

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

Université de BLIDA -1-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie des Populations et Organismes

Mémoire de Fin d'Etudes En vue de l'obtention du diplôme de  
Master en Sciences Biologiques  
Option : Phytothérapie et Santé

THEME

**Composition chimique et activité antimicrobienne  
de l'huile essentielle de la lavande papillon  
(*Lavandula stoechas* L.)**

Présenté le : 02/06/2015. (Salle.....)

Par :

Mme KEFKAF Khadidja

Devant le jury :

Mme.BRADEA M S	MC-A	Université Blida 1	Présidente
Mme. BOULKOUR S.	MA-A	Université Blida 1	Examinatrice
Mme. METIDJI H.	MA-A	Université Blida 1	Examinatrice
M. FERHAT Mohamed Amine	MC-A	ENS KOUBA, Alger	Promoteur
M. BOUKHATEM Mohamed Nadjib	MC-B	Université Blida 1	Co-Promoteur

Année Universitaire: 2013-2014

# Remerciements

*Avant tout, mes remerciements infinis sont adressés à « Dieu le Tout Puissant » de m'avoir donné le courage la volonté et la santé pour achever ce travail.*

*Au moment où s'achève ce travail, permettez-moi de remercier du fond du cœur, tous ceux et toutes celles qui, pendant cette période de thèse, m'ont dirigée, soutenue, aidée et encouragée.*

*Je tiens à remercier*

*A mon promoteur Mr. FERHETE M.A,*

*Pour avoir accepté de tenir ce rôle,*

*A co-promoteur Mr Boukhatem M.N,*

*Pour votre soutien, vos conseils qui m'ont été précieuse, votre aide et le temps qu'il a bien voulu me consacrer et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions*

*Merci à toute l'équipe du laboratoire de bactériologie de Boufarik et plus précisément au Dr Lassas*

*Nos sincères reconnaissances à tous nos enseignants pour leur efforts fournis durant toute la période d'étude ainsi qu'à tous ceux qui ont élaboré d'une façon ou d'une autre à notre formations*

*Enfin, pour leur soutien sans faille et permanente, je tiens à remercier de tout cœur mon époux - qui m'avoir encouragé et aider-, mes parents, et ces parents, pour ses amours et ses compréhension.*

## Dédicace

*Au terme de ce modeste travail, il m'est agréable d'adresser mes dédicaces :*

*En premier lieu, à mes parents aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Que Dieu vous protèges*

*A mon époux Abdelkader a votre compréhension, et votre soutien, et*

*A ces parents qu'ont m'aimer, qu'ils sont même mes parents*

*A merveille bébé, ma petite fille Fatima Zahra.*

*A mes chères sœurs et mes chers frères.*

*A mes meilleures amies :*

*Immene, Faiza, Nassima et biens sure Farida et tous mes collègues dans mes classes celle du primaire à l'université ; classe de VPT (L3) et PhS (Master) en particulier.*

*A tous les membres de la famille A mon mari.*

*Khadija*

**RESUME**

L'objectif assigné à notre travail consiste à valoriser la fraction aromatique d'une plante médicinale, la lavande papillon (*Lavandula stoechas* L.), en aromathérapie anti-infectieuse.

L'extraction de l'essence aromatique de la partie aérienne fraîche de la plante a été effectuée, à l'échelle industrielle, par entraînement à la vapeur d'eau. La détermination de la composition chimique de l'huile essentielle (HE), réalisée par Chromatographie Gazeuse-Spectrométrie de Masse (CG-SM), a révélé la présence de 23 composés. Le composé majoritaire est l'acétate de linalyle avec un taux de 36.67%, suivi par le linalool (33.42%). Le camphre et l'eucalyptol ont été aussi détectés mais à faibles taux (6.38% et 4.86%, respectivement).

L'étude de l'activité antimicrobienne de l'HE a été accomplie par deux méthodes complémentaires (aromatogramme et microatmosphère), sur un large spectre de germes microbiens (13 bactéries à Gram + et 11 à Gram - ainsi que 6 souches fongiques). L'essence de lavande à toupet a présenté une activité antibactérienne majeure sur les souches de *Staphylococcus aureus* avec des Diamètres de Zone d'Inhibition (DZI) qui varient entre 46 et 85 mm pour la dose de 60µl d'HE par disque. En outre, cette huile est fongicide car la majorité des souches mycéliennes testées ont été inhibées totalement.

En microatmosphère, l'essence aromatique s'est avérée aussi un puissant fongicide sur toutes les souches, excepté *Candida parapsilosis* (DZI = 46 mm). De plus, une action « dose-dépendante », sur la majorité des bactéries à Gram+, a été notée. Par conséquent, cette fragrance pourra servir au traitement et à la désinfection de l'air dans les hôpitaux. Une éventuelle utilisation de cette essence pour lutter contre les mycoses ou les infections nosocomiales, ou encore pour la désinfection de l'air, paraît pleinement justifiée.

En somme, les résultats obtenus, lors de ce screening antimicrobien, laissent entrevoir des perspectives d'application de l'essence des lavandes en aromathérapie anti-infectieuse.

**Mots-clés :** *Lavandula stoechas* L.; Lavande papillon ; Aromatogramme ; Microatmosphère ; Fongicide ; Huile essentielle ; Linalool.

## ABSTRACT

The aim of our study was to enhance and boost the volatile oil of a medicinal plant, butterfly lavender (*Lavandula stoechas* L.), as antimicrobial agent.

The extraction of *Lavandula stoechas* essential oil (LSEO) from fresh aerial part was obtained by steam distillation at the industrial scale. The chemical composition of the LSEO, determined by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS), revealed the presence of 23 compounds. Linalyl acetate was found to be the major component with a rate of 36.67%, followed by linalool (33.42%). Camphor and eucalyptol have been detected also in the oil but at lower amounts (6.38% and 4.86%, respectively).

The antimicrobial activity of LSEO was evaluated by two complementary assays (disc diffusion and vapour diffusion methods), against a wide spectrum of microbial strains (13 Gram + and 11 Gram – bacteria and 6 fungi). In liquid phase, LSEO presented a good inhibitory effect against all *Staphylococcus aureus* strains with Diameters of Inhibitory Zone (DIZ) ranging from 46 to 85 mm at the dose of 60µl of LSEO per disc. Else, this volatile oil presented a fungicidal effect against mycelial strains which were completely inhibited.

In vapour phase, LSEO exhibited also a fungicidal action against all fungal micro-organisms, except for *Candida parapsilosis* (DIZ = 46 mm). Further, the antimicrobial property of lavender oil was found "dose-dependent" against most of Gram + bacteria. Therefore, there is growing evidence that LSEO are effective antiseptic systems and appears worthy to be considered for practical uses in the treatment of human infections or as air decontaminants in hospital.

Finally, lavender volatile oil has considerable antimicrobial action deserving further investigation for clinical applications or aromatherapy.

**Keywords:** *Lavandula stoechas* L.; Butterfly lavender ; Disc diffusion ; Vapour diffusion method; Fungicidal action ; Essential oil ; Linalool.

---

# TABLE DES MATIERES

---

Résumé

Abstract

Liste de Tableaux

Liste de Figures

Liste des Abréviations

Introduction 1

## Chapitre 1 : Synthèse Bibliographiques

1.1. Le genre *Lavandula* 3

1.1.1. Condensé historique 3

1.1.2. Synonymes 4

1.1.3. Etymologie 4

1.1.4. Taxonomie 5

1.2. Monographie de la plante étudiée : *Lavandula stoechas* L. 6

1.2.1. Données botaniques 6

1.2.2. Domaines d'utilisation 7

1.2.2.1. Parfumerie	7
1.2.2.2. Propriétés médicinales	10
1.2.2.3. Utilisation culinaire	12
1.2.3. Toxicité de l'huile essentielle	12
1.2.4. Intérêt commercial	12
1.2.5. Condition de culture de <i>Lavandula stoechas</i>	13
1.2.6. Récolte de la lavande	14
1.2.7. Production de l'huile essentielle	14

## **Chapitre 2 : Matériel et Méthodes**

<b>2.1. Matériel</b>	15
2.1.1. Matériel végétal et huile essentielle	15
2.1.2. Souches microbiennes étudiées	15
2.1.3. Milieux de culture	17
<b>2.2. Méthodes</b>	17
2.2.1. Étude analytique de l'huile essentielle	17
2.2.1.1. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle	17
2.2.1.2. Analyses chromatographiques de la fraction aromatique	17
2.2.2. Étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle	18
2.2.2.1. Technique en milieu solide : Méthode des aromatogrammes	18
2.2.2.2. Microatmosphère ou méthode en phase vapeur	19

## **Chapitre 3 : Résultats et Discussion**

3.1. Etude analytique de l'huile essentielle	20
3.1.1. Caractéristiques organoleptiques	20
3.1.2. Détermination du profil chromatographique de l'huile essentielle	20
3.2. Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle en aromagramme	25
3.3. Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle en microatmosphère	31
3.4. Etude comparative : aromagramme vs microatmosphère	32
<b>Conclusion</b>	35
<b>Références Bibliographiques</b>	37



## LISTE DES TABLEAUX

Titre	Page
<b>Tableau 1.1.</b> Taxonomie de La lavande à toupet	7
<b>Tableau 1.2.</b> Rendements en huiles essentielles des lavandes	14
<b>Tableau 2.1.</b> Souches bactériennes utilisées pour le screening antibactérien <i>in vitro</i> de l'essence de <i>Lavandula stoechas</i> .	16
<b>Tableau 2.2.</b> Souches mycélienne fongiques utilisées pour le screening antifongique <i>in vitro</i> de l'essence de <i>Lavandula stoechas</i> .	16
<b>Tableau 3.1.</b> Propriétés organoleptiques de l'essence aromatique de <i>Lavandula stoechas</i> .	20
<b>Tableau 3.2.</b> Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i> distillée, à échelle industrielle, par entrainement à la vapeur sous pression.	21
<b>Tableau 3.3.</b> Résultats de l'activité antibactérienne <i>in vitro</i> de l'essence aromatique de <i>Lavandula stoechas</i> en comparaison avec les antibiotiques.	26
<b>Tableau 3.4.</b> Résultats de l'activité antifongique <i>in vitro</i> de l'essence aromatique de <i>Lavandula stoechas</i> en comparaison avec un antiseptique.	30

## LISTE DES FIGURES

Titre	Page
<b>Figure 1.1.</b> Distribution géographique de <i>Lavandula stoechas</i> en bassin méditerranéen	6
<b>Figure 1.2.</b> Aspects morphologiques et botaniques de la lavande papillon ( <i>Lavandula stoechas</i> L.)	9
<b>Figure 2.1:</b> Illustration de la méthode de l'aromatogramme	19
<b>Figure 2.2:</b> Illustration de la méthode de microatmosphère	19
<b>Figure 3.1.</b> Profil chromatographique de l'essence aromatique de <i>Lavandula stoechas</i> .	21

<b>Figure 3.2.</b> Structure chimique des composés majoritaires détectés dans l'essence aromatique de <i>Lavandula stoechas</i> .	22
<b>Figure 3.3.</b> Pouvoir antibactérien de l'essence de lavande (60 µl) : aromatogramme vs microatmosphère	33
<b>Figure 3.4.</b> Pouvoir antifongique de l'essence de lavande (60 µl) : aromatogramme vs microatmosphère	33

---

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

– AFNOR : Association Française de Normalisation	– VA : Vancomycine
– ATB : Antibiotique	– TE : Tétracycline
– ATF : Antifongique	– PI : Pipéracilline
– DZI : Diamètre de Zone d'Inhibition	– AMP : Ampicilline
– PAM : Plantes Aromatique et Médicinale	– NA : Acide Nalidixique
– HE : Huile Essentielle	– C : Chloramphénicol
– ATCC : American Type Culture Collection	– SXT : Triméthoprime + Sulfamides
– MH : Muller-Hinton	– FA : Acide Fusidique
– SAB : Sabouraud additionné de Chloramphénicol	– MT : Metronidazole
– GN : gélose nutritive	– CD : Cilindamycine
– ATB : Antibiotiques	– CIP : Ciprofloxacine
– CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse	– IPM : Imipénème
– ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines	– AMC : Amoxicilline + Acide Clavulanique
– CG-SM : Chromatographie Gazeuse-Spectromètre de Masse	– NO: Nitroxoline
– CN : Céfalexine	– CL: Colistine methane sulfonate
– KA : Kanamycine	– HEX: Hexomédine
– OX : Oxacilline	

---

# INTRODUCTION

---

La thérapeutique des infections bactériennes et fongiques se base principalement sur l'usage des antibiotiques et antifongiques. La prescription, à grande échelle, et parfois inappropriée, de ces agents, a entraîné la sélection des souches résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et surtout vers les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration de nouveaux médicaments (**Kaloustian & Hadji-Minaglou, 2013**).

Produites comme métabolites secondaires par les plantes aromatiques, les huiles essentielles (HE) sont toujours utilisées comme substances aromatisantes en parfumeries, en industrie cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire, en aromathérapie et en industrie alimentaire (**Boudoux, 2000 ; Kaloustian & Hadji-Minaglou, 2013 ; Aouni *et al.*, 2013**).

Face au problème soulevé depuis plusieurs années par la résistance des bactéries, la seule alternative fiable à l'usage des antibiotiques (ATB) semble être celle des HE. Connue de façon empirique depuis des siècles, leur efficacité anti-infectieuse a été scientifiquement démontrée *in vitro* et *in vivo* (**Hammer *et al.*, 1999 ; Cassela, 2002 ; Giordani & Kaloustian, 2006**). De nombreuses études traitent de l'activité antimicrobienne des HE, qu'elles soient citées dans des ouvrages, dans des journaux spécialisés de microbiologie ou présentées lors de congrès d'aromathérapie scientifique. De nombreux travaux, essentiellement au laboratoire, sont venus renforcer ces résultats, expliquer les modes d'actions de certains de leurs composants (**Salle, 1990 ; De Billerbeck, 2007 ; Inouye & Abe, 2007**). Depuis, l'utilisation des HE s'est développée jusqu'à devenir, depuis plus d'une vingtaine d'années, une sérieuse alternative à la médecine des ATB dans les pathologies infectieuses.

De plus, l'étude de ces essences aromatiques est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté et les développements exponentiels de domaines tels que la pharmacognosie et la microbiologie. Cela tient principalement au fait que le règne végétal est une source présumée inépuisable d'une immense variété de médicaments potentiels, tout en étant accessible, y compris dans les pays en voie de développement. De plus, cette science évolue et s'affine sans cesse avec l'amélioration des instruments d'investigation et de l'accès à l'information scientifique. Cette dernière perspective permet d'élargir le champ de valorisation des plantes aromatiques et

médicinales (PAM), (autrefois restreint du point de vue économique, à l'extraction de molécules olfactives), par l'exploitation des nombreuses et diverses activités biologiques, substantiellement évoquées par la médecine traditionnelle, corrélées à certains types de structures chimiques **(Bruneton, 1999 ; Chebaibi et al., 2011)**.

L'Algérie, de part sa situation géographique, jouit de plusieurs facteurs de pédogenèse et de variations climatiques offrant ainsi une végétation riche et diverse. L'intérêt porté aux PAM n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années. Un grand nombre de cette flore y pousse spontanément. La lavande sauvage (*Lavandula stoechas* L.), encore appelée lavande papillon ou lavande à toupet, en est le parfait exemple. Depuis très longtemps, on connaît les vertus cicatrisantes et régénérantes de cette espèce. Elle accélère la guérison des brûlures et plaies et calment les inflammations cutanées dues aux piqûres d'insectes **(Lis-Balchin, 2002)**. En plus et depuis plusieurs années, le genre *Lavandula* connaît un intérêt considérable par la communauté scientifique, grâce à la découverte de ces nombreuses applications thérapeutiques, en particulier ceux liés au système nerveux central **(Cavanagh & Wilkinson, 2002)**.

Cependant et malgré cet engouement suscité par les vertus thérapeutique ou préventive de la lavande à toupet, rares sont les travaux qui lui ont été consacrés à l'échelle nationale. De cet fait, notre travail vise à valoriser l'essence végétale de cette plante à parfum en aromathérapie anti-infectieuse. L'objectif assigné à notre travail consiste à étudier la composition chimique de l'essence de la lavande, extraite à échelle industrielle par entraînement à la vapeur, par chromatographie gazeuse-spectrométrie de masse (CG-SM). En outre, l'évaluation des propriétés antimicrobienne de cette essence a été déterminée, *in vitro*, sur de nombreuses souches bactérienne et fongique, en utilisant deux méthodes complémentaires (aromatogramme et microatmosphère) et avec plusieurs concentrations croissantes, et ce en comparaison avec des ATB ou antiseptique utilisés comme contrôle positif. Une étude comparative entre les deux méthodes a été menée, en finalité, pour mieux apprécier l'efficacité des phases vapeur ou liquide de l'essence sur l'inhibition de la croissance microbienne.

## Chapitre 1

# SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

---

### 1.1. LE GENRE *LAVANDULA*

Le genre *Lavandula* est l'un des plus importants genres de la famille des Lamiacées (Labiées). Les Lamiacées constituent une large famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 7200 espèces et près de 236 genres répartis 8 sous-familles. Ce sont le plus souvent des plantes herbacées, des arbustes et très rarement des arbres, largement répandus autour du monde mais particulièrement dans les régions tempérées et méditerranéennes. De nombreuses espèces de cette famille sont des plantes aromatiques source d'huiles essentielles (HE) très utiles pour l'aromathérapie, la parfumerie et l'industrie des cosmétiques. On y rencontre aussi beaucoup d'espèces mellifères et également des espèces cultivées comme plantes condimentaires et ornementales (**Lis-Balchin, 2002 ; Benabdelkader, 2012**).

#### 1.1.1. Condensé historique

Le mot « lavandière » vient du fait qu'on ajoutait de la lavande à l'eau de lessive afin de parfumer les vêtements. Au Moyen Âge, ses pouvoirs désinfectants étaient reconnus et on en faisait des fumigations et des emplâtres destinés à combattre la peste. Mais ce n'est qu'au Moyen Age que l'on voit apparaître le terme "lavande", selon le verbe latin « *lavare* » qui signifie laver. Son utilisation était liée à la lutte contre les maladies infectieuses ; le parfum est associé à l'aspect thérapeutique, on a longtemps cru que les mauvaises odeurs propageaient les maladies. A cette époque, on trouvait la lavande dans les jardins de monastères où, associée à d'autres plantes aromatiques et médicinales (PAM), elle était utilisée à but curative. Les plantes étaient d'ailleurs les seuls éléments de la pharmacopée. Quant à la cueillette de la lavande, elle apparaît dès le XIV<sup>ème</sup> siècle dans des textes relatifs à l'herboristerie. En 1371, la culture de la lavande existait déjà en Bourgogne (France) et on la retrouve dans tous les "jardins de simples" où les "bonnes herbes" étaient réunies en une sorte d'armoire à pharmacie naturelle (**Benabdelkader, 2002**).

Le développement au XIII<sup>ème</sup> siècle des Facultés de Marseille et Montpellier (France) a joué un rôle important dans la connaissance des bienfaits des plantes locales et les recherches des universitaires s'appliquaient aux moyens d'en extraire les principes actifs (PA). On la retrouve citée dans de nombreux textes. Elle était utilisée à but thérapeutique sous forme d'essence, tant à usage interne qu'externe, notamment suite aux épidémies de peste en Provence.

La cueillette de la lavande est une activité complémentaire réservée aux petits paysans, aux femmes et aux enfants. La fleur est vendue aux grasseois comme matière première. Dans l'économie rurale concentrée autour des cultures vivrières, des céréales et de l'élevage, la lavande apporte une nouvelle source de revenus pour les plus modestes; d'autant qu'elle pousse toute seule

dans des régions arides, sur des terres pauvres et impropres à toute autre culture. La cueillette de la lavande va devenir un facteur important de frein à l'exode rural qu'ont connu beaucoup de territoires ruraux similaires. Le développement des villes et de la consommation de parfums vont accroître la demande des parfumeurs en lavande. Le nombre des cueilleurs et les quantités récoltées augmentent et les communes instaurent des adjudications pour les collines à lavande.

Peu à peu, les paysans parviennent à s'équiper d'alambics mobiles et à distiller eux-mêmes sur les zones de cueillette. Puis des alambics fixes sont développés par des familles de cueilleurs. Les Grassois, en France, installent sur place des distilleries de type industriel dès 1907. L'HE pouvant être stockée pour être vendue aux meilleurs cours, la spéculation se développe rapidement et les revenus appréciables des bonnes années permettent la modernisation des exploitations. Les courtiers auront un rôle prépondérant dans le commerce entre l'arrière pays et Grasse.

Dans les années 1920/1930, la cueillette de la lavande fine atteint une importance maximum. Une amélioration du rendement est rendue possible grâce à l'entretien des terrains : épierrement, labourage, passage des troupeaux de moutons qui nettoient et fertilisent les terrains. Si les premiers essais de mise en culture datent de 1905 par une simple transplantation des plus beaux plants des collines dans les champs proches des villages, il faut attendre l'après-guerre de 1914-1918 pour voir se développer cette pratique. Entre 1925 et 1930, la technique de bouturage s'impose pour le lavandin, avec des sélections pour la recherche des plants offrant un meilleur rendement en essence et une meilleure résistance et adaptation aux terrains. C'est également à cette période que sont concentrés les efforts sur la mécanisation et la modernisation de la culture.

En 1952, les premiers essais de coupe mécanique et le développement des cultures de lavandin entraînent le déplacement des cultures. Dans le même temps, deux autres facteurs ont contribué à la diminution constante des surfaces cultivées en lavande : le développement de produit de synthèse et l'apparition d'une maladie encore mal expliquée : le dépérissement prématuré des plants qui affecte directement la durée de vie et la productivité des plantations. L'HE de lavande fine n'est plus utilisée dans les produits de grande consommation, où les produits de synthèse moins coûteux l'ont remplacée. Elle demeure irremplaçable dans les deux domaines prestigieux de son histoire : la parfumerie de luxe et la sphère médicale avec le développement de la phytothérapie et de l'aromathérapie.

Après plusieurs crises qui entraînent la chute de la production et une régression des cultures, les plantations furent relancées par la stabilisation des surfaces à cultiver et le développement des moyens de distillation. De nos jours, la plus grande fête consacrée à la lavande se trouve en France et elle est célébrée depuis près de 70 ans, à l'occasion du « Corso de la Lavande » à Digne-les-Bains, et s'achève par un défilé de chars décorés de lavande (**Gontard, 1940 ; Monge, 2013 ; Cassé, 2013**).

### 1.1.2. Synonymes

Le genre *Lavandula* L., est composé d'environ 39 espèces, de nombreux hybrides et près de 400 cultivars enregistrés (**Upson & Andrews, 2004**). Comme beaucoup de Lamiacées, les

lavandes sont connues pour leurs HE riches en terpènes. Les espèces les plus connues et valorisées économiquement sont, sans conteste, *L. angustifolia*, *L. stoechas*, *L. latifolia* et l'hybride *L. x intermedia*.

### 1.1.3. Etymologie

Le mot *lavande* dérive du verbe « laver ». Il est peut être issu de l'italien *lavando* (action de laver) mais peut remonter au latin « *lavare* » qui signifie laver et aussi se baigner. Les Romains ayant utilisé des lavandes pour parfumer leurs bains.

Cette étymologie laisse penser que très tôt la lavande a été utilisée pour parfumer le linge fraîchement lavé. Des sachets de fleurs séchées sont traditionnellement placés dans les armoires pour éloigner les mites et parfumer la garde-robe. Mais il est également possible que *Lavandula* et lavande soient tirés du latin « *livere* » (qui signifie "pour être bleuâtre") qui, en latin médiéval, a donné le terme *lavindula* (**Benabdelkader, 2002**).

### 1.1.4. Taxonomie

Une des premières classifications modernes majeures du genre *Lavandula* se trouve dans "*A Taxonomic Study of the Genus Lavandula*" de **Chaytor (1937)**. Sa révision reconnaît 28 espèces ainsi que de nombreux taxons infra-spécifiques répartis en 5 sections, *Stoechas*, *Spica*, *Subnudae*, *Pterostoechas* et *Chaetostachys*. Cependant, toutes les principales formes cultivées et commercialisées résident dans les sections *Stoechas* et *Spica*. Récemment, la classification phylogénétique du genre *Lavandula* a été réexaminée par **Upton et Andrews (2004)**. Cette étude a conduit à reconnaître 39 espèces réparties en 3 sous-genres *Fabricia*, *Sabaudia* et *Lavandula* qui sont également divisés en sections qui se répartissent en différentes espèces. Par exemple, *Lavandula* comprend les sections *Lavandula*, *Dentatae* et *Stoechas* ; *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *L. lanata* représentent les différentes espèces. Cette organisation taxonomique a été réalisée sur la base de plus de 40 critères anatomiques mais aussi par une analyse phylogénétique basée sur la comparaison de séquences nucléaires

Si les noms latins des lavandes ne posent plus guère de problèmes, il n'en va pas de même avec les noms courants. La même lavande devient française, anglaise ou espagnole selon le pays où elle est classée (**Small & Deutsch, 2001 ; Dupin & Festy, 2012**). On distingue quatre espèces principales :

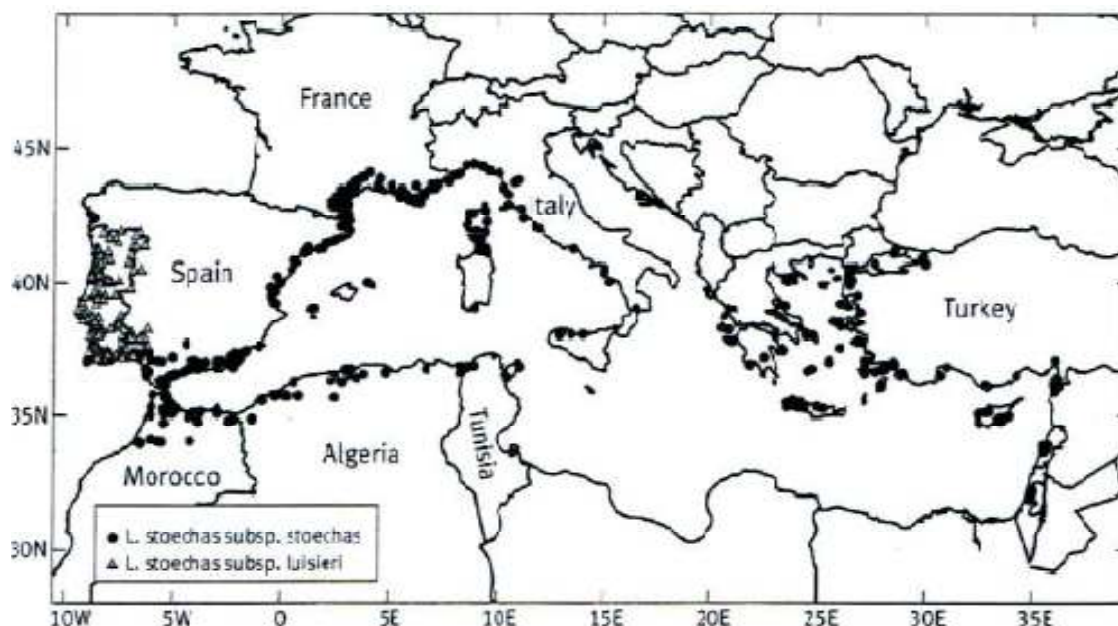
- *Lavandula angustifolia*, ou lavande vraie, lavande des Alpes, lavande fine. C'est la meilleure des lavandes pour la qualité de son HE. À l'état sauvage, elle pousse naturellement surtout au-dessus de 700 à 800 mètres d'altitude. Robuste, elle résiste aux contraintes climatiques des montagnes sèches. C'est un arbrisseau buissonnant. Les feuilles, linéaires et de couleur gris-vert, ont une longueur variant entre 3 et 5 cm. Lors de la floraison (juillet-août), la plante développe de longs pédoncules non ramifiés terminés par des épis dont la couleur varie du mauve pâle au violet.
- *Lavandula latifolia*, ou lavande aspic. Par rapport à la précédente, ses feuilles sont plus larges (elliptiques) et très odorantes. La floraison est plus précoce (juin), et les fleurs ont une odeur

très camphrée. Elles poussent à l'extrémité de tiges ramifiées, ce qui est le moyen le plus sûr de la différencier de la lavande vraie. Elle est beaucoup moins appréciée en parfumerie.

- *Lavandula* × *intermedia*, ou lavandin, hybride naturel entre *L. angustifolia* et *L. latifolia*. Découvert un peu par hasard, il a été cultivé à partir des années 1930. Le lavandin est aujourd'hui l'espèce la plus cultivée, car sa fleur est plus productive en HE que la lavande vraie. Son essence, de bonne qualité olfactive, est plus camphrée que celle de la lavande ; elle est très utilisée dans la parfumerie industrielle. Plusieurs variétés de cet hybride ont été sélectionnées et reproduites par bouturage.
- *Lavandula stoechas*, ou lavande stéchas, lavande papillon. À l'état sauvage, c'est certainement la lavande dont le territoire géographique est le plus vaste (tout le pourtour méditerranéen). Elle se distingue des espèces précédentes par deux caractéristiques : d'une part elle apprécie surtout les terrains siliceux ; de l'autre elle possède à l'extrémité de ses épis de grandes bractées violettes, souvent plus foncées que les fleurs proprement dites.

## 1.2. MONOGRAPHIE DE LA PLANTE ETUDIEE : *Lavandula stoechas* L.

*Lavandula stoechas* est communément appelée 'lavande française', 'lavande italienne', 'lavande espagnole', 'lavande des stoechades', 'lavande maritime', 'lavande papillon' ou 'lavande à toupet'. Elle a été historiquement la première lavande à être formellement décrite et dont le territoire géographique est le plus vaste. Elle est répandue dans tout le bassin méditerranéen (Europe méridionale, l'Afrique du Nord et le Moyen Orient) avec une petite disjonction sur la frontière Lybie-Egypte (**Figure 1.1**). Actuellement, elle a été introduite et est cultivée en Bretagne, Nouvelle Zélande et en Australie. De la famille des lamiacées, cette lavande est aromatique mais peu utilisée en parfumerie parce qu'elle dégage une odeur camphrée. C'est une remarquable plante d'agrément, aux fleurs originales, et dont la floraison, avec un petit entretien, peut durer jusqu'à l'automne. De nombreuses variétés ont vu le jour en horticulture, apportant des formes plus compactes, plus florifères ou de couleur différente (**Lis-Balchin, 2002 ; Lim, 2014**).



**Figure 1.1.** Distribution géographique de *Lavandula stoechas* en bassin méditerranéen



(Upson & Andrews, 2004).

### 1.2.1. Données botaniques

*Lavandula stoechas* se présente sous la forme d'un arbrisseau ou d'un buisson très aromatique et très ramifié pouvant atteindre un mètre de haut avec une lourde odeur semblable à celle du pin. Les feuilles opposées de 2-4 cm de long sont sessiles, tomenteuses, oblongues, lancéolées, linéaires, étroites et recourbées sur les bords et sont souvent grises. Les inflorescences de coupe carrée sont sessiles, compactes et surmontées d'une couronne de bractées florales violettes, élargies, stériles, obovales ou spatulées de 1 à 2 cm de longueur. Les bractées fertiles sont largement ovales, membraneuses, veinées et plus courtes que le calice. Le Calice est sessile, à treize nervures avec des lobes moyens modifiés en un appendice. La Corolle est de couleur violet foncée ou mauve (**Figure 1.2**). Les fruits sont sans intérêt économique comme tous ceux de la famille. Ils permettent cependant la production de graines.

Les taxons de la section *Stoechas* s'hybrident facilement pour donner de nombreux taxons variant. Contrairement à beaucoup d'autres lavandes, *L. stoechas* préfère les sols siliceux et les terrains acides. Elle tolère le froid jusqu'à -5°C. La floraison, plus précoce que chez les autres lavandes, se déroule d'avril à mai puis en automne (**Peter, 2004 ; Lim, 2014**).

**Tableau 1.1.** Taxonomie de La lavande à toupet (**Quezel & Santa, 1963**)

---

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous-famille	Nepetoideae
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>Lavandula stoechas</i> L.

---

### 1.2.2. Domaines d'utilisation

Les lavandes sont parmi les plantes médicinales les plus utilisées. Des preuves documentées de l'utilisation des lavandes comme agent thérapeutique remontent jusqu'aux anciens Romains, Grecs et Arabes (**Lis-Balchin, 2002 ; Dupin & Festy, 2012 ; Lim, 2014**).

#### **1.2.2.1. Parfumerie**

Le mot *lavande* est un dérivé du verbe « laver », peut-être issu de l'italien *lavando* (action de laver). Cette étymologie laisse penser que très tôt on a utilisé la lavande pour parfumer le linge fraîchement lavé. Des sachets de fleurs séchées sont traditionnellement placés dans les armoires, pour éloigner les mites et parfumer la garde-robe. Les fleurs de lavande, séchées, sont très résistantes et conservent leurs arômes très longtemps. Un autre usage très ancien est celui de mettre de la lavande dans l'eau du bain pour son parfum et ses propriétés antiseptiques et calmantes.

L'essence de lavande contient des composants différents selon les espèces. On l'obtient par distillation des sommités florales. C'est bien sûr la parfumerie qui fait le plus gros usage de la lavande. On peut tout parfumer avec elle, depuis les savonnettes jusqu'aux détergents et au papier hygiénique. Dans les parfums proprement dits, la lavande est surtout réservée aux hommes, soit en soliflore dans les eaux de toilette, soit en note de cœur dans les eaux de Cologne.

Bien que *L. stoechas* fût la première lavande à être utilisée en parfumerie, son HE est aujourd'hui délaissée en raison de son odeur fortement camphrée et de la concurrence importante des autres lavandes qui se prêtent mieux à la culture intensive et dont l'odeur est plus agréable. La forte teneur en camphre généralement observée limite ses applications en cosmétologie (**De Gingins-Lassaraz, 1827 ; Monge, 2013**).



A) Pédoncules de *L. stoechas* surmontées d'une couronne de bractées florales violettes et élargies.

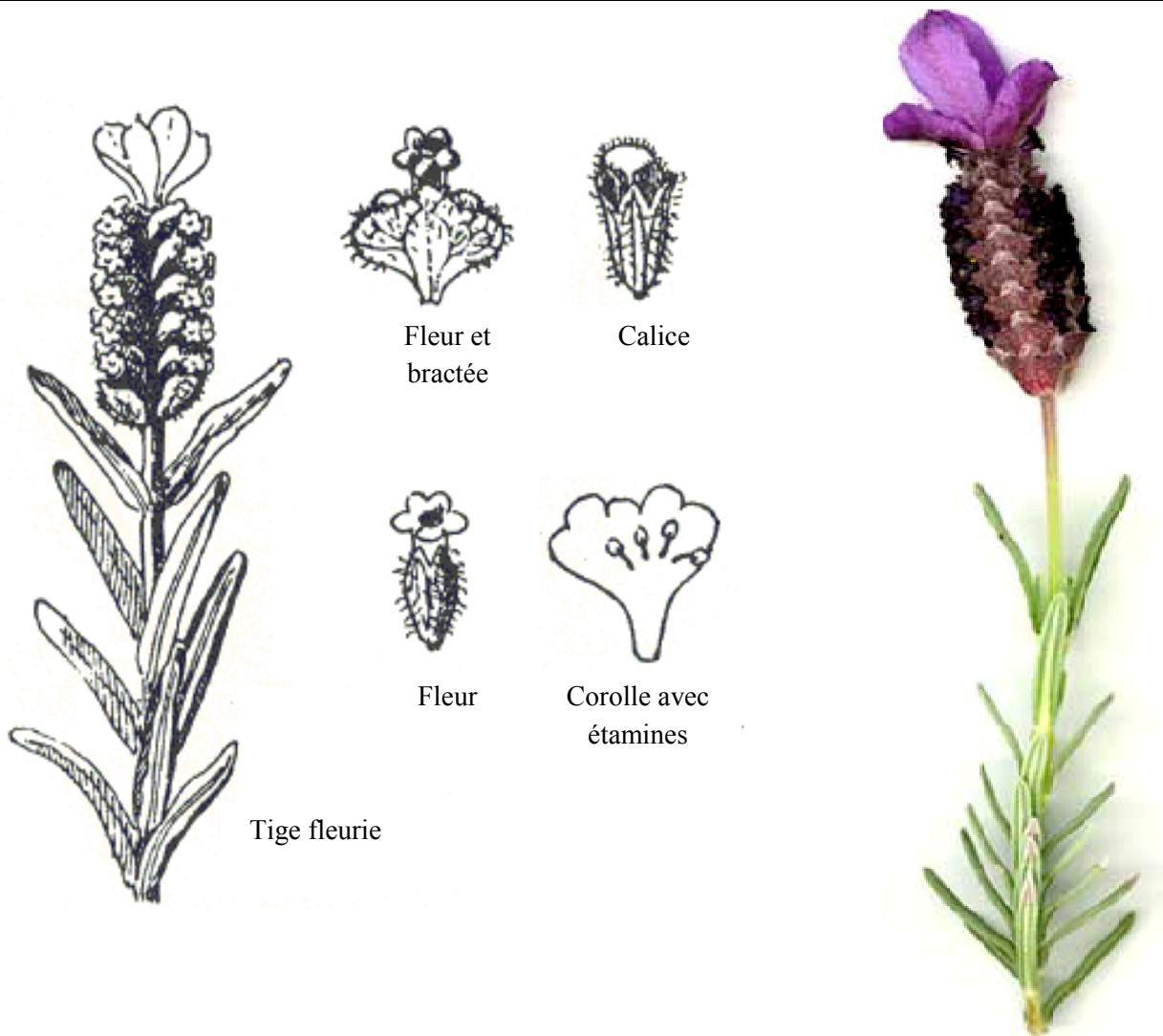


B) Plantes avec sommités fleuries de *Lavandula stoechas* L. cultivées dans un pot.



C) Feuilles (*L. stoechas*) allongées,

opposées, linéaires et étroites.



D) Illustration de la partie aérienne fleurie de *L. stoechas*

E) Pédoncule florale isolé



F) Champs de culture de lavandes en France

Figure 1.2. Aspects morphologiques et botaniques de la lavande papillon (*Lavandula stoechas* L.)  
(www.flickr.com)

### 1.2.2.2. Propriétés médicinales

Elle était utilisée par les médecins musulmans qui la considéraient comme tonique, résolutive et carminative. Ils la prescrivent pour lutter contre des infections pulmonaires (**Said, 1996**). En Crète, l'infusion des feuilles est utilisée par des thérapeutes traditionnels comme spasmolytique, contre le diabète, les douleurs menstruelles féminines, les calculs rénaux, l'otite, l'hypertension et la matière végétale brute est également utilisée comme insectifuge (**Skoula et al., 1996**). La plante est également utilisée dans la médecine populaire comme antispasmodique dans les douleurs des coliques, expectorant, stimulant (**Giray et al., 2008**) et pour les différentes maladies du système nerveux central, comme l'épilepsie et la migraine.

Elle est appelée 'le balai du cerveau'. Elle est d'ailleurs utilisée sous forme de fumigation pour soigner "le mal des sinus". Cette lavande a aussi des effets positifs sur les plaies, les infections urinaires, les maladies cardiaques et l'eczéma. Finalement, elle possède également des vertus analgésiques, sédatives, antiseptiques et antimicrobiennes (**Cavanagh & Wilkinson, 2002**).

La composition chimique de l'HE de *L. stoechas* a été largement étudiée sur une grande partie de son aire de répartition déjà très large. L'HE est obtenue par entraînement à la vapeur d'eau ou par hydrodistillation des inflorescences ou de l'ensemble des parties aériennes de la plante. Des vertus antiseptiques, anti-inflammatoires, cicatrisantes et antivirales lui sont généralement attribuées (**Baldovini et al., 1998**). L'HE obtenue à partir des sommités fleuries a été utilisée comme remède contre les affections coliques et pulmonaires, pour soulager les maux nerveux de tête, les affections hépatiques et pour le nettoyage des plaies (**Gülçin et al., 2004**). En outre, au début du XX<sup>ème</sup> siècle, un parfumeur-chimiste qui s'était brûlé les mains a pu empêcher la gangrène de s'installer en les rinçant à l'essence de lavande. Dans les hôpitaux français, on utilisa pendant plusieurs décennies des HE, dont celle de la lavande, pour désinfecter l'air et enrayer ainsi les infections microbiennes et fongiques. Ses nombreuses indications et son innocuité font de l'HE de lavande un des fleurons de l'aromathérapie moderne. Elle est aussi utilisée en médecine ayurvédique, en Inde, pour soulager les états dépressifs accompagnés de troubles digestifs, ainsi que par les médecins bouddhistes tibétains pour traiter certains troubles mentaux. Au Chili, elle sert à réguler le flux menstruel (**Lim, 2014**).

Récemment, l'aromathérapie est devenue de plus en plus populaire. La lavande y est utilisée comme relaxant (**Lis-Balchin & Hart, 1999**). Les aromathérapeutes considèrent l'HE de lavande comme la plus bénéfique, avec des cultivars sauvages cultivés à haute altitude. La preuve scientifique est encore manquante pour un possible effet de détente générale après une inhalation (**Lis-Balchin, 2002**). L'HE de lavande est antiseptique et bactéricide. Appliquée pure sur la peau elle soulagerait les brûlures et les piqûres d'insectes. Appliquée sur les tempes, elle soulagerait les douleurs migraineuses. On attribue à la variété latifolia un effet apaisant lors de crises de dermatite atopique (eczéma) (**Rhind & Pirie, 2012**).

Depuis une vingtaine d'années, des chercheurs s'intéressent à certaines substances extraites de la lavande (le limonène et l'alcool périllylique) qui semblent pouvoir combattre plusieurs

formes de cancer. Il va sans dire que l'utilisation de ces substances chimiquement isolées de la plante et hautement purifiées nécessite une surveillance médicale.

En Algérie, *L. stoechas* est très connue sous le nom local "Helhal". Elle est largement distribuée à travers toute la périphérie nord du pays. Dans la médecine populaire algérienne, les parties aériennes, surtout les inflorescences, sont utilisées comme un agent antiseptique et stimulant (**Benabdelkaser, 2012**). En phytothérapie, on la recommande pour combattre l'anxiété, la nervosité et les insomnies, ainsi que pour soulager les rhumatismes et soigner les infections des voies respiratoires. Elle peut être prise en infusion, en poudre (gélules), sous forme d'HE ou d'alcoolat, pour les frictions (**Rhind & Pirie, 2012**).

Dans le domaine clinique, plusieurs recherches ont été menées pour asseoir le bien fondé de l'utilisation de l'essence de lavande dans l'arsenal thérapeutique. Les principales études concernent principalement le système nerveux. En voici quelques exemples de ces études :

- **Anxiété, agitation** : L'HE de lavande est utilisée en aromathérapie pour traiter l'anxiété et l'agitation fait l'objet d'un nombre croissant d'essais cliniques (**Woronuk et al., 2011**). Diffusée dans l'air ou appliquée sur la peau par massage, elle a permis de diminuer l'agitation et l'agressivité de personnes âgées souffrant de démences (**Motomura et al., 2001 ; Holmes et al., 2002 ; Lin et al., 2007**). Plusieurs études mentionnent également que la lavande atténue l'anxiété de personnes exposées, volontairement ou pas, à une situation génératrice de stress : isolement volontaire (**Motomura et al., 2001**), visionnement de clips vidéo anxiogènes (**Bradley et al., 2009**), admission aux soins intensifs, attente ou suite d'une intervention médicale (**Buckle, 1993 ; Braden et al., 2009**).

Par exemple, lorsque l'HE est diffusée dans la salle d'attente d'un cabinet dentaire, elle réduit l'appréhension des patients (**Lehrner et al., 2005 ; Kritsidima et al., 2010**). Ces résultats, bien que positifs et émanant d'essais rigoureusement contrôlés, doivent être interprétés avec prudence. D'autres études, dans des situations comparables, n'ont en effet pas reproduit les effets calmants de la lavande (**Gray & Clair, 2002 ; Graham et al., 2003 ; Soden et al., 2004 ; Nord et al., 2009**).

D'autre part, il est impossible d'éliminer complètement la part de l'effet placebo dans les résultats obtenus. Lorsqu'il s'agit d'interventions telles que la balnéothérapie, le massage ou l'inhalothérapie, il est difficile de séparer les effets bienfaits du mode d'administration lui-même de ceux de l'HE utilisée. Une étude récente a d'ailleurs mis en lumière le fait que des facteurs psychologiques, et non l'arôme lui-même, pouvaient expliquer certains effets relaxants de la lavande (**Howard & Hughes, 2008**).

Diverses recherches suggèrent toutefois que l'HE de lavande exercerait un effet relaxant mesurable. Ainsi, des chercheurs asiatiques ont constaté qu'elle réduit la pression sanguine et certains marqueurs physiologiques du stress (taux de cortisol) (**Toda & Morimoto, 2008 ; Shiina et al., 2008 ; Hoya et al., 2008 ; Field et al., 2008**). Par ailleurs, administrée par voie orale sous forme de gélules (Silexan<sup>®</sup>), l'HE de lavande a permis d'améliorer le sommeil ainsi que la condition mentale et physique de volontaires souffrant de troubles anxieux (**Kasper et al., 2010**).

En cela, elle a fait aussi bien que le lorazépam, un médicament de la famille des benzodiazépines, habituellement prescrit dans le traitement de l'anxiété (Woelk & Schläfke, 2010). Une teinture de lavande (extrait alcoolique pris par la bouche) a amélioré l'action de l'imipramine, un antidépresseur tricyclique classique Akhondzadeh *et al.*, 2003.

- **Insomnie** : Des études, *in vitro* et sur des animaux ainsi que quelques essais cliniques préliminaires, tendent à valider l'usage traditionnel de la lavande, pour favoriser un bon sommeil ou traiter l'insomnie (Lewith *et al.*, 2005 ; Goel *et al.*, 2005), que celle-ci soit associée ou non à des symptômes de dépression. Un bain parfumé à l'HE de lavande a aussi réduit l'agitation et favorisé le sommeil profond de bébés par rapport à un bain non parfumé (Field *et al.*, 2008). La diffusion d'HE de lavande a également augmenté la concentration de jeunes adultes soumis à une série de tests informatisés. L'effet a été observé au cours des séances de l'après-midi, une période plus propice à la somnolence (Sakamoto *et al.*, 2005).

- **Réduction de la douleur** : Les résultats d'essais, *in vitro* et d'études sur des animaux, démontrent que la lavande a des propriétés antispasmodiques et légèrement anesthésiques (Lis-Balchin & Hart, 1999 ; Ghelardini & Galeotti, 1999). Au cours d'études cliniques préliminaires, la lavande, souvent combinée à d'autres HE (en massage, en diffusion ou en inhalation), a soulagé des patients souffrant de diverses douleurs : douleur à l'épaule à la suite d'un accident vasculaire (Shin & Lee, 2007), cancer en phase terminale, douleur après une laparoscopie (Kim *et al.*, 2007) et douleur au cours d'un changement de pansements (Kane *et al.*, 2004). La lavande, utilisée en bain de pieds et au cours de traitements de réflexologie a réduit la fatigue extrême dont souffraient des patients atteints de cancer en phase terminale (Kohara *et al.*, 2004).

La Commission Européenne a approuvé l'usage interne de la lavande, en infusion et en HE, pour le traitement de l'agitation et de l'insomnie ainsi que pour les troubles digestifs d'origine nerveuse (dyspepsie, malaises intestinaux, ballonnements, etc.). Elle a également approuvé son usage externe, en balnéothérapie, pour le traitement des troubles fonctionnels de la circulation sanguine.

### 1.2.2.3. Utilisation culinaire

On peut faire infuser des fleurs de lavande dans du lait, utilisé ensuite pour la préparation de glace ou de crème à la lavande. Dans certaines régions du Maghreb, *Lavandula stoechas* est utilisée dans quelques préparations culinaires comme le couscous (Benabdelkader, 2012).

### 1.2.3. Toxicité de l'huile essentielle

*Lavandula stoechas* a une faible toxicité et des HE non diluées peuvent être utilisées pour traiter certaines brûlures et avoir des effets bénéfiques sur la cicatrisation. Cependant, des cas de dermatite allergique après contact direct avec la peau ont été rapportés (Lis-Balchin, 2002).

### 1.2.4. Intérêt commercial

La plupart des espèces du genre *Lavandula* sont très odorantes. Certaines sont même cultivées pour leurs HE qui sont extraites par distillation à la vapeur à partir de tissus floraux ou

foliaires. Commercialement, plus de 462 tonnes d'HE sont produites annuellement à partir d'espèces du genre *Lavandula* (Lawrence, 1992). La popularité persistante et la valeur commerciale de la lavande a été confirmée quand elle a été nommée « herbe de l'année 1999 » par le réseau de la culture et la commercialisation d'herbes médicinales, aromatiques et à parfum aux Etats-Unis d'Amérique. Leurs HE sont de haut intérêt économique dans les industries des parfums, des cosmétiques, des arômes agro-alimentaires, pharmaceutiques et de nos jours également dans l'aromathérapie (Lis-Balchin, 2002 ; Upson & Andrews, 2004). Les propriétés médicinales et parfumantes des HE de lavande sont essentiellement attribuées aux terpénoïdes volatils qu'elles contiennent. Ce sont les monoterpènes et les sesquiterpènes qui donnent en effet aux HE des lavandes leurs parfums et propriétés caractéristiques (Flores *et al.*, 2005). La proportion des principaux terpènes dans l'HE est un critère d'évaluation de la qualité de l'HE. Les teneurs relatives de ces substances jouent un rôle important dans le choix de telle ou telle variété par l'herboriste ou l'industriel (Lis-Balchin, 2002).

En 2009, les surfaces cultivées en France étaient de près de 15 000 ha pour le lavandin et 4000 ha pour la lavande. En Algérie, à un moment donné, des quantités limitées des HE de lavandes ont été produites. Selon Peyton (1983) la production était d'environ 10 tonnes pendant le début des années 1980. *L.stoechas*, est de moindre importance comme source d'HE, mais avec ses hybrides, cette espèce est de plus en plus populaire en tant que plante ornementale (Upson & Andrews, 2004). Des quantités limitées (moins de 1 tonne) de *L. stoechas* sont produites en Espagne à partir de plantes sauvages. L'HE, riche en fenchone, est principalement utilisée en aromathérapie.

La Bulgarie avec une production de 45 tonnes en 2010 et entre 55 à 60 tonnes en 2011 est devenue le premier producteur mondial de lavande avec 45 tonnes devant la France produisant de 25 à 30 tonnes à cette date. Les deux pays fournissent les trois quarts de la production internationale et entre 80% et 90% de l'huile essentielle de lavande bulgare est vendue en France.

Les espèces du genre *Lavandula* sont aussi des plantes mellifères qui génèrent des miels de couleurs et odeurs propres à chaque espèce. Les fleurs de la lavande fine constituent des sources majeures de nectar pour les abeilles (Guyot-Declerck, 2002). De nombreuses plantes de lavande sont également vendues comme plantes ornementales pour les jardins populaires. Enfin, il a été mentionné que certaines lavandes sont aussi utiles dans l'agriculture biologique comme bio-insecticides. Elles constituent des cultures de choix dans les terres arides (González-Coloma *et al.*, 2006).

### 1.2.5. Condition de culture de *Lavandula stoechas*

La lavande papillon (*Lavandula stoechas*), est une plante originaire du bassin méditerranéen. C'est un arbrisseau aux feuilles persistantes, qui fleurit au printemps. Dans leur habitat naturel, les lavandes vivent sur des sols arides et calcaires ; en fait, elles s'accommodent de divers types de sols, sauf de ceux qui seraient exagérément humides. Elle supporte d'ailleurs la sécheresse, les sols pauvres et les grands vents. Mais elle ne fleurira bien que si elle est en exposition chaude et ensoleillée. Peu résistante aux fortes gelées, il est conseillé de la cultiver



devant un mur au sud ou à l'ouest, dans les régions plus fraîches, et en pot à hiverner là où les hivers sont rudes.

En enlevant les épis fanés, la floraison peut remonter. Une taille annuelle, après floraison, suffit pour maintenir les plantes. Parfois, sur des lavandes délaissées, une taille assez sévère, juste avant le départ de la végétation, peut leur redonner une forme arrondie satisfaisante.

Arrosez régulièrement juste après la plantation. Une fois bien installée, tout arrosage sera inutile. Nul besoin d'apport d'engrais pour la voir fleurir abondamment ; vous pouvez toutefois couper les fleurs fanées pour induire l'apparition de nouveaux boutons floraux.

En fin d'été, lorsque la floraison sera terminée, n'hésitez pas à la tailler légèrement pour lui conserver son port compact ou lui donner une forme de boule et éviter ainsi qu'elle ne se dégarnisse. En automne, paillez les pieds dans les régions les plus froides car, bien que moyennement rustique (jusqu'à  $-7^{\circ}\text{C}$ ), la lavande ne supporte pas les fortes gelées surtout sur une longue période (**Small & Deutsch, 2001**).

#### **1.2.6. Récolte de la lavande**

La récolte se fait pendant la floraison, de fin juin jusqu'au mois d'août, pour les lavandes "vraies", "aspic" et les lavandins. À part l'aspic qui est sauvage, les plantes sont généralement cultivées. La récolte a lieu en été, car les fortes chaleurs favorisent la montée de l'essence dans les cellules et les glandes sécrétrices de la fleur. Les brins sont plus odoriférants s'ils sont cueillis juste avant l'ouverture des fleurs. Après, l'essentiel de l'arôme se perd.

Les lavandes du groupe *stoechas* sont plus précoces : elles sont récoltées de mars à mai à l'état sauvage, mais elles sont plus rarement exploitées. Pour les cultures, la récolte s'effectue mécaniquement. L'HE serait de meilleure qualité en altitude, mais le rendement y est plus faible, et l'altitude augmente la teneur en esters (**Small & Deutsch, 2001**).

#### **1.2.7. Production de l'huile essentielle**

Il existe deux procédés principaux de production d'HE de lavande :

- La distillation traditionnelle : la récolte doit subir un temps de séchage, avant distillation, afin de perdre l'excès d'eau. Un préfanage d'environ un ou deux jours est indispensable pour la lavande fine, il évite de modifier la qualité des HE qui sont obtenues par entraînement à la vapeur d'eau des sommités fleuries. On fait circuler un courant de vapeur d'eau dans la lavande coupée et bien tassée (temps de distillation relativement court, 30 à 45 min).
- La distillation en « vert broyé » qui, depuis 1990, s'est développée pour améliorer la productivité de la récolte (de lavandin surtout). Sitôt cueilli, le végétal est haché à l'aide d'une ensileuse et il est placé au fur et à mesure, sans séchage préalable, dans une benne ou caisson mobile de distillation qui sera directement monté sur chaudière. De façon générale, les qualités ensilées auront des teneurs en alcools qui augmentent alors que celles en esters diminuent (phénomènes d'hydrolyse), elles ont une odeur plus verte, peu appréciée des parfumeurs. Des études sont faites pour améliorer les qualités ensilées et aider les producteurs dans ce sens.

Les rendements en HE de lavande sont très variables (**Tableau 1.2**) selon les régions, le climat, l'année, l'âge de la plantation et la variété : ils sont d'environ 15 kg par hectare, 25 à 50 kg pour

les lavandes clonales, 80 kg pour le lavandin en zone de montagne sèche, près du double en plaine (jusqu'à 180 kg).

**Tableau 1.2.** Rendements en huiles essentielles des lavandes (Lis-Balchin, 2002).

<b>Espèce de lavande</b>	<b>Rendement (%) (m/m)</b>
Lavandes fines	0,5
Lavande aspic	0,8 à 1,0
Lavandins	1,0 à 1,8
<i>Lavandula stoechas</i> L.	0,3 à 0,8
<i>Lavandula pedunculata</i> L.	0,15
<i>Lavandula luisieri</i>	0,2

Les lavandins ont un meilleur rendement, car leurs fleurs sont plus développées, et plus productrices en HE. Leur essence, de bonne qualité olfactive (notamment celle obtenue par distillation traditionnelle), est plus camphrée que celle de la lavande.

## Chapitre 2

# MATERIEL ET METHODES

---

Notre étude s'est étalée sur une période de 4 mois, de janvier jusqu'au mois d'avril 2015. Les différentes expérimentations ont été effectuées dans les structures suivantes :

- Laboratoire bactériologie de l'Etablissement Public Hospitalier (EPH) de Boufarik (Blida) dans le but d'asseoir les propriétés antibactérienne et antifongique de l'essence de lavande *in vitro*.
- Centre de Recherche en Analyses Physico-chimiques (CRAPC) (Alger) afin de déterminer la composition chimique de l'HE de la lavande et son profil chromatographique.

### 2.1. Matériel

#### 2.1.1. Matériel végétal et huile essentielle

L'huile essentielle de Lavande papillon (*Lavandula stoechas*) a été achetée auprès de la société « Ziphee.Bio » spécialisée dans la production des huiles essentielles et des engrais biologiques, sise à Lakhdaria (Bouira). L'HE a été extraite à partir de la partie aérienne fraîche de la plante (tige, feuilles et fleurs) au mois de Juin 2013. Le procédé d'extraction utilisé est l'entraînement à la vapeur d'eau conduit à échelle industrielle.

Aussi, l'HE est certifiée « 100% naturelle » car n'ayant été additionnée ou mélangée à aucun solvant organique durant la phase de production. Une quantité de 20 g en HE est vendue au prix de 400 DA. Elle a été conservée dans des flacons stériles teintés à 4°C et à l'abri de l'air et de la lumière, pendant toute la durée de notre travail, pour éviter d'éventuels phénomènes d'oxydation ou de contamination.

#### 2.1.2. Souches microbiennes étudiées :

Afin d'asseoir le pouvoir antiseptique de l'essence aromatique de la lavande à toupet, un screening antimicrobien a été effectué, *in vitro*, sur 24 souches bactériennes et 06 isolats fongiques (**Tableau 2.1**). Certaines souches sont de référence ATCC (American Type Culture Collection) alors que d'autres ont été isolées à partir de prélèvements de malades ayant contracté différentes infections (intoxications alimentaires, fièvres typhoïdes, infections urinaires ou cutanées, septicémies), au niveau du laboratoire bactériologie (EPH Boufarik, Blida). Ces bactéries et

champignons ont été conservés et maintenus en vie, par des repiquages continus, sur des milieux de culture adéquats.

**Tableau 2.1.** Souches bactériennes utilisées pour le screening antibactérien *in vitro* de l'essence de *Lavandula stoechas*.

Souches bactériennes	Origine	Famille
<b>Bactéries à Gram -</b>		
<i>Escherichia coli</i> (Ec1)	ECBU	Enterobacteriaceae
<i>Escherichia coli</i> (Ec2)	ECBU	Enterobacteriaceae
<i>Escherichia coli</i> (Ec3)	ATCC25922	Enterobacteriaceae
<i>Escherichia coli</i> (Ec4)	ATCC25922	Enterobacteriaceae
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (Kp1)	Pus	Enterobacteriaceae
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (Kp2)	Pus	Enterobacteriaceae
<i>Klebsiella</i> sp. (K1)	ECBU	Enterobacteriaceae
<i>Klebsiella</i> sp. (K2)	Pus	Enterobacteriaceae
<i>Morganella morgane</i>	Pus	Enterobacteriaceae
<i>Proteus mirabilis</i>	Pus	Enterobacteriaceae
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	Pseudomonadaceae
<i>Pseudomonas</i> sp.	Pus	Pseudomonadaceae
<i>Salmonella</i> Enteritidis	Pus	Enterobacteriaceae
<b>Bactéries à Gram +</b>		
<i>Bacillus subtilis</i>	ECBU	Bacillaceae
<i>Corynebacterium</i> sp.	Pus	Bacillaceae
<i>Staphylococcus aureus</i> (Sa1)	ATTC 25923	Micrococcaceae
<i>Staphylococcus aureus</i> (Sa2)	ATTC 25923	Micrococcaceae
<i>Staphylococcus aureus</i> (Sa3)	Pus	Micrococcaceae
<i>Staphylococcus aureus</i> (Sa4)	Hémoculture	Micrococcaceae
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Hémoculture	Micrococcineae
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	ECBU	Micrococcineae
<i>Staphylococcus</i> sp.	Liquide d'ascite	Micrococcineae
<i>Streptococcus</i> sp. ( $\alpha$ hémolytique)	Hémoculture	Micrococcineae
<i>Streptococcus</i> sp. ( $\beta$ hémolytique)	Pus	Micrococcineae

ATCC: American Type Culture Collection; ECBU: Examen Cytobactériologique des Urines.

**Tableau 2.2.** Souches mycéliennes utilisées pour le screening antifongique *in vitro* de l'essence de *Lavandula stoechas*.

Souche fongique	Origine	Famille
<b>Levures</b>		
<i>Candida albicans</i> (Ca1)	Pus	Cryptococcaceae
<i>Candida albicans</i> (Ca2)	Pus	Cryptococcaceae
<i>Candida albicans</i> (Ca3)	Cutané	Cryptococcaceae
<i>Candida parapsilosis</i>	Cutané	Cryptococcaceae
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Alimentaire	Saccharomycetaceae
<b>Moisissure</b>		
<i>Penicillium</i> sp.	Air	

### 2.1.3. Milieux de culture :

Suivant les méthodes et les souches microbiennes testées, nous avons utilisé des milieux de culture solides, en l'occurrence la gélose Muller-Hinton (MH) pour les bactéries et la gélose Sabouraud additionné de Chloramphénicol (SAB) pour les champignons. Aussi, des milieux de culture sélectifs ont été utilisés dans le but d'identifier certains germes bactériens (gélose Chapman pour les staphylocoques, milieu Hektoen pour les entérobactéries, gélose Muller-Hinton du sang (MHS) pour mettre en évidence le caractère hémolytique des streptocoques) ainsi que la Gélose Nutritive (GN) pour l'isolement des micro-organismes non exigeants.

Et afin de mener une étude comparative du pouvoir antibactérien entre notre échantillon d'HE et des produits de références, nous avons utilisé des disques Antibiotiques (ATB) comme témoins positifs. Ces ATB proviennent de la société Bio-Rad (France). Concernant les souches fongiques, une étude comparative a été menée avec un antiseptique dénommé Hexomédine (0.01%) (Biopharm, Alger).

## 2.2. Méthodes

### 2.2.1. Étude analytique de l'huile essentielle :

Les nombreux paramètres intervenant dans la composition des HE ont amené les organismes de normalisation à édicter un certain nombre de règles qui concernent les propriétés organoleptiques et le profil chromatographique de ces extraits aromatiques.

#### 2.2.1.1. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle :

Les différentes caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) de l'essence aromatique de la lavande des stoechades ont été notées.

### 2.2.1.2. Analyses chromatographiques de la fraction aromatique :

#### - Principe de la Chromatographie gazeuse-Spectrométrie de masse (CG-SM) :

Le spectromètre de masse couplé à un chromatographe en phase gazeuse permet d'identifier et de quantifier les constituants d'un mélange de molécules volatiles. En soumettant une HE à la CG-SM, nous déclenchons un processus à plusieurs étapes :

- ionisation des molécules qui se volatilisent sous l'effet de la haute température.
- accélération des ions formés qui se dirigent vers le dispositif de séparation.
- séparation des ions et leur distribution suivant leur rapport masse /charge et leur détection.
- traitement du signal : le signal de sortie de l'appareil conduit au spectre de masse qui constitue la représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction de leurs rapports m/z.

La comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs « bibliothèques » de référence permet son identification. Ce couplage augmente considérablement la quantité et la qualité des informations obtenues (Adams, 2004).

#### - Conditions opératoires :

Les analyses chromatographiques de l'HE ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse type Hewlett-Packard (6890) couplé avec un spectromètre de masse (HP 5973). La fragmentation est effectuée par impact électronique à 70eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire HP-5MS (30m x 0.25mm), l'épaisseur du film est de 0.25µm. La température de la colonne est programmée de 50 à 250°C à raison de 2°C.min<sup>-1</sup>. Le gaz vecteur est l'hélium dont le débit est fixé à 1.5 ml.min<sup>-1</sup>. Le mode d'injection est du mode split (rapport de fuite : 1/70). L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectre de masse NIST 98 et piloté par un logiciel « *HP ChemStation* » permettant de suivre l'évolution des analyses chromatographiques.

#### - Identification des constituants :

L'identification des constituants a été faite sur la base de la comparaison de leurs Indices de Rétention (IR) avec ceux des composés de référence de la littérature (Adams, 2004). Une confirmation est apportée à l'aide des spectres de masse en comparaison avec ceux des composés standard de la banque de données informatisée (NIST 98).

La préparation de la table des n-alcanes pour la mesure des indices de Kovats des composés identifiés dans l'HE a été faite comme suit : Solution des n-alcanes de C<sub>8</sub> à C<sub>26</sub> (origine: Aldrich et Fluka Chemicals) à 5% dans le pentane, soit 0,1 g de chaque alcane dans 20 ml de pentane, conservé au réfrigérateur. L'identification des composés a été effectuée par comparaison de leurs IR (Indices de Kovats) et des spectres de masse ions-fragments caractéristiques obtenus expérimentalement à ceux cités dans la littérature et/ou inventoriés dans les banques de bibliothèques spectrales (Wiley7, NIST 2002). Les indices de Kovats (IK) sont calculés comme suit :

$$IK = 100 n + 100 * (TR_c - TR_n / TR_{n+1} - TR_n)$$

**n**: Nombre d'atomes de carbone de l'alcane élué avant le composé;

**TR<sub>c</sub>** : Temps de rétention du composé ;

**TR<sub>n</sub>** : Temps de rétention de l'alcane à n atomes de carbone élué avant le composé ;

**TR<sub>n+1</sub>** : Temps de rétention de l'alcane à n+1 atomes de carbone élué après le composé.

## 2.2.2. Étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle :

### 2.2.2.1. Technique en milieu solide : Méthode des aromagrammes

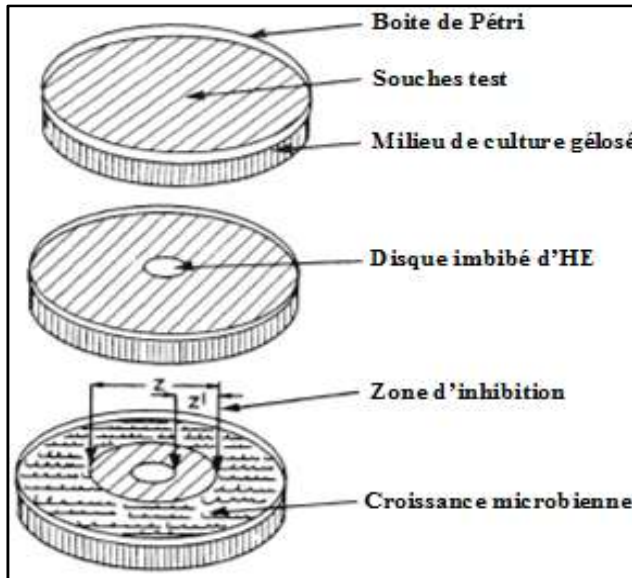
Cette méthode utilisée par certains auteurs (**Tyagi & Malik, 2011 ; Boukhatem *et al.*, 2014**) est la technique que nous avons utilisée pour évaluer dans un premier temps l'activité antimicrobienne de l'HE. L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé. Elle a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des produits à tester, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale. Cette technique (**Figure 2.1**) repose sur le pouvoir migratoire par diffusion des HE à l'intérieur d'une boîte Pétri, dans un milieu nutritif solide.

Dans cette méthode, nous avons utilisé des disques de papier filtre de 9 mm de diamètre (Schleicher & Schuell, Bio Science GmbH, Dassel, Germany), imprégnés d'une quantité d'HE (20, 40 et 60 µl/disque) que nous déposons à la surface d'un milieu gélosé (MH ou SAB) préalablement ensemencé en surface avec une suspension. La boîte est ensuite fermée et incubée dans l'étuve à température adéquate. La densité optique de la suspension microbienne a été préalablement ajustée à l'aide d'un densitomètre (0.5Mac Farland pour les bactéries et 1.5 Mac Farland pour les souches fongiques) afin obtenir une concentration de 10<sup>8</sup> germes/ml. Chaque essence diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les bactéries et les champignons croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'essence suffisante qui inhibe leur croissance. A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré et exprimé en mm.

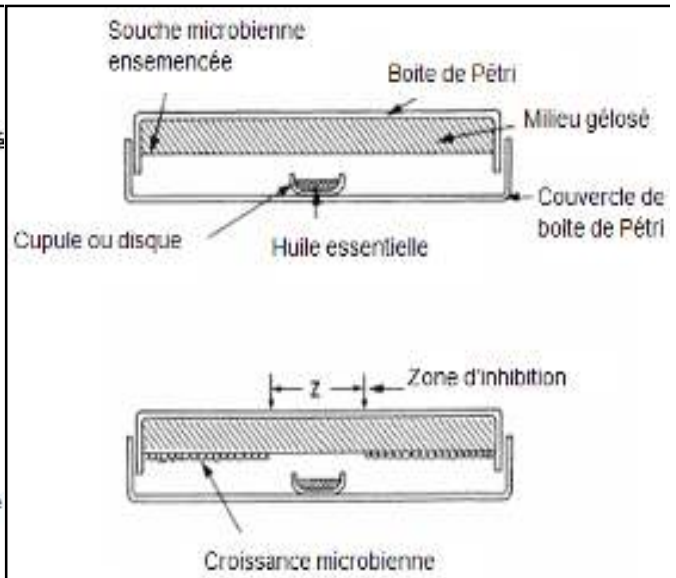
### 2.2.2.2. Microatmosphère ou méthode en phase vapeur :

Nous avons utilisés cette méthode dans le but d'exploiter les propriétés antimicrobienne de la phase volatile de l'HE. Cette méthode est rarement citée car les auteurs qui se sont penchés spécifiquement sur l'activité de la phase gazeuse sont encore peu nombreux (**Tyagi et Malik, 2011**). La différence entre cette technique (**Figure 2.2**) et les aromagrammes réside principalement dans la position du disque imprégné. Cette technique permet de mettre en évidence la diffusion des composants volatils des HE à l'intérieur d'une boîte Pétri. Le disque imprégné est déposé au centre du couvercle de la boîte Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-

ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. La boîte est fermée avec le couvercle en bas et mise à l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 72h ou 5 jours pour les levures et les moisissures, respectivement. Il se produit une évaporation des substances qui, en contact avec les microorganismesensemencés sur la gélose, va inhiber leur croissance. A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par une zone translucide sur la gélose de contour plus ou moins nette, à tendance circulaire.



**Figure 2.1:** Illustration de la méthode de l'aromatogramme (Zaika, 1988).



**Figure 2.2:** Illustration de la méthode de microatmosphère (Zaika, 1988).



## Chapitre 3

# RESULTATS ET DISCUSSION

---

### 3.1. Etude analytique de l'huile essentielle :

#### 3.1.1. Caractéristiques organoleptiques :

Les propriétés organoleptiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. Les paramètres organoleptiques de notre échantillon d'HE de *Lavandula stoechas* sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes **AFNOR (2000)** (**Tableau 3.1**).

**Tableau 3.1.** Propriétés organoleptiques de l'essence aromatique de *Lavandula stoechas*.

Caractéristiques organoleptiques	Notre étude (2015)	AFNOR (2000)
Aspect	Liquide mobile	Liquide mobile, limpide
Couleur	Jaune	jaune clair
Odeur	Caractéristique, agréable, rappelant l'odeur des sommités fleuries, légèrement camphrée	Odeur caractéristique de lavande, très légèrement camphrée

---

#### 3.1.2. Détermination du profil chromatographique de l'huile essentielle :

Notre étude s'est axée sur la détermination des composés volatiles majoritaires de l'HE alors que les molécules ayant des fragments de masse inférieure à 0.05% n'ont pas été rapportées. L'huile essentielle de *Lavandula stoechas*, obtenue à échelle industrielle par entraînement à la vapeur d'eau sous pression, a été d'abord analysée par Chromatographie Gazeuse avec un Détecteur d'Ionisation à Flamme (GC-FID) sur une colonne capillaire apolaire HP5-MS (**Figure 3.1**). Pour une identification plus exhaustive des composés aromatiques, l'essence aromatique a été analysée, par la suite, avec Chromatographie Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC/MS) sur une colonne capillaire apolaire (HP5-MS). Les conditions opératoires sont détaillées dans la partie expérimentale. Le **Tableau 3.2** donne, dans l'ordre d'élution, les compositions, qualitative et quantitative, de l'essence de lavande papillon distillée et regroupées selon les familles terpéniques. Au total, vingt-trois (23) composés ont été détectés. Pour l'identification,

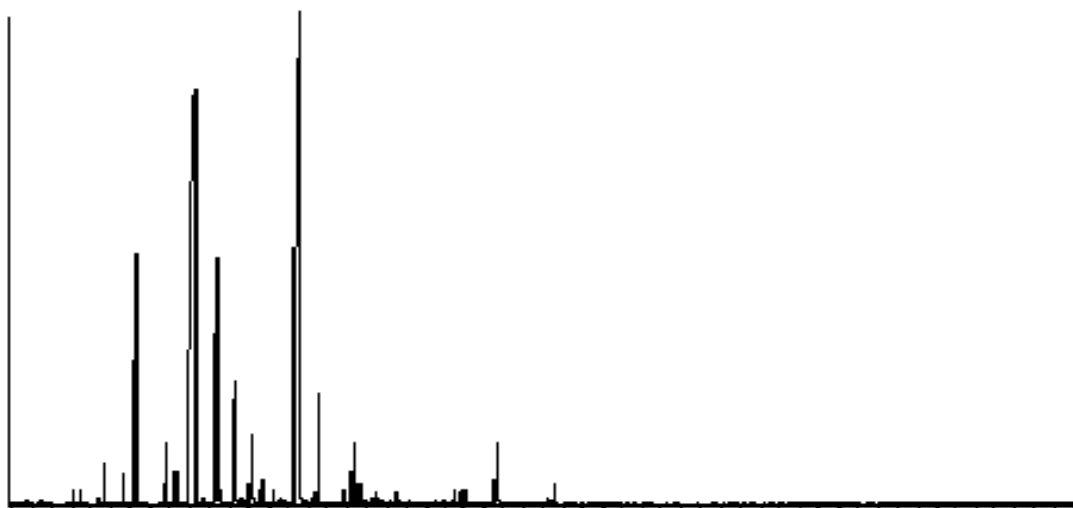
nous avons d'abord calculé leurs IR ; ensuite nous les avons comparés à ceux de la littérature. Nous avons, par la suite, procédé au dépouillement de leurs spectres de masse en se référant à ceux donnés dans les différentes librairies (NIST et Wiley).

**Tableau 3.2.** Composition chimique de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* distillée, à échelle industrielle, par entraînement à la vapeur sous pression.

N°	Composés	IR	%
<b>Monoterpènes</b>			<b>00,46</b>
1	$\alpha$ -Pinène	926	00,16
2	Camphène	942	00,20
3	$\beta$ -Pinène	974	00,10
<b>Monoterpènes Oxygénés</b>			<b>51,09</b>
4	1,8-Cinéole	1088	04,86
5	<i>Cis</i> -Oxyde de Linalool	1102	01,35
6	<i>Trans</i> -Oxyde de Linalool	1116	01,12
7	Linalool	1123	33,42
8	1-Acétate d'Octen-3-yl	1130	00,46
9	Camphre	1149	06,38
10	Bornéol	1173	02,50
11	Butyrate d'Hexyl	1201	01,00
<b>Sesquiterpènes</b>			<b>00,12</b>
12	E-Caryophyllène	1425	00,12
<b>Sesquiterpènes Oxygénés</b>			<b>01,54</b>
13	Oxyde de Caryophyllène	1570	01,23
14	$\alpha$ -Bisabolol	1684	00,31
<b>Autres Composés Oxygénés</b>			<b>40,57</b>
15	3-Octanone	989	00,65
16	N-Acétate d'Hexyl	1022	00,45
17	N-Hexyl 2-MéthylButyrate	1234	00,13
18	Acétate de Linalyl	1277	36,67

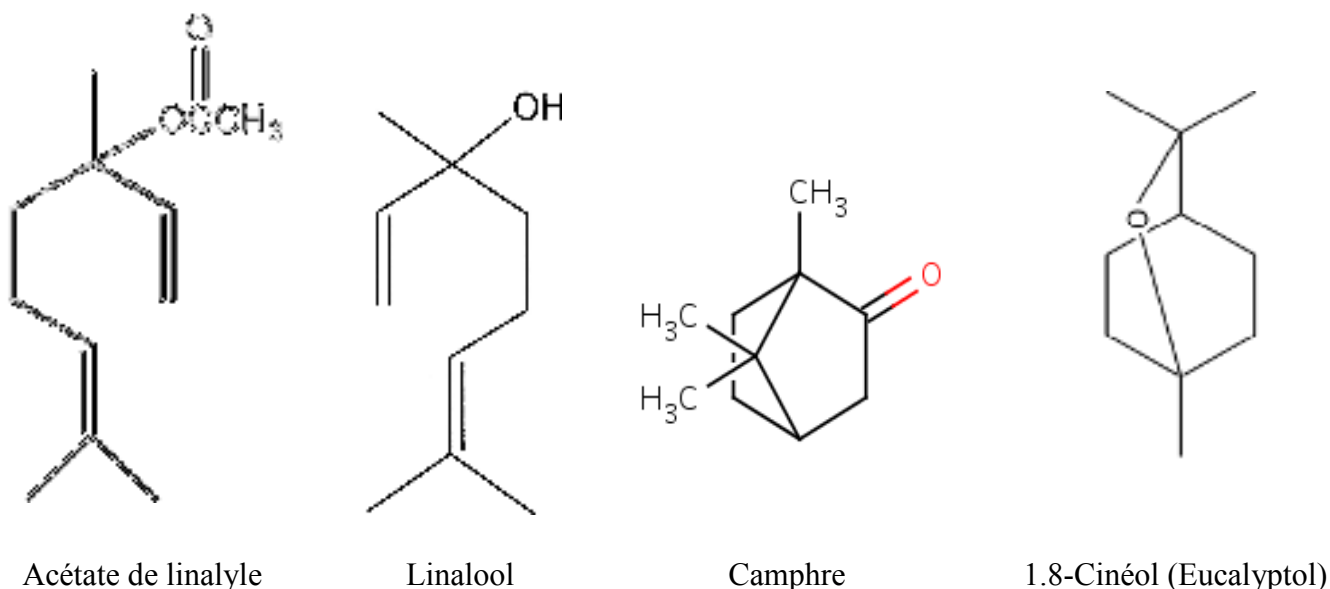
19	Acétate de Bornyl	1285	00,28
20	Acétate de Lavandulyl	1295	01,78
21	Tiglate de Hexyl	1345	00,31
22	Acétate de Néryl	1372	00,06
23	Acétate de Géranyl	1394	00,24

IR : Indice de Rétention calculé sur une colonne apolaire (HP5-MS)



**Figure 3.1.** Profil chromatographique de l'essence aromatique de *Lavandula stoechas*.

A la lecture des résultats consignés dans le **Tableau 3.2**, il apparaît clairement que l'acétate de linalyle apparaît comme le composé majoritaire de l'essence de la lavande à toupet avec un taux de 36.67%, suivi par le linalool avec 33.42%, le camphre (6.38%) et le 1.8 cinéol (4.86%) (**Figure 3.2**). Les autres composés sont présents avec un taux inférieur à 3%. D'un point de vue biochimique, la famille des monoterpènes oxygénés, représentée par les alcools et leurs esters, est la plus abondante avec un taux supérieur à 90%. Un seul sesquiterpène a été détecté dans l'essence de lavande, en l'occurrence le caryophyllène, mais qui demeure quasi-inexistant (0.12%).



**Figure 3.2.** Structure chimique des composés majoritaires détectés dans l'essence aromatique de *Lavandula stoechas*.

Toutes les espèces et les hybrides du genre *Lavandula* sont des plantes très aromatiques qui produisent des mélanges complexes d'HE produites et stockées dans des glandes sur la surface des fleurs et des feuilles (Lis-Balchin, 2002). Il n'est donc pas surprenant que les connaissances phyto-chimiques sur les lavandes soient axées sur leurs molécules terpéniques.

Les études sur la composition chimique des HE des espèces du genre *Lavandula* montrent qu'elles sont plus riches en monoterpènes qu'en sesquiterpènes et que ces deux groupes de molécules constituent la majeure partie des HE (Tableau 3.3) (Benabdelkader, 2012). Ceci paraît en conformité avec nos résultats obtenus où les monoterpènes oxygénés sont majoritaires (90%). Les études des constituants volatils des espèces de lavande ont révélé la présence de plus de 200 constituants chimiques, beaucoup d'entre eux étant présents sous forme de traces. Certaines espèces telles que *L. stoechas* synthétisent plus de 100 terpènes différents alors que d'autres espèces telle que *L. canariensis* expriment une diversité terpénique beaucoup plus faible. *L. stoechas* a été plus particulièrement étudiée du fait de son aire de répartition large et de son utilisation traditionnelle très ancienne (Cavanagh & Wilkinson, 2006, Benabdelkader, 2012).

**Tableau 3.3.** Composés chimiques majoritaires détectés dans l'essence aromatiques des lavandes papillons (*Lavandula stoechas*) provenant de différentes localisations géographiques.

Espèce	Origine	Organe	Composés majoritaires (%)	Auteurs
<i>L. stoechas</i> ssp. <i>stoechas</i>	Rabat (Maroc)	Partie aérienne fleurie	Fenchone = 30 Camphre = 18 1.8-cinéol = 8	<b>Valentini et al.</b> (1993)
	Chypre	Partie aérienne fleurie	Fenchone = 28-51 Camphre = 4-39	
<i>L. stoechas</i>	Crète	Feuilles et fleurs	Fenchone = 44-48 1.8-cinéol = 5-16 Camphre = 4-6 Acétate de myrtényle = 2-9	<b>Skoula et al.</b> (1996)
<i>L. stoechas</i>	Corse (France)	Non spécifié	Fenchone = 14-75 Camphre = 2-56 1.8-cinéol = 3-14 Acétate de myrtényle = 1-4	<b>Ristorcelli et al.</b> (1998)
<i>L. stoechas</i> ssp. <i>luisieri</i>	Séville (Espagne)	Partie aérienne fleurie	Acétate $\alpha$ -nécrodyde = 17-27 1.8-cinéol = 6-16 Acétate de lavandulyle = 4-5	<b>Lavoine- Hanneguelle (2004)</b>
<i>L. stoechas</i> ssp. <i>atlantica</i>	Rabat (Maroc)	Partie aérienne fleurie	Camphre = 39 Fenchone = 9 Camphène = 7 A-pinène = 6.5	<b>Zrira &amp; Benjlali (2003)</b>
<i>L. stoechas</i>	Kairouan (Tunisie)	Feuilles	Fenchone = 68 Camphre = 11 1.8-cinéol = 5	<b>Bouzouita et al.</b> (2005)
<i>L. stoechas</i>	Cherchell (Algérie)	Feuilles et fleurs	Fenchone = 31 Camphre = 22 p-cymène = 6	<b>Dob et al.</b> (2006)
<i>L. stoechas</i>	Australie	Fleurs	Camphre = 48 Fenchone = 22 1.8-cinéole = 9 Linalool = 2	<b>Cavanagh &amp; Wilkinson (2006)</b>
<i>L. stoechas</i>	Cagliari (Italie)	Fleurs, feuilles et tiges	Fenchone = 59-72 Camphre = 9-15 Acétate de myrtényle = 3-5	<b>Angioni et al.,</b> (2006)
<i>L. stoechas</i>	Australie	Non spécifié	Camphre = 48 Fenchone = 21 1.8-cinéol = 9	<b>Moon et al.</b> (2007)
<i>L. stoechas</i>	Chalkidiki (Grèce)	Feuilles et fleurs	Fenchone = 45 1.8-cinéole = 16 Camphre = 10 p-cymène = 5	<b>Hassiotis (2010)</b>
<i>L. stoechas</i>	Tlemcen (Algérie)	Partie aérienne fleurie	Fenchone = 28  1.8-Cinéole = 19 Camphre = 18	<b>Mohammedi &amp; Atik (2012)</b>
<i>L. stoechas</i> ssp. <i>lusitanica</i>	Algarve (Portugal)	Partie aérienne fleurie	Camphre = 40 Fenchone = 38	<b>Costa et al.</b> (2013)
<i>L. stoechas</i>	Taroudant. (Maroc)	partie aérienne	Camphre = 44  Camphène = 15  Terpinolène = 13	<b>Khia et al.</b> (2014)
<i>L. stoechas</i>	(Sud Est de L'Espagne)	Partie aérienne fleurie	Fenchone = 33-37 Camphre = 16-24	<b>Carrasco et al.</b> (2015)

A la lecture des résultats comparatifs rapportés dans le **Tableau 3.3.**, il apparaît que *L. stoechas* a été étudiée dans différents pays méditerranéens (Crète, Espagne, Corse, Chypre, Grèce, Turquie, Maroc, Algérie et Tunisie) avec des résultats variables. Ces variations sont soit qualitatives (composés différents) soit quantitatives (proportions différentes de certains composés). Ces variations peuvent parfois être dues à des différences climatiques, géographiques ou saisonnières ou simplement à la quantité d'arrosage ou la fertilisation utilisée. Elles peuvent également avoir une origine génétique ; ceci a été observé quand des plantes d'origines géographiques différentes sont cultivées à proximité l'une de l'autre. Finalement, ces variations peuvent être également attribuées aux méthodes d'extraction des HE et, dans le cas des essences commerciales, au degré de mélange et de falsification (**Lis-Balchin, 2002**).

En accord avec les résultats obtenus lors de notre étude, les HE extraites des populations de *L. stoechas* sont reconnues pour la complexité de leur composition chimique et la variabilité de leurs constituants. Si 1 à 3 composés sont majoritaires, elles renferment en parallèle un très grand nombre d'autres molécules, souvent présentes à l'état de traces. Des travaux antérieurs à la présente étude ont porté sur la variation de la composition chimique des HE de *L. stoechas* de différentes régions méditerranéennes (**Tableau 3.3**). Nos résultats semblent être en désaccord avec ceux obtenus sur d'autres populations nord Africaines et du reste du bassin méditerranéen. Ces études ont révélé l'existence de plusieurs chémotypes. Le chémotype le plus décrit de *L. stoechas* est le chémotype fenchone/camphre enregistré au Maroc (**Zrira & Benjilali, 2003**), en Tunisie (**Bouzouita et al., 2005**), en Italie (**Angioni et al., 2006**), en Crète (Grèce) (**Skoula et al., 1996**), à Chypre (**Valentini et al., 1993**) et en Corse (France) (**Ristorcelli et al., 1998**).

Dans une autre étude réalisée sur quatre populations sauvages de *L. stoechas* de la Crète, **Skoula et al. (1996)** ont montré que les principaux constituants des HE sont alternativement, ou en combinaison le fenchone, le camphre, le 1,8-cinéol, l' $\alpha$ -pinène et l'acétate de myrtényle. Ainsi, alors que le fenchone était un élément majeur de l'HE de toutes les quatre populations, trois étaient également riches en camphre et la quatrième en 1,8-cinéol. Pour notre échantillon, l'essence analysée de la lavande à toupet paraît être de chémotype acétate de linalyle, avec la présence d'un 2<sup>ème</sup> composé majoritaire, le linalool. Ces deux composés, à eux seuls, représentent un taux de 70%. Un autre monoterpène oxygéné, le 1.8-cinéol, a été retrouvé dans notre échantillon d'essence mais avec un taux très faible (5%). Ceci paraît être en totale contradiction avec d'autres travaux qui révèlent que des populations ayant un taux élevé de 1,8-cinéol, peuvent également être trouvées dans le nord de l'Afrique (**Tableau 3.3**). En revanche, tous les

chénotypes consignés dans le **Tableau 3.3** diffèrent complètement de celui publié par **Gören et al. (2002)** dont l'HE d'une *L. stoechas*, originaire de Turquie, se caractérisait plutôt par un profil jamais retrouvé et ayant une forte teneur en pulégone (40.4 %), menthol (18.1 %) et menthone (12.6 %), en parallèle avec une absence totale de fenchone et de camphre.

Chez une autre population algérienne de *L. stoechas* (**Dob et al., 2006**), la présence de quantités élevées de *p*-cymène (6.5 %) a été révélée. D'après la large étude de **Garcia-Vallejo (1992)** menée sur plusieurs populations de plusieurs espèces de *Lavandula* espagnoles et portugaises, l'acétate de myrtényle a été marqué comme composant caractéristique. Notre échantillon d'essence est aussi caractérisé par l'absence totale de quelques composés comme le  $\beta$ -phéllandrène, le longifolène et le germacrène D, définis auparavant dans les HE de *L. stoechas*. Cela s'explique probablement par la perte de ces composés lors de la distillation, surtout s'ils sont présents à l'état de traces (**Lis-Balchin, 2002**).

Nos résultats obtenus par CG-FID et CG-SM sont en totale adéquation avec d'autres travaux menés sur des populations algériennes de *L. stoechas* et qui démontré que ces HE contiennent plus de composés oxygénés que de composés hydrocarbonés. De plus, ces composés oxygénés sont majoritairement monoterpéniques (**Benabdelkader, 2012**). Les composés terpéniques sont caractéristiques des espèces de lavande et constituent des marqueurs chémotaxonomiques utiles pour distinguer des espèces et même des sous-espèces. Par exemple, *L. stoechas* subsp. *luisieri* est le seul taxon de lavande produisant les monoterpènes irréguliers, le *cis*- et le *trans*- $\alpha$ -nécrodol et l'acétate de *trans*- $\alpha$ -nécrodol (**Garcia-Vallejo et al., 1994 ; Lavoine-Hannequelle & Casabianca, 2004 ; Baldovini et al., 2005**).

En définitive, la différence de composition constatée entre l'essence de lavande analysée, lors de notre travail, et celle des autres populations à travers le bassin méditerranéen est vraisemblablement liée à une régulation différentielle des divers constituants de l'HE par des facteurs abiotiques et biotiques. De nombreux facteurs externes peuvent influencer la composition chimique de ces métabolites aromatiques. La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol sont autant de facteurs d'ordre environnemental susceptibles d'induire des modifications chimiques (**Lis-Balchin, 2002**). L'influence du procédé d'extraction sur la labilité des constituants des HE explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation soit, le plus souvent, différente de celle du mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal. Le chauffage prolongé et puissant engendre en effet la dégradation de certaines de molécules aromatiques (**Bruneton, 1999**).

### **3.2. Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle en aromagramme :**

Le screening antibactérien et antifongique de l'essence aromatique de la lavande papillon (*Lavandula stoechas*) a été réalisé, *in vitro*, sur plusieurs souches microbiennes isolées cliniquement. Au total, 24 bactéries ont été testées (11 bactéries à Gram + et 13 à Gram-) ainsi que six (06) champignons (cinq (05) levures et un (01) champignon filamenteux (moisissure)). Les résultats de cette étude antimicrobienne sont rapportés dans les **Tableaux 3.3** et **3.4**. A noter que le diamètre du disque (9 mm) a été inclus dans le calcul de la zone d'inhibition.

**Tableau 3.3.** Résultats de l'activité antibactérienne *in vitro* de l'essence aromatique de *Lavandula stoechas* en comparaison avec les antibiotiques.



Souches	Méthode utilisée						
	Aromatogramme		Microatmosphère			ATB (mm)	
	Quantité HE (µL /disque)						
	20	40	60	20	40	60	
<b>Gram-</b>							
<i>Escherichia coli</i> (Ec1)	12	16	20	-	-	-	AK=27 ;CIP=10 ;COT=R; CZ = R; NA=R; IPM=32; CN <sub>10</sub> =14; C <sub>x</sub> =20; AMC=R ;CT <sub>α</sub> =R; AMP=R
<i>E. coli</i> (Ec 2)	12	24	40	-	-	-	AK = 30; NA=30 ; CIP = 40; ; AMP = 25; AMC = 29; CTX = 40; CZ = 32; SXT = 33 ; IMP = 36. CN <sub>10</sub> =30;
<i>E. coli</i> (Ec 3)	11	20	30	10	20	55	IPM=29 ;CH=28 ;CL= 16;COT= 31;A MP= 19;GEN=23;AMC=22;AN=21; CN <sub>30</sub> =23; CT <sub>x</sub> =30; CIP=30
<i>E. coli</i> (Ec 4)	14	44	50	14	30	54	IPM=29 ;CH=28 ;CL= 16;COT= 31;A MP= 19;GEN=23;AMC=22;AN=21; CN <sub>30</sub> = 23; CT <sub>x</sub> = 30 ; CIP=30
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (Kp 1)	15	20	34	10	26	30	AMP=R ; C <sub>x</sub> = 26 ;CN10 =12 ; CT <sub>x</sub> R ; AMC=R ; COT=R ; CL=16 ; CZ R ; CIP R ; IPM = 39 ; AK = 21 ;CH=24.
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (Kp 2)	10	12	15	10	14	20	AMP=R ; C <sub>x</sub> = 28 ;CN10=10;CT <sub>x</sub> = R; AMC=R; COT=R ; CL=15 ; CIP=26; IPM=34; AK=23; CH=28; AM=R.
<i>Klebsiella sp.</i> (Kl 1)	12	16	22	14	40	48	AMP=11; NA=30 ; C <sub>x</sub> = 30 ; CNX = 31; CT <sub>x</sub> = 40; AMC=20; COT=35 ; CL=17;CZ=24;CIP=44;IPM=40.
<i>Klebsiella sp.</i> (Kl 2)	12	16	20	10	18	26	AMP R ; C <sub>x</sub> = 23 ;CNX = 24 ; CT <sub>x</sub> = 10 ;AMC R ; COT R ; CZ R ; CIP = 25 ; IPM = 34 ; AK = 22.
<i>Morganella morganii</i>	12	18	28	14	20	28	nd*
<i>Proteus mirabilis</i>	-	14	20	-	16	40	C = 22 ; AMC = 30 ; CTX = 33 ; CIP =37; CL=R; IPM=32; AK=26; COT=21; AMP=29 ; CN = 26 ;GEN=24.

<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	-	-	-	-	-	-	IPM=28 ;TCC=20 ;TC=22 ;RIF=25 ;T M=20 ;GEN=24 ;CIP=37 ;AT=27 ;CA Z=26 ;AN=23 .
<i>Pseudomonas sp.</i>	-	-	-	-	-	-	IPM=33 ;TCC=20 ;TC=21 ;RIF=24 ;T M=24 ;GEN=27 ;CIP=27 ;AN=25 ;LV X=11 ;AN=23 .
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	10	12	-	-	-	CN10=28;CN30=30;AK=28;IPM=40; CH=32;COT=28;AMC=32;CTX=36;C X=34;AMP=30;CIP=46.
<b>Gram+</b>							
<i>Bacillus sp.</i>	16	22	60	12	26	62	nd*
<i>Corynebacterium sp.</i>	35	60	85	-	45	85	nd*
<i>Staphylococcus aureus (Sa1)</i>	20	38	46	16	46	85	FAD=30;OX <sub>5</sub> 35; PT=24; GEN=25; CH= 23; CIP=25; P=34; OX = 30 ; DA=27; COT=30; E=26; VA=18; LV=23; RA= 33.
<i>S. aureus (Sa2)</i>	24	30	85	26	66	85	FAD=30 ;OX <sub>5</sub> 35 ;PT=24 ;GEN= 25 ; CH=23 ;CIP=25;P=34; OX <sub>1</sub> 30 ;AN=23 ; DA=27; COT=30 ;E=26 ;VA=18 ;LV=2 ;RA=33.
<i>S. aureus (Sa3)</i>	-	70	85	-	75	85	FAD=42 ;OX <sub>5</sub> 40 ;PT=34 ;GEN= 24 ; CH=25 ;CIP=26;P=15; OX <sub>1</sub> 26 ;AK=19 ; DA=25 ; C <sub>X</sub> = .29;COT=29 ;E=25
<i>S. aureus (Sa4)</i>	16	50	64	-	30	66	FAD=32 ;OX <sub>5</sub> 35 ;PT=31 ;GEN= 32 ; CIP=38;P=22; OX <sub>1</sub> 34 ;DA=30 ;COT= 40 ;E=32 ;VA=22 ;LV=23 ;RA=33 ;C X=38 ;RIF=42;KM=25.
<i>S. epidermidis</i>	14	26	85	16	30	48	ER ;FAR ;COT=R; KM=R; C=35; TE=28; CT <sub>X</sub> =24; OX <sub>5</sub> = 29; DA=35RIF=38 ;VA=21.

<i>S. saprophyticus</i>	12	16	20	-	-	-	OX <sub>5</sub> 37 ;PT=32 ;GEN= 33; CIP=33; P=22; OX <sub>1</sub> 23; DA=29 ; COT=21; E=30; VA=20;TE=30; P=29;PA=27.
<i>Staphylococcus sp.</i>	30	44	60	35	60	85	FAD=11 ;OX <sub>5</sub> 33 ;PT=31 ;GEN= 25 ; CIP=34;P=17; OX <sub>1</sub> 24;DA=29; COT=34; E=28; VA=19; CX=38.
<i>Streptococcus sp.</i> ( $\alpha$ -hémolytique)	12	20	34	14	20	35	RIF =33; OX5=35; FA=30; OX1= 30; PT=24; VA=18; P=34; LVX=23; AN=23; GEN=25; CH=23; CIP=25; COT=30.
<i>Streptococcus sp.</i> ( $\beta$ -hémolytique)	-	11	30	-	15	34	AMP=40; COT=29; E=R; DA=R; CH= 29; PT=25; VA=20; P=42; LVX=22 .

\*nd : non déterminé ; DZI = Diamètre de la Zone d'Inhibition ; (-) : absence de zone d'inhibition ; HE : Huile essentielle ; ATB : Disque d'antibiotique (contrôle positif) ; AMP/AM = Amoxicilline/Ampicilline; AMC = Amoxicilline + Ac. Clavulanique ; AN/AK= Amikacine; CH = Chloramphénicol=30 ; CAZ = Cefazidime ; CN30 = Céfalexine ; CIP = Ciprofloxacine ; CL/CS = Colistine ; COT = Cotrimoxazole ; CTX = Céfotaxime / Ceftriaxone ; CZN/CZ = Cefazoline ; DA= Lincomycine/Clindamycine ; E= Erythromycine ; FA/FAD= Acide Fusidique ; FOX/CX = Céfoxitine ; GM/CN10 = Gentamicine ; IPM = Imipénèm ; KNM = Kanamycine ; LVX = Lévofloxacine ; NA = Acide nalidixique ; OX = Oxacilline ; P = Pénicilline ; PT = Pristinamycine ; RIF/RA= Rifampicine ; TE = Tétracycline ; TCC = Ticarcilline + Acide Clavulanique ; TIC = Ticarciline ; VA = Vancomycine.

A la lecture des résultats obtenus lors de ce screening antibactérien de l'essence de lavande papillon par aromagramme, il apparaît clairement que, a la plus faible dose, *Corynebacterium* sp. est l'espèce la plus sensible à l'action inhibitrice de l'HE avec un diamètre de la zone d'inhibition (DZI) égal à 35 mm, suivi par *Staphylococcus* sp. (30 mm) et *S. aureus* (Sa2) (24 mm). Cette action bactériostatique est « dose-dépendante » sur la majorité des souches à Gram +. De plus et avec le dosage le plus élevé (60  $\mu$ l), quatre espèces bactériennes (*Corynebacterium* sp., *S. aureus* (Sa2), *S. aureus* (Sa3) et *S. epidermidis*) ont été inhibées totalement en aromagramme. En outre, l'essence de lavande a présenté une action inhibitrice supérieure aux disques d'ATB pris comme contrôle positif. Le DZI des ATB ne dépassent pas, dans les meilleurs des cas, 35 mm. Toutefois, la comparaison quantitative des résultats des HE et des ATB est difficile, car la nature de l'activité et la composition des molécules ne sont pas comparables. Contrairement aux HE, mélanges complexes de composés très volatils qui s'évaporent mais aussi diffusent dans la gélose à des vitesses différentes, les ATB sont de grosses molécules non volatiles. Leur diffusion a lieu vraisemblablement en surface et/ou en volume dans la masse de la gélose.

Concernant les bactéries à Gram -, de faibles valeurs de DZI ont été obtenues, ne dépassant pas 15 mm (*K. pneumoniae* 1). En outre ces DZI sont inférieurs comparativement aux souches à

Gram +. Par ailleurs, une action « dose-dépendante » a été aussi enregistrée pour la majorité des isolats étudiés. C'est le cas notamment de toutes les souches d'*E. coli* (Ec4) où les DZI varient entre 20 et 50 mm pour 60 µl d'HE par disque. En revanche, les espèces du genre *Pseudomonas* sont les plus résistantes à l'action inhibitrice de l'essence car aucune zone d'inhibition n'a été détectée et ce pour les différents volumes d'HE utilisés.

Dans le même sillage, nous avons remarqué qu'il existe une certaine différence de sensibilité entre les bactéries à Gram+ et à Gram-. Ceci est en totale adéquation avec la majorité des travaux antérieurs (**Tepe et al., 2005 ; Gilles et al., 2010**). Ces derniers confirment que les Gram+ sont plus sensibles à l'action antimicrobienne de l'HE que les Gram-. En fait, les Gram- possèdent une résistance intrinsèque aux agents biocides, qui est en relation avec la nature de leur paroi. L'espace périplasmique est rempli d'enzymes qui dégradent les substances complexes pour qu'ils puissent traverser la membrane cytoplasmique, et inactivent les produits chimiques toxiques (ATB, métaux lourds, HE,...). La résistance des bactéries à Gram- aux glycopeptides et aux macrolides est due à l'incapacité de ces molécules de franchir la membrane externe (**Burt, 2004**).

Les résultats de notre screening antimicrobien semblent être en accord avec d'autres travaux indiquant que les HE de populations non-algériennes de *L. stoechas* possèdent également des activités antiseptiques. Il a été rapporté que l'huile volatile de plantes en provenance de Tunisie a une activité antibactérienne envers *Staphylococcus aureus* (**Bouzouita et al., 2005**). De même, des activités antibactériennes ont été signalées pour l'HE de *L. stoechas* sauvage de Turquie (**Gören et al., 2002**), d'Italie (**Angioni et al., 2006**) ou à partir de plantes cultivées en Australie (**Moon et al., 2007**). Récemment, plusieurs publications scientifiques ont mis en exergue les propriétés inhibitrices de plusieurs espèces du genre *Lavandula*, en particulier vis-à-vis de *Aspergillus nidulans* et *Trichophyton mentagrophytes* (**Moon et al., 2007**). Cependant, la comparaison de l'efficacité des extraits aromatiques, ou des constituants individuels, à travers les différentes publications, reste difficile à établir. Cette difficulté réside dans le fait que les paramètres expérimentaux (méthodes employées, conditions physiologiques des germes, dose utilisée) diffèrent entre les études.

Dans l'une des larges études dans ce champ, **Deans et Ritchie (1987)** ont analysé cinquante HE à quatre concentrations contre une série de 25 genres de bactéries. Dans le cas de la lavande, ils ont trouvé qu'elle est largement efficace contre différentes souches, particulièrement contre l'indicateur fécal *Enterococcus faecalis*. Le genre *Bacillus* a été également démontré comme étant sensible à l'HE de lavande dans de nombreuses études (**Deans and Ritchie, 1987; Lis-Balchin et al., 1998**). L'étude du groupe **Jeanfils et al. (1991)** a révélé que les

propriétés antibactériennes de la lavande dépassent celles de l'*Allium cepia*. En effet, l'HE de lavande a révélé une action sur le *Bacillus stearothermophilus*, un important germe impliqué dans la détérioration des aliments capable de résister aux températures élevées. Ces travaux indiquent, que les extraits de lavande possèdent un large spectre bactéricide contrairement aux extraits d'oignons. De plus, les deux extraits de lavande ont une activité prononcée contre les membres du genre *Salmonella*.

Par ailleurs, les souches fongiques demeurent les plus sensibles à l'action inhibitrice de l'essence aromatique *in vitro*. Excepté *Candida parapsilosis*, toutes les autres espèces mycéliennes ont été totalement inhibées à la dose la plus élevée. A noter aussi que ce pouvoir antifongique de l'essence de lavande est largement supérieur à celui de l'Hexomédine, une solution antiseptique à usage locale, prise comme contrôle positif. Ces résultats, très encourageants, laissent entrevoir la possibilité d'une éventuelle utilisation de la fraction aromatique de cette lavande papillon comme alternative aux antifongiques de synthèse, non dénués de nombreux effets indésirables.

Beaucoup de chercheurs ont confirmé la présence de l'activité antifongique des métabolites terpéniques des lavandes. Nos résultats sont en concordance avec ceux de plusieurs travaux antérieurs (**Lis-Balchin, 2002 ; Zuzarte et al., 2013**). Le mécanisme d'action des extraits aromatiques sur les souches fongiques n'a pas été totalement élucidé. Cependant, certaines études soulignent que l'action antifongique de ces substances terpéniques est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci, entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (**Cox et al., 2000**). La lyse des cellules de levure a été montrée par la libération de substances absorbant à 260 nm (**Chami et al., 2005**).

**Tableau 3.4.** Résultats de l'activité antifongique *in vitro* de l'essence aromatique de *Lavandula stoechas* en comparaison avec un antiseptique.

Souches	Méthode utilisée						
	Aromatogramme			Microatmosphère			HEX (40 µL)
	Quantité HE (µL /disque)						
	20	40	60	20	40	60	
<i>Candida albicans</i> (Ca 1)	22	42	85	26	72	85	-
<i>Candida albicans</i> (Ca 2)	30	70	85	22	60	85	30
<i>Candida albicans</i> (Ca 3)	34	70	85	40	72	85	30
<i>Candida parapsilosis</i>	14	24	44	16	25	56	40
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	38	55	85	40	60	85	-
<i>Penicillium</i> sp.	24	40	85	30	50	85	-

HE : Huile essentielle ; HEX : solution antiseptique d'Hexomédine (0.1%) (Biopharm, Alger) ; (-) aucune zone d'inhibition.

L'activité antibactérienne des HE ainsi que leur mode d'action sont directement influencés par la nature et la proportion de leurs constituants qui entrent dans leur composition. Les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antibactérienne observée (**Dormans et Deans, 2000 ; Kalemba et Kunicka, 2003**). En effet, il est admis que l'activité antimicrobienne des HE se classe dans l'ordre décroissant selon la nature de leurs composés majoritaires: phénols > alcools > aldéhydes > cétones > oxydes > hydrocarbures > esters (**Dorman et Deans, 2000**).

Dans notre étude, la composition chimique de l'HE utilisée est dominée par la présence de molécules oxygénées. Les deux principaux constituants, l'alcool (linalool) et son ester l'acétate de linalyle, représentent presque 2/3 de la quantité totale. Ils appartiennent à la classe des monoterpènes oxygénés et leurs structures chimiques sont très proches. Une revue de littérature fait apparaître que les HE riches en alcools possèdent généralement un fort pouvoir antimicrobien. Les alcools sont d'ailleurs reconnus pour exercer un effet plutôt bactéricide que bactériostatique (**Dorman et Deans, 2000**). Dans le travail mené par **Dorman et Deans (2000)**, les alcools

terpénoïdes ont montré une activité contre les germes testés, en agissant comme des agents dénaturant les protéines ou des agents déshydratants.

Dans une autre étude, c'est le linalool qui s'est montré le plus efficace avec l'inhibition de 17 bactéries. Il était suivi par le cinéole et le géraniol (chacun d'eux inhibant 16 bactéries), puis par le menthol et le citral qui ont inhibé respectivement 15 et 14 bactéries (**Pattnaik et al., 1997**). De ce fait, le pouvoir antimicrobien de l'essence de la lavande pourra être relié, sans doute, à son profil biochimique caractérisé par la prédominance des composés oxygénés (90%) (**Cavanagh & Wilkinson, 2002**).

Cependant, ces composés ne peuvent être responsables des effets générés par l'HE sur les germes microbiens. **Viljoen et al. (2003)** ont démontré que l'effet synergique peut être actif dans une association entre le 1,8-cinéol et le camphre. Ces deux composés ont été également détectés à faible taux dans notre échantillon aromatique. Cela démontre, sans contestation possible, que la différence d'activité antiseptique des HE ne peut pas s'expliquer par la présence d'un principe actif et, encore moins, par sa seule concentration. Il est cependant probable que les composés minoritaires agissent de façon synergique. De cette manière, la valeur d'une HE tient à son « Totum », c'est à dire dans l'intégralité de ses composants, et non seulement à ses composés majoritaires. Il se dégage, de ces études expérimentales, que le phénomène « synergie-inhibition » prend ici toute sa valeur démonstrative (**Duraffourd & Lapraz, 2002 ; Goetz & Ghedira, 2012**).

### **3.3. Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle en microatmosphère :**

Dans le même sillage que les résultats obtenus en aromatogramme, *Staphylococcus* sp. est la souche la plus sensible à l'action inhibitrice de la phase vapeur de l'essence de lavande à toupet avec un DZI de l'ordre de 33 mm pour la plus faible dose, suivie par *S. aureus* (Sa2) (26 mm) et *S. epidermidis* (16 mm) (**Tableau 3.3**). L'action « dose-dépendante » du pouvoir antibactérien de la phase vapeur de l'essence a été aussi vérifiée pour la majorité des bactéries à Gram +. Par ailleurs, une inhibition totale a été enregistrée avec certains staphylocoques pathogènes ou encore avec un germe saprophyte (*Corynebacterium* sp.) et ce avec la dose la plus forte.

En revanche et concernant les bactéries à Gram -, des résultats peu reluisants ont été notés car les DZI obtenus ne dépassent pas, dans les meilleurs des cas, une valeur de 14 mm. Ces résultats paraissent en concordances avec ceux obtenus en aromatogramme. En outre, les isolats de *Pseudomonas*, *Salmonella* ou encore de certaines *E. coli* (Ec1 et Ec2) ont manifesté une résistance totale à l'action inhibitrice de la phase vapeur. D'un autre côté, d'autres souches *E. coli* (Ec3 et Ec4) ont manifesté une sensibilité importante avec des DZI supérieurs à 50 mm.

En thérapie, l'essence de lavande pourra trouver une place comme désinfectant atmosphérique en milieu hospitalier afin de lutter contre les infections nosocomiales et les contaminations aéroportées, ainsi que pour le contrôle de l'hygiène de l'air. Bien conduite, la diffusion atmosphérique devient un procédé idéal visant à la protection et à la prévention contre les infections nosocomiales et les pathologies hivernales (**De Billerbeck, 2002 ; Laird et Phillips, 2012**). Rappelons pour mémoire que ce sont les médecins, « parfumeurs et fumigateurs », qui étaient chargés de la désinfection des locaux et de l'hygiène hospitalière au XVIII<sup>ème</sup> siècle (**Pibiri, 2006**). En plus de leurs actions bactéricide et fongicide, les essences de lavande ont la particularité d'avoir des effets psychophysiologiques bénéfiques (**Lis-Balchin, 2002**).

Par ailleurs, les meilleurs résultats obtenus en phase vapeur demeurent, sans conteste, ceux du pouvoir antifongique de l'essence de lavande (**Tableau 3.4**). La levure *Candida albicans* a été signalée comme étant l'espèce la plus sensible à l'action anti-mycélienne de l'essence avec un DZI de l'ordre de 40 mm, suivie par un champignon filamenteux (*Penicillium* sp.) (30 mm) et *C. albicans* (26 mm). Plus intéressant encore, une action fongicide a été notée, avec la dose la plus élevée, notamment sur tous les isolats du genre *Candida* où une inhibition totale de la croissance mycélienne a été obtenue.

*In vivo*, l'incidence croissante des infections fongiques, plus particulièrement celles provoquées par les levures du genre *Candida*, pousse à rechercher de nouveaux agents antifongiques qui ne soient pas fongistatiques, toxiques et générateurs de résistance comme ceux déjà utilisés. La recherche d'une alternative thérapeutique s'avère donc nécessaire. D'où l'intérêt d'essayer de transposer ces résultats de l'action fongicide *in vitro* sur des modèles *in vivo*. Le mode d'action fongicide des HE a été abordé par quelques études qui sont arrivées à la conclusion que ce mécanisme se manifeste par une altération de la membrane plasmique de la cellule fongique (**Cox et al., 2001**).

Les résultats que nous avons obtenus sont très prometteurs pour l'utilisation de l'essence de la lavande à toupet comme principe actif, dans des préparations galéniques à visée thérapeutique, ou pour lutter contre les infections microbiennes et fongiques. Ces résultats obtenus *in vitro* sont très encourageants pour une éventuelle application *in vivo*, voire même dans une matrice alimentaire.

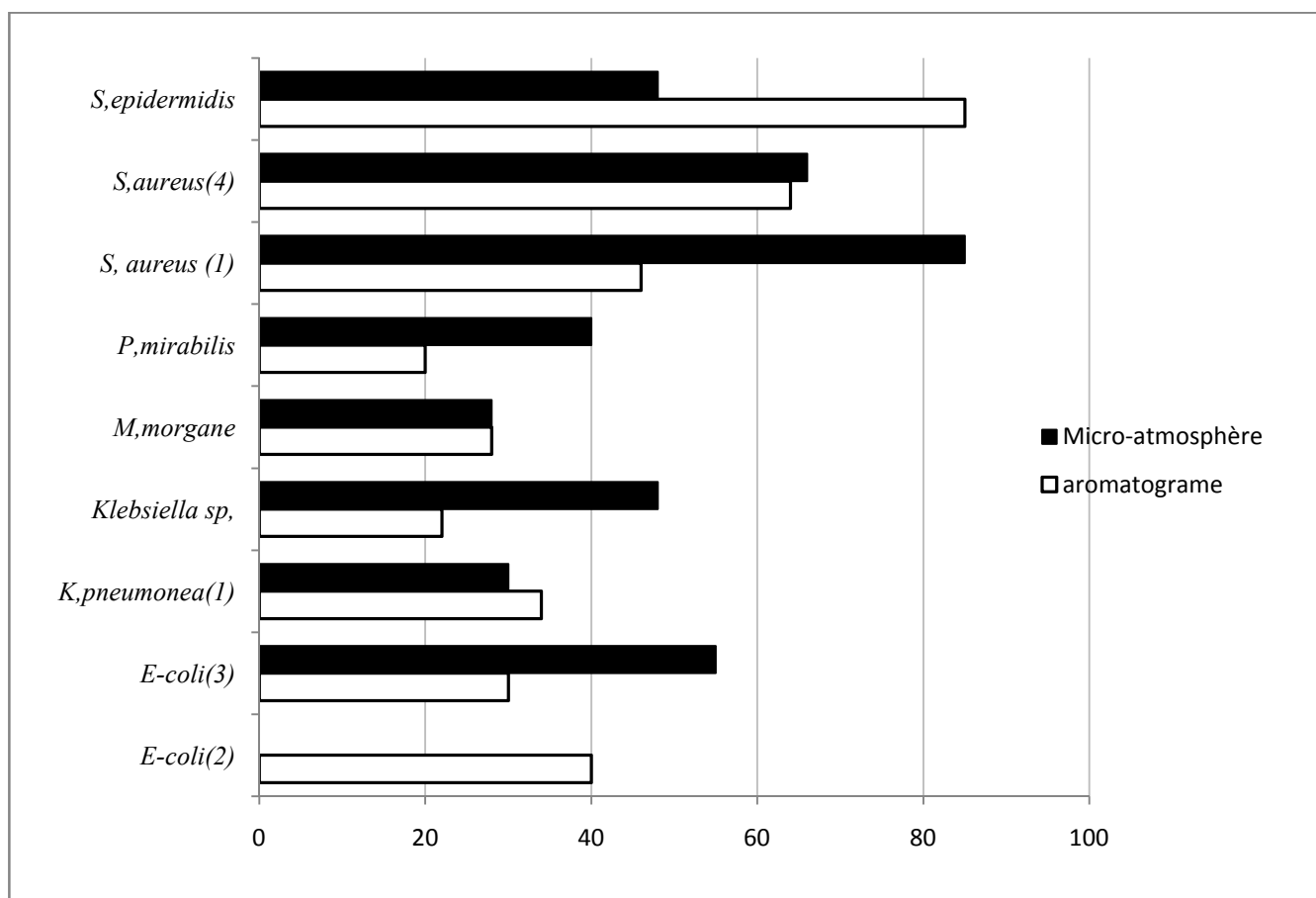
### **3.4. Etude comparative : aromatoigramme vs microatmosphère**

Une étude comparative entre l'aromatoigramme et la microatmosphère a été réalisée afin de vérifier l'efficacité de l'action antimicrobienne de la phase vapeur de l'essence. Hélas, cette étude n'a pas été validée sur le plan statistique car aucune répétition n'a été faite.

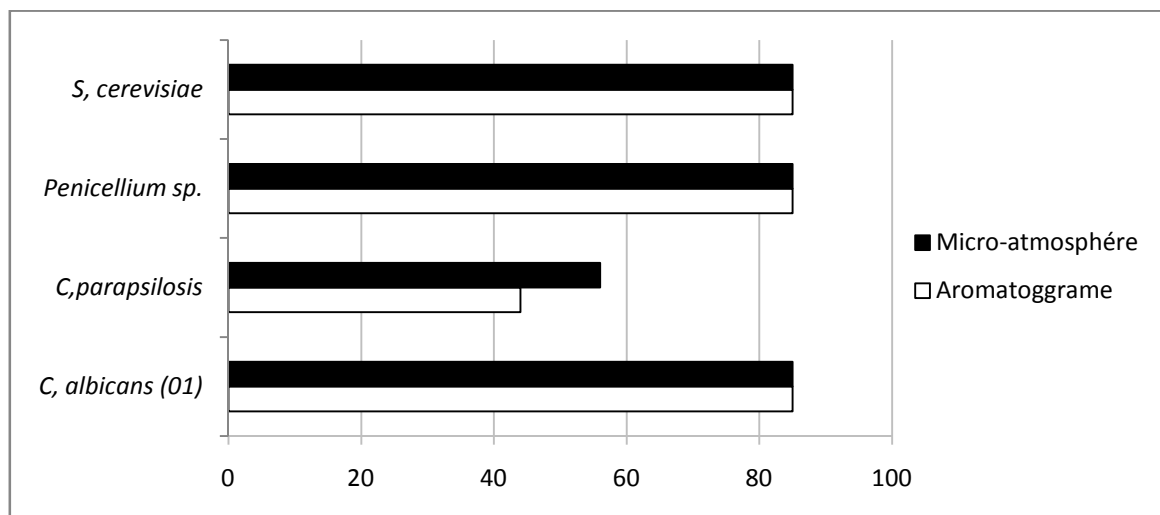


A la lecture comparative des résultats des deux méthodes, il apparaît que, d'une manière générale, certaines souches bactériennes sont plus sensibles à l'action inhibitrice de la phase vapeur que la phase liquide. C'est le cas notamment du *Proteus mirabilis*, *E. coli* (Ec3) et *S. aureus* (1) où les DZI obtenus, en microatmosphère, sont deux fois plus supérieurs que ceux de l'aromatogramme (**Figure 3.3**). En revanche et avec d'autres isolats (*S. aureus* (4), *Morganella morganii*), aucune différence notable n'a été signalée alors que pour le staphylocoque non pathogène, c'est plutôt la phase liquide qui est dotée d'un pouvoir inhibiteur remarquable à la plus forte dose.

En revanche et avec les souches fongiques, peu de différences ont été rapportées entre les deux méthodes, en particulier pour la plus forte quantité d'HE utilisées (**Figure 3.4**). Le pouvoir antifongique de la phase vapeur semble être similaire à celui de la phase liquide et ce pour toutes espèces testées du genre *Candida*. Là encore, aucune étude statistique n'a été possible, afin de valider ces résultats, par manque de répétitions.



**Figure 3.3.** Pouvoir antibactérien de l'essence de lavande (60 µl) : aromatogramme vs microatmosphère



**Figure 3.3.** Pouvoir antifongique de l'essence de lavande (60 µl) : aromatoigramme vs microatmosphère

A la lecture de la littérature scientifique, il apparaît que la microatmosphère est très peu documentée. En effet, rares sont les travaux scientifiques qui ont déjà traité cette méthode. Les études réalisées par **Tyagi et Malik (2010, 2011)** ont mis en exergue l'efficacité de la phase vapeur sur l'inhibition de la croissance des germes par rapport à la phase liquide. Ceci a été confirmé, lors de notre étude, notamment sur les bactéries à Gram+.

Concernant le screening antimicrobien par microatmosphère, il a été constaté, qu'avec certains germes, la phase volatile de l'HE est plus active que la phase liquide. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'en contact direct, les HE diffusent mal en milieu gélosé à cause de leur non miscibilité et, par conséquent, un contact réduit entre le germe et l'HE. Par contre et en microatmosphère, l'HE est très volatile et, de ce fait, il y aura une bonne diffusion sur une gélose préalablementensemencée (**Pibiri, 2006 ; Laird et Phillips, 2012**).

Il faut cependant considérer ces données avec prudence car ce sont des résultats obtenus en laboratoire et l'application en conditions réelles soulèvent de nombreuses interrogations. De plus, l'étude de **Pibiri (2006)** montre que l'efficacité microbicide est limitée dans le temps. Les dispositifs d'évaporation sont également susceptibles d'entraîner la formation de composés potentiellement toxiques pour l'Homme. Il est donc nécessaire d'obtenir plus de données sur ces différents aspects toxicologiques.

En somme et en se basant sur les résultats de ces deux techniques, l'activité antimicrobienne de l'HE de lavande papillon pourrait être due à l'effet combinatoire de ses phases vapeur et liquide. Dans tous les cas, cette action inhibitrice de la croissance fongique paraît supérieure à celles de toutes les espèces bactériennes.

# CONCLUSION

---

Les huiles essentielles et les arômes extraits à partir des herbes aromatiques et des épices sont le résultat d'un mélange complexe de substances volatiles. Ils sont généralement présents à de très faibles concentrations dans les plantes à parfum. L'usage des huiles essentielles, leur efficacité anti-infectieuse a été scientifiquement démontrée *in vitro et in vivo* alors qu'on les utilise, de façon empirique, depuis des siècles. En aromathérapie scientifique, il s'agit de mettre en valeur les propriétés biologiques en s'appuyant sur leur composition chimique. C'est dans ce contexte que s'est inscrite notre étude afin de mieux cerner le pouvoir anti-infectieux de la fraction aromatique d'une plante médicinale, largement répandue dans le bassin méditerranéen, la lavande à toupet (*Lavandula stoechas* L.).

Le premier objectif de notre travail était de déterminer la composition chimique de l'huile essentielle par analyse chromatographique et qui nous a permis d'identifier et de quantifier 23 composés. Cette HE étudiée est composée majoritairement de deux monoterpènes oxygénés : acétate de linalyle (36.67%) et linalool (33.42%). Le camphre et l'eucalyptol ont été aussi détectés dans cette huile mais à faible taux (6.38 % et 4.86% respectivement). L'essence de cette lavande pourra être classée « chémotype acétate de linalyle » avec une grande prédominance des composés oxygénés (90%).

Notre deuxième objectif était d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle sur différents germes pathogènes, isolés cliniquement ou provenant d'une collection de référence. Deux méthodes qualitatives (aromatogramme et microatmosphère) ont été utilisées avec trois doses croissantes en HE. Les résultats obtenus sont très encourageants.

L'essence de *Lavandula stoechas* peut être considérée comme un antibactérien car elle présente une bonne action inhibitrice sur plusieurs souches bactériennes comme les staphylocoques pathogènes ou certaines entérobactéries (coliformes). Cette essence pourra être cataloguée aussi comme un antifongique puissant car elle présente un large spectre d'action sur les levures et les moisissures telles que *C. albicans* et *C. parapsilosis*, avec des zones d'inhibition très importantes. Ces résultats laissent entrevoir la possibilité d'une éventuelle utilisation des essences de lavande dans la désinfection de l'air dans les hôpitaux ou encore dans la lutte contre les infections nosocomiales.

Comme perspectives, il serait intéressant d'apprécier l'action antimicrobienne des HE en comparaison avec les composés majoritaires afin de tirer des conclusions sur les possibles effets synergiques entre différents composés, majoritaire et minoritaire.

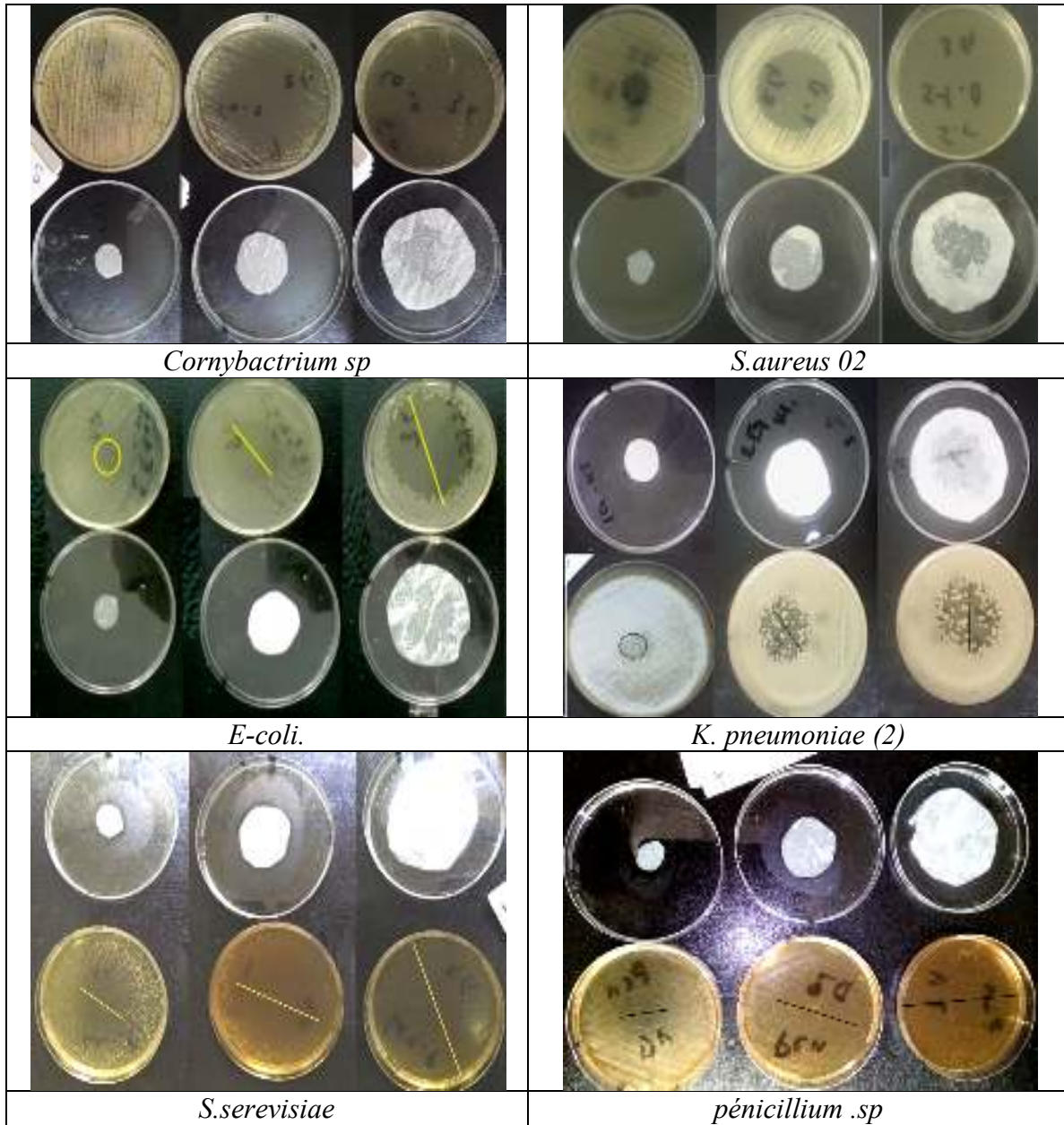
En outre, il nous paraît utile de tester l'action antimicrobienne des HE de cette plante à parfum sur une large gamme de micro-organismes, en particulier des germes multirésistants ou impliqués dans différentes infections, des bactéries responsables d'altération de la qualité hygiénique et sensorielle des denrées alimentaires et des germes phytopathogènes.

Le mode d'action des huiles au niveau cellulaire des germes microbiens a été rarement abordé. De même que la cinétique d'inhibition au cours de la croissance microbienne. Pour améliorer la compréhension des altérations cellulaires observées, un travail plus approfondi, impliquant les molécules actives des HE devra être entrepris. L'observation des effets produits sur l'ultra-structure bactérienne devra être réalisée en microscopie électronique à transmission.

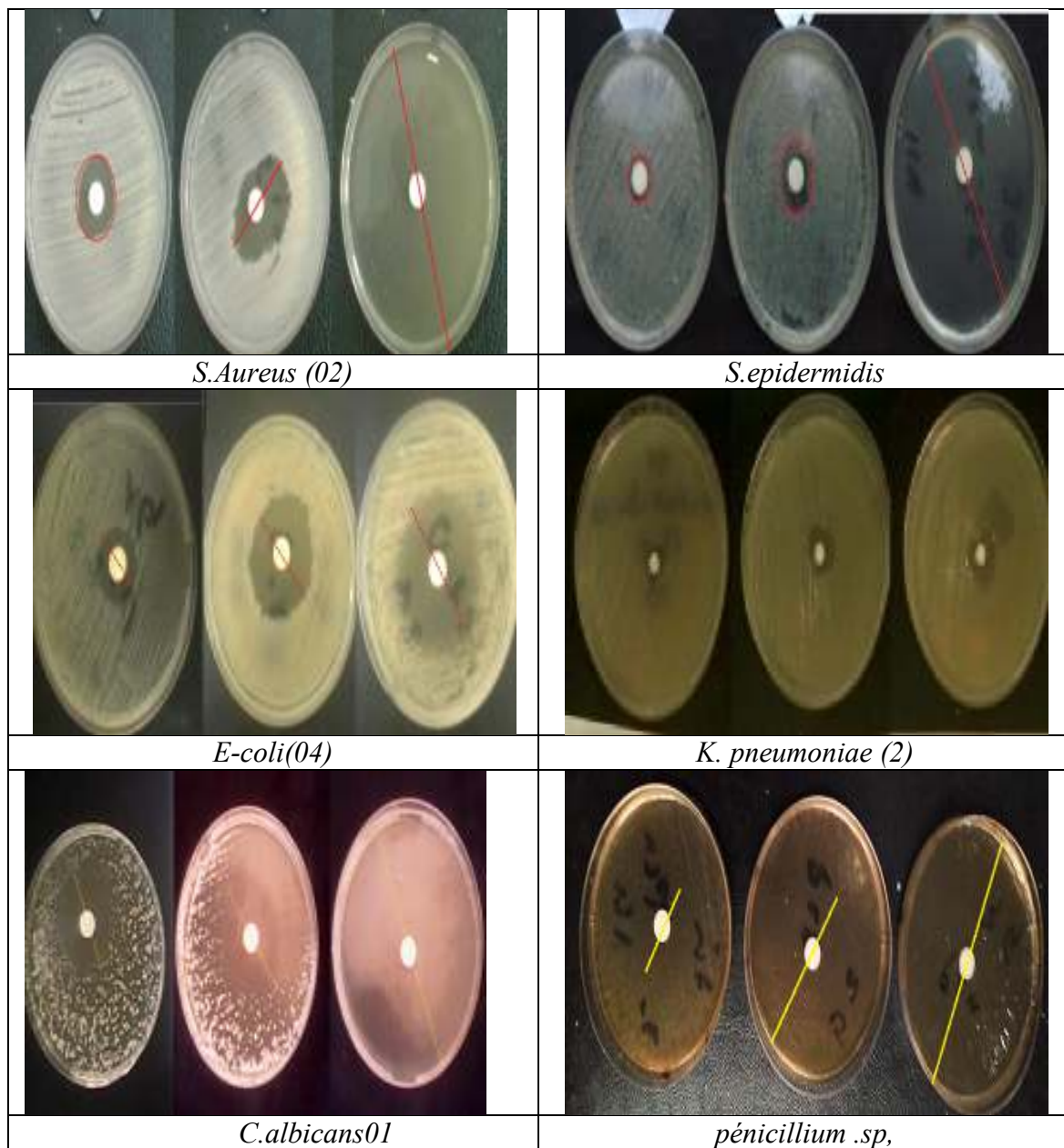
Les molécules actives pourront être testées contre d'autres souches multi-résistantes aux antibiotiques, incluant des bactéries Gram négatives, comme les entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE), et des bactéries Gram +, comme les staphylocoques résistants à la méthicilline (SARM), à la vancomycine (SARV) ou de sensibilité réduite aux glycopeptides. La cytotoxicité de ces molécules devra également être explorée sur cultures cellulaires, avant d'être évaluée *in vivo*. Après ces nombreux tests, en particulier la mesure de la cytotoxicité, les molécules à activité antibactérienne des HE pourront servir de base au développement de nouveaux antimicrobiens.

En définitive, l'objectif premier de notre travail a été atteint puisque nous avons contribué à valoriser la fraction aromatique de la lavande papillon en aromathérapie anti-infectieuse.

# ANNEXE



Effet antibactérienne de l'HE du lavande stochade en Microatmosphère de quelque souches microbiennes (Originale, 2015).



Effet antibactérienne de l'HE du lavande stochade en aromatoigramme de quelque souches microbiennes (Originale, 2015).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

1. AFNOR. (2000). Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles. AFNOR, Paris, France.
2. Akhondzadeh, S., Kashani, L., Fotouhi, A., Jarvandi, S., Mobaseri, M., Moin, M., & Taghizadeh, M. (2003). Comparison of *Lavandula angustifolia* Mill. tincture and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized trial. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 27(1), 123-127.
3. Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., & Cabras, P. (2006). Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(12), 4364-4370.
4. Baldovini, N., Lavoine-Hanneguelle, S., Ferrando, G., Dusart, G., & Lizzani-Cuvelier, L. (2005). Necrodane monoterpenoids from *Lavandula luisieri*. *Phytochemistry*, 66(14), 1651-1655.
5. Baldovini, N., Muselli, A., Ristorcelli, D., Tomi, F., & Casanova, J. (1998). Variabilite Chimique De *Lavandula Stoechas* de Corse. *Rivista Italiana Eppos*, 9, 773-780.
6. Benabdelkader, T. (2012). Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des *lavandes ailées*, *Lavandula stoechas sensu lato*, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Thèse de Doctorat en Science, Filière de Biologie. Université Jean Monnet-Saint-Etienne (France) en co-tutelle avec l'Ecole normale supérieure de Kouba (Alger, Algérie)).
7. Boukhatem, M, N., Ferhat, M, A., Kameli, A., Saidi, F., & Mekarnia, M. (2014). Liquid and vapour phase antibacterial activity of *Eucalyptus globulus* essential oil= susceptibility of selected respiratory tract pathogens. *American Journal of Infectious Diseases*, 10(3), 105-117.
8. Bouzouita, N., Kachouri, F., Hamdi, M., Chaabouni, M. M., Aissa, R. B., Zgoulli, S., & Lognay, G. C. (2005). Volatile constituents and antimicrobial activity of *Lavandula stoechas* L. oil from Tunisia. *Journal of Essential Oil Research*, 17(5), 584-586.
9. Braden, R., Reichow, S., & Halm, M. A. (2009). The use of the essential oil lavandin to reduce preoperative anxiety in surgical patients. *Journal of Perianesthesia Nursing*, 24(6), 348-355.
10. Bradley, B. F., Brown, S. L., Chu, S., & Lea, R. W. (2009). Effects of orally administered lavender essential oil on responses to anxiety-provoking film clips. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, 24(4), 319-330.
11. Bruneton J. « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales ». Editions Tec & Doc, Paris 1999, éditions médicales internationales, pp: 483-560.
12. Buckle, J. (1992). Aromatherapy. *Nursing Times*, 89(20), 32-35.
13. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253.
14. Carrasco, A., Ortiz-Ruiz, V., Martinez-Gutierrez, R., Tomas, V., & Tudela, J. (2015). *Lavandula stoechas* essential oil from Spain: Aromatic profile determined by gas chromatography–mass spectrometry, antioxidant and lipoxygenase inhibitory bioactivities. *Industrial Crops and Products*, 73, 16-27.

15. Cassé, C. (2013). La mémoire de l'exploitation de la lavande dans le pays barrêmeois.
16. Cassella S., Cassella J.P., Smith I. 2002. Synergistic antifungal activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and lavender (*lavandula angustifolia*) essential oil against dermatophyte infection. The International Journal of Aromathérapie, vol 12, 2-5.
17. Cavanagh, H. M. A., & Wilkinson, J. M. (2002). Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy Research*, 16(4), 301-308.
18. Cavanagh, H. M. A., & Wilkinson, J. M. (2006). Bioactivity of Lavandula Essential Oils, Hydrosols and Plant Extracts. *RIRDC (Rural Industries Research and Development Corporation)*, 1-30. Kingston, Australia.
19. Chami, F., Chami, N., Bennis, S., Bouchikhi, T., & Remmal, A. (2005). Oregano and clove essential oils induce surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae*. *Phytotherapy Research*, 19(5), 405-408.
20. Chaytor, D. A. (1937). A taxonomic study of the genus *Lavandula*. *Journal of the Linnean Society of London, Botany*, 51(338), 153-204.
21. Chebaibi, A., Filali, F. R., Amine, A., & Zerhouni, M. (2011). Effet bactéricide (*in vitro*) des extraits aqueux des feuilles du grenadier marocain (*Punica granatum* L.) sur des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 9(3), 158-164.
22. Costa, P., Gonçalves, S., Valentão, P., Andrade, P. B., Almeida, C., Nogueira, J. M., & Romano, A. (2013). Metabolic profile and biological activities of *Lavandula pedunculata* subsp. *lusitanica* (Chaytor) Franco: Studies on the essential oil and polar extracts. *Food Chemistry*, 141(3), 2501-2506.
23. Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., & Wyllie, S. G. (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88(1), 170-175.
24. De Billerbeck, V. G., Roques, C., Vanière, P., & Marquier, P. (2002). Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Hygiènes*, 3, 248-51.
25. De Gingins-Lassaraz, F. (1827). *Histoire naturelle des lavandes*.
26. Deans, S. G., & Ritchie, G. (1987). Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 5(2), 165-180.
27. Dob, T., Dahmane, D., Agli, M., & Chelghoum, C. (2006). Essential oil composition of *Lavandula stoechas*. from Algeria. *Pharmaceutical Biology*, 44(1), 60-64.
28. Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308-316.
29. Dupin C, Festy D. (2012). La lavande, c'est malin: Huile essentielle, fraîche ou séchée, découvrez les incroyables vertus de cette fleur pour la beauté, la santé, la maison. Leduc Éditions, France.
30. Duraffourd, C., & Lapraz, J. C. (2002). *Traité de phytothérapie clinique*. Elsevier Masson.
31. Field, T., Field, T., Cullen, C., Lergie, S., Diego, M., Schanberg, S., & Kuhn, C. (2008). Lavender bath oil reduces stress and crying and enhances sleep in very young infants. *Early Human Development*, 84(6), 399-401.
32. Flores, G., Blanch, G. P., Ruiz del Castillo, M. L., & Herraiz, M. (2005). Enantiomeric composition studies in *Lavandula* species using supercritical fluids. *Journal of Separation Science*, 28(17), 2333-2338.
33. Ghelardini, C., Galeotti, N., Salvatore, G., & Mazzanti, G. (1999). Local anaesthetic activity of the essential oil of *Lavandula angustifolia*. *Planta Medica*, 65(8), 700-703.
34. Gilles, M., Zhao, J., An, M., & Agboola, S. (2010). Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian *Eucalyptus* species. *Food Chemistry*, 119(2), 731-737.



35. Giray, E. S., Kırıcı, S., Kaya, D. A., Türk, M., Sönmez, Ö., & Inan, M. (2008). Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandula stoechas*. *Talanta*, 74(4), 930-935.
36. Goel, N., Kim, H., & Lao, R. P. (2005). Gender differences in polysomnographic sleep in young healthy sleepers. *Chronobiology International*, 22(5), 905-915.
37. Goetz, P., & Ghedira, K. (2012). *Phytothérapie anti-infectieuse*. Springer Science & Business Media.
38. Gontard, M. (1940). La culture de la lavande en France. *Les Études rhodaniennes*, 16(1), 43-60.
39. González-Coloma, A., Martín-Benito, D., Mohamed, N., García-Vallejo, M. C., & Soria, A. C. (2006). Antifeedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(8), 609-616.
40. Goren, A. C., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Aydogmus, Z., & Pezzuto, J. M. (2002). The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. *Zeitschrift für Naturforschung C-Journal of Biosciences*, 57(9-10), 797-800.
41. Graham, P. H., Browne, L., Cox, H., & Graham, J. (2003). Inhalation aromatherapy during radiotherapy: results of a placebo-controlled double-blind randomized trial. *Journal of Clinical Oncology*, 21(12), 2372-2376.
42. Gray, S. G., & Clair, A. A. (2002). Influence of aromatherapy on medication administration to residential-care residents with dementia and behavioral challenges. *American Journal of Alzheimer's Disease and other Dementias*, 17(3), 169-174.
43. Gülçin, İ., Şat, İ. G., Beydemir, Ş., Elmastaş, M., & Küfrevioğlu, Ö. İ. (2004). Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chemistry*, 87(3), 393-400.
44. Guyot-Declerck, C., Renson, S., Bouseta, A., & Collin, S. (2002). Floral quality and discrimination of *Lavandula stoechas*, *Lavandula angustifolia*, and *Lavandula angustifolia* × *latifolia* honeys. *Food Chemistry*, 79(4), 453-459.
45. Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86(6), 985-990.
46. Hassiotis, C. N. (2010). Chemical compounds and essential oil release through decomposition process from *Lavandula stoechas* in Mediterranean region. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(4), 493-501.
47. Holmes, C., Hopkins, V., Hensford, C., MacLaughlin, V., Wilkinson, D., & Rosenvinge, H. (2002). Lavender oil as a treatment for agitated behaviour in severe dementia: a placebo controlled study. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 17(4), 305-308.
48. Howard, S., & Hughes, B. M. (2008). Expectancies, not aroma, explain impact of lavender aromatherapy on psychophysiological indices of relaxation in young healthy women. *British Journal of Health Psychology*, 13(4), 603-617.
49. Hoya, Y., Matsumura, I., Fujita, T., & Yanaga, K. (2008). The use of non pharmacological interventions to reduce anxiety in patients undergoing gastroscopy in a setting with an optimal soothing environment. *Gastroenterology Nursing*, 31(6), 395-399.
50. Inouye, S., & Abe, S. (2007). Nouvelle approche de l'aromathérapie anti-infectieuse. *Phytothérapie*, 5(1), 2-4
51. Jeanfils, J., Burlion, N., & Andrien, F. (1991). Antimicrobial activities of essential oils from different plant species. *Revue de l'Agriculture-Landbouwtijdschrift (Belgium)*.
52. Kalembe, D., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10(10), 813-829.

53. Kane, F. M., Brodie, E. E., Coull, A., Coyne, L., Howd, A., Milne, A., & Robbins, R. (2004). The analgesic effect of odour and music upon dressing change. *British Journal of Nursing*, 13(Sup4), S4-S12.
54. Kasper, S., Gastpar, M., Müller, W. E., Volz, H. P., Möller, H. J., Dienel, A., & Schläfke, S. (2010). Silexan, an orally administered *Lavandula* oil preparation, is effective in the treatment of 'subsyndromal' anxiety disorder: a randomized, double-blind, placebo controlled trial. *International Clinical Psychopharmacology*, 25(5), 277-287.
55. Kim, J. T., Ren, C. J., Fielding, G. A., Pitti, A., Kasumi, T., Wajda, M., & Bekker, A. (2007). Treatment with lavender aromatherapy in the post-anesthesia care unit reduces opioid requirements of morbidly obese patients undergoing laparoscopic adjustable gastric banding. *Obesity Surgery*, 17(7), 920-925.
56. Kohara, H., Miyauchi, T., Suehiro, Y., Ueoka, H., Takeyama, H., & Morita, T. (2004). Combined modality treatment of aromatherapy, footsoak, and reflexology relieves fatigue in patients with cancer. *Journal of Palliative Medicine*, 7(6), 791-796.
57. Kritsidima, M., Newton, T., & Asimakopoulou, K. (2010). The effects of lavender scent on dental patient anxiety levels: a cluster randomised-controlled trial. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 38(1), 83-87.
58. Laird, K., & Phillips, C. (2012). Vapour phase: a potential future use for essential oils as antimicrobials?. *Letters in Applied Microbiology*, 54(3), 169-174.
59. Lavoine-Hanneguelle, S., & Casabianca, H. (2004). New compounds from the essential oil and absolute of *Lavandula luisieri* L. *Journal of Essential Oil Research*, 16(5), 445-448.
60. Lawrence, B. M. (1992). Chemical components of Labiatae oils and their exploitation. *Advances in Labiatae science*, 399-436.
61. Lehrner, J., Marwinski, G., Lehr, S., Jöhren, P., & Deecke, L. (2005). Ambient odors of orange and lavender reduce anxiety and improve mood in a dental office. *Physiology & Behavior*, 86(1), 92-95.
62. Lewith, G. T., Godfrey, A. D., & Prescott, P. (2005). A single-blinded, randomized pilot study evaluating the aroma of *Lavandula angustifolia* as a treatment for mild insomnia. *Journal of Alternative & Complementary Medicine*, 11(4), 631-637.
63. Lim, T. K. (2014). *Edible medicinal and non-medicinal plants* (Vol. 1, pp. 656-687). Springer.
64. Lin, P. W. K., Chan, W. C., & Lam, L. C. W. (2007). Efficacy of aromatherapy (*Lavandula angustifolia*) as an intervention for agitated behaviours in Chinese older persons with dementia: a cross-over randomized trial. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 22(5), 405-410.
65. Lis-Balchin, M. (Ed.). (2002). *Lavender: the genus Lavandula*. CRC press.
66. Lis-Balchin, M., & Hart, S. (1999). Studies on the mode of action of the essential oil of Lavender (*Lavandula angustifolia*). *Phytotherapy Research*, 13(6), 540-542.
67. Lis-Balchin, M., Buchbauer, G., Ribisch, K., & Wenger, M. T. (1998). Comparative antibacterial effects of novel *Pelargonium* essential oils and solvent extracts. *Letters in Applied Microbiology*, 27(3), 135-141.
68. Mohammedi, Z., & Atik, F. (2012). Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Revue «Nature & Technologie»*, n, 35.
69. Monge, R. (2013). Les Routes de la Lavande: au carrefour du développement culturel et de la valorisation de la ressource. *Routes touristiques et itinéraires culturels, entre mémoire et développement* (pp. 139-147).

70. Moon, T., Cavanagh, H. M., & Wilkinson, J. M. (2007). Antifungal activity of Australian grown *Lavandula* spp. essential oils against *Aspergillus nidulans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Leptosphaeria maculans* and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Essential Oil Research*, 19(2), 171-175.
71. Motomura N, Sakurai A, Yotsuya Y. Reduction of mental stress with lavender odorant. *Percept Mot Skills*. 2001; 93Z713\* 718
72. Nord, D., & Belew, J. (2009). Effectiveness of the essential oils lavender and ginger in promoting children's comfort in a perianesthesia setting. *Journal of PeriAnesthesia Nursing*, 24(5), 307-312.
73. Pattnaik, S., Subramanyam, V. R., Bapaji, M., & Kole, C. R. (1997). Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbios*, (89), 39-46.
74. Peter, K. V. (2004). Handbook of herbs and spices. v. 1. Woodhead publishing.
75. Pibiri, M. C. (2006). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat, *Federal Polytechnic Institute., Lausanne, Suisse*.
76. Rhind, J. P., & Pirie, D. (2012). *Essential oils: a handbook for aromatherapy practice*. Singing Dragon.
77. Ristorcelli, D., Tomi, F., & Casanova, J. (1998). <sup>13</sup>C-NMR as a tool for identification and enantiomeric differentiation of major terpenes exemplified by the essential oil of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas*. *Flavour and Fragrance Journal*, 13(3), 154-158.
78. Said, H. M., & Saeed, A. (1996). *Medicinal herbal: A textbook for medical students and doctors* (Vol. 1). Hamdard Foundation Pakistan.
79. Sakamoto, R., Minoura, K., Usui, A., Ishizuka, Y., & Kanba, S. (2005). Effectiveness of aroma on work efficiency: lavender aroma during recesses prevents deterioration of work performance. *Chemical Senses*, 30(8), 683-691.
80. Salle JL. (1991). Le totum en phytothérapie : Approche de phyto-biothérapie. Edition Frison- Roche, Paris, pp: 12-35.
81. Shiina, Y., Funabashi, N., Lee, K., Toyoda, T., Sekine, T., Honjo, S., & Komuro, I. (2008). Relaxation effects of lavender aromatherapy improve coronary flow velocity reserve in healthy men evaluated by transthoracic Doppler echocardiography. *International Journal of Cardiology*, 129(2), 193-197.
82. Shin, B. C., & Lee, M. S. (2007). Effects of aromatherapy acupressure on hemiplegic shoulder pain and motor power in stroke patients: a pilot study. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 13(2), 247-252.
83. Skoula, M., Abidi, C., & Kokkalou, E. (1996). Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology*, 24(3), 255-260.
84. Small, E., & Deutsch, G. (2001). *Herbes culinaires pour nos Jardins de Pays Froid*. Ismant Peony Press.
85. Soden, K., Vincent, K., Craske, S., Lucas, C., & Ashley, S. (2004). A randomized controlled trial of aromatherapy massage in a hospice setting. *Palliative Medicine*, 18(2), 87-92.
86. Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., & Polissiou, M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*, 90(3), 333-340.
87. Toda, M., & Morimoto, K. (2008). Effect of lavender aroma on salivary endocrinological stress markers. *Archives of Oral Biology*, 53(10), 964-968.
88. Tyagi, A. K., & Malik, A. (2010). Liquid and vapour-phase antifungal activities of selected essential oils against *Candida albicans*: microscopic observations and chemical characterization of *Cymbopogon citratus*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10(1), 65.

89. Tyagi, A. K., & Malik, A. (2011). Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. *Food Control*, 22(11), 1707-1714.
90. Upson, T., & Andrews, S. (2004). The genus *Lavandula*. *Royal Botanic Gardens, ISBN, 1842460102*.
91. Valentini, G., Arnold, N., & Bellomaria, B. (1993). Etude chimique comparative des huiles essentielles de quatre populations de *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* spontanées de Chypre. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, 26(4), 289-299.
92. Viljoen, A., Van Vuuren, S., Ernst, E., Klepser, M., Demirci, B., Başer, H., & Van Wyk, B. E. (2003). *Osmitopsis asteriscoides* (Asteraceae)-the antimicrobial activity and essential oil composition of a Cape-Dutch remedy. *Journal of Ethnopharmacology*, 88(2), 137-143.
93. Woelk, H., & Schläfke, S. (2010). A multi-center, double-blind, randomised study of the Lavender oil preparation Silexan in comparison to Lorazepam for generalized anxiety disorder. *Phytomedicine*, 17(2), 94-99.
94. Woronuk, G., Demissie, Z., Rheault, M., & Mahmoud, S. (2011). Biosynthesis and therapeutic properties of *Lavandula* essential oil constituents. *Planta Medica*, 77(1), 7.
95. Zaika, L. L. (1988). Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination1. *Journal of Food Safety*, 9(2), 97-118.
96. Zrira, S., & Benjilali, B. (2003). The constituents of the oils of *Lavandula stoechas* L. ssp. *atlantica* Br.-Bl. and *L. stoechas* ssp. *stoechas* from Morocco. *Journal of Essential Oil Research*, 15(2), 68-69.
97. Zuzarte, M., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Cruz, M. T., Benzarti, A., Marongiu, B., & Salgueiro, L. (2013). Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 44, 97-103.