

# الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun –Tiaret-  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

**Domaine: "Sciences de la Nature et de la Vie"**

**Filière: "Biologie"**

**Spécialité: " Amélioration des plantes "**

**Présenté et soutenu publiquement par**

HADJ CHAIB Radia

KRIM Fatiha

## THÈME

**Etude de l'activité antibactérienne d'huile essentielle de l'armoise  
blanche (*Artemisia herba alba* Asso)**

### JURY:

<b>Président :</b>	Mr.CHOUIM K.	MAB. Faculté SNV Tiaret
<b>Promoteur :</b>	Mr. MAGHNI B.	MAB. Faculté SNV Tiaret
<b>Co-promoteur :</b>	Mr. ADDA A.	Pr. Faculté SNV Tiaret
<b>Examinatrice :</b>	M <sup>me</sup> . MOKHFI F.	MAB. Faculté SNV Tiaret

**Année universitaire: 2014 –2015**

## *Dédicaces*

*Merci ALLAH de m'avoir donnée la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu' 'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire « ya kayoum »*

*Je dédie ce mémoire a celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère ;*

*A mon père école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et a me protège,*

*A m'adorable sœur chahrazed*

*A mes chers frères ; Ahmed et Abdelhak*

*A toute la famille Hadj chaib*

*A tous mes ami(e)s ; Belkhdja Leila ; Ghlamallah Yassia ; Bouzid Assia ; Benzerouk Nadya ; Djellil Soumia ; Bouziane Samia ; Bouhali Zahra ; Mahydin Sarah et Krim Fatiha.*

*A tous ceux que j'aime et que j'estime, ceux qui me sont chères ; je dédie ce mémoire*

*Hadj chaib radia*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes chers parents, source inépuisable de soutien et d'affection inconditionnels,*

*À tous mes professeurs sans qui sa réalisation n'aurait pu être possible,*

*À tous les étudiants du département de science de la nature et de la vie*

*À mes chers frères et sœurs*

*À toute la grande famille*

*À mes amies sans exception*

*Et à tous ceux qui y ont contribué.*

*Krim fatiha*

## *Remerciement*

*Tout d'abord, louange à « ALLAH » qui nous a guidés sur le droit chemin tout au long de notre travail et qui nous a inspiré les bons pas et les justes réflexes.*

*Nos sincères remerciements à Monsieur : MAGHNI Benchohra qui nous 'a fait confiance en nous proposant ce sujet fort intéressant. Nous le remercions de nous avoir guidés pendant toute sa réalisation, ainsi pour sa sagesse et sa bonté.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à Mr CHOUIM Kada, Maître assistant à l'Université de Tissemsilt d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à Mme MOKHFI Fatima Zohra, Maître Assistant B à l'Université de Tiaret pour sa précieuse aide et ses conseils, et pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.*

*Nous tenons également à adresser mes vifs remerciements à Mr ADDA Ahmed, Professeur à l'Université de Tiaret pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire partie de jury.*

*A tous les ingénieurs des laboratoires de physiologie végétale ; protection des végétaux ; écologie végétale ; biochimie ; microbiologie et amélioration des plantes.*

*Nous tenons à présenter nos remerciements à toute personne qui nous a encouragés de loin ou de près pour réaliser notre mémoire de fin d'étude.*

*Merci a vous tous ...*

الهدف من هذا العمل هو دراسة النشاط المضاد للبكتيريا من الزيت العطري المستخرج من أوراق الشيح .  
بالنسبة للمردود فان كمية الزيت العطري المستخلص عن طريق التقطير المائي كانت تمثل نسبة 1% للشيح , 3.16 % فيما يخص الزعتر و 0.76% بالنسبة لإكليل الجبل .  
الاستفادة المثلى من طريقة النشر على القرص لتقييم نشاط مضاد للجراثيم سمحت لنا أن نتكون طبقة بكتيرية أكثر تجانساً .  
قدمت نبتة الشيح نشاط كبح قوي جدا ضد البكتيريا الإيجابية (العقديات) والبكتيريا السالبة (الإشريكية القولونية).  
قيمة انتاج الزيوت الأساسية المستخرجة من الجزء الجوي من نبتة الشيح يتوافق مع معايير الجمعية الفرنسية للتوحيد القياسي  
الزيت الأساسي لنبتة الشيح ؛ يمكن استخدامه كأساس في إعداد مكونات المكافحة الحيوية (المبيدات الحشرية ومبيدات الفطريات)، وبالتالي في الأدوية الأخرى، والمستحضرات التجميلية والعلاجية والطبية.

#### الكلمات المفتاحية:

الشيح, الزيت الأساسي, النشاط المضاد للبكتيريا

## Résumé

Le but de ce travail était d'étudier l'activité antibactérienne d'huile essentielle extraite à partir des feuilles d'*Artemisia herba alba*. et pour valoriser cette espèce, on l'a comparait avec deux autres espèces qui sont *le thymus ciliatus ssp mombianus* et *le rosmarinus tournefortii*.

L'extraction d'huile essentielle qui à été réalisé par la méthode d'hydro-distillation a donné un rendement de 1% pour cette espèce, 3.16% pour le thym et 0.76% pour le romarin.

L'optimisation de la méthode de diffusion sur disque pour évaluer l'activité antibactérienne Nous a permit d'avoir un tapis bactérien plus homogène. L'armoise blanche a présenté une activité inhibitrice très prononcé contre les bactéries gram positif (*streptocoques*) que les bactéries gram négatif (*Escherichia coli*).

La valeur du rendement en huile essentielle de la partie aérienne de l'armoise blanche est conforme aux normes AFNOR.

L'huile essentielle de cette espèce ; peuvent être utilisé comme base dans la préparation des composants de lutte biologique (insecticides, fongicides) et ainsi dans autres domaines pharmaceutique, cosmétique, thérapeutique et médicinale.

**Mots clés :** L'armoise blanche, huile essentielle, l'activité antibactérienne.

---

## **Abstract**

The aim of this study was to investigate the antibacterial activity of the essential oil extracted from the leaves of *Artemisia herba Alba*.

The extraction of essential oil that has been created by hydro-distillation method gave a yield of 1% for this species, 3.16% for the thyme and 0.76% for the rosemary.

Optimizing the disk diffusion method to evaluate the antibacterial activity has allowed us to have a more homogeneous bacterial lawn. The sagebrush presented a very strong inhibitory activity against gram-positive bacteria (*Streptococcus*) and gram-negative bacteria (*Escherichia coli*).

The essential oil yield of the value of the aerial part of sagebrush meets the standards of the French Association for Standardization.

The essential oil of this species; can be used as a basis in the preparation of biological control components (insecticides, fungicides) and so in other pharmaceutical, cosmetic, therapeutic and medicinal.

**Keywords:** sagebrush, essential oil, the antibacterial activity.

---

## Sommaire

Introduction générale.....	1
Chapitre I: Généralités sur les huiles essentielles	
I. Généralité sur les huiles essentielles.....	3
I.1. Définition .....	3
I.2 Répartition et localisation.....	3
I.3. Fonction .....	4
I.4. Propriétés physiques .....	4
I.5. Toxicité des huiles essentielles .....	5
I.6 Composition chimique.....	5
I.7 Classification des huiles essentielles .....	8
I.8. Production mondiale des huiles essentielles .....	9
I.9. Le rôle des huiles essentielles chez les plantes.....	9
I.10. Les activités biologiques des huiles essentielles.....	9
I.11. Utilisation des huiles essentielles .....	10
I.11.1 Les huiles essentielles dans les cosmétiques.....	10
I.11.2. Utilisations sanitaires .....	11
I.11.3. Utilisations industrielles.....	11
I.12. Conservation des huiles essentielles .....	11
I.13. Principaux Techniques d'extraction des huiles essentielles .....	12
I.13.1. L'extraction proprement dite (hydro –diffusion).....	13
I.13.2 .Distillation.....	13
I.13.3. L'hydro distillation .....	13
I.13.4. La distillation à vapeur saturée .....	13



I.13.5. L'hydro diffusion .....	13
I.13.6. L'expression à froid .....	14
I.13.7. Extraction par solvants.....	14
1. Bactérie Gram négatif .....	14
1.1. Les bactéries coliformes thermo tolérantes « Escherichia coli » .....	15
1.1.1. Répartition en genres :.....	15
1.1.2. Caractérisation des espèces : .....	15
1.1.3. Habitat : .....	15
2. Bactéries à Gram positif.....	16
2.1. Les bactéries streptocoques .....	16
Streptocoques du groupe « D » ou entérocoques intestinaux.....	16
2.1.1. Définition .....	16
2.1.2. Taxonomie.....	16
2.1.3. Habitat .....	16

## Chapitre II : Généralités sur l'armoise blanche

1. Généralités sur l'Armoise blanche .....	17
1.1. Description botanique .....	17
1.1.1. Partie souterraine.....	17
1.1.2. Partie aérienne .....	17
II .1.3. La tige.....	18
II .1.4. Les feuilles et les rameaux.....	18
II .1.5. La fleur.....	18
2. Systématique .....	18
3. Composition chimique .....	19
4. Utilisations de la plante .....	20

II.2. Généralité sur le thymus ciliatus ssp mombianus .....	20
II.2.1. Description du genre thymus.....	20
II.2.1.1. Le thym.....	20
II.2.1.2. Classification taxonomique.....	20
II.2.1.3. Les propriétés du Thym.....	21
II.2.1.4. Principes actifs du Thym .....	22
II.3. Généralité sur le rosmarinus .....	22
II.3.1. Description de la plante.....	22
II.3.2. Classification .....	23
II.3.2.1 Classification classique .....	23
II.3.2.2. Classification phylogénétique .....	23
II.3.2.3. Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du romarin.....	23
II.3.2.4. Principes actifs.....	23

### Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. partie d'huile essentielle.....	26
III.1.1 Matériel végétal.....	26
III.1.1.1. Echantillonnage.....	26
III.1.1.2. Séchage.....	26
III.1.2. Extraction des huiles essentielles .....	26
III.1.3. Décantation.....	27
III.1.4. Rendement en huile essentielle .....	28
III.1.5. Conservation des huiles essentielles : .....	29
III.2. Activité antibactérienne.....	29
III.2.1. Souches bactériennes étudiées .....	29
III.2.2. Isolement des souches bactériennes .....	29

III.2.2.1. Isolement d'E. Coli (gram-)	29
III.2.2.2. Isolement de streptocoque de groupe D (gram+)	30
III.2.3. Mesure de la charge bactérienne	32
III.2.4. Contact bactérie- huile essentielle	33
III.2.4.1. Méthode de diffusion en milieu gélosé	33
Principe	33
III.2.4.2. Mesure de la zone d'inhibition et expression des résultats	35
<b>Chapitre IV: Résultats et discussion</b>	
IV.1. Rendement en huile essentielle	37
IV.2. Caractéristiques organoleptiques	39
IV.3. Sensibilité des souches bactériennes utilisées	40
IV.4. L'activité antibactérienne de l'Huile essentielle	41
IV.4.1. Lecture de résultats	41
Conclusion générale et perspectives	45
Références Bibliographiques	47

**Liste des figures**

<b>Fig.1</b> Structures de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles .....	<b>06</b>
<b>Fig.2</b> <i>l'Artemisia herba alba</i> Asso .....	<b>18</b>
<b>Fig.3</b> Montage d'hydro-distillation employé pour l'extraction d'huile essentielle.....	<b>25</b>
<b>Fig.4</b> schéma représente les étapes de décantation d'huile essentielle .....	<b>25</b>
<b>Fig.5</b> Une ampoule a décanté pour la séparation d'une huile essentielle.....	<b>26</b>
<b>Fig.6</b> Isolement des souches bactériennes par méthode de filtration sur membrane .....	<b>28</b>
<b>Fig.7</b> spectrophotomètre à UV.....	<b>29</b>
<b>Fig.8</b> rendement d'huile essentielle.....	<b>33</b>
<b>Fig.9</b> Halo d'inhibition ( $\emptyset$ ) en mm des Streptocoques de groupe D développées sur gélose de Slanetz et Bertly par l'action d'huile essentielle de trois plantes étudiées(1 : Armoise blanche -2 : Romarin-3 : Thym).....	<b>36</b>
<b>Fig. 10</b> Halo d'inhibition ( $\emptyset$ ) en mm des E. coli développées sur gélose de tergitol par l'action d'huile essentielle de trois plantes étudiées (1 : Armoise blanche -2 : Romarin-3 : Thym....	<b>37</b>
<b>Fig.11</b> Pouvoir inhibitrice d'huile essentielle d' <i>Artemisia herba arba</i> contre les bactéries Gram+ et Gram- .....	<b>38</b>
<b>Fig.12</b> Pouvoir inhibitrice d'huile essentielle de Romarin contre les bactéries <i>Gram+ et Gram-</i> .....	<b>38</b>
<b>Fig.13</b> Pouvoir inhibitrice d'huile essentielle de Thym contre les bactéries <i>Gram+ et Gram-</i> .....	<b>39</b>

**Liste des tableaux**

**Tableau.1.** Principales caractéristiques physiques de quelques terpènes.....04

**Tableau .2.**rendement en huiles essentielles de trois plantes étudiées.....32

**Tableau .3.** Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles des trois plantes.....34

**Tableau .4.**résultat des mesures des halos d'inhibition des deux souches bactériennes testées.....35

**Liste des abréviations**

**AFNOR** : L'Association française de normalisation

**BEA** : bile esculine azoture

**E. COLI** : Escherichia coli.

**H.E** : huile essentielle

**G-** : gram négatif

**G+** : gram positif

**LPS** : lipolysaccharide

**nm** : nano mètre

**SSP** : sous espèce

**S** : streptocoque

**UV** : ultra violet

# Introduction générale

## **Introduction générale**

Les plantes toujours sont fait partie de la vie de l'homme puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois même dans ses rites religieux .Les extraits de plante étaient déjà connus et utilisés par les égyptiens, les perses et les grecs pour leurs propriétés aromatisantes et médicinales.

Les recherches sur les bienfaits des plantes sont toujours d'actualité, avec pour conséquences de nouvelles découvertes dont les applications sont nombreuses aussi bien en médecine, et en pharmacie que dans d'autres domaines tels que l'agro-alimentaire, les industries chimique etc.

L'Algérie recèle un patrimoine végétal très riche, mais probablement par manque d'information sur les richesses qu'il peut engendrer, celui-ci est malheureusement très peu exploité .Parmi les plantes aromatique et médicinales spontanées et dans le but d'une éventuelle valorisation des produits nationaux, notre intérêt s'est porté sur l'*Artemisia herba alba*, plante très répandu en Algérie et largement utilisée en médecine.

*Artemisia herba alba* est une espèce d'Afrique du Nord. En Algérie, elle pousse dans la steppe, zone d'élevage ovin nomade. elle présente des caractéristiques morphologiques et physiologiques importantes qui lui confère d'être une plante bien adaptée au conditions des climats aride et semi aride; il s'agit d'un dimorphisme saisonnier de son feuillage lui permettra de réduire la surface transpirante , et diminuer ainsi les pertes d'eau, cette plante est capable de valoriser toute humidité superficielle , d'exploiter l'humidité du sol jusqu'à 50 cm de profondeur et profiter des fractures de la croûte, pour atteindre les poches d'humidité, notamment dans les sols à encroûtement calcaire.

Elle se caractérise par une bonne valeur fourragère et par une composition en huiles essentielles ayant des propriétés antiseptiques, vermifuges et antispasmodiques. Ces résultats expliquent son utilisation dans la médecine traditionnelle et dans l'alimentation animale.

Des études récentes ont montré que les espaces occupées par cette espèce ont régressé ce qui a pour conséquence sa dégradation voir sa disposition. La protection de ces parcours passe par une valorisation rationnelle de cette espèce végétale steppique.

---



Dans ce cadre et pour valoriser cette espèce notre travail consiste à étudier l'activité antibactérienne d'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* Asso de la région de Tiaret. pour ce la nous avons adopté un plan du travail constitue de deux parties, la première est une synthèse bibliographique divisé en deux chapitres, Un premier qui donne un aperçu sur les connaissances générales concernant les huiles essentielles et les deux souches bactériennes utilisées et un second comportant la monographie de l'espèce étudiée ,sa classification, sa composition chimique et ses caractéristiques biologiques ainsi que son intérêt et ses différentes utilisations.

La deuxième partie décrivant les méthodologies d'extraction d'huile essentielle, d'isolement des souches bactériennes et de la réalisation de contacte entre ces dernières et l'huile essentielle de notre espèce. Ces méthodologies sont suivies par les différents résultats obtenus ainsi que leurs discussions

Chapitre I :

**Généralité sur les huiles  
essentielles**

## **I. Généralité sur les huiles essentielles**

De tout temps, les hommes ont utilisé les plantes pour atténuer la douleur. Des traces d'utilisation des huiles essentielles datant de plus 7000 ans ont été retrouvées en Chine, en Inde ainsi qu'en Mésopotamie (**LEFIEF, 2012**).

### **I.1. Définition**

Une huile essentielle est la fraction odorante volatile extraite des végétaux. C'est le parfum concrétisé de la plante, un véritable concentré. elle peut être extraite de différentes parties d'un végétal : les feuilles (ex : eucalyptus ) ,les fleurs (ex : camomille) , l'écorce (ex : la cannelle ) , le bois (ex : le cèdre ) , le zeste (ex : le citron ) et bien d'autres encore : les graines , les baies , les fruits et le bulbe (**FESTY *et al.*, 2014**).

### **I.2. Répartition et localisation**

Les HES n'existe quasiment que chez les végétaux supérieures .Il aurait, selon Lawrencel 17500 espèces aromatique .les genres capables d'élaborer les constituant qui composent les huiles essentielles sont repartis dans un nombre limité de familles ;Myrtacées, Lauracées, rutacées, lamiacées, astéracées, opiacée, cupressacées, zingibéracées, pipéracées ...etc.

Les HES peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : des fleurs, des feuilles, des écores, des bois, des racines et des rhizomes. Dans le cas le plus simple, les huiles essentielles se forment dans le cytosol des cellules ou ,soit elles se rassemblent en gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles ,soit elles s'accumulent dans les vacuoles des cellules épidermique ou des cellules du mésophiles de nombreux pétales (**Gehard,1993**).D'autre structures historique spécialisées souvent localisées sur ou à proximité de la surfaces de la plantes sont impliquées dans l'accumulation des huiles volatiles. Ces structures regroupent les poils, les canaux secteur et les poches sécrétrices (**Buneton ,1999**).

### **I. 3. Fonction**

La fonction biologique des tèrpinoides des HES demeure le plus souvent obscure .Il est toutes fois vraisemblable qu'il ont un rôle écologique .A l'appui de cette hypothèse ,on

remarque que le rôle de certains d'entre eux a été établi expérimentalement aussi bien dans le domaine des interactions végétales comme agents idiopathiques notamment inhibiteur de germination, que dans celui des interactions végétales-animales contre les insectes et les champignons. (Bruneton, 2008).

#### I.4. Propriétés physiques

Les HES, sont des substances volatiles, liquides à température ambiante, de nature hydrophobe, rarement colorées, et fortement odorantes. (Bruneton, 1999) Elles ont un indice de réfraction élevé, peu miscibles à l'eau, et solubles dans les solvants organiques (Tableau 1).

**Tableau.1.** Principales caractéristiques physiques de quelques terpènes.

Terpène	Poids moléculaire	Odeur	Solubilité dans l'eau	Solubilité dans les solvants
<b>limonène</b>	136.23	Citronnée agréable	Très peu soluble	Miscible à l'alcool
<b>menthol</b>	156.26	Agréable fraîche	Légèrement soluble	Miscible à : Alcool, chloroforme, éther
<b>thujone</b>	152.23	Forte aigue	Quasi insoluble	Miscible aux solvants organiques

### I.5. Toxicité des huiles essentielles

La toxicocinétique des HES est difficile à établir. En effet, si l'on peut étudier et décrire les effets biologiques et/ou pharmacologiques d'un mono-terpène ou sesquiterpène pur, il est difficile de parler de pharmacologie, pharmacocinétique ou de métabolisme d'une huile essentielle, c'est-à-dire d'un mélange d'une centaine de composés. (Bruneton, 1993)

De plus, il n'existe pas encore d'étude complète et rigoureuse, de type « partie toxicologique ». De nombreuses études sont réalisées par différents laboratoires, avec des objectifs différents, des conditions expérimentales très variables. Il est donc difficile de faire le point.

L'action de l'huile essentielle est assimilée à l'action de l'un de ses composants ou quelques-uns de ses composants, ainsi qu'à certains métabolites issus des biotransformations de ces composés. (Labaune, 1993)

### I.6. Composition chimique

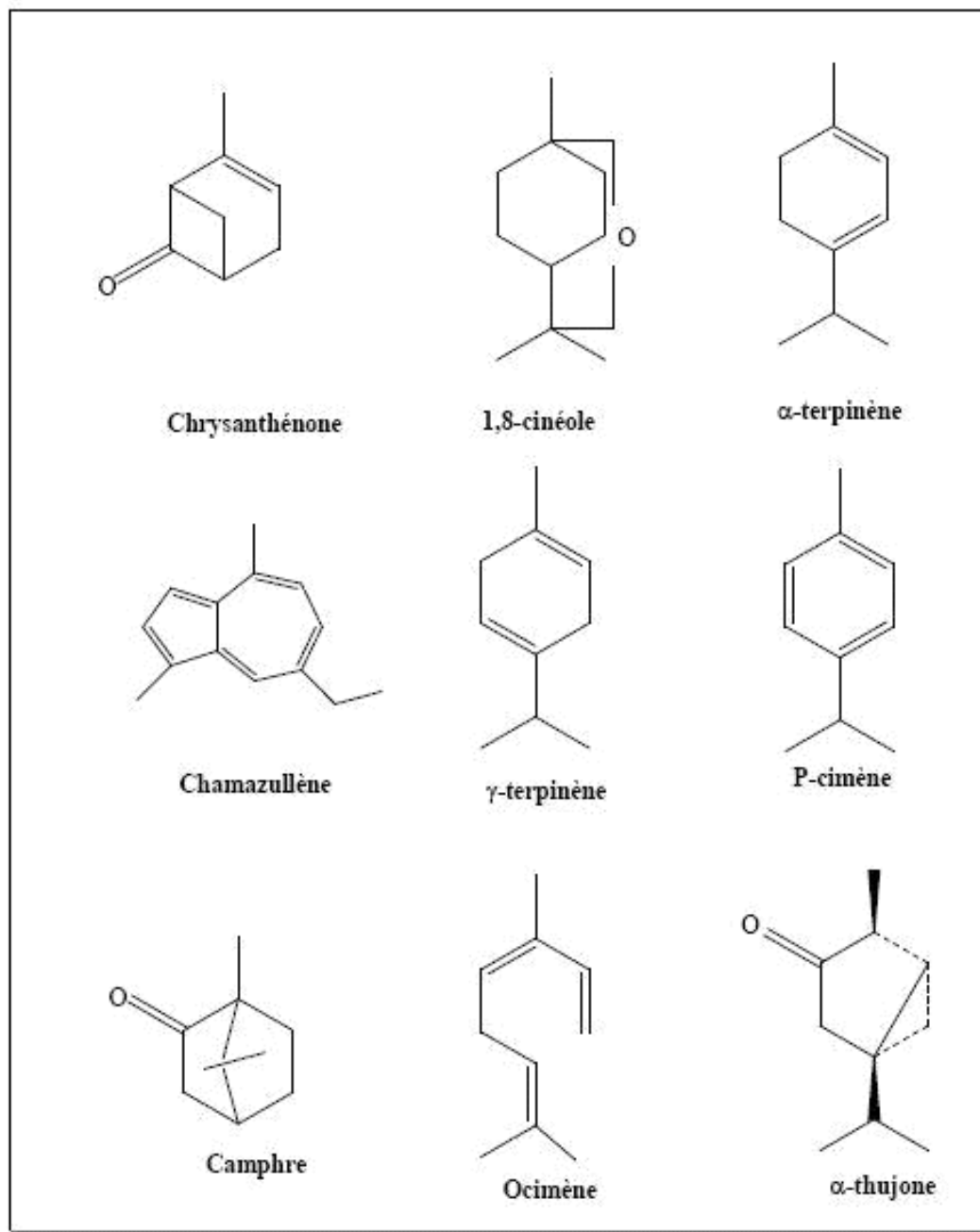
Les huiles essentielles sont des mélanges de composition chimique très variable et complexe, en effet, elles peuvent renfermer jusqu'à plusieurs centaines de molécules différentes, chacune ayant des propriétés particulières. Ces molécules appartiennent généralement à deux grandes familles chimiques.

□ Les terpènes : sont construits à partir de plusieurs entités isopréniques, constituant une famille très diversifiée tant au niveau structural que fonctionnel. On rencontre dans les huiles essentielles principalement des mono et des sesquiterpènes (possèdent respectivement 10 et 15 atomes de carbone) plus rarement des di-terpènes (20 atomes de carbone) ainsi que leurs dérivés oxygénés.

□ Les composés aromatiques dérivés du Phényle-propane tel que l'eugénol (huile essentielle de girofle), l'anéthol et l'aldéhyde ainsi que (huile essentielle de Badiane et d'anis), le carvacrol (huile essentielle d'origan), l'acide et l'aldéhyde cinnamiques. Ceux-ci constituent les principaux membres de cette famille.

Les huiles essentielles peuvent contenir des composés aliphatiques plus ou moins fonctionnalisés.

A noter que pour une même espèce botanique, en fonction de différentes conditions (sol, ensoleillement, saison, partie de plante) peut fournir des huiles essentielles de compositions différentes, ces variations génèrent la notion de chémotype, (**Bruneton, 1999**) donc il est indispensable d'établir des contrôles systématiques des huiles essentielles avec des techniques modernes avant l'emploi de ces produits.



**Fig.1** Structures de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles.

➤ Chémotype

C'est une classification chimique, biologique et botanique qui désigne la molécule majoritairement présente dans une huile essentielle (**Bruneton, 1999**).

Cette classification des huiles essentielles selon le produit majoritaire ou chémotype dépend d'un certain nombre de facteurs, entre autres :

- Le mode de culture de la plante
- Le stade de développement botanique : pendant ou après la floraison (**Brada, 2006-Falmini, 2007**)
- L'organe distillé.
- Le mode d'extraction utilisé tel que la distillation ou l'hydro-distillation.
- L'origine géographique de la plante.

### I.7. Classification des huiles essentielles

D'après **Jean (1991)**, on peut classer les huiles essentielles en 03 groupes selon leur l'indice aromatique

a- Les huiles majeures : Elles agissent aussi bien sur les bacilles à Gram (+) ou à Gram (-). Ce sont des huiles dont l'action bactéricide est constante et forte. L'indice aromatique de cette classe se situe entre 0.45 et 0.88.

b- Les huiles médiums : Elles sont moyennement antiseptiques. Elles assurent la transition entre les majeures et les essences spécifiques nécessaire à chaque malade. Elles ont une contribution efficace en cas de thérapie de relais. Leur indice aromatique se situe entre 0.45 et 0.10.

c- Les huiles de terrain : Elles sont des huiles dont l'indice est inférieur à 0.1

**Belaiche (1979)**, a proposé une autre classification des huiles essentielles, suivant la fonction de leur constituant principal :

- Carbures terpéniques et sesquiterpéniques, exemple 01 : Huile essentielle de térébenthine : pinènes (80 à 95%) camphène.

- Alcools, exemple 02 : Huile essentielle de coriandre : linalol (70 à 80%).
- Mélange d'esters et d'alcools, exemple 03 : Huile essentielle de lavande : linalol- acétate de linalyle (plus 35%).
- Aldéhydes, exemple 04 : Huile essentielle d'eucalyptus citriodora : citronellal (environ 70%).
- Cétones, exemple 05 : Huile essentielle de sauge : thuyone (jusqu'à 50%).
- Phénols, exemple 06 : Huile essentielle de thym : thymol (plus de 30%).
- Ethers, exemple 07 : Huile essentielle de fenouil : anéthol.
- Divers peroxydes, exemple 08 : Ascaridolde composé de l'huile essentielle de chénopode.

### **I.8. Production mondiale des huiles essentielles**

La production mondiale en huiles essentielles est en nette évolution. Elle atteint plus de 35000tonnes ces dernières années.

Les principaux pays producteurs des huiles essentielles se retrouvent à travers tous les continents, notamment certains pays méditerranéens tels que l'Italie, l'Espagne, le Portugal, la France, la Croatie, l'Albanie et la Grèce. Le continent asiatique, avec sa diversité de climats, semble être le producteur le plus important d'huiles essentielles dont la Chine et l'Inde jouent un rôle important dans la production mondiale suivies de l'Indonésie, du Sri Lanka et du Vietnam. Tandis que certains pays producteurs des huiles essentielles en Afrique, incluant le Maroc, la Tunisie, l'Egypte et l'Algérie avec la Côte d'Ivoire, l'Afrique du Sud, le Ghana, le Kenya, la Tanzanie et l'Ouganda, ont des productions mineures. Le continent américain est également l'un des plus grands producteurs des huiles essentielles, on note que les Etats-Unis, le Canada, et le Mexique possèdent une richesse très importante en matière végétale aromatique. Du côté de l'Amérique du Sud, les huiles essentielles sont principalement produites par le Brésil, l'Argentine, le Paraguay, l'Uruguay, le Guatemala, et île de l'Haïti.

### **I.9. Le rôle des huiles essentielles chez les plantes**

Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et d'assurer leur ultime défense, elles jouent plusieurs rôles écologiques, interaction plante – plante (inhibition de la germination et de la croissance) et interaction plante - animale, pour leur protection contre les prédateurs. **(Fouché et al.2008).**



### I.10. Les activités biologiques des huiles essentielles

Le rôle physiologique des huiles essentielles pour le règne végétal est encore inconnu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés. De nombreuses huiles essentielles, comme les huiles de cannelle, de piment, de laurier et d'origan, présentent un pouvoir antioxydant (**Karioti et al, 2006**). Un effet anti-inflammatoire a été décrit pour les huiles essentielles de *Protiumstrumosum*, *Protiumlewellyni*, *Protiumgrandifolium* (**Siani et al, 1999**), ou, plus récemment, pour l'huile essentielle des racines de *Carlinaacanthifolia* (**Dordevic et al., 2007**), qui est capable d'inhiber l'inflammation induite par une injection de carraghénane chez le rat.

Les activités antifongiques de nombreuses huiles essentielles, incluant les huiles de thym, de citronnelle, de cannelle et de l'arbre à thé (**Burt, 2004**) ont été décrites. L'efficacité des huiles extraites des achillées, *Achilleafragrantissima* (**Barel et al, 1991**), *A. setacea*, *A. Teretifolia* (**Unlu et al, 2002**) et *A. Milefolium* (**Candan et al, 2003**), contre la levure pathogène *Candida albicans*, a également été mise en évidence. Certaines huiles essentielles présentent des activités anti-tumorales et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers. L'huile essentielle, isolée des graines de *Nigellasativa* L., démontre une activité cytotoxique in vitro contre différentes lignées cellulaires tumorales. In vivo, elle limite la prolifération de métastases hépatiques et retarde la mort des souris ayant développé la tumeur P815 (**Mbarek et al, 2007**). L'huile essentielle de *Melissa officinalis* s'est, quant à elle, révélée efficace contre des cellules de lignées cancéreuses humaines, incluant les cellules leucémiques HL-60 et K562 (**De Sousa et al., 2004**). D'autres applications médicales sont étudiées. Les travaux de Jafri et al., (**2001**) ont prouvé la capacité de l'huile essentielle de cardamome à limiter la formation d'ulcères gastriques induits par l'éthanol (**Jafri et al, 2001**). Il a également été démontré que les huiles essentielles facilitent la pénétration transdermique de substances médicamenteuses lipophiles, comme l'œstradiol (**Monti et al, 2002**). Des travaux tentent également d'analyser les effets des huiles essentielles sur le comportement (**Umezu, 1999**) ou d'évaluer la possibilité de les utiliser dans la lutte contre l'addiction à certaines drogues, comme la nicotine (**Zhao et al, 2005**).

## **I.11. Utilisation des huiles essentielles**

Les huiles essentielles peuvent être utilisées dans les cas suivants : friction, inhalation, vaporisation, bain aromatique, diffusion, bain de pieds en compresse, massage et soin de la peau. Dans certains cas, il est possible d'en faire un usage interne, mais il ne faut pas dépasser trois gouttes par jour, sauf sur conseil d'un thérapeute (**huard et huard, 1981**).

### **I.11.1. Les huiles essentielles dans les cosmétiques**

L'aromathérapie, est l'utilisation des huiles essentielles pour soigner. Elle fait l'objet d'un certain nombre d'abus : il suffit de mettre 0.0001% d'huile essentielle dans une crème pour en faire un produit vendable. En cosmétologie aromatique, on utilise entre 0.5% et 2% d'huile essentielle pour le visage, 2% et 5% pour le corps, et jusqu'à 10% pour les soins très localisés.

### **I.11.2. Utilisations sanitaires**

Les huiles essentielles sont utilisées en raison de leurs propriétés stimulantes ou inhibitrices notamment sur les microbes (désinfection) et les activités cellulaires des plantes ou animaux. Les huiles essentielles servent par exemple comme produits phytosanitaires pour combattre dans les cultures végétales les infections fongiques ou bactériennes ou virales. Elles apportent des solutions en agriculture biologique, réduisant les effets néfastes des pesticides de synthèse comme la pollution ou le développement de résistances. A l'instar de ce qui est fait pour l'homme, les huiles essentielles entrent aussi dans la composition de traitements pour les animaux, ou ils permettent par exemple de réduire l'apparition des résistances aux antibiotiques conventionnels, ou limiter les effets secondaires (**Benchaa et bouzada, 2010**).

### **I.11.3. Utilisations industrielles**

Les industries de la parfumerie et des arômes ainsi que la cosmétique sont les principales consommatrices d'huiles essentielles. Ces dernières constituent les produits de base utilisés pour ajouter des odeurs, en raison de leur forte volatilité et du fait qu'elles ne laissent pas de trace grasse. Elles sont utilisées dans l'agro-alimentaire pour incorporer aux aliments des saveurs. Le secteur des produits ménagers (détergents et lessives par exemple) consomme beaucoup d'huiles essentielles pour masquer les odeurs, souvent peu agréables, des

produits purs. L'utilisation des huiles essentielles dans les arômes alimentaires est croissante. Les arômes sont omniprésents de nos jours : ils sont utilisés comme exhausteur de goûts dans divers produits (cafés, thés, tabacs, vins, yaourts, plats cuisinés, etc.) (**Benchaa et Bouzada, 2010**)

### **I.12. Conservation des huiles essentielles**

L'huile essentielle se conserve parfaitement bien quelques années, à l'abri de la chaleur et de la lumière. On a d'ailleurs retrouvé des essences dans des doubles jarres en terre cuite dans les pyramides d'Égypte. Des flacons en verre teinté sont nécessaires à la bonne conservation des huiles essentielles. Après un an ou deux, on n'utilise plus les huiles essentielles en traitement interne. Elles peuvent toutefois servir dans les diffuseurs d'arômes, 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'environ trois mois (**huard et huard, 1981**).

### **I.13. Principaux Techniques d'extraction des huiles essentielles**

L'analyse des huiles essentielles émises par une plante se déroule en trois étapes : extraction des composés aromatiques, analyse de l'extrait et traitement des résultats pour identifier et quantifier les composés. Les composés organiques volatils sont généralement présents dans les matrices végétales à de très faibles concentrations, et sont de polarités, solubilités et stabilités très variables. Les molécules odorantes sont constituées d'un squelette hydrocarboné qui peut être linéaire, cyclique ou aromatique. Presque toutes les fonctions chimiques portées par ces chaînes sont représentées : alcools, composés carbonylés (principalement les aldéhydes), Esters, éthers, phénols et enfin dérivés soufrés et hétérocycles. Les huiles essentielles sont extraites principalement par deux méthodes de distillation, une méthode d'expression à froid et l'entraînement à la vapeur de l'eau : l'hydrodistillation. Elles peuvent être mises en œuvre sur les systèmes discontinus ou continus, à la pression ambiante, en surpression ou en dépression (**Pollien, 1998**).

La durée de la distillation peut être ramenée de quelques minutes jusqu'à 30 heures.

Avant d'aborder chacune des méthodes, il est intéressant de procéder à l'étude des paramètres régissant les mécanismes d'extraction des huiles essentielles d'une

façon générale, la production des huiles essentielles peut être assimilée à une combinaison de trois processus.

### **I.13.1. L'extraction proprement dite (hydro –diffusion)**

Ces relargage des composés volatils dans le milieu aqueux sous l'action physique qu'exerce le gonflement de la matière végétale (phénomènes d'absorption d'eau ou osmotique) via la pression interne, et de l'action chimique exercée par l'eau (**Pollien, 1992**).la séparation de huile essentielle des condensats impliquant la coalescence et la décantation (**Mazza et al, 1992**).

### **I.13.2 .Distillation**

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par distillation et entrainement à la vapeur d'eau, à l'exception des huiles essentielles d'hespéridés (citron, oranges) et l'huile de cade .On admet que la vapeur pénètre dans les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles ; isolement des essences de la plante démontant donc uniquement une quantité suffisante de vapeur.

### **I.13.3.L'hydro distillation**

Le principe de hydro-distillation est se lui de la distillation des mélanges binaire non miscible. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à ébullition .la vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétale forment un mélange non miscible. Les composants d'un t'elle mélange se comportent comme si chacun été tout seul à la température du mélange, c'est-à-dire que la pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du corps pur. Cette méthode est simple dans sons principe et ne nécessite pas un appareillage couteux. cependant ,à cause de l'eau ,de l'acidité ,de la température du milieu ,il peut se produire des réaction d'hydrolyse , de réarrangement ,de racémisation ,d' oxydation ,d'isomérisation ,...etc .Qui peuvent être sensiblement conduire aune dénaturation (**Bruneton,1993**)

### **I.13.4. La distillation à vapeur saturée**

Dans cette variante, la manière végétale n'est pas en contact avec l'eau .la vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées

.La distillation à vapeur saturée est la méthode la plus utilisée à l'heure actuelle dans l'industrie pour l'obtention des huiles essentielles à partir de plantes aromatiques ou médicinales. En général, elle est pratiquée à la pression atmosphérique ou à son voisinage et à 100°C, température d'ébullition de l'eau. Son avantage est que les altérations de l'huile essentielle recueillie sont minimisées (**Wichtl et Anton, 2003**). Pour certaines productions (**lavande, menthe**), on utilise des alambics mobiles qui sont en fait des bennes de récolte conçues pour être intercalées par l'agriculteur lui-même, après remplissage, dans un montage de distillation. (**Bruneton, 2008**).

#### **I.13.5. L'hydro diffusion**

Elle consiste à pulvériser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur travers la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie de temps, de vapeur et d'énergie (**Bassereau, 2007**).

#### **I.13.6. L'expression à froid**

L'extraction par expression à froid, est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes comme le citron, l'orange, la mandarine, etc. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches par dépression et recueillir directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau (**Chaintreau et al, 2003**).

#### **I.13.7. Extraction par solvants**

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles par plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extractions de construction variées, en continu, semi-continu ou en discontinu. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants. Un autre désavantage de cette extraction par les solvants est leur manque de sélectivité de ce fait de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines, etc). Peuvent se retrouver dans le mélange pâteux et imposer une

purification ultérieure (Shellietaal).

## 1. Bactérie Gram négatif

les bactéries gram négatif ont adopté une solution différente pour protéger leur membrane cytoplasmique, il fabriquent une structure particulière, la membrane externe est chimiquement distincte des autres membranes biologique ,ce qui lui confère la capacité de résister aux agent chimique nocifs, c'est une structure à deux feuillets mais le feuillet externe contient un composant unique en plus des phospholipides; il s'agit du lipopolysaccharide bactérien ou LPS, molécules complexe rencontre uniquement chez les bactérie Gram- (ESCOTT, et al ,2006).

### 1.1. Les bactéries coliformes thermo tolérantes « *Escherichia coli* »

#### 1.1.1. Répartition en genres

Au sein des entérobactéries, on distingue de nombreux genres (*Shigella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *serratia*, etc...).La distinction entre les genres se fait par l'étude des caractères biochimique dont les plus importants sont : fermentation du lactose, production d'indole, production d'uréase, production d'acétoïne (réaction dite VP+), utilisation du citrate, désamination du tryptophane.

#### 1.1.2. Caractérisation des espèces

Au sein de chaque genre, on individualise des espèces, par l'étude des caractères biochimiques ou antigéniques. Les entérobactéries possèdent toutes des antigènes de paroi (« somatiques ») ou antigènes O.

Les bactéries mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelle (« flagellaires ») ou antigènes H. En fin, certains possèdent un antigène d'enveloppe ou antigène K.

#### 1.1.3. Habitat

*Escherichia coli* (bacille à Gram négatif), commensal du tube digestif, est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires. Elle peut aussi provoquer des diarrhées par des mécanismes très divers, ainsi que diverses infections communautaires ou nosocomiales (Nataro et Kaper, 1998).

## 2. Bactéries à Gram positif

les bactérie Gram positif protègent leur membrane avec une paroi épaisse, le composant majeur de la paroi est polymère complexe de sucres et d'acides aminés, appel muréine ou peptidoglycane .la muréine est un composant essentiel qui donne à la bactérie sa forme et sa rigidité que ce soit chez les bactéries Gram positif ou chez la bactérie Gram négatif. (ESCOTT, et *al* ,2006).

## 2.1. Les bactéries streptocoques

### Streptocoques du groupe « D » ou entérocoques intestinaux

#### 2.1.1. Définition

Au sens de cette méthode, on entend par entérocoques intestinaux des bactéries qui se présentent sous forme de cocci à Gram positive, sphériques ou ovoïdes formant des chaînettes, ne possédant pas de catalase mais possédant l'antigène du groupe D. Ils sont capables de se développer en 24 à 48 heures à 37°C sur un milieu sélectif à l'azoture de sodium en donnant des colonies caractéristiques réduisant le TTC et qui de plus hydrolysent l'esculine en 2 heures à 44°C après repiquage d'une colonie sur une gélose biliée à l'esculine et à l'azoture (Norme ISO 7899- 2).

#### 2.1.2. Taxonomie

Famille : streptococcaceae (comprend plusieurs genres)

Genre : streptococcus

Genre : enterococcus

Genre : aerococcus...

#### 2.1.3. Habitat

Les streptocoques regroupent de nombreuses espèces. Certains sont des parasites (streptocoques des groupes A, C et G de lance Field), d'autres des **commensaux** de la muqueuse buccale (streptocoques du groupe B et streptocoques non groupables et non hémolytiques) ou de la muqueuse génitale (groupe B) ou de l'intestin (anciens streptocoques du groupe D ou entérocoques considérés maintenant comme faisant partie d'un genre a part, le genre enterococcus). D'autres encore sont des **commensaux** des animaux ou des saprophytes.

## Chapitre II :

# Généralité sur l'armoise blanche



## II. Généralités sur l'Armoise blanche

L'*Artemisia herba-alba* (Armoise blanche, "Chih") est une plante appartenant à la famille des Astéracées, ligneux bas toujours vert, dont la croissance végétative a lieu à l'automne (feuilles de grande taille) puis dès la fin de l'hiver et au printemps (feuilles plus petites). Riche en huiles essentielles, cette espèce a des vertus purgatives évidentes jouant un grand rôle dans le contrôle des vers intestinaux, en particulier des ovins, mais pouvant également entraîner la mort de jeunes agneaux. Les feuilles de cette espèce sont utilisées en médecine traditionnelle pour soigner le diabète, bronchite, abcès, diarrhée et comme vermifuge. (LeFloc'k, 1983).

### II .1. DESCRIPTION BOTANIQUE

L'armoise blanche est une plante vivace qui forme des buissons de 30 à 50 cm, blanche et laineuse, à tige nombreuses, tomenteuses. Les feuilles sont courtes, généralement pubescentes argentées avec des capitules sessiles ou subsessiles de 2-5 fleurs .ces dernières sont hermaphrodites, alors que le fruit est un akène .le réceptacle est nu et la corolle est insérée très obliquement sur l'ovaire. (Besanger -Beauquesne et al .1975; Quezel et santa ,1963)

#### II .1.1. Partie souterraine

l'armoise blanche présente une racine principale épaisse et ligneuse, bien distincte des racines secondaires, qui s'enfonce dans le sol comme un pivot .le système racinaire a une extension peu profonde avec un grand nombre de ramification latérales particulièrement abondantes entre 2 et 5 cm de profondeur mettant en relation cette forme de racine avec l'existence d'une croute calcaire superficielle .Quant l'armoise se développe dans une région plus humide, ses racines pénètrent profondément jusqu'à 40 à 50 cm et ne se ramifient qu'à cette profondeur (Pourrat,1974).La biomasse racinaire diminue très vite avec la profondeur et très peu de racines sont retrouvées à partir de 50 cm (Aidoud, 1983).

#### II .1.2. Partie aérienne

Elle est représentée par la partie ligneuse, la tige, les feuilles et les fleurs.

#### II .1.3. La tige

L'armoise présente une tige principale très épaisse, rougeâtre, très ramifiée qui

se prolonge par de nombreuses tiges de plus en plus fines ; chaque tige se distingue par une taille allant de 30 à 50 cm (**Bendahou, 1991**).

#### **II .1.4. Les feuilles et les rameaux**

Les feuilles sont courtes, blanches, laineuses, argentées et pinnatipartites. Elles sont très petites et entières, ce qui réduit considérablement la surface transpirante et permet ainsi à la plante de résister à la sécheresse (**Pourrat, 1974**)

#### **II .1.5. La fleur**

La floraison s'effectue en automne à partir du mois de septembre .la fleur est formée d'inflorescences en capitules. Ces derniers sont très petits, étroits (1à 1,5 mm) ovoïdes à involucres scarieux ne contenant que 3 à 8 fleurs, toutes hermaphrodites .Ces capitules pauciflores, en général homogames sont insérés directement sur l'axe et sans aucun support (**Ozenda, 1985**)

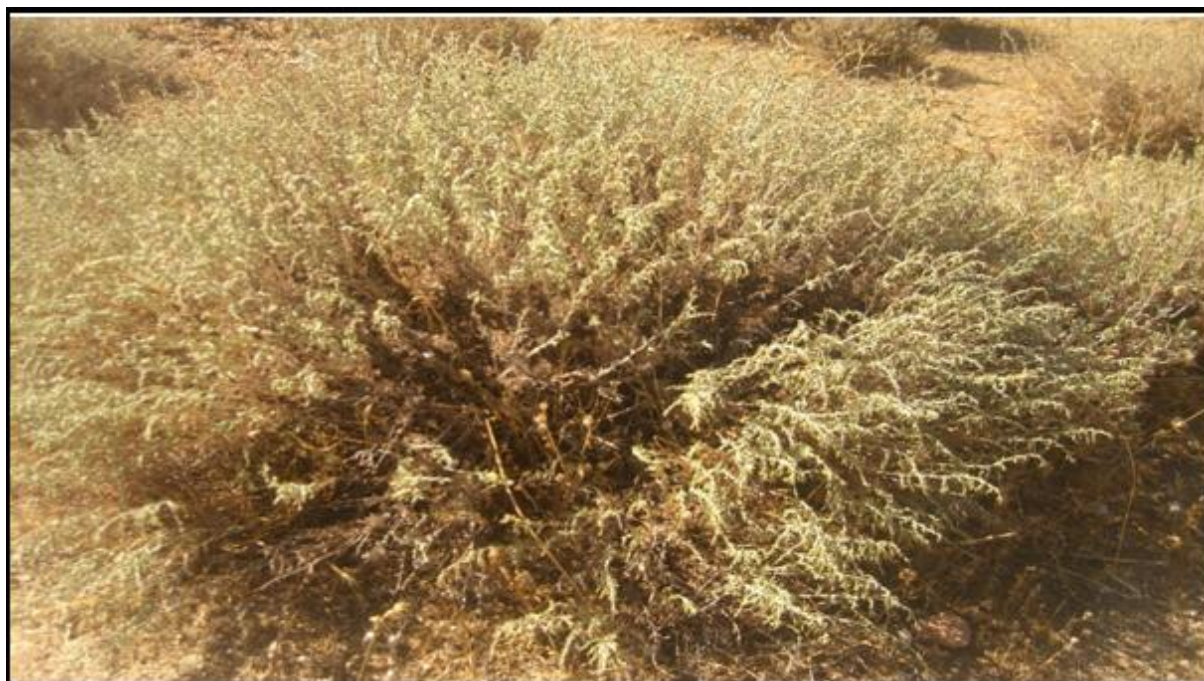
### **II .2. Systématique**

Le genre *Artemisia* comporte plus de 200 espèces. *Artemisia herbe -alba* fait partie de la famille des composées provenant de l'embranchement de phanérogames .C'est une famille qui compte plus de 1000 genres et 1500 espèces. (**Deysson, 1967**).

Selon Quezel et Santa (**1963**), l'armoise blanche est classée comme suit :

Embranchement.....	Phanérogames
Sous embranchement.....	Angiospermes
Classe .....	Dicotylédone
Sous classe .....	Gamopétales
Ordre.....	Astérales
Familles.....	Composées
Sous famille .....	Tubuliflores
Tribu.....	Intimidées
Genre .....	<i>Artemisia</i>

Espèce ..... Artemisia herba –alba

**Fig.2 l'Artemisiaherba alba Asso**

### II .3. Composition chimique

Plusieurs métabolites secondaires ont été isolés et identifiés de l'*Artemisia herba alba* dont les plus importants sont les sesquiterpènes lactones tels que les eudesmanolides et les germacranolides (Marco J, 1989). Les flavonoïdes détectés dans l'armoise montrent aussi une diversité structurale allant des flavonoïdes communs (flavones glycosides et flavonols) jusqu'aux flavonoïdes méthyles qui sont très inhabituel. Les flavonoïdes glycosides comprennent les O-glycosides tels que quercitine-3-glucoside et des flavones C-glycosides qui sont rares dans le genre *Artemisia*, ainsi que dans l'ensemble des Astéracée(Saleh N et al, 1987). En plus des sesquiterpènes lactones et des flavonoïdes l'analyse phytochimique a montré que la composition des huiles essentielles de l'*Artemisia herba alba* Asso est riche en mono-terpènes, tri-terpènes, penta cycliques, santonines, coumarines et tanins (Mohamed H.et al, 2010)

### II .4. Utilisations de la plante

L'*Artemisia herba alba* est très utilisé en médecine traditionnelle lors d'un désordre gastrique tel que la diarrhée et les douleurs abdominales. Elle est aussi utilisée en tant que remède de l'inflammation du tractus gastro-intestinal (Ghrabi Z.et Sand R, 2008). Plusieurs

études scientifiques ont également prouvées l'efficacité de l'armoise blanche en tant qu'agent antidiabétique. (Tastekin et al, 2006), les chmanicides (Hatimi S et al, 2001), antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, antimalarien, antipyrétique, antispasmodique et antihémorragique. (Yin Y et al ,2008)

## **II.2.Généralité sur le thymus ciliatus ssp mombianus**

### **II.2.1. Description du genre Thymus**

#### **II.2.1.1. Le thym**

L'origine du nom sujette à diverses interprétations : Thym proviendrait du mot latin "thymus" qui signifie "parftimé".Thym à partir du mot grec "thumus" qui signifie "courage".

Le thym appartient à la famille des labiées, environ 215 espèces sont cultivées dans le monde (Ebrahimi et aL, 2008). En Algérie, il est représenté par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination.

#### **II.2.1.2. Description morphologique de Thymus ciliatus**

Le Thymus ciliatus est une espèce spontanée, c'est un arbrisseau de petite taille, mais pouvant former des touffes bien étalées sur le sol ; les feuilles florales sont différentes des feuilles caulinaires, en général fortement dilatées à leur portion inférieure. Rencontrée dans les broussailles, matorrals, sur substrats calcaires et siliceux et sur sols rocailloux et bien drainés, la plante se répartit sur (Benabid, 2000). Elle se développe spontanément, caractérisée par une morphologie externe ciliée. Elle est localisée au niveau du bassin méditerranéen et dans le Nord de l'Algérie. L

#### **II.2.1.2. Classification taxonomique**

En 1963, Quezel et Santa ont désigné plus de 100 espèces de plantes aromatiques appartenant à la famille des labiées. Pour le genre Thymus, son identification est assez difficile; cela revient à la variabilité de l'espèce et ses hybrides; ainsi le Thymus ciliatus est une -espèce qui appartient à:

Embranchement.....	Phanérogames
Sous Embranchement.....	Angiospermes
Classe.....	Dicotylédones
Sous Classe.....	Gamopétales
Série .....	Gamopétales Hypogynes
Sous Série.....	Division Bicarpiées
Ordre.....	Tubiflorales
Sous Ordre.....	Lamiales
Famille.....	Labiées
Tribu.....	Saturies
Genre.....	Thymus
Espèce .....	ciliatus
Sous espèce .....	- coloratus – eu-ciliatus – minbyanus

### II.2.1.3. Les propriétés du Thym

- Assaisonnement des aliments et des boissons.
- Antiseptique, désinfectant dermique et un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures.
- Les principaux constituants du thym montrent des propriétés vermifuges et vermicides (**Bazylko et Strzelecka, 2007**)
- Propriétés antivirales, antifongiques, anti inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes de *Thymus vulgaris* inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose) (**Jiminez-Arellanes et al, 2006**)
- Propriétés anthelminthiques (**Al-Bayati, 2008**)
- Propriétés antioxydantes (**Takeuchi et al, 2004 ; Golmakani et**

**Rezaei, 2008)** en raison de ces propriétés, le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons *Thunnus thymnus* durant leur stockage (**Selmi et Sadok, 2008**)

#### II.2.1.4. Principes actifs du Thym

- Les acides phénoliques: acide caféique (**Cowan, 1999**), acide rosmarinique (**Takeuchi et al, 2004**).
- Les flavonoïdes: hespéridine, eriotrécine, narirutine (**Takeuchi et al, 2004**), lutéoléine (**Bazytko et Strzelecka, 2007**).
- Les polyphénols: tannin (**Cowan, 1999 ; Özcan et Chalchat, 2004**).

### II.3. Généralité sur le rosmarinus

#### II.3.1. Description de la plante

Le Rosmarinus en Latin signifie la rosée marine, ce qui fait référence à la fois à la présence du romarin sur les côtes et les îles de la méditerranée et à diverses légendes liées à cette plante (**Boudy, 1948; Favre et al, 1981; Grégory, 1988**). Le romarin est un arbrisseau dont la tige pouvant atteindre deux mètres, est couverte d'une écorce grisâtre. Elle se divise en nombreux rameaux opposés, tortueux. Les fleurs sont bleues pâles à bleues violacées, hermaphrodites, visibles de janvier en mai. Elles sont groupées à l'extrémité des rameaux, à la base des feuilles. Les feuilles opposées décussées insérées sur une tige à section carrée, étroites, lancéolées, linéaires, à bords roulés en dessous, sont vertes foncé et luisantes à la face supérieure. Le fruit, ovoïde, est entouré par un calice persistant, sec est constitué de quatre akènes (tetrakène). Il attire les insectes (entomophiles) pour assurer la pollinisation (entomogame). (**Boudy, 1948 ; Grégory, 1988**).

#### II.3.2. Classification

##### II.3.2.1 Classification classique

Règne : ..... Plantae

Division : ..... Magnoliophyta

Classe : ..... Magnoliopsida

Ordre : ..... Lamiales

Famille : .....Lamiaceae

Genre : ..... Rosmarinus

Espèce : .....Rosmarinus officin

### II.3.2.2. Classification phylogénétique

Ordre : ..... Lamiales

Famille : ..... Lamiaceae

### II.3.2.3. Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du romarin

Cette plante est utilisée en médecine en raison de ses différentes propriétés :

- Anti spasmolytiques, diurétiques, hépato protectrices, soulagement des désordres respiratoires (**Lemonica et al 1996 ; Souza et al 2008**)
- Antibactériennes, antimutagéniques, antioxydantes, chémopréventives (**Ibañez et al, 2000 ; Pérez et al, 2007 ; Wang et al, 2008**)
- Anti-inflammatoires, antimétastatiques (**Cheung et Tai, 2007**)
- D'autres études montrent que les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse (**Offord et al, 1995**)

### II.3.2.4. Principes actifs

Les principaux constituants du romarin responsables des différentes propriétés sont :

- Les acides phénoliques : acide vanillique, acide caféique, acide p-coumarique (**Ibañez et al, 2003 ; Ramirez et al, 2004 ; Caverro et al, 2005; Pérez et al, 2007**)

Les flavonoïdes : genkwanine, cirsimaritrine (**Ibañez et al ,2000; Caverro et al, 2005**), ériocitrine, hespéridine, diosmine, lutéoline (**Del Baño et al, 2004**), apigénine (**Yang et al ,2008**)

# Chapitre III :

## Matériels et méthodes



### **III.1. partie d'huile essentielle**

#### **III.1.1. Matériel végétal**

##### **III.1.1.1. Echantillonnage**

Les échantillons de l'armoise blanche ont été prélevés à partir de la région d'Ain d'heb.

Pour comparer notre espèce à d'autres plantes aromatiques et médicinales nous avons choisi le romarin (*rosmarinustournefortii*) de la zone du foret de ghzoul et le thym (*thymus siliacus* SSP *mambianus*) de la région de la Mghila.

##### **III.1.1.2. Séchage**

Après la récolte des plantes, ces dernières ont été débarrassées des mauvaises herbes et séchées à l'abri de la lumière et dans un endroit aéré pendant 15 jours.

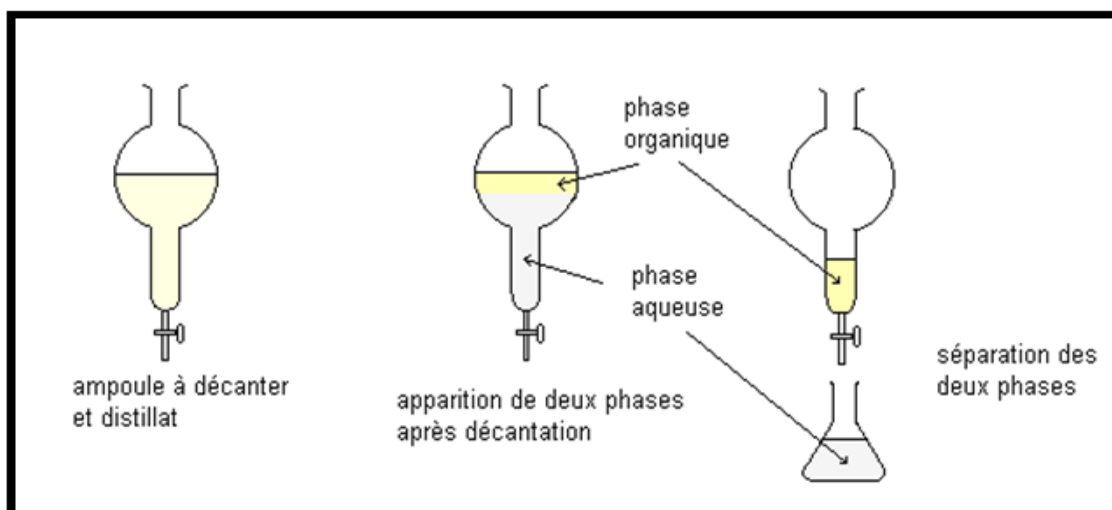
##### **III.1.2. Extraction des huiles essentielles**

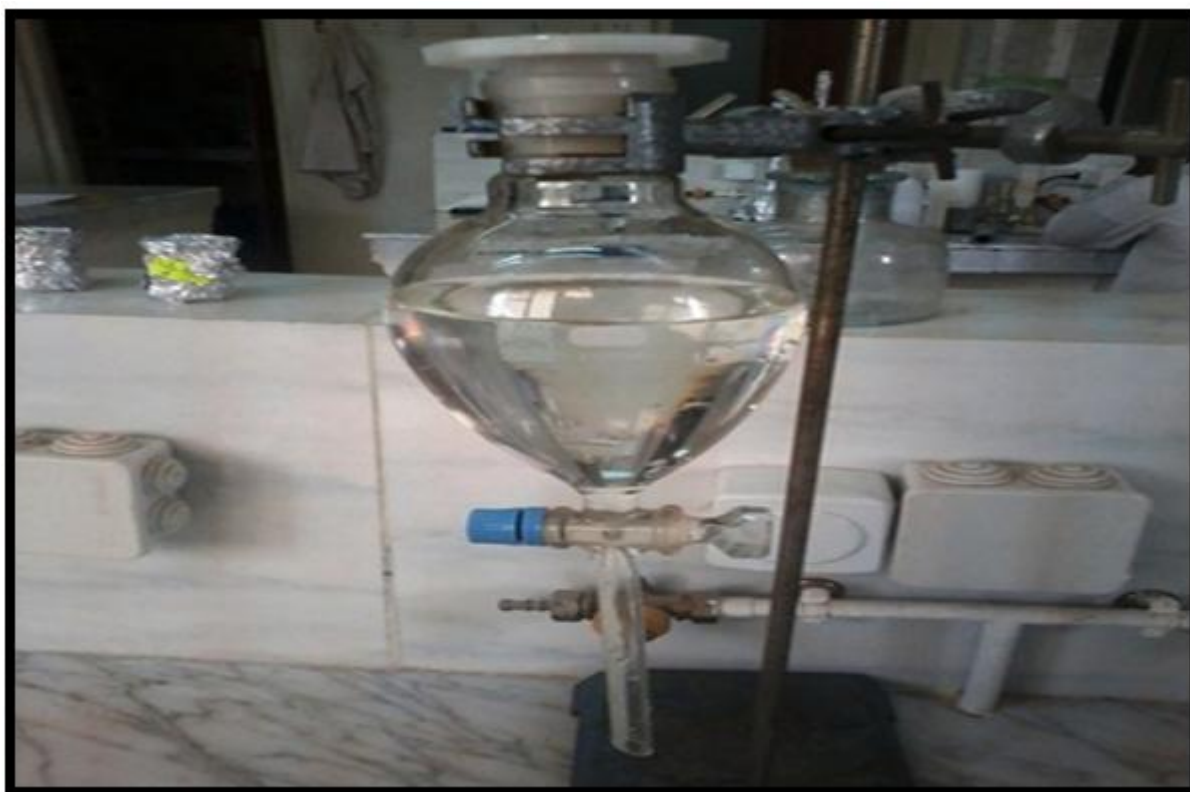
La méthode suivie est celle de l'hydro distillation. L'extraction s'est fait à l'aide d'un montage à distillation simple. La diapositive expérimentale que nous avons montée et utilisée dans le laboratoire de biochimie dans la faculté de sciences de la nature et de la vie à l'université IBN KHALDOUN de Tiaret. Un ballon d'une capacité de 1litre ou baigne la matière végétale (*armoise blanche, romarin, thym*), qui est porté a ébullition au moyen d'un chauffe ballon .Ce ballon est surmonté d'un coude en verre relié à un réfrigérant qui sert a condenser la vapeur d'eau contenant l'huile essentielle extraite .Le distillat est récupéré dans un Erlen-meyer.

**Fig.3 Montage d'hydro-distillation employé pour l'extraction d'huile essentielle.**

### III.1.3. Décantation

La décantation est réalisée dans une ampoule à décanter de 500 ml ,dans laquelle, le mélange précédant ,se sépare en deux phases non miscible .

**Fig.4 schéma représente les étapes de décantation d'huile essentielle**

**Fig.5 Une ampoule a décanté pour la séparation d'une huile essentielle**

#### **III.1.4. Rendement en huile essentielle**

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal traité (AFNOR, 1982).Aprèsrécupération d'huiles essentielles, le rendement est calculé par la méthode suivante :

$$R = \frac{m}{m_0} \times 100$$

**R**:rendement en huile essentielle (%)

**m**:masse en gramme de l'huile essentielle.

**m<sub>0</sub>**:masse en gramme de matière végétale sèche.

#### **III.5.Conservation des huiles essentielles :**

Après la décantation, les huiles essentielles des trois plantes ont été récupérées et conservées à 4°C dans des tubes en verre, fermés hermétiquement, pour les préserver de l'air,

de la lumière et des variations de température, qui sont des principaux agents de dégradation car, une huile altérée perd son activité biologique.

### **III.2. Activité antibactérienne**

#### **III.2.1 Souches bactériennes étudiées**

Deux souches bactériennes ont été choisies. , *Escherichia coli* représentant les bactéries thermo tolérantes (GRAM+) et Streptocoque de groupe D qui appartient au streptocoques intestinaux (GRAM-). Ces bactéries pathogènes sont connues pour leur forte antibiorésistance et leur pouvoir invasif et toxique chez l'homme. Elles sont indicatrices de contamination fécale fréquemment rencontrées dans de nombreuses infections d'origine alimentaires (légumes, fruits et les eaux de consommation polluées) posant ainsi un problème clinique et thérapeutique.

#### **III.2.2. Isolement des souches bactériennes**

L'isolement des souches bactériennes utilisées dans ce travail à été effectuée au niveau de laboratoire central de contrôle de la qualité des eaux de Tiaret. La technique adopte est la filtration sur membrane d'un échantillon d'eau contaminé en suivant et respectant les normes NF ISO décrivant les règles générales pour les examens microbiologiques ainsi que la recherche et le dénombrement en milieu solide des *Escherichia coli* et des entérocoques intestinaux .

##### **III.2.2.1. Isolement d'E. Coli (gram-)**

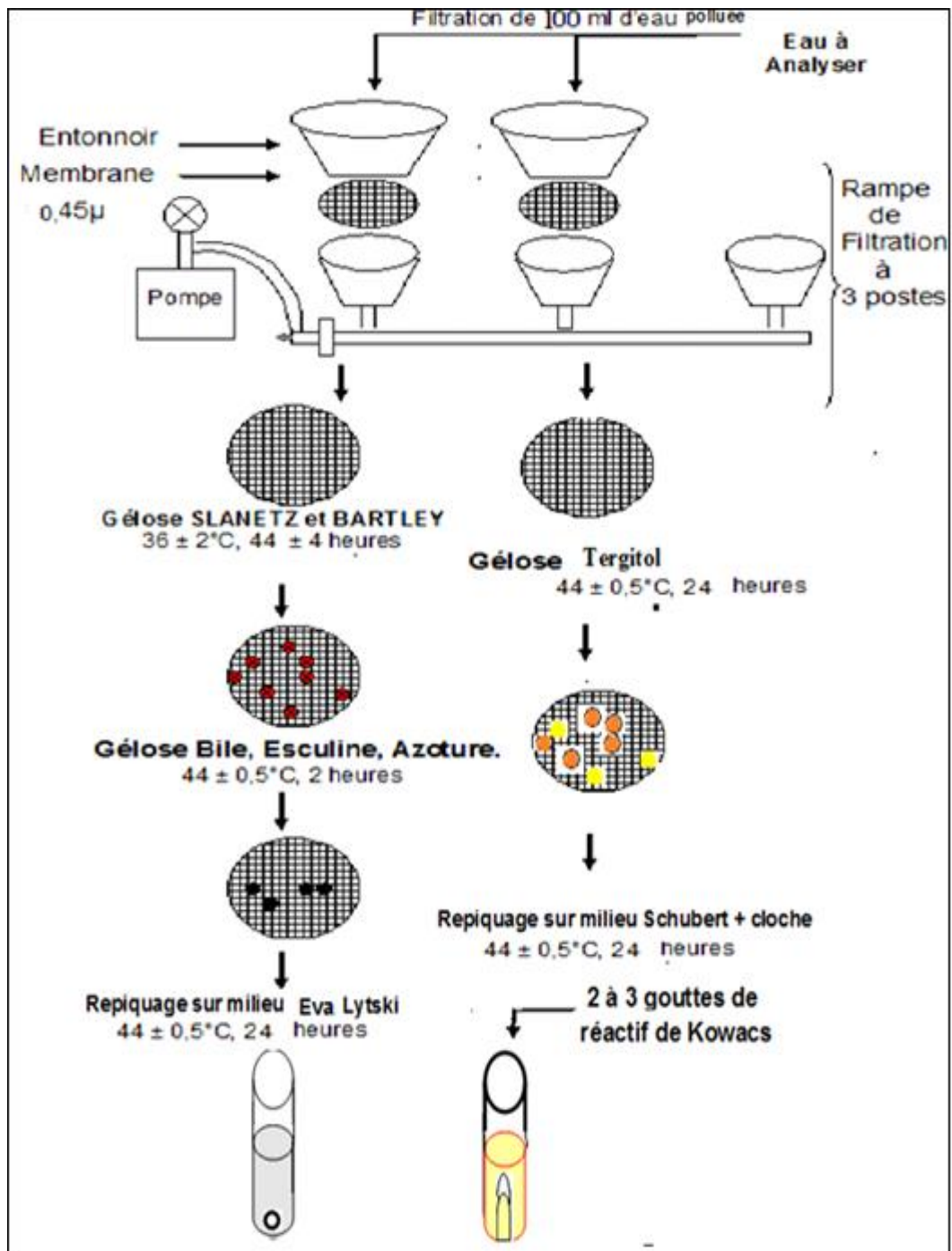
Après la filtration de 100ml d'eau polluée sur une membrane de 0,45um, ce dernier à été déposé sur la gélose tergitol et incubé à 44°C /24h. **(Fig.6)** Les colonies caractéristiques des coliformes fécaux (thèrmotolérants) prenant la couleur jaune et jaune orange. Pour confirmer la présence de E. Coli, les colonies caractéristique sont repiquées dans un Milieux Schubert dans une tube mini d'une cloche de durham et incubé à 44°C /2h. Après l'adjonction de quelque gouttes de réactif de covax .l'apparition d'un anneau rouge indique la présence de E. Coli. . **(Fig.6)**

##### **III.2.2.2. Isolement de streptocoque de groupe D (gram+)**

Après la filtration de 100ml d'eau polluée sur une membrane de 0,45um ; ce dernier

à été diposé sur la gélose Slanet et Bertly et incubé à 37°C /48h. Les colonies caractéristiques des Streptocoque totaux prenant la couleur rose claire, c'est le test de présenption. **(Fig.6)** Pour confirmer la présence de Streptocoque totaux, la membrane portant les colonies à été transféré complètement et déposé sur la gélose B.E.A (bile esculine azoture) puis incubé à 44°C /2h **(Fig.6)**. L'apparition de couleur noir indique l'hydrolyse de l'esculine par les streptocoques de groupe D. En fin les colonies de S de groupe D sont repiquées de nouveau dans un nouveau milieu de culture qu'est Evalytski.

**Fig.6** Isolement des souches bactériennes par méthode de filtration sur membrane



### III.2.3. Mesure de la charge bactérienne

La charge microbienne a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre UV (**fig.7**) à une longueur d'onde de 625 nm. Après l'obtention des suspensions bactériennes, 5 ml de chaque suspension est transféré dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique. La suspension bactérienne est bien homogénéisée, sa capacité doit être équivalente à 0.5 Mc Ferland ou à une densité optique de 0.08 à une longueur d'onde de 625 nm, ce qui correspond à une charge microbienne de  $10^6$  germes /ml

**Fig.7 spectrophotomètre à UV**



### III.2.4. Contact bactérie- huile essentielle

#### III.2.4.1. Méthode de diffusion en milieu gélosé

##### Principe

La méthode de diffusion très utilisée en microbiologie (antibiogramme), repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition la souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de

résistante (**Broadasky et al, 1976**).

La suspension bactérienne est filtrée aseptiquement sur une membrane d'ester de cellulose de porosité 0,45µm. Cette membrane est mise à incuber sur un milieu sélectif qu'est la gélose Tergitol pour les bactéries coliformes et la gélose Slanetz et Bertly pour retenir les streptocoques de groupe D. Le contacte bactérie- huile essentielle consiste à déposer aseptiquement un disque (de 6mm de diamètre) imbibé en huile essentielle au centre de la membrane contenant des bactéries en cour de développement puis d'incuber les boites de pétris contenant les bactéries Gram<sup>-</sup>(E.coli) à 44°C pendant 24h et ceux renferment les bactéries Gram<sup>+</sup> (streptocoques de groupe D) à 37°C pendant 48h.

Les bactéries Gram<sup>+</sup>, et après incubation ont subi encore un test de confirmation qui demande de transférer complètement la membrane sur la gélose Bile Esculine Aside et d'incubes les boites à 44°C pendant uniquement 2h.

Les mêmes étapes sont suivies pour les trois huiles essentielles étudiées.

Le principe de cette méthode est toujours la migration de l'HE par diffusion dans la gélose.

#### **III.2.4.2. Mesure de la zone d'inhibition et expression des résultats**

Le diamètre d'inhibition est mesuré en millimètre à l'aide d'une règle.

La sensibilité des bactéries cibles envers les différents extraits est classée selon les diamètres des halos d'inhibition (**Ponce et al, 2003**):

- $\emptyset < 8$  mm: bactérie non sensible ou résistante;
- $9 < \emptyset < 14$  mm: bactérie sensible ou intermédiaire;
- $15 < \emptyset < 19$  mm: bactérie très sensible ;
- $\emptyset > 20$  mm: bactérie extrêmement sensible.



# Chapitre IV :

## Résultats et discussion

### IV.1. Rendement en huile essentielle

1. Détermination de rendement en huile essentielle d'*Artemisia herba alba*

$$R = m/m_0 \times 100.$$

$$m = 0,50g$$

$$m_0 = 50g$$

$$R = 0,50/50 \times 100 = 11\%$$

2. Rendement en huile essentielle (1%) de *rosmarinus tournefoutrii*

$$R = m/m_0 \times 100.$$

$$m = 0,38g$$

$$m_0 = 50g$$

$$R = 0,38/50 \times 100 = 0,76\%$$

3. Rendement en huile essentielle de *thymus ciliatus ssp mombianus*

$$R = m/m_0 \times 100.$$

$$m = 1,58g$$

$$m_0 = 50g$$

$$R = 1,58/50 \times 100 = 3,16\%$$

**Tableau 2. Rendement en huiles essentielles de trois plantes étudiées**

Espèces	<i>Thymus ciliatus ssp mombianus</i>	<i>Artemisia herba alba</i>	<i>Rosmarinus tournefoutrii</i>
Rendement	3.16%	1%	0.76%

Le rendement en huile essentielle extradite à partir des feuilles de l'*Armoise Blanche* était 1%. Ce rendement est supérieur à celui du *romarin* 0.76% et inférieur à celui du *thym* 3.16%. (Figure.8).

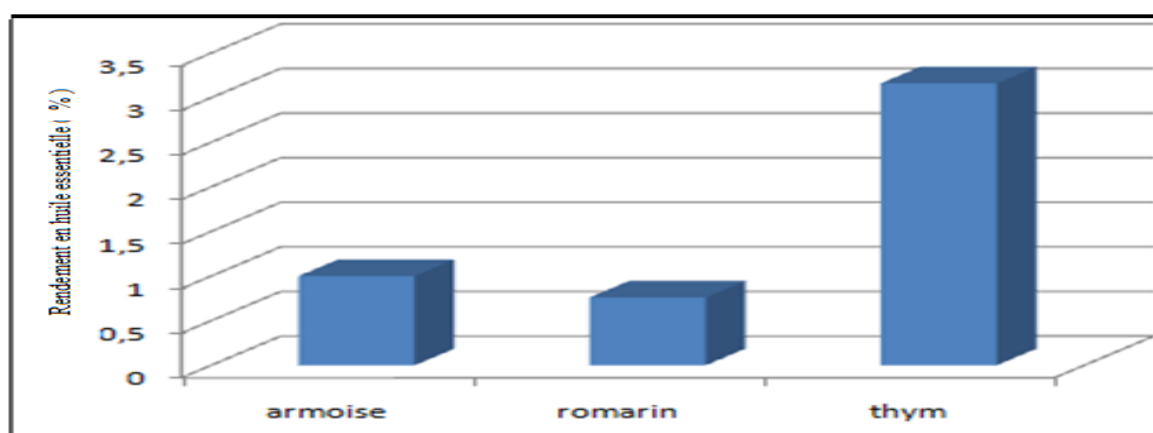
La production en métabolites secondaires est différente d'une famille botanique à une autre, d'une espèce à une autre et même entre les plantes de la même espèce. En plus, cette

différence de teneur en huiles essentielles peut être liée à plusieurs facteurs tels que la zone géographique de collecte, le climat et le stade de développement (**Khenaka. 2011**). De ce fait, le rendement élevé noté pour le *thymus ciliatus ssp mombianus* s'explique par la période de prélèvement accompagnant au stade de floraison. Par contre, la récolte de *l'Artemisia herba alba* et *derosmarinus tournefoutrii* était le mois d'octobre avant le stade de maturation.

Le rendement est conforme avec les normes AFNOR. Cela peut être due aux différents facteurs qui rentrent en jeu, parmi eux on cite la nature du sol, la période de la récolte, la durée de séchage, le mode d'extraction. (**ZABEIROU et HACHIMOU, 2005**).

Le rendement en huile essentielle de *l'Artemisia herba alba* est le même à celui obtenu pour la même espèce provenant de la région d'El Aricha wilaya de Tlemcen (1%) (Mouchem. F 2010). Par ailleurs, un rendement plus élevé (3.8%) est enregistré pour la même espèce récolté à partir de la région de Kessar Chellala (**Rouabhi, et al 2006**). ces différences être expliquer par le climat, la pédologie et l'altitude.

**Fig.8 rendement d'huile essentielle**



## IV.2.Caractéristiques organoleptiques

L'huile essentielle de l'armoise blanche (*Artimisia herbe alba*) et le romarin (*rosmarinustournefourtii*), *thym(thymus siliasus SSP mambianus)* est extraies par technique de hydro-distillation, il est liquide mobile, d'une coloration et à odeur camphrée, les résultats obtenus sont représentés dans le tableau .

**Tableau 3 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles des trois plantes**

	Aspect	Couleur	Gout	Odeur
L'AFNOR	Liquide mobile, limpide	Presque incolore à jaune pâle	Fort	Caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée selon l'origine
Huile essentielle de Romarin	Liquide mobile	Jaune clair	Fort	Camphrée
Huile essentielle de l'armoise blanche	Légèrement visqueux	Jaune pâle à vert jaunâtre	Fort	Fraiche
Huile essentielle de thymus	Liquide mobile	Marron	Fort piquant	Fraiche

Notre huile essentielle est obtenue par l'hydro-distillation qui est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle (MARIE ELISABETH, 2005). Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR. (AFNOR ,1999).

### IV.3. Sensibilité des souches bactériennes utilisées

Les deux souches ont manifesté une certaine sensibilité vis à vis l'action des huiles étudiées pratiquées avec les mêmes doses. En effet, l'espèce streptocoques de groupe D était extrêmement sensible avec un diamètre d'inhibition varie entre 08et 25 mm suivi de E. coli, souches bactériennes sensibles ou intermédiaire dont le diamètre d'inhibition est varie entre 07et 11 mm.

#### IV.4. L'activité antibactérienne de l'Huile essentielle

**Tableau 4. Résultat des mesures des halos d'inhibition des deux souches bactériennes testées**

Diamètre d'inhibition des huiles essentielles	Huile essentielle de l'armoise blanche	Huile essentielle de romarin	Huile essentielle de thym
Souche bactérienne			
E. coli	9mm	7mm	11mm
Streptocoque	11mm	8mm	25mm

##### IV.4.1.Lecture de résultats

Les résultats de tableau indiquent une sensibilité très importante pour les deux souches bactériennes à l'huile essentielle des trois espèces (armoise blanche, romarin et le thym).

L'action des huiles essentielles de l'armoise blanche s'est traduite par l'apparition d'un halo d'inhibition de 11 mm contre les streptocoques et 09mm contre les E. coli.

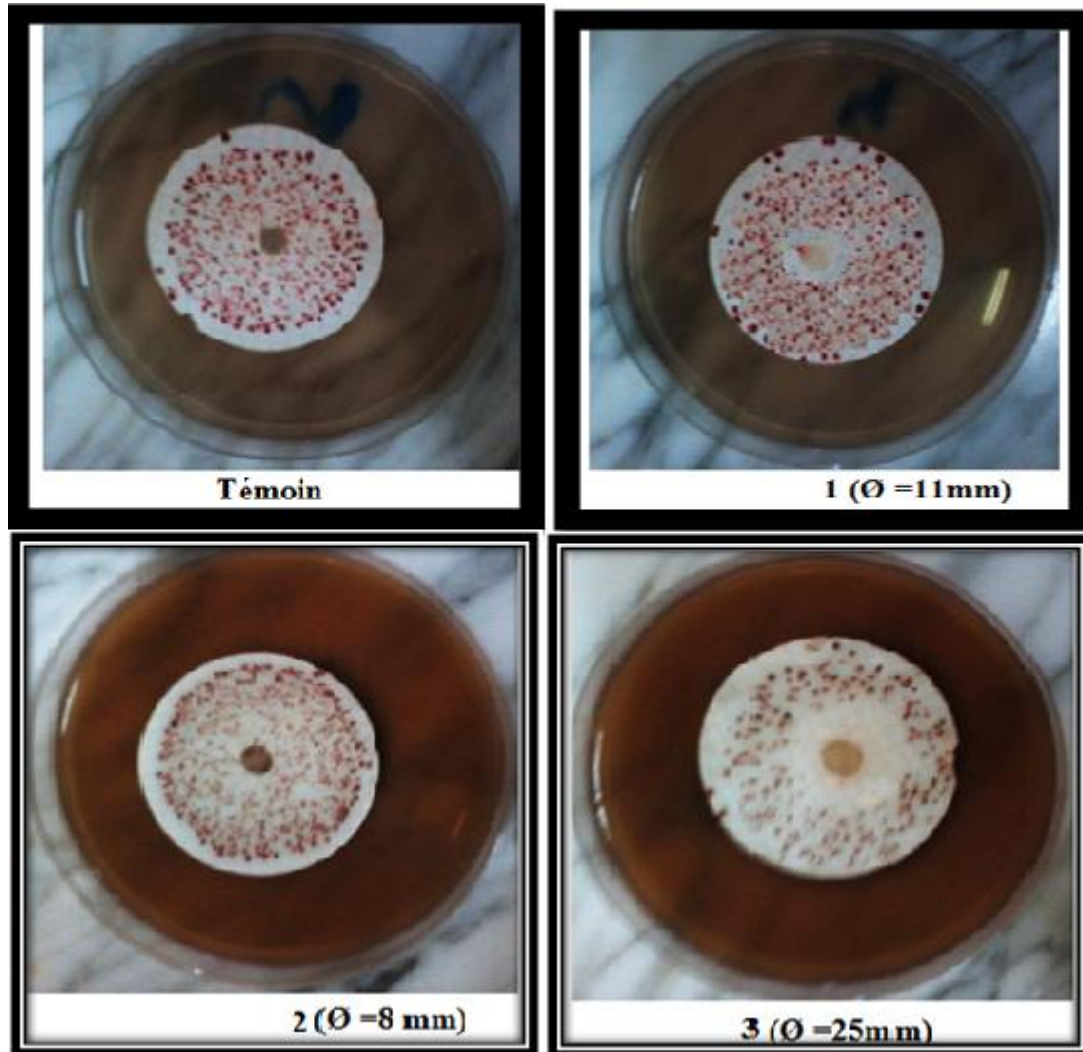
Le romarin a présenté des diamètres d'inhibition inférieur 08mm contre les G+ et 07mm contre les G- .

Le thym a montré un effet antibactérien plus élevé que l'armoise blanche et le romarin. La zone d'inhibition est de 25mm contre G+ et contre G- 11mm (**tableau 4**).

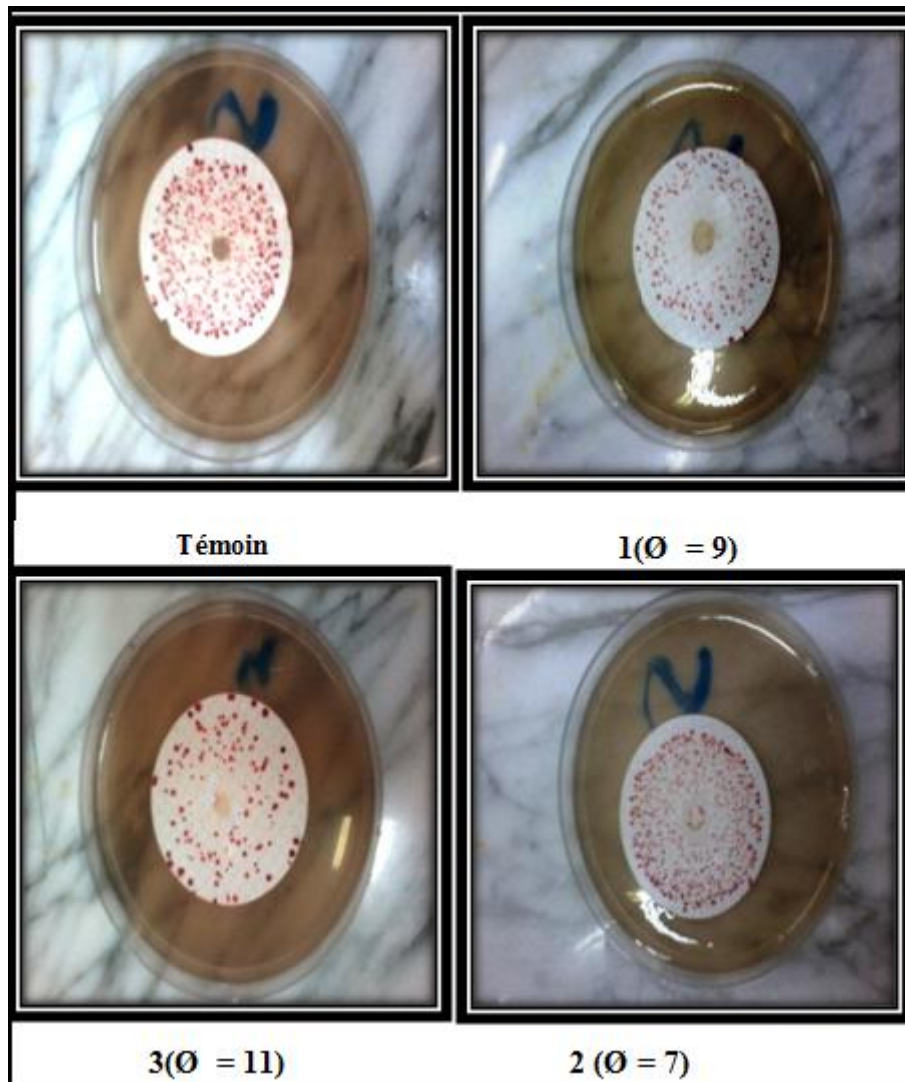
La différence de l'activité antibactérienne est due principalement à la différence en constituant majoritaire des huiles essentielles.

**Fig.9 Halo d'inhibition ( $\emptyset$ ) en mm des Streptocoques de groupe D développées sur gélose de Slanetz et Bertly par l'action d'huile essentielle de trois plantes étudiées:**

**(1 : Armoise blanche -2 : Romarin-3 : Thym)**



**Fig. 10 Halo d'inhibition ( $\emptyset$ ) en mm des *E. coli* développées sur gélose de tergitol par l'action d'huile essentielle de trois plantes étudiées : (1 : Armoise blanche -2 : Romarin- 3 : Thym)**



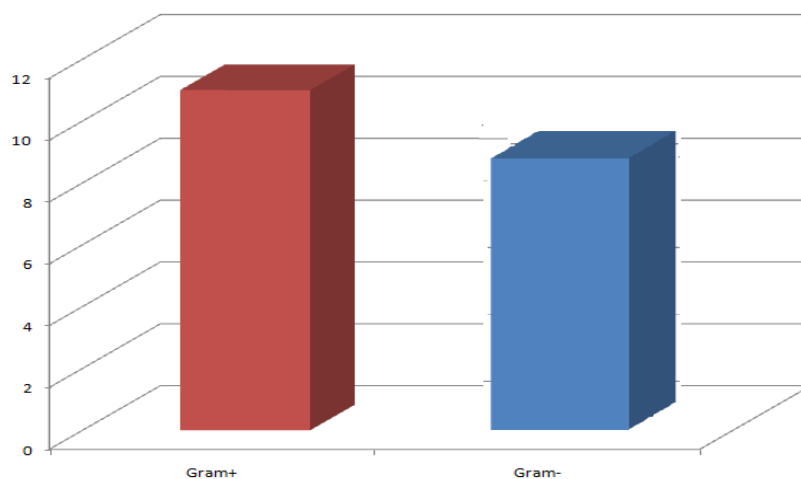
L'*Armoise Blanche* est marquée par la dominance du composant le plus important qui est les **sesquiterpènes lactones** tels que les eudesmanolides et les germacranolides (Marco.J, 1989) ; Le *Romarin* par les **monoterpènes**. (Pintore et al, 2002). Et le *Thym* se caractérise par le **thymol**. (Valnet, 1984). Ainsi, Mouchem(2010) a montré que l'activité antibactérienne de l'huile essentielle analysée peut être attribuée principalement à son constituant majoritaire. Les alcools terpéniques sont particulièrement actifs contre les cellules microbiennes car solubles dans les milieux aqueux et ils provoquent d'importants dégâts sur

les parois cellulaires des microorganismes (**Mouchem.F 2010**).

La comparaison entre l'activité antibactérienne des trois huiles contre les bactéries G+ et les bactéries G- a découvert que les trois huiles essentielles ont montré un effet bactéricide très élevé contre les bactéries G+ que contre les bactéries G- .cette différence est due d'une part a la constitution de la paroi du bactérie. Les bactéries G- possèdent une membrane externe hydrophile qui peut bloquer la pénétration des composés hydrophobes. D'autre part l'action relative des huiles essentielles qu'est associée a leur base hydro-solubilité et a la capacité de former les liaisons hydrogènes, ce qui limite leur entré dans les bactéries G- possèdent des vois hydrophobes inefficaces dans la membrane.

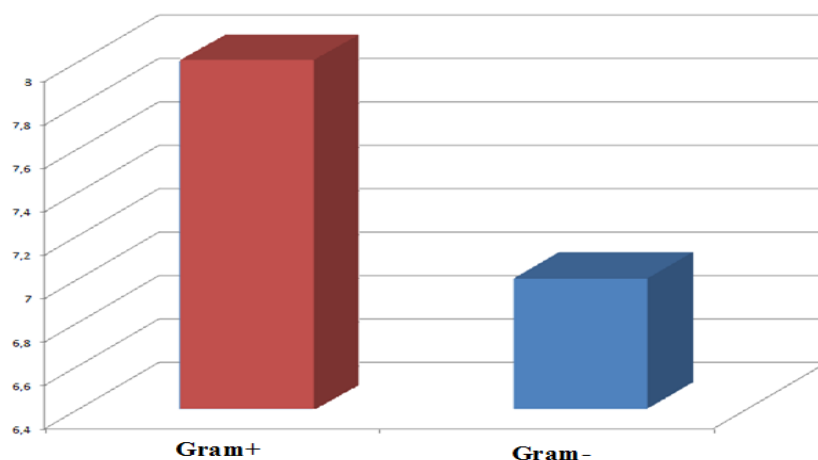
L'ensemble des ces résultats sont exploitées pour établir les graphes suivants :

**Fig.11 Pouvoir inhibitrice d'huile essentielle d'*Artemisia herba arba* contre les bactéries Gram+ et Gram-**

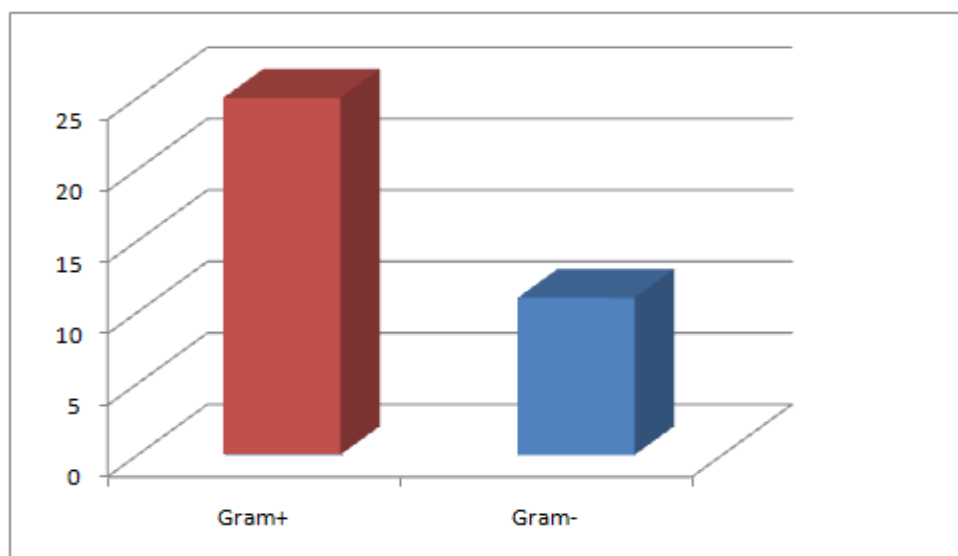




**Fig.12** Pouvoir inhibitrice d'huile essentielle de Romarin contre les bactéries *Gram+* et *Gram-*



**Fig.13** Pouvoir inhibitrice d'huile essentielle de Thym contre les bactéries *Gram+* et *Gram-*



L'activité antibactérienne de l'huile essentielle analysée peut être attribuée principalement à son constituant majoritaire. Les alcools terpéniques sont particulièrement actifs contre les cellules microbiennes car solubles dans les milieux aqueux et ils provoquent d'importants dégâts sur les parois cellulaires des microorganismes (**Mouchem.F 2010**).

En fin, d'après les résultats de tableau et les figures on a constaté que l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* Asso présente un effet antibactérien vis-à-vis d'*E. Coli* et *streptocoques*.

# Conclusion générale

## **Conclusion générale**

Le présent travail montre que Le rendement en huile essentielle extraite à partir des feuilles de l'*Armoise Blanche* était 1%. Ce rendement est supérieur à celui du *romarin* 0.76% et inférieur à celui du *thym* 3.16%.

Les tests de sensibilité aux huiles essentielles de ces espèces nous a permis de révéler la présence d'une activité antibactérienne grâce à la nature chimique de ces constituants et en particulier des constituants majoritaires.

Les résultats de ce travail indiquent une sensibilité très importante pour les deux souches bactériennes à l'huile essentielle des trois espèces (*armoïse blanche*, *romarin* et le *thym*).

L'action des huiles essentielles de l'*armoïse blanche* s'est traduite par l'apparition d'un halo d'inhibition de 11 mm contre les streptocoques et 09mm contre les *E. coli*.

Le *romarin* a présenté des diamètres d'inhibition inférieur 08mm contre les Gram positif et 07mm contre les Gram négatif.

Le *thym* a montré un effet antibactérien plus élevé que l'*armoïse blanche* et le *romarin*. La zone d'inhibition est de 25mm contre Gram positif et contre Gram négatif 11mm.

Différents travaux ont montré que les huiles essentielles dont le composé majoritaire est de nature phénolique, ont un large spectre d'inhibition, comprenant des bactéries à gram positif et à gram négatif, des champignons et même des virus.

Cette action antibactérienne peut être expliquée par le fait que la plante produit différents métabolites secondaires appartenant à certaines classes connues pour avoir ce type d'activité tel que les composés phénoliques, et terpénoides.

Ce travail nous confirme de façon irréfutable l'activité antibactérienne de l'*armoïse blanche* à travers la réelle efficacité des huiles essentielles.

Concernant les perspectives pour cette voie de recherche, on propose une étude comparative des huiles essentielles et leurs activités microbiennes et ce, en fonction de leurs origines. Dans ce contexte, on projette une prospection et une étude des différentes

populations en fonction des étages bioclimatiques de leurs localisations.

Une étude sera envisagée et qui se rapporte au pouvoir d'inhibition des huiles essentielles contre les bactéries hautement pathogènes, tel que l'agent de la fièvre typhoïde « salmonella typhi » et l'agent de l'intoxication alimentaire « clostridium perfringens ».

# Références Bibliographiques

## Références Bibliographiques

01. Al-Bayati F. A. 2008. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 166 (3) : 403-406.
  
02. Aidoud, . 1983. Contribution a l'étude des écosystèmes steppiques du sud oranais, phytomasse, productivité primaire et application postorale. Thèse de doctorat 3ème cycle. Université des sciences technologiques, Houari boumedienne , Alger, p255.
  
03. Barel S, Segal R, Yashphe J (1991) The antimicrobial activity of the essential oil from *Achillea fragrantissima*. *J. Ethnopharmacol.* 33: 187-191
  
04. Bassereau M., Chaintreau A, Duperrex S, Joulain D, Leys , H, Loesing, Dwen N, Sherlock A, Schippa C, Thoret volatile allergens in fragrances. Data treatment strategies and method performances. *J Agric Food Chem*, 55 : 25-31.
  
05. Bazylo A. et Strzelecka H. 2007. A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts. *Fitoterapia*, 78 : 391-395.
  
06. Belaiche, P. 1979. Traite de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1. Edition : meloïne.
  
07. Benabid A., 2000. Flore et écosystèmes du Maroc. Évaluation et préservation de la biodiversité. Paris : Édition Ibis Press, 159-161.
  
08. Bencha S. et Bouzada F. Z. Activité biologique et phytochimique de l'huile essentielle de *Schinus molle*. *Mem. D'ING.* 2010. P42.

09. Bendahon. M., 1991. Contribution à l'étude de la variabilité flavonique chez *Artemisia herba alba* Asso. Mémoire de magister, faculté Abou bekr Blkaid, Tlemcen, p73.
10. Besanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M., 1975. Les plantes thérapeutiques modernes. Edition Maloine.
11. Boudy P., 1948. Economie forestière Nord-africain, Tome I Milieu physique et milieu :humain. Paris Ve, Edition Larose, p 125-216.
12. Brada, M., Bezzina, M., Martier, M., Carlier, A., Lognay, G., *Biotechnol. Agron. SOC. Environ*, 2007, 11(1), P3-7.
15. Bruneton J., 2008. Pharmacognosie-phytochimie, plantes médicinales, 2eme edition Paris, TEC et DOC- éditions médicales internationales, p1288.
14. Bruneton, J., 1999. Pharmacognosie –phytochimie, plantes médicinales, 4eme edition, revue et augmentée, Paris, TEC et DOC – édition médicales internationales, P1288.
13. Bruneton J. Pharmacognosie phytochimie. Plantes médicinales. 1993, TEC et DOC, Lavoisier, Paris, p915.
16. Burt S (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94: 223-253
17. Candan F, Unlu M, Tepe B, Daferera D, Polissiou M, Sokmen A, Akpulat HA (2003) Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *Millefolium* Afan. (Asteraceae). *J. Ethnopharmacol.* 87: 215-220



18. Caverio S., Jaime L., Martín-Álvarez P. J., Señoráns F. J., Reglero G. et Ibañez E. 2005. In vitro antioxidant analysis of supercritical fluid extracts from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L). *European food research and technology*, 221: 478-486.
19. Chantreau A., Joulain D., Marin C., Schmidt CO, VEYM. GC-MS, 2003. Quantitation of fragrance compounds suspected to cause skin reactions. *J Agric food Chem*, vol 51. p398-403.
20. Cheung S. et Tai J. 2007. Anti-proliferative and antioxidant properties of rosemary *Rosmarinus officinalis*. *Oncology reports*, 17 (6) : 1525-1531
21. Cowan M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12 (4) : 564-570.
22. Del Baño M. J., Lorente J., Castillon J., Benavente-Gracia O., Marin M. P., Del Rio J. O., Ortuño A. et Ibarra I. 2004. Flavonoid distribution during the development of leaves, flowers, stems and roots of *Rosmarinus officinalis*, postulation of a biosynthetic pathway. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52 (16) : 4987-4992.
23. De Sousa AC, Alviano DS, Blank AF, Alves PB, Alviano CS, Gattass CR (2004) *Melissa officinalis* L. Essential oil: antitumoral and antioxidant activities. *J. Pharm. Pharmacol.* 56: 677-681.
24. Deysson G., 1967. Organisation et classification des plantes vasculaires. Tome 1. Edition S.E.D.E.S.
25. Dordevic S, Petrovic S, Dobric S, Milenkovic M, Vucicevic D, Zizic S, Kukic J (2007) Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of

Carlinaacanthifolia root essential oil. J. Ethnopharmacol. 109: 458-463

26. Ebrahimi N. S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A. et Yousefzadi M., 2008. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. Food chemistry., 110 : 927-931.

27..ESCOTT, HARLEIN, KIEIN (2006). Microbiologie 2e édition française, de boek, P : 2.  
GUENTER E (1975). The essential oils Vol II, III, IV, V, VI, and D. Van Nostrand Ed. New York USA.

28.Falmini.G.,Tebano,M.,Ciano.P.L.,Ceccarini, L.,Ricci, S. A., Longo, I., journal of chromatography A, 2007, 1143, p 36-40.

29.Fauché J.G., A. Hambuckers., 2008. Les plantes médicinales de la plante au médicament conception et réalisation.

30. Favre R., Magnoplay P.,Blane A., Meilland E., Soriano J., Vacherot M. et Viare J. 1981.Apha flore, Encyclopédie des plantes; les plantes vivaces : Médicinales et aquatiques,volume4; Importance et classement des végétaux. Editions grammont S.A.; Paris.

31.Festy.D. 2014. Edition le duc. S. 75006 Paris. Ma bible des huiles essentielles.p15.

32.Jafri MA, Farah, Javed K, Singh S (2001) Evaluation of the gastric antiulcerogenic effect of large cardamom (fruits of *Amomum subulatum* Roxb). J. Ethnopharmacol. 75: 89-94

33.Jean. L .1991. les huiles essentielles. Edition : Frison Rode, Paris.

34. Jiménez-Arellanes A., Martínez R., García R., León-Díaz R., Aluna-Herrera J.,

Molina –Salinas G. et Said-Fernández S. 2006. Thymus vulgaris as a potential source of antituberculosis compounds. Pharmacologyonline., 3 : 569-574.

35. Hatimi S., Boudouma M., Bichichi M., Chaib N. and Guessous Idrissi N. (2001). B SocPathol, 94:29-31.

36. Huard D. et Huard L. les huiles essentielles(L'Aromathérapie). edition. Dunod. 1981.

37. Ibañez E., Cifuentes A., Crego A. L., Señoráns F. J., Cavero S. et Reglero G. 2000. Combined use of supercritical fluid extraction, Micellar electrokinetic chromatography and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from Rosmary (Rosmarinus officinalis L). Journal of Agricultural and Food chemistry., 48 (9) : 4060-4065.

38. Ibañez E., Kubátová A., Señoráns F. J., Cavero S., Reglero G. et Hawthorne S. B. 2003. Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosmariny Plants. Journal of Agricultural and Food Chem., 51 (2) : 375-382.

39. Gerhard .K.h.przemeck, Christian S.Hardtke,Z.Renee Sung and Thomas Berleth,1993.studies on the role of the Arabidopsis gene monopteros in vascular development and plant cell axialization.journal of physiological plant. Vol 11 p165-170.

40. Ghrabi Z. and Sand R.L. (2008). Artemisiaherba alba Asso. A Guide to Medicinal Plants in North Africa, 49 - 49.

41. Grégory C., 1988. Encyclopédia Universalis, Aolto Anabaptisme, Corpus 1, France S.A.

42. Golmakani M. T. et Rezaei K. 2008. Comparaison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food chemistry.*, 109 : 925-930.
43. Karioti A, Vrahimi-Hadjilouca T, Droushiotis D, Rancic A, Hadjipavlou-Litina D, Skaltsa H (2006) Analysis of the essential oil of *Origanum dubium* growing wild in Cyprus. Investigation of its antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Planta Med.* 72: 1330-1334.
44. Lacaune J.P- pharmacocinétique : principes Fondamentaux. 1993. masson, Paris.
45. Lefief. A. 2012 edition EST75020 Paris. Le grand livre des huiles essentielles. p10.
46. Le Floch E. 1983. Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Editions Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique.
47. Lemonica I. P., Damasceno D. C. et Di-Stasi L. C. 1996. Study of the embryotoxic effects of an extract of Rosmary (*Rosmarinus officinalis* ). *Brazilian journal of medical and biological research.*, 29 (2) : 223-227.
48. Marco J.A. (1989). Sesquiterpene lactones from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, 28: 3121-3126.
49. Mazza, G. P. Delaquis S.M. Ward, R.A. Olley, M.C. Cliff, 1992. Microbiological, Chemical and Sensory Properties of Pre-cooked. Roast Beef preserved with Horseradish. *Essential oil journal*. Vol 8 P56-60.

50. Mbarek LA, Mouse HA, Elabbadi N, Bensalah M, Gamouh A, Aboufatima R, Benharref A, Chait A, Kamal M, Dalal A, Ziad A (2007) Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. *Anti-tumor effect of blackseed (Nigella sativa L.) extracts. Braz. J. Med. Biol. Res.* 40: 839-847

51. Mohamed H., El-Sayed M.A., Hegazy M.E., Helaly S.E., Esmail A.M. and Mohamed N.S. (2010). Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba-alba*. *Rec Nat Prod*, 4: 1-25.

52. Monti D, Chetoni P, Burgalassi S, Najarro M, Sætton MF, Boldrini E (2002) Effect of different terpene-containing essential oils on permeation of estradiol through hairless mouse skin. *Int. J. Pharm.* 237: 209-214.

53. Norme ISO 7899-2 et Norme NF T 90-416. Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux. Partie 2 méthode par filtration sur membrane.

54. Norme NF EN ISO 9308 – 1 : Recherche et dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries Coliformes partie 1. Méthode par filtration sur membrane.

55. Norme NF ISO 7218 : Règles générales pour les examens microbiologiques.

56. Norme NF V 08-017 : Dénombrement des Coliformes fécaux et d'*Escherichia coli* (annexe à NF V 08-015 et NF V 08-016).

57. Norme XP V 08-102 : Règles générales pour le comptage des colonies et l'expression des résultats : cas des dénombrements en milieu solide.

58. Offord E. A., Macé K., Ruffieux C., Malnoë A. et Pfeifer A. M. 1995. Rosmary

components inhibit benzo [a] pyrene-induced genotoxicity in human bronchial cells. *Carcinogenesis.*, 16 (9) : 2057-2062.

59. Özcan M. et Chalcha J. C. 2004. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L growing wild in Turkey. *Bulgarian journal of plant physiology.*, 30 (3-4) : 68-73.

60. Ozenda P., 1985. La flore du sahara. Tome 2. Edition CNRS, p44.

61. Pérez M. B., Calderón N. L. et Croci C. A. 2007. Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of Rosmary (*Rosmarinus officinalis* L). *Food chemistry.*, 104 : 585-592.

62. Pintore G., Usai M., Bradesi P., Juliano C., BOATO G., Tomi F., Chessa M., Cerrir. et Casanova J., 2002 : Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. *Flavour Fragrance*, Vol. 17, pp : 15-19.

63. Pollien, P OH, afay. L.B. Maignial, Chanitereau, Simutaneous, 1998. Distillation-extraction, Preparative operations. *Flavour and fragrance journal*. Vol7 p50.

64. Pourrat., 1974. Propriétés ecophysiological associées a l'adaptation d'*Artemisia herba-alba* plante d'interet postoral au milieu désertique. These de 5eme cycle. Université de Paris.

65. Quezel. P., Santa S., 1963. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méditerranéenes. Edition. Centre national de recherche scientifique. Paris. France. Tome 2. P 19-23.

66. Saleh N.A.M., El-Negoumy S.I. and Abou-Zaid M.M. (1987). Flavonoids of *Artemisia judaica*, *A. monosperma* and *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*, 26: 3059–3064.
67. Selmi S. et Sadok S. 2008. The effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris* Linnaeus ) on flesh quality of tuna (*Thunnus* Linnaeus) during chilled storage. *Pan-American Journal of aquatic sciences.*, 3 (1) : 36-45.
68. Shellie R, Marriott P, Chaintreau A., 2004. Quantitation of suspected allergens in fragrances : evaluation of comprehensive two-dimensional GC for quality control., *Flavour and Fragrance journal-Wiley online Library*, vol19 p91-8.
69. Siani AC, Ramos MF, Menezes-de-Lima O Jr, Ribeiro-dos-Santos R, Fernandez-Ferreira E, Soares RO, Rosas EC, Susunaga GS, Guimaraes AC, Zoghbi MG, Henriques MG (1999) Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. *J. Ethnopharmacol.* 66: 57-69
70. Souza C. R. F., Schiavetto I. A., Thomazini F. C. F. et Oliveira W. P. 2008. Processing of *Rosmarinus officinalis* linne extract on spray and spotted bed dryers. *Brazilian journal of chemical engineering.*, 25 (1) : 59-69.
71. Takeuchi H., Lu Z. G. et Fujita T. 2004. New monoterpenes glycoside from the aerial parts of Thyme (*Thymus vulgaris* L). *Bioscience, biotechnology and biochemistry.*, 68 (5) : 1113-1134.
72. Tastekin D., Atasever M., Adigüzel G., Keles M. and Tastekin A. (2006). Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba-alba* in experimental hyperglycaemic rats. *Bull Vet Inst Pulawy*, 50: 235-238.
73. Umezu T (1999) Anticonflict effects of plant-derived essential oils. *Pharmacol.*

Biochem. Behav. 64: 35-40 Unlu M, Daferera D, Donmez E, Polissiou M, Tepe B, Sokmen A (2002) Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achilleasetacea* and *Achilleateretifolia* (Compositae) J. Ethnopharmacol. 83: 117-121

74. - Vainet J, 1984. Aromathérapie: traitement des maladies par les essences de plantes. Ed. Maloine S. A, Paris.

75. Wang W., Wu N., Zu Y. G. et Fu Y. J. 2008. Antioxidant activity of *Rosmarinus officinalis* L oil compared to its main compounds. Food chemistry., 108 (3) : 1019-1022.

76. Wichtl Max, Anton Robert, 2003. Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale science thérapeutiques. Edition TEC. DOC. P29.

77. Yang R. Y., Lin S. et Kuo G. 2008. Content and distribution of flavonoids among 91 edible plant species. Asia of pacific journal of clinical nutrition., 17 (S1) : 275-279.

78. Yin Y., Gong F.Y., XinWu X., Sun Y., Li Y., Chen T. and Xu Q. (2008). Anti-inflammatory and immunosuppressive effect of flavones isolated from *Artemisia vestita*. J Ethnopharmacol, 120: 1-6.

79. Zhao RJ, Koo BS, Kim GW, Jang EY, Lee JR, Kim MR, Kim SC, Kwon YK, Kim KJ, Huh TL, Kim DH, Shim I, Yang CH (2005) The essential oil from *Angelica gigas* NAKAI suppresses nicotine sensitization. Biol. Pharm. Bull. 28: 2323-2326



## الملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة النشاط المضاد للبكتيريا من الزيت العطري المستخرج من أوراق الشيح . بالنسبة للمردود فان كمية الزيت العطري المستخلص عن طريق التقطير المائي كانت تمثل نسبة 1% للشيح , 3.16 % فيما يخص الزعتر و 0.76% بالنسبة لإكليل الجبل . الاستفادة المثلى من طريقة النشر على القرص لتقييم نشاط مضاد للجراثيم سمحت لنا أن تتكون طبقة بكتيرية أكثر تجانساً. قدمت نبتة الشيح نشاط كايح قوي جدا ضد البكتيريا الإيجابية (العقديات) والبكتريا السالبة (الإشريكية القولونية). قيمة انتاج الزيوت الأساسية المستخرجة من الجزء الجوي من نبتة الشيح يتوافق مع معايير الجمعية الفرنسية للتوحيد القياسي الزيت الأساسي لنبتة الشيح ؛ يمكن استخدامه كأساس في إعداد مكونات المكافحة الحيوية (المبيدات الحشرية ومبيدات الفطريات)، وبالتالي في الأدوية الأخرى، والمستحضرات التجميلية والعلاجية والطبية.

**الكلمات المفتاحية:** الشيح، الزيت الأساسي، النشاط المضاد للبكتيريا

## Résumé

Le but de ce travail était d'étudier l'activité antibactérienne d'huile essentielle extraite à partir des feuilles d'*Artemisia herba alba*. et pour valoriser cette espee, on l'a comparait avec deux autres espèces qui sont *le thymus ciliatus ssp mombianus* et *le rosmarinus tournefoutrii*.

L'extraction d'huile essentielle qui à été réalisé par la méthode d'hydro-distillation a donné un rendement de 1% pour cette espèce, 3.16% pour le thym et 0.76% pour le romarin.

L'optimisation de la méthode de diffusion sur disque pour évaluer l'activité antibactérienne Nous a permis d'avoir un tapis bactérien plus homogène. L'armoise blanche a présenté une activité inhibitrice très prononcé contre les bactéries gram positif (*streptocoques*) que les bactéries gram négatif (*Escherichia coli*).

La valeur du rendement en huile essentielle de la partie aérienne de l'armoise blanche est conforme aux normes AFNOR.

L'huile essentielle de cette espèce ; peuvent être utilisé comme base dans la préparation des composants de lutte biologique (insecticides, fongicides) et ainsi dans autres domaines pharmaceutique, cosmétique, thérapeutique et médicinale.

**Mots clés :** L'armoise blanche, huile essentielle, l'activité antibactérienne.

## Summary

The aim of this study was to investigate the antibacterial activity of the essential oil extracted from the leaves of *Artemisia herba Alba*.

The extraction of essential oil that has been created by hydro-distillation method gave a yield of 1% for this species, 3.16% for the thyme and 0.76% for the rosemary.

Optimizing the disk diffusion method to evaluate the antibacterial activity has allowed us to have a more homogeneous bacterial lawn. The sagebrush presented a very strong inhibitory activity against gram-positive bacteria (*Streptococcus*) and gram-negative bacteria (*Escherichia coli*).

The essential oil yield of the value of the aerial part of sagebrush meets the standards of the French Association for Standardization.

The essential oil of this species; can be used as a basis in the preparation of biological control components (insecticides, fungicides) and so in other pharmaceutical, cosmetic, therapeutic and medicinal.

**Keywords:** sagebrush, essential oil, the antibacterial activity.