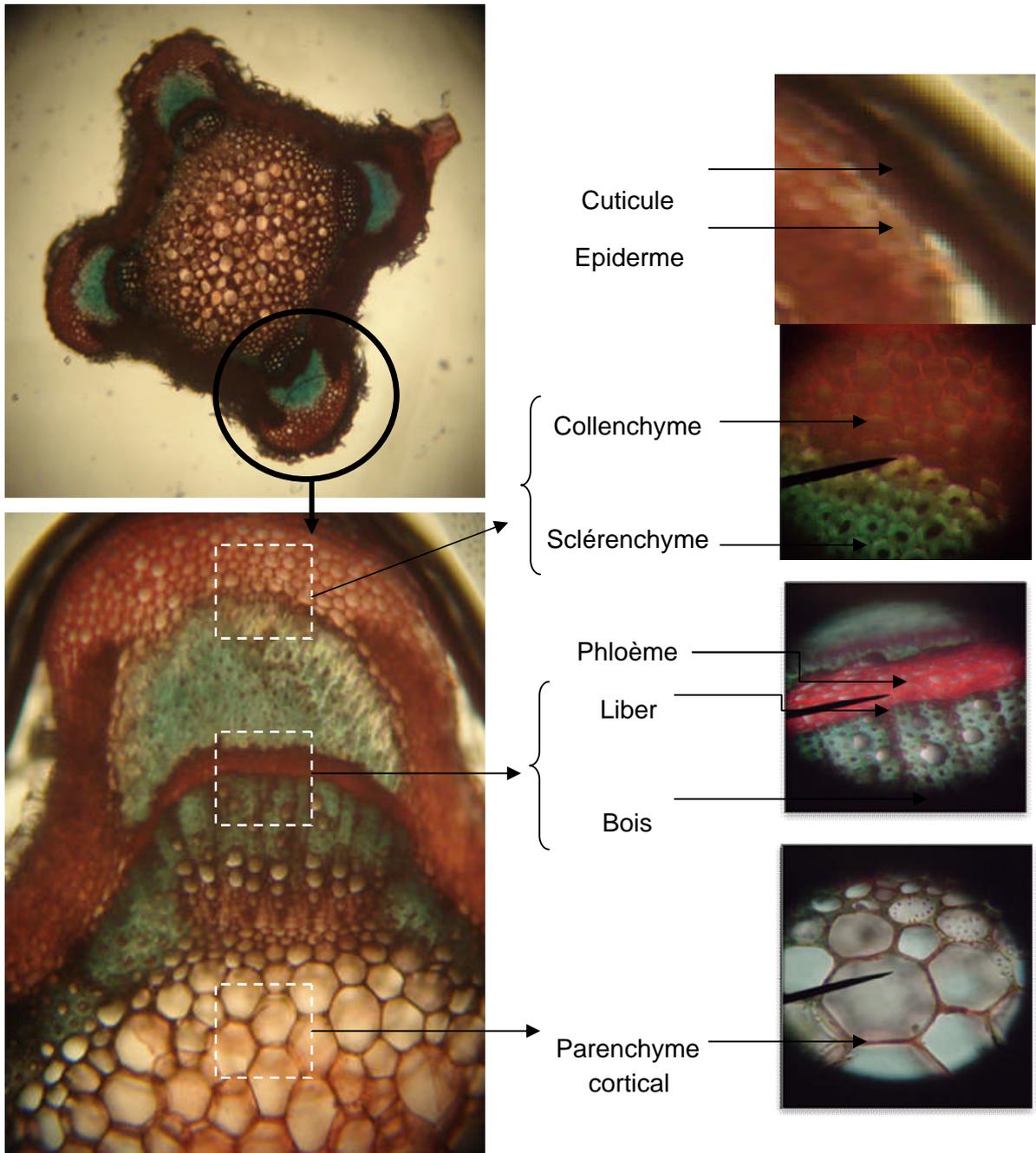


Figure 3.20: Coupe transversale de la tige de *Lavandula angustifolia* Mill. (MP :G :10X40) (Originale 2010)

3.1.2.1.2 La sauge

La tige de *Salvia officinalis* L. est de section quadrangulaire. Les angles sont occupés par un collenchyme sous épidermique. Dans le parenchyme médullaire, nous observons quatre faisceaux cribro-vasculaires occupant les angles de la tige et quatre autres faisceaux cribro-vasculaires de petite taille en alternance avec les précédents (Figure 3.21).

L'examen microscopique de la tige de *Salvia officinalis* réalisé par Dif [98] a montré une ressemblance parfaite avec nos résultats.

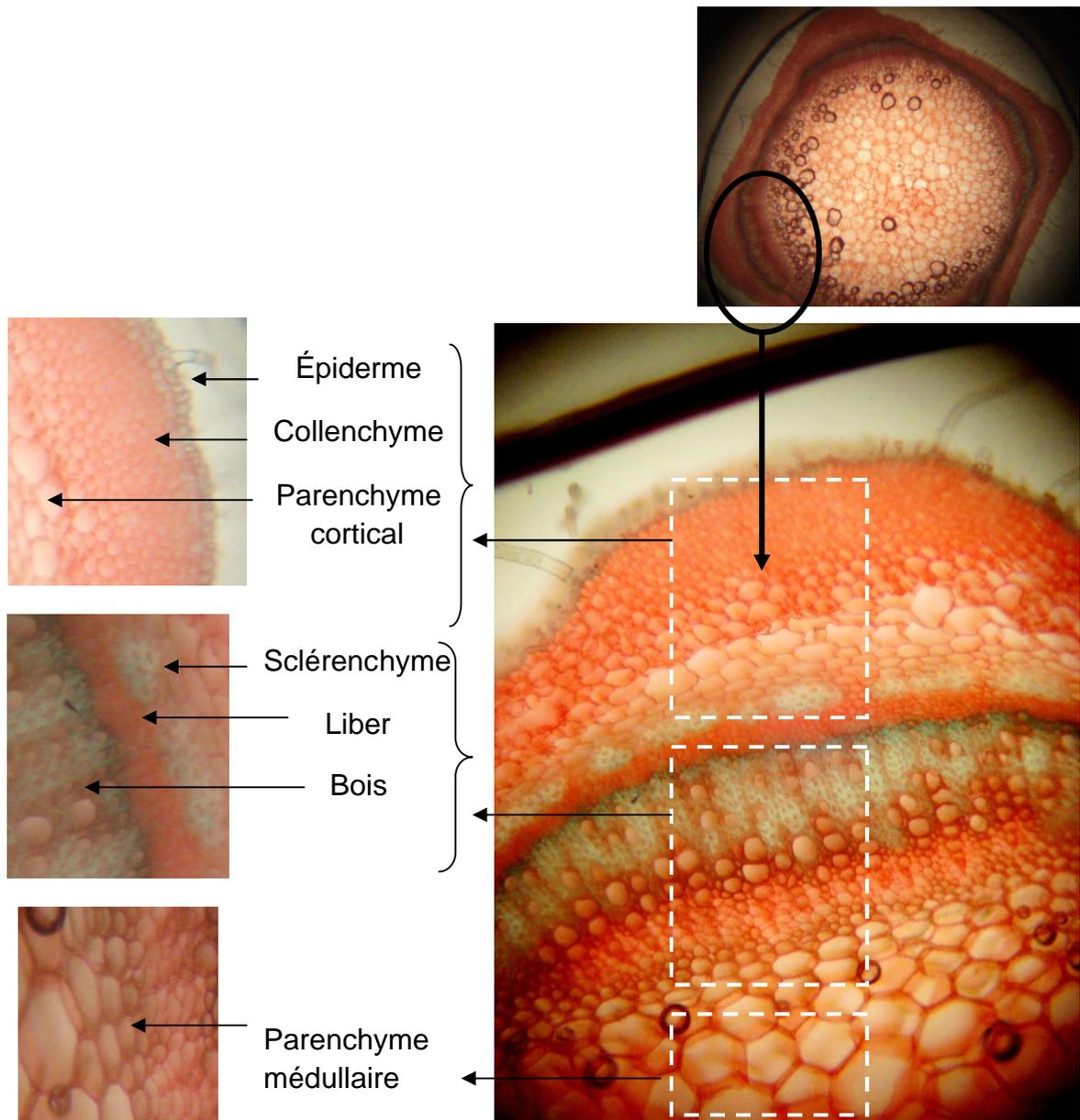


Figure 3.21: coupe transversale de la tige de *Salvia officinalis* L. (MP :G :10X40) (Originale 2010)

3.1.2.2 Les différents types de poils

3.1.2.2.1 *Lavandula angustifolia* Mill.

- Poils tecteurs

La plante est très riche en poils tecteurs pluricellulaires ramifiés (Figure 3.22). Ce sont ces trichomes tecteurs qui donnent à la lavande son aspect duveteux.

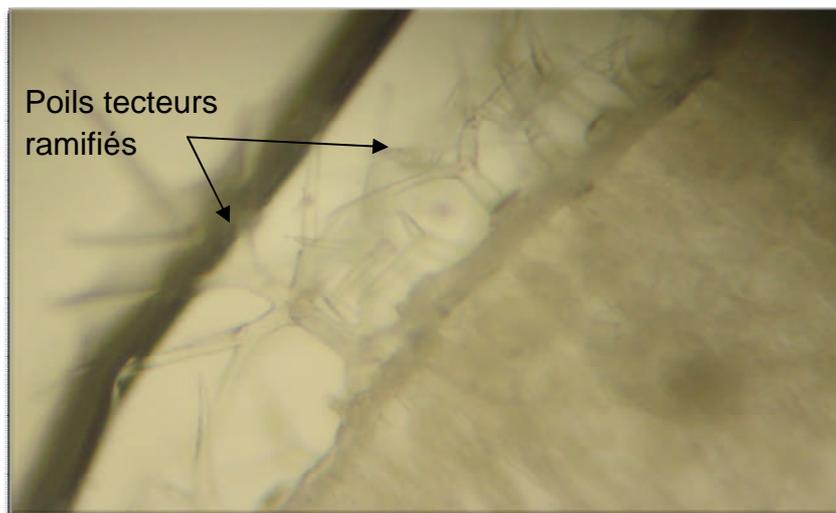


Figure 3.22 : Poils tecteurs de *Lavandula angustifolia* Mill. (MP : G : 10X40)
(Originale 2010)

- Poils sécréteurs

Les structures sécrétrices sont de deux types :

Poils sécréteurs à pied court et à tête sécrétrice pluricellulaire, en général 8 cellules, c'est la structure sécrétrice typique des labiées (Figure 3.23 A).

Poils sécréteurs à pédicelle et tête sécrétrice unicellulaire (Figure 3.23 B et C).

Des poils tecteurs et sécréteurs similaires ont été signalés par Svoboda et Svoboda (2000) [113].

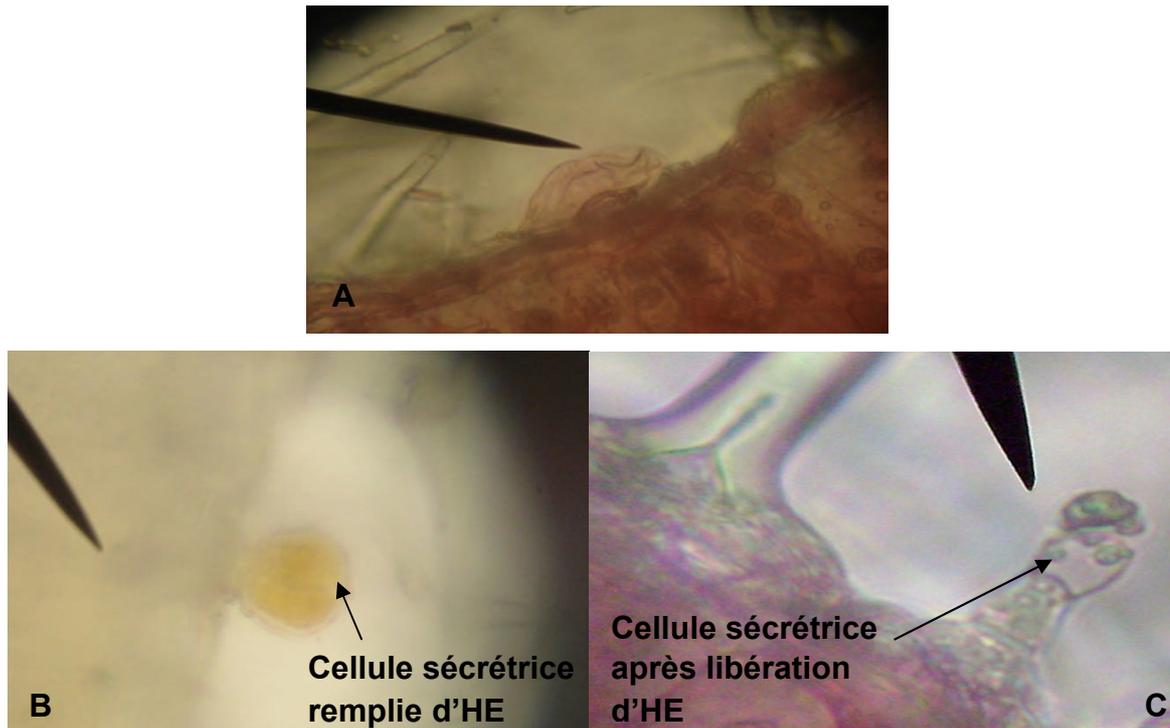


Figure 3.23 : Poils sécréteurs de *Lavandula angustifolia* Mill. (MP : G : 10X40) (Originale 2010)

3.1.2.2.2 *Salvia officinalis* L.

- Poils tecteurs

Les poils tecteurs sont flexueux, pluricellulaires terminé en pointe effilée (Figure 3.24).

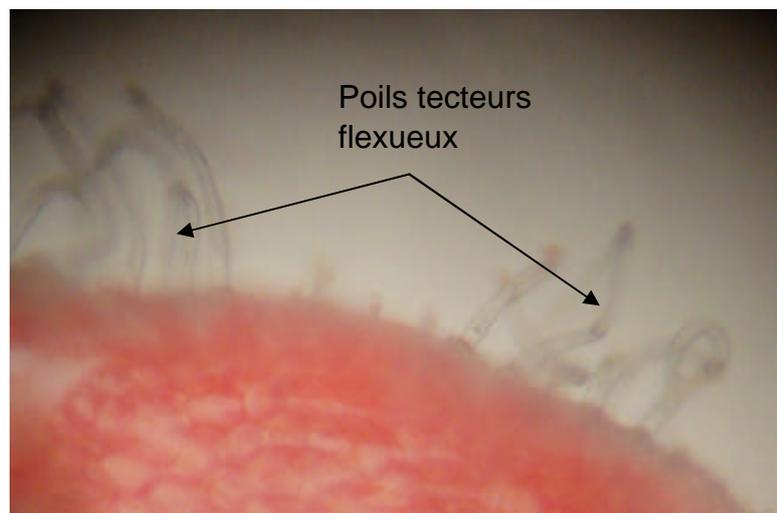


Figure 3.24 : Poils tecteurs de *Salvia officinalis* L. (Original 2010).

- Poils sécréteurs

Les poils sécréteurs de la sauge sont représentés principalement par des poils octocellulaires, glanduleux, sessiles, typiques des lamiacées (Figure 3.25 A). D'autres types peuvent être rencontrés à savoir: les poils sécréteurs à pédicelle mono ou pluricellulaires et à tête sécrétrice mono ou bicellulaire (Figure 3.25 B et C).

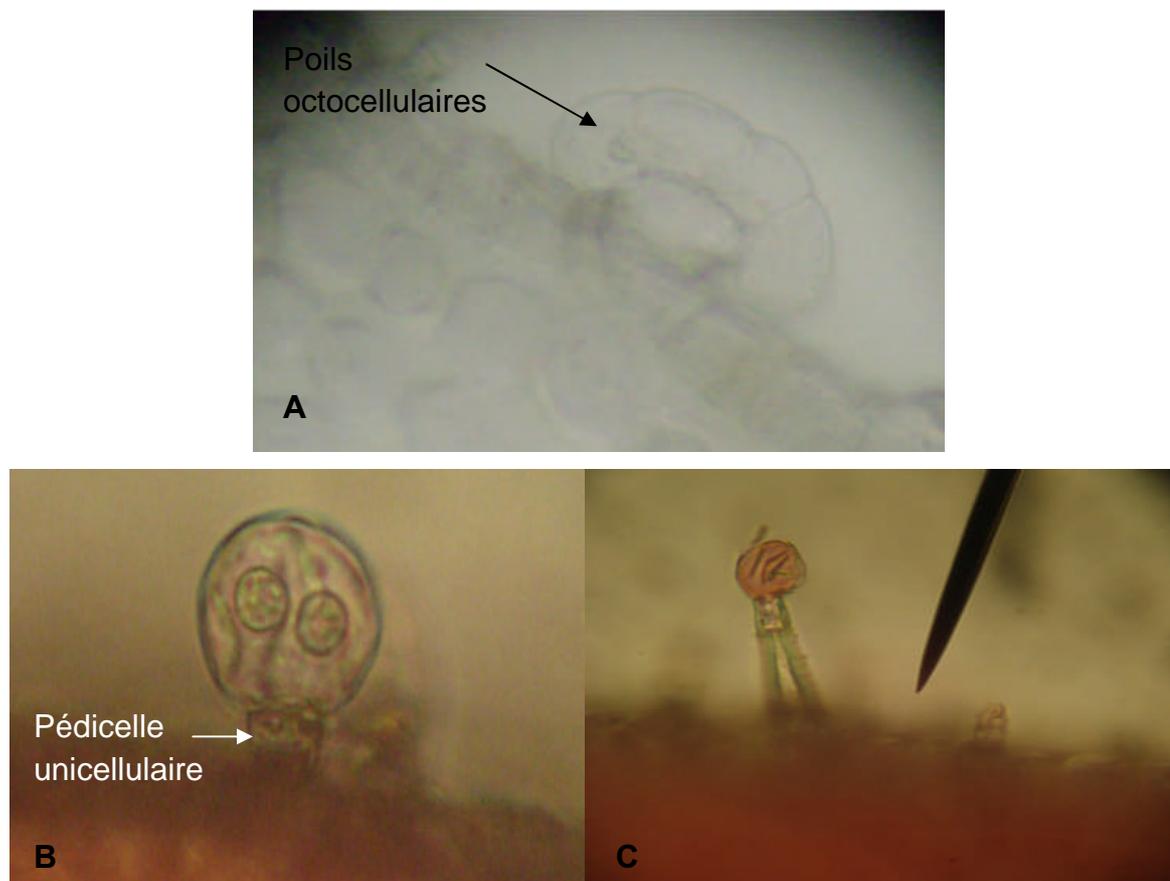


Figure 3.25 : Poils sécréteurs de *Salvia officinalis* L. (MP :G :10X40) (Originale 2010)

Les poils tecteurs et sécréteurs de *Salvia officinalis* L. que nous avons trouvé sont semblables avec ceux cités par Svoboda et Svoboda (2000) [113] et Jackson et Snowdon [114].

3.2 Détermination du taux d'humidité des plantes

En appliquant la formule citée au chapitre 2, nous avons obtenu un taux d'humidité de 7,09% pour la lavande et de 8% pour la sauge (Tableau 3.1). Ces deux taux rapprochés sont <12% ce qui est conforme aux normes de la pharmacopée URSS [95], indiquant ainsi une bonne qualité de nos deux plantes.

Dans l'étude de Kulevanova *et al.*, [115] le taux d'humidité des fleurs de la lavande officinale est de 10,8%.

Tableau 3.1: Taux d'humidité des plantes étudiées

Plantes	Poids frais* (g)	Poids sec* (g)	Taux d'humidité (%)
<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	1,4660 ± 0,0077	1,3620 ± 0,0065	7,09
<i>Salvia officinalis</i> L.	1,8650 ± 0,1127	1,7163 ± 0,1070	8

* : Moyenne du poids ± écart-type

3.3 Rendement en huile essentielle

Le rendement d'extraction en huile essentielle est plus ou moins faible aussi bien pour la lavande (0,11%) que pour la sauge (0,60%) (Figure 3.26).

L'étude réalisé par Yusufoglu *et al.*, [116] en Turquie, a montré des teneurs en huile essentielle différentes selon l'organe : 1,9% à partir des fleurs de lavande fraîches et 0,66% à partir des feuilles. Da Porto *et al.*, [117] ont comparé deux méthodes d'extraction d'huile essentielle des fleurs de lavande officinale et ils ont trouvé des rendements largement différents : 0,5% pour l'extraction par hydrodistillation et 3,2% pour l'extraction par fluide à l'état supercritique.

Moretti *et al.*, [118] et Bettaib *et al.*, [119] ayant travaillé sur *Salvia officinalis* ont trouvé des rendements en huile essentielle de 2,4% et 0,39% respectivement.

La teneur en huile essentielle de *Salvia officinalis* L. à différents stades de vie de la plante est différente d'après l'étude de Mirjalili *et al.*, [120] : végétatif 0,7%, floraison 0,5%, fruit immature 0,4%, fruit mûre 0,2%.

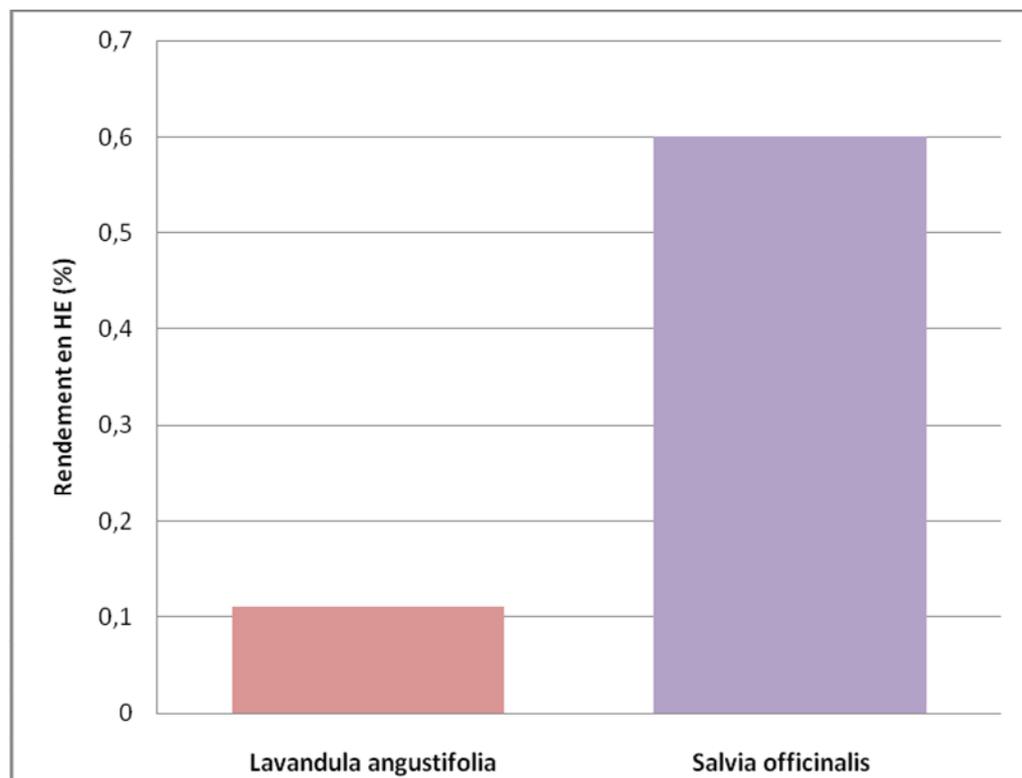


Figure 3.26 : Rendement en huile essentielle des plantes étudiées

3.4 Contrôle analytique des HE

3.4.1 Propriétés organoleptiques

L'hydrodistillation des plantes étudiées nous a permis d'extraire des HE dont les caractéristiques organoleptiques figurent dans le tableau 3.3.

Ces caractéristiques sont comparables aux normes AFNOR [96] NFT 75-301 pour *Lavandula angustifolia* et NF ISO 9909 pour *Salvia officinalis* (Tableau 3.3).

Tableau 3.3 : Propriétés organoleptiques des huiles essentielles extraites

Plantes	Propriétés organoleptiques			
		Aspect	Couleur	Odeur
<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	Notre échantillon	Liquide	Jaune clair	Forte
	AFNOR NFT 75-301	Liquide mobile, limpide	Jaune clair	Caractéristique, agreste, rappelant celle des sommités fleuries de la plante
<i>Salvia officinalis</i> L.	Notre échantillon	Liquide	Jaune	Forte
	AFNOR NF ISO 9909	Liquide	Incolore à jaune	Caractéristique, camphrée, un peu épicée

3.5 Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles *in vitro*

3.5.1 Technique qualitative en milieu solide : aromatoigramme

Les huiles essentielles étudiées présentent une activité antimicrobienne importante sur la majorité des espèces bactériennes utilisées. Il n'y a pas de différence significative entre les deux plantes. Cependant, les souches agissent différemment ($p < 0,05$).

Parmi les bactéries Gram négatif étudiées, *Escherichia coli* représente l'espèce la plus sensible à l'huile essentielle de la lavande avec un diamètre d'inhibition de

28,50 mm. L'huile essentielle de la sauge est plus active sur *Escherichia coli* ATCC 25922 pour une zone d'inhibition de 21 mm.

Pour les deux bactéries Gram positif, les diamètres des zones d'inhibition des huiles essentielles de la lavande et de la sauge sont respectivement de : 21,00 et 32,50 mm pour *Staphylococcus aureus* et de 23,00 et 28,50 mm pour *Enterococcus faecalis* (figures 3.29, 3.30 et 3.31).

Ainsi et d'après l'échelle de Meena et Sethi [102] citée au chapitre 2, l'activité inhibitrice des deux huiles essentielles étudiées est classée comme suit :

L'huile essentielle de la lavande est fortement inhibitrice vis-à-vis d'*Escherichia coli*, modérément inhibitrice pour *E.coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* et légèrement inhibitrice pour *Salmonella typhimurium*.

L'huile essentielle de la sauge est fortement inhibitrice sur *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*, modérément inhibitrice pour les deux espèces d'*Escherichia coli* et légèrement inhibitrice pour *Salmonella typhimurium*.

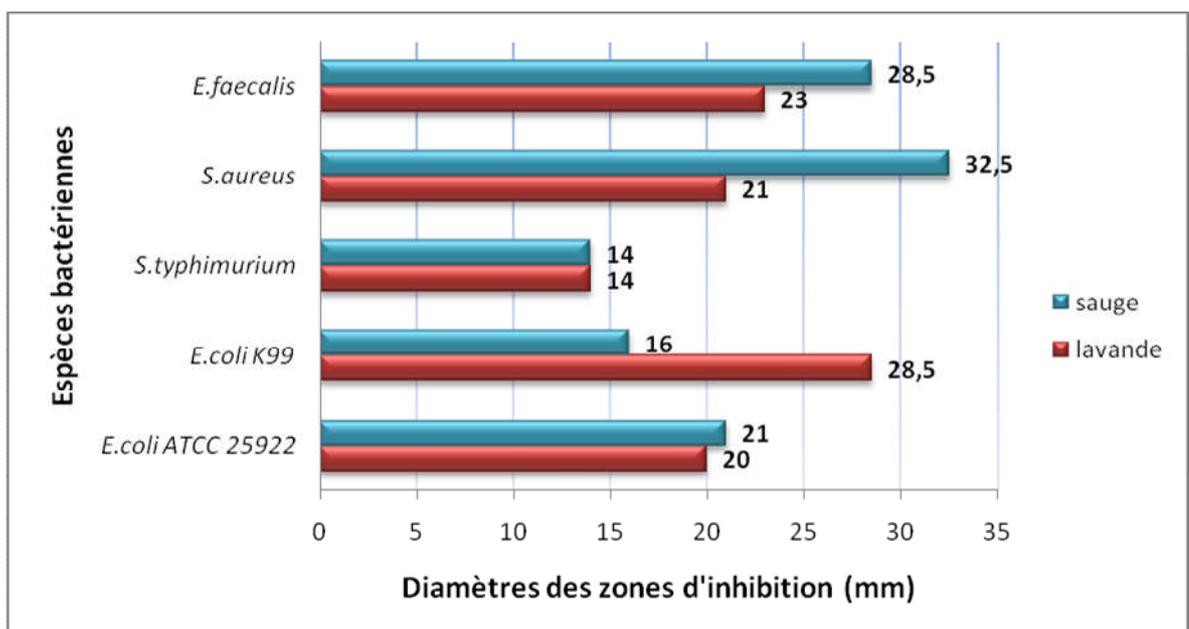


Figure 3.27: Diamètres des zones d'inhibition des huiles essentielles étudiées

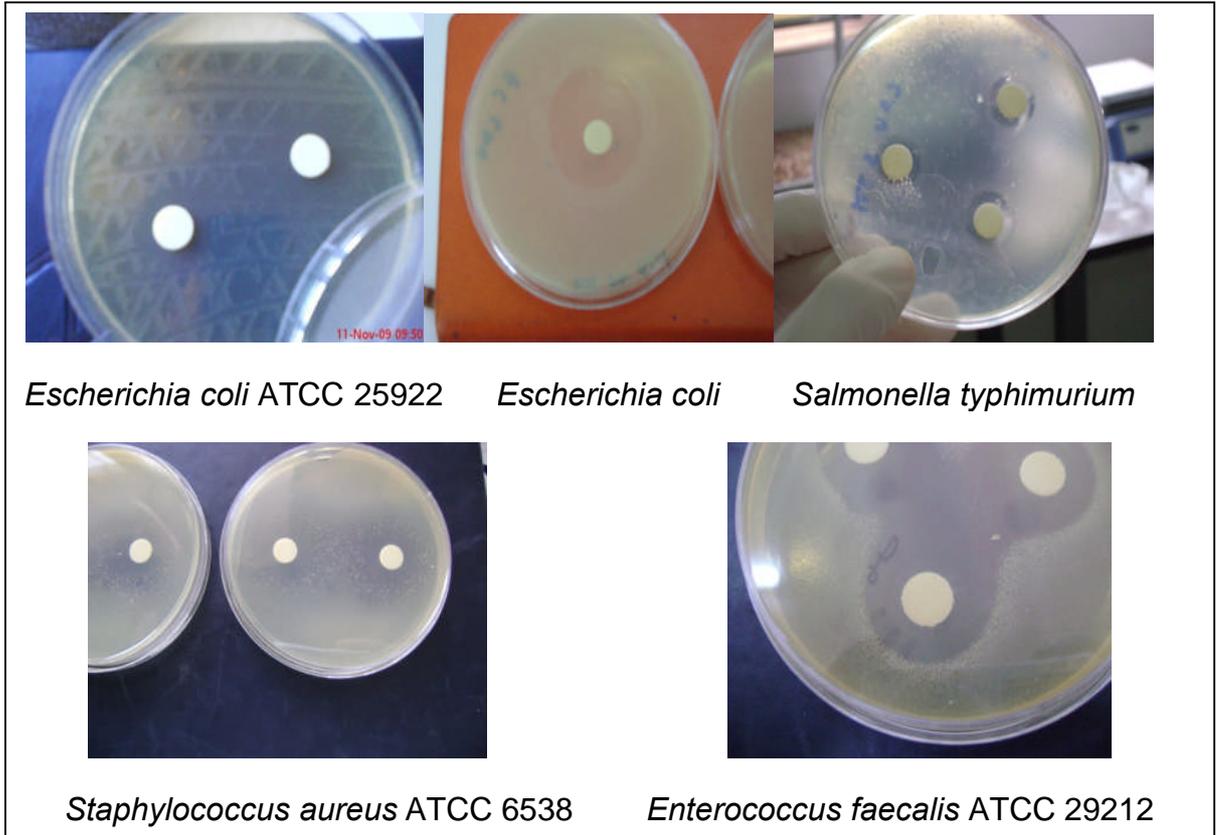


Figure 3.28: L'aromatogramme de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* Mill. (Originale 2010)

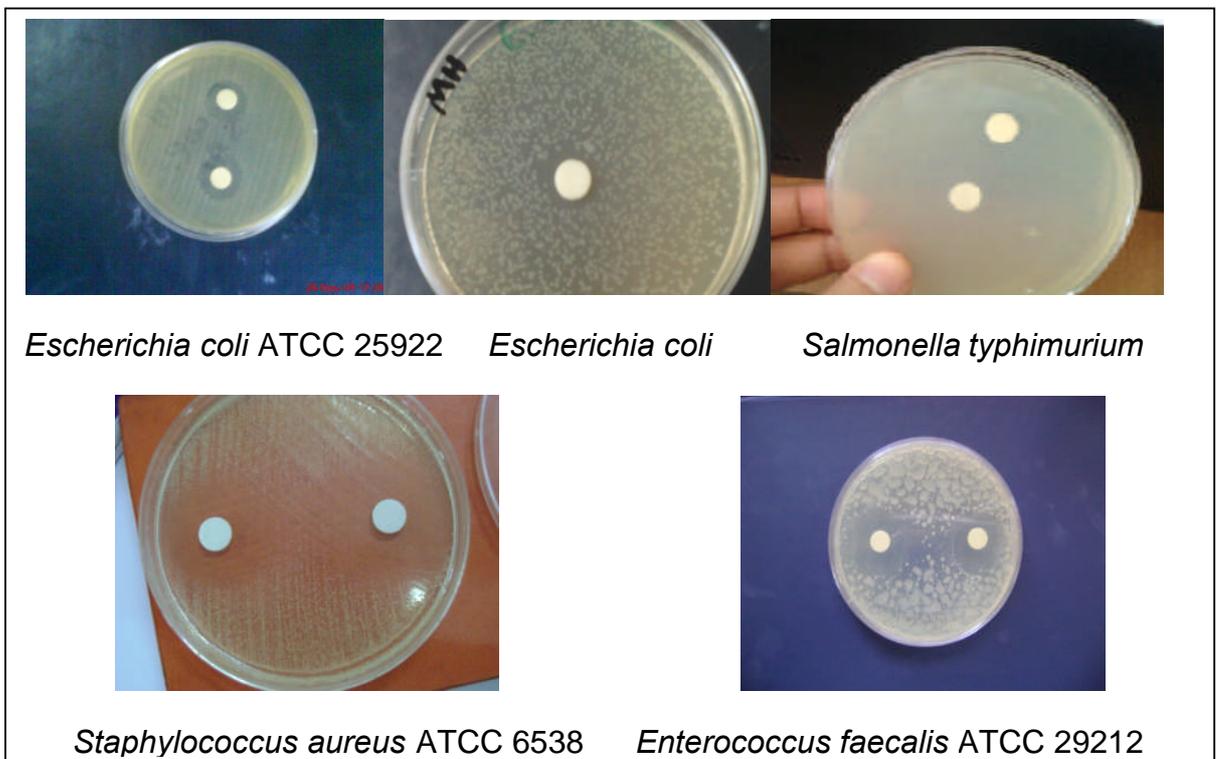


Figure 3.29: Aromatogramme de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. (Originale 2010)

Nous remarquons que l'action antibactérienne est plus accentuée chez les Gram positif que chez les Gram négatif pour les deux huiles essentielles. Ceci peut être expliqué par les différences structurales de la paroi entre les deux groupes bactériens. Ainsi, la présence d'une membrane externe hydrophile chez les Gram négatif bloque probablement la pénétration des composants hydrophobes des huiles essentielles dans la membrane des cellules cibles [121].

L'activité biologique des huiles essentielles est principalement liée à leurs constituants majeurs. La composition chimique de l'huile essentielle de la lavande officinale est dominée par le linalol [122]. Cependant, des études portant sur la relation entre l'activité antimicrobienne et la composition chimique, n'ont trouvé aucune corrélation entre la teneur en acétate de linalyle ou linalol et l'activité antibactérienne ou antifongique de *Lavandula* [123].

L'activité antimicrobienne de *Salvia officinalis* peut être attribuée à la présence de concentrations élevées de thuyone, 1,8-cinéole et de camphre, trois monoterpènes avec un potentiel antibactérien et antifongique bien documenté. Autre que les principaux composés, le pinène (un hydrocarbure monoterpène) et le bornéol (un monoterpène oxygéné), ainsi que d'autres constituants mineurs ont une activité antimicrobienne [124], [125], [126], [127].

3.5.2. Techniques quantitatives en milieu liquide : Concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB)

Les valeurs des CMI des huiles essentielles de la lavande et la sauge sont sensiblement égales pour toutes les bactéries testées (Tableau 3.4). La CMI des espèces d'*E. coli* est de 8%. *Salmonella typhimurium* et *Staphylococcus aureus* sont les plus sensibles avec une CMI de 0,5%.

Les CMB sont plus ou moins différentes entre les deux huiles essentielles (Tableau 3.4). Une concentration de 8% en huile essentielle de la lavande est efficace contre *E.coli* ATCC 25922. L'huile essentielle de la sauge est létale pour *Staphylococcus aureus* à une concentration de 1% et >16% pour les deux souches référenciées *E.coli* et *E.faecalis*.

Dans l'étude d'Inouye *et al.*, [128], les CMI de l'huile essentielle de la lavande vraie contre *S. aureus* et *E.coli* sont respectivement de 100mg/ml et >1600mg/ml. L'huile essentielle de la sauge est active sur *E.coli*, *S. typhimurium* et *S.aureus* ATCC 6538 à des doses de 5-10mg/ml, et bactéricide à des concentrations supérieures à 10mg/ml [124].

Le rapport CMB/CMI permet de savoir si une substance est bactéricide (si CMB/CMI<4) ou bactériostatique (Si CMB/CMI ≥ 4) [129].

Les rapports CMB/CMI des deux huiles essentielles sont inférieurs à 4 (tableau 3.7). Les deux huiles essentielles étudiées semblent donc exercer une action bactéricide contre *E.coli* ATCC 25922, *S.typhimurium* et sur *S.aureu* ATCC 6538 en plus pour la sauge.

Ce même rapport n'a pas pu être calculé pour les autres espèces bactériennes étudiées.

Tableau 3.4: Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des huiles essentielles étudiées

Huiles essentielles	Germes	CMI (%)	CMB (%)	CMB/CMI
<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	<i>E.coli</i> ATCC 25922	8	8	1
	<i>E.coli</i>	8	>16	NE
	<i>S.typhimurium</i>	0,5	0,5	1
	<i>S.aureu</i> ATCC 6538	0,5	>4	NE
	<i>E.faecalis</i> ATCC29212	2	>4	NE
<i>Salvia officinalis</i> L.	<i>E.coli</i> ATCC 25922	8	16	2
	<i>E.coli</i>	>16	NE	NE
	<i>S.typhimurium</i>	0,5	0,5	1
	<i>S.aureu</i> ATCC 6538	0,5	1	2
	<i>E.faecalis</i> ATCC29212	2	>16	NE

NE : non effectué.

3.6 Etude de l'activité antimicrobienne des HE *in vivo* : application sur les diarrhées infectieuses

3.6.1 Analyse de la flore intestinale des souris

Les résultats de l'analyse microbiologique des fécès de souris, avant le gavage, montrent que la flore intestinale est principalement composée de germes mésophiles totaux et de levures. Des résultats similaires ont été enregistrés par Doumandji et Neche (2008) [130].

Aucune présence d'*Escherichia coli* et/ou de *Salmonella typhimurium* n'a été signalée pour tous les lots d'animaux (Tableau 3.5).

L'identification de ces espèces est basée principalement sur leurs caractères biochimiques. Suite à un manque en sérums immunologiques, l'identification sérologique n'a pas eu lieu, ce qui pourra justifier l'absence d'*Escherichia coli*, habituellement l'espèce majeure de la flore intestinale normale.

Tableau 3.5 : Etude de la flore intestinale des souris

Espèces bactériennes recherchées	Présence
<i>Escherichia coli</i>	(-)
<i>Salmonella typhimurium</i>	(-)
Coliformes totaux	(-)
Coliformes fécaux	(-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	(-)
Entérocoques	(-)
Germes mésophiles totaux	(+)
Levures et moisissures	(+)

(-) : Absence ; (+) : Présence

3.6.2 Surveillance après gavage

3.6.2.1 Etat général

Après administration des suspensions bactériennes et des huiles essentielles aux souris suivant le protocole signalé au chapitre 2, le comportement de l'ensemble des souris est resté normal, l'alimentation avec le même rythme qu'avant l'administration. Cependant, nous avons noté une diminution de la mobilité pour tous les individus, juste après l'inoculation. Ceci n'a duré que quelques minutes puis une reprise de l'état normal (Tableau 3.6).

Tableau 3.6 : Etat général des souris après gavage

Lot 1 Sains	Lot 2 Malades		Lot 3 Sains traités		Lot 4 Malades traités			
	+	+ S.	+	+	<i>E.coli</i> +	<i>E.coli</i> +	S.	S.
	<i>E.coli</i>	<i>typhimurium</i>	lavande	saugue	<i>E.coli</i> + lavande	<i>E.coli</i> + saugue	S. <i>typhimurium</i> + lavande	S. <i>typhimurium</i> + saugue
Comportement : normal Mobilité : diminuée juste après gavage puis devenue normale								

3.6.2.2 Apparition de la diarrhée

Aucune apparition de diarrhées visible à l'œil nu n'a été signalée pour tous les lots étudiés sauf pour le deuxième groupe où la diarrhée a été notée 2 heures après administration de la suspension de *Salmonella typhimurium* et après 24 heures pour *Escherichia coli* (Tableau 3.7). Dans les deux cas, les excréments sont jaunâtres de consistance moelleuse avec une odeur fétide pour *Salmonella typhimurium* (Figure 3.30).

Le taux de mortalité est nul pour la quasi-totalité des individus sauf le groupe B du deuxième lot inoculé par *Salmonella* dont 2/3 de la population trouvés mort.

L'étude de Marcin *et al.*, (2006) [91], concernant l'effet des huiles essentielles de la sauge et de l'origan, comme additif alimentaire, sur les diarrhées chez les porcs sevrés a donné des résultats encourageants. Une diminution de l'incidence des diarrhées ainsi qu'un taux de mortalité nul ont été enregistrés.

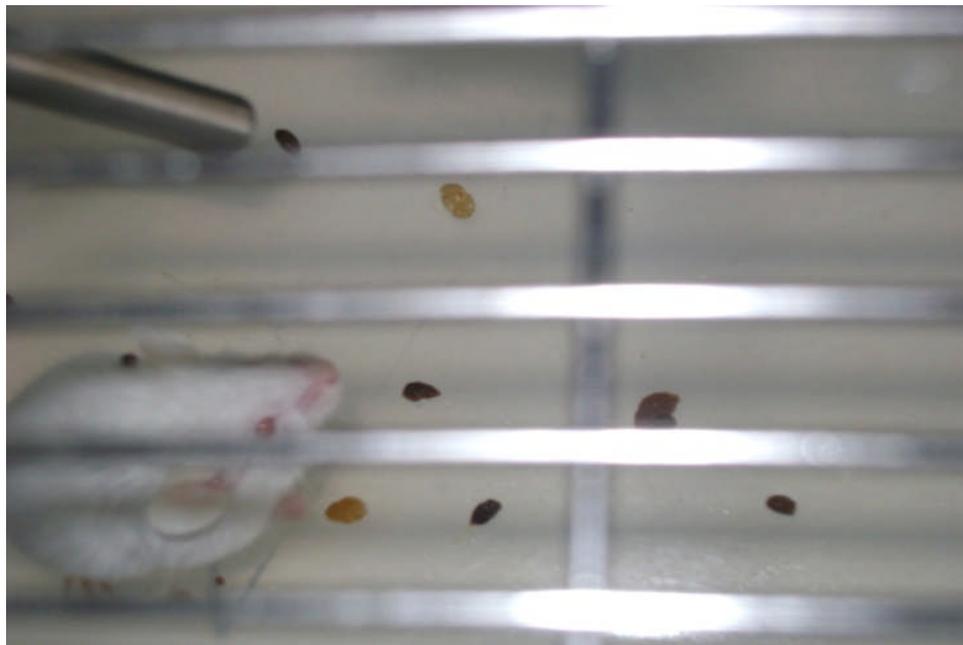


Figure 3. 30: Aspect des diarrhées apparues après administration d'*Escherichia coli* (Originale 2010).

Tableau 3.7 : Incidence de la diarrhée

Lots		Incidence de la diarrhée			
		Apparition	Aspect	Présence d'éléments	mortalité
Lot 1 sains		(-)	(-)	(-)	0%
Lot 2 malades	A	24 heures	Molles, jaunes	(-)	0%
	B	2 heures	Molles, jaunes, odeur fétide	(-)	66,67%
Lot 3 Sains traités	A'	(-)	(-)	(-)	0%
	B'	(-)	(-)	(-)	0%
Lot 4 Malades traités	A''	(-)	(-)	(-)	0%
	B''	(-)	(-)	(-)	0%
	C	(-)	(-)	(-)	0%
	D	(-)	(-)	(-)	0%

(-) : Absence ; A : + *E.coli* ; B : + *S. typhimurium* ; A' : + lavande ; B' : + sauge ; A'' : *E.coli*+ lavande ; B'' : *E.coli* + sauge ; C : *S. typhimurium* +lavande ; D : *S. typhimurium* + sauge

3.6.2.3 Etude microbiologique

➤ Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli* et de *Salmonella typhimurium*

Les résultats de la surveillance microbiologique des souris après gavage sont représentés dans la figure 3.31.

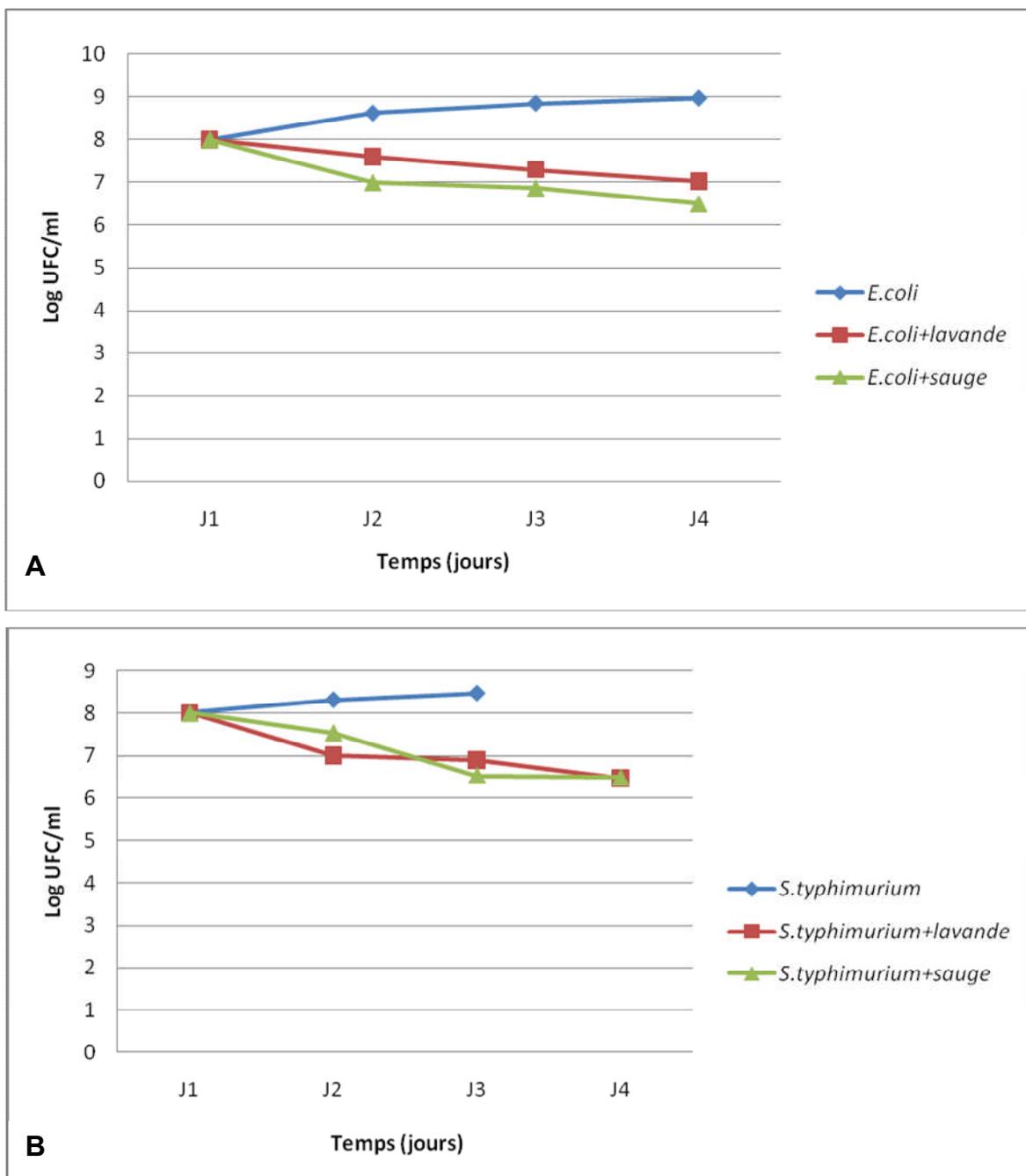


Figure 3.31: Evolution du nombre d'*Escherichia coli* (A) et *Salmonella typhimurium* (B) seules et après administration des HE testées.

En administration seule, le dénombrement des deux espèces bactériennes *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*, va dans un sens croissant à partir du premier jour pour atteindre son maximum le quatrième jour pour *Escherichia coli* et le troisième jour pour *Salmonella typhimurium* dont nous avons noté une détérioration de l'état des souris de ce lot avec mortalité probablement due à une forte diarrhée.

Le nombre d'*Escherichia coli* et de *Salmonella typhimurium* a diminué considérablement après l'administration des huiles essentielles de la lavande et de la sauge. Les deux huiles essentielles ont un effet antidiarrhéique proche (la différence n'est pas significative $p > 0,05$).

Au premier jour, le nombre d'*Escherichia coli* est de l'ordre de 10^8 UFC/ml. Ce taux commence à diminuer dès le deuxième jour pour atteindre au J4 $1,05 \cdot 10^7$ UFC/ml en présence de l'huile essentielle de la lavande et $3,2 \cdot 10^6$ UFC/ml en présence de l'huile essentielle de la sauge.

Le taux de *Salmonella typhimurium* initial est de 10^8 UFC/ml. Au J2, ce taux a diminué d'un log en présence des deux huiles essentielles étudiées soit 10^7 UFC/ml pour la lavande et $3,5 \cdot 10^7$ UFC/ml pour la sauge. Le nombre de *Salmonella typhimurium* continue à diminuer jusqu'à atteindre, après quatre jours d'administration, $3 \cdot 10^6$ UFC/ml et $3,1 \cdot 10^6$ UFC/ml pour la lavande et la sauge respectivement.

Contrepois et Gouet [131], étudiant la cinétique d'excrétion fécale d'*Escherichia coli* k99+ par des veaux après infection expérimentale, ont trouvé des taux importants de bactérie (10^5 à 10^8 /g) après 24 heures d'inoculation et jusqu'à 8 jours d'expérience.

3.6.3 Etude histologique

Une semaine après le traitement, tous les groupes d'animaux ont été sacrifiés et un examen histologique de leurs intestins grêles a été effectué afin de détecter la présence éventuelle de changements morphologiques.

3.6.3.1 Groupe des animaux sains

La morphologie intestinale des souris du groupe témoin est d'aspect normal en se référant à la bibliographie [132], [133] et [134]. Aucune présence d'infiltrations inflammatoires n'a été signalée pour les trois parties de l'intestin grêle : duodénum, jéjunum et iléon (Figure 3.32). La muqueuse est d'allure normale, les villosités tapissées d'entérocytes sont de forme et de taille normale.

3.6.3.2 Groupes des animaux sains traités

- Sains recevant la lavande

Les coupes histologiques du duodénum, jéjunum et iléon des souris ayant reçues l'huile essentielle de la lavande, montrent un aspect normal par rapport aux témoins (Figure 3.33)

- Sains recevant la sauge

L'administration de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* aux souris du lot 2B, n'a pas provoqué des changements morphologiques de l'intestin (Figure 3.33). Le décollement de la musculature au niveau du duodénum est un artéfact lors des manipulations.

3.6.3.3 Groupes des animaux malades

- Malades infectées par *Escherichia coli*

Concernant le groupe d'animaux infectés par *E. coli*, des modifications histologiques considérables ont été remarquées surtout au niveau du duodénum et jéjunum (Figure 3.34). Nous avons observé un effacement du sommet des villosités avec infiltration des cellules inflammatoires.

- Malades infectées par *Salmonella typhimurium*

Les coupes histologiques du duodénum, jéjunum et iléon des souris infectées par *Salmonella typhimurium* sont représentées dans la figure 3.34. Nous avons remarqué des modifications morphologiques des villosités surtout au niveau de l'iléon.

Salmonella typhimurium traverse la barrière épithéliale intestinale chez la souris et adhèrent aux cellules M [135], [136]. Il existe des différences régionales dans la réponse à l'infection par *Salmonella* ; une sécrétion jéjunale en absence d'invasion et de changement histologique significatif contraste avec la sécrétion issue de l'iléon et du côlon, où l'on observe la présence de bactéries dans les tissus, des changements morphologiques importants et une inflammation [137].

3.6.3.4 Groupes des animaux malades traités

- Malades infectées par *E. coli* et recevant la lavande

Les souris infectées par *E.coli* puis recevant l'huile essentielle de la lavande présentent une morphologie intestinale semblable aux animaux sains (Figure 3.35) sauf au niveau jéjunal où les déformations villositaires n'ont pas disparues.

- Malades par *E.coli* et recevant la sauge

Les animaux infectés par *E.coli* puis ayant reçues l'huile essentielle de la sauge après 2 heures comme traitement thérapeutique ne sont pas totalement guéries. Des modifications de villosités au niveau du duodénum ont été signalées (Figure 3.35).

- Malades par *Salmonella typhimurium* et recevant la lavande

Lavandula angustifolia demeure active contre *Salmonella typhimurium* sauf au niveau du jéjunum (Figure 3.35).

- Malades par *Salmonella typhimurium* et recevant la sauge

Des changements histopathologiques considérables ont été remarqués sur les souris infectées par *S. typhimurium* puis recevant l'huile essentielle de la sauge. Ceci est plus accentué au niveau de l'iléon où nous avons signalé un effacement de la quasi-totalité de la surface des villosités avec infiltration importante des lymphocytes (Figure 3.35).

En présence des deux huiles essentielles et pour les deux bactéries testées, nous avons enregistré une persistance des modifications histologiques ceci peut être expliqué par la faible concentration en HE que nous avons utilisé et/ou une malabsorption intestinale des HE.

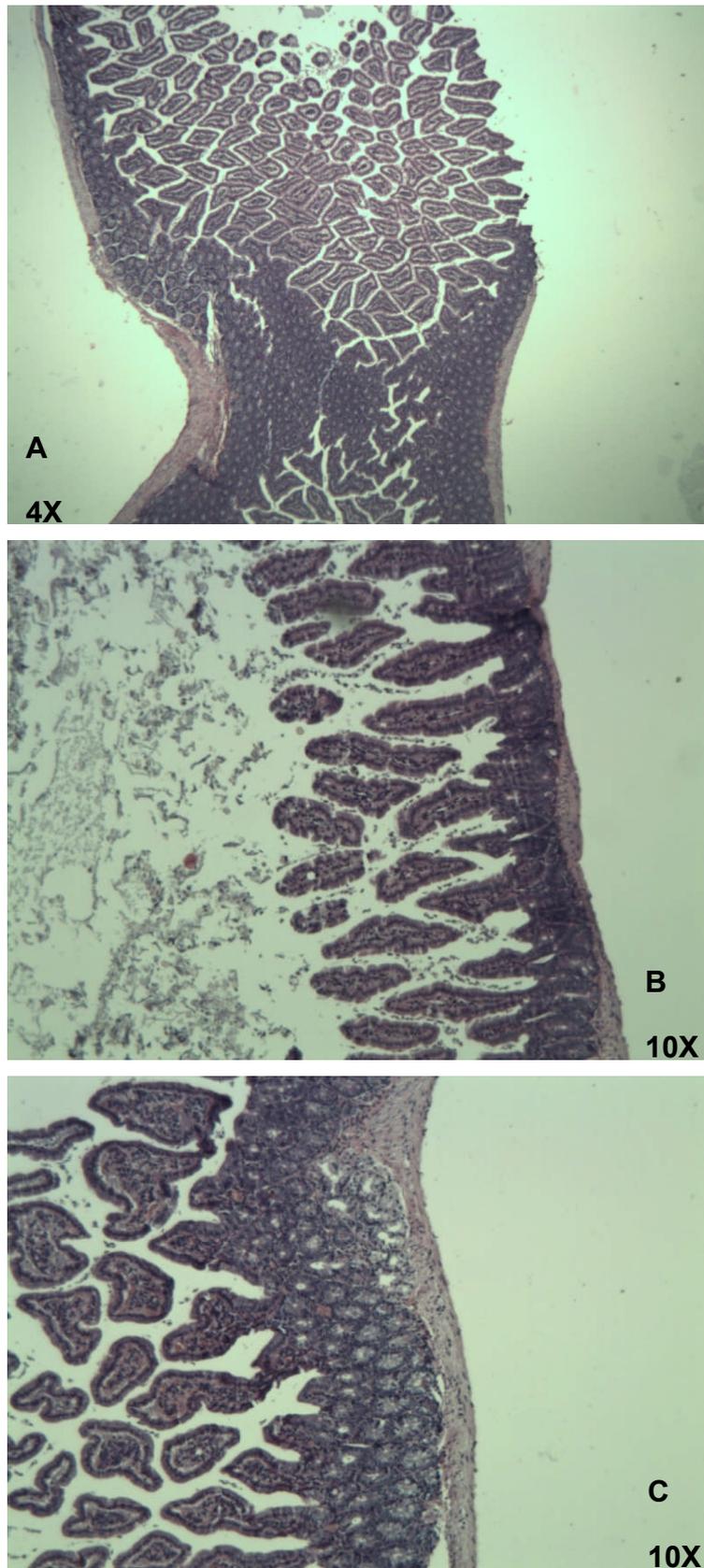


Figure 3.32 : Coupes longitudinales de l'intestin du lot témoin. Coloration à l'hématéine-éosine 4x et 10x (Originale 2010)

A : Duodénum, B : Jéjunum, C : Iléon

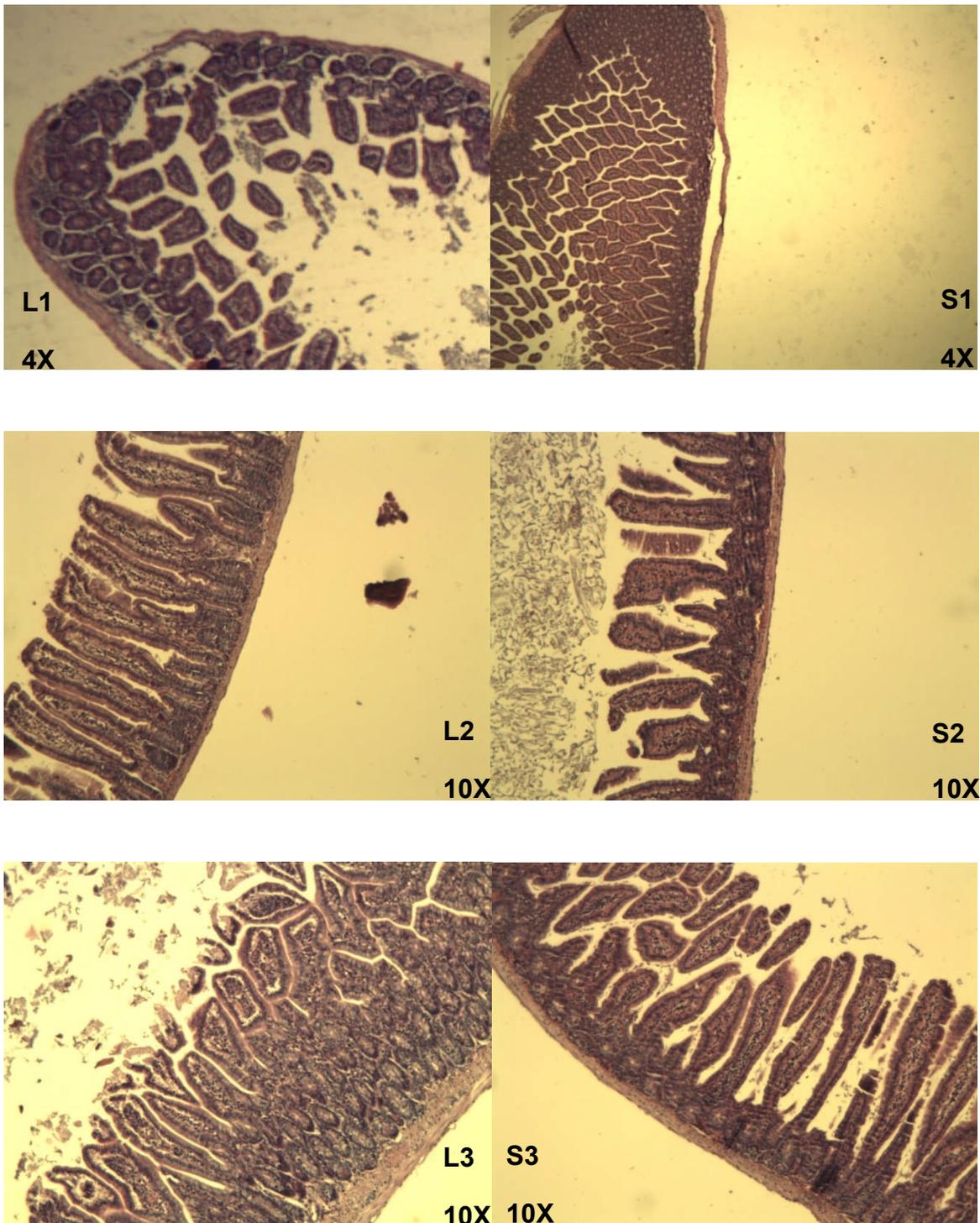


Figure 3.33 : Coupes longitudinales des intestins d'animaux sains traités.

Coloration à l'hématéine-éosine 4x et 10x (Originale 2010)

L : Lavande ; L1 : Duodénum ; L2 : Jéjunum ; L3 : Iléon

S : Saugé ; S1 : Duodénum ; S2 : Jéjunum ; S3 : iléon

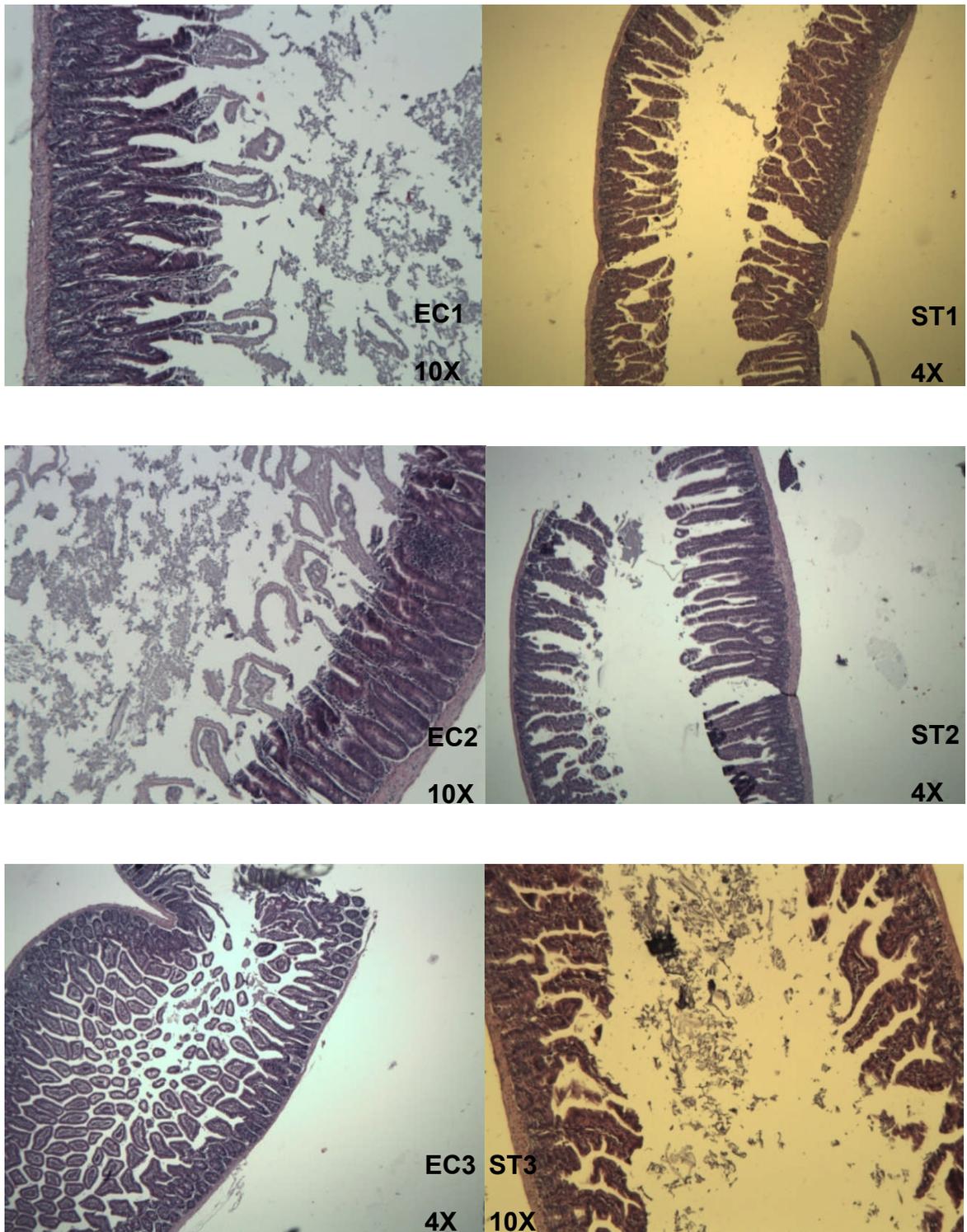


Figure 3.34 : Coupes longitudinales des intestins d'animaux malades. Coloration à l'hématéine-éosine 4x et 10x (Originale 2010)

EC : *Escherichia coli* ; EC1 : Duodénum ; EC2 : Jéjunum ; EC3 : Iléon

ST : *Salmonella typhimurium* ; ST1 : Duodénum ; ST2 : Jéjunum ; ST3 : Iléon

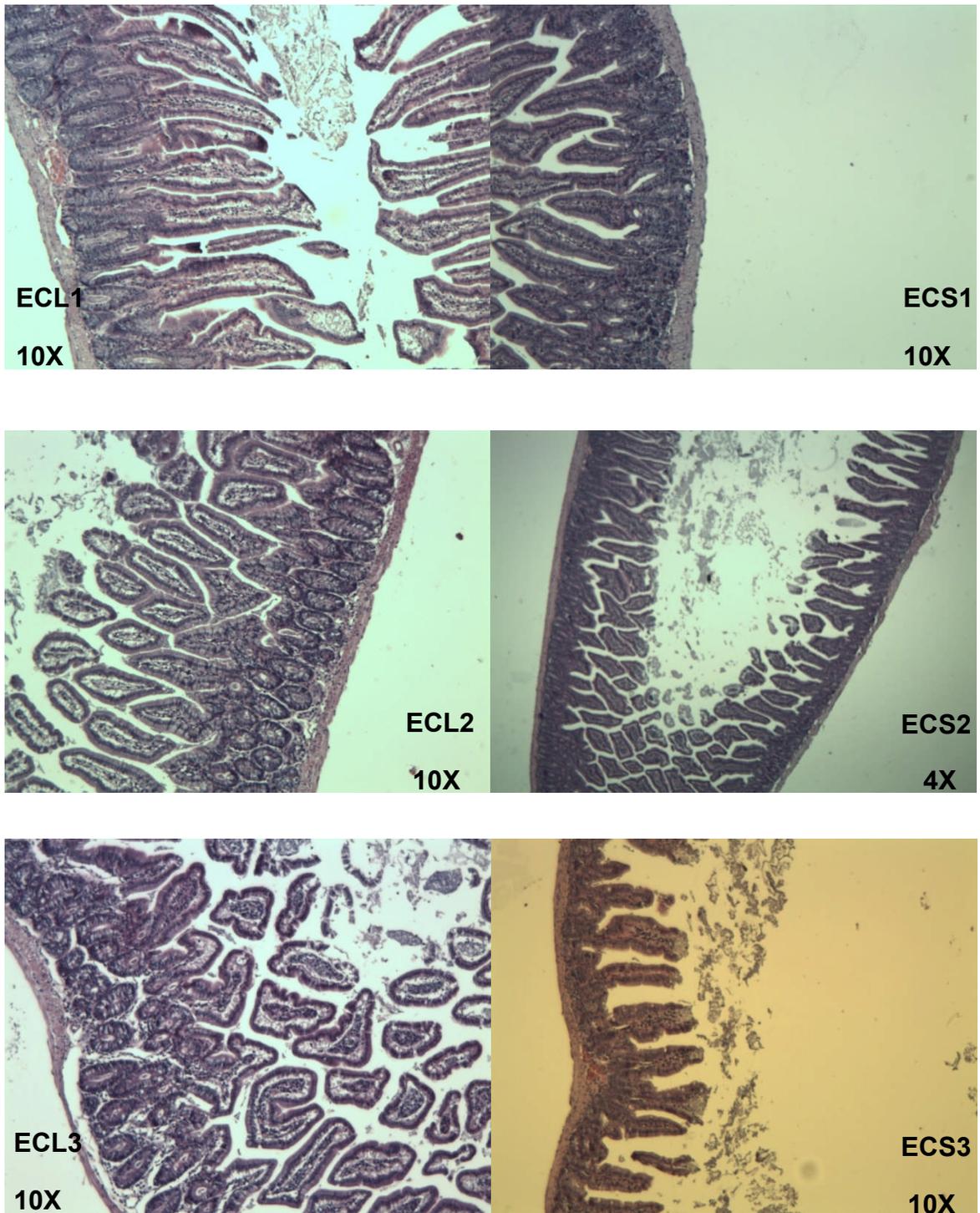


Figure 3.35 : Coupes longitudinales des intestins d'animaux malades traités. Coloration à l'hématéine-éosine 4x et 10x (Originale 2010)

ECL : *Escherichia coli* + lavande ; ECL1 : Duodénum ; ECL2 : Jéjunum ; ECL3 : Iléon
 ECS : *Escherichia coli* + sauge ; ECS1 : Duodénum ; ECS2 : Jéjunum ; ECS3 : Iléon

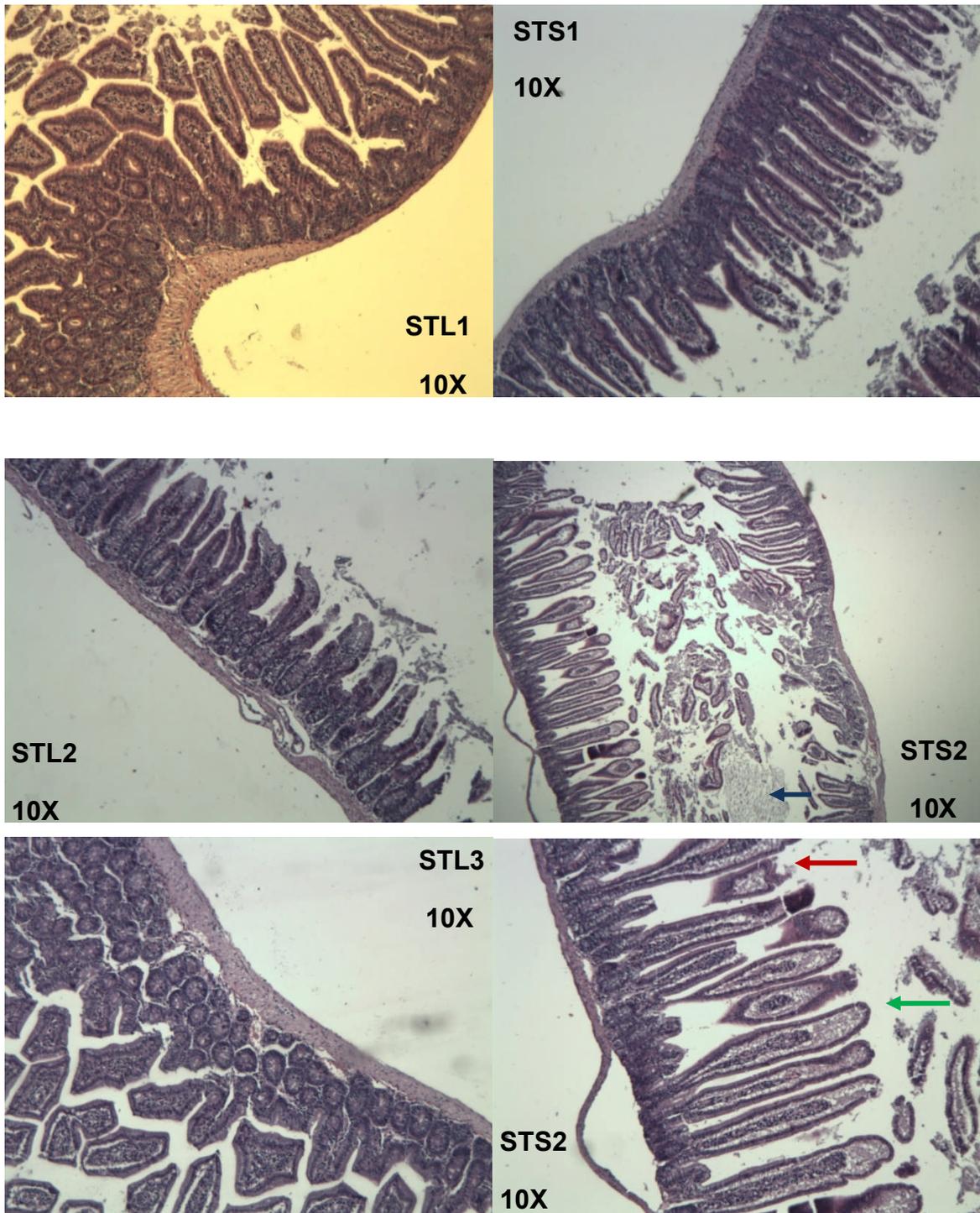


Figure 3.35: Coupes longitudinales des intestins d'animaux malades traités (suite)
Coloration à l'hématéine-éosine 4x et 10x (Originale 2010)

STL : *Salmonella typhimurium*+lavande ; STL1 : Duodénum ; STL2 : Jéjunum ; STL3: Iléon
STS : *Salmonella typhimurium*+saugé ; STS1 : Duodénum ; STS2 :Jéjunum ; Les flèches indiquent les différents changements histologiques comme : (→) mucus dans le lumen ; (→) dégénérescence et nécrose des entérocytes ; (→) villosités en forme spatule.

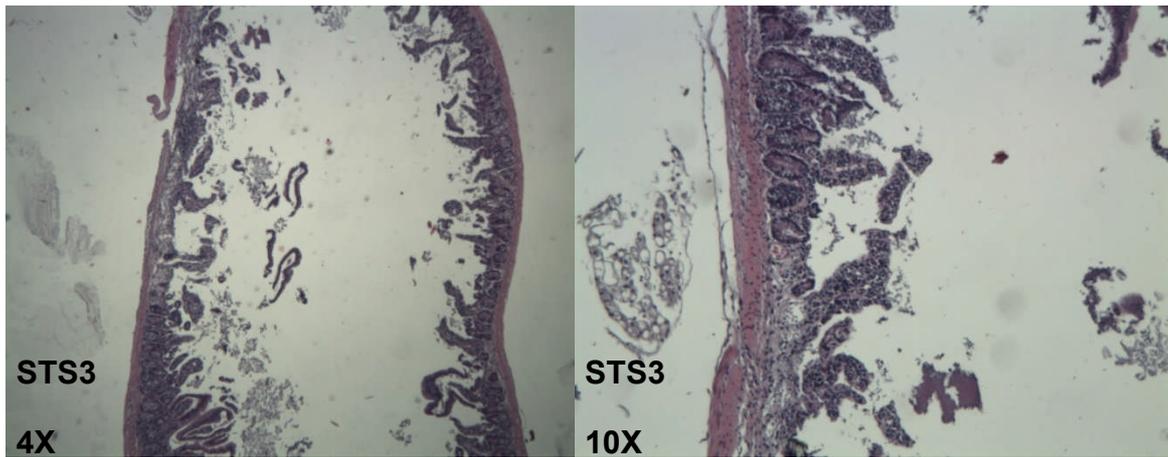


Figure 3.35 : Coupes longitudinales des intestins d'animaux malades traités (suite)
Coloration à l'hématéine-éosine 4x et 10x (Originale 2010)

STS : *Salmonella typhimurium*+sauge ; STS3 : Iléon.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Notre étude, menée sur les huiles essentielles de deux plantes à caractères thérapeutiques *Lavandula angustifolia* Mill. et *Salvia officinalis* L. a pour objectif l'évaluation de leur effet antimicrobien et antidiarrhéique.

L'examen macroscopique et microscopique des tiges de ces deux plantes nous a permis de repérer le lieu de sécrétion des huiles essentielles : les poils sécréteurs.

Le rendement de l'extraction des huiles essentielles est de 0,11% pour la lavande et 0,60% pour la sauge.

Le test de sensibilité des germes vis-à-vis des huiles essentielles étudiées appelé aromatogramme a été réalisé par la technique de diffusion sur gélose, en utilisant cinq souches bactériennes Gram positive et Gram négative. Ce test nous a montré un effet inhibiteur modéré en moyenne pour les deux huiles essentielles étudiées et sur l'ensemble des bactéries utilisées. Les diamètres des zones d'inhibition varient de 14,00 jusqu'à 28,50mm et entre 14,00 et 32,50 mm pour la lavande la sauge respectivement.

La mesure des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) des deux huiles essentielles a été réalisée par dilution en milieu liquide. Les CMI varient entre 0,5 et 8% pour *Lavandula angustifolia* et entre 0,5 et 16% pour *Salvia officinalis*. Les CMB sont plus ou moins différentes entre les deux huiles essentielles testées. Le rapport CMB/CMI nous a permis d'estimer un pouvoir bactéricide des huiles essentielles de la lavande et la sauge sur *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Salmonella typhimurium*.

L'effet antidiarrhéique, des huiles essentielles étudiées, réalisé sur des souris expérimentalement infectées, a été signalé clairement après 24 heures du gavage. Le nombre d'*Escherichia coli* et de *Salmonella typhimurium* a diminué après l'administration du traitement.

L'efficacité des huiles essentielles a été évaluée, en plus, par un examen histologique du duodénum, jéjunum et iléon de tous les groupes d'animaux étudiés. L'observation au microscope photonique des coupes, nous a permis de signaler l'installation de l'infection et un effet antidiarrhéique plus ou moins modéré.

RECOMMANDATIONS

A la lumière de ces résultats, nous pouvons dire que *Lavandula angustifolia* Mill. et *Salvia officinalis* L. sont deux plantes médicinales à caractères thérapeutiques considérables. Cependant, ces premiers essais ne sont que prometteurs. Des études complémentaires plus poussées, sont à entreprendre, notamment :

- L'utilisation d'autres procédés d'extraction des huiles essentielles afin de sélectionner la technique la plus rentable du point de vue économique ;
- Réserver des espaces verts spécifiques à la culture des plantes médicinales et aromatiques pour préserver la nature d'une part et maîtriser les conditions de culture d'autres part ;
- L'étude de la toxicité des plantes avant d'approuver leurs utilisations ;
- Pour l'activité antimicrobienne, il faut penser à des techniques plus poussées et automatisées ;
- L'utilisation de mixture d'huiles essentielles afin d'étudier les effets synergiques de la diversité des constituants majeurs et mineurs présents dans les huiles essentielles.
- Pour l'effet antidiarrhéique, il faut poursuivre le test avec des inoculations répétées, prolongation de la durée du traitement et la mesure du volume et surface d'absorption intestinale.

Toutes ces recommandations sont suggérées pour élargir le spectre d'action des plantes médicinales et aromatiques et profiter le maximum possible des bienfaits de leurs molécules naturelles que ça soit en thérapie humaine et animale ou encore en industrie agro-alimentaire et cosmétique dans le temps où la nature a cédée la place aux produits synthétiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Houdret J.C., « Bien se soigner par les plantes », Editions Solar, Paris (2004),
2. Ahmad I., Aqil F., Owais M., « Modern phytomedicine. Turning medicinal plants into drugs », Wiley-VCH, (2006), 384p.
3. Boukhatem M.N., Hamaidi M.S., Saidi F. Et Hakim Y., « Extraction, composition, et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie) », Nature Et Technologie, n°03, (juin 2010), 37-45.
4. Teuscher E., Anton R. Et Lobstein A « Plantes aromatiques. Épices aromates, condiments et huiles essentielles », Lavoisier Edition Tec et Doc, Paris (2005), 522p
5. Festy D., "Ma bible des huiles essentielles .Guide complet d'aromathérapie", Leduc.S édition, Paris (2007), 549p.
6. Padrini F., Lucheroni M.T, "Le grand livre des huiles essentielles Guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté grâce aux essences ", de Vecchi S.A, Paris(2006), 206 p
7. Bruneton J ., "Pharmacognosie , phytochimie , plantes médicinales", Troisième édition , éditions tech et doc ; Paris (1999), 1120 p.
8. Telephon T. "ABC des huiles essentielles", GRANCHER, Paris (2008), 399 p.
9. Pengelly A. "the constituents of medicinal plants, an introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicines " 2nd edition, sunflower herbals, Australia (1996), 109 p,
10. Catier O., Roux D. "Cahier du préparateur en pharmacie –botanique-pharmacognosie –phytothérapie", 3^{ième} édition Edition Wolter Kluwer, Paris (2007), 141 p.
11. Charpentier B. Namon, Lorleak'h , Harley A. Huard A. Ridoux L. Chausellé S., "Guide du préparateur en pharmacie" 3^{ième} édition , Masson, Paris (2008), 1358 p

12. Crozier A, Clifford M.N. and Ashihara H. "Plant secondary Blackwell publishing, UK (2006), 372 p
13. Inouye S., Abe S., "Nouvelle approche de l'aromathérapie anti-infectieuse", *Phytothérapie* (2007), n°1, 2-4.
14. Burt S., "Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review", *International Journal of Food Microbiology* 94 (March 2004), 233-253.
15. Duraffourd C Et Lapraz C. "Traité de phytothérapie chimique" Elsevier Masson, Paris (2002), 827 P
16. Rhayour K. "Etude de mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*", thèse de doctorat en biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et à la santé, Fès (2002).
17. Kurita N., Miyaji M., Kurane R., Takahara Y. et Ichimura K., "Antifungal activity and molecular orbital energies of aldehyde compounds from oils of higher plants. *Agric. Biol. Chem.* n°43 (1979) 2365-2371.
18. Cox S.D, Gustafson J.E, Mann C.M., Markhal J.L., Liew Y.C., Hartkand R.P., Bell H.C., Warmington J.R., Wyllie S.G., "Tea tree oil causes K⁺ leakage and inhibits respiration in *Escherichia coli*", *Letters in Applied Microbiology*, 26 (1998) , 355-358 .
19. Carson C.F., Mee B.J. and Riley T.V., "Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) Oil on *Staphylococcus aureus* Determined by Time_kill, lysis, leakage and salt tolerance assay and electron microscopy", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* ,V.46, N° 6 (June 2002) , 1914-1920.
20. Cristina E.D, "Understanding true Aromatherapy understanding essential oils", *Home health care management practice* V.16 n°6 (octobre,2004) 474-479
21. Scumeca D., Tétou M. "Votre santé par les huiles essentielles le guide pratique pour prévenir et guérir tous les maux quotidiens " Editions alpen (2005), 94 p.
22. Bouffkers B. "Sous naturels des dents" Editions Equilibre (2005), 223 p.
23. Price S., Price L., "Aromatherapy for health professionals", 3rd edition, Elsevier health sciences, (2007), 576 p.
24. Losa R., "The use of essential oils in animal nutrition ", CRINA SA, Switzerland , 39-44.

25. Chami F." Evaluation *in vitro* de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et le traitement de la candidose vaginal sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés " thèse de Doctorat d'Etat ES Science Fès (2005)
26. Deysson G. "cours de botanique general organisation et classification des plantes vasculaires , systématiques 4^{ième} série T :2 CDU et SEDES, Paris (1979), 540 p
27. Quezel P. et santa S. Nouvelles flores de l'Algérie et des régions désertique méridionale " T III centre Nationale de la recherche scientifique Paris (1963)
28. Judd W.SS Campbell C.S., Kellogg E.A, « Botanique systématique une perspective phylogénétique », De Boeck université, Bruxelles (2002) 467 p.
29. Luttge U., Kluge M., Baur G., « Botanique », 2^{ème} édition, Editions Tec et Doc, paris (1996), 588p.
30. Charles E.W., « Treas and Evan's Pharmacognosy », Harcourt Brace & Co, (1997), 612p.
31. Goris A. "Manuel de botanique " vigot frères editeurs Paris (1967) 392 p.
32. Dupont F., Guiguard J.L. et pelt J.M. "Botanique systématique moléculaire " 14^{ième} edition Masson Paris (2007) 285 p.
33. Ait Youssef M. "Plantes médicinales de kabylie ", Ibis press, Paris (2006), 349p.
34. Erust E., Pitter M .H., Stevinson C. white A. et Eisenberg D., "Medcines alternatives le guide critique ", Elsevier Masson, Paris (2005)
35. Dellile L., « Les plantes médicinales d'Algérie », Berti Editions, Alger (2007), 240p.
36. Cheij R . "les plantes médicinales " solar, Paris (1982), 442 p.
37. Bartels A. " Guide des plantes du bassin méditerranéen " Editions EUGEN ULMER, Paris (1998), 400p.
38. Wichtl M. et Anton R. "plantes thérapeutique traditions pratique officinale science et thérapeutique" 2^{ième} edition Tec et Doc Paris(2003) 692p .
39. Héraud A. "Nouveau dictionnaire des plantes médicinales ", adamat media Corporation, Paris (2006), 614 p.
40. Paris R .R., Moyse H., "Matières médicinales pharmacognosie spéciale dicotylédones (suite) gamopétales " T. III, Masson et C^{ième}, Paris (1971), 509p.
41. L'équipe des enseignants du dumenat phytothérapie, (2007), 447P.

42. Squire D., « Le guide du jardinier, comment cultiver plus de 500 variétés de fleurs, arbres et arbustes, des azalées aux zinnias », Casterman, (1993), 192p.
43. Managan D. et Polèse J.M., "les plantes comestibles " Edition de borée (2007) 80p.
44. Brgeois L. " Le grand livre des plantes aromatiques ", Rustica éditions, Paris (2007) 191p.
45. Meunier C., "lavandes et lavandins " 2^{ème} édition, EDISUD, AIX en Provence (1992), 223p.
46. Carlier V., « Herbiere médicinale. 35 plantes de santé à herboriser », Editions Aubanel, Genève (2005), 203p.
47. Thurzova L. "Les plantes saulées qui poussent autour de nous" Bordas (1985), 268p.
48. Khare C.P. « Indian medicinal plants ». Springer. Berlin (2007). 846p.
49. beauquesue L.B. Pinkas M. Torck M. et Troitin F. "Plantes médicinales des régions tempérées" Maloine S.A. Editeur, Paris (1980), 439p.
50. Kuhn M.A., Winston D. " Herbal therapy and supplements Acientific and traditional approach" 2nd edition Lippincott Williams and wilkins U.S.(2008) 560p.
51. Block K.I., Gyllenhaal C., Mead M. N., « Safety and Efficacy of Herbal Sedatives in Cancer Care », Integr. Cancer Ther., n°3, (2004), 128-148.
52. Volck J. Stodola J. Severa F., "Plantes médicinales ", GRÜND, Paris (1983), 319p.
53. Ckébert J .P. « Herbiere provençal », Rivages éditions, Paris (1985), 111p.
54. Peter K.V., "Handbook of Herbs and spices", Volume 2, Woodhead Publishing Limited, U.K (2004), 365p.
55. Finnel G . "Arbres et plantes médicinales du jardin" Editions Fernand lamore paris (2002) 162p.
56. Thess B.P. "The family herbal, a guide to natural health care for yourself and your children", bear and company Rochester, Vermont (1993), 288p.
57. Verbois S, "Plantes et herbes aromatiques saveur et vetrus" Editions fernard lamore (2002), 233p.
58. Flora des ondes "le pouvoir des fleurs dans votre jardin" 2nd Edition , Edition flora des ondes, (2002), pp 33 -39.
59. Price S., Price L., « Aromatherapy for health professionals », 3ed edition, Elsevier Health Sciences (2007), 576p.

60. Cabaret J. "167 Plantes pour soigner phytothérapie vétérinaire " Edition du point vétérinaire Paris 192p.
61. Grunwald J. " Guide de la phytothérapie" Edition Manasont Munich (2006) 416p.
62. Descheemaeker K., « Nutri- et phytothérapie, développements récents », Garant, Belgique (2001), pp 53.
63. Roux D., « Les nouvelles plantes qui soignent, découvrez les pouvoirs naturels des plantes médicinales », Alpen éditions, Paris (2005), 195p.
64. Fintelmann V., Weiss R.F., « Manuel pratique de phytothérapie », Editions vigot, Paris (2004), 438p.
65. Beloued A., « Plantes médicinales d'algérie », OPU, Alger (2005), 284p.
66. Teuscher E., Anton R., Lobstein A., « Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles », Editions Tec et Doc, Paris (2005), 522p.
67. Wichtl M., Anton R., « Plantes thérapeutiques. Tradition pratique officinale, science et thérapeutique », 2^{ème} édition, Tec et Doc, Paris (2003), 692 p.
68. Bayer F., Buttler K.P., Finkenzeller X., Gran J., « Guide de la flore mediterannéenne. Caractéristique, habitat, distribution et particularités de 536 espèces », Editions Delachaux et Niestlé, Paris (2001), 287 p.
69. Garnerio J., « Techniques de l'ingénieur, traité Constantes physico-chimiques », Centre Français d'exploitation (1996), K345.
70. Kintziors S.E., « Sage, the genus Salvia », harwood academic publishers, (2000), 289p.
71. Girre L., « Les plantes et les médicaments, l'origine végétale de nos médicaments », Editions delachaux et Niestlé, Paris (2006), pp 151.
72. Carré D., « Conduite à tenir devant une diarrhée aiguë. Etiologies », EMC-Chirurgie, n°1, (2004), 493-532.
73. Schaechter M., Medoff G., Eisentein B.I., « Microbiologie et pathologie infectieuse », de Boeck Université, paris (1999), 973 p.
74. Larrot M., Vasseur M., « Physiopathologie de la diarrhée à rotavirus », journal de pédiatrie et de puériculture », n° 20, (2007), 330-336.
75. Belaiche J., « Physiopathologie des diarrhées aiguës infectieuses », Acta Endoscopica, V.30, n°3, (2000), 177-184.
76. Cavallo J.D., Garrabé E., « les étiologies infectieuses des diarrhées du voyageur », Médecine et maladies infectieuses (2007), n°37, 722-727.

77. Joly B., Reymand A., « Entérobactéries. Systématique et méthodes de diagnostic », éditions Tec et Doc, Paris (2003), 356p.
78. Avril J.L., Dabernat H., Denis F., Monteil H., « Bactériologie clinique », 2^{ème} édition, ellipses, Paris (1992), 511p.
79. Nauciel C., Vildé J.L., « Bactériologie médicale », Masson, Paris (2005), 257p.
80. Le Bouguéneq C., « Diagnostic des différents pathovars d'*Escherichia coli* responsables de diarrhées chez l'homme », revue Française des laboratoires, n° 314, (Juin 1999), 33-37.
81. Ferron A., « Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine », 12^{ème} édition, éditions C. et R., (1983), 376p.
82. Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., « Microbiologie », 2^{ème} édition, De Boeck Université et Larsier S.A., Bruxelles (2003), 1137p.
83. Anglaret X., Mortier E., « maladies infectieuses », 3^{ème} édition, éditions ESTEM, Paris (2003), 292p.
84. Aunnaitre H., Lecaillon E., Ollivier S., Bouchaud O., « Diarrhées bactériennes », EMC-Chirurgie, n°1, (2004), 437-454.
85. Olives J.P., Mas E., « Diarrhées aiguës virales : aspects cliniques et évolutifs », Archives de pédiatrie, n°14, (2007), S152-S155.
86. Hart T., Shéars P., « Atlas de poche de microbiologie », Médecine-Sciences Flammarion, Paris (1999), 314p.
87. Bourrée P., Lançon A., Resende P., « Parasitoses intestinales émergentes », Revue Francophone des laboratoires, n°399, (Février 2008), 23-28.
88. Groupe scientifique sur l'eau, « *Cryptosporidium*, Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaines », Institut national de santé publique du Québec (2003), 9p.
89. Morin R., « Lutte Contre L'infection à *Cryptosporidium Parvum* : Application à la Cryptosporidiose Bovine », thèse de l'ENV-Nantes, (2002).
90. Khiati M., « Guide des maladies infectieuses et parasitaires », Offices des publications universitaires, Alger (1998) 256p.
91. Marcin A., Laukova A., Mati R., « Comparision of the effect of *Enterococcus faecium* and aromatic oils from sage and oregano on growth performance and diarrhoeal diseases of weaned pigs », Biologia, Bratislava, v.61, n°6, (2006), 789-795.

92. Salud Pérez G., Cuauhtemoc Pérez G., Zavala S. M.A., « A study of the antidiarrheal properties of *Loeselia mexicana* on mice and rat », *Phytomedicine*, n°12, (2005), 670-674.
93. Teke G.N., Kuate J.R., Ngouateu O.B., Gasting D., « Antidiarrhoeal and antimicrobial activities of *Emilia coccina* (Sims) G. Don extracts », *Journal of Ethnopharmacology*, n°112, (2007), 278-283.
94. Théodorou V., Fioramonti J., Hachet T., Buéno L., « Absorptive and motor components of the antidiarrhoeal action of loperamide : an *in vivo* study in pigs », *Gut*, n°32, (1991), 1355-1359.
95. Pharmacopée URSS, 11^{ème} édition, Tome II, éditions MOSCOU MEDICINAL, (1991), 250p.
96. AFNOR : Association Française de Normalisation, « Huiles essentielles, monographies relatives aux huiles essentielles (H à Y) », Tome 2, V. 2, paris (2000), 663p.
97. Latreche A., « Etude de l'effet microbiologique de deux plantes à caractères thérapeutiques : la lavande officinale (*Lavandula angustifolia* Mill.) et le plantin lancéolé (*Plantago lanceolata* L.) », mémoire d'ingénieur en biotechnologie végétale, Blida 2009.
98. Dif S., « Caractérisation biochimique de *Salvia officinalis* et *Salvia chudaiei* Batt et Trab. Etude de leurs activités biologiques », mémoire de magister en biotechnologie végétale, Blida (2011).
99. De Billerbeck V.G., « Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques », *Phytothérapie*, n°5, (2007), 249-253.
100. NCCLS. Clinical and laboratory standards institute, « performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests ; approved standard », 9th edition, V. 26, n°1, (January 2006), 37P.
101. Société française de microbiologie, « Comité de l'antibiogramme de la société Française de microbiologie », (Janvier 2006).
102. Meena M.R., Sethi V., « Antimicrobial of essential oils from spices », *J. Food.SCI. And tech. Mysore*, v. 31, (1994), 68-70.
103. Joyce M., Woods C.W., «Antibacterial susceptibility testing in the clinical laboratory», *Inf.Dis.Clin.N.Am.* (2004), n° 18, 401-434.

104. Mann C.M., Markham J.L., "A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils", *Journal of Applied Microbiology* (1998), n° 84, 538-544.
105. Calop J., Limat S., Fernandez C., "Pharmacie Clinique et thérapeutique", Masson, Paris (2008), 1308p.
106. Bonnefoy C., Guillet F., Leyral G., Bourdais E.V., "Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires", doins éditeurs, France (2002), 245p.
107. Hubrecht R., Kirhwood J., "The UFAW handbook on the care and management of laboratory and other research animals", 8th edition, Wiley-Blackwell, UK (2010), 837p.
108. Suckow M.A., Danneman P., Brayton C., « A volume in the laboratory animal pocket reference series, the laboratory mouse », CRC Press LLC, Florida (2001), 168p.
109. De Man J.G., Chatterjee S., De Winter B.Y., Vrolix G., Van Marck E.A., Herman A.G., Pelckmans P.A., « Effect of somatostatin on gastrointestinal contractility in *Schistosoma mansoni* infected mice », *International Journal for parasitology*, n°32, (2002), 1309-1320.
110. Dadoune J.P., Hadjiisky P., Siffroi J.P., Vendrely E., « Histologie. De la biologie à la clinique », Médecine-Sciences.Flammarion, Paris (1998), 462p.
111. Martoja R., Martoja-Pierson M., « Initiation aux techniques de l'histologie animale », Masson, Paris (1967), 345p.
112. Lis-Balchin M. « Lavender, the genus *Lavandula* », Taylor & Francis, London (2002), 268p.
113. Svoboda K.P., Svoboda T.G., « Secretory structures of aromatic and medicinal plants », Microscopix publications, U.K. (2000), 61p.
114. Jackson B.P., Snowdon D.W., « Atlas of microscopy of medicinal plants, culinary herbs and spices », Belhaven press, London (, 257p.
115. Kulevanova S., Stefkov G., Ristić M., « Examination of flowers and essential oil of *Lavandula officinalis* grown on mountain KOZJAK (MACEDONIA) », *Bulletin of the Chemists and Technologists of Macedonia*, V. 19, N°. 2, (2000), pp. 165-169
116. Yusufoglu A., Çelik H., Kirbaşlar F.G., « Utilization of *Lavandula angustifolia* Mill extracts as natural repellents, pharmaceutical and industrial auxiliaries », *J.Serb.Chem.Soc.* (2004), v.69, n°1, 1-7.

117. DaPorto C., Decorti D., Kikic I., « Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods », *Food Chemistry* (2009), V.112, 1072–1078.
118. Moretti M.D.L., Sanna-Passino G., Demontis S., Bazzoni E., « Essential Oil Formulations Useful as a New Tool for Insect Pest Control », *AAPS PharmSciTech* (2002), V. 3, n°2, 1-11.
119. Bettaieb I., Zakhama N., Aidi Wannes W., Kchouk M.E., Marzouk B., « Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition », *Scientia Horticulturae*, (2009), V.120, 271–275.
120. Mirjalili M.H., Salehi P., Sonboli A., Mohammadi Vala M., « ESSENTIAL OIL VARIATION OF *Salvia officinalis* AERIAL PARTS DURING ITS PHENOLOGICAL CYCLE », *Chemistry of Natural Compounds*, (2006), V. 42, N°. 1, 19-23.
121. Imelouane B., Elbachiri A., Ankit M., Benzeid H., Khedid K., « Physico-Chemical Compositions and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Eastern Moroccan *Lavandula dentata* », *INTERNATIONAL JOURNAL OF AGRICULTURE & BIOLOGY*, (2009), V. 11, N°. 2, 113-118.
122. Cong Y., Abulizi P., Zhi L., Wang X., Mirenska, « CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL OF *Lavandula angustifolia* FROM XINJIANG, CHINA », *Chemistry of Natural Compounds*, (2008), V. 44, N°. 6, 810.
123. Cavanagh H.M.A., Wilkinson J. M., « Biological Activities of Lavender Essential Oil », *Phytother.Res.*, (2002), n°16, 301–308.
124. Longaray Delamare A.P., Moschen-Pistorello I.T., Artico L., Atti Serafini L., Echeverrigaray S., « Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil », *Food Chemistry*, (2007), n°100, 603–608.
125. Dob T., Berramdane T., Dahmane D., Benabdelkader T., Chelghoum C., « CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL OF *Salvia officinalis* FROM ALGERIA », *Chemistry of Natural Compounds*, (2007), V. 43, N°. 4, 491.
126. Sagareishvili T.G., Grigolava B. L., Gelashvili N. E., Kemertelidze E. P., « COMPOSITION OF ESSENTIAL OIL FROM *Salvia officinalis* CULTIVATED IN GEORGIA », *Chemistry of Natural Compounds*, (2000), Vol. 36, No. 4, 360-361.
127. Fasseas M.K., Mountzouris K.C., Tarantilis P.A., Polissiou M., Zervas G., « Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils », *Food Chemistry*, (2007), n°106, 1188–1194.

128. Inouye S., Takizawa T., Yamaguchi H., « Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact », *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2001), n°47, 565-573.
129. Oussou K.R., Yolou S., Boti J.B., Guessenn K.N., Kanko C., Ahibo C., Casanova J., « Etude Chimique et Activité Antidiarrhéique des Huiles Essentielles de Deux Plantes Aromatiques de la Pharmacopée Ivoirienne », *European Journal of Scientific Research*, V. 24, N°1, (2008), 94-103.
130. Doumandji A., Neche L., « Activité antimicrobienne *in vitro* et *in vivo* de *Lactobacillus acidophilus* envers *Escherichia coli* entéropathogène », *Recherche agronomique*, (2008), n°21, 101-111.
131. Contrepois M., Gouet Ph., « cinétique d'excrétion fécale d'*Escherichia coli* k99+ par des veaux après infection expérimentale », *Ann. Rech. Vet.*, (1983), V. 14, n°2, 141-146.
132. Mouraa S.B., Mendesb E.N., Queirozb D.M.M., Nicoli J.R., Cabral M.M.D.A. , Magalhaesb P.P., Rochab G.A., Vieira Ê.C., « Microbiological and histological study of the gastrointestinal tract of germ-free mice infected with *Helicobacter trogontum* », *Res.Microbiol.*, n°150, (1999), 205-212.
133. De Mana J.G., Chatterjee S., De Winter B.Y., Vrolix G., Van Marck E.A., Herman A.G., Pelckmans P.A., « Effect of somatostatin on gastrointestinal contractility in *Schistosoma mansoni* infected mice », *International Journal for Parasitology*, n° 32, (2002), 1309-1320.
134. Ghaleb A.M., McConnell B.B., Kaestner K.H., Yang V.W., « Altered intestinal epithelial homeostasis in mice with intestine-specific deletion of the Krüppel-like factor 4 gene », *Developmental Biology*, n° 349, (2011), 310-320.
135. Sansonetti Ph., « Aspects modernes de la guerre des bactéries intestinales », *Gastroenterol. Clin. Biol.* N° 26, (2002), B24-B31
136. Kayser F. H., Bienz K. A., Johannes E., Zinkernagel R. M., « Medical microbiology », Thieme, Stuttgart (2005), 698p.
137. Demers B., Sansonetti Ph., « Mécanismes moléculaires des diarrhées bactériennes », *Médecine thérapeutique*, V.3, N°4, (1997), 315-325.

APPEINDICE A

Liste des abréviations

ATCC	: American Type Culture Collection
CG/MS	: Chromatographie liée au spectrophotomètre de masse
DO	: Densité optique
G	: Grossissement
HE	: Huile essentielle
L.	: Linné
Mill.	: Miller
MP	: microscope photonique
UFC	: Unité formant colonie

APPEINDICE B

Matériel non biologique utilisé

Appareil	Verrerie	Produits et réactifs	Autres
Balance de précision Microscope photonique Microscope photonique à caméra Loupe binoculaire Etuve bactériologique Autoclave Bec benzen Microtome	Ampoule à décanter	Agar Sulfate de sodium anhydre Tween 80	Anse de platine Micropipettes Pipettes Pasteur Portoirs Lames Lamelles Ecouillons stériles Boites de pétri Tubes à essai Disques stériles en papier Wattman

APPEINDICE C

Composition des milieux de culture utilisés

(Composition pour la préparation d'un litre de milieu)

Gélose nutritive (pH = 7,0)

- extrait de viande 1,0 g
- extrait de levure 2,5 g
- peptone 5,0 g
- chlorure de sodium 5,0 g
- Agar 15,0 g

Gélose Hektoen (pH = 7,6)

- protéose-peptone..... 12,0 g
- extrait de levure 3,0 g
- lactose 12,0 g
- saccharose 12,0 g
- salicine 2,0 g
- citrate de fer III et d'ammonium 1,5 g
- sels biliaires 9,0 g
- fuchsine acide 0,1 g
- bleu de bromothymol..... 0,065 g
- chlorure de sodium..... 5,0 g
- thiosulfate de sodium..... 5,0 g
- agar..... 14,0 g

Gélose Chapman (pH = 7,4)

- Peptone :.....10,0 g
- Extrait de viande de bœuf :.....1,0 g
- Chlorure de sodium :.....75,0 g
- Mannitol :.....10,0 g
- Rouge de phénol :.....0,025 g
- Agar-Agar :.....15,0 g

Gélose Muller Hinton (pH = 7,4)

- infusion de viande de bœuf.....300,0 ml
- peptone de caséine.....17,5 g
- amidon de maïs.....1,5 g
- agar17,0 g

Gélose VRBL (pH 7,4)

- peptone 7 g
- extrait de levure 3 g
- lactose 10 g
- chlorure de sodium 5 g
- mélange sel biliaire 1,5 g
- cristal violet 0,002 g
- rouge neutre 0,03 g
- agar-agar 15 g

Bouillon nutritif (pH 7,2 ± 0,2)

- Tryptone.....10,0 g
- Extrait de viande.....5,0 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g

Gélose Mc Conkey (pH = 7,1)

- Peptone20 g
- Lactose10 g
- Sels biliaires1,5 g
- Cristal violet0,001 g
- Rouge neutre0,05 g
- Chlorure de sodium5 g
- Agar15 g

Gélose Sabouraud au Chloramphénicol (pH 5,7 ± 0,2)

- Peptone pepsique de viande.....10,0 g
- Glucose.....20,0 g
- Chloramphénicol.....0,5 g
- Agar agar bactériologique.....15,0 g

APPEINDICE D

Etude statistique

1. Etude qualitative de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles étudiées

- L'étude

- ✓ Variable : diamètre des zones d'inhibition
- ✓ Facteur A : plantes avec 2 possibilités, la lavande et la sauge
- ✓ Facteur B : souches bactériennes avec 5 possibilités

- Hypothèses nulles :

- ✓ H_0^A : les plantes n'influent pas sur les diamètres des zones d'inhibition
- ✓ H_0^B : les souches bactériennes n'influent pas sur les diamètres des zones d'inhibition

- Analyse de la variance

Source	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Sig.
plantes	7,891	1	7,891	3,084	,097
souches	565,077	4	141,269	55,209	,000
Erreur	43,500	17	2,559		
Total	916,963	26			

Nous remarquons que la signification est $> 0,05$ pour les plantes et $< 0,05$ pour le facteur souches, ainsi nous rejetons l'hypothèse H_0^B alors que l'hypothèse H_0^A est acceptée.

Nous pouvons conclure que :

- Facteur A : les plantes n'influent pas significativement sur les diamètres des zones d'inhibition ce qui traduit un effet proche des deux huiles étudiées
- Facteur B : les souches bactériennes ont un effet significatif sur les variations des diamètres des zones d'inhibitions, elles agissent différemment

2. Etude de l'activité antidiarrhéique

- L'étude
 - ✓ Facteur A : plantes avec 2 possibilités, lavande et sauge
 - ✓ Facteur B : bactéries avec 2 possibilités, *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*
- Hypothèses nulles
 - ✓ H_0^A : Pas de différence du point de vue activité antidiarrhéique entre les deux plantes
 - ✓ H_0^B : Pas de différence du point de vue activité antidiarrhéique entre les bactéries
- Analyse de la variance

Source	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Sig.
plantes	1,352E15	1	1,352E15	,034	,855
souches	1,368E18	3	4,559E17	11,523	,000
Erreur	8,307E17	21	3,956E16		
Total	3,357E18	29			

Nous remarquons que la signification est $> 0,05$ pour les plantes et $< 0,05$ pour le facteur souches, ainsi nous rejetons l'hypothèse H_0^B alors que l'hypothèse H_0^A est acceptée.

Nous pouvons conclure que :

- Facteur A : Il n'y a pas de différence significative entre les deux plantes sur l'activité antidiarrhéique
- Facteur B : les souches bactériennes agissent différemment du point de vue activité antidiarrhéique

APPEINDICE E

Glossaire

Androcée : formé par l'ensemble des étamines.

Anthère : partie de l'étamine, formé de deux loges renfermant chacune deux sacs polliniques.

Calice : partie de la fleur comprenant des pièces chlorophylliennes, les sépales.

Carpelle : formé de l'ovaire, contenant les ovules, surmonté du style et du stigmate. L'ensemble des carpelles constitue le gynécée ou pistil.

Cholagogue : substance qui aide à l'évacuation de la bile.

Cholérétique : substance qui active la sécrétion de la bile.

Corolle : partie de la fleur, constituée de pièces non chlorophylliennes, diversement colorées, les pétales.

Diurétique : stimule la production d'urine.

Étamine : c'est l'appareil reproducteur mâle des plantes à fleurs, comprenant le filet surmonté de l'anthère.

Hermaphrodite : fleur possédant à la fois l'androcée et le gynécée.

Inflorescence : ensemble de fleurs groupées sur un même axe.

Infusion : Préparation de plantes, macères dans de l'eau bouillante à la façon du thé.

Ovaire infère : ovaire situé en dessous du lieu d'insertion des autres pièces florales.

Rhizome : tige souterraine.

Soporifique : somnifère.

Stigmate : dont la surface souvent papilleuse sécrète un liquide visqueux pour capter le pollen.

Stupéfiant : substance psychotrope dont l'usage répété conduit à une dépendance.