République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université Saad Dahleb, Blida



Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires Département des Sciences Agronomiques

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master II en science de la nature et de la vie Spécialité : Biotechnologie des plantes médicinales et aromatiques et produits naturels

Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de l'*Artemisia arborescens*

Présentée par :

BEZZAOUYA Khadidja

Soutenu le : 30/10/2013

Membre du jury

Mme HOU	MANI. Z	Professeur	U.S.D.B	Présidente
Mr BEN	DALI.A. A	Maitre assistant	U.S.D.B	Examinateur
Mme GHA	NAI. R	Maitre assistante	U.S.D.B	Promotrice
Mme BEN	AMARA. M	Pharmacienne assistante	C.H.U.B	Co-promotrice

Année universitaire 2012/2013

REMERCIMENT

Nous exprimons notre gratitude et nos sincères remercîments à :

- Notre promotrice Madame GHANAI R. Maître assistante A à l'USDB pour l'effort fourni, les conseils prodigués, sa patience et sa persévérance dans le suivi.
- Notre Co-promotrice Madame BENAAMARA M. Pharmacienne assistante responsable de laboratoire de microbiologie de l'hôpital FRANTZ FANON de Blida, qui ma accordé l'opportunité d'effectuer une partie de mon stage pratique au sein du laboratoire centrale de biologie, unité de microbiologie, FRANTZ FANON à Blida. Sans oublier l'équipe du laboratoire microbiologie pour leur aide et leur suivi durant mon stage pratique.
- Madame HOUMANI Z. Professeur à l'USDB qui nous à fait l'honneur d'assurer la présidence du jury.
- Monsieur BENDALI A. Maitre assistant à l'USDB d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Nous tenons à remercier vivement tout le personnel du laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques de l'USDB, spécialement les ingénieurs du laboratoire.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos enseignants, qui nous ont donné les bases de la science.

Afin de n'oublier personne, j'aimerais remercier toutes les personnes qui, de prés ou de loin, ont participées et contribuées à l'élaboration de ce modeste travail.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail

A mes très chers et adorables **parents**, qui m'ont toujours encouragé, aidé à surmonter touts les obstacles que j'ai rencontré dans ma vie et être à mes cotés dans les moments les plus difficiles.

A ma sœur Naima.

A mes frères Mohamed et Zine dine.

A mes chères cousines Wafia, Ihcen , Fatma zohra , Batoul.

Sans oublier mes amies: Soumia C, Soumia D, Meriem, Ibtissem, khalida, khadidja, Rachida, Hayet, Sihem.

A toute la promotion de Master II de l'option Biotechnologie médicinales et aromatiques et produits naturel « 2012-2013 ».

A tous ceux qui m'ont aidé de prés ou de loin.

RESUME

Dans ce travail nous nous sommes intéressés à l'évaluation des rendements en huiles essentielles des parties aériennes d'*Artemisia arborescens L.*, et à l'étude de leur effet antibactérien.

L'extraction des huiles essentielles des parties aériennes d'*Artemisia* arborescens donne un rendement de 1% pour les échantillons provenant de la région de Cherchell et de 0.72% pour les échantillons provenant de la région de Cap Djenet.

L'étude de l'activité antibactérienne par la détermination des zones d'inhibitions révèle que l'huile essentielle des échantillons des plantes provenant de Cap Djenet, présente une meilleure activité sur les souches étudiées par rapport à celle des échantillons de Cherchell, sauf pour la souche *P.aeruginosa*. Cependant toutes les souches testées par l'huile essentielle des espèces provenant de Cherchell sont résistantes sauf la souche *S.aureus MRSA*- qui est faiblement sensible.

Mots clés: *Artemisia arborescens L.*, hydrodistillation, huile essentielle, activité antibactérienne.

ABSTRACT

In this work we are interested in evaluating the performance in essential oils of aerial parts of *Artemisia arborescens L.*, and study of their antibacterial effect.

The extraction of essential oils from aerial parts of *Artemisia arborescens* gives a yield of 1 % for samples from the region Cherchell and 0.72% for samples from the Cap Djenet.

The study of antibacterial activity by determining the inhibition zones revealed that the essential oil of plant from Cap Djenet plant, has better activity against strains studied compared to plant from Cherchell, except for *P. aeruginosa*. However, all the strains tested by the essential oil of plant from Cherchell are resistant except for *S. aureus MRSA*- which is weakly sensitive.

Keywords: *Artemisia arborescens L.*, steam distillation, essential oil, antibacterial activity.

الملخص

لقد تطلعنا من خلال هذا العمل الى تقييم مردود الزيوت الطيارة لنبات الشيبة Artemisia لقد تطلعنا من خلال هذا العمل الى تقييم مردود الزيوت الطيارة لنبات الشيبة L arborescens

ان استخراج الزيوت الطيارة من الاقسام الهوائية للشيبة بتقنية التقطير بالبخار أعطى مردودا قيمته 1% بالنسبة لعينات منطقة شرشال و % 0.72 بالنسبة لعينات منطقة كاب جنات.

لقد كشفت دراسة النشاط المضاد للبكتريا من خلال تحديد مناطق التثبيط, ان الزيت الأساسي للنباتات كاب جنات تمثل نشاط افضل على السلالات المفحوصة, مقارنة بتلك الخاصة بمنطقة شرشال, ما عدا P.aeruginosa و لكن كل السلالات المفحوصة بالزيت الاساسي المستخرج من شرشال هي مقاومة, بإستثناء -S.aureus MRSA التي تبقى ضعيفة الحساسية.

الكلمات المفتاحية: نبات الشيبة, التقطير بالبخار, زيوت الطيارة, نشاط مضاد للبكتيريا.

A. arborescens: Artemisia arborescens.

A. campstris: Artemisia campstris.

AFNOR: Association française de normalisation.

A. herba alba: Artemisia herba alba.

°C: degré Celsius.

E. coli: Escherichia coli.

K. pneumoniae : Klebsiella pneumoniae.

Ms: Matière sèche.

OMS: Organisation mondiale de la santé.

P. aeruginosa: Pseudomonas aeruginosa.

S. aureus MRSA: Staphylococcus aureus résistante à la méthiciline.

S. pneumoniae: Streptococcus pneumoniae.

ZI: Zone d'inhibition.

Figure 01 : Alternance des feuilles sur le pétiole de l'A.arborescens
Figure 02 : L'inflorescence d'A. arborescens
Figure 03 : La station de Cap Djenet22
Figure 04 : Le site d'échantillonnage (Cap Djenet)22
Figure 05 : La station de Cherchell23
Figure 06 : Dispositif d'extraction par hydrodistillation
Figure 07 : Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri27
Figure 08 : La teneur en eau des parties aériennes d'A. arborescens30
Figure 09 : Rendement en huile essentielle obtenu par hydrodistillation30
Figure 10 : Huile essentielle d'A.arborescens
Figure 11 : Représentation du diamètre des ZI des huiles essentille d'A.arboresens provenant de deux région étudiées
Figure 12 : Action des huiles essentielles de la région de Cap Djenet sur les souches bactériennes
Figure 13 : Action des huiles essentielles de la région de Cherchell sur les souches bactériennes

Tableau 01 : Exemple des propriétés pharmacologiques de différentes espèces
d'Artemisia16
Tableau 02 : Souches bactériennes utilisées24
Tableau 03: Diamètres des zones d'inhibitions des huiles essentielles d' <i>A.arborescens</i> appartenant à la région de Cap Djenet et de Cherchell32
Tableau 4 : La valeur de la matière sèche et de la teneur en eau au cour de stade de préfloraison
Tableau 5 : Rendement en huile essentielle de deux régions Cherchell et Cap DjenetAnnexe I

Allopathie : phénomène par la quel les plantes d'une espèce donnée peuvent empêcher le développement d'autres plantes.

Altitude : est une grandeur qui exprime un écart entre un point donné et un niveau de référence : par convention, sur terre ce niveau est le plus souvent, le niveau de la mer.

Anthelminthique: est une substance antiparasitaire.

Anti-inflammatoires: qui combat des processus inflammatoires (liée à une infection, à des rhumatismes).

Antiseptique : détruit les microbes et empêcher leur développement.

Antispasmodique: est un produit permettent de lutter contre les spasmes musculaires.

Diurétique : est une substance qui entraine une augmentation de la sécrétion urinaire.

Emménagogue : stimule le flux sanguin dans la région pelvienne et l'utérus.

Eupeptique : qui améliore ou facilite la digestion.

Fébrifuge : qui a la propriété de combattre la fièvre.

L'arthrite: est une inflammation aigue ou chronique des articulations dont l'origine est rhumatismale ou infectieuse. Il ne se désigne pas la pathologie répertoriée sous le nom d'arthrose mais un signe clinique d'une des nombreuses maladies articulaires.

Latitude: est une valeur angulaire, expression du positionnement nord sud d'un point sur terre.

Longitude: est une valeur angulaire, expression est ouest d'un point sur terre.

Neuromusculaire: qui conserve à la fois la fibre nerveuse et le muscle.

Sédative : une substance qui agit contre la douleur, l'anxiété, l'insomnie ou qui modère l'activité d'un organe.

Stomachique : substance salutaire à l'estomac et qui favorise la digestion.

Vermifuge: il permet d'éradier les vers intestinaux.

INTRODUCTION	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUES	
I-LES HUILES ESSENTIELLES	3
I-1-Définition	3
I-2-Répartition et localisation	3
I-3-Rôles	4
I-4-Propriétés physico-chimiques	4
I-5-La composition chimique	5
I-5-1-Les terpènoïdes	5
I-5-2-Les composes aromatiques	6
I-6-Variabilité des huiles essentielles	6
I- 6-1-Facteurs extrinsèques	6
I-6-2-Facteurs intrinsèques	7
I-7-Procédés d'extraction	8
I-7-1-Hydrodistillation	8
I-7-2-Entraiment à la vapeur d'eau	8
I-7-3-L'expression	8
I-7-4-L'enfleurage	8
I-7-5-Extraction par solvant	9
I-8-Les méthodes d'analyses des huiles essentielles	9
I-8-1-Chromatographie en phase gazeuses (CPG)	9
I-8-2-Spectrométrie de masse	9
I-8-3-Le couplage CPG/SM	10
I-9-Emploi des huiles essentielles	10
I-9-1-En parfumerie	10
I-9-2-En pharmacie	10

I-9-3-En industrie Agro-alimentaire	10
I-10-Précaution d'emploi	10
I-11-La toxicité des huiles essentielles	11
I-12-La conservation des huiles essentielles	11
I-13-Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles	12
I-13-1-Activité antimicrobiennes	12
I-13-2-Activité anti-inflammatoire	13
I-13-3-Activité antioxydante	14
I-13-4-Propriétés spasmolytiques et sédative	14
I-13-5-Propriétés irritantes	14
I-13-6-Action synergique	14
I-13-7-Action hormonale	15
II-Les antibiotiques et les huiles essentielles	15
III-ARTEMISIA	16
III-1-Généralité	16
III-2-Artemisia arborescens L	17
III-2-1-Répartition géographique	17
III-2-2-Description botanique	17
III-2-3-Composition chimique	18
III-2-4-Usage thérapeutique	19
IV-MATERIEL ET METHODE	21
IV-1-Matériel	21
IV-1-1-Matériel végétal	21
IV-1-1-Présentation des stations de récolte	21
IV-1-1-2-Récolte des échantillons	23
IV- 1-2-Les souches bactériennes	23
	20

IV-2-Méthode d'étude	24
IV-2-1-Détermination de la matière sèche et de la teneur en eau	24
IV-2-2-Extraction des huiles essentielles	25
IV-2-3-Rendement des huiles essentielles	26
IV-2-4-Activité antibactérien de l'huile essentielle	26
V-RESULTAT ET DISCUSSION	30
V-1-La teneur en eau	30
V-2-Rendement des huiles essentielles	30
V-3-Caractères de couleur, d'odeur et de viscosité	31
V-4-Etude de l'effet antibactérien	32
VI- CONCLUSION	35
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	36
ANNEXES	

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante. De nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, alcaloïdes, terpènes ...etc. (BOUDJOUREF, 2011)

L'Algérie est considérée parmi les pays connus par leur diversité taxonomique vu sa position biogéographique privilégiée et son étendu entre la Méditerranée et l'Afrique sub-saharienne. La flore algérienne est potentiellement riche, beaucoup d'espèces endémiques peuvent y être. (MESSAI, 2011)

La famille des Astéracées ou Composées est la famille la plus large des plantes à fleurs qui comprend près de 13 000 espèces réparties en 1500 genres formant approximativement 10% de la flore du monde. (MESSAI, 2011 in POTTIER, 1981). Le genre *Artemisia* est un des plus importants de cette famille, utilisé en grande partie pour les propriétés médicinales de ses huiles essentielles. (TAN et *al*, 1998)

L'armoise arborescente ou *Artemisia arborescens* est une espèce abondante dans le nord d'Algérie, elle est utilisée depuis des décennies pour l'ornementation, ses feuilles sont connues pour leurs effets calmant des douleurs abdominales. (AFKIR, 2011 in HOUMANI et al, 2007).

Traditionnellement, cette espèce présente des effets antispasmodiques (TAN et *al*, 1998), antidiabétiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires mais ces huiles essentielles possèdent une faible activité antibactérienne. (EL BEYROUTHY et *al*, 2011).

La résistance aux antibiotiques est un problème de plus en plus préoccupant à l'échelle mondiale, les différentes classes des bactéries ont réussi à développer des mécanismes de résistance pour assurer la survie. (DELORME et *al*, 2011)

Les travaux réalisés sur *A.arborescens* en Algérie ont porté surtout sur l'évaluation du rendement en huile essentielle selon le stade phénologique (AFKIR, 2011; ZEDDAM, 2012).

Nous nous sommes intéressées à étudier l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'*A. arborescens* provenant de deux régions Cap Djenet et Cherchell.

Nos objectifs sont :

- > Extraction des huiles essentielles.
- Comparaison de rendement.
- > Etude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle extraite.

I- Les huiles essentielles

I-1-Définition :

Pour la 8e édition de la pharmacopée française (1965), les huiles essentielles (=essences=huiles volatiles) sont : «des produits de composition généralement assez complexe renferment les principes volatiles contenus dans les végétaux et plus au moins modifiés au cour de la préparation.

Selon la norme AFNOR (Février 1998) l'huile essentielle est un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation sèche. (BRUNETON, 1999)

I-2-Répartition et localisation

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : il y aurait, selon Lawrence, 17 500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles, par ex. : Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae, Piperaceae, etc....

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : les fleures (bergamontier, tubéreuse), mais aussi feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier noble) et bien que cela soit moins habituel, dans des écorces (cannelier), des bois (bois de rose, santal), des racines (vétiver), des rhizomes (curcuma, gingembre), des fruits (toute-épice, anis, badiane) des graines (muscade). Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varie selon la localisation. (BURNETON, 1999)

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellules à huiles essentielles des Lauraceae ou des Zingiberaceae, poils sécréteurs des Lamiaceae (origan vulgaire), poches sécrétrices des Myrtaceae ou des Rutaceae, canaux sécréteurs des Apiaceae ou des Asteraceae. (BURNETON, 1999)

I-3- Rôles

Les huiles essentielles émises par les plantes sous forme de vapeur ont des fonctions multiples dans la nature.

Actuellement, il est souvent difficile de les préciser dans tout les cas. Néanmoins, il semble probable qu'elles aient un rôle écologique.

En effet, expérimentalement il a été établi qu'elles interviennent dans les interactions « végétaux- animaux ». Ainsi elles constituent un moyen de communication (langage chimique). (BRUNETON, 1987)

Certaine essences attirent les insectes et favorisent la pollinisation. D'autres servent à la défense des plantes contre les prédateurs (herbivore, insectes, microorganisme...)

Elles peuvent paralyser les muscles masticateurs des agresseurs par les propriétés toxiques et inappétantes des substances qu'elles contiennent. (EL ABED et al, 2003)

Elles protègent les cultures en inhibant la multiplication des bactéries et des champignons, de même qu'elles inhibent la germination et la croissance.

(RICHTER, 1993)

En outre, elles exhalent une variété de goût et d'odeur dans l'atmosphère. C'est pourquoi, beaucoup d'entre elles sont employées comme saveurs et condiments en cuisine.

Il convient enfin de signaler que pour les plantes des régions désertiques, les vapeurs de l'huile saturent l'air autour de la plante et permettent de maintenir une certaine humidité qui empêche la température d'augmenter d'une manière excessive pendant le jour et de baisser au cours de la nuit. (EL ABED et al, 2003)

I-4-Propriétés physico-chimiques

Les huiles essentielles diffèrent les huiles grasses, par leur propriétés physique et leurs composition, du fait qu'elles se volatilisent à la chaleur et que leurs taches sur le papier sont passagères. (SALLE, 1991). Autrefois, les essences étaient appréciées pour leur propriétés organoleptiques (odeurs, goût, couleur et aspect), vu l'usage qui en était fait comme matières aromatisantes et parfumantes.

Aujourd'hui, les propriétés physico-chimiques (densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, solubilité dans l'alcool, indice d'acide, d'ester...) sont exigées pour leurs évaluations commerciales. (EL ABED et *al*, 2003)

Les huiles essentielles sont des substances caractérisées par une forte odeur aromatique liée à leur volatilité et sont généralement incolore ou faiblement colorées (jaune pâle).

Cependant, on rencontre quelques-unes d'entre elles qui sont colorées comme l'essence de cannelle, d'absinthe et de camomille qui sont respectivement colorées en rouge, vert et bleu.

La plupart d'entre elles sont plus légères que l'eau. Il existe toutefois des huiles les plus lourdes comme par exemple les essences de cannelle, girofle et de sassafras.

Leur densité varie de 0.8 à 1.08, leur température d'ébullition de 160°C à 240°C. (EL ABED et *al*, 2003)

Elles ont des indices de réfraction élevés et elles sont le plus souvent optiquement actives car elles contiennent des molécules asymétriques.

Ces substances sont solubles dans les solvants organiques usuels et les huiles grasses. Elles sont liposolubles et très peu soluble dans l'eau à laquelle toutefois elles communiquent leur odeur. On parle alors d'eau aromatique. (BRUNETON, 1987)

I-5-La composition chimique

La composition chimique des huiles essentielles est très complexe ; il existe deux types chimiques : les composés terpéniques et les composés aromatiques dérives du phényl-propane. (CHARPENTIER et al, 1998)

I-5-1-Les terpènoïdes : dans le cas des huiles essentielles seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevé mono et sesquiterpènes.

Monoterpènes : les cars purs sont presque toujours présents. Ils peuvent être acycliques, monocycliques et bicycliques. Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle. Sesquiterpènes : les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédant carbures, alcools et cétones étant les plus fréquents.

On trouvera ci contre quelques exemples des sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles, carbures (mono-polycyclique) alcools, aldéhyde, esters. (BRUNETON, 1999)

I-5-2-Les composés aromatiques : sont des dérives du phénylpropane en C6-C3, l'un des constituants des huiles essentielles, il est beaucoup moins fréquent que les terpènes. (LUTTG et al, 2002). Ce sont très souvent des allyl et prophényl phénol, parfois des aldéhydes, caractéristique du girofle, de la muscade, de l'estragon, de cannelles et d'autres. On peut également rencontrer dans les huiles des composés en (C6-C1) comme la vanille. (BRUNETON ,1993)

I-6-Variabilité des huiles essentielles

La teneur et la composition d'une huile essentielle varient en fonction d'un grand nombre de paramètres d'origine extrinsèque et intrinsèque et d'ordre technologique. On se contentera d'un bref aperçu sur les facteurs susceptibles influencer sur la quantité et la qualité d'une essence. (EL ABED et al, 2003)

I-6-1- Facteurs extrinsèques

Ce sont des paramètres qui touchent particulièrement les conditions écologiques (climatiques, pédologiques,...). (EL ABED et al, 2003)

I-6-1-1-Origine géographiques

Les rendements des huiles essentielles ainsi que leur composition diffèrent suivant l'origine géographique de la plante. Ainsi, les feuilles d'un même type de Romarin poussant dans divers pays fournissent une essence dont le rendement d'extraction est de 0.43 à 0.73% pour l'Espagne, 0.38 à 0.80% pour la France, 1.00 à 5.00% pour la Turquie, 1.5 à 2.10% pour Yougoslavie, etc...(EL ABED et *al*, 2003)

I-6-1-2-Facteurs écologiques

Les caractéristiques écologiques exercent une influence directe sur la production et la quantité de l'essence. (EL ABED et al, 2003)

I-6-1-2-a-Facteurs climatiques

La durée d'exposition au soleil, les températures nocturne et diurne, l'humidité, le régime des vents, la pluviométrie, etc... sont des paramètres

responsables des modifications de la proportion de l'essence et de sa composition chimique. (EL ABED et al, 2003)

On observe chez les espèces a structures histologiques superficielle comme les poiles sécréteurs des Lamiaceae un effet accentué de ces divers facteurs.

Un exemple qui illustre bien le phénomène de température est celui de la menthe poivrée où la formation du menthol est favorisée par les nuits froides. Les jours longs et les nuits tempérées au contraire conduisent à une quantité plus grande d'une huile essentielle et à une augmentation de la tenure en menthofuranne. (BRUNETON, 1999)

I-6-1-2-b-Facteurs pédologiques

La nature de sol (calcaire, siliceux,...), les aspects culturaux comme la densité de la culture, l'apport d'engrais, le nombre de récolte par an et l'alimentation en eau affectent d'une manière déterminante la qualité des huiles essentielles et leur rendement. (EL ABED et al, 2003)

I-6-2- Facteurs intrinsèques

Ce sont des variables qui dépendent de la plante elle-même (génétique, localisation, maturité,...).

I-6-2-1-Origine botanique

Le rendement et la composition d'une huile essentielle sont fonction respectivement de la famille et de l'espèce productrice.

I-6-2-2- Les chimiotypes

Les chimiotypes ou les races chimiques existent chez de nombreuses plantes aromatiques et fournissent des essences différentes par leur composition.

I-6-2-3-Sites producteurs

Le rendement des huiles essentielles, ainsi que leurs contenus dépondent du nombre de glandes sécrétrices existant et de leur localisation au niveau des différents organes de la plante. La teneur en huile essentielle est plus importante dans les fleurs que dans les feuilles. (EL ABED et al, 2003)

I-6-2-4- Cycle biologique

La composition en huile essentielle d'une plante donnée varie avec son âge et les différents stades de son développement au fil des saisons.

Par exemple, au début de la période de floraison, la menthe poivrée (*Mentha piperita*) comporte une forte proportion de menthone et de néomenthol qui diminue

par la suite du fait de leurs conservations en menthol et en un composé non volatil le glucoside de néomenthyle. (BRUNETON, 1987)

I-7-Procèdes d'extraction

I-7-1- Hydrodistillation:

C'est le procèdes le plus ancien. La plante aromatique (entière ou broyé) placée dans un alambic immergée dans l'eau : il est préférable d'utiliser une eau sans chlore contenant un peu ou pas de calcium (eau de source, eau distillé). Porté à l'ébullition, l'eau à l'état vapeur en passant à travers le matériel végétal entraine l'huile essentielle : elle est refroidie et condensé dans un serpentin.

L'huile essentielle est séparée de l'eau par différence de densité dans une vase florentin. L'eau obtenue est une eau florale ou hydrolate aromatique, elle renferme des molécules aromatiques (moins de 5%). (RAYNAUD, 2006)

I-7-2- Entrainement à la vapeur d'eau :

Les plantes entières ou broyée, lorsqu'il s'agit d'organes durs (racine, écorce), sont déposées dans un alambic traversé par un courant de vapeur d'eau. Sous l'effet de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur qui sous base pression, traverse alors la cuve remplie de plantes aromatiques. La vapeur d'eau qui a volatilisé et entrainé l'huile essentielle se condense ensuite dans la serpentin du réfrigérant. A la sortie de l'alambic, un essencier autrefois nommé « vase florentin » permet de séparer l'eau d'huile essentielle grâce à la différence de densité des deux liquides. (ROUX, 2008)

I-7-3-L'expression:

Elle est réservée aux fruits de la famille des Rutaceae (Hespéridées : citron, orange, bergamote ...) ; cette technique fait généralement appel à un procède mécanique sans chauffage (pressage, abrasion...) qui provoque l'éclatement des poches à essences et implique l'expression de l'huile essentielle du péricarpe (ou zeste), suive d'une séparation par procède physique .(AIACH et al ,2011)

I-7-4-L'enfleurage:

Procède nettement moins utilisé de nos jours mais pratiqué depuis l'Antiquité sur différentes plantes particulièrement fragiles et basé sur la capacité des corps gras à capter les odeurs. On peut agir à partir de solvant, procède industriel moins

couteux mais laissant dans les huiles essentielles des résidus comme le propane, le benzène, l'acétone, le méthanal, etcqui sont des produits toxiques excluant tout usage thérapeutique ou alimentaire et cantonnant les essences ainsi obtenus principalement dans le domaine parfumerie. (GARRETA, 2007)

I-7-5-Extraction par solvant :

Certaines huiles essentielles ont une densité voisine de l'eau et le procède par distillation à la vapeur d'eau ne peut être utilisé. C'est pourquoi on utilise les solvants. C'est une méthode très peu employée, elle représente 3 % des cas.

On met à macérer les fleurs ou les sommités fleuries dans un solvant. Le plus souvent on utilise le benzène. Puis, on centrifuge pour récolter l'huile essentielle. (SALLE, 1991)

I-8- Les méthodes d'analyses des huiles essentielles

I-8-1-Chromatographie en phases gazeuses (CPG)

C'est une méthode d'analyse chimique utilisé pour séparer les constituants d'un mélange de gaz ou de composés vaporisables à haute température, elle permet d'identifier des constituants même à l'état de traces d'où ces dernier sont caractérisés par leur temps de rétention. La chromatographie en phase gazeuse est constituée de trois modules : un injecteur, une colonne capillaire dans un four et un détecteur. Il existe différents types de détecteur mais le spectromètre de masse tend aujourd'hui à supplanter tous les autres car il est le seul à fournir des informations structurales sur les composés séparés par chromatographie. (SKOOG et al, 2003)

I-8-2-La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse permet l'identification et la quantification des analytes. Il existe de nombreux types de spectrométrie de masse ; tous ont commun trois éléments : une source, un analyseur et un détecteur, la source est la partie du spectrometrie de masse ou sont produits des ions gazeux à partir des molécules introduites, et l'analyseur sépare les ions produits par la source en fonction de leur rapport masse sur charge, alors quel rôle du détecteur est double : détecter les ions proportionnellement à leur nombre et amplifier le courant correspondant (de l'ordre de 10 ⁻12 ampères) pour le rendre détectable par électronique de système. (SKOOG et al, 2003)(BOUCHONNET et al, 2000).

I-8-3-Le couplage CPG/SM

Le couplage CPG-SM consiste à réunir la colonne de chromatographe et le spectre de masse, soit en introduisant directement l'extrémité de la colonne dans la chambre d'ionisation, soit par le relais d'un capillaire de transfert chauffé placé entre le chromatographe et le spectre de masse. (ROUESSAC F et ROUESSAC A, 1992).

I-9-Emploi des huiles essentielles

Par leurs nombreuses et divers propriétés, les plantes aromatiques et leur essences trouvent leur emploi dans de multiple domaine telles que : la parfumerie, la pharmacie, l'agroalimentaire. (EL ABED et *al*, 2003)

I-9-1-En parfumerie:

C'est le débouché principal des huiles essentielles. L'industrie cosmétique et le secteur des produits hygiènes sont également des consommateurs, mêmes si le cout souvent élevé des produits naturels conduit parfois à privilégier, pour les formulations de grande diffusion, les produits synthétiques. (BRUNETON, 1999)

I- 9-2-En pharmacie:

Les huiles essentielles présentent des propriétés antiseptiques, digestives ou antispasmodiques et même sédatives. (GAZENGEL et ORECCHIONI, 1999). Il y en a aussi qui agissent sur le système nerveux central comme l'essence d'anis (calmante) et beaucoup d'entre elles favorisent la sécrétion du suc digestif (salive, liquide stomacal et intestinale et bile) et stimulent par conséquent l'appétit (HANS, 1977)

I-9-3-En industrie agro-alimentaire

Si certaines drogues sont utilisées en nature (épice et aromates) d'autre le sont sous le forme d'huile essentielle ou de rétinoïdes, complexes encapsulés.

L'aromatisation naturelle des produits alimentaires ne cesse de croitre aux dépens de composition aromatique de synthèse. (BRUNETON, 1999)

I-10-Précaution d'emploi

Les huiles essentielles doivent être pures et naturelle et conservé correctement leur indice aromatique. (SALLE, 1991).

Par précaution, il est recommandé de ne pas administrer d'huiles essentielles ou d'essence pendant les trois premiers mois de la grossesse et pendant la période de l'allaitement.

Avant tout utilisation chez un sujet allergique (allergie cutanée ou respiratoire), appliquer 1à 2 goutte d'huile essentielle pure au niveau de pli du coud, aucun irritation ne doit apparaître dans les quatre heures qui suivent. Ne jamais appliquer d'huile essentielle pure au niveau des yeux, de la muqueuse nasale. (ROUX, 2008)

I-11-La toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent occasionner de graves troubles comme l'huile essentielles d'anis (action convulsivante de l'anithole), huile essentielle de carvi (allergie due au carvone). (CHARPENTIER et al, 1998)

Certaines huiles essentielles présentent par voie locale un pouvoir irritant surtout sur la peau lésée (thym à thujanol, etc), phytotoxique (angélique,bergamote,etc.) ou allergisante (cannelle, ylang-ylang, géranium de chine, divers citrus, etc.). Certain de ces manifestations toxiques sont liée à la présence de composant fortement allergisants comme les terpènes, et les terpénoïdes qui sont des terpènes oxygènes, Parmi ceux –ci, on trouve par exemple : les alcools, des aldéhydes et des cétones. (ROUX, 2008)

I-12-La conservation des huiles essentielles

L'huile essentielle se conserve parfaitement bien durant quelques années, à l'abri de la chaleur et la lumière. On a d'ailleurs retrouvé des essences dans les doubles jarres en terre cuite dans les pyramides d'Egypte. Des flacons en verre teinté sont nécessaires à la bonne conservation des huiles essentielles. Après un an ou deux, on n'utilise plus des huiles essentielles en traitement interne. Elles peuvent toute fois servir dans les diffuseurs d'aromes sans inconvénient.

L'eau florale est très fragile et ne se conserve pas longtemps, elle doit être déposée dans des flacons de verre teinté à l'abri de la chaleur, et ce pour une période d'environs trois mois. (HAURD, 1999)

D'après **SALLE (1991)**, elles se conservent à une chaleur ambiante, sauf les huiles essentielles d'orange, de mandarine, de pamplemousse, de citron, de limette (toutes les huiles essentielles qui sont obtenus par expression froid). Ces dernières se conservent à 3 à 4°C. Les huiles essentielles se conservent entre 12 et 18 mois

d'après leur fabrication. Avec ce temps leur propriétés diminuent et deviennent alors inactive.

I-13-Propriétés pharmacologique des huiles essentielles

Il convient de souligner que l'éventail des propriétés attribuées (et parfois expérimentalement démontré) aux drogues à huiles essentielles et aux huiles essentielles elles même est trop large pour permettre des généralisations simplificatrices (BRUNETON, 1999)

I-13-1-Activité antimicrobienne:

En phytothérapie, les huiles essentielles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, comme les bactéries endocanalaires ou la microflore vaginale, et d'origine fongiques, comme les dermatophytes, les moisissures allergisantes ou les champignons opportunistes. (BILLERBECK V-G ,2007).

I-13-1-1-Activité antibactérienne

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (LAIB, 2011 in Carson et al, 2002). De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des huiles essentielles sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (LAIB, 2011 in Davidson, 1997). Le mode d'action des huile essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (LAIB, 2011) in (Cox et al, 2000) (Carson et al, 2002)

I-13-1-2-Activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agro alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes

envahissant la denrée alimentaire. (LAIB, 2011 in LIS-BALCHIN, 2002). Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des Labiatae : (thym, origan, lavande, menthe, romarin, etc...). Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possible synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de huile essentielle. Ainsi l'activité fongistatique de composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques. (VOKOU et al., 1988)

I-13-1-3-Pouvoir antiseptique

Ce pouvoir antiseptique s'exerce à l'encontre de bactéries pathogènes variées, y compris des souches habituellement antibiorésistantes. Certaines huiles essentielles sont également actives sur les champignons responsables de mycoses et sur les levures (Candida). (BRUNETON, 1999)

Les huiles essentielles sont bactéricides, à savoir plusieurs essences ont un pouvoir anti-infectieux. Depuis la découverte de leurs constituants (phénol, terpènes, alcools, etc), les huiles essentielles ont toujours été considérées comme ayant des pouvoirs antiseptiques. Le pouvoir antiseptique des essences ne s'estompe pas, ne s'amoindrit pas avec le temps. Les essences empêchent la reproduction microbienne, c'est là leur pouvoir antiseptique.

Pour une action antiseptique topique s'exerce au niveau de la peau ou des phanères, luttant ainsi contre les petites infections. (ROUX, 2008)

I-13-2-Activité anti inflammatoire

Les huiles essentielles à activité anti inflammatoire ont pour principe actifs des esters terpéniques (salicylate de méthyle, acétate de néryle) ou des aldéhydes terpéniques (citronnellal, géranial). (OLLIER ,2011).

Les huiles essentielles sont également utilisées pour soigner les maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite (MEBARKI, 2010 in INOUYE et al, 2007). Le potentiel thérapeutique très varié des huiles essentielles a attiré, ces dernières années, l'attention de chercheurs quant a leur possible activité contre le cancer. De fait que les huiles essentielles et leurs constituants volatils font dorénavant l'objet d'études dans la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux. (MEBARKI, 2010 in ENDRIS, 2007)

I-13-3-Activité antioxydante

Les propriétés antioxydantes des huiles essentielles sont depuis peu massivement étudiées. Les huiles essentielles de cannelle, muscade, clou de girofle, basilic, persil, origan et thym possèdent de puissants composés antioxydants (MEBARKI, 2010 in ENDRIS, 2007). Le thymol et le carvacrol sont les composés les plus actifs. (DJABOU, 2006)

L'activité antioxydante des huiles essentielles est également attribuée à certains alcools, éther, cétones et aldéhydes monoterpéniques. (MEBARKI, 2010 in ENDRIS, 2007)

I-13-4-Propriétés spasmolytiques et sédatives

De très nombreuses drogues à huiles essentielles (menthe, verveine...) sont réputées efficaces pour diminuer ou supprimer les spasmes gastro-intestinaux. Il est fréquent qu'elles stimulent la sécrétion gastrique d'où les qualifications de « digestives» et de «stomachiques» qui leur sont décernés. Avec touts les conséquences qui peuvent découler de cette « eupepsie » amélioration de certaines insomnie et de troubles psychosomatiques divers diminution de la « nervosité », etc. Ces effets bénéfiques divers expliquent sans tout que les médecines populaires et les thérapeutiques « douces » et de « terrain » fassent un très large usage de ces drogues. (BRUNETON ,1999)

I-13-5-Propriétés irritantes

Utilisés par voie externe, les produits comme l'essence de térébenthine provoque une augmentation de la microcirculation, une rubéfaction importante, une sensation de la chaleur et dans certains cas, une légère action anesthésie locale. Les huiles essentielles déclencheraient des phénomènes d'irritation à différents niveaux. (BRUNETON, 1999)

I-13-6- Action synergique

Contrairement à l'homéopathie que l'on ne peut pas associer à l'allopathie, les huiles essentielles peuvent exercer une action synergique avec les autres traitements. Dans le cas d'une infection, l'antibiotique suspend la vie Bacille « endormi » tandis que l'huile essentielle l'achève. (SALLE, 1991)

I-13-7- Action hormonale

Certains végétaux possèdent des hormones sexuelles. Il est bon de les connaître, afin de ne pas donner d'hormones qui seraient préjudiciables à la santé du patient. Ex : la sauge a la propriété de régulariser le cycle féminin, elle possède une substance comparable à la folliculine (Valnet) ; le cerfeuil et le persil possèdent aussi des hormones qui régularisent le cycle féminin. Les huiles essentielles sont aux plantes ce que sont des hormones pour les glandes endocrines. (SALLE, 1991)

II- Les antibiotiques et les huile essentielles :

Les antibiotiques sont utilisés depuis les années 50. Leur efficacité est à l'origine de leur utilisation systématique .Cependant, plusieurs problèmes sont apparu suite à leur emploi massif (MATHLOUTHI, 2009).Selon l'OMS (2011) le développement de la résistance aux antibiotiques complique également le traitement d'une large gamme d'infections courantes en soins ambulatoires, telles que les infections des voies respiratoires et urinaires, les infections sexuellement transmissibles ou les infections d'origine alimentaire et hydrique. (BAKOU, 2011)

Un antibiotique peut exercer des effets néfastes sur les cellules eucaryotes. Cette toxicité se manifeste la plupart du temps quand la dose administrée est trop élevée ou lorsque le traitement est de longue durée. Par ailleurs, certains antibiotiques peuvent augmenter les effets toxiques d'autres médicaments en inhibant leur fixation, ou leur inactivation dans l'organisme.

Plusieurs organes du corps humain peuvent être affectés tels que : le foie, les reins, système nerveux central, la moelle osseuse, la peau, le tube digestive, les os. Quelques allergies peuvent aussi se développer (BENZEGGOUTA, 2005).

Selon **EL ARCH et al (2013),** les huiles essentielles *de Mentha rotundifolia* possèdent des propriétés antibactériennes et antifongiques.

Les huiles essentielles de *Thymus capitatus L.* présentent des activités antivirales, antiradicalaires et antioxydantes. (BEL HADJ SALAH-FATNASSI, 2010).

III- ARTEMISIA

III-1- Généralités

Les astéraceaes constituent l'un des plus vastes familles du règne végétales. Ce sont surtout des plantes herbacées assez souvent vivaces, caractérisées par leur inflorescence en capitule, une structure qui mime une fleur (BRUNETON,2005), l'un des genres de ca famille est : l'Atremisia qui appartient à un groupe utile des plantes médicinales et aromatiques comprenant un nombre variable d'espèce (de 200 à 400), le genre est largement répondus dans l'hémisphère nord (YOUNES et al,2012).

Il recouvre les nombreuses armoises et absinthes au sens large. On constate donc qu'au sein d'un même genre où les espèces sont nombreuses, la diversité chimique, l'activité pharmacologique, la toxicité, varient très largement (Tableau 1)

Tableau 1 : Exemple des propriétés pharmacologiques de différentes espèces d'Artemisia

Espèce	Composé chimique	Propriétés
	majoritaire	pharmacologique
Artemisia absinthum L	Thujone	Anthelminthique
		Eupeptique
		Emménagogue
		Convulsivant
Artemisia afrajacq	Cétones terpénique	Anticatarrhate
	α et β thujones	Anthelminthique
Artemisia annua L	Esters et cétones	Mycolique
	Terpéniques	
Artemisia arborescens L	Limonène, sabinéne,	Anti-inflammatoire
	chamazuléne	Antiallergique
Artemisia dracunuculus L	Chavicol, anéthol	Antispasmodique
		Neuromusculaire
		Antiviral, anti-infectieux

ROUX (2008)

III-2-Artemisia arborescens L.

III-2-1-Répartition géographique

Selon RAMEAU et *al.* (2008) l'aire de répartition est les rochers littoraux et sable et ouest et centre méditerranéenne. Cependant c'est au Maroc l'*Artemisia Arborescens* .L qui est nettement plus commune. Originaire d'Europe Méridionale, d'Asie Mineure et d'Afrique de Nord, elle est cultivée un peu partout dans les jardins Marocains (BOULLARD, 2001). En Algérie, où elle est souvent appelée Chiba, elle est très commun sur les coteaux et les rivages maritimes, dans les rocailles et les broussailles du littoral (AIT YOUCEF, 2006).

III-2-2-Description botanique

Cette espèce à tige ligneuse (OZENDA, 1983), présente des feuilles d'aspect soyeux et blanches sur les deux faces, les intérieurs trois fois divisé en lobes étroits et allongés, les supérieurs un ou deux fois (RAMEAU et al, 2008), elles sont persistantes petite à pétiole articulé (figure 01), très aromatiques ; elles sont portées par des rameaux dressés et rapprochés ; les fleurs à corolle glabre sont de couleurs gris jaunâtre en été ; les capitules sont disposés en grappes (figure 02). Les fruits sont des akènes glanduleux : la plante forme une remarquable boule vigoureuse et régulière de 40 à plus de 100 cm (OZENDA, 1983), l'odeur de tout la plante est particulière, très accusée et très aromatique et sa saveur est fortement amère et aromatique (AIT YOUCEF, 2006), la fleur est hermaphrodite et la floraison est au juin à juillet, elle pollinose par le vent (RAMEAU et al, 2008).



Figure 01 : Alternance des feuilles sur le pétiole de l'A.arborescens (AFKIR, 2011)



Figure 02: L'inflorescence d'A. arborescens (FRANCK LE DIRANT, 2011)

III-2-3-Composition chimique

L'huile essentielle de l'Artemisia arboresens contient les composes suivant : β -thuyone (de 39 à 74%) :c'est le composant majoritaire, du camphre (de 2 à 21%),

différents carbure terpénique : dont de l'α-pinène, β-cubébène, du myrcène du terpinène-4-ol, du cinéole-1,8 ; de chamazulène 0,6 à 6%. (AIT YOUCEF, 2006)

L'analyse de **BENMOKADEM (2002)** montre que la teneur des composés volatiles contenus dans les huiles essentielles des parties sommitales de l'*Artemisia arborescens* L. récolté de la wilaya de Blida est : sabinene (1.02%), myrcene (1.48), linalol (1.42%), β-thuyone (47.52%), camphre (10.93%), borneol (2.66%), spathulenol (4.10%), β- eudesmol (4.15%), chamazulene (3.97%).

Les travaux sur les huiles essentielles de l'*Artemisia arborescens* ont été déjà réalisés par plusieurs auteurs

Au Liban **(ELBEYROUTHY et** *al***, 2011)**, l'analyse chromatographie par GC/MS des huiles essentielles obtenu par hydrodistillation représente quarante trois composés (95.33%) de l'échantillon ont été identifié : le composant principale est β -thuyone (68,5%) suivi chamazulène (12,3%), et de quantité moindre de terpinéne-4-ol (1,8%), de myrcène (1,3%), de α -thuyone (1,2%), de linalol (1%), de cis-thuyanol-4-ol (1%), de carvacrol (0,9%), de β cubébène (0,8) et de camphre (0,8%).

Cependant les huiles essentielles des parties aériennes l'Artemisia arborescens récolté en Cinq localités différents de Sicile et analysée par GC-MS représentent les composants suivants : β thuyone (20,5-55,9%), chamazulèné (15,2-49,4%), camphre (1,3-10,7%). l'ensemble de ces composés chimiques influence les étapes phénologiques (MILITELLO et al, 2012).

III-2-4-Usage thérapeutique

La plante était employée en Afrique du Nord en usage interne, sous forme de décocté ou infusé, comme remède cholagogue et comme diurétique et en Egypte en usage interne comme vermifuge. (AIT YOUCEF, 2006)

Au Maroc, la plante était employée en usage interne, comme vermifuge et le rameau y est encore employé sous forme d'infusé (un petit rameau dans un théière), comme remède antispasmodique et tonique et réchauffant (AIT YOUCEF, 2006). Ainsi en infusion, elle jouit d'une réputation de « panacée » : apéritive, cholagogue, digestive, diurétique, emménagogue, fébrifuge (BOULLARD, 2001). La plante et / ou son rameau est reconnue et employée au Maroc pour ses propriétés

abortive à dose élevée, la plante était employée en usage externe sous forme de cataplasme, comme remède contre les morsures de serpente et les piqueur de scorpion. (AIT YOUCEF, 2006)

En Algérie la plante était employée, en usage interne comme remède antihelminthique. (AIT YOUCEF, 2006)

Les feuilles ont un intérêt thérapeutique, on les utilise plutôt en décoction dés le début d'une crise d'asthme (AIT YOUCEF, 2006). Artemisia arborescens à des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques, antihistaminiques, mucolytique. Il a indiqué pour cattarh bronchique et l'asthme, le problème de la peau. (YOUNES et al, 2012)

L'huile essentielle contenue dans les feuilles d'*Artemisia arborescens* est connue pour les propriétés antibactériennes grâce à la présence de chamazulène (SACCO, 1983), d'après les travaux de YOUNES et *al*, 2012, l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Artemisia arborescens* serait liée à leurs composants oxygénés de monoterpènes dont la teneur dépasse 50.9%. Elles ont une capacité d'empêcher la croissance bactérienne gramme positives et gramme négatives. YOUNES et *al*, 2012 ont montre in vitro que ces huiles essentielles ont une forte activité antibactérienne contre les souches : *Enterocoque faecalis* et le *Salmonella typhimurium*. Ces huiles essentielles ne sont pas efficaces sur la souche *E. coli*.

Notre travail consiste à l'étude de l'effet antibactérien des huiles essentielles de la partie aérienne des échantillons d'*Artemisia arborescens* provenant de deux localités différentes : Cherchell et Cap Djenet.

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche sur les plantes médicinales et aromatiques du département de sciences agronomiques de l'université de Saad Dahleb de Blida.

L'étude de l'effet antibactérien de ces huiles essentielles à été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'hôpital FRANTZ - FANON (Blida).

IV-1-Matériel

IV-1-1-Matériel Végétal

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne de l'espèce d'*A.arborescens* L. récolté au niveau de deux stations différentes.

IV-1-1-Présentation des stations de récolte

Les échantillons des plantes ont été récoltées au niveau de deux localités « Cap Djenet » et « Cherchell ».

*Cap Djenet : Cette localité se situe à 80Km à l'est d'Alger (Boumerdes). Elle est caractérisée par un terrain accidenté, dont le sol est lourd et recouvert d'une végétation assez dense. La station de récolte des échantillons se située à 8 mm d'altitude et d'une latitude 36° 55 N et longitude 3° 57 E. Le climat est froid et humide en hivers, chaud et sec en été avec une pluviométrie qui varie entre 800 et 1000mm par an. (Figure 03 et 04)



Figure 03 : La station de Cap Djenet



Figure 04 : Le site d'échantillonnage (Cap Djenet)

*Cherchell: le territoire de la commune de Cherchell est situé à 20 Km à l'ouest de la wilaya de Tipaza. Cherchell est une ville située à environ 90 Km de l'ouest d'Alger. La station de récolte des échantillons se située à 40m d'altitude et d'une latitude 30°36' et longitude 2°11' E. On considère qu'elle appartient à l'étage bioclimatique : sub humide. (Figure 05)



Figure 05 : La station de Cherchell

IV-1-1-2-Récolte des échantillons

Les échantillons des plantes ont été récoltés au stade préfloraison.

La première récolte a été réalisée le 2 mai 2012 à Cherchell. (Stade préfloraison)

La deuxième récolte a été réalisée le 10 mai 2012 à Cap Djenet. (Stade préfloraison)

IV-1-2-Les souches bactériennes

Ce sont des souches référenciées qui ont été fournies par le laboratoire de FRANTZ FANON, Blida (Tableau 2).

Tableau 2 : Souches bactériennes utilisées.

Souches	Références	Gram
Escherichia coli	ATCC25922	_
Klebssiella pneumonaea	Isolée d'un pus abdominal	_
Streptococcus pneumoniae	ATCC44619	+
Staphylococcus aureus MRSA+	ATCC25923	+
Staphylococcus aureus MRSA-	ATCC43300	+
Pseudomonas aeruginosa	ATCC27853	_

IV-1-3-Matériel non biologique (voir Annexe II)

IV-2-Méthodes d'étude

IV-2-1-Détermination de la matière sèche et la teneur en eau

On prend un échantillon frais de la partie aérienne d'*A. arborescens* juste après la récolte, on le pesé. Après séchage à l'étuve à 70°C pendant 24 heures. Le taux de la matière sèche est calculé selon la formule suivante :

$$M_S\% = (P_S/P_F)$$
. 100

M_S%= Pourcentage de la matière sèche.

P_S%= Poids sec de l'échantillon.

P_F= Poids frais de l'échantillon.

La teneur en eau est exprimée par la formule suivante :

100 - Ms = la teneur en eau

IV-2-2-Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles est faite par hydrodistillation. Les échantillons récoltés sont séchés à l'ombre dans une chambre aérée pendant 1 mois. Les parties aériennes séchées sont découpées en petits morceaux et pesés à l'aide d'une balance.

Principe

L'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. (BRUNETON, 1999)

Mode opératoire

On introduit 30g des échantillons de la partie aérienne d'*A.arborescens* coupés en petits morceaux dans un ballon de 500 ml, imprégné de 200ml d'eau distillé, l'ensemble est porté à l'ébullition pendant deux heures et demi à trois heures. Les vapeurs chargées d'huile essentielle se condensent et refroidis dans un serpentin.



Figure 06: Dispositif d'extraction par hydrodistillation

IV-2-3-Rendement des huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenu et la masse de la matière végétale utilisé. Le calcule se fait selon la formule suivant :

$$R(HE)=(M_{HE}/M_{MV}).100$$

R(HE): Le rendement en huile essentielle (%).

M HE: la masse d'huile essentielle en gramme.

M MV : la masse de la matière végétale en gramme.

IV-2-4-Activité antibactérien de l'huile essentielle

Pour le test antibactérien, nous avons utilisé la méthode d'aromatogramme.

La méthode d'aromatogramme

L'aromatogramme est une méthode de mesure in vitro le pouvoir antibactérien des huiles essentielles. Cet examen est donc l'équivalent d'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des huiles essentielles.

Principe

Un milieu gélosé est ensemencé avec une suspension bactérienne provenant d'un prélèvement biologique réalisé sur le patient (on peut également le faire sur une bactérie connue).

Des disques calibrés imprégnés d'une huile essentielle connue sont disposés sur le milieu ensemencé ; après 24 heurs d'incubation a l'étuve 37°C, la lecture sera effectuée. En cas d'activité de huile essentielle, une zone circulaire d'inhibition (halo d'inhibition) apparaître. (RAYNAUD, 2006)

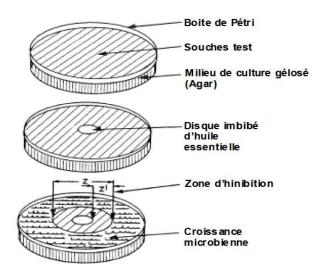


Figure 07 : Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri (Pibiri, 2006)

Mode opératoire

a) Préparation de l'inoculum

- *Réaliser une suspension bactérienne à partir de culture jeune de bactéries (18-24h), prélever quelques colonies isolées et incorporer dans 5 ml d'eau physiologique.
- *Agiter et homogénéiser la suspension manuellement.
- *6 tubes correspondant aux 6 souches utilisées ont été préparés
- *Mesurer la densité des suspensions bactériennes à l'aide de Densitomètre (0.5 Mac Farland pour chaque suspension).
- *Incubé les suspensions bactériennes dans l'étuve à 37°C pendant 20 à 25 mn.

b) Préparation des milieux de culture

- *Liquéfier les milieux de culture gélosés dans un bain marie à 95°C et garder la surfusion dans une étuve à 45°C.
- *Sous hotte à flux laminaire, verser aseptiquement les milieux de culture gélosés sur les boites de Pétrie en raison d'épaisseur 4mm de boite Pétrie.
- *Laisser refroidir et solidifier à température ambiante et conserver dans des conditions évitant toute modification de leur composition.

c) Ensemencement

- *Imbiber aseptiquement un écouvillon avec la suspension bactérienne.
- *Essorer l'écouvillon en pressant fermement et entourant sur la paroi interne du tube, afin de décharger du surplus de suspension.
- *Ensemencer aseptiquement une boite de Pétrie en forttant délicatement l'écouvillon sur la surface de la gélose en stries serées, répéter l'opération trois fois, en entourant la boite à 60°C de façon a croisé les stries, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

d) Dépôt des disques

- *Prélever aseptiquement un disque stérile de 6 mm avec une pince stérile.
- *Mettre en contacte le bout de disque avec huile essentielle pure, qui va être absorbée par le disque par capillarité.
- *Déposer le disque ainsi imbibé d'huile essentielle à la surface de la gélose, au centre de boite de Pétrie.
- *Incuber les boites à 37°C durant 24 h.

Nb : le travail s'est effectué prés d'un bec Bunsen (pour stériliser les instruments en les passants dans la flamme).

e) Lecture

- *Observer l'absence ou la présence de la zone claire autour des disques.
- *Mesurer avec précision le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des huiles essentielles.

- Non sensible () ou résistante : diamètre < 8mm.
- Sensible (+): diamètre compris entre 9 et 14 mm.
- Très sensible (++): diamètre compris entre15 et 19 mm.

• Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm. (Ponce et al, 2003)

V-1-La teneur en eau

Les résultats de la teneur en eau sont illustrés par la figure suivante :

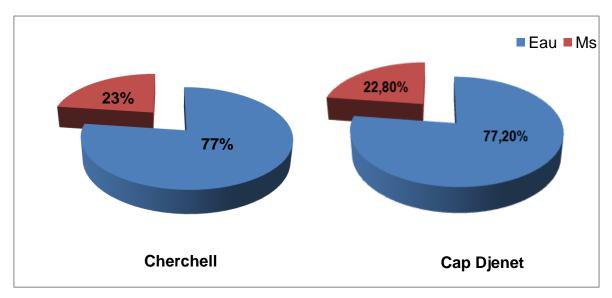


Figure 08: La teneur en eau des parties aériennes d'A. arborescens

Les résultats obtenus montrent que les parties aériennes d'*A. arborescens* contiennent 77% (Cherchell) à 77.2% (Cap Djenet).

V-2-Rendement des huiles essentielles

Les résultats du rendement en huile essentielle sont montrés dans la figure 09:

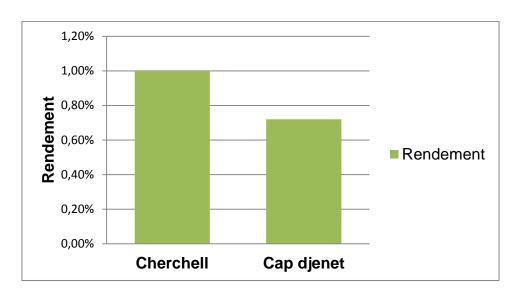


Figure 09: Rendement en huile essentielle obtenu par hydrodistillation.

D'après la figure 02 : nous distinguons nettement que les parties aériennes d'A. arborescens de la région de Cherchell donnent un rendement plus élevé (1%) par rapport à celui des parties aériennes des plantes de la région de Cap Djenet (0.72%).

D'après les résultats obtenus par **ZEDDAM (2012)**, le rendement des huiles essentielles d'*A.arborescens* récolté au niveau de deux station : (Bouinane et Bougara) est compris entre (1-2%).

AFKIR (2011), en travaillant sur les huiles essentielles d'*A.arborescens* des trois stations : Bouinane, Bougara, Cap Djenet a obtenu un rendement au stade feuillaison, Cap Djenet (1.4%).

D'autre part, les travaux de **HURABIELLE et al.**, **1982** sur l'espèce d'origine d'Espagne ont montré que le rendement des huiles essentielles obtenu par la méthode d'entrainement à la vapeur d'eau est plus faible (0.35%) pour le stade feuillaison .

Dans notre cas, la variation du rendement peut être expliqué par l'altitude (8 m pour Cap Djenet, et 40m Pour Cherchell), et par le climat (humide pour Cap Djenet et sub-humide pour Cherchell). Selon **GILLY(1997)** et **BRUNETON** (1999) le rendement des huiles essentielles au sein d'une même espèce peut être liée à plusieurs facteurs : l'écologie de la plante, le cycle végétatif, les méthodes d'extractions.

V-3-Caractères de couleur, d'odeur et de viscosité

Les huiles essentielles d'*A.arborescens* récolté dans les deux stations Cherchell et Cap Djenet sont caractérisées par une couleur bleu foncé **(Figure10)**, avec une odeur intense. Ce sont des huiles plus au moins visqueuses et mobiles.

Selon **AIT YOUCEF(2006)** la couleur bleu est dû à la présence de Chamazulène.



Figure 10: Huile essentielle d'A.arborescens

V-4-Etude de l'effet antibactérien :

La méthode de diffusion des disques (aromatogramme), nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des huiles essentielles des parties aériennes d'A.arborescens L. vis-à-vis de six bactéries potentiellement pathogènes sur l'homme. Cette étude est basée sur la mesure du diamètre des halos d'inhibition des disques imprégnés des huiles essentielles. Les résultats du pouvoir antibactérien des huiles essentielles des deux régions Cap Djenet et Cherchell sont montrés dans le Tableau 3 et les figures 11 et 12 (annexe IV).

Tableau 3: Diamètres des zones d'inhibitions des huiles essentielles

	Huile essentielle		Huile essentielle	
	d'A.arborescens de Cap Djenet		d'A.arborescens de Cherchell	
Souches	Diamètres ZI	Interprétation	Diamètres ZI	Interprétation
	(mm)		(mm)	
E.coli	10	(+)	Inferieur à 8	(-)
K.pneumoniae	9	(+)	Inferieur à 8	(-)
S.pneumoniae	13	(+)	Inferieur à 8	(-)
P.aeruginosa	Inferieur à 8	(-)	Inferieur à 8	(-)
S.aureus	14	(+)	Inferieur à 8	(-)
MRSA+				
S.aureus	16	(+ +)	9	(+)
MRSA-				

(-) résistante

(+) sensible

(+ +) très sensible

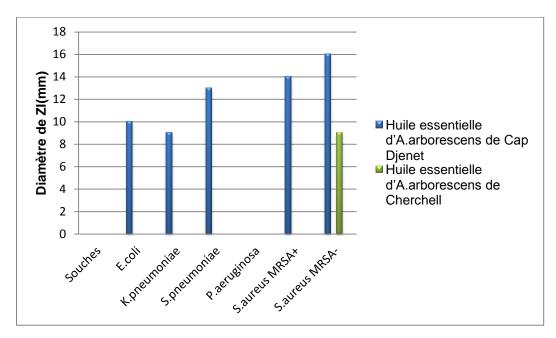


Figure 11 : Représentation du diamètre des ZI des huiles essentille d'A.arboresens provenant de deux région étudiées.

D'après le Tableau 3 et la figure 11 , nous pouvons dire que les huiles essentielles d'*A.arborescens* provenant des régions étudies présentent en général une faible activité antibactérienne (ne dépassant pas un diamètre de 16 mm de la zone d'inhibition) vis-à-vis des souches testés, cependant nous distinguons nettement une supériorité pour l'huile essentielle des espèce de Cap Djenet (zone humide) (zone d'inhibition moyen :9 à 14mm) par rapport à celle des plantes de Cherchell (zone sub-humide) où la plupart des souches bactériennes montre une résistance totale exception faite pour la souche bactérienne *S.aureus MRSA*- qui présente une faible sensibilité (diamètre d'inhibition : 9mm).

Nous distinguons également que l'huile essentielle des plantes provenant de Cap Djenet (zone humide) montre une activité antibactérienne plus ou moins importante sur l'ensemble des souches testées, exception faite pour la souche *P.aeruginosa* qui est revenue résistante (diamètre d'inhibition est inferieur à 8 mm).

La souche *K.pneuminae* est faiblement sensible à notre huile essentielle, d'après les donnés de laboratoire du microbiologie de l'unité centrale de l'hôpital FRANTZ FANON cette souche est résistante à plusieurs antibiotiques : Ampicilline, Céfazoline, Amox+ Ac ciavulanique, Céfotaxime, Ciprofloxacine. De même la souche *S.pneumoniae* qui est résistante à l'antibiotique Oxacilline montre une sensibilité à notre huile essentielle (diamètre d'inhibition : 13mm). Nous notons également que l'huile essentielle d'*A.arborescens* provenant de Cap Djenet présente une activité vis-à-vis la souche *S.aureus* MRSA+ qui est multirésistante et responsable d'un grand nombre d'infections nosocomiales, mais également d'une infection communautaire et pouvant confronter le clinicien à une importante thérapeutique.

D'après ces derniers résultats, nous pouvons dire que notre huile essentielle pourrait représenter une alternative à l'antibiothérapie.

Les huiles essentielles des échantillons provenant de Cherchell (zone subhumide) est caractérisée par une absence d'activité antibactérienne pour la plupart des souches étudiées sauf *S.aureus MRSA*- qui montre une faible sensibilité a cette huile essentielle (diamètre d'inhibition : 9 mm).

D'après **ELBEYROUTHY et al (2011)** les huiles essentielles d'*A.arborescens* de Liban possèdent une faible activité antibactérienne.

D'après **YOUNES** et *al*, 2012 l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Artemisia arborescens* serait liée à leurs composants oxygénés de monoterpènes dont la teneur dépasse 50.9%. Elles ont une capacité d'empêcher la croissance bactérienne gramme positives et gramme négatives.

P.areuginosa a déjà montré une résistance aux huiles essentielles d'A.campstris et A.herba alba récolté à Tunisie. E.coli est sensible à l'huile essentielle d'A.campstris et modérément sensible à l'huile essentielle d'A.herba alba. K.pneumoniae est légèrement sensible à l'huile essentielle d'A.campstris et résistante à huile essentielle d'A.herba alba. S.aureus est légèrement sensible à l'huile essentielle d'A.campstris et très sensible à l'A.herba alba. L'huile essentielle d'A.herba alba est plus efficace que l'antibiotique gentamicine contre S.aureus. AKROUT et al (2010)

Au cours de ce travail. Nous nous sommes intéressées à l'évaluation du rendement des huiles essentielles d'*Artemisia arborescens* obtenu par la méthode d'hydrodistillation, à partir des plantes provenant de deux régions d'Algérie. L'effet antibactérien des huiles essentielles obtenues à été étudiée également sur six souches bactériennes.

Le rendement obtenu donne une valeur de 1% pour les plantes provenant de la région de Cherchell, et de 0.72% pour les plantes provenant de la région de Cap Djenet.

L'étude de l'activité antibactérienne par la méthode d'aromatogramme, nous a permis de conclure que l'huile essentielle des espèces provenant de Cap Djenet est plus efficace que celle des espèces apparentant à Cherchell.

Les souches bactériennes testées : *E.coli, K.pneumoniae*, *S.pneumoniae*, *S.aureus MRSA*+, *S.aureus MRSA*- sont plus au moins sensibles aux huiles essentielles des plantes provenant de Cap Djenet exception faite pour la souche *P. aeruginosa* qui est résistante à ces huiles essentielles.

Les souches bactériennes: *E.coli, K.pneumoniae, S.pneumoniae, P. aeruginosa, S.aureus MRSA*+ sont résistantes aux huiles essentielles des espèces provenant de Cherchell exception faite pour la souche *S.aureus MRSA*- qui est légèrement sensible à ces huiles essentielles.

Nos résultats ont montré que l'huile essentielle d'*Artemisia arborescens* présente un effet antibactérien plus au moins faible sur les souches bactériennes (*K.pneuminae*, *S.pneumoniae*) qui sont résistantes à certains antibiotiques.

Notre étude doit être complétée par :

- Une étude qualitative des huiles essentielles afin d'identifier les composants et les principes actifs responsables de l'activité antibactérienne.
- Une étude pédologique et climatique des sites d'échantillonnages, en vue d'expliquer la différence de rendement.

- **AFKIR K., 2011.** Productivité des huiles essentielles de deux espèces d'Artemisia : A. arborescens et A. herba alba en provenance de trois sites : Blida, Boumerdes et Djelfa. Mémoire de magister. Université de Blida, Département des sciences agronomiques. Algérie, Pages 115.
- AIACHE J-M., CARNAT A-P., COUDERT P., TEULADE J-C., 2001. Source actuelle et future du médicament, chimie du médicament, Edition El SEVIER, Masson, Pages 225.
- **AIT YOUCEF M., 2006.** Plantes médicinales de Kabylie, Edition Ibis presse, Paris, Pages 349.
- AKROUT A. EL JANI H., AMOURI S., NEFFATI M., 2010. Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *artemisia campestris* I., *artemisia herba* alba asso, & *thymus capitatus* hoff. Et link. Growing wild in the southern of Tunisia, Institut Supérieur de Biotechnologie, Monastir, Tunisia, Recent Research in Science and Technology Vol 2(01): pp29–39.
- **BAKOU., 2011:** Plan d'action stratégique européen sur la résistance aux antibiotiques. Organisation mondiale de la santé, bureau régional de l'Europe.
- BEL HADJ SALAH-FATNASSI K., SLIM-BANNOUR AMIRA., HARZALLAH-SKHIRI F., MAHJOUB M., MIGHRI Z., CHAUMONT J-P., AOUNI M., 2010:

 Activités antivirale et antioxydante in vitro d'huiles essentielles de Thymus capitatus (L.) Hoffmans. & Link de Tunisie, ACTA BOTANICA GALLICA, Vol 157, issus 3, pp 433-444.
- **BENMOKADEM N., 2002.** Contribution à l'étude des profils des huiles essentielles produits chez quelques espèces spontanées algériennes du genre Artemisia. Mémoire de magister. Université de Blida, Département des sciences agronomiques, Algérie, Pages 76.

- BENZEGGOUTA N., 2005. Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles
 Infusées de Quatre Plantes Médicinales connues comme Aliments. Thèse
 Magister en Pharmacochimie. Université Mentouri de Constantine. Institut de
 Chimie, Algérie, Pages 153.
- **BILLERBECK V-G., 2007.** Huile essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques phytothérapie ; vol 5 ; Pages 249-253.
- **BLAGHEN M., TALBI M., 2013.** Composition chimique et activités antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de Mentha rotundifolia du Maroc. ACTA BOTANICA GALLICA, Laboratoire de Microbiologie, Biotechnologie et Environnement, Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca, Maroc.
- **BOUCHONNET S &LIBONGD., 2000.** « Le couplage chromatographie en phase gazeuse- spectrométrie de masse ». Département de chimie, laboratoire des mécanismes réactionnel .Maroc. Pages 24.
- BOUDJOUREF M, 2011. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L. Thèse de Magister. Université Ferhat Abbes, Sétif. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Département de Biochimie, Algérie, Pages 99.
- **BOULLARD B., 2001**. Plantes médicinales du monde : croyance et réalité. Edition ESTEM de Boeck Secundair, Pages 636.
- **BRUNETON J., 1987**. Eléments de Phytochimie et de pharmacologie. Edition Lavoisier. Technique et documentation. Paris, Pages 585.
- **BRUNETON J., 1993.** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales, Edition technique et documentation, 2eme édition Lavoisier. Paris, Pages 915.

- **BRUNETON J., 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plante médicinales. Edition technique et documentation, 3eme édition Lavoisier. Paris, Pages 1120.
- **BRUNETON J., 2005.** Plante toxique : Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Edition technique et documentation, 3eme édition Lavoisier. Paris, Pages 618.
- CHARPENTIER B., HAMON-LORLEAC'H F., HARLAY A., HUARD A., RIDOUX L.

 1998.Guide du préparateur en pharmacie. Edition Masson. Paris, Pages 1242.
- **DELORME C., DUCHESNE J., LUSSIER MD N., 2011 :** Guide d'utilisation des antibiotiques, 5e édition. Hôpital Charles Lemoyne « centre affilié universitaire et régional de la Montérégie ».
- **DJABOU N., 2006**. Sambucus Nigra L., une plante de la pharmacopée traditionnelle Nord Africaine- Thèse de Magister, université Abou-Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie. Pages 132.
- **EL ABED D., KAMBOUCHE N., 2003**. Les huiles essentielles, Editions DER ELGHARB, ORAN, Pages 91.
- EL ARCH M., SATRANI B., FARAH A., BENNANI L., BORIKY D., FECHTAL M.,

 BLAGHEN M., TALBI M., 2013. Composition chimique et activités antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc. ACTA BOTANICA GALLICA, Laboratoire de Microbiologie, Biotechnologie et Environnement, Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca, Maroc.
- EL BEYROUTHY M., ARNOLD-APOSTOLIDES N., LABAKI M., CAZIER F.,
 NAJM S., ABOUKAÏS A., 2011. Chemical composition of the essential oil of the
 Artemisia arborescens I. growing wild in Lebanon. Lebanese Science Journal,
 Vol. 12, N°1. P 71-78.

- <u>FloreAlpes</u>: Artemisia arborescens L., 1763 / Armoise arborescente / Asteraceae <u>Fiche...</u> <u>www.florealpes.com</u> (18-09-2013)
- **GARRETA R., 2007**. Des simples à l'essentiel : de l'herboristerie à l'aromathérapie, pratiques et représentation des plantes médicinales. Edition Presses universitaires du Mirail, Pages 367.
- **GILLY G., 1997.** Les plantes à parfum et les huiles essentielles à Grasse. Edition l'Harmanttan. Paris, Pages 428.
- **HANS F., 1977**. Petite guide panoramique des herbes médicinales, 3 eme edition DELACHAX et NIESTLE S.A. Edition Paris, Pages 187.
- **HUARD D., 1999**. Les huiles essentielles : l'aromathérapie. Edition Québecor, Pages 197.
- HURABIELLE M., BASTARTMALSOT M., ROUGEOT E., PARIS M., 1982.

 Contribution a l'étude chimique de l'huile essentielle d'Artemisia arborescens,

 Université de Paris-Sud, Faculté de Pharmacie, Laboratoire de

 Pharmacognosie, Paris, France, Vol. 44, pp. 47-49.
- **LAIB I., 2011.** Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs. Thèse de Magister. Université de Mentouri de Constantine, faculté des sciences exactes, département de chimie, Algérie, pages 122.
- **LUTTGE U., KLUGE M., BAUER G., 2002**. Botanique : traité fondamental, 3eme Edition Lavoisier. Paris, Pages 600.
- MATHLOUTHI N., BOUZAÏENNE T., OUESLATI I., RECOQUILLAY F., HAMDI M., BERGAOUI R., 2009 : effet de deux préparations d'huiles essentielles sur la croissance des bactéries in vitro et les performances du poulet de chair, Huitièmes Journées de la Recherche Avicole, St Malo.

- **MEBARKI N., 2010**. Extraction de l'huile essentielle de Thymus fontanessii et application à la formulation d'une forme médicamenteuse antimicrobienne. Thèse de magister. Université de Boumerdes, département génie des procédés chimiques et pharmaceutiques, Algérie, Pages 185.
- **MESSAI L., 2011**. Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est algérien (*artemisia herba alba*).thèse de docorat. Université mentouri de Constantine, faculté des sciences exactes, département de chimie, Algérie, Pages104.
- MILITELLO M., CARRUBBA A., BLAZQUEZ M-A., 2012. Artemisia arborescens L.: essential oil compostion and effects of plant growth stage in some genotype forme sicily. Journal of essentielle oil, Vol. 24, N°3. Pages 229-235.
- **OLLIER C., 2011**. Conseil en phytothérapie. 2eme Edition, Edition Wolters kluwer France, Pages 178.
- **OZENDA P., 1983.** Flore de Sahara. Edition centre national de recherche scientifique .2eme Edition, Paris, Pages 662.
- **PIBIRI M-C., 2006.** Assainissement microbiologie de l'air et de système de ventilation au moyen d'huile essentielles. Ecole polytechnique Fédérale de Lausanne, Suisse, Pages 161.
- **PONCE A-G., FRITZ R., DEL VALLE C. & ROURA S.I.,2003.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swisschard. Lebensmittel-Wissenschaft and technologic, 36, 679-684.
- **RAMEAU J-C., DUME G., 2008**. Flore française : guide écologique illustré, région méditerranéenne, Edition institut pour le développement forestier, Pages 2426.
- **RAYNAUD J., 2006**. Prescription et conseil en aromathérapie, Edition médicales internationales, Pages 247.

- **RICHTER G., 1993**. Métabolisme des végétaux-physiologie et biochimie. Edition PRESSES polytechniques et universitaires romandes, Pages 526.
- **ROUESSAC F., ROUESSAC A., 1992**. Analyse chimique, méthodes et techniques instrumentales modernes. Ed Masson.Paris, Pages 295.
- **ROUX D., 2008**. Conseil d'aromathérapie, 2eme Edition, Edition Wolters Kluwer. France, Pages 187.
- **SACCO T., FRATTINI C. & BICCHI C., 1983.** "Constituents of Essential Oil of *Artemisia arborescens*", V.47, N°1, P49-51.
- **SALLE J L., 1991**. Les huiles essentielles synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Edition Frison-Roche. Paris, Pages 167.
- **SKOOG D., HOLLER G., NIEMAN F., 2003**. Principe d'analyse instrumental, 5eme Edition. Edition Bocker university, 5. Maroc, Pages 956.
- **TAN R. X., ZHENG W. F., TANG H. Q., 1998**: Biologically Active Substances from the Genus Artemisia.Institute of Biotechnology. Department of Biological Science & Technology, Nanjing University, Nanjing, P. R. China.
- VOKOU D., KOKKINI S., BRESSIER J.M., 1988. Origanum onites (Lamiaceae) in Grec Distribution, Volatile oil yield, and composition Econmy botanic.42, issue 3, P407-412.
- YOUNES K., MERGHACH S., DJABOU N., MERGHACH DJ., MUSELLI A., BOUFELDJA T., COSTA J., 2012. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of a new essential oil chemotype of Algerian Artemisa Arborescens L., Laboratory of Natural and Bioactive substances (LASNABIO), Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Aboubekr Belkaïd, P. O. Box 119, Tlemcen, Algeria.

ZEDDAM H., 2012. Caractérisation des populations des huiles essentielles de l'Artemisia arborescens de la Mitidja (Bouinane et Bougara). Thése de Master. Université de Blida, département des sciences agronomiques, Algérie.

Annexe I

Tableau 4 : La valeur de la matière sèche et de la teneur en eau au cour de stade de préfloraison

On a pesé 20g de la matière fraiche

Stade	localités	
	Cherchell	Cap Djenet
Préfloraison	Eau = 77% Ms = 23%	Eau =77,2% Ms =22,8%

Tableau 5 : Rendement en huile essentielle de deux régions Cherchell et Cap Djenet

Régions	Cherchell	Cap Djenet
Volume des huiles essentielles	$E_1=0.3$ $E_2=0.3$ $E_3=0.3$ $\sum = 0.9$	$E_1=0.25$ $E_2=0.20$ $E_3=0.20$ $\sum = 0.65$
Rendement	1%	0 .72%

Annexe II

Matériel non biologiques

Appareillage	Verreries et autres	Réactif et solution
-Balance analytique -Réfrigérant -Bain marie -Bec Bunsen -Etuve d'incubation -Densitomètre	-Ballon de 500 ml -Pipette Pasteur -Tubes à essai stériles -Boites de Pétrie -Disque en papier buvard (6mm) -Seringue -Ecouvillons -Pince de laboratoire -Pied à coulisse	-Eau distillée -Eau physiologique

Annexe III

Milieux de cultures utilisées

Mueller Hinton

La composition en grammes par litre d'eau distillée.

- Infusion de viande de boeuf : 300 ml.
- Hydrolysat de caséine : 17,5 g.
- Amidon: 1,5 g.
- Agar: 17g.
- Eau distillée (qsp) 1L.
- pH:7.4

Ce milieu est utilisé pour l'aromatogramme.

> Gélose au sang frais

La composition en grammes par litre d'eau distillée.

- Infusion de cœur et de muscle : 375g.
- Bothoicone: 10g.
- Chlorure de Sodium : 5g.
- Gélose : 15g.
- pH:8.3

Ce milieu est utilisé pour l'isolement de S.pneumonia.

> Milieu Chapman

La composition pour 1 litre :

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

Ce milieu est utilisé pour l'isolement de S.aureus.

Milieu hektoen

La composition pour 1 litre :

Peptone de viande : 12 g

• Extrait de levure : 3 g

• Sels biliaires : 9 g

• Chlorure de sodium : 5 g

• Thiosulfate de sodium : 5 g

Citrate de fer ammoniacal : 1.5 g

• Lactose: 12 g

Saccharose: 12 g

Salicine : 2 g

Bleu de bromothymol : 64 mg

• Fuchsine acide: 0.40 mg

Agar bactériologique : 13.5 g

• pH = 7.5

Ce milieu est utilisé pour l'isolement de P.aeruginosa.

4-Gélose nutritive

La composition en g.L-1 d'eau distillée :

- Peptone pancréatique d'organe 10.
- Extrait de viande 10.
- Chlorure de sodium 5.
- Agar 20.
- pH = 7.5.

Ce milieu est utilisé pour l'isolement de *E.coli, K.pneumoniae, S.aureus, P.aeruginosa.*

Annexe IV

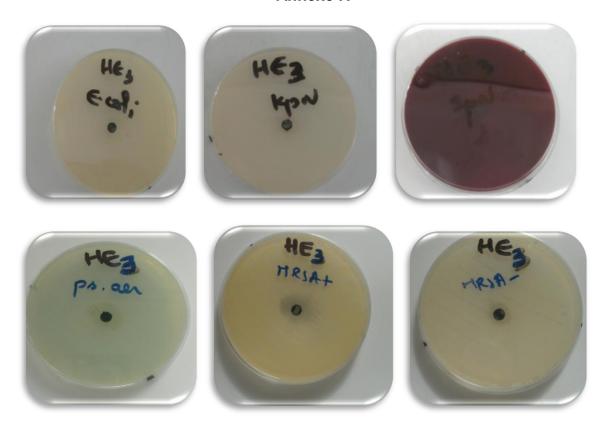


Figure 11 : Action des huiles essentielles de la région de Cap Djenet sur les souches bactériennes



Figure 12 : Action des huiles essentielles de la région de Cherchell sur les souches bactériennes

Annexe V



Figure14 : Densitomètre.



Figure15 : Etuve réglé au 37°C.



Figure 16: Bain marie

Annexe VI

Profile de résistante des bactéries vis-à-vis des antibiotiques

Souches	Antibiotiques	Diamètre de ZI	Interprétation
	Ampicilline	< 06 mm	Résistante
	Céfazoline	< 06 mm	Résistante
	Amoxicilline +	< 06 mm	Résistante
	acide ciavulanique		
Klebsiella sp	Cefotaxime	< 06 mm	Résistante
	Céfoxitine = (S)	24 mm	Sensible
	Ciprofloxacine	< 06 mm	Résistante
	Colistine (S)	15 mm	Sensible
	Gentamicine	17mm	Sensible
	Amikacine	15mm	Résistante
	Rifamycine	30mm	Sensible
	Erythromycine	30mm	Sensible
	Oxacilline	11 mm	Résistante
S.pneumoniae	Vancomycine	20mm	Sensible
	Cotrimoxazole	26 mm	Sensible
	Clindamycine	25 mm	Sensible
	Pénicilline	30mm	Sensible
	Oxacilline	21mm	Sensible
	Céfoxitine	24mm	Sensible
S.aureus	Gentamicine	24mm	Sensible
MRSA-	Amikacine	21mm	Sensible
	Erythromycine	24mm	Sensible
	Clindamycine	25mm	Sensible
	Rifamycine	32mm	Sensible
	Cotrimoxazole	27mm	Sensible
	Ticarcilline	22mm	Sensible
P.aeruginosa	Pipéracilline	25mm	Sensible
	Ceftazimide	25mm	Sensible

	Aztréonam	26mm	Sensible
	Amikacine	18mm	Sensible
	Tobramycine	22mm	Sensible
	Ciprofloxacine	30mm	Sensible
	Ampicilline	21mm	Sensible
	Céfazoline	24mm	Sensible
	Céfotaxime	31mm	Sensible
	Céfoxitine	24mm	Sensible
E.coli	Amikacine	19mm	Sensible
	Colistine	14mm	Sensible
	Ciprofloxacine	30mm	Sensible
	Acide nalidixique	26mm	Sensible
	Cotrimoxazole	24mm	Sensible