



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

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie et Physiologie Cellulaire**

**Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de**  
**Master II en Biologie**  
**Filière : Sciences Biologiques**  
**Option : Génie Biologique**

*Thème*

**Evaluation de pouvoir antimicrobien et contrôle de l'effet hypoglycémiant de l'huile essentielle du Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) issue de deux régions différentes d'Algérie**

➤ Présenté par : **Hassaine zohra**

**Talbi meriem**

Soutenue le : 20/09/2017

Devant le jury :

**M<sup>me</sup> KEBBAS S.**

**MCA**

**Présidente**

**M<sup>r</sup> BOUKHATEM MN.**

**MCA**

**Examineur**

**M<sup>me</sup> HAMZI W.**

**MAA**

**Promotrice**

**Année Universitaire 2016-2017**



# *Dédicace*

*Je dédie ce délicat travail à :*

*La lumière de ma vie, ma mère pour leur encouragement et sacrifices que le Dieu me la garde et la protège.*

*Mon père « que Dieu l'accueille en son vaste paradis In chaallah » Ainsi pour toutes mes chères sœurs en particulier : Siham, Noussaïba.*

*Le soutiens dans ma vie, mon frère : M'hammed.*

*A tous mes oncles et mes tantes.*

*Je n'oublie jamais la générosité illimitée de mes amis,*

*Naima, Wahiba, Linda, Salima, Kenza, Soumia, Ibtissem, Bouthaina, Chokra,*

*Meriem, Djamila, Khadidja et Fairouz.*

*A tout mes cousines : Ahlem, Amina, Hadjer, Aicha et Wassila.*

*A mon binôme Zohra avec qui j'ai partagé les bons et les durs moments.*

*A toute ma famille et à tous ceux qui m'ont encouragé et m'ont*

*Apporté leur soutien.*

*Meriem*



# Dédicace

Je dédie ce travail à:

Mes très chers parents, pour leur conseils, leur sacrifices, leur encouragements, qui mon soutenu durant toute ma vie, je vous présente ma pleine gratitude et mon profond respect, que Dieu les garde pour moi et vous donne la longue vie et la bonne santé.

Mon marie Abdenour.

Mes chers frères et mes chers sœurs j'espère que Dieu vous garde et vous montre le droit chemin.

Toute ma famille.

Tous mes amis.

*Zohra*

## *Remerciements*

*Avant tout nous remercions le Dieu « ALLAH EL KARIM » tout puissant de nous avoir donné la force, la santé, la volonté et le courage qui nous a permis de réaliser ce travail et d'arriver au terme de nos études dans des bonnes conditions.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice M<sup>me</sup> HAMZI W. qui a accepté de nous encadrer, pour ses encouragements et pour leurs précieux conseils.*

*Nous tenons à remercier mes dames et messieurs les membres de jury à M<sup>me</sup> KEBBAS S. qui a présidé la soutenance à M<sup>r</sup> BOUKHATEM MN. pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce travail.*

*Merci à tout le personnel du laboratoire M<sup>me</sup> CHADER microbiologiste, M<sup>r</sup> SALI responsable du service pharmacotoxicologie et M<sup>me</sup> ALHACHMI R, médecin pathologiste qui nous ont aidé à réaliser ce travail et pour l'ambiance agréable sans laquelle aucun travail serein n'est envisageable.*

*À nos camarades de ces cinq ans d'études merci beaucoup... À tous nous exprimons notre sincère gratitude et notre reconnaissance.*

*Nous remercions également tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour la réalisation de ce modeste travail.*

## *Liste des abréviations*

---

**AFNOR** : Association Française de Normalisation.

**AFSSAPS** : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé.

**A. brasiliensis** : *Aspergillus brasiliensis*.

**ATCC** : American Type Culture Collection.

**B. subtilis** : *Bacillus subtilis*.

**C. albicans** : *Candida albicans*.

**CMB** : Concentration minimum bactéricide.

**CMI** : Concentration minimum d'inhibition.

**CG/ SM** : Chromatographie en phase Gazeuse couplée à Spectrométrie de Masse.

**DMSO**: Di-Méthyl-Sulf-Oxide.

**DID** : diabète insulino-dépendant.

**DNID** : diabète non insulino-dépendant.

**DNT** : lot diabétique non traité.

**DT1** : diabète de type 1.

**DT2** : diabète de type 2.

**DT<sub>HE 01</sub>** : lot diabétiques traités par l'huile essentielle 01 (issue de Cherchell).

**DT<sub>HE 02</sub>** : lot diabétiques traités par l'huile essentielle 02 (issue de Khenchela).

**DZI** : diamètres des zones d'inhibitions.

**E. coli** : *Escherichia coli*.

**HE** : Huile essentielle.

**HEs** : Huiles essentielles.

**I<sub>A</sub>** : Indice d'acide.

**I<sub>E</sub>** : Indice d'ester.

**I<sub>R</sub>** : Indice de réfraction.

**I<sub>S</sub>** : Indice de saponification.

**ISO**: International Organization for Standardization.

**NF** : Norme Française.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**ONAB** : Office Nationale des Aliments de Bétail

**R. officinalis** : *Rosmarinus officinalis*.

***Rosmarinus officinalis* L.** : *Rosmarinus officinalis* Linné.

**S/Emb** : Sous embranchement.

**S/Classe** : Sous classe.

**S. aureus** : *Staphylococcus aureus*.

## *Liste des abréviations*

---

**MH** : Mueller Hinton

**pH** : potentiel d'hydrogène

**GLUT 2** : glucose transporteur type 2.

**TS** : lot témoin sain.

**UFC** : Unités formant des colonies.

**TR** : Temps de rétention.

## Liste des figures

---

<b>Figure 01</b> : Structure de l'isoprène (C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> ).....	8
<b>Figure 02</b> : Exemples de quelques monoterpènes (Bruneton, 1999).....	9
<b>Figure 03</b> : Exemples de quelques sesquiterpènes (Bruneton, 1999).....	9
<b>Figure 04</b> : Exemples de composés aromatiques (Bruneton, 1999).....	10
<b>Figure 05</b> : Plante de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	13
<b>Figure 06</b> : Plante de Romarin au période de floraison.....	13
<b>Figure 07</b> : Structure chimique des quelques composés majeurs de l'extrait de romarin (Bruneton, 1999).....	16
<b>Figure 08</b> : Représentation schématique du pancréas (Christophe Porcher, 2014).....	23
<b>Figure 09</b> : Systèmes endocriniens du pancréas (Nelson et Cox, 2004).....	24
<b>Figure 10</b> : Structure de glucagon (Labrèze, 2002).....	24
<b>Figure 11</b> : Structure de l'insuline (Malardé, 2012).....	24
<b>Figure 12</b> : Principe de l'appareillage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (Elhaib, 2011).....	28
<b>Figure 13</b> : Ecoulement du milieu de culture.....	33
<b>Figure 14</b> : Préparation de l'inoculum.....	34
<b>Figure 15</b> : Aromatogramme.....	34
<b>Figure 16</b> : Ensemencement microbien.....	35
<b>Figure 17</b> : Préparation des dilutions au demi pour chaque l'HE.....	36
<b>Figure 18</b> : Lot des souris albinos (originale 2017).....	39
<b>Figure 19</b> : Schémas représentatif du protocole expérimental du principe de l'effet hypoglycémiant.....	42
<b>Figure 20</b> : Effet antimicrobien des deux huiles essentielles de <i>R.officinalis</i> ainsi qu'au témoin négatif et l'ATB de référence.....	54
<b>Figure 21</b> : Variation de la glycémie (g/l) des 4 lots de souris en fonction du temps.....	60
<b>Figure 22</b> : Evolution du poids corporel (g) des 4 lots des souris en fonction du temps.....	62
<b>Figure 23</b> : Coupes histologiques du foie d'une souris représentative de chaque lot étudié.....	65
<b>Figure 24</b> : Coupes histologiques du pancréas d'une souris représentative de chaque lot.....	66

## *Liste des tableaux*

---

<b>Tableau 01</b> : Méthodes d'extractions des huiles essentielles .....	6
<b>Tableau 02</b> : Classification botanique de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> .....	13
<b>Tableau 03</b> : Situation géographiques des stations de récolte.....	26
<b>Tableau 04</b> : Différentes souches microbiennes utilisées.....	26
<b>Tableau 05</b> : Matériel animal utilisé et ses conditions opératoires.....	27
<b>Tableau 06</b> : Condition opératoires de la CG-SM.....	32
<b>Tableau 07</b> : Caractéristiques organoleptiques de nos huiles essentielles du Romarin.....	43
<b>Tableau 08</b> : Caractéristiques physico-chimiques de nos HE du Romarin.....	44
<b>Tableau 09</b> : Composition chimique des deux huiles essentielles de Romarin.....	46
<b>Tableau 10</b> : Constituants communs des deux huiles essentielles de Romarin.....	51
<b>Tableau 11</b> : Résultats de l'aromatogramme de l'HE issue de Cherchell [pure].....	53
<b>Tableau 12</b> : Résultats de l'aromatogramme de l'HE issue de Khenchela [pure].....	53
<b>Tableau 13</b> : Résultats de l'activité antimicrobienne du témoin négatif DMSO et du témoin positif ATB.....	54
<b>Tableau 14</b> : Diamètres des zones d'inhibitions en mm des germes testés par les deux HES à différentes concentrations.....	56
<b>Tableau 15</b> : CMB et CMF des deux huiles essentielles de Romarin.....	57
<b>Tableau 16</b> : Résultats de rapport de CMB/CMI des deux huiles essentielles de Romarin....	68
<b>Tableau 17</b> : Moyennes de la glycémie en g/l selon les lots des souris.....	59
<b>Tableau 18</b> : Moyennes du poids corporel en g selon les lots des souris.....	62

## Résumé

---

Cette étude a pour objectif de déterminer la composition chimique, d'examiner le pouvoir antimicrobien et d'évaluer l'effet hypoglycémiant des huiles essentielles de la plante médicinale «*Rosmarinus officinalis L.*» .

Ces huiles sont cultivées dans deux régions différents de Cherchell et de Khenchela extraites par la société EXTRAL-BIO par la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau.

La composition chimique de ces HE a été identifiée par CG/SM, dont les composés majoritaires sont : le camphre (26,7%), l' $\alpha$ -pinène (14,36%) pour l'HE de romarin de la région de Cherchell. Par ailleurs, la région de Khenchela a été caractérisé par un contenu important de 1,8-Cinéole (34,22%) et le camphre (7,87%).

La propriété antimicrobienne a été déterminée par deux méthodes : diffusion sur disque et dilution en milieu solide. Elle a été étudiée vis-à-vis 5 germes microbiennes qui se sont révélés sensibles aux huiles essentielles étudiées.

En ce qui concerne l'effet hypoglycémiant après traitement des deux huiles (250 $\mu$ l/kg) ont montrés une diminution de taux de glycémie et une élévation du poids corporel. L'étude histologique au niveau de pancréas a montré que les deux essences aromatiques ont exercé une restauration des ilots de Langerhans lésés par l'effet de l'alloxane.

**Mots clés :** *Rosmarinus officinalis L.* , pouvoir antimicrobien, effet hypoglycémiant, alloxane, huile essentielle.

## *Abstract*

---

The objective of this study is to determine the chemical composition, to examine the antimicrobial power and to evaluate the hypoglycemic effect of the essential oils of the medicinal plant «*Rosmarinus officinalis L.* ».

These oils are grown in two different regions of Cherchell and Khenchela extracted by the EXTRAL-BIO company by stripping with steam method.

The chemical composition of these Essential oil was identified by GC/MS, the majority compounds of which are: camphor (26.7%),  $\alpha$ -pinene (14.36%) for the rosemary EO of the region of Cherchell. Otherwise, the Khenchela région was characterized by a high content of 1,8-Cineole (34,22%) and camphor (7,87%).

Antimicrobial property was determined by two essay: disc diffusion and dilution in a solid medium. It has been studied with respect to microbial strains which have been found to be sensitive to the essential oils studied.

As far as, the hypoglycemic effect after traitement of two volatiles oils (250 $\mu$ l/kg) showed a decrease in blood sugar and an increase in body weight. The histological study at the level of pancreas showed that the two aromatic essences exerted a restoration of the islets of Langerhans damaged by the effect of the alloxane.

**Keywords :** *Rosmarinus officinalis L.*, antimicrobial power, hypoglycemic effect, alloxane, essential oil.

## المخلص

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد التركيب الكيميائي ، دراسة القدرة المضادة للميكروبات ، تقييم انخفاض سكر الدم بالزيوت الأساسية للنبات الطبي «الإكليل». تزرع هذه الزيوت في منطقتين مختلفتين من شرشال و خنشلة المستخرجة من قبل الشركة إكسترال-بيو بواسطة طريقة التبخير.

تم التعرف على التركيب الكيميائي لهذه الزيوت الأساسية التي تم دراستها بواسطة المركبة الكهرومغناطيسية والمركبات الأكثر شيوعا هي : الكافور (26.70%) ، ألفا بينين (14.36%) لإكليل الجبل لمنطقة شرشال. ومن جهة أخرى، اتسمت منطقة خنشلة بنسبة عالية من 1،8 سينيول (34.22%) و الكافور (7.87%).

تم تحديد الخاصية المضادة للميكروبات بطريقتين: نشر على القرص و عن طريق التخفيف في وسط الصلبة. وقد تمت دراستها فيما يتعلق بالجراثيم الجرثومية التي وجد أنها حساسة للزيوت الأساسية المدروسة.

فيما يتعلق تأثير سكر الدم في الفئران بعد تعاطيها لهذين الزيوت أظهرت انخفاض في نسبة السكر في الدم وزيادة في وزن الجسم. وأظهرت الدراسة النسيجية على مستوى البنكرياس أن الجوهرين العطرية (250 ميكرو لتر / كلغ) عملت على استعادة جزر لانجرهانز التي تضررت من تأثير ألوكسان.

**الكلمات المفتاحية :** الإكليل، القدرة المضادة للميكروبات، تقييم انخفاض السكر، الألوكسان، الزيوت الأساسية.

# Sommaire

---

## Sommaire

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
--------------------------	----------

### **Chapitre I : Etude bibliographique**

#### **I.1. Huiles essentielles**

I.1.1 Historique.....	3
I.1.2. Définition.....	3
I.1.3. Origine.....	3
I.1.4. Répartition, localisation et fonction.....	4
I.1.5. Caractéristiques physicochimique.....	5
I.1.6. Méthodes d'extraction.....	6
I.1.7. Rôles.....	7
I.1.8. Composition chimique.....	8

#### **I.2. Matière végétale « *Rosmarinus officinalis L.* »**

I.2.1. Présentation de la famille des Lamiacées.....	11
I.2.2. Présentation de la plante sélectionnée : le Romarin ( <i>Rosmarinus officinalis L.</i> ).....	11
I.2.2.1. Définition.....	11
I.2.2.2. Origine du nom.....	12
I.2.2.3. Nomenclature.....	12
I.2.2.4. Description botanique.....	12
I.2.2.5. Habitat et culture.....	13
I.2.2.6. Domaines d'application et intérêts en phytothérapie.....	14
I.2.2.7. Composition chimique.....	15

#### **I.3. Activité antimicrobienne**

I.3.1. Généralité sur le monde microbien.....	17
I.3.2. Principales techniques de détermination de l'activité antimicrobienne des HE.....	17
I.3.2.1. Aromatogramme.....	17
I.3.2.2. Détermination de concentration minimale (CMI et CMB).....	17
I.3.3. Propriétés antimicrobiennes des HE.....	18
I.3.3.1. Huiles essentielles et Bactéries.....	18
I.3.3.2. Propriétés antifongiques.....	19

# Sommaire

---

## I.4. Généralités sur le diabète

I.4.1. Définition.....	20
I.4.2. Classification.....	20
I.4.2.1. Diabète type 1.....	20
I.4.2.2. Diabète type 2.....	21
I.4.2.3. Diabète gestationnel.....	21
I.4.2.4. Autres types de diabète : Diabète spécifique.....	21
I.4.3. Traitements.....	21
I.4.3.1. But de traitement.....	21
I.4.3.2. Aspects principaux du traitement.....	22
I.4.4. Site de régulation.....	22
I.4.5. Principaux hormones pancréatiques.....	24

## Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel.....	25
II.1.1. Matériel non biologique.....	25
II.1.2. Matériel biologique.....	25
II.1.2.1. Matériel végétal.....	25
II.1.2.2. Souches microbiennes.....	26
II.1.2.3. Matériel animal.....	26
II.2. Méthodes de travail.....	27
II.2.1. Technologie d'extraction à l'échelle industrielle des huiles essentielles.....	27
II.2.2. Analyses des huiles essentielles.....	29
II.2.2.1. Caractérisation organoleptique.....	29
II.2.2.2. Propriétés physico-chimiques.....	29
II.2.2.2.1. Propriétés physiques.....	29
II.2.2.2.2. Propriétés chimiques.....	31
II.2.2.3. Analyse chromatographique par CG-SM.....	32
II.2.3. Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne d'HE.....	33
II.2.3.1. Aromatogramme de l'activité antibactérienne et antifongique.....	34
II.2.3.2. Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne et antifongique.....	36
II.2.4. Méthode d'évaluation de l'effet hypoglycémiant d'HE.....	38
II.2.4.1. Détermination du poids corporel.....	40

# *Sommaire*

---

II.2.4.2. Détermination de la glycémie.....	40
II.2.4.3. Etude histologique des organes.....	40
II.2.4.4. Etude statistique.....	41

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

III.1. Analyse des huiles essentielles.....	43
III.1.1. Caractéristiques organoleptiques.....	43
III.1.2. Caractéristiques physico-chimiques.....	43
III.1.3. Analyse chromatographique par CG/SM.....	46
III.2. Résultats de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du Romarin.....	52
III.2.1. Résultats de l'aromatogramme.....	52
III.2.2. Résultats des CMI, CMB et CMF.....	56
III.3. Résultats de l'effet hypoglycémiant des huiles essentielles du Romarin.....	59
III.3.1. Suivi de la glycémie des souris.....	59
III.3.2. Evolution du poids corporel des souris.....	61
III.3.3. Etude histologique des organes.....	64
<b>Conclusion.....</b>	<b>68</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>70</b>
<b>Annexes</b>	

# *Introduction*

## Introduction

De nos jours, l'organisation mondiale de la santé (**OMS, 2013**) estime que 80% de la population mondiale s'oriente vers de la médecine traditionnelle pour des soins primaires.

De par ses différents étages bioclimatiques (humide, sub-humide, semi-aride, aride, saharien) avec des hivers variés (très froid, froid, doux, chaud) et compte tenu de sa position biogéographique, l'Algérie possède un ensemble considérable d'espèces naturelles qui représentent un patrimoine phyto-génétique de très grande importance vue leur mode de répartition spatiale et leur rôle dans l'équilibre écologique (**Snoussi et al., 2003**). De nombreux composés naturels isolés à partir de plantes ont démontré un large spectre d'activités biologiques. Parmi ces différents types de substances naturelles, *les huiles essentielles* des plantes aromatiques et médicinales (**Lahlou, 2004**).

Parmi les familles qui appartiennent à cette catégorie des plantes aromatiques et médicinales, la famille de *Lamiacée* représente une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Elle est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant (**Bakkali et al., 2008**). Le genre le plus cité dans la littérature est : *Rosmarinus officinalis* L.

Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.), herbe aromatique, appréciée pour ses propriétés aromatiques et divers effets pharmacologiques: comme effet antibactérien (**Bozin et al., 2007**), effet antidiabétique et antioxydant (**Bakirel et al., 2008**), effet anti-inflammatoire et antinociceptif (**Takaki et al., 2008**), effet hypoglycémiant et hépatoprotecteur (**Ramadan et al., 2013**), effet sur les problèmes cardiovasculaires (**Alnahdi, 2012**), et effet anti-hyperlipidémique (**Al-Jamal et Alqadi, 2011**), il est aussi largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle (**Athamena, 2009**).

Il nous semble donc, intéressant d'inscrire notre travail sur : l'huile essentielle de « *Rosmarinus officinalis* L.» provenant de deux régions : Cherchell et Khenchela.

## *Introduction*

---

Ceci nous a amené à étudier l'activité antimicrobienne et l'effet hypoglycémiant de ces molécules bioactives ; huiles essentielles issus des parties aériennes de *R.officinalis* récoltée à Cherchell et à Khenchela.

Dans une première partie de ce travail, nous présenterons un rappel bibliographique sur les huiles essentielles, présentation de la plante sélectionnée, activité antimicrobienne et une généralité sur le diabète.

Dans une deuxième partie nous aborderons la partie expérimentale qui sera :

- Une analyse sensorielle, quelques paramètres physicochimiques et chromatographique par CG/SM de ces huiles.
- Une étude du pouvoir antimicrobien vis-à-vis des cinq souches microbiennes par la méthode de diffusion sur disque et dilution en milieu solide (CMI et CMB/CMF) de ces essences.
- Une évaluation de l'effet hypoglycémiant de ces huiles chez des souris rendues diabétiques par l'alloxane de ces huiles.

Et en dernier lieu conclusion et perspectives .

*Chapitre I :*

*Etude bibliographique*

## **I-1- Huiles essentielles**

### **I-1-1- Historique**

L'huile essentielle est très ancienne et assez universelle, son utilisation date de plus de 7000 ans (on trouve les premières traces chez les aborigènes d'Australie avec fumigation) preuve en est un alambic en terre cuite retrouvé au Pakistan datant de cette époque. On retrouve des inscriptions datant de 4000 ans en Mésopotamie et des écrits Egyptiens datant de 3500 ans. Les Egyptiens obtenaient les huiles essentielles en pressant les plantes **(Yuerdon, 2004)**. De nos jours, l'aromathérapie retrouve ses lettres de noblesse grâce entre autre aux naturopathes, aux formations qui sont proposées aux médecins ainsi qu'aux recherches faites par les scientifiques (chimistes, agronomes ...).

### **I-1-2- Définition**

Selon la **pharmacopée européenne (2008)** : « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

L'huile essentielle appartient à la gamme des métabolites secondaires, issue du métabolisme végétale, elle ne se rencontre cependant que chez certaines plantes, qui prennent ainsi le nom de plantes aromatiques **(Guinard, 1996 ; Encyclopédie encarta, 2004)**.

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de substances organiques aromatiques liquides qu'on trouve naturellement dans diverse partie des végétaux, concentrées, volatiles, non huileuses et sensibles à la décomposition sous l'effet de la chaleur. **(Belhadi, 2010)**.

### **I-1-3- Origine**

Les plantes vertes puisent l'eau et utilisent l'énergie solaire et le gaz carbonique présent dans l'air pour synthétiser les glucides, ce processus est appelé *photosynthèse*, il se

déroule au niveau des feuilles, plus précisément au niveau des chloroplastes qui renferment la chlorophylle, les produits issus de la photosynthèse sont (glucides, NADPH, ATP) constituent une source d'énergies, ils contribuent à la génération de nouvelles cellules, ils interviennent indirectement dans la biosynthèse de divers composés secondaires tels que les lipides, les hétérosides et les essences. Ainsi les huiles essentielles font parties des résidus du métabolisme végétal (**Narishetty et Panchagnula, 2004**).

#### **I-1-4- Répartition, localisation et fonction dans la plante**

##### **I-1-4-1- Répartition**

On rencontre les huiles essentielles dans divers familles botaniques (**Degryse et al., 2008**). Elles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de cellules spécialisées (**Farhat, 2010**).

Le végétal aromatique fabrique de faibles quantités des huiles essentielles dans ses cellules excrétrices, de 0.01% à 5% de son poids, qu'il concentre ensuite dans des poches situées dans certains de ses parties (soit endogènes soit exogènes) : fleur, fruit, feuille, tige, rhizome, écorce...etc. (**Anonyme, 2002**).

##### **I-1-4-2- Localisation**

Les Huiles essentielles n'existent pas quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont produite dans le cytoplasme des cellules sécrétrices (accumulent dans des cellules glandulaires spécialisées), situées sur ou à proximité de la surface des tissus de plantes (recouvertes d'une cuticule). Ensuite, elles sont stockées dans des cellules (dite cellules à huiles essentielles) « *Lauraceae* », dans des poils sécréteurs « *Lamiaceae* », dans des poches sécrétrices « *Myrtaceae* ou *Rutaceae* » ou dans des canaux sécréteurs « *Apiacidae* ou *Asteraceae* ». L'accumulation des HEs peut être dans toutes les parties de la plante : sommités fleuries (lavande), écorces (cannelier), rhizomes (Gingembre), fruits (Anis)... (**Bruneton, 1993**).

##### **I-1-4-3- Fonction**

La cause et le but de la formation des huiles essentielles sont encore presque inconnus.

- ❖ Fleur : l'odeur attire les abeilles pour féconder les fleurs.
- ❖ Plantes et racines : dispositif de production contre la transpiration et l'infection par les bactéries ; propriétés fongicides et bactéricides.

Selon **Benamor et Haddad (1993)**, les Huiles Essentielles ont deux fonctions principales :

- ❖ Protéger les parties durables des plantes contre les micro-organismes.
- ❖ Favoriser la pollinisation en attirant les insectes pollinisateurs et une action répulsive contre les animaux herbivores.

### **I-1-5- Caractéristiques physico-chimiques**

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène (**Bruneton, 1993**), Les principales caractéristiques sont :

- ❖ Liquides à température ambiante.
- ❖ N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.
- ❖ Volatiles et très rarement colorées.
- ❖ Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes.
- ❖ Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse.
- ❖ Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau.
- ❖ Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques.
- ❖ Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité (**Zabeirou et Hachimou, 2005**).

## I-1-6- Méthodes d'extractions

**Tableau 01** : Méthodes d'extractions des huiles essentielles.

Technique		Mode d'opération	Température	Références
<b>Distillation</b> « <b>Piochon,</b> <b>2008</b> »	<i>Hydrodistillation</i>	-Immerger la matière végétale directement dans l'eau et portée ensuite à ébullition. -Dégradation de certaines molécules aromatiques.	Supérieur à 100°C	<b>Lucchesi, 2005</b>
	<i>Distillation par l'entraînement à la vapeur d'eau</i>	-Placer la matière végétale sur une grille perforée de passe la vapeur d'eau pour éviter les phénomènes d'hydrolyse.		<b>Hellal, 2011</b>
	<i>Hydro diffusion</i>	-L'avantage de cette technique est d'être plus rapide et moins dommageable pour les composés volatils.		<b>Hellal, 2011</b>
<b>Extraction à froid</b>		-Cette méthode ne peut être utilisée que lorsque la matière première végétale est déchiquetée à forte pression, de façon à faire sortir l'essence des glandes qui la secrètent ou des cellules qui la contiennent et le produit obtenu n'a aucune modification chimique		<b>Bruneton, 1993 et Roux, 2008</b>
<b>Extraction assistée par micro ondes</b>		-La matière végétale est chauffée par micro ondes, les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau et ensuite récupérés par « condensation, refroidissement, et par décantation »		<b>Roux, 2008</b>
<b>Extraction par les solvants et les graisses</b>		-Les solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau mais l'inconvénient de cette technique c'est les solvants organiques pose de problèmes de toxicités de solvants résiduels.	- 12°C à - 15°C	<b>Brian, 1995 et Hernandez, 2005.</b>
<b>Extraction au CO2 supercritique</b>		-Combiner les caractéristiques des gaz et des liquides et en outre minimiser tous les processus de dégradation et d'isomérisation. L'inconvénient de cette technique c'est la basse polarité du dioxyde de carbone le plus employé.	31°C	

### **I-1-7- Rôles**

#### **I-1-7-1- Rôle physiologique**

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu (**Rai, Acharya et Wadegaonkar, 2003**). Il y a beaucoup de spéculation au sujet du " rôle " d'huiles essentielles des plantes.

Certainement plusieurs effets apparent " utiles " ont été décrits: réduction de la compétition des autres espèces de plante (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines, et protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides, et contre les herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux (**Porter , 2001**).

Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile pour repousser ou attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation. D'autres considèrent l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, conservent l'humidité des plantes dans les climats désertiques (**Belaïche, 1979**).

#### **I-1-7-2- Rôle thérapeutique :**

Les huiles essentielles, reconnues pour leurs propriétés thérapeutiques, agissant sur la personne dans sa globalité (**Oranges et al., 1973 ; Abrassart, 1992**). Les huiles essentielles possèdent des propriétés thérapeutiques variées :

- ❖ Remédient aux problèmes respiratoires.
- ❖ Diminuent la tension nerveuse (**Lemire, 2000**).
- ❖ Améliorent la circulation sanguine.
- ❖ Aident le corps à traiter les impuretés.
- ❖ Soulagent la nervosité et les douleurs rhumatismales.

Il semble que les huiles essentielles extraites de certaines aromatiques ont un rôle important dans notre vie soit physiologique ou bien thérapeutique, sans oublier le rôle

biologique de ces huiles (inhibiteurs des germinations et protecteurs les plantes des prédateurs insectes, champignons **(Ponoel, 1999)**).

### I-1-8- Composition Chimique

L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) **(Salzer, 1977)**. La résonance magnétique nucléaire (RMN) peut également être utilisée **(Tomi et Casanova, 2006)**. Les constituants des HE appartiennent exclusivement à deux groupes de composés odorants distincts : les terpènes (mono et sesquiterpènes) et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane **(Bruneton, 1999 ; Kurkin, 2003)**.

#### I-1-8-1- Composés terpéniques

Etant très répandus dans le règne végétal, les terpènes sont prépondérants dans la plupart des essences. Ils sont formés par des unités d'isoprène **(Fig.01)** qui est à son tour formé par la combinaison de cinq atomes de carbone **(Bakkali et al., 2008)**.

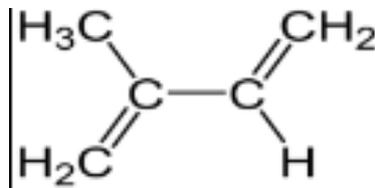


Figure 01 : Structure de l'isoprène (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)

Ayant un faible poids moléculaire, les terpènes présents dans les HE leur confèrent un caractère volatil et des propriétés olfactives. Ils sont classés selon leur fonction (alcools, aldéhydes, cétones, esters, cétone-oxydes) et leur structure linéaire ou cyclique **(Pibiri, 2006 ; Couic-Marinier et Lobstein, 2013)**.

##### I-1-8-1-1- Monoterpènes

Ce sont les plus simples constituants des terpènes, formant 90% des HE et comportant deux unités d'isoprène. Selon le mode de couplage des unités « tête queue », ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques **(Fig.02)**. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales **(Bakkali et al., 2008)**.

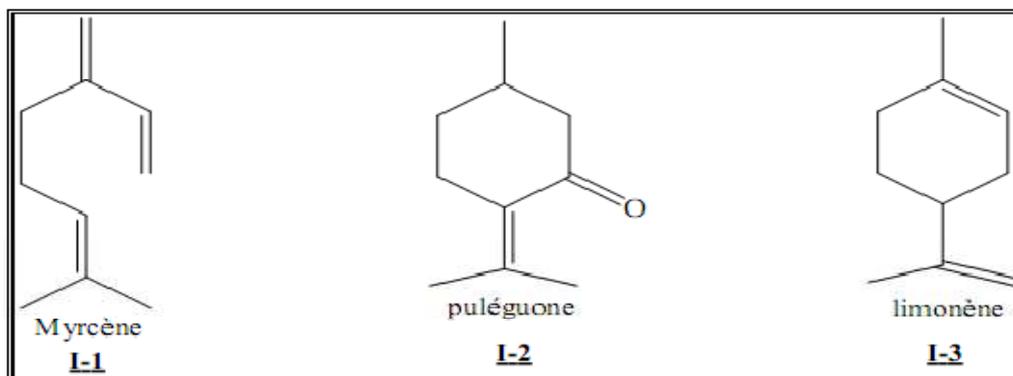


Figure 02 : Exemples de quelques monoterpènes (Bruneton, 1999).

#### I-1-8-1-2- Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes résultent de l'assemblage de trois unités d'isoprène ( $C_{15}H_{22}$ ), mais leur structure et leur fonction restent similaires à celle des monoterpènes. Ils constituent la classe la plus diversifiée des terpènes avec des structures acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques et polycycliques (Fig. 03). En général, ces composés sont sous forme d'hydrocarbures ou hydrocarbures oxygénés tels que les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (Bakkali *et al.*, 2008).

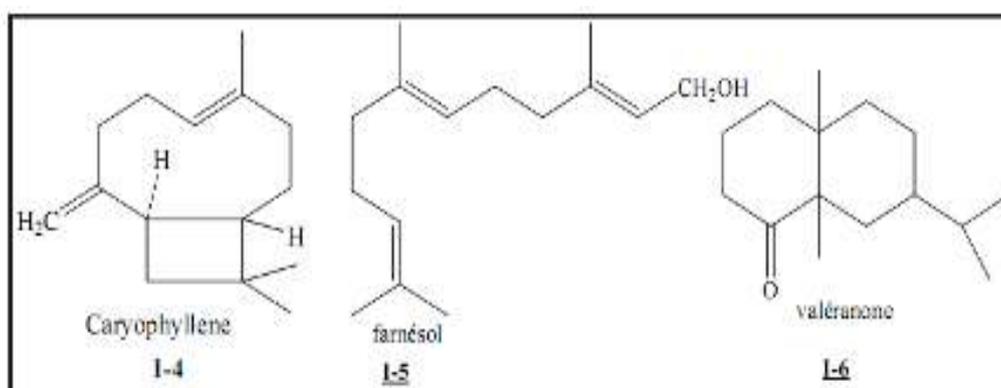


Figure 03 : Exemples de quelques sesquiterpènes (Bruneton, 1999).

#### I-1-8-2- Composés aromatiques

Moins fréquents que les terpènes, les composés aromatiques dérivés du phénylpropane constituent une autre classe des substances volatiles présentes dans les HE (Kurkin, 2003). Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole et l'estragole et bien d'autres (Fig.04) (Bruneton, 1999).

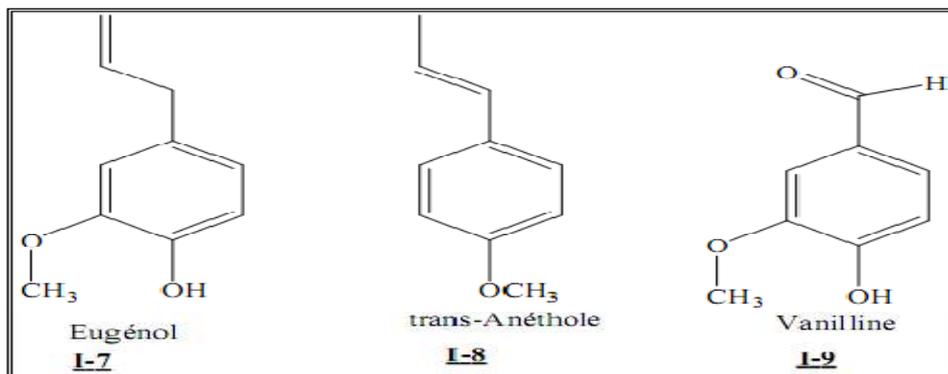


Figure 04 : Exemples de composés aromatiques (Bruneton, 1999).

### I-1-8-3- Composés d'origines diverses

Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînés par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras, de terpènes. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares. Enfin, il n'est pas rare de trouver dans les concrètes des produits de masses moléculaires plus importantes non entraînés à la vapeur d'eau, mais extractibles par les solvants homologues des phénylpropane, diterpènes, etc.... (Bruneton, 1993).

### I-1-8-4- Notion de chémotype

Le chémotype d'une HE est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans l'HE. C'est l'élément qui permet de distinguer des HEs extraites d'une même variété botanique mais, d'une composition biochimique différent. Cette classification permet de sélectionner les HEs pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace. Ce polymorphisme chimique existe chez certaines espèces : *Thymus vulgaris*, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare*. Il est important de noter que les HEs à chémotype différent présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (Pibiri, 2006).

## **I-2- Matière végétale « *Rosmarinus officinalis L.* »**

Les plantes aromatiques constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés des plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques (Mailhebiau, 1994).

### **I-2-1- Présentation de la famille des « Lamiacées »**

La région méditerranéenne a été le centre principal pour domestication et culture de Lamiaceae. La famille des Lamiacées est l'une des plus répandues dans le règne végétal (Naghibi et al., 2005).

La famille des Lamiacées connue également sous le nom des Labiées, comporte environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites; mais dont la plupart se concentrent dans le bassin méditerranéen tel que le thym, la lavande et le romarin (Botineau, 2010). Elle est divisée en deux principales sous-familles : les *Stachyoideae* et les *Ocimoideae*.

Les Lamiacées sont des herbacées ayant la consistance et la couleur de l'herbe, parfois sous-arbrisseaux ou ligneuses (Botineau, 2010). Une grande partie de ces plantes sont aromatiques riches en l'huile essentielle d'où leur intérêt économique et médicinal. Toutes ont un appareil sécréteur à huile essentielle. Celle-ci s'accumule dans une cellule évoluant vers la glande sécrétrice et, sauf par rupture de l'enveloppe par frottement, ne sera séparée de la plante que par la sénescence des parties aériennes (Hubert, 2007).

Un très grand nombre des genres de la famille des Lamiaceae sont des sources riches en terpénoïdes, flavonoïdes et iridiodes, glycosylés et composés phénoliques (Lee et al., 2005).

### **I-2-2- Présentation de la plante sélectionnée : le Romarin (*Rosmarinus officinalis L.*)**

#### **I-2-2-1- Définition**

Le *Rosmarin* est une plante des coteaux arides garrigues et lieux rocheux de la région Méditerranéenne et même un peu plus au Sud jusqu'aux confins sahariens depuis l'antiquité, il

est employé pour améliorer et stimuler la mémoire encore aujourd'hui en Grèce, les étudiants en font brûler dans leurs chambres en période d'examens (Boullard et al., 2010).

### **I-2-2-2- Origine du nom (Etymologie)**

Le mot romarin dérive du latin « *Rosmarinus* » qui se compose de : *Ros* : rose et *Marinus* : marin, donc qui signifie 'Rose de la mer' (Aggarwal et Ajaikumar, 2009 ; Begum et al., 2013), pourrait s'appliquer au parfum de la plante, à la couleur de sa fleur ou même à sa prédilection pour le littoral, et « *Officinalis* » rappelle les propriétés médicinales de la plante (Beniston., 2000).

### **II-2-2-3- Nomenclature**

- ❖ **Nom scientifique : *Rosmarinus officinalis* L.**
- ❖ **Nom français :** Romarin, rosmarine, herbe aux couronnes, rosées de mer, romarin des troubadours, bouquet de la vierge (Teuscher et al., 2005).
- ❖ **Le nom vermiculaire arabe :** Iklil el-djabel, aklil. (Baba Aissa, 1991)
- ❖ **Le nom vermiculaire anglais :** Rosemary.
- ❖ **Le nom tergui ou berbères :** lazir, aziir, touzala, ouzbir. (Baba Aissa, 1999)

### **II-2-2-4- Description botanique**

Arbrisseau aromatique touffu et rameux, d'environ 1m de haut, il est dans tout le bassin méditerranéen (figure 05 et 06) (Drowin et al., 2003).

- a. **La tige :** La tige est lignifiée intensément ramifiée à la base (Didier et Marie, 2007).
- b. **Les feuilles :** Les feuilles sont persistantes apposées, étroites, presque en forme d'aiguille blanches et duveteuses sur la face inférieure (Drowin et al., 2003).
- c. **Les fleurs :** Les fleurs sont petites et bleu pale ou mauve tachetées de violet (Drowin et al., 2003), elles sont disposées en épis vers le sommet des rameaux, la floraison commence dès le mois de février (parfois en janvier) et se poursuit jusqu'en avril-mai.
- d. **Les rameaux :** Les rameaux du romarin sont érigés parfaitement verticaux (Didier et Marie, 2007)

➤ *Position systématique*

*R.officinalis* désigne un embranchement de Spermaphytes, de l'ordre des Lamiales et de famille des Lamiacées (**Tableau 02**).

**Tableau 02** : Classification botanique de *Rosmarinus officinalis* L.

<b>Embranchement</b>	Spermaphyta
<b>S/Emb</b>	Angiospermae
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Eudicots
<b>S/classe</b>	Asterids
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Rosmarinus</i>
<b>Espèce</b>	<i>officinalis</i> L.

**Source** : (APG II ,2003)



**Figure 05** : Plante de *Rosmarinus officinalis* L.



**Figure 06** : Plante de romarin au période de floraison (Jekka McVicar, 2006)

#### I-2-2-5- Habitat et culture

Originnaire des régions méditerranéennes, le *Rosmarin* pousse spontanément dans le Sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps

et dans un endroit ensoleillé, dans un sol calcaire et bien drainé (**René, 2008**). Il apprécie les climats chauds, modérément secs, les branches récoltées pendant l'été sont séchées à l'air et à l'ombre (**Heinrich et al., 2006**).

#### **I-2-2-6- Domaines d'application et intérêts en phytothérapie**

##### ➤ *Utilisations en médecine traditionnelle*

Le romarin est une plante aromatique et médicinale largement répandue de nos jours. Il est utilisé en médecine traditionnelle pour traiter différentes maladies comme : le cancer, le diabète, les problèmes respiratoires, problèmes de l'estomac et les maladies inflammatoires (**Bakirel et al., 2008**).

Comme beaucoup de Lamiaceae, le Romarin est censé agir sur le système nerveux comme stimulant ; il semblerait même qu'il affermisse la mémoire défaillante et qu'il remonte le moral des déprimés (**Sell et al., 2002**).

Les feuilles sont utilisées pour traiter le diabète, leur décoction permet de faciliter la digestion et soulage l'estomac. L'huile essentielle augmente la circulation sanguine au niveau des membres, elle traite les désordres nerveux, les menstruations douloureuses et elle est aussi antirhumatismale (**Almela et al., 2006 ; Miresmailli et al., 2006 ; Gonzalez-Trujano et al., 2007 ; Bakirel et al., 2008**).

Les parties aériennes sont utilisées pour traiter des problèmes rénaux, hypertension artérielle et elles sont employées comme antispasmodique (**Gonzales-Trujano et al., 2007 ; Tahraoui et al., 2007**).

##### ➤ *Actions pharmacologiques*

Effet hypoglycémiant de l'extrait éthanolique des feuilles du Romarin chez des rats rendus diabétiques (**Bakirel et al., 2008**).

Les parties aériennes possèdent un effet anti-inflammatoire et antinociceptive très remarquable (**Gonzalez-Trujano et al., 2007**).

L'huile essentielle exhibe une activité antimicrobienne très forte contre trois bactéries pathogènes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes* (**Gachkar et al., 2007**). Elles possèdent aussi in vitro une activité antioxydante et anticholinestérasique (**Mata et al., 2007**).

➤ *Autres utilisations*

En plus de leurs applications thérapeutiques, l'huile essentielle est largement appliquée dans l'industrie cosmétique produisant des parfums, essences de bain, savons, lotions et shampooings (**Stefanovits-Banyai et al., 2003 ; Mateus et al., 2006**).

Le Romarin a fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutiques et agro-alimentaires. Il possède d'excellentes propriétés antioxydantes dues à certains composés (le carnosol, l'acide carnosique, l'acide bétulinique, le rosmaridiphénol, le rosmanol, et l'acide ursolique), ces derniers inhibent l'oxydation des huiles et des lipides présentes dans les aliments et permettent en effet d'augmenter leur durée de vie (**Bekkara et al., 2006 ; Bakirel et al., 2008**).

Pour les applications culinaires, les feuilles fraîches ou sèches sont utilisées pour assaisonner les poissons, les viandes, les volailles, les potages et les thés (**Gonzalez-Trujano et al., 2007**).

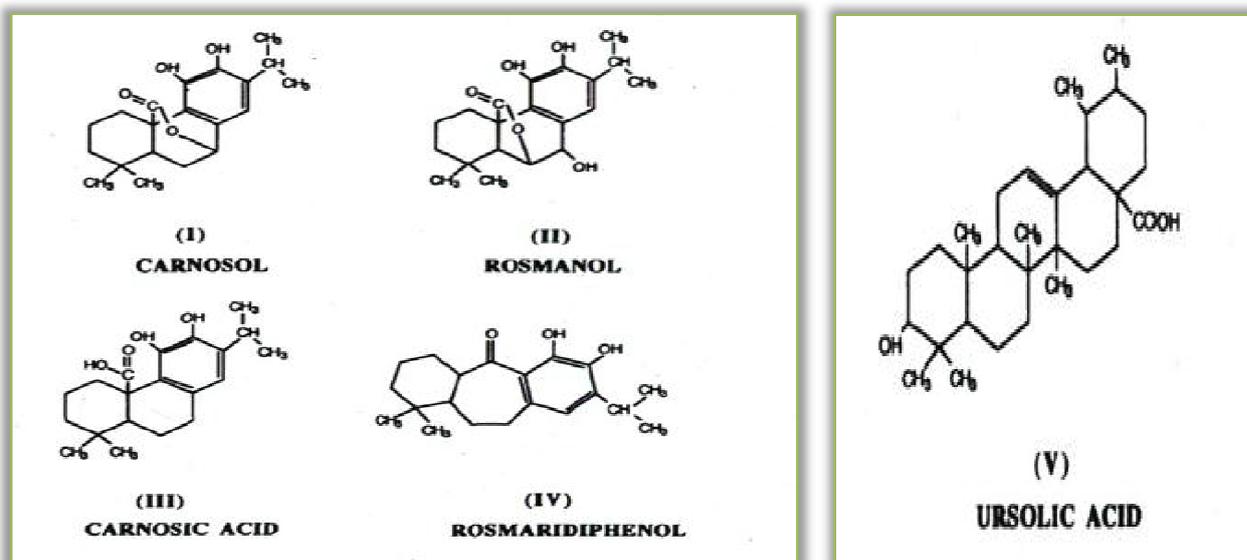
### **I-2-2-7- Composition chimique**

Le romarin est riche en principes actifs, il contient des :

- 1) Huiles Essentielles : 1 à 2,5 % :** Les sommités fleuries de romarin fournissent 10 à 25ml /kg d'une huile essentielle dont les constituants principaux sont : le camphre (15 à 25%), le cinéole (15 à 50%), alpha-pinène (10 à 25%) et le bornéol, libre et estérifié. La composition de l'huile essentielle variant, entre autres facteurs, selon la provenance, selon la phase de développement et l'origine des feuilles (**Bruneton, 1999**).
  
- 2) Diterpènes phénoliques tricycliques :** Selon la **pharmacopée française, (2010)** acide carnosolique : 0,35 %, rosmadial, carnosol (picrosalvine), l'épirosmanol et le rosmanol sont en fait des artéfacts d'oxydation lors de l'extraction de la drogue.

- 3) **Tanins des labiées** : Acides phénoliques : environ 3% de l'acide caféique avec 2 à 3% de l'acide rosmarinique notamment.
- 4) **Flavones méthylés** : Genkwanine, lutéoline, diosmétine, et leurs hétérosides : phégopoline= genkwanine-4-O-glucoside.
- 5) **Triterpènes et stéroïdes** : Environ 10% d'acide oléanolique et 5% de dérivés de l'acide ursolique accompagnées de alpha- et bêta-amyrines.
- 6) **Cuticule cireuse des jeunes feuilles** : n-alkanes (97%), isoalkanes et alkènes.
- 7) **Constituants divers** : Polysaccharides acides (environ 6%) ; traces de salicylates.

Entre autre, **Gonzalez-Trujano et ses collaborateurs, (2007)** ont démontré d'après un criblage phytochimique la présence de flavonoïdes, des tanins, des saponines et l'absence des alcaloïdes (**figure 07**).



**Figure 07** : Structure chimique des quelques composés majeurs de l'extrait de romarin  
(Bruneton, 1999).

### **I-3- Activité antimicrobienne**

Beaucoup d'études ont été réalisées au sujet de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes et de leurs huiles essentielles (**Delaquis et al., 2002**).

La mesure, l'essai, et l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits et des huiles de plantes peuvent être difficiles en raison de leur volatilité, insolubilité dans l'eau, et de la présence des multiples composés inhibiteurs. La méthode de test, le milieu de culture, le micro-organisme de test, et l'extrait de plants, ou son huile essentielle, sont des facteurs importants lors d'un test de l'activité antimicrobienne (**Janssen et al., 1987**).

#### **I-3-1- Généralité sur le monde microbien**

Plusieurs chercheurs suspectaient l'existence des êtres vivants invisibles provoquaient les maladies. Les premières observations au microscope furent sans doute réalisées entre 1625 et 1630 sur des abeilles et des charançons par l'Italien Francesco Stelluti à l'aide d'un microscope probablement fabriqué par Galilée. Cependant la première personne qui réellement observa et décrivit des microorganismes est un Hollandais, amateur de microscope. (**Escott et al., 2006**).

#### **I-3-2- Principales techniques de détermination de l'activité antimicrobienne des H.E.**

##### **I-3-2-1- Aromatogramme**

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des H.E. testées, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (**Herouini et al., 2015**). Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar1 réalisée dans une boîte de Pétri.

##### **I-3-2-2- Détermination de concentration minimale (CMI et CMB)**

L'efficacité de l'huile essentielle contre les microorganismes peut être fournie par la concentration minimale inhibitrice CMI; est la concentration la plus faible de l'huile essentielle capable d'empêcher le développement d'un microorganisme (**Caillet et Lacroix ,2007**).

Fréquemment, la CMI n'est pas totalement bactéricide et une partie de l'inoculum est capable de se développer après disparition du composé inhibiteur. Ceci a amené à définir un autre paramètre : la « Concentration Minimal Bactéricide » (CMB), parfois appelées aussi « Létale » (CML).

Elle correspond à la concentration en inhibiteur nécessaire pour que l'activité bactéricide soit totale sur un inoculum donné après un temps donné. Elle est déterminée en milieu liquide par l'évaluation des survivants après élimination du composé inhibiteur (**Hammer et al., 1999 ; Andrews., 2001**).

### **I-3-3- Propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles**

#### **I-3-3-1- Huiles essentielles et Bactéries**

**Deans et Ritchie 1987** ont étudié l'effet de 50 HE de plantes sur 25 genres de bactéries, à quatre concentrations différentes, grâce à une méthode de contact direct en milieu solide (puits). Sous leurs formes non diluée, toutes les HE inhibent au moins un genre bactérien.

Les 09 HE manifestent les propriétés inhibitrices les plus importantes sont les HE de l'angélique, du laurier, de la cannelle, du clou de girofle, du thym, de l'amande amère, de la marjolaine, du piment et du géranium. Elles inhibent plus de 20 genres de bactéries testées.

Cette étude, ainsi que beaucoup d'autres, comme celles de (**Canillac et Mourey., 2001**), confirment les propriétés antibactériennes de certains HE, mais les HE des plantes sont souvent des mélanges complexes de différents composés dont certains, sinon tous, sont dotés de propriétés antimicrobiennes. La composition des HE d'une même espèce varie selon la localisation géographique, les conditions climatiques...etc. Par conséquent, leurs propriétés antibactériennes varient également. Il est donc important de séparer et d'identifier les composants actifs présents dans une huile qui a des pouvoirs inhibiteurs.

#### **I-3-3-2- Propriétés antifongiques**

##### **I-3-3-2-1- Activités sur les moisissures**

Plusieurs auteurs ont étudié l'effet des HE des herbes et épices sur la croissance des champignons et leurs toxino-génèse (**Chao et al., 2000**, **Elgayyar et al., 2001**, **Giamperi et al., 2002**). Les études de la croissance des champignons en présence d'HE se font principalement en milieu solide et les études sur la production de mycotoxines sont réalisées en milieu liquide.

#### **I-3-3-2-2- Activités sur les levures**

Beaucoup d'HE comparées dans les études de (**Delaquis et al., 2002** ; **Giamperi et al., 2002**) ne possèdent pas, ou peu, d'effet inhibiteur vis-à-vis des souches de levures. (**Conner et Beuchat., 1984**), ont constaté que 08 HE seulement sont fortement inhibitrices à 10 % se sont les HE de poivre, de cannelle, de clou de girofle, d'ail, d'oignon, d'origan, de sarriette et de thym ; seule l'HE d'ail possède des pouvoirs inhibiteurs à 1%. Huit HE montrant une activité inhibitrice élevée ont été testés sur la production de biomasse de huit levures et sur la production de pseudomycelium.

## **I-4- Généralités sur le diabète**

### **I-4-1- Définition**

Selon l'OMS (2002), le diabète est une maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit. Le diabète dit sucré est une maladie liée à une défaillance des mécanismes biologiques de régulation de la glycémie (Marsaudon, 2004), caractérisé par une insuffisance absolue ou relative de la sécrétion en insuline dont l'une des conséquences est l'hyperglycémie qui peut s'accompagner ou non de glycosurie (Labrèze, 2002).

### **I-4-2- Classification**

#### **I-4-2-1- Diabète de type 1**

Le diabète de type 1 (précédemment connu sous le nom de diabète insulino-dépendant DID ou juvénile) est caractérisé par une production insuffisante d'insuline et exige une administration quotidienne de cette dernière (Cicoletta et al., 2012).

Représente 5 à 10% de tous les cas de diabète. L'entrée dans la maladie caractérisée par une hyperglycémie supérieure à 2 g/l (la limite supérieure étant de 1,26 g/l à jeun), peut se traduire par une polyurie, une polyphagie, une polydipsie, une perte de poids, une fatigue, ou un profond déséquilibre de l'homéostasie glycémique accompagné de cétose ou d'acidocétose, pouvant aboutir à un coma. L'évolution de la maladie est marquée par des complications : microangiopathie, accidents vasculaires cérébraux, rétinopathie, cataracte, glaucome, hypertension, cardiopathie ischémique, glomérulosclérose, neuropathie autonome, vasculopathie périphérique, gangrène... (Jaïdane et al., 2008).

➤ **Physiopathologie :** Le diabète de type 1 (DT1) est provoqué par la destruction auto-immune des cellules bêta productrices d'insuline des îlots pancréatiques. Il est généralement considéré que le diabète est diagnostiqué lorsque 70-80% des cellules bêta ont été détruites et que le reste est détruit après le diagnostic (Gillespie et Bingley, 2012). La physiopathologie du DT1 est complexe et multifactorielle (predisposition génétique, réaction immunitaire, rôle de l'environnement). Il est probable qu'il existe une

susceptibilité individuelle de développer un diabète insulino-dépendant, et qu'un ou plusieurs facteurs environnementaux soient déterminants pour l'émergence clinique de ce diabète (**Raverot, 2004**).

#### **I-4-2-2- Diabète de type 2**

Le diabète de type 2 (anciennement appelé le diabète non insulino-dépendant DNID ou de la maturité) : c'est la forme de diabète la plus répandue représentant près de 90% des cas diagnostiqués. Ce type de diabète se manifeste communément à l'âge adulte et souvent obèse (**OMS, 2002 ; Amadou, 2006 ; Brian et al., 2006**).

C'est une maladie chronique et évolutive dans le temps. Le diabète de type 2 est caractérisé par une altération de l'insulinosécrétion et des anomalies des effets de l'insuline sur ses tissus cibles (insulinosensibilité) (**Drouin et al., 1999 ; Halimi et al., 1999 ; Grimaldi, 2005**).

➤ **Physiopathologie** : Sur le plan physiopathologique, le développement du DT2 résulte de la coexistence entre une insulino-résistante (IR) et un développement progressif d'un déficit de l'insulinosécrétion. De plus, le DNID est une maladie complexe s'inscrivant généralement dans le cadre plus large du syndrome métabolique (**Benammar, 2009**).

#### **I-4-2-3- Diabète gestationnel**

Correspond à un trouble ou à une intolérance au glucose apparaissant entre la 24<sup>ème</sup> et la 28<sup>ème</sup> semaine de grossesse et disparaissant après l'accouchement (**Boumaza, 2009**).

#### **I-4-2-4- Autres types de diabète : Diabète spécifique**

Ou secondaires à une maladie pancréatique, à une endocrinopathie, iatrogène ou encore liés à des anomalies génétiques (**Boumaza, 2009**). Il peut être aussi à l'origine des médicaments, des composés chimiques ou composés toxiques (**ADA, 1997 ; Buyschaert et Hermans, 1998 ; OMS, 1999 ; Maugendre et al., 2007**).

#### **I-4-3- Traitements**

##### **I-4-3-1- But de traitement**

- ❖ De supprimer les symptômes en corrigeant aussi bien que possible l'hyperglycémie en évitant la cétose et en maintenant un bilan azote équilibré et un poids normal stable.
- ❖ D'éviter le développement à long terme des complications chroniques de cette maladie.
- ❖ De limiter les incidents et les accidents qui peuvent être entraînés par la thérapeutique elle-même, et comme dans toutes les maladies chroniques d'apprendre au sujet malade à connaître son affection et la façon de surveiller et de se traiter (**Hennen, 2001**).

### **I-4-3-2- Aspects principaux du traitement**

#### **I-4-3-2-1- Etape non pharmacologique**

Quand un DT2 est diagnostiqué, on a recours tout d'abord à un traitement non pharmacologique pendant 4 à 6 mois, le patient diabétique doit respecter le régime réduisant les aliments gras, les boissons sucrées (**Labrèze, 2002**).

#### **I-4-3-2-2- Etape pharmacologique**

Utilisation des médicaments antidiabétiques, selon **Marsaudon (2004)**, environ 40% des diabétiques ont besoin de médicaments par voie orale malgré qu'il n'existe pas de traitement curatif, le but de traitement est de combattre la progression de la maladie et d'empêcher le développement des complications chroniques en réalisant et en maintenant un bon contrôle métabolique (**Lasante, 2005**).

### **I-4-4- Site de régulation**

#### **a. Pancréas**

Le pancréas est une glande abdominale, annexée au tube digestif, appartenant à la cavité péritonéale située derrière l'estomac, devant et au-dessus des reins. Chez l'homme, le pancréas avoisine les 15 cm de long pour une masse allant de 70 à 100 g. C'est la deuxième glande la plus grosse en volume après le foie. Le pancréas comporte deux parties distinctes tant au niveau anatomique que fonctionnel : une partie exocrine et une partie endocrine (**Papin, 2009**).

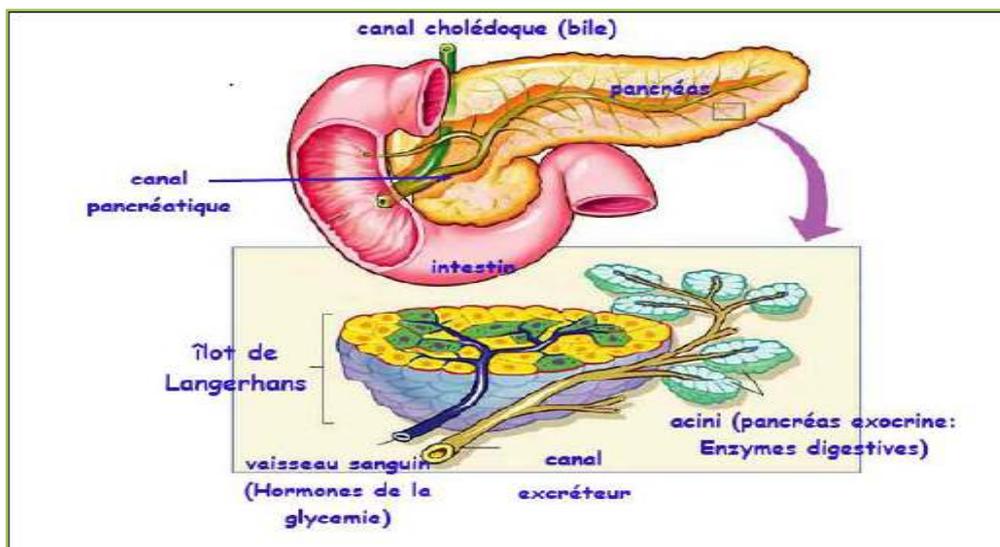


Figure 08 : Représentation schématique du pancréas (Christophe Porcher, 2014).

- ❖ **Pancréas exocrine** : qui constitue la partie la plus importante de la glande, sécrète un liquide alcalin riche en enzymes dans le duodénum, par le canal pancréatique (Belghiti et al., 2001). Les enzymes pancréatiques dégradent les protéines, les glucides, les lipides et les acides nucléiques selon le processus de digestion intraluminal (Ader et Carré., 2006), ce tissu représente 98-99% du pancréas total chez les mammifères (Wong et Brubarker., 2006).
- ❖ **Pancréas endocrine** : il est constitué par les îlots de langerhans responsables de la sécrétion hormonale pancréatiques, ceux-ci sont formés de plusieurs types de cellules qui sont regroupées en amas compacts et sphériques (figure 08) (Lévy, 2009), ce tissu représente 1-6% du pancréas total (Wong et Brubarker, 2006).

Les cellules endocriniennes (figure 09) sont richement irriguées et innervées, il existe 4 types cellulaires principaux au sein des îlots :

1. Les cellules $\beta$ , représentent environ 80%.
2. Les cellules $\alpha$ , représentent 15 à 20%.
3. Les cellules  $\delta$ , représentent 2 à 5% sécrètent la somatostatine ou SRIF qui a une action inhibitrice de l'homme de croissance hypophysaire (STH) et qui règle le débit de l'insuline et du glucagon, pouvant même bloquer totalement ces sécrétions.
4. Les cellules sécrétrices du polypeptide pancréatique (PP) dont le rôle physiologique n'est pas encore bien élucidé, ne représentent que 1% (Wong et Brubarker, 2006).

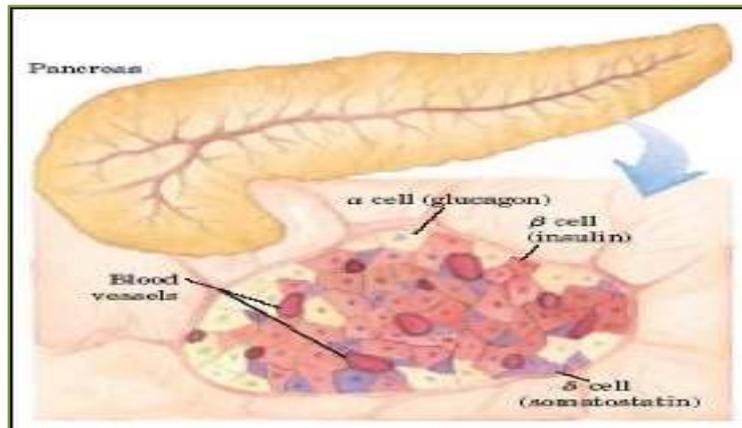


Figure 09 : Systèmes endocriniens du pancréas (Nelson et Cox, 2004).

### I-4-5- Principaux hormones pancréatiques

#### I-4-5-1- Glucagon

Le glucagon est une hormone qui a été découverte en 1923 par Kimball et Murlim et sa séquence en acides aminés a été obtenue dans les années 1970 (Magnan et Ktorska, 2005) (figure 10).

#### I-4-5-2- Insuline

L'insuline hormone hypoglycémisante, produit par les cellules des îlots de Langerhans, est composée de 2 chaînes peptidiques, une chaîne A de 21 acides aminés et une chaîne B de 30 acides aminés. Ces deux chaînes sont reliées entre elles par deux ponts disulfures et un pont disulfure intr chaîne dans la chaîne A (Figure 11) (Malardé, 2012 ; Perlemuter et Collin, 2003).



Figure 10 : La structure de glucagon (Labrèze, 2002).

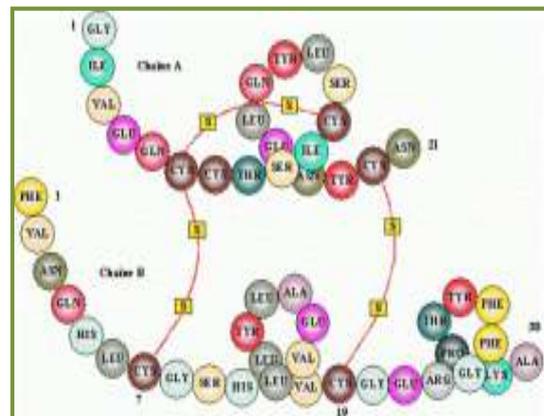


Figure 11 : La structure de l'insuline (Malardé, 2012).

# *Chapitre II :*

## *Matériel et méthodes*

**Lieu et durée de stage**

Notre travail a été réalisé au sein de laboratoire de microbiologie, de pharmacotoxicologie et du service de physico-chimie au niveau de la filiale biotique de l'entreprise de fabrication des produits pharmaceutique SAIDAL de Gué de Constantine, durant 5 mois. Tandis que l'étude histopathologique a été exécutée au niveau du laboratoire d'anatomopathologie de l'hôpital Parnet de Hussein Day- Alger. Ce travail a été effectué en quatre phases :

- 1- Etude microbiologique :** En vue d'évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de la plante médicinale «*Rosmarinus officinalis* L.»
- 2- Etude pharmacologique :** A porté sur l'effet hypoglycémiant de l'HE.
- 3- Etude analytique :** Afin d'identifier la composition chimique (CG-SM) et les indices physico-chimique de l'huile essentielle du romarin.
- 4- Etude histologique du foie et du pancréas :** Afin de mieux visualiser les dommages tissulaires induits par le diabète expérimental et l'effet protecteur du *R. officinalis* au niveau des tissus.

**II-1- Matériel****II-1-1- Matériel non biologique (Annexe 01).****II-1-2- Matériel biologique**

Le matériel biologique utilisé dans la présente étude est représenté par :

**II-1-2-1- Matériel végétal**

C'est la plante de romarin (deux huiles essentielles de deux régions différentes-**Tableau 03-**) :

- HE 1 : de Cherchell
- HE 2 : de Khenchela
- Prélèvement des échantillons :

Les HE de *Rosmarinus officinalis* L. a été extrait à l'échelle industrielle, au niveau de la société Extral-Bio® qui est située dans la région de chiffa -Blida-, à partir de la partie

aérienne fraîche de la plante. Le procédé d'extraction utilisé est l'entraînement à la vapeur d'eau. Nous avons pris des bouteilles des huiles essentielles dont le volume est de 20ml.

**Tableau 03** : Situation géographiques des stations de récolte (voir Annexe 02).

Régions	Altitude	Étage bioclimatique	Température annuelles moyennes	Précipitations annuelles moyennes
Cherchell	26 m	Climat méditerranéen avec été chaud	19.1°C	608°C
Khenchela	1122 m (min : 1050, max : 1710m)	Climat tempéré chaud	12.6°C	446 mm

### II-1-2-2- Souches microbiennes

Les cinq souches utilisées (**Annexe 03**) sont préalablement déterminées provenant de l'institut Pasteur, type de culture collection (ATCC), gracieusement fournies par laboratoire de SAIDAL Biotic de Gué de Constantine. Le tableau suivant résume la liste des souches microbiennes utilisées.

**Tableau 04** : Différentes souches microbiennes utilisées.

	Espèces	Gram	Références
<b>Bactéries</b>	<i>Escherichia coli</i>	Négatif	ATCC 8739
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 6538
	<i>Bacillus subtilis</i>	Positif	ATCC 6633
<b>Champignons</b>	<i>Candida albicans</i>	/	ATCC 10231
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	/	ATCC 16404

### II-1-2-3- Matériel animal

Pour la réalisation de notre expérimentation, nous avons utilisé des animaux de laboratoire qui ont été élevés au niveau du laboratoire de pharmaco-toxicologie, unité animalerie du complexe Biotic-SAIDAL de Gué de Constantine. Le matériel animal utilisé et ses conditions opératoires sont rapportés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 05** : Matériel animal utilisé et ses conditions opératoires.

Animal	Souris albinos
Sexe	Male ♂
Poids (g)	25-26
Effectif	4 lots (20 souris)
Nourriture	Aliment granulé de composition équilibrée, origine ONAB, très énergétique, fabriqué à partir de céréales, riche en maïs, son, soja et de remoulage, complétement en vitamines et en minéraux, il est fourni par les meuneries (Société de production sise à Bouzaéah-Alger)
Boisson	Eau de boisson potable renouvelée quotidiennement (donnée de manière ad-libitum)
Température de laboratoire (°C)	20-24
Air	Locaux climatisés Air en renouvellement continu
Hygrométrie	60 à 75%
Lumière	Cycle circadien naturel
Elevage	Complexe biotique (SAIDAL-Gué de Constantine)
Contrôle	Chimique et bactériologique périodique de l'eau et de l'aliment

## II-2- Méthode de travail

### II-2-1- Technologie d'extraction à l'échelle industrielle des huiles essentielles

Industriellement l'entraînement à la vapeur d'eau est la plus utilisée pour l'extraction d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* dans le but d'obtenir un bon rendement de l'essence et de réduire le temps d'extraction (Marzouk et al., 2006).

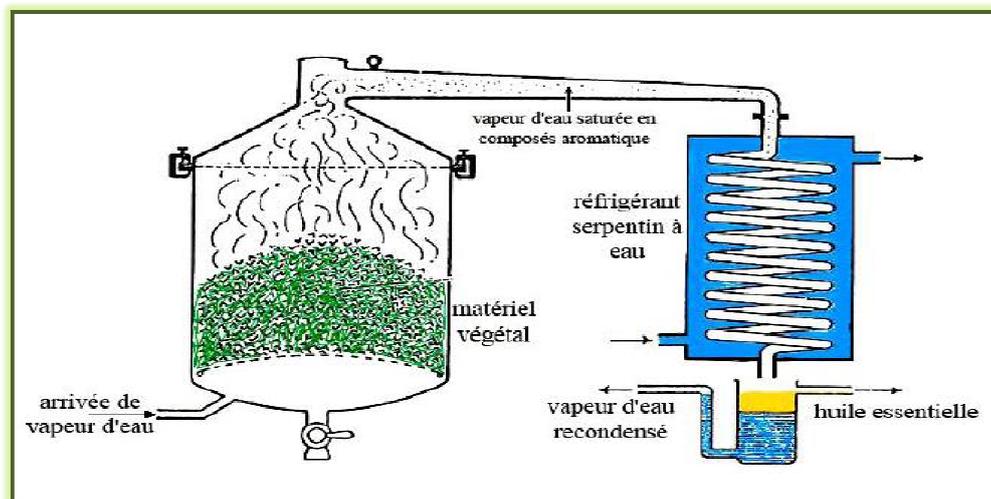
Dans la distillerie Extral-Bio®, les huiles sont extraites, par entraînement à la vapeur d'eau, des feuilles et des branches terminales dans un système classique d'extraction constitué par (figure 12) :

- ❖ Un alambic en acier inoxydable, de capacité de 2000 litres, qui comporte une grille pour la matière première ; le chauffage de l'alambic se fait par la vapeur provenant d'une chaudière.
- ❖ Un chapiteau ou circule le mélange vapeur eau-essence pour aller vers la partie suivante.
- ❖ Un réfrigérant ou condenseur à serpentin horizontal avec une légère inclinaison ; la condensation des vapeurs eau-essence s'effectue dans ce compartiment.
- ❖ Un essencier ou un vase florentin ou l'HE se sépare de l'hydrolat par différence de densité.

La durée de distillation varie, en moyenne, de 2 à 3 heures.

Autrement dit, un alambic de 2 m<sup>3</sup> de volume utile aurait la capacité de charge de 600 kg de matériel végétal.

Aussi, l'HE est certifiée « 100% naturelle » car n'ayant été additionnée ou mélangée à aucun solvant organique durant la phase de production. Elle est aussi certifiée « biologique » car provenant d'une culture où aucuns engrais ou pesticides chimiques n'ont été appliqués durant la phase de culture.



**Figure 12:** Principe de l'appareillage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau  
(El haib, 2011).

➤ **Conservation de l'huile essentielle obtenue**

L'essence 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.

## II-2-2- Analyses des huiles essentielles

### II-2-2-1- Caractérisation organoleptique

Chaque huile essentielle est caractérisée par ces caractères organoleptiques tels que : l'odeur, l'aspect physique et la couleur (Bentchicou, 1999; Hameurlaine, 2009).

- **L'aspect physique** : l'aspect d'une HE dépend des produits qui la constituent, elle nous apparaitre sous forme liquide, solide ou bien semi solide, elle a été vérifiée à l'œil nu.
- **Odeur** : il appartient aux sens chimiques les plus sensibles.
- **Couleur** : la coloration d'une huile essentielle dépend des produits qui la constituent, donc la couleur change d'une huile essentielle à l'autre ; elle peut être déterminé à l'œil nu.

### II-2-2-2- Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques sont utilisées pour déterminer la qualité de l'HE. Tous les paramètres ont été déterminés selon la méthode préconisé par la **Pharmacopée Européenne (Anonyme, 2008)**. Nous avons réalisés sept (7) tests physico-chimiques pour deux (2) huiles essentielles de romarin :

#### II-2-2-2-1- Propriétés physiques

- **Indice de réfraction**

L'indice de réfraction  $n_y^t$ , est d'un milieu rapporté à l'air est égal au rapport du sinus de l'angle d'incidence d'un rayon lumineux dans l'air, au sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré.

#### ➤ Mode opératoire

L'indice de réfraction a été déterminé par la lecture directe de l'angle de réfraction à l'aide du réfractomètre, en employant la lumière diffuse. L'indice de réfraction  $n_d^t$  à la température de référence  $t=20^\circ\text{C}$  ( $N_d^{20}$ ), est déterminée par la formule suivante :

$$N_d^{20} = n_d^t + 0.0004 (t' - t)$$

Où :  $t = 20^{\circ}\text{C}$ .

$n_d^t$  : est la valeur obtenue à la température  $t$ .

- **Densité relative**

La densité relative à  $20^{\circ}\text{C}$  d'une substance est le rapport de la masse d'un volume d'HE à  $20^{\circ}\text{C}$ , à la masse d'un volume égal d'eau distillée à  $20^{\circ}\text{C}$ .

➤ **Mode opératoire**

Nettoyer soigneusement le pycnomètre de capacité minimale (5ml) par l'éthanol puis l'acétone et sécher l'intérieur en y faisant passer un courant d'air sec. Peser le pycnomètre à vide. Remplir le pycnomètre avec de l'eau distillée, peser le pycnomètre plein, le vider, le rincer et sécher. Effectuer les mêmes opérations, en remplaçant l'eau par notre huile essentielle. Elle est calculée d'après la formule suivante :

$$d = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Où :  $m_0$  : masse en gramme du pycnomètre vide.

$m_1$  : masse en gramme du pycnomètre rempli d'eau distillée.

$m_2$  : masse en gramme du pycnomètre rempli d'huile essentielle.

- **Pouvoir rotatoire**

Le pouvoir rotatoire  $\alpha_d^{20}$  est la propriété que présentent certaines substances de dévier le plan de polarisation de la lumière polarisée.

➤ **Mode opératoire**

Selon la norme de la pharmacopée, on détermine le zéro du polarimètre (**Annexe 01**) avec le tube fermé vide et on remplit ensuite le tube avec l'HE. Il est calculé d'après la formule suivante :

$$[\alpha]^{D20} = \frac{\alpha}{\ell \times d_{20}}$$

Où :

$\alpha$  : valeur d'angle de rotation en degré lu à  $20 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ .

$\ell$  : longueur en décimètre du tube polarimétrique.

$d_{20}$  : densité relative de l'huile essentielle.

**II-2-2-2- Propriétés chimiques**

- **Indice d'acide**

L'indice d'acide  $I_A$  est le nombre qui exprime en milligrammes, la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans 1 g de substance.

➤ **Mode opératoire**

Dissolvez 1g de la substance à examiner ou la quantité prescrite (mg) dans 50 ml d'un mélange à volumes égaux d'alcool R et d'éther R. Sauf indication contraire, le solvant doit être neutralisé au préalable par l'hydroxyde de potassium 0.1 M en présence de 0.5 ml de solution de phénolphtaléine R1. Après dissolution, titrez par l'hydroxyde de potassium 0.1 M. Le titrage est terminé lorsque la couleur rosé persiste pendant 15 secondes au moins. Il est calculé d'après la formule suivante :

$$I_A = 5.61 \times (v/m)$$

Où :

**v** : volume en ml de la solution d'hydroxyde de potassium 0.1 M utilisé pour le titrage.

**m**: masse en g de la prise d'essai.

- **Indice de saponification**

L'indice de saponification  $I_S$  est le nombre qui exprime en milligrammes, la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation et à la saponification des esters présents dans 1g de substance.

➤ **Mode opératoire**

Dans une fiole de 250 ml de verre mini d'un réfrigérant à reflux, introduisez la prise d'essai (mg). Ajouter 25ml d'hydroxyde de potassium alcoolique 0.5 M et quelques billes de verre. Adapter le réfrigérant et chauffez à reflux pendant 30 min. Sauf indication contraire, ajouter 1ml de solution phénolphtaléine R1 et titrez immédiatement par l'acide chlorhydrique 0.5 M, effectuez un essai à blanc dans les mêmes conditions. Il est calculé d'après la formule suivante :

$$I_S = \frac{28.05 (V_2 - V_1)}{m}$$

Où :

$V_1$  : Volume en ml d'acide chlorhydrique 0.5 M utilisé pour l'essai à blanc.

$V_2$  : Volume en ml d'acide chlorhydrique 0.5 M utilisé pour la détermination de l' $I_S$ .

$m$  : masse en g de la prise d'essai.

- **Indice d'ester**

L'indice d'ester  $I_E$  est le nombre qui exprime en mg la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la saponification des esters présents dans 1 g de substance.

Il est calculé à partir de l' $I_S$  et de l' $I_A$  :

$$I_E = I_S - I_A$$

- **pH**

Le pH exprimé par une valeur numérique, indique si une solution est acide ou basique, il représente aussi la concentration en ions hydrogène d'une solution aqueuse. Le pH est déterminé à l'aide d'un pH-mètre.

### II-2-2-3- Analyse chromatographique par CG-SM

**Tableau 06** : Conditions opératoires de la CG-SM

Méthode CG	Méthode SM
Volume injecté : 1 $\mu$ l	Mode d'ionisation : Impact électronique
Température injecteur : 250°C	Energie : 70ev
Colonne : Elite série 5-MS, 30m, 25mm	Température : source 250°C
ID, 0.25 $\mu$ m épaisseur de phase stationnaire	Température ligne de transfert : 250°C
Température initiale : 70°C pendant 4min	Analyseur : quadripôle
Rampe : 4deg/min jusqu'à 220°C pendant 15min	Mode : balayage entre 20-550 daltons
Temps d'analyse : 56.5min	Délai de solvant : 5.9min
Logiciel utilisé : Le Scan	

L'identification des constituants est faite sur la base de la comparaison de leurs temps de rétention.

### II-2-3- Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne d'HE

#### ➤ Préparation de la suspension microbienne

A l'aide d'une pince stérile placer les pastilles dans le liquide de reconstitution, mettre immédiatement le flacon reconstitué à une température 34° à 38°C pendant 30 min. Après l'incubation, la suspension reconstituée est agitée à l'aide d'un vortex pour permettre une distribution uniforme de la souche.

#### ➤ Préparation des milieux de culture

Le milieu de culture approprié à l'étude antibactérienne est le milieu Muller-Hinton préparé comme suit : Dissoudre 38 g de la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver 15 min à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri (**figure 13**). Et pour l'étude antifongique elle se fait sur le milieu Sabouraud liquéfié dans un bain marie réglé à 95°C.

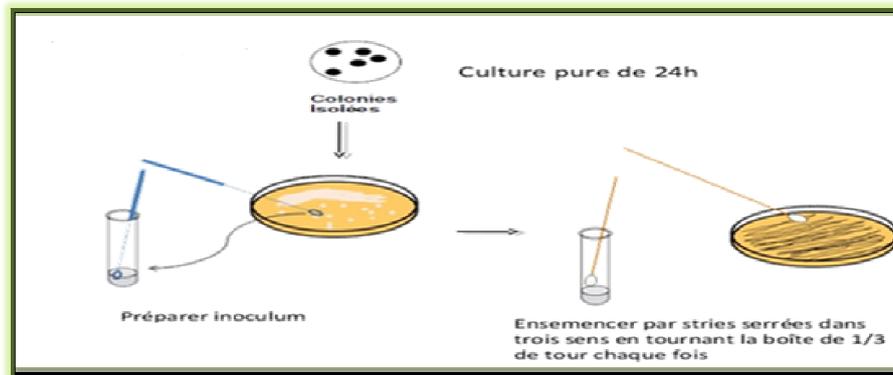


**Figure 13:** Ecoulement du milieu de culture.

#### ➤ Préparation de l'inoculum

La méthode de préparation d'inoculum (**figure14**) est celle préconisée par la société française de la microbiologie (communiqué de 2005). Cette méthode consiste à préparer une suspension microbienne on prélevant 2 à 3 colonies, à partir d'une culture microbienne de 18-24h et les introduire dans des tubes à essais de 5ml Na cl à 0,9% équivalente au standard Mc FARLAND 0,5 ( $\sim 10^8$  UFC/ml). Cette suspension peut être obtenue par la mesure de la densité optique (D.O) allant de 0.08 à 0.1 pour les bactéries et de 1 à 2 pour les levures et les moisissures lue à 625 nm qui correspondent à une concentration de  $10^7$  - $10^8$  germes/ml (**standardisation de l'antibiogramme selon l'OMS,1999**) .

L'inoculum est ajusté soit en ajoutant de la culture s'il est trop faible ou de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum.



**Figure 14:** Préparation de l'inoculum

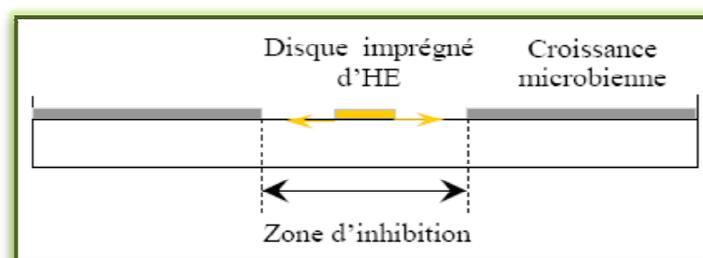
Afin de tester l'activité antimicrobienne des HEs de *R.officinalis* L., nous avons fait appel à 2 méthodes complémentaires, c'est la méthode de référence recommandée par l'OMS (Kirby-Bauer, 1966 ; Sokmen *et al.*, 2004).

- ❖ Méthode qualitative : diffusion sur disque (aromatogramme).
- ❖ Méthode quantitative : contact direct par dilution en milieu solide (détermination des CMI, CMB et CMF).

### II-2-3-1- Aromatogramme de l'activité antibactérienne et antifongique des HE

#### ➤ Principe

Le principe de l'aromatogramme est inspiré de l'antibiogramme, il consiste à tester la sensibilité des souches microbiennes par la diffusion de l'extrait sur le milieu solide dans une boîte de Pétri. L'apparition et l'importance du diamètre de la zone d'inhibition reflète l'impact des HE / l'extrait aqueux sur les souches microbiennes. Ainsi, ces dernières seront qualifiées de sensibles ou très sensibles, ou résistantes (Ouibrahim, 2015) (Figure 15).



**Figure 15 :** Aromatogramme.

➤ **Technique**

Le travail est fait sous une hotte à flux lumineuse verticale et dans une zone stérile près du bec benzène allumé.

➤ **Préparation des boîtes de pétri**

Les milieux MH et SAB sont liquéfiés puis couler dans des boîtes de pétri, le MH pour les bactéries et SAB pour les champignons. Un écouvillon stérile et ensuite trempé dans une suspension microbienne (déjà préparée correspondre à  $10^8$  UFC/ml) faisant des stries serrés sur la surface de la gélose, l'opération se répète deux fois en tournant  $60^\circ$  la boîte à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et passant en dernier sur la périphérie de la gélose. Dès que l'ensemencement est fini, laissant imprégnées pendant 5 min en assurant que les boîtes sont bien fermées (**figure 16**).



**Figure 16:** Ensemencement microbien.

➤ **Préparation et dépôt des disques**

Des disques de papier buvard de 9mm sont d'abord stérilisés sous UV pendant 30min ensuite imprégnés par 10 $\mu$ l de chaque extrait (HE1 et HE2) ainsi que des disques imprégnés par le DMSO comme témoin négatif.

A l'aide d'une pince stérile ces disques sont par la suite déposés sur la surface de la gélose préalablement ensemencé en appuyant doucement sur ces derniers pour assurer un contact uniforme avec le milieu. Laisser pré-diffuser les extrait sur la gélose pendant 15min à une température ambiante puis les incubées dans une étuve à  $30^\circ$ - $35^\circ$ C/24h-48h pour les bactéries et  $20^\circ$ - $25^\circ$ C/48h-72h pour les champignons.

Cette technique est suivie pour le test des deux huiles avec l'extrait pur 100% à raison de trois répétitions pour chaque souche microbienne testée.

#### - Test de sensibilité aux antibiotiques

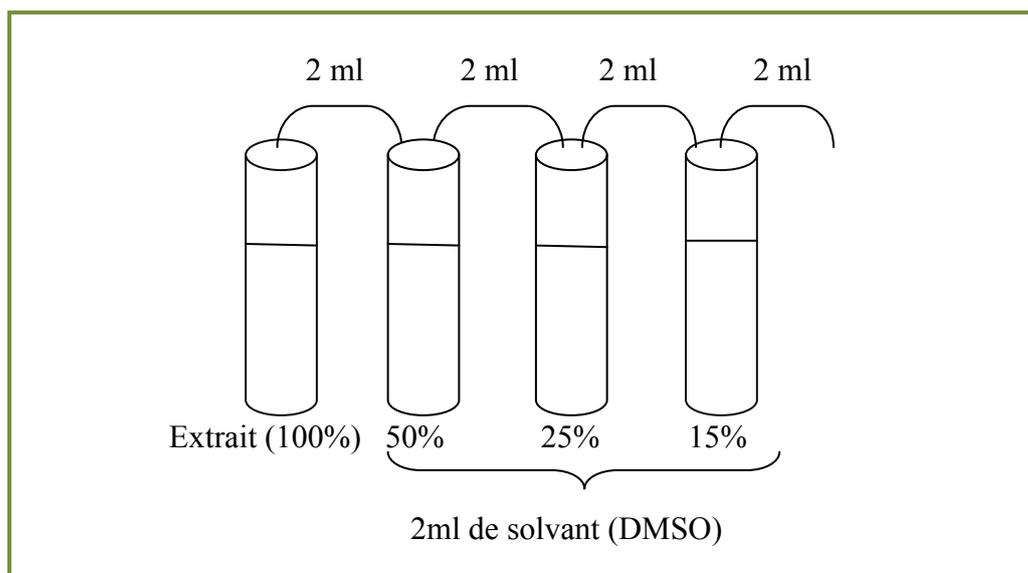
L'étude de l'antibiogramme s'est limitée à tester les antibiotiques les plus utilisés en antibiothérapie tels que : Lamidaze 250mg et le Primazol 400-80mg.

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes et le comparer avec l'effet de nos extraits bruts. Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. La sensibilité des souches aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole qu'avec les disques de papiers imprégnés d'extrait.

#### II-2-3-2- Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne et antifongique des HE

##### ➤ Préparation des dilutions

Les HE ont été dissous dans 2ml de DMSO pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives au demi. Sachant que la solution mère de chaque extrait est de 100% pour avoir des dilutions de 50%, 25% et 15% (**figure 17**).



**Figure 17** : Préparation des dilutions au demi pour chaque l'huile essentielle.

➤ **Détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides**

La CMI est définie comme étant la plus petite concentration qui inhibe toute croissance microbienne visible à l'œil nu en 24h. La CMB est la plus petite concentration d'antibiotique ne laissant subsister 0,01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après 18h de culture à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactéricide d'un antibiotique (**Canillac et Mourey, 2001**).

**a- Concentration minimales inhibitrices des HE**

➤ **Technique**

Les deux milieux de culture MH et SAB sont d'abord liquéfiés puis coulés dans les boîtes de Pétri (MH pour les souches bactériennes et SAB pour les champignons), après solidification des deux milieux les boîtes sontensemencées, à l'aide d'un écouvillon trempé dans les suspensions microbiennes en frottant la surface de la gélose faisant des stries serrées en tournant la boîte 60° à chaque fois pour assurer la formation d'une nappe microbienne à la surface de la boîte.

A l'aide d'une pince stérile, un prélèvement aseptique des disques imprégnés par les différentes concentrations (dilutions) des deux huiles (HE1 et HE2), ces derniers sont ensuite déposés délicatement sur la gélose déjàensemencée par les souches microbiennes en laissant pré-diffuser les huiles pendant 15min à une température ambiante puis sont incubées dans une étuve à 37°C/24h pour les bactéries et 25°C/24 à 48h pour les champignons (**Sokmen et al.,2004**).

La détermination de la CMI se fait en mesurant les zones d'inhibition à l'aide d'un pied coulisse ou aucune surcroissance d'une souche donnée constatée autour du disque.

Les bactéries montrant une sensibilité à l'huile essentielle sont sélectionnées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) (**Derwich et al., 2010**).

**b- Concentration minimales bactéricides et fongicides des HES**

Détermination de la CMB et la CMF se fait successivement à la CMI. Un prélèvement à l'aide d'une pipette pasteur est réalisé autour de chacun des disques présentant la plus faible

activité, donc allant de la CMI aux concentrations les plus élevées. Chaque prélèvement est ensemencé par des stries à la surface de la gélose. Les boîtes sont incubés à 37°C/24h pour les bactéries et à 25°C/24h pour les levures et les moisissures (**Bauer et al., 1966**).

L'effet antimicrobien a été jugé bactéricide (fongicide) ou bactériostatique en fonction du rapport : CMB/CMI. En effet, si :

- ❖ CMB/CMI < 4, l'effet est bactéricide.
- ❖ CMB/CMI > 4, l'effet est bactériostatique (**Canillac et Mourey, 2001**).

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donné par **Mutai et al., 2009**, ils ont classé les diamètres des zones d'inhibitions de la croissance microbienne en cinq classe :

- **Très fortement inhibitrice** : diamètre d'inhibition  $\geq 30$ mm
  - **Fortement inhibitrice** :  $21 \leq$  diamètre d'inhibition  $\leq 30$ mm
  - **Modérément inhibitrice** :  $16 \leq$  diamètre d'inhibition  $\leq 21$ mm
  - **Légèrement inhibitrice** :  $11 \text{mm} \leq$  diamètre d'inhibition  $\leq 16$ mm
  - **Non inhibitrice** : diamètre de la zone  $\leq 10$ mm
- ❖ Les calculs de la moyenne des diamètres sont faits comme suite :

$$x = \frac{1}{n} \sum_{i=0}^n x_i$$

x= la moyenne

n= nombre d'échantillon (répétitions).

$x_i$ = diamètres d'inhibition

#### II-2-4- Méthode d'évaluation de l'effet hypoglycémiant d'HE

##### ➤ Principe

Le principe consiste à mettre en évidence l'activité antidiabétique de l'huile essentielle des feuilles du romarin, chez les souris rendues diabétiques par alloxane monohydrate.

L'action principale de l'alloxane monohydrate (**Annexe 04**) sur le pancréas est la destruction des cellules  $\beta$  des îlots de langerhans, ce qui conduit par conséquence au diabète.

➤ **Induction du diabète expérimental**

Après une mise à jeun pendant une nuit (privation de la nourriture pendant 18h avec l'accès à l'eau), le diabète a été induit chez les souris par injection intra-péritonéale d'alloxane monohydrate à la dose de 120mg/kg p.c. préparée fraîchement dans une solution physiologique Na cl 0.9% (Sabu et *al.*, 2002; Carvalto et *al.*, 2003).

➤ **Répartition des lots**

Les souris ont été réparties de manière tout à fait aléatoire en 4 lots de 5 (**figure 18**) et sont soumis à un jeûne préalable de 18h avant l'expérimentation. Le protocole a été résumé dans la **figure 19** :

- **Lot 01** : Témoins Sains TS (non diabétiques non traité), recevant une solution d'eau physiologique pendant toute la durée de traitement.
- **Lot 02** : Diabétique Non Traité DNT (rendus diabétiques expérimentalement), souris ont reçu une dose unique d'alloxane, de 120mg/kg p.c.
- **Lot 03** : Diabétiques Traités avec l'HE1 du romarin DTHE1, (rendus diabétiques et traités par l'huile essentielle 1 de *Rosmarinus officinalis L.* à une posologie de 250µl/kg par gavage).
- **Lot 04** : Diabétiques Traités avec l'HE2 du romarin DTHE2, (rendus diabétiques et traités par l'huile essentielle 2 de *Rosmarinus officinalis L.* à une posologie de 250µl/kg par gavage).



**Figure 18** : Lot des souris albinos (originale 2017)

#### **II-2-4-1- Détermination du poids corporel**

L'évolution du poids des souris des différents lots est contrôlée durant toute l'expérience : avant et après l'induction du diabète alloxanique ainsi que pendant toute la durée du traitement à l'aide d'une balance de précision (**Annexe 01**).

#### **II-2-4-2- Détermination de la glycémie**

L'évolution de la glycémie des souris des différents lots est contrôlée dès le premier jour du traitement, et jusqu'à la fin du traitement. Selon un programme identique à celui des pesées. Tous les prélèvements sanguins pour la mesure de la glycémie sont effectués au niveau de la patte antérieure par provocation d'une plaie à l'aide d'une fine aiguille, une goutte de sang est récupérée puis déposée sur une bandelette pour lecture de la glycémie. (**Lecteur Accu Chek- Annexe 01**).

#### **II-2-4-3- Etude histologique des organes**

##### ➤ **Dissection et prélèvement des organes**

On procède à une dissection des souris dans le but de prélever certains organes : Le foie, le pancréas. Le jour de l'autopsie (28<sup>ème</sup> jour), les souris ont été anesthésiées à l'éther diéthylique afin de faire la dissection. Ces organes sont d'abord débarrassés de tout ce qui est graisse, rincés au NaCl à 0,9%. Le pancréas et une partie du foie ont été mis dans du formol à 10% (fixation) dans le but d'effectuer des coupes histologiques.

##### ➤ **Confection des coupes histologiques**

Après la **fixation** des organes (fragments des foies, pancréas) dans le formol 10 % pendant 24 heures, ils sont placés dans des cassettes en plastique numérotées selon l'échantillon déposé et mis dans l'automate. Cet appareil est équipé par 6 bacs d'alcool (**déshydratation**), 3 bacs de xylène (**nettoyage ou éclaircissement**) et 2 bacs de paraffine (solidification), dans chaque bac les cassettes restent une heure.

L'étape suivante est l'**inclusion**, qui consiste à enrober les fragments dans la paraffine liquide (67°C) à l'aide des moules métalliques et après refroidissement, on obtient des blocs de paraffine.

Puis les blocs sont dégrossés à 50 microns (enlever l'excès de paraffine) et coupés à 5 microns (**coupes des organes**). Les coupes réalisées sont placées dans un bain d'eau gélatineuse sur des lames numérotées préalablement. Les lames restent une nuit dans l'étuve.

Pour la **coloration**, les lames sont lancées dans un appareil contenant 6 bacs de xylène (**déparaffinage**), 4 bacs d'alcool (**réhydratation**), 1 bac d'eau (rinçage) :

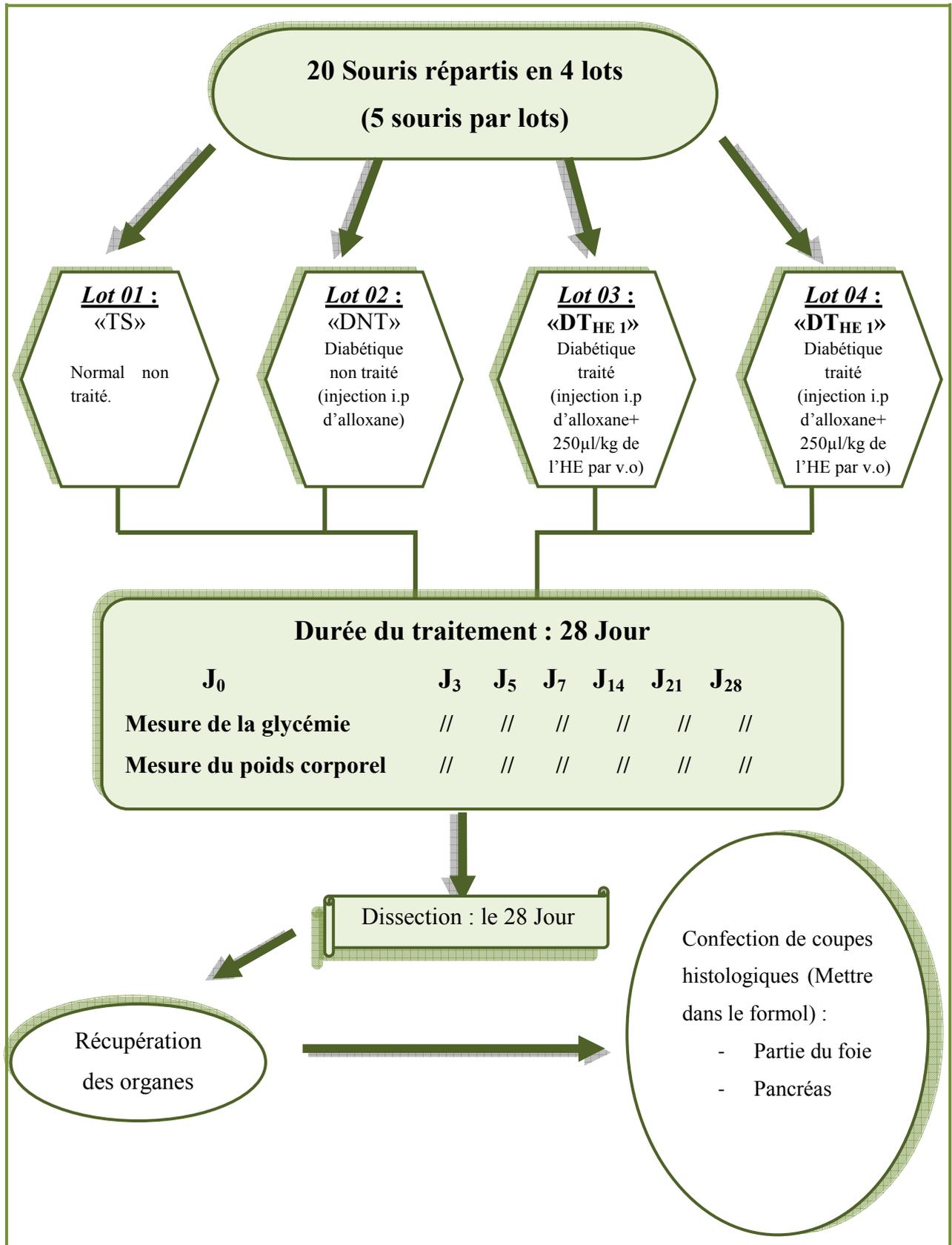
❖ Coloration à l'hématoxyline et éosine

1 bac d'**hématoxyline** (coloration des noyaux en bleue), 1 bac d'eau (rinçage), 1 bac d'**éosine** (coloration du cytoplasme en rose), 2 bacs d'eau (rinçage), 3 bacs d'alcool (**déshydratation**) et 3 bacs de xylène (éclaircissement). Dans chaque bac les lames restent 2 minutes.

Après la coloration, la lamelle est fixée sur la lame par l'Eukit (**montage**), immergée dans le xylène et séchée à l'air. Enfin Les lames sont prêtes à la **lecture** par le microscope optique.

#### **II-2-4-4- Etude statistique**

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes±écartype par Microsoft Office Excel® 2007. La comparaison des moyennes à été réalisée en utilisant le test t de Student. La valeur trouvée par le calcul du t peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p. Le seuil de signification a été fixé à ( $p < 0,05$ ) (pour l'effet hypoglycémiant).



**Figure 19 :** Schémas représentatif du protocole expérimental du principe de l'effet hypoglycémiant.

# *Chapitre III :*

## *Résultats et discussion*

### III-1- Analyses des huiles essentielles

#### III-1-1- Caractéristiques organoleptiques

Les propriétés organoleptiques de nos huiles essentielles obtenues : l'aspect, la couleur, l'odeur sont résumées dans le tableau suivant :

**Tableau 07:** Caractéristiques organoleptiques de nos huiles essentielles du Romarin.

Caractéristiques	Pharmacopée Européenne, 2005	AFNOR, 2000	HE 01 du Cherchell	HE 02 du Khenchela
<i>Aspect</i>	Liquide limpide	Liquide mobile, limpide	Liquide mobile	Liquide mobile limpide
<i>Couleur</i>	Incolore à jaune pâle	Presque incolore à jaune pâle	Jaune pâle	Jaune pâle
<i>Odeur</i>	Odeur caractéristique	Caractéristique, Fraiche, +/- camphrée selon l'origine	Camphrée	Odeur Caractéristique

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle obtenue à partir de l'extraction de romarin est un liquide mobile, d'une odeur camphrée et d'une couleur jaune pâle (**Annexe 05, fig.01**) pour la station de Cherchell. Cette même couleur et aspect liquide mobile limpide a été observée pour l'HE de la station de Khenchela qui était caractérisée par une odeur caractéristique (**Annexe 05, fig.02**).

Nos résultats sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes Pharmacopée européenne et AFNOR. **Martini (2006)** signale que la plupart des huiles essentielles sont de couleur jaune pâle et parfois incolore, sauf pour les essences à azulène (camomille, matricaire) qui ont une couleur bleue.

#### III-1-2- Caractéristiques physico-chimiques

Les propriétés physico-chimique tels que : l'indice de réfraction, pH, l'indice d'acide, l'indice d'ester,.... etc, constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de

l'huile essentielle (AFSSAPS, 2008). Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles analysées ont été déterminées selon la méthode standard AFNOR. Les moyennes des paramètres étudiés sont représentées dans le tableau 08.

**Tableau 08** : Caractéristiques physico-chimiques de nos huiles essentielles du Romarin.

		Caractéristiques physico-chimiques						
		Propriétés chimiques				propriétés physiques		
		pH	I <sub>A</sub>	I <sub>S</sub>	I <sub>E</sub>	I <sub>R</sub>	d <sup>20</sup> <sub>20</sub>	α <sup>20</sup> <sub>d</sub>
Nos résultats	HE 01	5,45	0,89	4,15	3,26	1,474	0,9070	-0,13
	HE 02	6,9	1,003	11,14	10,14	1,469	0,9093	0,06
Valeurs de références		[6-7]	[0,5-2]	-	[2-15]	+1.4670 ≤ n <sup>20</sup> <sub>D</sub> ≤ +1.4740	[0,895-0,920]	[-2 ; +5]
Référence : Norme AFNOR		-	NF ISO 1342	-	ISO 709 : 2001	NF ISO 1342	NF ISO 1342	NF ISO 1342

(-) : Non précisé

Les résultats obtenus des analyses physico-chimiques indiquent que les échantillons analysés se trouvent dans les fourchettes de référence établies par les normes AFNOR. Selon Gildo, 2006, ces paramètres physico-chimiques sont influencés par les conditions édaphiques et climatiques ainsi que les conditions de culture des plantes ; cela fait partie aussi de la complexité de la notion de chémotype.

Pour les constantes physiques, la densité relative ( $d^{20}_{20}$ ) est parmi les caractéristiques physiques généralement utilisées dans la classification des huiles essentielles. Mais elle ne peut pas être utilisée seule pour l'identification des huiles. La  $d^{20}_{20}$  des HEs est inférieure à celle d'eau. L'HE 01 et 02 présentent une densité relative 0,9070 et 0,9093 respectivement, ces valeurs sont conformes aux normes AFNOR dont l'intervalle est de 0,895- 0,920.

L'indice de réfraction ( $I_R$ ) de nos HEs du romarin à 20°C est conforme aux normes données par AFNOR. Ceci montre la richesse de nos huiles essentielles en composants qui dévient la lumière polarisée et que la teneur en monoterpènes dans ces huiles est forte. Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés

oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé. Le faible indice de réfraction de l'huile essentielles indique sa faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques (**Boukhatem et al., 2010**).

Les résultats du pouvoir rotatoire mentionnent des valeurs de -0.13 et de +0.06. Ces huiles sont lévogyre et dextrogyre respectivement et sont conformes aux normes françaises (**AFNOR**).

Pour les constantes chimiques, le *pH* obtenu indique que notre HE 01 est légèrement acide et concernant l'HE 02 est conforme à la norme française **AFNOR**.

En réalité, une huile essentielle fraîche contient très peu d'acides libres (**Fauconnier, 2006**). Notre HE a donné un  $I_A$  de 0,89 pour le *R. officinalis 01* et 1,003 pour le *R. officinalis 02*. Ce résultat s'explique par le fait que nous avons pris soin de conserver nos HEs dans un contenant en verre opaque car il a été établi que la lumière favorise l'altération de la structure de l'huile et la prolifération des acides. De même, un indice d'acide inférieur à 2 est un indicateur d'une bonne conservation de l'essence donc une faible quantité d'acides libres (**Kanko et al., 2004 ; Robert, 2000**).

L'indice de saponification ( $I_S$ ) de l'huile essentielle du romarin est de 4,15 et 11,14 respectivement, **Bruni et al. (1994)** indique que l'indice de saponification rend compte de la longueur des chaînes hydrocarbonées des acides gras ; plus le poids moléculaire est élevé plus l'indice de saponification est faible. Cela implique que nos huiles contiennent une faible quantité d'acides gras à un important poids moléculaire.

Les indices d'acide et de saponification déterminés montrent peu d'acides libres dans les feuilles dont les huiles essentielles ne renferment pas assez de composés saturés (**Noudogbessi et al., 2008**).

Plus l'indice d'ester ( $I_E$ ) est élevé, la qualité d'une HE sera mieux (**Dummortier, 2006**). Nos HEs révèlent un indice d'ester ( $I_E$ ) de 3,26 pour le *R. officinalis 01* et 10,14 pour le *R. officinalis 02*. Cependant, l'indice d'ester peut aussi être influencé par d'autres facteurs, tels que les conditions dans lesquelles s'effectuent l'hydrolyse (c'est-à-dire dans quel type d'alambic, les constituants de l'eau utilisés pour le chauffage,...). De manière générale, les huiles de très bonnes qualités ont un indice ester très élevé (**Benini et al., 2010**).

Selon les propriétés physico-chimiques, plus la qualité de l'huile est élevée, plus sa densité et son indice d'ester seront aussi élevés. Par contre, l'indice de réfraction et le pouvoir rotatoire doivent être petits. Quant à l'indice d'acide, il doit toujours être inférieur à 2 (AFNOR, 2005).

La comparaison de nos résultats à ceux de la norme **NF ISO 1342 – Mars 2001** relative à l'huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis L.*) a montré clairement que l'huile essentielle issue de romarin est d'une part conforme à la norme **ISO**.

La détermination des propriétés physico-chimiques (densité, indice d'acide, indice de réfraction...) est une étape nécessaire mais demeure non suffisante pour caractériser les huiles essentielles. Il est donc primordial de les compléter par des analyses chromatographiques : GC/SM, ces dernières, sont souvent utilisées comme moyens analytiques complémentaires pour l'analyse structurale des substances volatiles (Fellah et al., 2006), elles ont été employées pour identifier qualitativement les HES du Romarin.

### III-1-3- Analyse chromatographique par CG/SM

Les résultats de l'identification par chromatographie gazeuse-spectrométrie de masse (CG/SM) des principaux composants chimiques de l'huile essentielle de Romarin des deux régions algériennes (Cherchell et Khenchela), en fonction des temps de rétention par ordre croissant, présentés dans le tableau 09.

**Tableau 09** : Composition chimique des deux huiles essentielles de Romarin.

Huile essentielle de <i>R. officinalis</i> 01				Huile essentielle de <i>R. officinalis</i> 02			
Pics	Constituants	TR (min)	(%)	Pics	Constituants	TR (min)	(%)
1	Furan, 2-ethyl-	2.26	0.02	1	Tricyclène	5,038	0,11
2	3-Penten-2-one, 4-methyl	3.24	0.06	2	$\alpha$ -Thujène	5,159	0,23
3	2-Hexenal	4.14	0.07	3	$\alpha$ -Pinène	5,347	7,43
4	3-carene	6.06	0.36	4	Camphène	5,773	2,96
5	$\alpha$ -Pinene	6.90	14.36	5	$\beta$ -Pinène	6,650	4,80
6	Camphene	7.43	9.72	6	$\beta$ -Myrcène	7,147	0,75
7	$\beta$ -Phallandrene	8.14	6.15	7	$\alpha$ -Phellandrene	7,623	0,17
8	$\beta$ -Pinene	8.50	1.14	8	$\alpha$ -Pinène	7,844	0,15
9	$\alpha$ -Phellandrene	8.93	0.56	9	$\alpha$ -Terpinene	8,099	0,48
10	$\alpha$ -Pinene	9.14	0.00	10	Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl	8,420	0,94

11	(+)-2-Carene	9.42	0.53	11	D-Limonene	8,583	1,75
12	Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	10.19	9.44	<b>12</b>	<b>1,8-Cineole</b>	<b>8,683</b>	<b>34,22</b>
13	D-Limonene	10.61	3.77	13	$\gamma$ -Terpinène	9,898	0,84
14	Eucalyptol	10.88	0.46	14	$\alpha$ -Terpinolène	11,281	0,35
15	3-Carene	11.51	1.08	15	Linalool	11,911	0,50
16	$\beta$ -terpineol	11.75	0.11	16	Camphor	14,074	7,87
17	(+)-4-Carene	12.86	0.75	17	Borneol	15,276	2,38
18	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	13.43	0.00	18	7-Octen-2-ol, 2-methyl-6-methylene	15,406	0,35
19	1,8-Nonadiene, 2,8-dimethyl-	13.74	0.00	19	Terpinen-4-ol	15,969	0,60
20	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	14.02	0.30	20	$\alpha$ -Terpineol	16,754	1,77
21	Bicyclo[3.1.1]hept-2-en-6-one, 2,7,7-trimethyl-	14.76	0.03	21	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, acetate, (1S-endo)-	22,441	0,44
<b>22</b>	<b>Camphor</b>	<b>17.89</b>	<b>26.70</b>	22	$\alpha$ -Copaene	27.761	0,22
23	Borneol	18.32	2.71	23	$\alpha$ -Caryophyllene	30.291	3,23
24	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-	18.77	1.35	24	$\alpha$ -Humulene	32.312	0,39
25	$\alpha$ -Terpineol	19.50	1.26	25	$\gamma$ -Muurolene	33.832	0,18
26	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl-	20.24	0.67	26	Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-	36.637	0,28
27	Verbenone	21.21	0.07	27	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	41.723	0,55
28	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (S)-	23.52	0.00	28	Diphenyl sulfone	43.543	1,56
29	Bornyl acetate	24.43	1.30	29	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione	44.596	0,37
30	Thymol	24.79	0.00	30	1,5-Diphenyl-2H-1,2,4-triazoline--thione	45.214	0,57
31	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	25.29	0.00	31	Hexadecanoic acid, methyl ester	45.485	2,65
32	$\alpha$ -Cubebene	28.06	0.20	32	Dibutyl phthalate	46.529	0,76
33	Eugenol	28.72	0.00	33	Phenanthroviridone	46.796	0,19
34	Ylangene	29.32	0.27	34	2-[(Trimethylsilylmethylamino)(methylthio)]methylene-1,3-indandione	47.364	1,37
35	Copaene	29.65	1.12	35	(+)-6-Dodecyloxy-1,2,5,6-tetrahydro-4H-pyrrolo[3,2,1-ij]quinoline	47.781	0,18
36	Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	31.72	0.00	36	Hetisinone	47.886	0,41
37	Isocaryophyllene	32.35	3.48	37	Sulfurous acid, 2-ethylhexyl octadecyl ester	49.276	0,26
38	(+)-Epi bicyclosesquiphellandrene	32.74	0.24	38	Pentacosane	49.690	1,49
39	$\alpha$ -Caryophyllene	34.20	1.30	39	Cyclohexadecane	50.074	0,57
40	Non Identifié	34.47	0.00	40	9,12-Octadecadienoic acid-, methyl ester	50.303	2,12

41	1,6,10-Dodecatriene, 7,11-dimethyl-3-methylene-, (Z)-	34.68	0.41	41	cis-13-Octadecenoic acid, methyl ester	50.458	2,12
42	Naphthalene,1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.alpha.,8a.alpha.)-	35.69	1.58	42	Heptadecanoic acid, 16-methyl-, methyl ester	51.076	0,72
43	Di-epi- $\alpha$ -cedrene-(I)	35.83	0.16	43	1-Diphenyl(tert butyl)silyloxy-4-methoxybenzene	51.706	0,62
44	Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-	36.21	0.42	44	3-Methylbenz[d]isothiazole	52.191	0,47
45	Naphthalene,1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl) (1.alpha.,4a.alpha.,8a.alpha.)-	36.66	0.54	45	Non identifié	52.399	0,13
46	$\alpha$ -Muuroleone	37.07	0.69	46	Benzamide, N-[2-(cyclopropylmethyl)-4,5-dimethoxyphenyl]-4-methoxy-	52.917	0,26
47	Cyclohexene, 1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)-, (S)-	37.72	0.00	47	Diethylmalonic acid, di(2-isopropylphenyl) ester	53.665	0,55
48	Naphthalene,1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)-	37.87	0.79	48	14-.beta.-pregnane	54.212	0,29
49	Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-	38.49	2.67	49	Heptafluorobutyric acid, pentadecyl ester	54.299	0,04
50	Naphthalene, 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-,[1R-(1.alpha.,4a.alpha.,8a.alpha.)]-	38.98	0.16	50	4-Methoxy-2-methyl-1-(pyridinylthio)buta-1,3-diene	54.391	0,06
51	Non Identifié	39.23	0.15	51	1-Tridecene	54.896	0,07
52	Caryophyllene oxide	40.84	0.38	52	Bicyclo[4.3.0]nona-3,7-diene, 8-(N-pyrrolidinyl)-, cis-	55.376	0,11
53	12-Oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene,1,5,5,8-tetramethyl-, [1R-(1R*,3E,7E,11R*)]-	41.72	0.00	53	1,3-Dioxolane, 4-ethyl-5-octyl-2,2-bis(trifluoromethyl)-, trans-	56.262	0,07
54	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-	42.39	0.09	54	Cyclohexane, 1-(1,5-dimethylhexyl) -4-(4-methylpentyl)-	56.813	0,91
55	10,10-Dimethyl-2,6-dimethylenebicyclo[7.2.0]undecan-5.beta.-ol	42.64	0.00	55	Eicosane	57.155	1,02
56	tau.-Cadinol	42.81	0.11	56	Eicosane n-Eicosane Icosane n-Icosane	57.289	1,71
57	Copaene	42.97	0.00	57	Tetrapentacontane, 1,54-dibromo-1,54-Dibromotetrapentacontane	57.506	0,25
58	Methyl jasmonate	43.13	0.00	58	Di-n-octyl phthalate	57.903	0,23
59	$\alpha$ -Cadinol	43.22	0.09	59	3-Quinolinecarboxylic acid, 6,8-difluoro-4-hydroxy-, ethyl ester	58.516	0,34
60	Isoaromadendrene epoxide	43.36	0.06	60	1-Naphthalene-sulfonic acid	59.084	0,62

61	Naphthalene, 1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-	43.74	0.08	61	Eicosane n-Eicosane Icosane n-Icosane	60.537	0,56
62	$\alpha$ -Bisabolol	44.22	1.22	62	Methoxyacetic acid, heptadecyl ester	60.621	0,59
63	Bergamotol, Z-.alpha.-trans-	45.95	0.00	63	Methyl (6Z)-7-(3-Furyl)hept-6-enoate	60.971	0,48
64	Lanceol, cis	46.35	0.00	64	3-Quinolinecarboxylic acid, 6,8-difluoro-4-hydroxy-, ethyl ester	62.262	0,43
				65	4-[(1Z)-(N-Hydroxyethanimidoyl)-2-methylpyridazin-3(2H)-one	62.976	0,27
				66	1,3-dimethyl-4-azaphenanthrene	65.748	0,61
<b>Total : 98,43%</b>				<b>Total : 99,97%</b>			

Il existe de nombreuses études dans la littérature sur la composition chimique de l'huile essentielle de *R. officinalis* (Celiktas *et al.*, 2007 ; Bousbia *et al.*, 2008). Plusieurs travaux ont mis en évidence l'existence de multiples composés bioactifs dans l'huile essentielle de *R. officinalis* dans différentes régions d'Algérie (Benhabiles et Aït Ammar, 2001 ; Lograda *et al.*, 2014).

L'analyse préliminaire de nos huiles essentielles des parties aériennes de cette plante a montré des profils chromatographiques presque similaires d'un point de vue qualitatif mais avec une différence quantitative dans l'abondance de leurs composés majoritaires. Il est noté d'après cette analyse qu'il y a en effet des produits majoritaires et des produits minoritaires. D'une part certains composés chimiques sont abondants ( $\beta$ -Phallandrene 6.15%, Eucalyptol 0.46% et Bornyl acétate 1.30%) dans l'huile essentielle de la zone de Cherchell alors qu'ils sont absents dans celle de la zone de Khenchela, et d'autre part certains composés sont absents (Tricyclène 0.11%,  $\alpha$ -Thujène 0.23% et Cyclohexadecane 0.57%) dans l'HE de Cherchell mais présent dans celle de la région de Khenchela.

L'analyse chromatographique CG/SM nous a permis d'identifier Soixante quatre composés dans l'HE de *R. officinalis* 01 (région de Cherchell) qui représentent un total de 98,43%. Le chromatogramme de l'HE de *R. officinalis* 01 (Annexe 06-Fig. 01) a montré des spectres avec pourcentage des principaux constituants (> 3%) sont : le camphre (26,70%),  $\alpha$ -pinène (14,36%), camphène (9,72%), Benzène-1-méthyl-4-(1-méthylethyl)- (9,44%),  $\beta$  phallandrene (6,15%), D-limonène (3,77%) et l'isocaryophyllène (3,48%). En outre, l'HE testée contient également des quantités considérables de divers constituants mineurs (tableau

09). D'après les résultats obtenus, la nôtre s'avère être du type Camphre (26,70%) car cette molécule est majoritaire dans l'HE. Nos résultats sont en accord avec les études de **Kukerja et al., (2007)**. Ils ont également identifié le camphre (26,40%) comme un composant principal dans l'huile essentielle de *R. officinalis L.*

Alors que l'analyse chromatographique CPG/SM de l'HE de *R. officinalis* 02 nous a permis d'identifier Soixante-six composés qui représentent un total de 99,97%. Une observation immédiate du chromatogramme de l'HE de *R. officinalis* 02 (**Annexe 06-Fig. 02**) a porté sur la présence d'un niveau élevé des principaux constituants (> 3%) sont : 1,8-cinéole (34,22%), le camphre (7,87%),  $\alpha$ -pinène (7,43%), 2 $\beta$ -pinène (4,80%) et le caryophyllène (3,23%). En outre, cette HE contient également des quantités minoritaires de divers constituants (**tableau 09**). Cependant, l'étude menée par **Boutekedjiret et al., (1998)** indique que les huiles essentielles du romarin des Biban de la région de Bordj Bou Arreridj, sont dominées par un chémotype spécifique qu'est le 1,8 cinéole (52,4%). Une étude réalisée par **Miladi et al., (2013)** identifiée le 1,8-cinéole à 24,10%. Ce qui concorde avec notre résultat de cette région.

La variation détectée dans la composition chimique de l'huile essentielle du Romarin issue de la région du Chercell et l'autre issue du Khenchela, est liée à plusieurs facteurs et paramètres tels que : le facteur environnemental, le facteur saisonniers, la nature du sol, les conditions climatiques et géographiques qui changent d'une région à l'autre, la période de la cueillette, la partie de la plante utilisée, à l'âge de la plante et la période du cycle végétatif et la méthode d'extraction selon (**Hussain, 2009 ; Anwar et al., 2009 ; Rouibi et al., 2010 ; Bertini et al., 2005 ; Colombo et al., 2013 ; Gende et al., 2014**).

**Napoli et al., (2010)**, classe le romarin en trois chémotypes, selon le composé majoritaire de leurs huiles essentielles : cineoliferum (teneur élevée en 1,8-cinéole); camphoriferum (camphre > 20%); et verbenoniferum (verbénone > 15%).

*R. officinalis L.* de la région de Chercell est classé dans le chémotype camphoriferum car son huile essentielle est caractérisée par la présence de Camphre comme principal constituant (26,7 %). Alors que *R. officinalis L.* de la région de Khenchela est classé dans le chémotype cineoliferum car son HE est caractérisée par la présence de Cinéole comme principal constituant (34,22%). Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par **Fernández et al., (2014)** ont montré que les principaux composés volatiles de l'huile

essentielle du romarin sont le camphre et le 1,8-cinéole, le bornéol, le verbenone, l' $\alpha$ -pinène et le camphène.

On remarque une différence de composition relativement importante, dans les huiles essentielles du romarin des deux régions voir le tableau ci-dessus :

**Tableau 10** : Constituants communs des deux huiles essentielles de Romarin.

Constituants	HE 01	HE 02
Camphor	26,70%	7,87%
$\alpha$ -pinene	14,36%	7,43%
$\beta$ -pinene	1,14%	4,80%
Camphene	9,72%	2,96%
$\alpha$ -Phellandrene	0,56%	0,17%
Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	9,44%	0,94
D-Limonene	3,77%	1,75%
Borneol	2,71%	2,38%
$\alpha$ -Terpineol	1,26%	1,77%
$\alpha$ -Copaene	1,12%	0,22%
$\alpha$ -Caryophyllene	1,30%	3,23%
Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-	2,67%	0,28%

Les deux HE extraites sont formées majoritairement d'hydrocarbures monoterpéniques et de composés oxygénés, tels que les alcools et les cétones.

L'huile essentielle de cette même plante, extraite par entraînement à la vapeur d'eau analysée par **Taleb-Toudert K, (2015)** en Kabylie (Algérie), à révélé une richesse en eucalyptol (41,7%), en camphor (10,32%), en  $\alpha$ -pinène (8,71%), en  $\beta$ -pinène (7,61%) et en camphène (4,52%). Donc elle révélée un chémotype à eucalyptol ce qui ne concorde pas avec nos résultats.

Plusieurs travaux qui ont mis en évidence l'existence de multiples chémotypes d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* dans différentes régions d'Algérie. On citera les travaux mener par **Lograda et al., (2013)** qui ont noté que la composition chimique des huiles essentielles du romarin collecté de cinq régions de l'Est algérien est dominée par le camphre (42,7%) ce qui corrobore avec notre résultat de la région de Cherchell et d'**Atik Bekkara et**

*al.*, (2007) où l'huile essentielle du romarin spontané de la région de Tlemcen à l'Ouest algérien serait caractérisée par la présence de l' $\alpha$ -Pinène (23,1%).

Les études effectuées par **Varela et al., 2009; Ayadi et al., 2011; Hcini et al., 2013; Jordán et al., 2013a; Khia et al., 2014; Tahri et al., 2015; Tuttolomondo et al., 2015** sur la composition chimique des huiles essentielles du romarin en Tunisie, Maroc, Espagne et Italie, déterminent l'importance du chémotype 1,8-cinéole (>24%).

Une étude contradictoire de **Hilan et al. (2006)** qui ont également rapporté la prédominance de l'eucalyptol (50%) comme principal composant dans la plante du Romarin (*R. officinalis* L.) collecté des différentes altitudes et régions libanaises.

En France, l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* de la Provence a un niveau élevé de camphre (30-45%) (**Kaloustian et al., 2002**) par contre celle de la Corse serait caractérisée par l' $\alpha$ -pinène (13.7-24.6%) (**Pintore et al., 2002**).

Subséquentement, cette variabilité des résultats de l'huile essentielle de romarin peut être due à des facteurs intrinsèques (génétique, sous-espèces) ou à des facteurs extrinsèques comme le climat et le sol (origine géographique) (**Özcan et Chalchat, 2008**).

La composition biochimique des essences des lamiacées dépend ainsi du lieu de récolte et déterminera donc le chémotype et par conséquent la spécificité de l'huile et les propriétés thérapeutiques. Tous ces paramètres sont influencés par les conditions édaphiques et climatiques ainsi que les pratiques culturelles (**Gilly, 2005**).

## III-2- Résultats de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du Romarin

### III-2-1- Résultats de l'aromatogramme

Les résultats (**Annexe 07**) de l'huile essentielle issus de Cherchell sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 11** : Résultats de l'aromatogramme de l'HE issue de Cherchell [pure].

Espèce	DZI en mm (3 répétitions)	Classe des ZI (selon Mutai et al., 2009)
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	Modérément inhibitrice
<i>Bacillus subtilis</i>	27	Fortement inhibitrice
<i>Escherichia coli</i>	19,33	Modérément inhibitrice
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	27,66	Fortement inhibitrice
<i>Candida albicans</i>	31	Très fortement inhibitrice

L'huile essentielle pure de la région de Cherchell a révélé une activité antimicrobienne très fortement inhibitrice (très sensible) en induisant des diamètres d'inhibition  $\geq 30$ mm avec la souche *C. albicans* (31mm) et fortement inhibitrice avec *B. subtilis* et avec *A. brasiliensis* (27mm-27,66mm) respectivement, tandis que *S. aureus* (19mm) et *E. coli* (19,33mm) sont modérément inhibitrice (sensible) en induisant des diamètres comprise entre  $16 \leq \text{DZI} \leq 21$ .

**Tableau 12** : Résultats de l'aromatogramme de l'HE issue de Khenchela [pure].

Souches microbiennes	DZI en mm (3 répétitions)	Classe des ZI (selon Mutai et al., 2009)
<i>Staphylococcus aureus</i>	16,33	Modérément inhibitrice
<i>Bacillus subtilis</i>	36,66	Très fortement inhibitrice
<i>Escherichia coli</i>	18	Modérément inhibitrice
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	13	Légèrement inhibitrice
<i>Candida albicans</i>	22	Fortement inhibitrice

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle pure de la région de Khenchela était très fortement inhibitrice  $\text{DZI} \geq 30$ mm avec *B. subtilis* (36,66mm), fortement inhibitrice (extrêmement sensible)  $21 \leq \text{DZI} \leq 30$  avec et *C. albicans* (22mm), modérément inhibitrice (sensible)  $16 \leq \text{DZI} \leq 21$  avec *S. aureus* (16,33mm) et *E. coli* (18mm) alors qu'elle était légèrement inhibitrice (modérément sensible)  $11 \leq \text{DZI} \leq 16$  avec *A. brasiliensis*.

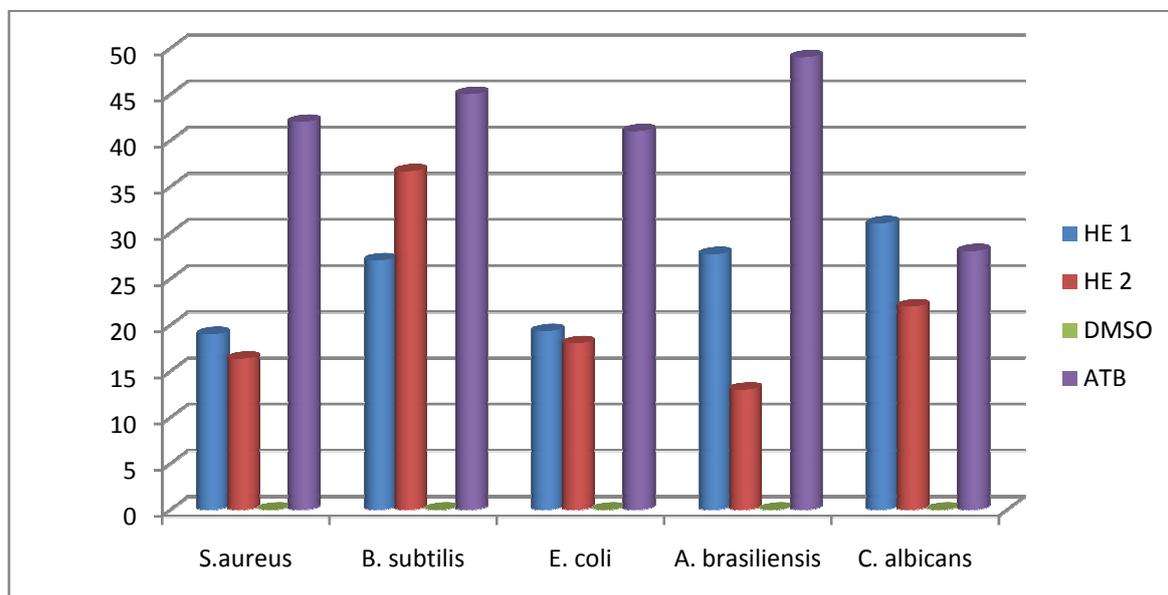
Le tableau ci-dessous représente les résultats du témoin négatif et témoin positif (Annexe 07) :

Le DMSO (témoin négatif) testé avec les souches microbiennes n'avait aucun effet remarquable n'a pas affecté la croissance des souches microbiennes testées. Tandis que, l'antibiogramme (témoin positif) : le primazol est très fortement efficace sur les trois bactéries (*S. aureus*, *E. coli* et sur *B. subtilis*). Concernant, les résultats de Lamidaz montrent une zone d'inhibition très important sur *A. brasiliensis* et *C. albicans*.

**Tableau 13** : Résultats de l'activité antimicrobienne du témoin négatif DMSO et du témoin positif ATB.

Souches	DMSO	ATB	
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	42 mm	Pr*
<i>Bacillus subtilis</i>	-	45 mm	
<i>Escherichia coli</i>	-	41 mm	
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	-	49 mm	Lz**
<i>Candida albicans</i>	-	28mm	

-non sensibles, \*Disques d'antibiotiques : Primazol 400-80mg (10µg/disque), \*\* Disques d'antifongique : Lamidaz 250mg (10µg/disque).



**Figure 20** : Effet antimicrobien des deux huiles essentielles de *R. officinalis* ainsi qu'au témoin négatif et l'ATB de référence.

D'après les tableaux 11, 12, 13 et la figure 20:

Les huiles essentielles de romarin des deux régions ont une activité antimicrobienne vis-à-vis des souches testées, dans laquelle certaines souches semblent se distinguer par une sensibilité élevée par rapport aux autres. En effet, nous avons remarqué la présence des zones d'inhibition extrêmement importantes pour les souches à Gram<sup>+</sup> : *B. subtilis* (27mm-36,66mm) suivie par *S. aureus* (19mm-16,33mm). Cependant, une activité modeste a été observée contre les bactéries à Gram<sup>-</sup> sur *E. coli* (19,33mm-18mm).

Nos résultats sont concordants avec ceux trouvés par **Lograda et al. (2014)**; **Kazemi et al. (2012)** qui ont montré que les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. présentent une activité antibactérienne contre les souches Gram positif et Gram négatif.

Concernant les souches fongiques, en se basant sur l'estimation donnée par **Mutai et al., (2009)**, les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. se sont avérées très actives contre toutes les espèces fongiques testées à savoir : la levure *C. albicans* (31mm-22mm), ainsi que la moisissure *A. brasiliensis* avec des zones d'inhibition comprises entre 27,66mm-13mm ; la différence c'est que l'huile de la région méditerranéenne reste la plus active que celle de l'est algérien. Nos résultats de l'HE de Cherchell sont en accord avec ceux trouvés par **Santoyo et al. (2005)** et **Celiktas et al. (2007)** qui ont montré que l'huile essentielle de romarin présente une activité antifongique importante.

Selon **Ouraini et al., 2007** : Les variations observées dans les activités antifongiques entre les différents travaux sont liées à plusieurs paramètres dont : la nature du milieu de germination, le genre et l'état de l'espèce fongique (utilisée juste après son isolement ou après plusieurs repiquages), l'âge de la culture, En effet Plus cette dernière est âgée, plus elle devient sensible à l'action de l'huile essentielle. Mais ces variations dépendent aussi de la nature de l'huile essentielle et son contenu en composés volatils ; la concentration et la quantité de l'huile essentielle ; la concentration de l'inoculum concernant les spores (Une augmentation de la densité des spores, supérieur à 10<sup>6</sup> UFC, exige des concentrations élevées d'huile essentielle pour les éliminer)

La forte activité antimicrobienne de l'huile essentielle contre les micro-organismes sensibles peuvent être attribués à la présence d'une forte concentration de monoterpènes (**Sepahvand et al., 2014**).

Selon **Imelouane et al., 2010** indique les principaux composants de cette huile, le 1,8-cinéole, ont été connus pour présenter une activité antimicrobienne contre les souches bactériennes (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *S. aureus*, *rhizobium leguminosarum* et *bacillus subtilis*). Bien que Terpinen-4-ol représente un constituant mineur dans l'huile étudiée, on sait qu'il existe des propriétés antibactériennes très efficaces (**Carson et al., 2006**).

### III-2-2- Résultats des concentrations minimales inhibitrices, bactéricides et fongicides

#### ➤ Résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Le tableau ci-dessous (**Annexe 07**) présente les résultats de la CMI des deux huiles :

**Tableau 14** : Diamètres des zones d'inhibitions en mm des germes testés par les deux HE à différentes concentrations.

Souches microbiennes	Huile essentielle 01			Huile essentielle 02		
	50%	25%	15%	50%	25%	15%
<i>Staphylococcus aureus</i>	21mm	15mm	-	11mm	10mm	-
<i>Bacillus subtilis</i>	22mm	17mm	15mm	16mm	14mm	-
<i>Escherichia coli</i>	18mm	15mm	-	12mm	10mm	-
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	28mm	16mm	-	11mm	10mm	-
<i>Candida albicans</i>	22mm	19mm	11mm	13mm	11mm	-

La souche *Staphylococcus aureus* donne respectivement un diamètre de 17-16mm avec la dilution 50% et une zone de 15-12 mm avec la dilution 25% et un diamètre de 9-9 mm avec la dilution 15%, donc *Staphylococcus aureus* est sensible pour toutes les dilutions de l'huile de Romarin.

La souche *Bacillus subtilis* donne respectivement un diamètre de 20-19.5 mm avec la dilution 50% et un zone de 17-13 mm avec la dilution 25% et un diamètre de 15-9 mm avec la dilution 15%, donc pour *Bacillus subtilis* est sensible pour toutes les dilutions de l'huile de Romarin.

La souche *Escherichia coli* donne respectivement un diamètre de 18 -14mm avec la dilution 50% et une zone de 15-12 mm avec la dilution 25% et un diamètre de 9-9 mm avec la

dilution 15%, donc *Escherichia coli* est sensible pour toutes les dilutions de l'huile de Romarin.

*Aspergillus brasiliensis* ayant présenté une sensibilité vis-à-vis toutes les dilutions de l'extrait. Dont on marque un diamètre d'inhibition variée de 20 à 9mm pour l'HE01 et 13 à 9 mm pour l'HE 02, même chose pour la souche *Candida albicans* qui présente un diamètre d'inhibition variée de 22 à 12- 15 à 9 respectivement.

L'activité des HE de station de Chenchell a été importante sur *B. subtilis*, *C. albicans* et *A. brasiliensis*, moyenne sur *E. coli* et *S. aureus*. Ainsi, leur CMI pour *B. subtilis* et *C. albicans* est de l'ordre de 15%, celle de *S. aureus*, *E. coli* et *A. brasiliensis* est de l'ordre de 25%.

Tandis que les HE de la région de Khenchela exhibent un pouvoir antimicrobien important sur *B. subtilis* et *C. albicans*, un pouvoir antimicrobien moyen sur *S. aureus* et *E. coli* et un pouvoir antimicrobien faible sur *A. brasiliensis*. La CMI des HE de cette région pour *B. subtilis*, *S. aureus*, *C. albicans*, *E. coli* et *A. brasiliensis* est de 25%.

#### ➤ Résultats de la concentration minimale bactéricide et fongicide

Le tableau suivant résume les concentrations minimales bactéricides de chaque huile :

**Tableau 15** : CMB et CMF des deux huiles essentielles de *R.officinalis* L.

Concentrations minimales bactéricides et fongicides		
	Huile essentielle 01	Huile essentielle 02
<i>Staphylococcus aureus</i>	50%	50%
<i>Bacillus subtilis</i>	15%	50%
<i>Escherichia coli</i>	50%	50%
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	50%	50%
<i>Candida albicans</i>	25%	50%

**Tableau 16** : Résultats de rapport de CMB/CMI des deux huiles essentielles de Romarin.

<i>Souches microbiennes</i>	HH 01	HE 02	Interprétation
	CMB/CMI	CMB/CMI	
<i>S.aureus</i>	2	2	Bactéricide
<i>B.subtilis</i>	1,5	2	Bactéricide
<i>E. coli</i>	2	2	Bactéricide
<i>A.brasiliensis</i>	2	2	Fongicide
<i>C. albicans</i>	1,7	2	Fongicide

L'effet antimicrobien de nos huiles essentielles révélées que les bactéries Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup> ont une réponse Bactéricide tandis que les champignons ont un effet Fongicide (Annexe 07).

Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram<sup>+</sup> par rapport aux Gram<sup>-</sup> (Bouzouita et al., 2008). Néanmoins, Certaines études révèlent aucune activité antimicrobienne sélective vis-à-vis les bactéries Gram<sup>+</sup> ou Gram<sup>-</sup> (Guesmi et Boudabous, 2006). L'activité antimicrobienne est en relation avec la composition chimique de l'huile plus essentiellement ces composés majoritaires (Frag et al., 1989; Deans et Sbodova, 1990). Cette dernière est liée à sa composition chimique, aux groupements fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétonique) et leurs effets synergiques (Rouibi et al., 2010).

Selon Wang et ses collaborateurs (2012), l'impact des composés mineurs n'est pas à négliger. Ils ont démontré que les HEs entières ont une activité antimicrobienne supérieure à un mélange de composants majeurs des mêmes huiles essentielles, ce qui suggère que les composants mineurs peuvent avoir un effet synergique.

En revanche, des travaux rapportent l'inexistence de lien apparent, et aucune corrélation entre l'activité inhibitrice des essences aromatiques et la nature de la paroi bactérienne (Zaika, 1988 ; Boukhatem et al., 2014).

Jordán et ses collaborateurs (2013b) mentionnent qu'une forte proportion d' $\alpha$ -pinène augmente l'efficacité des huiles essentielles du romarin contre *Staphylococcus aureus*, tandis

que la présence de 1,8 cinéole, comme le composé le plus abondant, diminue considérablement l'efficacité de ces huiles. En revanche, l'efficacité des huiles pures contre *Escherichia coli* n'a pas été affectée par cette condition.

L'activité antimicrobienne du romarin est attribuée à la présence de camphre, 1-8 cinéole, le bornéol, camphène,  $\alpha$ -pinène et  $\beta$ -pinène, connus pour leurs propriétés antimicrobiennes (Deba et al., 2008 ; Okoh et al., 2010 ; Santoyo et al., 2005).

Weerakkody et al., (2010) ont indiqué que le romarin a une forte activité antimicrobienne et que le camphre identifié comme principal composant chimique de ses huiles essentielles a un effet antimicrobien.

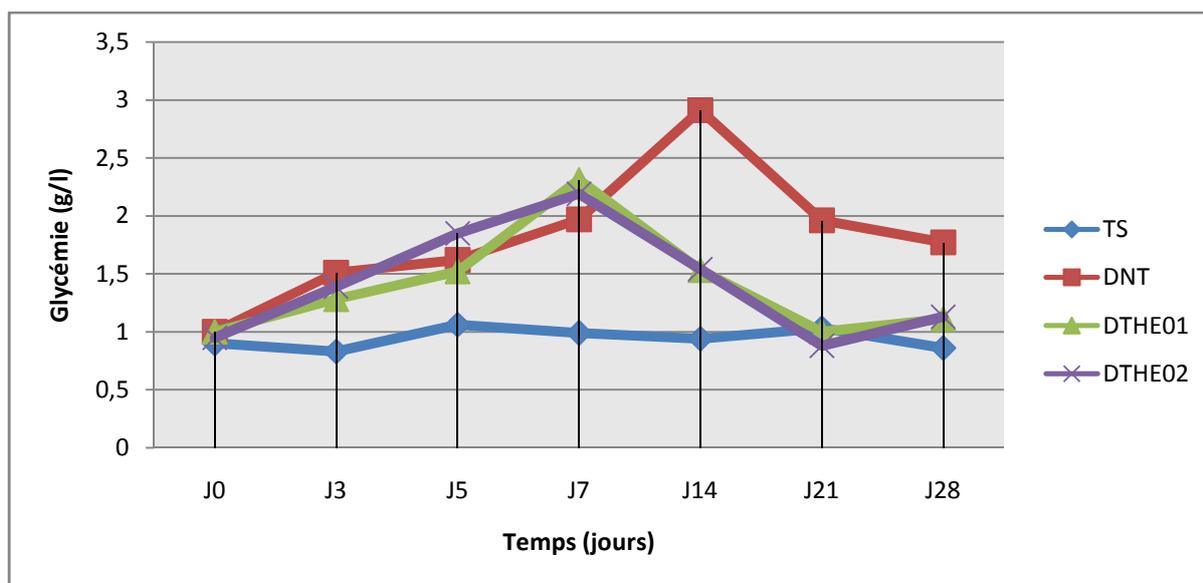
### III-3- Résultats de l'effet hypoglycémiant des huiles essentielles du Romarin

#### III-3-1- Suivi de la glycémie des souris

Le suivi de la glycémie nous a donné les résultats représentés en fonction du moyenne  $\pm$  écart-type des différents lots des souris. Le **tableau 17** et la **Fig. 21** montrent les résultats des mesures de la glycémie.

**Tableau 17** : Moyennes de la glycémie en g/l selon les lots des souris.

	J <sub>0</sub>	J <sub>3</sub>	J <sub>5</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>14</sub>	J <sub>21</sub>	J <sub>28</sub>
<b>TS</b>	0,90 $\pm$ 0,09	0,83 $\pm$ 0,15	1,06 $\pm$ 0,14	0,99 $\pm$ 0,17	0,94 $\pm$ 0,05	1,03 $\pm$ 0,14	0,86 $\pm$ 0,28
<b>DNT</b>	1,00 $\pm$ 0,21	1,51 $\pm$ 0,21	1,62 $\pm$ 1,16	1,97 $\pm$ 0,28	2,91 $\pm$ 0,04	1,96 $\pm$ 0,09	1,77 $\pm$ 0,26
<b>DT<sub>HE 01</sub></b>	1 $\pm$ 0,27	1,28 $\pm$ 0,12	1,52 $\pm$ 0,67	2,31 $\pm$ 0,35	1,53 $\pm$ 0,27	1 $\pm$ 0,15 49%	1,11 $\pm$ 0,12
<b>DT<sub>HE 02</sub></b>	0,95 $\pm$ 0,21	1,39 $\pm$ 0,24	1,85 $\pm$ 0,09	2,19 $\pm$ 0,29	1,54 $\pm$ 0,44	0,88 $\pm$ 0,2 55%	1,13 $\pm$ 0,21



**Figure 21** : Variation de la glycémie (g/l) des 4 lots de souris en fonction du temps.

D'après le tableau 17 et la figure 21, nous avons remarqué :

Pour les souris du lot TS, nous n'avons remarqué aucun changement significatif de la glycémie durant toute la période d'expérimentation. Celle-ci reste dans les limites normales.

A J<sub>0</sub> la glycémie chez les souris des quatre lots est normale d'une moyenne de  $0,96 \pm 0,19$  g/l. Après une semaine d'injection de l'agent diabétogène «alloxane», on note une hyperglycémie chez toutes les souris à une valeur comprise entre  $1,97 \pm 0,28$  g/l à  $2,31 \pm 0,35$  g/l. Par contre les souris du lot DNT, on note une augmentation significative de la glycémie par rapport à la glycémie du lot TS ; cette augmentation est importante qui atteint une valeur de  $2,91 \pm 0,04$  g/l. Cette hyperglycémie ne peut s'expliquer que par une baisse de la sécrétion de l'insuline (Venkateswaram et Pari, 2002).

Des observations similaires ont été rapportées par plusieurs auteurs, en effet Herrera et al. (2011) ; Ibeh et Ezeaja (2011) ont remarqué qu'après une semaine de l'injection de l'alloxane la glycémie des rats a augmenté respectivement de 30 % et 40 %, tandis que pour Mahendran et al. (2010) la glycémie des rats rendus diabétiques a évolué de 52 % après trois semaines de l'injection. Ceci prouve que l'alloxane a induit chez ces animaux une hyperglycémie traduisant un diabète expérimental suite à une nécrose partielle des cellules  $\beta$  (Lenzen, 2008). Ceci explique qu'il existe une similitude avec nos résultats.

L'hyperglycémie est la manifestation clinique clé du diabète sucré (**Prakasam et al., 2005**), deux mécanismes fondamentaux qui causerait une hyperglycémie l'ors d'un diabète, d'une part par un mécanisme de surproduction (excès de la néoglucogenèse et la glycolyse) d'autre part par la diminution de l'utilisation du glucose par les tissus périphériques (**Shirwaikar et al., 2004**).

Chez les souris des deux lots diabétiques traité «DT<sub>HE 01</sub> et DT<sub>HE 02</sub>», l'instauration du traitement de l'HE à la même dose (250µl/kg) a permis une diminution progressive de leurs glycémie passant de 1,53±0,27 g/l et 1,54±0,44 g/l au début du traitement (J<sub>14</sub>) jusqu'à 1±0,15 g/l et 0,88±0,2 g/l à la fin du traitement (J<sub>21</sub>) respectivement ; cette réduction est de l'ordre de 49% et 55% respectivement de manière significative (p<0,05). A J<sub>28</sub> (troisième semaine du traitement) la glycémie est atteindre la valeur normale : 1,11±0,12 g/l et 1,13±0,21 g/l respectivement.

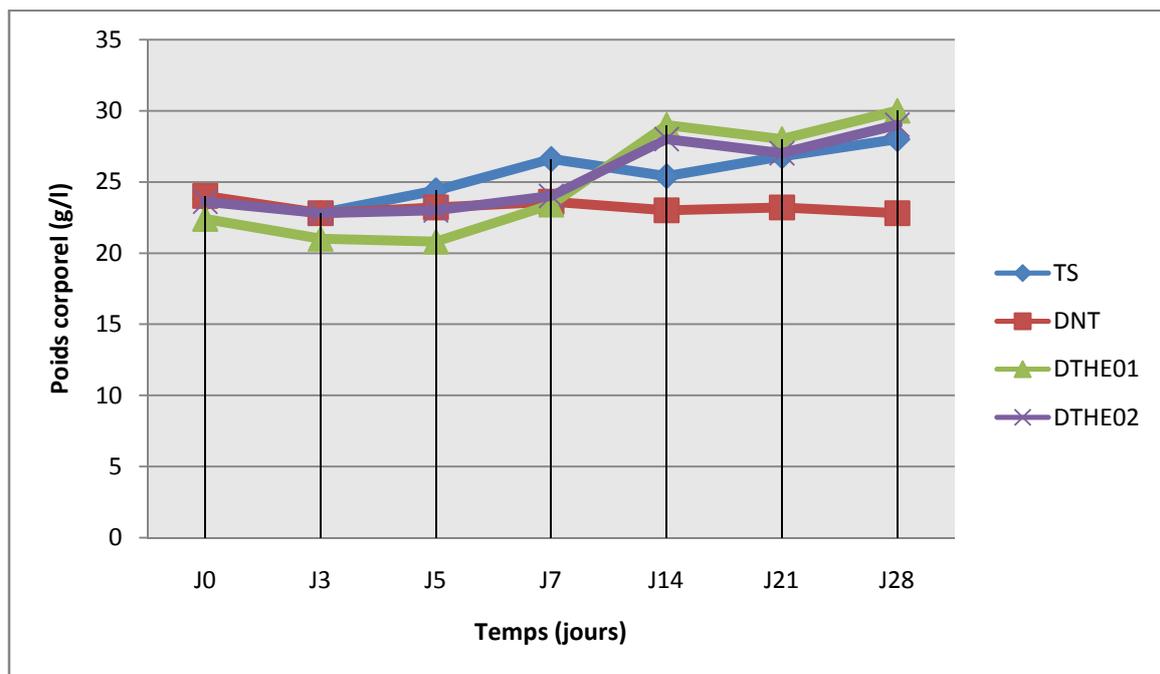
Si on compare les lots traités, nous constatons que les deux lots «DT<sub>HE 01</sub> et DT<sub>HE 02</sub>» présentent une diminution de la glycémie 1g/l et 0,88g/l respectivement à une différence statistiquement non significative. Par ailleurs, nous avons observé que ces lots ont une glycémie qui décroît progressivement comparés au lot DNT ; cependant elle reste supérieure à celle du lot TS (différence statistiquement non significative).

### **III-3-2- Évolution du poids corporel des souris**

Le suivi régulier des animaux durant vingt-huit jours nous a amenés à obtenir les valeurs relatives, voir tableaux ci-dessous :

**Tableau 18** : Moyennes du poids corporel en g selon les lots des souris.

	J <sub>0</sub>	J <sub>3</sub>	J <sub>5</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>14</sub>	J <sub>21</sub>	J <sub>28</sub>
<b>TS</b>	23,8±1,10	22,8±1,41	24,4±2,58	26,6±1,41	25,4±1,85	26,8±1,67	28±1,41
<b>DNT</b>	24±1,26	22,8±1,41	23,2±0,75	23,6±0,89	23±1,16	23,2±0,4	22,8±1,02
<b>DT<sub>HE 01</sub></b>	22,4±1,5	21±1,67	20±0,77	22±3,16	29±2,33	28±3,41	30±1,48
<b>DT<sub>HE 02</sub></b>	23,6±0,8	21,4±0,74	23±0,41	25±2,1	28±1,67	27±1,9	29±1,94



**Figure 22** : Evolution du poids corporel (g) des 4 lots des souris en fonction du temps.

Les valeurs moyennes du poids corporel des souris du lot **TS** passent de 23±1,10 g en début d'expérimentation à 29±1,41g a la fin d'expérimentation. Les animaux du lot témoin ont présenté un gain de poids corporel lié à une croissance normale des souris.

A J<sub>0</sub> le poids corporel des souris des quatre lots ont présentés une valeur moyenne de 23±1,17g. Tandis que l'injection intrapéritonéale de l'alloxane «induction du diabète»

pendant la 1<sup>ère</sup> semaine à entraîné une chute significatif à des valeurs comprise entre 20,08g et 21g.

Une diminution progressive du poids corporel chez les souris du lot **DNT** par rapport au lot **TS**, ce qui semble tout à fait normal. Cette baisse est significative ( $p < 0,05$ ) à partir du J<sub>7</sub> 21,2 g et persiste jusqu'à la fin de l'expérimentation 21g.

Ces lots de souris diabétiques présentent une diminution continue des poids corporels qui s'accroît au cours de l'expérimentation. Cette perte de poids des diabétiques est due au catabolisme, plus particulièrement des lipides par lipolyse des tissus adipeux suite à l'insulinodéficience (**Vats et al., 2004; Oliveira et al., 2008**).

La diminution du poids corporel dans le diabète sucré est généralement attribuée à la stimulation de la gluconéogenèse. En effet l'accélération du catabolisme des protéines et des graisses, entraîne une perte caractéristique de poids du corps après à une augmentation de l'atrophie musculaire et de la perte de protéines tissulaires (**Daisy et al., 2012**).

Nos résultats sont en accord avec ceux apportés par (**Auroba et Nibras, 2010**), qui l'ont constaté sur le diabète induit par l'alloxane, est caractérisée par une perte importante du poids corporel.

De même (**Omari et al., 2011**), ont eux aussi enregistré des résultats similaires et suggèrent que la perte de poids corporel, peut être due aux actions lipolytiques exercées par les glucocorticoïdes sur le tissu adipeux, en plus de l'accélération de la lipolyse, les glucocorticoïdes potentialisent la protéolyse et stimulent la néoglucogenèse, ces actions métaboliques sont probablement liées à la déficience en insuline qui est une hormone lipogénique.

Cependant les deux lots traités par la plante du romarin (**DT<sub>HE</sub> 01** et **DT<sub>HE</sub> 02**), l'introduction du traitement de l'HE à la même dose (250µl/kg) a conduit à une augmentation de leur poids corporel dès la 1<sup>ère</sup> semaine du traitement jusqu'à la fin d'expérimentation donc les souris de ces lots reprennent le poids progressivement.

L'amélioration des poids corporels des deux lots traités par les deux doses de la plante pourrait être expliquée par le pouvoir de la plante à restaurer le stock en triglycérides, grâce à

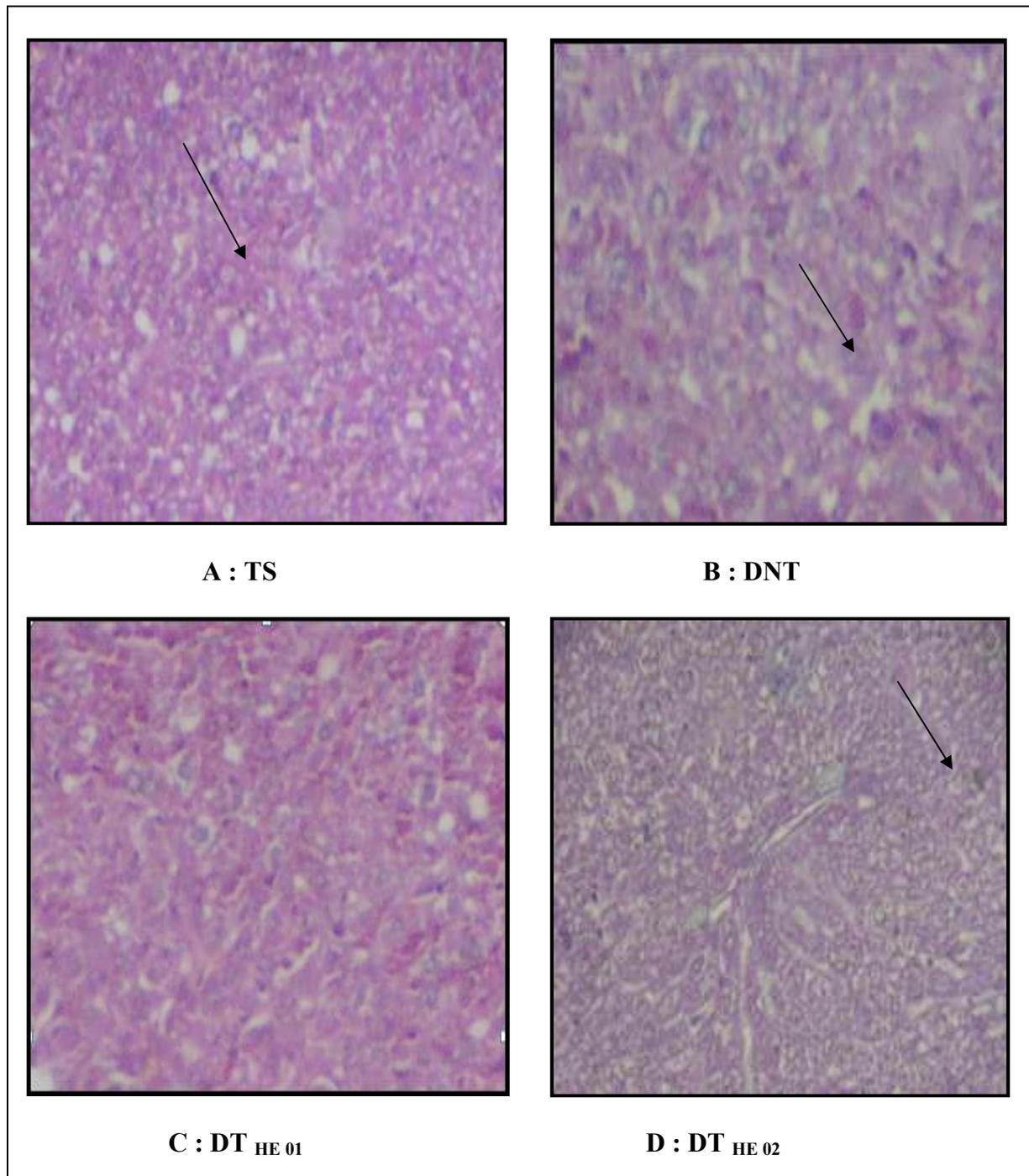
l'amélioration de l'insulinosécrétion et de la glycémie observée par (Farnier, 2002; Babu et al., 2007).

### III-3-3- Etude histologique des organes

Les observations microscopiques des coupes du foie des souris de tous les lots étudiés pendant 28 jours ne révèlent aucune modification cellulaire visible (aucune anomalie) par comparaison au lot *TS* (figure 23).

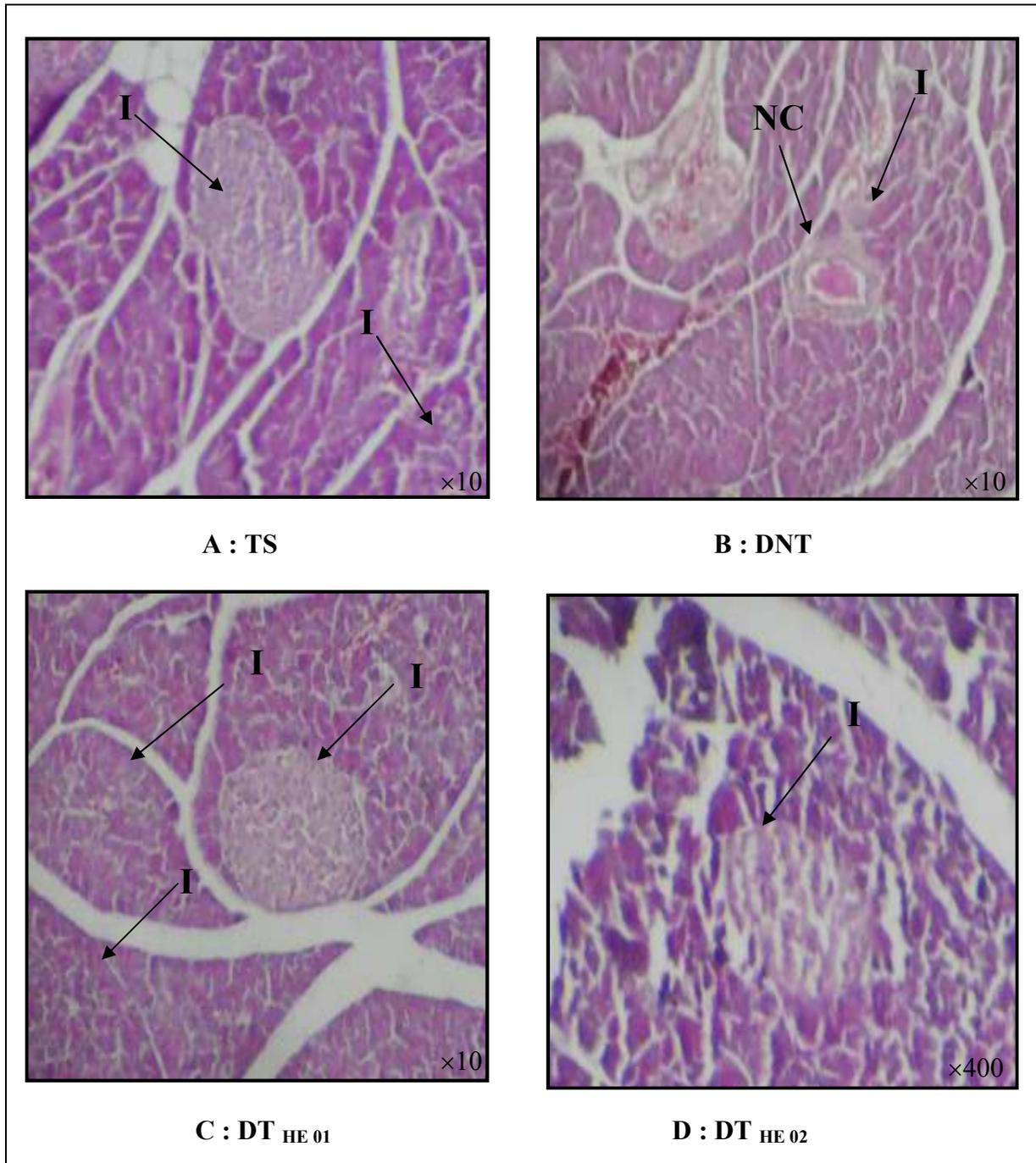
Néanmoins, l'observation microscopique du pancréas montre une destruction des cellules des îlots de Langerhans du lot diabétiques non traité *DNT*. Ces îlots sont d'aspect diffus, moins délimité, d'une diminution du nombre des îlots de langerhans par champ microscopique et présentent quelques nécroses cellulaires que celui du lot *TS* (figure 24). La destruction de certaines cellules de Langerhans expliquerait le taux réduit de l'insuline observé chez ce lot (Halimi et al., 2008).

Les coupes histologiques du pancréas des deux lots traités par les HE «*DT<sub>HE</sub> 01* et *DT<sub>HE</sub> 02* » présentent des îlots de Langerhans mieux délimités avec très peu de nécroses cellulaires par comparaison avec le lot *DNT*, donc la supplémentation du romarin a protégé les îlots de langerhans des radicaux libres générés par l'alloxane. Cela pourrait signifier que les deux doses de la plante ont « restauré » la sécrétion de l'insuline en « régénérant » les cellules  $\beta$  de Langerhans détruites par l'alloxane (West, 2000).



→ CHN: Cellules hépatiques normales.

**Figure 23** : Coupes histologiques du foie d'une souris représentative de chaque lot étudié.



I : Ilot de Langerhans

NC : Nécrose cellulaire

**Figure 24 :** Coupes histologiques du pancréas d'une souris représentative de chaque lot étudié.

Une étude analogue a été réalisée par **Chakravarathy et al., 1981; Kolb et al., 1982; Hii et Howell, 1984; Perez et al., 1998**. Cet effet régénérateur des ilots observé pourrait être dû à la présence des composés antidiabétiques révélés par l'étude phytochimique. En effet il

a été rapporté que l'**épicatechine**, de la famille des flavonoïdes très fréquente dans les aubépines et extraite d'écorce d'une plante *Pterocarpus marsupium* (Fabacées), avait la faculté de régénérer les cellules  $\beta$  de Langerhans et donc de restaurer la sécrétion d'insuline chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane.

Une étude analogue a été réalisée par **(Belmouhoub et al., 2017)** sur des souris rendues diabétique par la streptozotocine a signalé que les flavonoïdes de *R.officinalis* possèdent un effet hypoglycémiant puissant. Aussi, les flavonoïdes de *R. officinalis* comme les flavonoïdes des autre plantes peuvent agir par des multiples mécanismes d'action tels que : la prévention de la destruction des cellules  $\beta$  pancréatiques, amélioration de l'utilisation de la glycémie périphérique, l'augmentation de la libération d'insuline et amélioration du stockage de glycémie dans le foie. De plus, les flavonoïdes sont connus pour régénérer les cellules  $\beta$  endommagées chez les rats et les souris rendus diabétiques par la streptozotocine. Son étude histopathologique du pancréas clairement démontré que les deux fractions (riches en flavonoïdes) ont régénérées les cellules  $\beta$  pancréatiques.

*Conclusion*

## Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

L'objectif de notre travail consiste à faire une étude de pouvoir antimicrobienne, les propriétés physico-chimique et analyse des composants chimique et enfin contrôle de l'effet hypoglycémiant d'huile essentielle de *R.officinalis* de deux région d'Algérie (Cherchell et Khenchela).

Les résultats obtenus montrent que les huiles essentielles de Romarin extrait par entrainement à la vapeur ont des propriétés physicochimiques (la densité, l'indice de réfraction, indice d'acide ...) et des composants chimiques majoritaire riche en (cineole,  $\alpha$ -pinene, camphene) avec des % différentes selon plusieurs facteur : facteur environnemental, nature de sol, période de récolte, méthode d'extraction ... sont conformes aux normes AFNOR.

De même que l'activité biologique de l'huile du Romarin a donné un pouvoir antibactérien très important surtout sur *Escherichia coli* (DZD : 12mm), *S.aureus* (DZD : 9mm).

Ainsi pour le control de l'effet hypoglycémiant, l'HE de romarin a un rôle déterminé dans la diminution du taux de glucose dans le sang chez des souris diabétique par l'alloxane traité par l'HE 01 et par l'HE 02.

L'observation microscopique de coupes de pancréas montre que seules les cellules des îlots de Langerhans sont détruites alors que les acini sont intacts.

Cette étude comparative de la composition des produits obtenus, à partir de l'extraction par entrainement à la vapeur de *Rosmarinus officinalis L.* cueilli de la région de Cherchell, et l'autre au sein du Khenchela, montre une légère différence qualitative qui dépend de plusieurs factures.

L'étude de l'activité antibactérienne de ces huiles essentielles de romarin sur des souches de bactéries gram positif et gram négatif montre que ces huiles possèdent une activité antibactérienne surtout contre le *S. aureus*, et *E. coli*.

A la base de résultats trouvés on peut conclure que nos huiles essentielles peuvent servir comme base de lutte biologique.

Comme perspective dans la continuité de ce travail, il serait intéressant de :

- ❖ Réaliser une éventuelle activité antimicrobienne sur une large gamme de microorganisme.
- ❖ Notre travail aurait été complet par une étude d'immunofluorescence qui nous aurait permis de cibler et de certifier ainsi sur nos animaux l'effet sélectif de l'alloxane sur les cellules  $\beta$ .
- ❖ Cette étude reste préliminaire et plus superficielle, donc, elle nécessite d'autres études approfondies pour mieux se concentrer sur les effets révélés. Même des études à l'échelle moléculaire sont nécessaires pour déterminer les mécanismes régissant l'effet diabétogène de l'alloxane.

*Références  
bibliographiques*

-A-

- **Abrassart, J.L., 1992.** Guide pratique d'aromathérapie : usages et biens faits des huiles essentielles des plantes. Ed .Masson.95-98.
- **ADA (American Diabetes Association), 1997.** Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care; 21 (sup.1): 5-19.
- **Ader J., et Carré F., (2006).** Physiologie Générale. Ed : Masson Elsevier. Paris, 02. P : 271/433.
- **AFNOR., 2000.** “ Recueil de normes : les huiles essentielles ”. Tome 1. Echantillonnage et méthodes d'analyse. AFNOR, Paris, p 440.
- **AFNOR., 2005.** Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1 – Echantillonnage et méthode d'analyse 471 P. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles Tome 2 – Volume 2 Monographie relative aux huiles essentielles 663 P.
- **AFSSAPS, (2008).** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles ; bd Anatole France - F-93285 Saint-Denis cedex ; 143/147
- **Aggarwal B.B et Ajaikumar B. K., (2009).** “Molecular targets and therapeutic uses of spices”, Modern Uses for Ancient Medicine, Ed. word scientific, 430p.
- **Al-Jamal AR, Alqadi T (2011)** Effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on lipid profile of diabetic rats. Jordan J Biol Sci 4:199–204
- **Almela L., Sanchez-Munoz B., Farnandez-Lopez J.A., Rocaa M.J. et Rabea V., (2006).** Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of phenolic and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. Journal of Chromatography A, 1120, 221-229.
- **Alnahdi HS (2012)** Effect of *Rosmarinus officinalis* extract on some cardiac enzymes of streptozotocin-induced diabetic rats. J Health Sci 2:33–7
- **Amadou A.** Étude d'une recette traditionnelle, des écorces de tronc de *Sclerocarya birrea* hosch et d'*Uapaca togoensis* pax utilisées dans le traitement du diabète. Thèse de Doctorat. Université de Bamako. 2006.
- **Anonyme, 2002:** Pharmacopée européenne.
- **Anonyme, 2008 :** Pharmacopée européenne 6<sup>ème</sup> édition. Tome 1 et 2. 2008
- **Anton R., Lobestein A., (2005).** Plantes aromatiques, Edition Tec et Doc Paris.
- **Anwar F., Ali M., Hussain AI. and Shahid M., 2009.** Antioxidant and antimicrobial activities of essential oils and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Pakistan. Flavour and Fragrance Journal. 24: 170-176.

- **Athamena.S ., 2009.** « Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique »; mémoire de magistère ; université d'El hadj Lakhdar de Batna
- **Atik Bekkara F., Bousmaha L., Taleb Bendiab S.A., Boti J.B. et Casanova J., 2007.** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé.*, 7: 6-11.
- **Auroba M ., Nibras N .** Study Antidiabetic Effect of *Momordica Charantia* (bitter gourd) seeds on Alloxan Induced Diabetic Rats. *Iraqi Journal of Veterinary Medicine.*2010; 34(1) :165-170.
- **Ayadi S., Jerribi C. and Abderrabba M., 2011.** Extraction et étude des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* cueillie dans trois régions différentes de la Tunisie. *J. Soc. Alger. Chim.*, 21 (1): 25-33.

-B-

- **Baba Aissa F ., (1991).** « Encyclopédie des plantes utiles » : (flore d'Algérie et du Maghreb). Copyright librairie, Alger. pp 368.
- **Baba Aissa F ., (1999).** « Encyclopédie des plantes utiles» Ed librairie Moderne Alger p : 171-173.
- **Babu, P.S., Prabuseenivansan, S., Ignacimuthus, S., (2007).** *Cinnamaldehyde – A potential antidiabetic agent.* *Phytomedicine* 14: 15-22.
- **Bakirel T., Bakirel U., Keles O.U., Ulgen S.G. et Yardibi H., (2008).** In vivo assessment of antidiabetic and antioxydant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 64-73.
- **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008).** Biological effects of essential oils- A review. *Food Chem Toxicol* ;Vol 46 ; p: 446-475.
- **Bauer A.W., Kirby M.M., Sherris J.C., and Turck M., 1966.** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single discs method by the American society of clinical pathologists. Vol 36, N°3 p 493.
- **Begum A., Sandhya S., Shaffath A. S., Vinod K. R., Reddy S. et Banji D., (2013).** “An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae)”. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, V. 12, n°1, 61-73.
- **Bekkara F.A., Bousmaha L., Bendiab S.A.T., Boti J.B. et Casanova J., (2006).** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie et Santé*, 7(1), 6-11.

- **Belaïche P. (1979).** Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie. Tome I. l' "Aromathérapie. Ed. Maloine S.A. Paris.
- **Belghiti J., Bernades P., et Zerbib E., (2001).** Pathologie Du Pancréas Exocrine: Isotopes. Ed : Doin. France. P : 156/ 362.
- **Belhadi, (2010).** Mémoire Master Académique, Université KASDI MERBAH – OUARGLA – Lutte biologique par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Mme : FROUHAT. Z. Melle : LAHCINI B
- **Belmouhoub M., Chebout I., Iguer-ouada M., (2017).** Antidiabetic and anti hypercholesterolemic effects of flavonoid-rich fractions of *Rosmarinus officinalis* in streptozotocin-induced diabetes in mice. Pharmacognosie. Ed, Lavoisier SAS, p 1-7.
- **Benammar E.** L'insulinothérapie chez les diabétiques de type 2. Thèse de Doctorat. Université Joseph. 2009.
- **Benamor, Haddad (1993) :** Extraction des essences des aiguilles du cèdre de l'Atlas. P, F, E, E.N.P.
- **Benhabiles NEH. and Aït Ammar H., 2001.** Comparative study of Algeria's *Rosmarinus eriocalys* and *Rosmarinus officinalis*. Perfumer & Flavorist. 26: 40 – 48.
- **Benini C., Danflous J-P., Wathelet J-P., Jardin P., et Fauconnier., 2010.** L'ylang-ylang [*Cananga odorata* (Lam.) Hook.f. & Thomson] : une plante à huile essentielle méconnue dans une filière en danger. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement *BASE*, Vol 14, N°4, 693-705.
- **Beniston NT., WS., (2000).** « fleur d'algie ». Entreprise nationale du livre 3eme Ed. 18823/98 p 48-54-300.
- **Bentchicou A., (1999).** Extraction, caractérisation et analyse de l'huile essentielle de thym d'Algérie par chromatographie en phase gazeuse (CPG); *Thèse d'ingénieur* ; Univ. Médéa.
- **Bertini LM., Pereira AF., Oliveira CLL., Menezes EA., Morais SM., Cunha FA., Cavalcanti ESB., 2005.** Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. *Infarma*. 17:80-83.
- **Botineau M., (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs ; Ed. TEC et DOC, Lavoisier, Paris. P : 1021-1043
- **Boukhatem M. N., Hamaidi M .S., Saidi F. & Hakim Y.,** "Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie)", *Revue Nature et Technologie*, n° 03, (2010), 37-45.

- **Boullard., Boudjemaa N et Ben Guegua H., (2010).** L'effet antibactérien de *Nigella Sativa*. Université Kasdi Merbah Ouargla.
- **Boumaza A. (2009).** Effet de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum* coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Mémoire de Magister en Biologie cellulaire et moléculaire. Université Mentouri, Constantine. Pp. 30-32.
- **Bousbia N., Vian M.A., Ferhat M.A., Petitcolas E., Meklati B.Y., Chemat F., 2008.** Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food Chem.* 14, 355-362.
- **Boutekdjiret C., Bentahar F., Belabbes R. and Bessiere J.M., 1998.** The essential oil from *Rosmarinus officinalis L.* in Algeria. *Journal of Essential Oil Research.*, 10: 680-682.
- **Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M., M. M. Chaabouni M.M., 2008.** Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phœnicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 10 : 119-125.
- **Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, et al (2007)** Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis L.* and *Salvia officinalis L.*, Lamiaceae) essential oils. *J Agric Food Chem* 55:7879–85
- **Brian, (1995) et Hernandez, (2005).** Substitution de solvants et de matières actives de synthèses par combine « solvants / Actif » .D'origine végétale. Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse .France
- **Brian L. Mealey, DDS, MS.** Periodontal disease and diabetes A two-way street. *American Dental Association.* 2006, 137 :265-315 .
- **Bruneton J., (1993).** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. Edition. Technique et documentaire, 3eme édition. 484, 489, 548, 555,634 p.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3ème éd.). Paris : Editions médicales internationales. Edition Tec & Doc Lavoisier. Pp : 1120.
- **Bruni U., Cortesi N., Fiorino P. (1994).** « influence des techniques culturales, des cultivars et des zones d'origine sur les caracteres de l'huile d'olive vierge et les niveaux de certains de ces composants (mineurs) ». *Rev. Olivae*, 53, p 28-34».
- **Buysschaert M et Hermans M.P ; 1998.** Critères révisés et nouvelle classification du diabètes sucré. *Louvin MED*; 117: 1-6.

- **Caillet S et Lacroix M ., 2007.** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de recherche en Sciences appliquées à l'alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand- Frappier, université de Laval (Québec).
- **Canillac N. et Mourey A., 2001.** Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excels* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiol*; **18**: pp. 261-268.
- **Carson C.F., Hammer A., Riley T.V., 2006.** *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties .*Clin. Microbiol. Rev* 19(1): 50-62.
- **Carvalto, E.N., Carvalto, N.A.S., Ferreira, L.M., (2003).** *Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats.* *Acta Cir Bras* **8**: 60-64.
- **Celiktas O.Y., Kocabas E.E.H., Bedir E., Sukan F.V., Ozek T., Baser K.H.C., 2007.** Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem.* 100, 553-559.
- **Chakravarthy, B.K., Gupta, S., Gambhir, S.S., Gode, K.D., (1981).** *Pancreatic beta cell regeneration in rats by (-) epicatechin.* Ed. Lancet, Angleterre, pp: 273-759.
- **Christophe Porcher.** Physiologie des régulations. [En ligne]. [<http://biologie.univ-mrs.fr>] (Consulté le 24/6/2014).
- **Cicolella A ., Nalbone G ., Laot-Cabon S.** Evaluation du lien entre environnement chimique , obésité et diabète (Projet ECOD). la Fédération Nationale de la Mutualité Française. **2012**.
- **Colombo RP., Martíneza AE., di Pardo AF., Bidondo LF., Van Baren C., Di Leo Lira P., Godeas AM., 2013.** Differential effects of two strains of *Rhizophagus intraradices* on dry biomass and essential oil yield and composition in *Calamintha nepeta*. *Rev. Argent. Microbiol.* 45: 114-118.
- **Couic-Marinier F., Lobstein A. (2013).** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques* 2013; 52 (525) : 18-21.

-D-

- **Daisy P., Feril G., KANI J.** Evaluation of antidiabetic activity of various extracts of *cassia auriculata* linn. Bark on streptozotocin induced diabetic wistar rats. *Int J Pharm Pharm Sci.***2012.** 4 (4):312-318.

- **Dummortier D., 2006.** Contribution à l'amélioration de la qualité de l'huile essentielle d'ylangylang (*Cananga odorata* (Lamarck) J.D. Hooker et Thomson, variété genuina) des Comores - Mémoire de fin d'étude - Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux (Belgique).
- **Deans, S. et Svoboda, K.P. 1990.** The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum majorana* L.) volatile oil. *Flavour and Fragrance J.* 5(3):187–190.
- **Deba F., Xuan T.D., Yasuda M. & Tawata S.,** “Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn.”, *Var Radiata. Food Control*, V.19 (2008), pp. 346–352.
- **Degryse A.C., et al., (2008).** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement -IGS-EHESP*, 87p
- **Derwich E., Benziane Z. et Boukir A., (2010).** GC/MS Analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* grown in Morocco; *Res. J. Agric. & Biol. Sci.*, 6 (3):pp. 191-198.
- **Didier M J, Marie p. (2007).** « les plantes comestibles » France P 28.
- **Drouin P, Blickle JF, Charbonnel B, Eschwege E, Guillausseau PJ, Daninos JM, Balarac N, Sauvanet JP. (1999).** Diagnostic et classification du diabète sucré. Les nouveaux critères. *Diabète et Métabolisme*. Paris, 25(1) : 72-83.
- **Drowin J, Bérengère A, Paul Goetz M., (2003).** Les médecines de la nature. 200 plantes pour se soigner. *Reader's Digest*, Montréal Paris, pp315.

### -E-

- **El Haib, A.R. (2011).** Valorisation de terpenes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques, Doctorat en Chimie organique et catalyse, Université De Toulouse. p 10, 12, 15.
- **El Kalamouni C., (2010).** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits aromatiques oubliés de Midi- Pyrénées ; *thèse de doctorat* ; université de Toulouse.
- **Encyclopédie encarta, 2004**
- **Escott, harlein, klein (2006).** *Microbiologie*. 2<sup>ème</sup> édition française, de boek, P 2.

### -F-

- **Farhat A.,(2010).** Vapo-Diffusion assistée par Micro-ondes : Conception, Optimisation et Application. Université d'Avignon et des pays de Vaucluse, 136p.
- **Farnier, M., (2002).** *Dyslipidemies du diabétique*. Ed. Jhon Libbey, Paris, p: 21, 22.

- **Fellah S., Romdhane M., Abderrabba M., 2006.** Extraction et étude des huiles essentielles de la *salvia officinalis* L. cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. J.Soc.Alger.Chim, 16(2), 193-202.
- **Fernández L.F., Palomino O.M., Frutos G.,** “Effectiveness of *Rosmarinus officinalis* essential oil as antihypotensive agent in primary hypotensive patients and its influence on health-related quality of life” Journal of Ethnopharmacology, V. 151, n° 1, (January 2014), 509–516.
- **Fauconnier M-L., 2006.** Huile essentielle d’Ylang-ylang : sa fiche qualité et son suivi de distillation- Exposé pour le GIE Maison des Epices des Comores.
- **Frag, R.S. Daw, Z.Y. Hewedi, F.M. et El Baroty, G.S. 1989.** Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils Journal of food protection 59:665–667.

### -G-

- **Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A. et Rasooli I., (2007).** Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*, 102, 898-904.
- **Gende LB., Mendiara S., Fernández NJ., Van Baren C., Di Leo Lira A., Bandoni A., Fritz R., Floris I., Eguaras M., 2014.** Essentials oils of some *Mentha* spp. and their relation with antimicrobial activity against *Paenibacillus* larvae, the causative agent of American foulbrood in honey bees, by using the bioautography technique. *Bull. Insect.* 67 (1): 13-20.
- **Gildo P., 2006.** Précis de phytothérapie, Larousse Encyclopédie MEMO, Edition Alpen, p 3-4.
- **Gillespie KM ., Bingley p.** The Mechanisms Underlying Beta Cell Replication in Type 1 diabetes. SOCS PhD Scholarship Application .2012.
- **Gilly G. 2005.** Les plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse. Edition l'Harmattan, 251-253 pp, Paris.
- **Gonzalez-Trujano M.E., Pena E.I., Martinez A.L., Moreno J., Guevara-Fefer P., Deciga-Campos M. et Lopez-Munoz F.J., (2007).** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 111, 476-482.
- **Grimaldi A, 2005 :** « Guide pratique du diabète » 3<sup>ème</sup> Ed, Masson, Paris P 1-7.

- **Guesmi, A., Boudabous, A. (2006)** Activité antimicrobienne de cinq huiles essentielles associées dans les produits de thalassothérapie. *Revue des Régions Arides*. Numéro spécial : 224-230.
- **Guinard, J.L. (1996)**. Biochimie végétale. Masson, Paris, 255

-H-

- **Halimi S, Rostoker G, Altman JJ, Attali C. (1999)**. Traitement médicamenteux du diabète de type 2. Agence française de sécurité des produits de santé. Recommandation de bonne pratique : 13-19.
- **Halimi, S., Debaty, I., Villaret, L., Muller, M., (2008)**. *Les nouveaux traitements du diabète de type 2: quelle place pour les incretines et le rimonabant par rapport aux précédents*. La Revue Médecine Interne **29**: 881-890.
- **Hameurlaine S., (2009)**. Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes *Pituranthos scoparius* et *Rhantherium adpressum* de la région de Ghardaia; *mémoire de magister*; Univ. Kasdi Merbah-Ouargla.
- **Hashemi M., Dostar Y., Rohani S., Saraji A., Bayat M.** Influence of Aloxanes on the Apoptosis of Pancreas B-Cells of Rat. *World Journal of Medical Sciences* . **2009** ; 4 (2): 70-73.
- **Hcini K., Sotomayor J.A., Jordán M.J. and Bouzid S., 2013**. Chemical Composition of the Essential Oil of Rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) of Tunisian Origin. *Asian Journal of Chemistry*, 25 (5): 2601-2603
- **Hellal, Z. (2011)**. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*), Magister en BIOLOGIE Option : Biochimie Appliquée et Biotechnologies, Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou. p 8, 9, 10,12.
- **Hennen G., (2001)**. Endocrinologie, préface de philippe Bouchard. 1<sup>er</sup> Ed, p501.
- **Henrich.,(2006)**. Ethnobotany and Flavonoids-potent and versatile.
- **Herouini A., Kemassi A et Ould El Hadj M.D., 2015**. Etude de l'activité biologique des extraits aqueux d'*Euphorbia guyoniana* (Euphorbiaceae) récoltée dans Oued Sebseb (Sahara Algérien). *ElWahat pour les Recherches et les Etudes*. Vol.8 n°2 : P 15 – 25
- **Herrera C, García-Barrantes PM, Binns F, Vargas M, Poveda L, Badilla S., 2011**. Hypoglycemic and antihyperglycemic effect of *Witheringia solanaceain* normal and alloxan induced hyperglycemic rats, *Journal of Ethnopharmacology* 133 ; 907–910.

- **Hii, C.S.T., Howell, S.L., (1984).** *Effect of epicatechin on rat islets on Langerhans.* Diabetes **33**: 291-296.
- **Hilan C., Sfeir R., Jawish D., et Aitour A., 2006.** Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des *lamiaceae*. Lebanese Science Journal, Vol. 7, No. 2, pp 13-22.
- **Hubert R., (2007).** Les plantes aromatique et huiles essentielles à Grasse, Quatrième partie : les Lamiacée, Les basilics’’*Ocimum ssp*’’, ‘’Botanique- culture-chimie-production et marché’’ ; Ed. L’Harmattan, France (paris) ; P : 414
- **Hussain AI., 2009.** Characterization and biological activities of essential oils of some species of *Lamiaceae*. Thèse de Doctorat. Pakistan. 257p.

-I-

- **Ibeh BO., Ezeaja MI., 2011.** Preliminary study of antidiabetic activity of the methanolic leaf extracts of *Axonopus compressus* (P.Beauv) in alloxan-induced diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology **138**: 713-716.
- **Imelouane B., Tahri M., Ankit M., Khdid K., Amhamdi H., Dubois J., Elbachiri A., 2010.** The essential oil of eastern moroccan *Rosmarinus officinalis*: chemical composition, in-vitro antimicrobial and antioxidant activities. Rev. Microbiol. Indig. Sant. Environ, Vol 4, 120-141.
- **ISO 709: 2001.** Huiles essentielles - Détermination de l'indice d'acide. NF T 75-104 : 1994.

-J-

- **Jaïdane H ., Goffard A., Gharbi j ., Hober d .** Vers une meilleure compréhension de la relation entre entérovirus et diabète de type 1. *Virologie* **2008**, *12 (3)* : 187-200.
- **Jekka McVicar, Le grand livre des Herbes, 2006**
- **Jordán M.J., Lax V., Rota M.C. and Sotomayor J.A., 2013a.** Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. Food Control, **30 (2)**: 463-468.
- **Jordán M.J., Lax V., Rota M.C., Lorán S. & Sotomayor J. A., 2013b.** “Effect of the phenological stage on the chemical composition, and antimicrobial and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and its polyphenolic extract”, Industrial Crops and Products, **V.48**: 144– 152.

-K-

- **Kaloustian J., Portugal H., Pauli A.M. & Pastor J., 2002-** Chemical, Chromatographic and Thermal Analysis of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*). *J. Appl. Polym. Sci.*, 83: 747-756.
- **Kanko C., Sawaliho B.E., Kone S., Koukoua G. & N'guessan Y.T., (2004).** “Etude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*”, *Comptes rendus Chimie*, V. 7, ,1039-1042.
- **Kateb J., (1989).** Le travail sur la culture des plantes médicinales. Ed. Masson; Paris.
- **Kazemi M., Rostami H., and Ameri A., 2012.** “The study of compositions and Antimicrobial Properties of Essential oil of *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* on Human Pathogens”. *C.R.B.*, V. 5, n°1: 1-12.
- **Khia A., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Aberchane M., Quaboul B., Amusant N. et Charrouf Z., 2014.** Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L.* du Maroc. *Phytothérapie*, 12 (6): 341-347
- **Kolb, H., Kiesel, H., Greulich, B., Vander Bosh, J., (1982).** *Lack of antidiabetic effect of (-) epicatechin.* *Lancet* 1: 1303-1304.
- **Kukerja A. K., Ur Rahman L., Shishir Singh K., Anand S., Anju Y. and Khanuja S. P. S., 2007.** Qualitative analysis of essential oil of *Rosmarinus officinalis L.* cultivated in Uttaranchal Hills, India. *Journal of Spices and Aromatic Crops*, Vol. 16 (1): 55–57
- **Kurkin V.A. (2003).** Phenylpropanoids from medicinal plants: distribution, classification, structural analysis and biological activities. *Chem. Nat. Compd.* 39 : 123.

-L-

- **Labrèze L, Mars 2002 :** « Rédaction Elisabeth Faure » service des professionnels de la santé.
- **Lahlou M., 2004.** Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *Flavour .Fragr. J.* 19, 159–165.
- **Lasante P.S., (2005).** Association belge de diabète.
- **Lee S.J., Umamo K., Schibamoto T. et Lee K.G., (2005).** Identification of Volatils composants in basil (*Ocimum basilicum L.*) And thyme Leaves (*thymus vulgaris L.*) and their antioxidant properties – *Food Chemistry*; Vol 91; p: 131 -137; 2005
- **Lemire, N. (2000).** *Gazette thérapeutes*, 26-30, Ed. Atlas
- **Lenzen S., 2008.** The mechanisms of alloxan and streptozotocin induced diabetes, *Diabetologia* . 51: 216-226.

- **Levy P., (2009).** Hépatogastro-entérologie, Ed : Masson Elsevier. Paris. P: 257
- **Lograda T., Ramdani M., Chalard P. and Figueredo G., 2013.** Characteristics of essential oils of *Rosmarinus officinalis* from Eastern Algeria. *Global J Res. Med. Plants & Indigen. Med.*, 2 (12): 794-807.
- **Lograda T., Ramdani M., Chalard P., and Figueredo G., 2014.** Characteristics of essential oils of *Rosmarinus officinalis* from eastern Algeria. *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine*. 2: 794-807.
- **Lucchesi, (2005).** Extraction sans solvant assistée par micro ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat en sciences, discipline : chimie. Université de la Réunion, faculté des ST.

### -M-

- **Magnan et Ktorsaa., (2005).** Endocrinology. Bruxelles, p 154.
- **Mailhebiau P., (1994).** La nouvelle aromathérapie : biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. Lausanne, P : 635.
- **Malardé L. (2012).** Activité physique et produits dérivés du soja : Intérêts dans la prise en charge du stress oxydant associé au diabète de type 1. Thèse de doctorat. Université Rennes 2. Pp. 49-52.
- **Marsaudon E, 2004 :** « 200 questions clés sur le diabète savoir, comprendre, pour mieux vivre » P 19-20.
- **Martini M-C. (2006).** Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie . 2<sup>ème</sup> Ed TEC&DOC, p 132, 135, 143.
- **Marzouk Z., Neffati A., Marzouk B., Chraief I., Khemiss F., Chekir Ghedira L. & Boukef K. 2006.** Chemical composition and antibacterial and antimutagenic activity of Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. oil from Kasrine. *J. Food Agric. Environ.*, Vol.4; N°3-4; 61-65.
- **Maugendre D., Yaouanq J., Guilhem I., Campion L., Lorcy Y., Leguerrier A.M., Allannic H., 2007.** Etiologie et physiopathologie des diabètes secondaires. In: Encyclopédie Médico-chirurgicale. Endocrinologie-Nutrition. Editions scientifiques et médicales, Elsevier Masson SAS ; 10-366-D-20 : 6.
- **Mata A.T., Proenc C., Ferreira A.R., Serralheiro M.L.M., Nogueira J.M.F. et Araujo M.E.M., (2007).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chemistry*, 103, 778-786.

- **Mateus E.M., Lopes C., Nogueira T., Lourenço J.A.A. et Pilot M.J.M.C., (2006).** Steam Distillation of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) from Portugal. *Silva Lusitana*, 14(2), 203-217.
- **Miladi H., Ben Slama R., Mili D, Zouari S., Bakhrouf A., and Ammar E., 2013.** Essential oil of *Thymus vulgaris* L. and *Rosmarinus officinalis* L.: Gas chromatography-mass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties and antibacterial activities against foodborne pathogens. *Natural Science journal*. Vol.5, No.6, 729-739 doi:10.4236/ns.2013.56090
- **Miresmailli S., Bradbury R. et Isman M.B., (2006).** Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. *Pest Manag. Sci.*, 62, 366-371.
- **Mutal C., Bii C., Constantnos V., Dennis A., Vassilios R., 2009.** Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupane triterpènes. *Journal of Ethnopharmacology*. 123, 143-148.
- **Muthu C., Ayyanar M. Raja, N. & Ignacimuthu S. (2006).** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, *India. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2:43 doi: 10.1186/1746-4269-2-43.

-N-

- **Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi M.S et Ghorbani A. (2005).** Labiatae Family in folk Medicine: Form Ethnobotany to Pharmacology Iranian *Journal of Pharmaceutical Research*; Vol.2, P63-79
- **Napoli E.M., Curcuruto G. & Giuseppe R.,** “Screening of the essential oil composition of wild Sicilian rosemary”, *Biochemical Systematics and Ecology*, V. 38, (2010), 659-670.
- **Narishetty, S.T.K.; Panchagnula, R., (2004).** *Journal of controlled release*, 95,367-379
- **Nelson D.L et Cox M., (2004).** *Lehninger Principales of Biochemistry*. Ed WH Freeman and Co Ltd 4th Ed Newyork, P 881.
- **NF ISO 1342: 2001.** Oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), Huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis* L.)
- **Noudogbessi J-P, Kossou D et Sohounhloué D. 2008.** Composition Chimique et Propriétés Physico-Chimiques des Huiles Essentielles de *Pimenta racemosa* (Miller) et de *Chromolaena odorata* (L. Robinson) Acclimatées au Bénin. *Soc. Ouest-Afr. Chim*, 026, 11-19

-O-

- **Okoh O.O., Sadimenko A.P. & Sadimenko A.J.A.** “Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods”, *Food Chem.*, V. 120, (2010), 308-312.
- **Oliveira, H.C., Dos-Santos, M.P., Grigulo, R., Lima, L.L., Martins, D.T.O., Lima, J.C.S., Stoppiglia, L.F., Lopes, C.F., Kawashita, N.H., (2008).** *Antidiabetic activity of valairea macrocarpa extract in rats.* *Journal of Ethnopharmacology* **111**: 515-519.
- **Omari N., Dahmani-ait akli Y ., Labrousse F ., Hadj bekkouche F.,** Influence de la streptozotocine sur l’axe corticotrope du rat Wistar (*Rattus norvegicus*). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège.* **2011** ; 80 : 907 – 938.
- **OMS (Organisation mondiale de la santé), 1999.** Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of a WHO consultation. Geneva, WHO/NCD/NCS/99.2: 1-49.
- **OMS (Organisation mondiale de la santé), 2013 .** Stratégie de l’OMS de la médecine traditionnelle pour 2014-2023. ISBN 978 92 4 250609 9.
- **Oranges, R, Passet, G.Teulade., (1973).** Les plantes médicales à essences et chimiotaxonomie, 17ème journée de l’aromate lourd ,12 mai 1973.
- **Organisation Mondiale de la Santé (2002).** Diabète sucré. Aide-mémoire ; N° 138.
- **Ouibrahim A., (2015).** « Evaluation de l’effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l’Est Algérien » ; *Thèse de doctorat* ; Univ. Badji Mokhtar – Annaba.
- **Ouraini D., Agoumi A., Alaoui M.I., Alaoui K., Cherrah Y., Alaoui M.A. & Belabbas M.A.,** “Activité antifongique de l’acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus saturejoides* L. et de *Mentha pulegium* L., comparé aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques- Phytothérapie “, V.1, (2007), 6-14.
- **Özcan M.M. and Chalchat J.C., 2008.** Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oil from Turkey. *International J. Food Sci. Nutr.*, 59 (7- 8): 691-698.

-P-

- **Papin J., (2009).** Bases moléculaires des défauts sécrétoires des cellules  $\beta$ -pancréatiques lors de la glucotoxicité. Thèse de Doctorat, université bordeaux 1.

- **Prakasam A, Sethupathy S, Pugalendi KV (2005).** Antiperoxidative and Antioxidant Effects of Casearia Esculenta Root Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats .yale journal of biology and medicine, 78 : 15 - 23.
- **Perez, G.R.M., Zavala, S.M.A., Perez, G.S., Perez, G.C., (1998).** *Antidiabetic effect of compounds islated from plants.* Phytomedicine 5: 55-75.
- **Perlemuter L et Collin G., (2003).** Diabète et maladie métabolique. Paris, l'HOTEL, 2<sup>ème</sup> Ed Masson .P 398.
- **Pharmacopée européenne. (2008).** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé (Afssaps)
- **Pharmacopée européenne., 2005.** 6<sup>ème</sup> Edition : Tome 1 et 2.
- **Pharmacopée Française. Ed, 2010**
- **Pharmacopée française Xème édition 10(2) DAC 1998 :** Rosmarinblatter
- **Pibiri M. C. (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doctorat, EPFL Lausanne, p.161
- **Pintore G., Usai M., Bradesi P., Juliano C., Boatto G., Tomi F., Chessa M., Cerri R. & Casanova J., 2002-** Chemical composition and antimicrobial activity of Rosmarinus officinalis L. oils from Sardinia and Corsica. Flavour and Fragrance Journal, 17: 15-19.
- **Piochon, M. (2008).** Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiaues et hémi-synthèse. Mémoire, Université du Quebec à Chicoutimi, Canada.
- **Ponoel, D et Ponoel RM (1999).** Urgences et soins intensifs en médecine aromatique intégrée. Tome 1. Ed Osmobiose. P 255.
- **Porter N. (2001).** Essential oils and their production. Crop & Food Research. Number 39

-Q-

-R-

- **Rai M.K., Acharya D. et Wadegaonkar P.,(2003).**Plant derived-antimycotics: Potential of Asteraceous plants, In: Plant-derived antimycotics:Current Trends and Future prospects, Haworth press, N-York, Londin, Oxford. 165-185
- **Ramadan KS, Khalil, OA, Danial EN, et al (2013)** Hypoglycemic and hepatoprotective activity of Rosmarinus officinalis extract in diabetic rats. J Physiol Biochem 69:779–83
- **Raverot G.** Diabète sucré de types 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte. Hippocrate. Paris.Ongagna J.C., Sapin R. Diabète de type 1 et autoimmunité.*biotribune*.2004 ; 9 :42-43.

- **René, A. (2008).** Cultivez les plantes sauvages et comestibles. France, p 45.
- **Robert G.,** “Les Sens du Parfum.Osman”, Eroylles Multimedia Paris, (2000), 224 p.
- **Rouibi A., Saidi F., et Boutoumi H. (2010).** Identification par CG/MS et Détermination des Effets Antimicrobiens des Huiles Essentielles du Faux Poivrier (*Schinus molle* L.). Proc. IS on MAP – SIPAM Eds.: M. Neffati et al. Acta Hort. 853, ISHS 2010 : 219-228.
- **Roux, D. (2008).** Conseil en aromathérapie. 2eme édition, Pro-officina, 187. *Schinus molle. Mémoire d'Ingéniorat.* INATAA, Université Constantine. 57p.

### -S-

- **Sabu, M.C., Smitha, K., Kutta, R., (2002).** *Antidiabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxidative stress in experimental diabetes.* Journal of Ethno Pharmacology **83**: 109-116.
- **Salzer U.J. (1977).** The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings acritical review. C.R.C *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition.* 9: 345-373.
- **Santoyo S., Caveros S., Jaime L., Ibanez E., Senoran F. J. & Reglero G.,** “Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction”, J. Food Prot., V. 68, n°4, (2005), 790-795.
- **Sell Y., Benezra C. et Guérin B., (2002).** Plantes et réactions cutanées. John Libbery Eurotext, ed., Paris. P. 125.
- **Sepahvand R., Delfan B., Ghanbarzadeh S., Rashidipour M., Veiskarami H. G., Ghasemian-Yadegari J.,** “Chemical composition, antioxidant activity and antibacterial effect of essential oil of the aerial parts of *Salvia sclareoides*” Asian Pac J Trop Med, V.7, n°1, (2014), S491-S496
- **Shirwaikar A, Rajendran K, Dinesh Kumar C, Bodla R., (2004).** Antidiabetic activity of aqueous leaf extracts of *Annona squamosa* in streptozotocin–nicotinamide type 2 diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology, 91 : 171 - 175.
- **Sokmen A., Gulluce M., Akpulat HA., Tepe B., Sokmen M., Ahini F., 2004.** The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and varion extract of thymus eigi. Food.Chem.52:1132-1137.
- **Snoussi S.A, Djazouli Z.E, Aroun M.E.F et Sahli Z. (2003).** Les plantes maraichères, industrielles, condimentaires, aromatiques, médicinales et ornementales. *Annexes sur « La Biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie » MATE-GEF/PNUD : Projet ALG/97/G31.*

- **Stefanovits-Banyai E., Tulok M.H., Hegedûs A., Renner C. et Varga I.S.,(2003).** Antioxidant effect of various rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) clones. *Acta Biologica Szegediensis*, 47(1-4), 111-113.

-T-

- **Tahraoui A., El-Hilay J., Israili Z.H. et Lyoussi B., (2007).** Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *Journal of Ethnopharmacology*, 110, 105-117.
- **Tahri M., Imelouane B., Amhamdi H., Fauconnier M.-L. and Elbachiri A., 2015.** The Chemical compositions and the Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oil of Rosemary Leaves from Eastern Morocco. *J. Mater. Environ. Sci.*, 6 (3): 666-672.
- **Takaki I, Bersani-Amado LE, Vendruscolo A, et al (2008)** Antiinflammatory and antinociceptive effects of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in experimental animal models. *J Med Food* 11:741–6
- **Taleb-Toudert, K. (2015).** Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae).Thèse de Doctorat, Université MOULOUD MAMMERI de Tizi-Ouzou, Tizi Ouzou. 206 p.
- **Teuscher E., Anton R., et Lobestein A., (2005).** Plantes médicinales et aromatiques, perspective et développement, laboratoire ressources phytogénique, 1<sup>er</sup> salon argropartenant, Annaba, pp 410.
- **Tomi F & Casanova J. (2006).** 13C NMR as a tool for identification of individual components of essential oils from *Labiatae* - a review. *Acta Horti.* 723: 185-192
- **Tuttolomondo T., Dugo G., Ruberto G., Leto C., Napoli E.M., Cicero N., Gervasi T., Virga G., Leone R., Licata M. and La Bella S., 2015.** Study of quantitative and qualitative variations in essential oils of Sicilian *Rosmarinus officinalis* L. *Nat. Prod. Res.*, 29 (20):1928- 1934.

-U-

-V-

- **Varela F., Navarrete P., Cristobal R., Fanlo M., Melereo R., Sotomayor J. A., Jordán M.J., Cabot P., Sanchez de Ron D., Calvo R. and Cases A., 2009.**Variability in the chemical composition of wild *Rosmarinus officinalis* L. *Acta Horti.*, 826 : 167-174.

- **Vats, V., Yadav, S.P., Grover, J.K., (2004).** *Ethanollic extract of Ocimum sanctum leaves partially attenuates streptozotocin-induced alterations in glycogen content and carbohydrate metabolism in rats.* J Ethnopharmacol **90**: 155-160.
- **Venkateswaram, S., Pari, L., (2002).** *Effect of Coccina indica on blood glucose, insulin and key hepatic enzymes in experimental Diabetes.* Pharmaceutical Biology **40**: 165-170.

-W-

- **Wang W., Lin, Luo M., Zuy, Efferth T., (2012).** Antibacterial activity and anticancer activity of Rosmarinus officinalis L. essential oil Compared to that of its main component. Molecules. 17:2704-271
- **Weerakkody N.S., Caffin N., Turner M. S., & Dykes G. A.,** “In vitro antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria”, Food Control, V.21, (2010), 1408-1414.
- **West, I.C., (2000).** *Radicals and oxidative stress in diabetes.* Diabetic Medicine **17**: 171-180.
- **Wong V et Brubarker P., (2006).** From cradle to grave : pancreatic  $\beta$ -cell mass and glucagon's-like peptide-1.

-X-

-Y-

- **Yuerdon, M. (2004).** La médecine naturelle au service de vitre beauté et santé,2-3, Edition suisse.

-Z-

- **Zabeirou ; Hachimou.,(2005).** Étude comparative entre les Huiles essentielles de la Menthe Verte (Mentha Spicta L) et de la Poivree (Mentha Piperita L) dans la région d'Ouargla .Mémoire de DES Biochimie –Université de Kasdi Merbbah Ouargla .p16
- **Zhang XF, Tan BK (2000).** Antihyperglycaemic and anti-oxidant properties of Andrographis paniculata in normal and diabetic rats. Clin Exp Pharmacol Physiol, 27 : 358 - 363.

*Annexes*

## **Annexe 01 : Matériel non biologique**

Appareillages	Verreries et accessoires	Réactifs et Produits utilisés	Milieux de culture
-Etuve -Bec benzène -Hotte à flux lumineaire verticale -Vortex -Balance pour peser les animaux -Balance analytique de précision -Glucomètre et bandelettes -Autoclave -Balance -Réfrigérateur -Réfractomètre -Spectrophotomètre -Microtome -Automate -pH-mètre -Polarimètre -Microscope optique	-Boites de pétri -Disques de papier buvard stérile de 9mm -Ecouvillons -Bécher Erlenmeyer -Matériel d'élevage habituel (biberon, cages de stabilisation pour les souris) -Etiquette -Coton -Bécher -Seringues stériles en plastique à usage unique (1 et 5 ml) -Seringue stérile de gavage -Gants -Entonnoirs -Pipettes gradués -Portoirs pour les tubes -Flacons en verre -Règle -Pince -Fiole jaugé -Seringues à insuline -Lames et Lamelles -Pycnomètre	-Alloxane monohydrate -Eau distillée -Eau physiologique (Nacl 0,9%) -Méthanol -Tween 80 -DMSO -Diethyl ether -ATB : Primazol 400-80 mg et Lamidaz 250mg - Alcool et Ether	-Gélose Muller-Hinton -Gélose Sabouraud



Hotte à flux lumineuse  
(originale 2017)



Polarimètre «Polartronic NH8»  
(Originale 2017)



Incubateur «Stuart» (originale 2017)



Automate «Myr» (originale 2017)



Platine refroidissante «Leica EG 1150C»  
(originale 2017)



Microtome «Leica» (originale 2017)



Bain d'eau thermo- statée  
(originale 2017)



pH-mètre «METTLER TOLEDO»  
(originale 2017)



Bacs de coloration  
(originale 2017)



Souches testées  
(originale 2017)



Etuve  
(originale 2017)



Dispositif de titrage  
(originale 2017)



Glucomètre (originale 2017)  
(originale 2017)



Balance pour pesée les animaux  
«Sartorius» (Originale 2017)



Cages de stabilisation des souris  
(originale 2017)



Aliment et biberon  
(originale 2017)

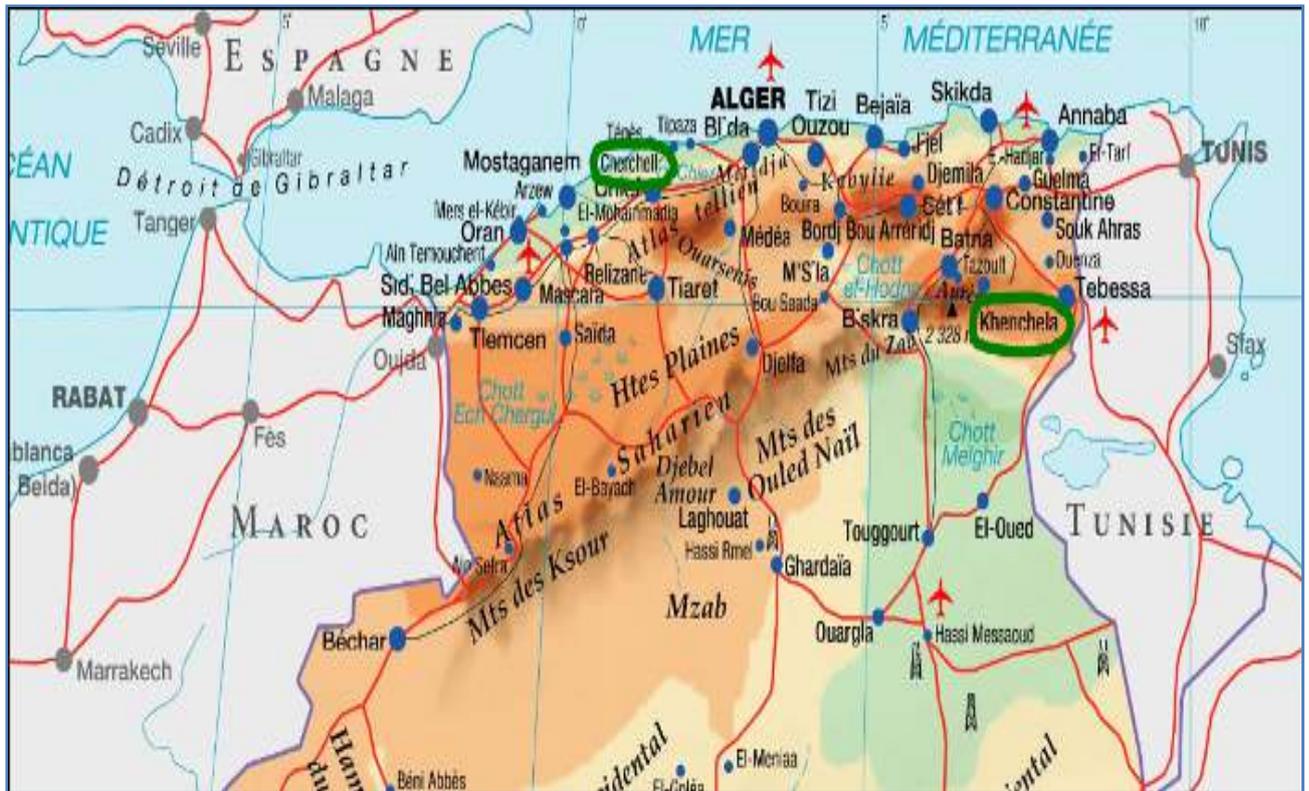


Injection d'alloxane intrapéritonéale  
(originale 2017)



Administration de l'extrait par voie orale  
«Gavage» (originale 2017)

**Annexe 02 : Carte géographique des stations étudiées**



### **Annexe 03 : Souches microbiennes testées**

***Staphylococcus aureus*** : Coque à gram positif de 0,5 à 1µm de diamètre, non sporulé, immobile, anaérobie facultatif, catalase+, fermentant de glucose, Température optimale 37°C, Ph optimum 6-7, aw optimale > 0,99, c'est une bactérie ubiquitaire, présente dans tous les milieux naturels (air, poussière, sol, eau égouts, vêtement) mais également chez les animaux et chez les hommes. Contrairement au S.aureus, ces entérotoxines sont très résistantes à la chaleur (30min/120°C°), aux variations de pH (entre 4 et 11) et aux enzymes protéolytiques papaïne, trypsine (**DELARRAS, 2007**).

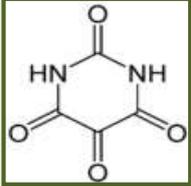
***Escherichia Coli*** : Appelé communément « colibacille » c'est à dire « bacille à côlon » cette espèce était l'objet d'un très grand nombre d'études. C'est un bacille à gram négatif (**Patrick et al., 1988**), de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm (**Steven et al., 2004**).

***Bacillus subtilis*** : C'est une bactérie à gram +. Sa longueur varie de 2 à 4 µm et sa largeur de 0,5 à 2 µm. Elle a pour forme cellulaire des bâtonnets droits à bout arrondis. Elle est mobile grâce à une ciliature péritriche. Elle est aérobic stricte, sa température optimale est de 40°C (espèce mésophile) et son type trophique est chimioheterotrophe. Enfin, son temps de génération est d'environ 26 minutes. Les conditions optimales de croissance de cette souche se situent pour un Ph compris entre 5,5 et 8,5 et à une température de 10°C à 50°C.

***Candida albicans*** : Une levure ovale, elle existe sous forme d'éléments unicellulaires bourgeonnants ou d'un pseudomycélium (**FEIGIN ET CHERRY., 2004**). Certaines conditions favorisent son passage à un stade pathogène (**Bonn et Blanc., 2008**).

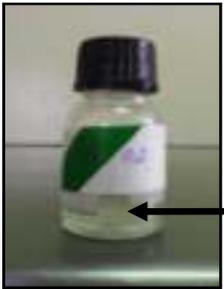
***Aspergillus brasiliensis*** : Le développement d'Aspergillus brasiliensis n'est connu que par sa multiplication asexuée (l'anamorphe). La forme habituelle est donc celle d'un champignon filamenteux comportant des hyphes septés (filaments cloisonnés), haploides et ramifiés formant un mycélium.

### Annexe 04 : Propriétés chimiques d'alloxane

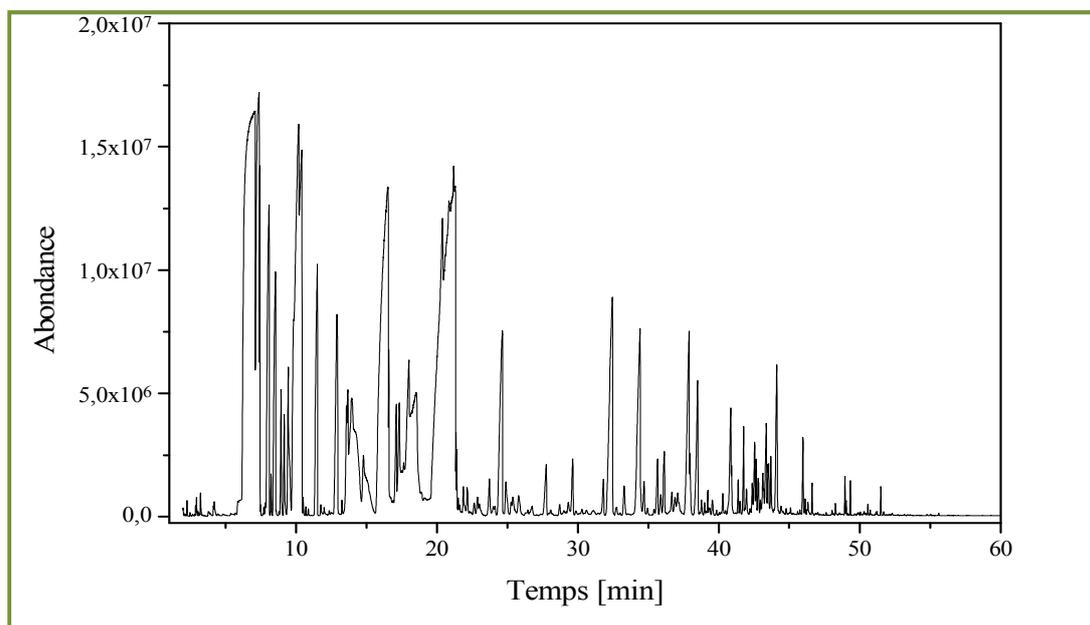
Formule chimique	
Nom chimique	2, 4, 5,6(1H, 3H)-pyrimidine tétraone monohydrate.
Structure chimique	C <sub>4</sub> H <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>
Masse moléculaire	160,09 g/mol.
Point de fusion	253°C.

(Hashemi et *al.*, 2009)

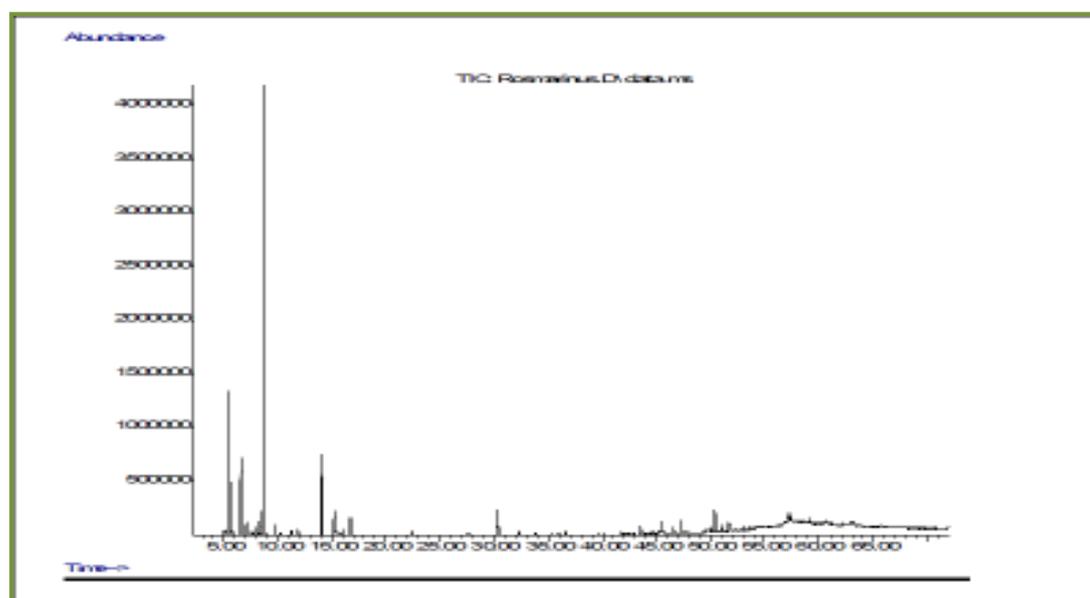
### Annexe 05 : Huiles essentielles obtenues

	
<b>Figure 01</b> : L'HE 01 (Cherchell) de <i>R.officinalis L.</i>	<b>Figure 02</b> : L'HE 02 (Khenchela) de <i>R.officinalis L.</i>

## Annexe 06 : Profils chromatographiques



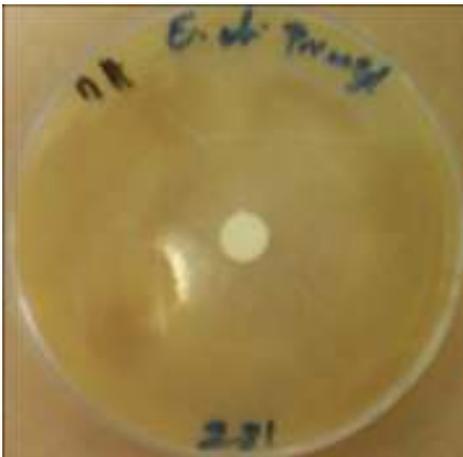
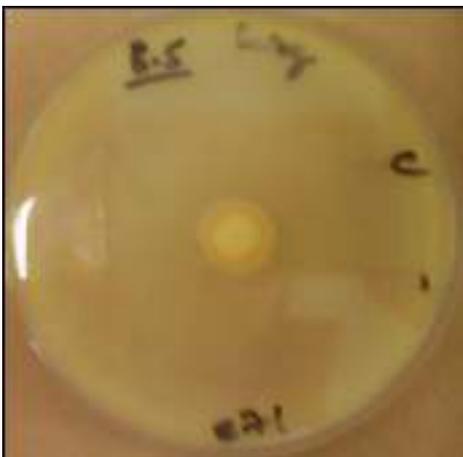
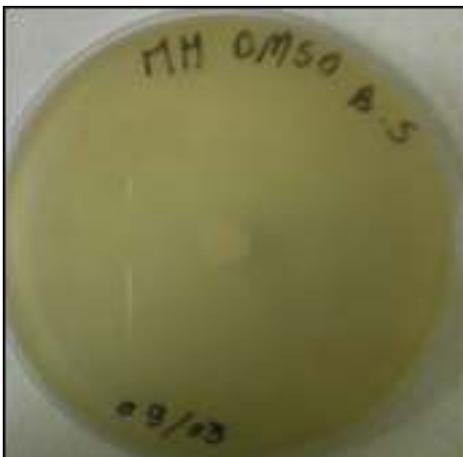
**Figure 01 :** Chromatogramme de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* 01  
(Région de Cherchell)



**Figure 02 :** Chromatogramme de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* 02  
(Région de Khenchela).

## Annexe 07 : Résultats de l'activité antimicrobienne

❖ Témoin (+) et témoin (-) :

	Témoin positif	Témoin négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>		
<i>Escherichia coli</i>		
<i>Bacillus subtilis</i>		

*Aspergillus  
brasiliensis*



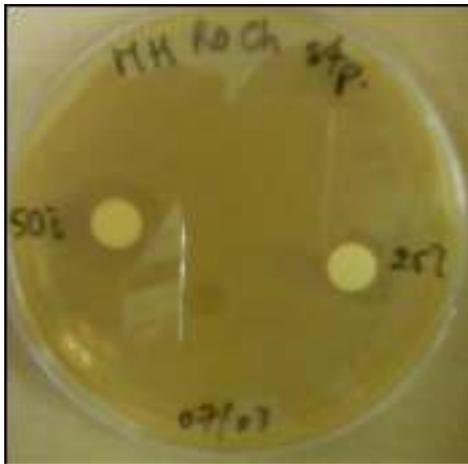
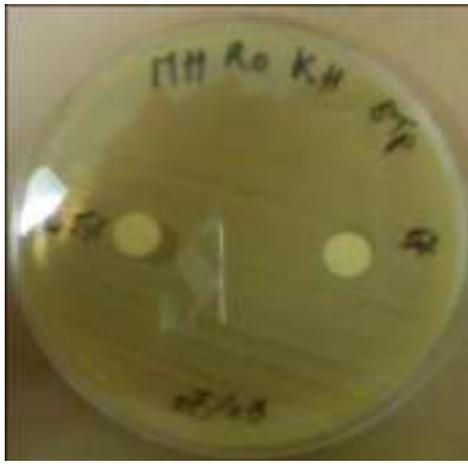
*Candida  
albicans*



❖ Aromatogramme

	HE de Cherchell	HE de Khenchela
<i>Staphylococcus aureus</i>		
<i>Escherichia coli</i>		
<i>Bacillus subtilis</i>		
<i>Aspergillus brasiliensis</i>		
<i>Candida albicans</i>		

❖ Dilution : détermination de CMI

	HE de Cherchell	HE de Khenchela
<i>Staphylococcus aureus</i>		
<i>Escherichia coli</i>		
<i>Bacillus subtilis</i>		

*Aspergillus  
brasiliensis*



*Candida  
albicans*



❖ CMB des deux HE :

	HE de Cherehell	HE de Khenchela
<i>Staphylococcus aureus</i>		
<i>Escherichia coli</i>		
<i>Bacillus subtilis</i>		
<i>Candida albicans</i>		

## *Glossaire*

---

**Acidocétose** : est une acidification excessive du sang. Elle est due à une accumulation de corps cétoniques.

**Allélopathie** : ensemble des interactions biochimiques entre deux ou plusieurs plantes (autres que des micro-organismes).

**Alloxane** : produit chimique qui détruit spécifiquement les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas endocrine.

**Arbrisseau** : plante ligneuse haute de 3 à 5 mètres.

**Arbuste** : plante ligneuse haute de 1 à 3 mètres.

**Cétose** : il s'agit d'un état dans lequel les taux de cétones (corps cétoniques) dans le sang sont élevés. Les cétones sont formées quand les réserves de glycogène dans le foie sont épuisées.

**Composé asymétrique** : absence de tout élément de symétrie (une structure asymétrique est chirale).

**Gavage** : introduction d'aliment dans l'estomac à l'aide d'une sonde gastrique.

**Glycémie** : concentration de glucose dans le sang (ou le plasma).

**Glycosurie** : représente la présence de glucose (sucre) dans les urines.

**Isoprène** : liquide volatil incolore à odeur forte, utilisé dans la fabrication du caoutchouc synthétique.

**Insulinothérapie** : Traitement utilisant des injections d'insuline.

**Lactones** : ester interne (perte d'une molécule d'eau intramoléculaire) d'un acide-alcool ou d'un acide -phénol.

**Microangiopathie** : désigne une atteinte des petits vaisseaux sanguins. Elle peut affecter plusieurs parties du corps, en particulier l'œil (rétinopathie diabétique) ou le rein (néphropathie).