

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR**

**ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET**

**INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES**



**Mémoire de fin d'études  
en vue de l'obtention du diplôme de docteur veterinaire**

**THEME :**

Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la cannelle  
de chine « *Cinnamomum aromaticum* »

**Présenté par :**

**Elmecheri Assia**

**Encadre par :**

**M. Benbelkacem Idir**

**Année universitaire : 2017 – 2018**

# Remerciements

Avant d'aborder le vif du sujet, je tiens à remercier vivement :

Mr Banbelkacem Idir pour tout le soutien et l'encadrement qu'il m'a donné.

Le corps enseignant de l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret, les responsables de laboratoires qui ont accepté de m'accueillir, et de me faciliter l'intégration dans le milieu de la pratique.

A tous ceux dont le soutien m'a été utile et nécessaire.

## Dédicaces

Les louanges sont à Allah seigneur des mondes qui ma comblé de grâce en me permettant d'achever en bonne santé ce modeste travail que je dédie :

Au premier lieu à l'âme de mon grand père qui représente beaucoup pour moi.

A ceux que j'aime du fond de mon cœur, à qui je dois tant pour leur amour, leur support continu tout le long du cursus et qui n'ont cessé, à aucun moment, de me soutenir et de m'encourager par leurs prières et leurs sacrifices. Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma profonde reconnaissance pour ce que vous avez fait pour moi, mes chers parents « Elhocine, Fatima »

A mes deuxième parents « Hbibi et Hbiba ».

Ma sœur « Chérifa » et mes frères « Aek ,Hilal,Med et Hadjoudji » qui m'ont encouragé et soutenu dans mes moments les plus difficiles.

L'excellence que recherchée dans ce travail Symbolise la perfection d'un amour, d'une attention, d'un soutien qu'ils n'ont Cessés de me donner aux cours des années passées.

A mes chéries Ines, Amina, Fatima, et Djoud .

Enfin à toute ma famille et a mes copines Imane, et Yesmine qui ont su toujours me remonter le moral pendant les moments difficiles.

A tout mes amis et collègues de la promotion 2017/2018 surtout ma chère copine Fatima, à mes professeurs de l'Institut des sciences vétérinaires Tiaret, .Je tiens à leurs exprimer toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude.

## Sommaire :

Liste des abréviations : .....	
Liste des photos : .....	
Liste des tableaux : .....	
1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	4
1.1 Historique .....	4
1.2 Description et habitat .....	4
1.3 Classification .....	4
1.4 Caractères biologiques .....	5
1.4.1 Caractères biochimiques et conditions de multiplication .....	5
1.4.2 Milieux d'isolement utilisés .....	5
1.5 Pouvoir pathogène .....	6
1.6 Résistance aux antibiotiques .....	6
2 <i>Escherichia coli</i> .....	7
2.1 Historique .....	7
2.2 Description et habitat .....	7
2.3 Classification .....	7
2.4 Caractères biologiques : .....	8
2.4.1 Caractères morphologiques : .....	8
2.5 Pouvoir pathogène .....	8
2.5.1 Infections intestinales .....	8
2.5.2 Infections extra – intestinales .....	9
2.6 Résistance aux antibiotiques .....	9
3. <i>Candida albicans</i> .....	9
3.1 Historique .....	9
3.2. Description et habitat .....	9
3.3. Classification .....	10
3.4 Caractères biologiques .....	10
3.4.1. Milieu de vie .....	10
3.4.2. PH .....	10
3.4.3 Température .....	10
3.4.4. Nutrition .....	10
3.5. Pouvoir pathogène : .....	11
1. Définition .....	12
2. Historique .....	13

3. Composition des huiles essentielles .....	13
a) Les monoterpènes.....	13
b) Les sesquiterpènes.....	14
3 .Méthodes d'extraction des huiles essentielles .....	15
3.1 . Extraction par Hydro stillation .....	15
3.2 . Entrainement à la vapeur d'eau .....	15
3.3 .l'expression à froid.....	15
3.4 . Extraction aux solvants organiques .....	16
3.5 . Hydro distillation par micro-ondes sous vide.....	16
3.6 . Fleurage .....	16
4 Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	16
5 Autres effets des huiles essentielles.....	17
5.1 . Action antifongique des HE .....	17
5.2 . Action antivirale des HE.....	17
5.3 .Action antiparasitaire des HE.....	18
5.3.1 . Parasites externes.....	18
5.3.2 . Parasites externes.....	18
5.4 .activité antiseptique .....	18
5.5 .Les HE anti-inflammatoires.....	19
<i>Cinnamomum cassia</i> .....	20
MENTH.....	21
1. LE GENRE MENTHA.....	21
II.1.2 Utilisations des menthes dans la pharmacopée traditionnelle.....	22
2.3 Activités biologique des huiles essentielles de la Menthe aquatique .....	24
Romarin .....	24
1-Définition .....	24
2-Caractéristique botanique.....	24
3-Habitat.....	24
4-Utilisation.....	25
5-Propriétés du Romarin.....	25
5.1. Activité antibactérienne.....	25
5.2 Activité antifongique.....	25
5.3 Activité antivirale .....	25
Matériels et Méthodes .....	27
1. Matériel végétal .....	27

2.	Méthodes .....	28
2.1	.Ex tractation et traitement de l'huile essentielle.....	28
2.2.	Décantage de l'huile essentielle .....	29
2.3.	Conservation de l'huile essentielle.....	30
3.	Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	31
3.1.	Les souches étudiées.....	31
3.2.	Préparation d'inoculum .....	31
3.3.	Méthode de dilution.....	32
3.3.1.	Protocole.....	32
3.3.2.	Préparation de solution mère .....	32
3.3.3.	Dépôt de disques.....	32
3.3.4.	Lecture.....	33
4.	Résultats et discussion .....	34
4.1.	Rendement en huile essentielle.....	34
4.2.	Activité antimicrobienne .....	34
4.2.1.	Sensibilité des souches à l'huile de cannelle .....	34
4.2.1.1.	Activité antibactérienne .....	34
4.2.1.2.	Activité antifongique .....	35
4.2.2.	Concentration minimale inhibitrice .....	38
5.	Conclusion.....	40
	Conclusion générale et Perspectives.....	42
	Références bibliographiques : .....	43
	[41] <i>Pascal Debauche et Dominique Baudoux ,2012 :Guide pratique d'Aromathérapie chez l'animal de compagnie Broché</i> .....	46

## Liste des abréviations :

HE : huile essentielle

HEC : huile essentielle de cannelle

SA : staphylococcus aureus

E. Coli : Escherichia coli

G+ : gram positif

G- : gram négatif

Cm : centimètre

MH : muller-hinton

°C : degré Celsius

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

ATB: antibiotique

## Liste des photos :

Figure : bâtons de cannelle

Figure 2 : dispositif d'hydro distillation

Figure 3 : ballon à décantage

Figure 4 : méthode de conservation d'He

Figure 5 : méthode de dilution

Figure 6 : dépôt des disques

Figure 7 : Photos montrant l'effet de l'H.E

Figure 8 : méthode de détermination de la CMI de l'HEC

## Liste des tableaux :

Tableau1 : diamètre en cm des zones d'inhibition d'HEC pour S.A

Tableau2 : diamètre en cm des zones d'inhibition d'HEC pour E.coli

Tableau3 : diamètre en cm des zones d'inhibition d'HEC pour Candida albicans

Tableau4 : Valeurs des CMI<sub>s</sub> et CMB<sub>s</sub>de l'huile essentielle de la cannelle sur S.A

Tableau 5 : Valeurs des CMI<sub>s</sub> et CMB<sub>s</sub>de l'huile essentielle de la cannelle sur E .coli

Tableau6 : Valeurs des CMI<sub>s</sub> et CMB<sub>s</sub>de l'huile essentielle de la cannelle sur Candida albicans

La bio résistance et la multi résistance des microorganismes aux molécules antibiotiques et antimicrobiens hémi synthétiques ou synthétiques évoluent de manière très inquiétante.

Ce phénomène de résistance aux antibiotiques est général et qui concerne toutes les espèces ne cesse d'augmenter.

La prévalence de souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la Méricilline isolées des cavités nasales des personnels hospitaliers des CHU d'Abidjan est passée de 23% en 2000 à 38,7% en 2004 [4], tandis que la fréquence des entérobactéries productrices de BLSE( bêta-lactamase à spectre élargi) et résistantes aux fluoroquinolones (avec une prévalence élevée de 27,2 % de gènes qnr) est largement supérieure aux taux observés dans de nombreux pays [4]. Selon les derniers rapports de l'Observatoire de la résistance aux microorganismes en Côte d'Ivoire (O.R.M.C.I), cette situation est loin d'être maîtrisée .Pour cela il semble important de trouver une alternative à l'utilisation des antibiotiques classiques. Les remèdes à base de plantes constituent une alternative dans les systèmes de soins primaires et donc une voie prometteuse pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés. Personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissent, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique ou des troubles organiques [47].

Pour cela l'objectif général de ce travail est d'étudier l'activité antimicrobienne de l'huile de cannelle de chine (*Cinnamomum aromaticum*).

En vue de rendre compte de la démarche scientifique adoptée, ce manuscrit comportera deux parties :

1- Dans la première partie, une revue bibliographique de 3 chapitres :

Le premier chapitre sert à présenter les agents pathogènes, l'historique, la description, l'habitat ,la classification et le pouvoir pathogène des trois souches étudiées *Staphylococcus aureus* , *Escherichia coli* et *Candida albicans*. La problématique de la résistance aux antibiotiques sera également présentée dans cette partie.

Le deuxième chapitre, présentera les huiles essentielles, la description des espèces végétales utilisées dans ce travail

Le dernier chapitre, présentera l'effet des trois huiles essentielles choisi ; l'huile de cannelle de chine, l'huile de menthe et l'huile de romarin.

La deuxième partie du manuscrit présentera le matériel et les méthodes utilisés, notamment l'extraction des huiles essentielles et l'étude de leur activité antibactérienne.

.Les résultats obtenus, suivis de la discussion puis la conclusion et les perspectives respectivement.

# Première partie

## Étude bibliographique

---

---

---

## 1. *Staphylococcus aureus*

### 1.1 Historique

Pasteur a observé en 1879, dans des pus de furoncle et d'ostéomyélites, un organisme unique, formé de petits points sphériques, réunis par couples rarement par quatre, mais très fréquemment associées en petits amas [7]

En 1889, OGSTON à créer le nom de « *staphylocoque* » pour décrire ces grains (KOKKOS). EN 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries .Il a scindé le genre de *Staphylococcus* en deux groupes selon que les colonies étaient blanches ou dorées [30].

### 1.2 Description et habitat

C'est une bactérie ronde, non mobile, en forme de grappe de raisin, dont le diamètre varie de 0.8 à 1 µ. Elle est gram positive, aérobie ou anaérobie facultative, liquéfiant la gélatine en réduisant les nitrates en nitrites et ammoniac. Le PH de croissance se situe entre 4.8 et 7.6, et on peut la trouver des aliments acides .Par contre, elle peut se multiplier dans une large gamme de température et également en présence de fortes concentrations de sel (10% de Na CL). Dans les milieux solides, les colonies de *staphylococcus aureus* sont jaunes, ou parfois blanches.

La bactérie habite dans la gorge, le nez ou sur la peau des gens sains et normaux. Il est estimé que 40% des personnes normales la portent ainsi .les mains peuvent être infectées en touchant des aliments, et il est possible de la transférer. [32].

### 1.3 Classification

Les études taxonomiques récentes ont permis de confirmer l'homogénéité du genre *Staphylococcus* et d'individualiser 29 espèces et sous-espèces de *staphylocoques*. Il existe une adaptation des espèces à l'hôte ; certaines sont trouvées chez l'homme, d'autres chez les animaux, d'autres encore à la fois chez l'homme et les animaux ; dans ce cas des éco vars ont été décrits. [31]

Baird Parker a divisé le genre staphylocoque en trois espèces : *S. aureus*, *S. épidermis* et *S. saprophyticus* ; *S. aureus* étant caractérisé par la possession d'un enzyme, la coagulase, qui transforme le fibrinogène du plasma en fibrine. Les espèces sont généralement classées en deux groupes sur la base de leur capacité à produire une coagulase libre : les staphylocoques à coagulase positive (SCP), généralement considérés comme pathogènes et les *staphylocoques* à coagulase négative (SCN), réputés moins dangereux [54]

## 1.4 Caractères biologiques

### 1.4.1 Caractères biochimiques et conditions de multiplication

[39]

- Gram +
- Production d'un pigment jaune doré
- Coagulase +
- Désoxyribonucléase +
- Phosphatase +
- Fermentation du mannitol +
- Tolérance en NaCl (7,5%) +
- Noircissement de tellurite +
- Aérobie et anaérobie : mais ils préfèrent les conditions aérobies qu'anaérobie.
- Sensible à la chaleur : détruits par la pasteurisation (15 à 72°)

### 1.4.2 Milieux d'isolement utilisés

❖ Milieux non sélectifs :

Gélose nutritive :

Gélose trypticase soja

Gélose BCP ( bromocrésolpourpre+lactose)

❖ Milieux sélectifs

Gélose chapman (milieu hyper salin)

Gélose baird parker (identification facultative des *staphylocoques aureus*)

## 1.5 Pouvoir pathogène

Son pouvoir pathogène résulte de plusieurs sécrétions en particulier :

La toxine qui est sécrétée dans le produit alimentaire, dans lequel la bactérie se développe .Le produit alimentaire ne change ni de gout, ni d'odeur, et conserve donc ses qualités gustatives d'origine .cette situation rend difficile la détection de la toxine .lorsque la toxine est ingérée, l'organisme s'affaiblit ; la toxine peut entraîner la mort chez un sujet déjà très affaibli. [39]

## 1.6 Résistance aux antibiotiques

La majorité des *S. aureus* sont producteurs d'une pénicillinase inductible et donc résistants à la pénicilline G et aux groupes amplicilines [43]

La pénicilline G et les amino-penicillines sont habituellement inactives. D'après Flandrois[20] , les pénicillines M et céphalosporines ,non hydrolysées par la pénicillinase , restent actives, sauf en milieu hospitalier ou plus de 20% environ des souches sont résistantes à ces antibiotiques (les souches sont dites Méricilline résistantes) . la résistance à la Méricilline entraîne une résistance croisée in vivo à toutes les autres pénicillines et céphalosporines .des infections graves par des souches résistantes à la Méricilline ont été le plus souvent traités avec succès à l'aide d'un antibiotique plus ancien, potentiellement, la vancomycine [47] . Certaines souches de *S. aureus* sont dites tolérantes à la Méricilline ;par déficit des enzymes auto lytiques . ces souches nécessitent, pour être lysées, des concentrations d'antibiotiques très nettement supérieures aux concentrations inhibitrices bactériostatiques [23] . selon les mêmes auteurs, il existe une sensibilité pratiquement constante de *S. aureus* à la Vacomycine , à la Vacomycine , à la pristinamycine et à la Rifampicine.

## 2 *Escherichia coli*

### 2.1 Historique

Il est difficile d'imaginer aujourd'hui l'excitation qui régnait à l'époque de LOUIS PASTEUR (1822-1895) et ROBERT KOCH (1843-1910), ou médecins et microbiologistes couraient après l'agent responsable de chaque maladie .c'est dans ce climat qu'un jeune pédiatre allemand THEODOR ESCHERICH (1857-1911), voir l'encadré qui lui est consacré, décrivait, en 1885 l'espèce *Bacterium coli commune* isolée des selles de bébés nourris exclusivement au lait maternelle. On sait aujourd'hui que cette entérobactérie s'installe dans l'intestin de nouveau-né rapidement après la naissance .pendant un certain temps , elle constitue l'élément dominant de leur flore intestinale et elle reste présente chez l'adulte [36]

### 2.2 Description et habitat

*Escherichia coli* est un bacille gram négatif de la famille des *entérobacteriaceae* ,de coloration uniforme de 2-3 $\mu$  de long et de 0.6 $\mu$ de large, et aux extrémités arrondies ,appartenant à la famille des entérobactéries .l'organisme peut être variable en taille et en forme .les souches sont en général mobiles et possèdent une couronne flagellaire .il n'y a jamais de spores certaines souches sont capsulées et donnent des cultures mucoïdes sur milieu solide les E .coli forment des amas entourés de longs cils péri triches [14]

L'E .coli est l'hôte normal du tube digestif, de la partie distale de l'iléon , du colon de l'homme et de l'animal à sang chaud [14]

### 2.3 Classification

E. coli appartient au groupe entérique, ce sont des bactéries appartenant au :

Règne :Bacteria

Embranchement : Proteobactéria

Classe : gamma proteobacteria

Ordre : Entérobacterial

Famille : Entérobactériaceae

Tribu : Escherichia

Espèce type : *Escherichia coli* [18]

## 2.4 Caractères biologiques :

### 2.4.1 Caractères morphologiques :

D'après [33], les *Escherichia coli* sont des bacilles à gram négatif, soit mobiles, soit immobiles, parfois capsulés, d'une taille moyenne de 2 à 6 µm de long sur 1 à 1.5 µm de large.

Ses flagelles, organes de mobilité, sont constituées d'une protéine spécifique appelée « flagelline », ils ont un rôle antigénique pour l'identification des sérotypes. [40]

#### Caractères cultureux

*E. coli* pousse rapidement sur milieu ordinaire à base d'extrait de viande (gélose nutritive) à toute température [32] Caractères biochimiques

- Lactose +
- Sorbitol+
- ONPG+
- Indole +
- Gaz+
- Mannitol -
- Citrate de cimmons -
- Uréase -
- H<sub>2</sub>s -

## 2.5 Pouvoir pathogène

### 2.5.1 Infections intestinales

*E coli* est l'une des causes majeurs de diarrhée aigue dans le monde, cette bactérie entraine encore une mortalité importante dans les pays en voie de développement [23]

*E coli* entérotoxigène (ECEP) :

Sont responsables de gastroentérites infantiles. [40]. On admet généralement que ces colibacilles ne sont pathogènes qu'en dessous de l'âge de deux ans.

*E. coli* entérotoxigène sont responsables de diarrhées de voyageurs ou « turista », fréquente dans les pays chauds et humides [20]

*E.coli* entérohémorragique : (ECEH)

Responsables de colites hémorragiques « non sanglantes puis sanglantes » [7]

### 2.5.2 Infections extra – intestinales

Les *E. coli* sont pathogènes dans des localisations extra – intestinales : méningites, abcès, péritonites, septicémies et surtout urinaires.

### 2.6 Résistance aux antibiotiques

*E. coli* est dans l'ensemble sensible aux principaux antibiotiques tels que l'ampicilline et les céphalosporines, les aminosides, les colistines, les tétracyclines, et les triméthoprime sulfaméthoxazole. Cependant, un certain nombre de souches peuvent acquérir des résistances multiples aux antibiotiques [23].

## 3. *Candida albicans*

### 3.1 Historique

Le mot levure selon PHAFF et al provient du mot latin « levare » qui se traduit par levure.

Ce mot a été appliqué aux levures en raison de l'appétitude de ces micro-organismes à produire du CO<sub>2</sub> pendant la fermentation et à lever la surface mousseuse d'un milieu liquide de fermentation. [8]

### 3.2. Description et habitat

*Candida albicans* est un champignon cosmopolite dont les fréquences d'isolement montrent que chez des sujets sains la levure se répartit différemment en fonction des sites de prélèvement : peau, vagin, tractus ano-rectal, cavité buccale, estomac et duodenum .. [11] Le réservoir principal est donc le tube digestif où la fréquence de portage varie selon les sujets.

#### Description

cette levure peut mesurer de 3 à 15\* $\mu$ m, et est caractérisée par un polymorphisme que l'on peut retrouver in vitro et in vivo et qui lui permet de se soustraire aux défenses liées à l'immunité cellulaire. En effet, certains paramètres tels que le PH, la température ou encore la richesse du milieu de culture influencent l'aspect morphologique que peut prendre *Candida albicans* [9]. La forme blastospore, ronde ou ovalaire, mesurant de 2 à 4 $\mu$ m avec parfois un bourgeon de formation

La forme pseudo mycélium, mesurant de 500à600m de longueur et de 3à5m de largeur, composée d'un assemblage de cellules mises bout à bout pour simuler un filament mycélien [11]

La forme mycélium vrai, champignon filamenteux, spécifique de l'espèce *candida albicans*, où la conversion d'une levure en filament mycélien passe par l'intermédiaire d'une structure appelée le tube germinatif. Cette forme favorise l'invasion des tissus et des organes de l'hôte [18]

### **3.3. Classification**

La classification des champignons a beaucoup évolué [24]

Règne : Champignon

Phylum : Ascomycota

Classe : Hemiascomycètes

Ordre : Saccharomycétales

Famille : Candidaceae

Genre : Candida

### **3.4 Caractères biologiques**

#### **3.4.1. Milieu de vie**

Toutes les espèces du genre Candida sont aérobies.

Il vit exclusivement sur les muqueuses, mais il peut cependant survivre dans le milieu extérieur.

#### **3.4.2. PH**

La croissance est possible pour des PH de 3à7 [18]

#### **3.4.3 Température**

Croissance entre 20°C et 30°C pour la majorité des levures.

Les espèces pathogènes sont capables de croître à 37°C [8]

#### **3.4.4. Nutrition**

Les champignons sont des organismes hétérotrophes, c'est-à-dire qu'ils sont incapables de synthétiser leurs molécules carbonées à partir du dioxyde de carbone atmosphérique.ils vient donc

aux dépens de la matière organique performée. Le passage des substances se fait par absorption.  
[44]

### **3.5. Pouvoir pathogène :**

*Candida albicans* est la levure pathogène la plus répandue chez l'être humain. Elle est présente chez plus de 62% des personnes saines, comme l'ont montré plus de 40 études publiées entre 1960 et 1986. La plupart des individus développent une infection à *C.albicans* sans caractéristiques cliniques.[40] *Le candida albicans* a la particularité de pouvoir passer de la forme levure (cellules arrondies ou ovoïdes, regroupées en petits amas) à la forme moisissure (les cellules s'allongent alors et se développent pour prendre l'aspect de filaments, de pseudo-hyphes, de pseudo-mycéliums), et vice versa.

Grace à ce dimorphisme, il se soustrait aux mécanismes de défenses liés à l'immunité cellulaire. Rarement une seule forme existe. On peut dire que la forme levure est la forme saprophyte, et vit en symbiose avec l'organisme l'hôte, alors que la forme moisissure mycélienne est la forme parasite et donc pathogène et susceptible de provoquer des symptômes.

Lors du passage d'une forme à l'autre, le champignon subit des modifications de forme et de synthèses enzymatiques qui correspondent en fait à une adaptation de survie à un milieu devenue défavorable. [43]

## Chapitre 02 : Les huiles essentielles :

---

### **1. Définition**

Une huile essentielle représente un extrait ultra concentré obtenue après un procédé de distillation de tout ou partie d'une plante aromatique par entraînement à la vapeur d'eau.[41]

Ou d'après Roseline Gagnon, les HE sont des composés odorants, volatils de plantes aromatiques, fabriqués normalement par un groupe spéciales de cellules.

## **2. Historique**

Premières traces importantes d'utilisation d'extraits concentrés des plantes remontent au 18<sup>ème</sup> siècle, où les vétérinaires de l'école de cavalerie française préconisaient l'administration de potions à base de plantes pour soigner les chevaux.

Vers 1985, plusieurs laboratoires ont investi dans la recherche et le développement de nombreuses spécialités vétérinaires composées exclusivement d'extraits végétaux aromatiques.

Enfin, depuis quelques années maintenant, c'est le monde de l'élevage qui se penche très sérieusement sur les huiles essentielles, car la pratique de l'aromathérapie préventive et curative chez l'animal ne tolère pas l'à-peu-près et exige des résultats probants et non cosmétiques. [41]

## **3. Composition des huiles essentielles**

Sont des mélanges complexes de composants appartenant principalement à deux groupes, caractérisés par des origines biogénétiques apparentes dont les terpenoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane. [5]

. Les terpenoïdes

Les terpenoïdes retrouvés dans les huiles essentielles sont les terpènes les plus volatiles, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : mono et sesquiterpènes. [5]

### **a) Les monoterpènes**

Toujours présents, les carbures monoterpéniques, sont constitués de 10 molécules de carbones C<sub>10</sub>, peuvent être acyclique myrcène, ocimène..., monocyclique α et β- terpène, para-cymène... où bicycliques: pinènes, delta-3-caréne, camphène, sabinène .Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle : Citrus, térébenthines [5]

Mise à part les carbures d'autres molécules fonctionnalisées sont rencontrées comme

-Les alcools : ils peuvent être acycliques : geraniol, linalol, monocycliques menthol, où bien bicycliques comme bornéol, fenchol.

Les phénols : Thymol, carvacrol, eugenol et anéthol.

-Les aldéhydes: acycliques le plus souvent : géranial, néral, citronelal

-Les esters : pouvant être acycliques, acétate ou propionate de linalyle, acétate de citronellyle, monocyclique: acétate de menthyle et bicycliques: acétate d'isobornyle. -Les cétones : acyclique tagétone, monocycliques menthone, carvone et bicyclique, Thuyone, fenchone, camphre.

-Les pyroxydes: ascaridole

-Les phénols: thymol et carvacrol

### **b) Les sesquiterpènes**

Les dérivés phénylpropane (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) sont beaucoup moins courants que les précédents. Ce sont habituellement des Allyl et Propylphénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'Apiaceae (anis, fenouil, persil). Anéthole. Anisaldéhydes, apiol, méthyl-chavicol, mais aussi de celles du girofle de la muscade Dans cette famille de produits, nous trouvons les mêmes groupements fonctionnels que dans le cas des monoterpènes, à savoir carbures, alcools, cétones étant les plus courants. A titre d'exemple nous citons quelques composés caractéristiques des huiles essentielles

Carbures:  $\alpha$ -bisabolène,  $\alpha$ -caryophyllène, les alcools farnésol, carotol les cétones:  $\alpha$ -vétivone, les aldéhydes comme sinénal

Les esters: acétate de cédryl

Cette famille est constituée de 10 carbonnes [6]

. Les composés aromatiques

de

L'estragon, Eugénol, Myristicine. Cinnamaldéhydes, on retrouve également des composés en (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>) comme la vanilline ou comme l'antranilate de méthyle. [5]

.Les composées d'origines diverses

Selon le mode de récupération utilisé, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, carbure (linéaires et ramifiés, saturés ou non), acides (C<sub>3</sub> à C<sub>10</sub>), alcools, aldéhydes, esters acycliques, lactones.

Dans les concentrations, il n'est pas rare de trouver des produits de masse moléculaire plus importante non entraînés à la vapeur d'eau ; homologues des phénylpropanes, diterpènes coumarines. [6]

### **3 .Méthodes d'extraction des huiles essentielles**

#### **3.1 . Extraction par Hydro stillation**

Elle est de loin le procédé le plus répandu, car il convient à la majorité des plantes c'est la méthode nommée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité.

Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau .l'ensemble et ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique, et comme les HE sont insolubles dans l'eau mais soluble dans la vapeur, lorsqu'on envoie de la vapeur d'eau sur la plante, elle se charge au passage des huiles.

#### **3.2 . Entrainement à la vapeur d'eau**

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. À la différence de l'hydro stillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter

Le but de cette méthode est d'emporter avec la vapeur d'eau les constituants volatils des produits bruts. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, libère les molécules contenues et entraîne les plus volatiles en séparant du substrat cellulosique. La vapeur, chargée de l'essence de la matière première distillée, se condense dans le serpentin de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles). Les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées pour donner l'huile essentielle. La partie contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation (ou hydrolat ou eau florale). On recueille alors un mélange de composition défini de ces deux produits. [41]

#### **3.3 .l'expression à froid**

Elle est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation. D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau [41]

### **3.4 . Extraction aux solvants organiques**

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée. 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 et leur manque de sélectivité peuvent entraîner de ce fait de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines) dans le mélange pâteux et imposer par conséquent une purification ultérieure [39]

### **3.5 . Hydro distillation par micro-ondes sous vide**

L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (solvent free microwave extraction ou SFME) a été conçue pour des applications en laboratoire pour l'extraction d'huiles essentielles de plantes aromatiques [19] Cette technologie est une combinaison de chauffage micro-ondes et d'une distillation à la pression atmosphérique. Basée sur un principe relativement simple, cette méthode consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes, sans ajout de solvant organique ou d'eau. Le chauffage de l'eau contenue dans la plante, permet la rupture des glandes renfermant l'huile essentielle. Cette étape libère l'huile essentielle qui est ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite par le végétal. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, par la suite facilement séparable par simple décantation. D'un point de vue qualitatif et quantitatif, le procédé SFME semble être plus compétitif et économique que les méthodes classiques telles que l'hydro distillation ou l'entraînement à la vapeur [35]

### **3.6 . Fleurage**

La procédure met à profit la liposolubilité des composés odorants des végétaux dans les corps gras et qui permet l'exploitation de l'organe fragile.

Le matériel végétal est mis en contact avec des graisses, ces dernières ayant une forte affinité avec les composés odorants, cette méthode peut être réalisée à froid ou à chaud, et on obtient ainsi des absolues de pommade [35].

## **4 Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles**

C'est probablement la propriété la plus emblématique des huiles essentielles lorsque celles-ci sont envisagées d'un point de vue thérapeutique. On sait depuis des dizaines d'années que certaines

huiles essentielles possèdent d'importantes vertus antibactérienne .des chercheurs comme Gattefossé , sévelinge , Durafour , Valnet , mais également Penfold en Australie ont mis en évidence dès 1925 l'action bactéricide des huiles essentielles .

En 1979, Paul Belaiche publiait son « traité de phytothérapie et d'aromathérapie Tome 1 », dans lequel il décrit la méthode de réalisation de l'aromatogramme, ainsi que ces résultats. L'aromatogramme est simplement l'application des principes analytiques de l'antibiogramme mais en remplaçant les antibiotiques par des huiles essentielles .le but est de déterminer le pouvoir antibactérien des huiles essentielles sur des échantillons cliniques de patients infectés par des dizaines d'espèces de bactéries. Belaiche en conclut que des huiles essentielles telle la cannelle, l'origan, le thym, ou le clou de girofle possèdent un profil antibactérien très large et performant.

Récemment, de nouvelles techniques analytiques ont vu le jour et on permit d'améliorer nettement les mesures empiriques de Paul Belaiche.. On travaille actuellement avec des bouillons de cultures de bactéries dans lesquels on inclut des huiles essentielles à des dilutions croissantes, afin de déterminer jusqu'ou elles peuvent être bactériostatiques « inhiber la croissance d'une population de bactéries »et bactéricides « tuer une population de bactéries ».

On peut aussi exprimer deux valeurs importantes de bactéricides pour toutes les huiles essentielles testées : la CMI « concentration minimale inhibitrice » et la CMB « concentration minimale bactéricide ».

Grace à ces techniques modernes, la science a pu mettre en évidence le véritable pouvoir antibactérien des huiles essentielles envers un large panel de bactéries Gram + ou Gram -.[41]

## **5 Autres effets des huiles essentielles**

### **5.1 . Action antifongique des HE**

Les « fongi » regroupent ce que nous appelons plus communément les champignons et levures , dont le membre le plus connu est la levure candida albicans , responsable de beaucoup de non mycoses , muguet ou autres candidose vaginale . Ce sont des organismes unicellulaires pourvus d'une membrane et d'un noyau « on dit qu'ils sont eucaryotes », tout comme les bactéries [41]

### **5.2 . Action antivirale des HE**

Les virus sont en général très sensibles aux molécules aromatiques. Les réponses classiques aux infections virales étant très limitées, les huiles essentielles constituent une véritable alternative pour traiter les troubles d'origine virales allant des plus banales aux plus redoutables.

Des molécules appartenant à de nombreuses familles chimiques ont révélé leur activité antivirale comme les monoterpénols et les monoterpénals « aldehydes terpéniques » par exemple [19] l'aromathérapie exactement

### **5.3 .Action antiparasitaire des HE**

Il faut dans un premier temps distinguer les parasites externes (acariens, puces, poux, tiques...) des parasites internes (vers, protozoaires, larves de mouche, ..)

#### **5.3.1 . Parasites externes**

Les HE sont redoutables d'efficacité envers les parasites externes .leur mode d'action est double : certaines molécules aromatiques détruisent les parasites en « brulant » leur système respiratoire, et d'autres agissent en induisant une paralysie des parasites,suivie de leur mort.

Exemples : clou de girofle, cannelle feuille, melaleuca,...

#### **5.3.2 . Parasites internes**

Deux ou trois familles de molécules aromatiques sont susceptibles d'avoir une activité vermifuge ou vermicide, ces molécules sont puissantes d'activité mais sont douée d'une toxicité certaine pour l'animale et l'homme également.

Exemples : cannelle, clou de girofle, eucalyptus, origan, thym,... [41]

### **5.4 .activité antiseptique**

Certaines huiles essentielles sont dotées d'un pouvoir antiseptique marqué. ce dernier s'exerce sur des souches bactériennes variées, y compris celles habituellement résistantes en antibiotiques (tetracycline , acide oxolinique) [19]

en effet, elle sont « eubiotiques », (NGASSAPA ,RUNYORO , HARVALA et CHINOUE,2003), c'est-à-dire qu'elles détruisent les parasites sans interférence avec l'organisme hôte , contrairement aux antibiotiques qui très souvent interagissent avec les parasites en les dénaturant avec des effets secondaires sur les sujets traités . elles agissent généralement à faible dose. les essences de serriette , cannelle , thym , girofle , lavande , eucalyptus sont les plus antiseptiques.[6]

## **5.5 .Les HE anti-inflammatoires**

Les constituants des huiles essentielles tels que les monoterpènes hydrocarbonés, les sesquiterpéniques ont montré une activité inhibitrice de lipoxygénase qui est une enzyme responsable de la production de leucotriènes suspectés de jouer un rôle importante dans la maladie d'Alzheimer [15].

## Chapitre 03 : l'effet des huiles essentielles

---

### ***Cinnamomum cassia***

*Cinnamomum Cassia* appelée aussi *Cinnamomum aromaticum*, est originaire du Sud-est de la Chine où elle est fortement cultivée, elle est aussi présente au Vietnam et au Laos. Cette espèce qui appartient à la famille des lauracées (Lauraceae) et appelée en arabe El Kerfa (القرفة), (est

communément nommée cannellier de Chine, casse, cannellier casse, cassia et fausse cannelle [13] C'est un arbre d'odeur agréable qui peuvent atteindre 20m de haut avec des feuilles ovales, opposées et grandes de 12 à 20 cm de long. Les fleurs sont de couleur blanche ou jaune [49] L'écorce de cet arbre est récoltée durant la saison des pluies entre les mois de mai et octobre au moment même où les branches atteignent environ deux mètres de long et deux centimètres de diamètre. Après la récolte, seule la partie interne de l'écorce appelée « liber » est conservée et découpée en tronçons. Ces segments sont mis à sécher au soleil et c'est pendant le séchage que l'écorce s'enroule sur elle-même pour former les bâtonnets de cannelle. Ce mot vient d'ailleurs du latin canna, qui signifie "roseau" [27]

La cannelle de Chine est une épice médicinale extrêmement puissante. Elle a été utilisée depuis 5000 ans par les deux anciennes médecines, la médecine ayurvédique d'Inde et la médecine traditionnelle chinoise, pour ses propriétés curatives de certains troubles digestifs, inflammations, maux de tête, pyrexie, nausée, anorexie et du rhume. Elle possède également des vertus aromatiques et stimulantes respiratoires, nerveuses et immunitaires [22]. Cette épice est souvent utilisée pour son huile essentielle, constituée essentiellement en : o Cinnamaldéhyde (80 à 95%). o O-méthoxycinnamaldéhyde (jusqu'à 1%). o Alcool et l'acide cinnamique [14]

Grâce à sa richesse en cinnamaldéhyde, cette huile possède des effets antioxydants, anti-inflammatoires et également antimicrobiens très élevés. Son action est efficace contre les bactéries, les virus, les champignons et sur les parasites [25],[3],[27]

## **MENTH**

### **1. LE GENRE MENTHA**

#### ***1.1 Présentation botanique du genre *Mentha****

Les Menthes, du nom latin *Mentha*, font partie des plantes vivaces, herbacées indigènes et très odorantes appartenant à la famille des Lamiacées ou Labiacées, formée de près de 3500 espèces réparties sur 8 sous-familles [50]. Près de la moitié (47 %) des Lamiaceae sont regroupées dans la sous-famille des Nepetoideae. Au sein de la sous-famille des Nepetoideae, le genre *Mentha* est représenté par 18 espèces et environ 11 hybrides. L'hybridation intra spécifique est relativement

aisée et rend la taxonomie particulièrement délicate [53]. Les Menthes conservent depuis l'antiquité une infinie diversité d'emplois et occupent une large place dans les utilisations thérapeutiques. Elles fortifient tout le système des nerfs, stimulant diffusible et aussi un sédatif diffusible [46]. Sur le plan des principes chimiques, la plupart des espèces de Menthes doivent leurs odeurs et activités à leurs Huiles Essentielles ou Essences de Menthe; ces essences très odoriférantes ont un intérêt industriel important ; elles sont souvent extraites des plantes de la race cultivée avec de bons rendements. La Menthe se rencontre dans presque toutes les régions soit à l'état spontané ou cultivé [46]. Autant les Menthes sont faciles à reconnaître à leurs odeurs tout à fait caractéristiques, autant elles sont difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires, d'origine hybride, qui les relie. Parmi toutes les labiées, les Menthes se reconnaissent, en plus de leurs odeurs spéciales, à leurs fleurs très petites, à leurs corolles presque régulières à quatre lobes presque égaux et leurs quatre étamines également presque égales [47]. On en connaît environ 20 espèces, dont les plus répandues sont la menthe aquatique, qui a pour nom scientifique *Mentha aquatica*, la menthe poivrée, *Mentha piperita*, et la menthe verte, *Mentha spicata*. Ces différentes espèces sont toutes caractérisées par une tige carrée et des feuilles opposées et dentées, très odoriférantes en raison de l'huile essentielle qu'elles contiennent [47]. La plupart des menthes sont originaires de l'Europe et de l'Asie. Cependant, en suivant les flux de migration, les menthes sont présentes sur la quasi-totalité des continents

### **II.1.2 Utilisations des menthes dans la pharmacopée traditionnelle**

La menthe a été utilisée depuis fort longtemps en nature et pour son huile essentielle. Elle est réputée pour ses propriétés aromatiques (toniques, fortifiantes) et digestives (utilisée pour combattre les lourdeurs, les ballonnements, les gaz). Les menthes doivent leurs odeurs et leurs activités à leurs huiles essentielles qui ont une place particulière dans l'ensemble des produits aromatiques d'origine végétale; grâce à certaines propriétés spécifiques, les besoins en produits de la menthe sont multiples, tant pour leur flaveur (aromatization) que pour leurs odeurs (parfumerie), leur pouvoir rafraîchissant ou leurs propriétés médicinales. Leurs qualités sont strictement choisies en fonction de ces usages. Mais c'est en aromatisation que sont consommés les plus gros tonnages : gomme à mâcher, chewing-gum, tabacs parfumés et cigarettes mentholées, boissons, confiseries, sirop, chocolats [47]. Les Anglais et les Arabes sont considérés parmi les plus grands consommateurs au monde de la menthe. Alors que les premiers la transforment en sauces et en gelées pour accompagner le gigot d'agneau, les seconds boivent, à toute heure de la journée, un verre de thé à la menthe bien chaud et bien sucré pour se désaltérer. Pour les marocains, le thé à la menthe est pratiquement « une boisson nationale ». Au Moyen Orient et en Afrique, elle parfume le thé, les salades, les grillades, les yogourts et les légumineuses, les pâtisseries à base de fromage frais. Quant

à leurs utilisations en pharmacopée traditionnelles l'usage de la menthe diffère en fonction des espèces. Mais les propriétés thérapeutiques qu'elle possède sont communes car : elle stimule la sécrétion des sucs digestifs, limite les ballonnements et les diarrhées et stimule la sécrétion biliaire, elle est aussi efficace en cas d'inappétence et recommandée en cas de troubles gastriques et de crampes. D'un autre côté, la menthe pouliot agit en tant que produit digestif, carminatif, cholagogue et désinfectant [47]. Quant aux espèces poussant à l'état spontané en Algérie on cite: *M. pulegium*, *M. rotundifolia* et *M. aquatica* qui sont utilisées traditionnellement sous forme de tisane pour stimuler la fatigue, un traitement contre la grippe et le rhume, et aussi comme des pansements pour les maux de dents.

## II.2 LA MENTHE AQUATIQUE : *Mentha aquatica* L.

### II.2.1 Introduction : *Mantha aquatica* L., plus connue sous le nom menthe aquatique est une Plante vivace de 30- 80 cm., verte ou rougeâtre, velue-hérissée ou presque glabre, à odeur forte mais agréable ; tiges dressées ou ascendantes ; feuilles toutes assez longuement pétiolées, largement ovales ou ovalessancéolées, dentées en scie ; fleurs roses ou blanches, en verticilles peu nombreux, tous ou les supérieurs rapprochés en têtes terminales globuleuses ou ovoïdes très obtuses ; calice tubuleux, velu, à nombreuses nervures saillantes, à gorge nue, à 5 dents lancéolées-acuminées ; corolle velue en dedans ; carpelles ovoïdes, verruqueux. Cette plante à l'odeur de berlingot fleurit de juillet à septembre. Comme les autres menthes, l'hybridation est assez fréquente et peut conduire à une variation de certaines caractéristiques botaniques [53].

Utilisation traditionnelle de la Menthe aquatique : Etant cité que cette plante est très utilisée dans la cuisine algérienne, le traitement à l'aide des plantes traditionnelles a procuré une bonne part à la menthe aquatique en terme d'utilisation sous forme de tisane pour le traitement des: Carminative (ballonnements, météorisme : l'action antiseptique limite les fermentations intestinales) Contre la grippe et le rhume Stomachique (colite spasmodique, crampes digestives, douleurs épigastriques) Relaxante : infusion dans du lait Antiseptique : infusion (voies respiratoires et digestives) ou broyée dans de l'huile et frottée sur les muqueuses du nez. Elle peut être utilisée aussi comme un analgésique sous forme de compresse et comme un calmant pour les maux de dents (mâcher) [14]

### II.2.2 L'huile essentielle de la Menthe aquatique L :

Etant considérée comme une plante qui se caractérise par sa teneur importante en huile essentielle ( $\geq 1\%$ ), notre recherche bibliographique nous a permis de recenser 18 travaux décrivant la composition chimique de l'huile essentielle de *M. aquatica*. Les travaux réalisés sur la composition chimique de cette fraction ont montrés que le menthofurane était caractérisé comme la substance active principale avec un pourcentage majoritaire qui dépasse les (>38%) en Italie, Croatie, Allemagne, USA, Iran, Japon, Turquie et en Corse [11-21]. Ce composé est présent à des teneurs plus faibles en Yougoslavie et Hollande (

### **2.3 Activités biologique des huiles essentielles de la Menthe aquatique**

De part les avantages que suscite la Menthe Aquatique dans le domaine de la médecine traditionnelle, on note la présence de deux travaux (Tunisie, Turquie) qui ont fait l'objet d'études des activités biologiques sur l'huile essentielle de la Menthe aquatique. Ces études ont décelés une activité antioxydante importante avec une IC50 similaire à celui du Trolox [48]. Ces mêmes échantillons ont révélés que l'huile essentielle de cette plante possède une activité antimicrobienne intéressante contre les bactéries du genre (*Staphilococcus* *Escherichia coli* et *Bascilus*) et aussi contre des bactéries gram positif [49].

## **Romarin**

### **1-Définition**

Le Romarin est une plante des coteaux arides garrigues et lieux rocheux de la région méditerranéenne et même un peu plus au Sud jusqu'aux confins sahariens depuis l'antiquité, il est employé pour améliorer et stimuler la mémoire encore aujourd'hui en Grèce, les étudiants en font bruler dans leurs chambres en période d'examens. [50]

### **2-Caractéristique botanique**

Les feuilles sont étroitement lancéolées linéaires, faibles et coriaces, les fleurs d'un bleu pâle, maculées intérieurement de violet sont disposées en courtes grappes denses s'épanouissent presque tout au long de l'année [3] , [50]

### **3-Habitat**

Originaire des régions méditerranéennes, le Romarin pousse spontanément dans le Sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chauds, modérément secs, les branches récoltées pendant l'été sont séchées à l'air et à l'ombre [12].

## **4-Utilisation**

Le Romarin est souvent cultivé pour son huile essentielle. Dans la médecine traditionnelle ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique. Il est considéré utile pour contrôler l'érosion du sol [27]. L'huile du romarin a été largement répandue pendant des siècles, comme un des ingrédients en produits de beauté, savons, aussi bien pour l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires [3].

## **5-Propriétés du Romarin.**

### **5.1. Activité antibactérienne**

Les effets des extraits aqueux et méthanoliques du Romarin, sur la croissance du *Streptococcus sobrinus* et sur l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyltransférase ont été étudiés par les résultats ont suggéré que les extraits du Romarin peuvent empêcher la lésion de la carie en inhibant la croissance du *Streptococcus sobrinus* et peuvent aussi éliminer les plaques dentaires par suppression de l'activité de la glucosyltransférase [3]. Afin de chercher de nouveaux antibiotiques et des agents antimicrobiens, une autre étude a été élaborée par examiner les effets antimicrobiens des extraits des composés isolés de certaines plantes, sur l'ensemble de 29 bactéries et levures avec pertinence dermatologiques. L'extrait obtenu par le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) supercritique du Romarin, a présenté un large spectre antimicrobien. la croissance de 28 sur 29 germes a été empêchée par cet extrait acide carnosique [27]

### **5.2 Activité antifongique**

Préservatif naturel contre l'*Aspergillus parasiticus* (RASOOLI et al. 2008). En utilisant la technique standard de diffusion sur gélose, on a évalué l'activité biologique de 11 huiles essentielles y compris celle du Romarin, les résultats ont montré que de ces huiles ont une activité inhibitrice modérée sur les cinq levures (*Candida albicans*, *Rhodotorulaglutinis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae*, La biosynthèse de l'aflatoxine a été inhibée totalement par l'huile essentielle du Romarin à une concentration de 450 ppm. Selon les résultats indiqués, le potentiel de cette huile essentielle en tant que *Yarrowialy politica*) examinées [50]

### **5.3 Activité antivirale**

L'évaluation de l'activité antivirale de l'extrait commercial du Romarin a indiqué qu'il y a une inhibition de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) à la concentration très basses. Cependant, le carnosol a montré une activité (anti-HIV) à une concentration modérée qui n'était pas cytotoxique [50].

Deuxième partie :

Etude expérimentale

---

Pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile de cannelle .On a effectue ce travail au niveau de laboratoire d'Université de Ibn Khaldoun de Tiaret.

## **Matériels et Méthodes**

### **1. Matériel végétal**

Épice de la cannelle « présent tout au long de l'année sur le marché » (photo 1)



**Figure 1** : bâtons de cannelle

## 2. Méthodes

### 2.1 .Ex tractation et traitement de l'huile essentielle

Les bâtonnets de cannelle ont été concassés à l'aide d'un mortier et pilon afin d'obtenir les molécules volatils.

L'extraction de l'huile essentielle de cannelle a été faite par hydro distillation à l'aide de dispositif d'hydro distillation. (Figure 2)

Le montage d'hydro distillation : on place la cannelle et l'eau dans un ballon, ce ballon est disposé dans un chauffe ballon et ce dernier est placé sur un élévateur. Le ballon est relié par un réfrigérant à eau « tube central autour duquel on fait circuler de l'eau froide sera donc en permanence en contact avec les parois de tube central » l'eau va rentrer du bas de réfrigérant et sortira par le haut, et à la sortie de cet dispositif un béccher.

Procédé : l'ensemble de mélange de matière végétale et de l'eau sont introduits à l'intérieur du ballon après ébullition le contenu se vaporise et passe par le tube réfrigérant et de petites gouttelettes apparaissent ; ces petites gouttelettes se condensent et redevient liquide et s'écoulent dans le béccher s'appelle Distillat.





**Figure 2:** Dispositif d'hydro distillation

## **2.2. Décantage de l'huile essentielle**

Après avoir récupéré le distillat dans un ballon à décanter fermé, on bouche l'ampoule puis on agite. Après avoir laissé le contenu reposer on obtient un liquide hétérogène composé de 2 phases.

A l'aide de robinet on sépare les 2 liquides. Et on obtient l'huile essentielle.



**Figure 3 : ballon a décantage**

### **2.3. Conservation de l'huile essentielle**

Nous avons conservé l'huile dans des conditions appropriées température de 4°C, et un verre fermé hermétiquement par un papier aluminium la préserver de lumière et d'air.



**Figure 4** : méthode de conservation d'HE

### **3. Evaluation de l'activité antimicrobienne**

La technique utilisée est celle des disques, réalisée par méthode de diffusion sur gélose. On a utilisée la gélose Muller –Hinton.

#### **3.1. Les souches étudiées**

On a utilisé des souches de référence : deux souches bactériennes *Escherichia coli*, *staphylococcus aureus* et une souche de levures *candida albicans*

#### **3.2. Préparation d'inoculum**

On met des colonies viables dans un tube a essaie stérile contenant de l'eau distillée. La suspension doit être agitée à l'aide d'un vortex.

Les bactéries: les souches sont revivifiées dans un bouillon nutritif à 37°C pendant 24h, puis ensemencées en strie sur boîte contenant de la gélose nutritive et incubées à 37 0 C/24h. Ensuite, les souches microbiennes sont ensemencées sur bouillon BHIB à 37°C pendant 18h. Les levures les souches sont revivifiées dans un bouillon nutritif à 30°C pendant 48h, puis cultivées sur boîte

contenant du milieu Sabouraud pendant 24h à 48h. Ensuite elles sont cultivées dans du bouillon nutritif pendant 24h à 48h.

La densité a été ajustée à la turbidité de un standard McFarland 0,5 (ce qui équivaut à  $1-5 \times 10^8$  cfu/ml). La densité optique de chaque suspension a été confirmée sur un spectrophotomètre.

### 3.3. Méthode de dilution

#### 3.3.1. Protocole

Faire Couler le milieu de culture gélosé Mueller Hinton (M.H) en surfusion dans des boites de Pétri. On laisse refroidir et solidifier sur la paillasse. , contenant le à été étaler à la surface du milieu Mueller Hinton à l'aide d'un râteau

#### 3.3.2. Préparation de solution mère

\*obtenue on mélangeant 0.5ml d'HE avec 0.5ml d'eau distillée stérile

\*des dilutions en série d'huile essentielle ont été faites dans des tubes numérisés de 1 à 10 (figure 3). On ajoutant 0.5ml dans chaque dilution afin de l'obtention de dilutions de  $1/2$  ,  $1/4$  ,  $1/8$  ,  $1/$



Figure 5 : méthode de dilution

#### 3.3.3. Dépôt de disques

Dans des boites de pétrie on dépose 4 disques de papier buvard dans chacune , ces derniers sont imbibés d'antibiotique, d'huile essentielle en deux volumes différents 5ml et 10ml et le dernier avec de l'eau physiologique.

L'expérience est répétée trois fois pour chaque souche afin de minimiser l'erreur expérimentale et garantir un bon déroulement de la méthode. Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à la température ambiante pendant 30 minutes, ensuite mises à l'étuve à la température de 37 °C pendant 24h pour les bactéries et 48h pour le champignon.



**Figure 6** : dépôt des disques

#### **3.3.4. Lecture**

La lecture se fait à la sortie de l'étuve par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm).

## **4. Résultats et discussion**

### **4.1. Rendement en huile essentielle**

La masse d'HE obtenue pour 36.6 g de cannelle est 170ml.

Nous rappelons que l'huile essentielle a été extraite de battons de cannelle par un hydro distillateur en 4 cycles, Nous avons pu récupérer une quantité huileuse moyenne.

**Le résultat obtenu dans cette étude par la méthode d'hydro-distillation est proche de celui de la bibliographie pour la même méthode. La séparation de l'huile essentielle après sa distillation est déterminée dans une large mesure par son degré de solubilité dans l'eau. C'est ce que nous l'avons remarqué durant l'étape de récupération de l'huile essentielle à partir de l'hydro distillation, ce dernier contient toujours des gouttelettes que nous n'avons pas pu les récupérer ce qui fausserait le rendement.**

### **4.2. Activité antimicrobienne**

#### **4.2.1. Sensibilité des souches à l'huile de cannelle**

La méthode de diffusion sur gélose nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de cannelle vis-à-vis les trois souches étudiées.

##### ***4.2.1.1. Activité antibactérienne***

En bactériologie médicale chaque souche est caractérisée par deux valeurs le diamètre d'inhibition et la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) établie selon la méthode de référence par dilution en milieu gélosé ou en milieu liquide.

Dans notre travail, et pour un premier essai, nous avons imprégnés 4 disques de 10 mm, 5ml l d'huiles essentielles ;ATB et eau distillée par boîte de pétri. Après 18 h d'étuve, nous avons mesuré les zones d'inhibitions. Les résultats sont mentionnés dans les tableaux suivants :

	Boite 1	Boite 2	Boite3	Boite 4
Temoin(-)EP	0cm	0cm	0cm	/
HEC 5ml	5cm	5.5cm	/	6cm
HEC10ml	4.5cm	4.8cm	/	5.5cm
ATB	/	/	Atb1 :3cm Atb2 : 2.9cm	2.6cm

Tableau 1 : diamètre en cm des zones d'inhibition d'HEC pour S.A

	1	2	3	4	5	6
Temoin (-)	/	/	/	0cm	0cm	0cm
HEC5m 1	4cm	3.2cm	3.3cm	/	/	/
HECml	/	/	/	4cm	6.75cm	6.5cm
ATB	2cm	2.1cm	2cm	/	/	/

Tableau2 : diamètre en cm des zones d'inhibition pour E.Coli

, Les zones d'inhibition sont indiquées dans les tableaux 1 et 2, variant entre 2 et 6.75 cm, indiquent que toutes les souches sont sensibles à l'huile essentielle de cannelle.

Nous constatons que l'huile essentielle de cannelle s'est avérée active sur les *S.aureus* et *E.coli* avec des diamètres différents

Les résultats obtenus semblent en coordination avec certaines données de la littérature. L'huile essentielle de cannelle est mentionnée comme une huile antibactérienne. Alors que notre huile de la même espèce a montré une activité intéressante vis-à-vis de toutes les souches bactériennes étudiées.

Les plus grandes surfaces d'inhibition était dans le cas *S.A*, suivi *E. coli*.

#### **4.2.1.2. Activité antifongique**

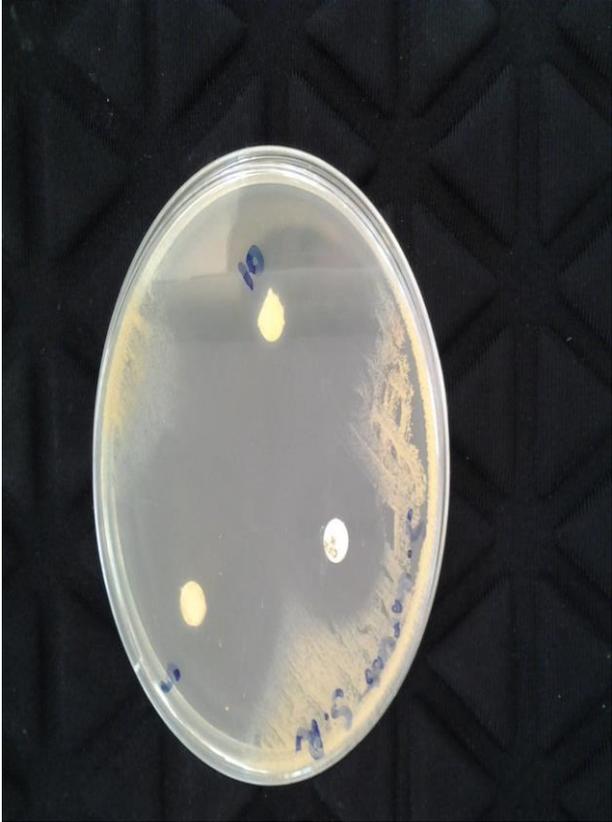
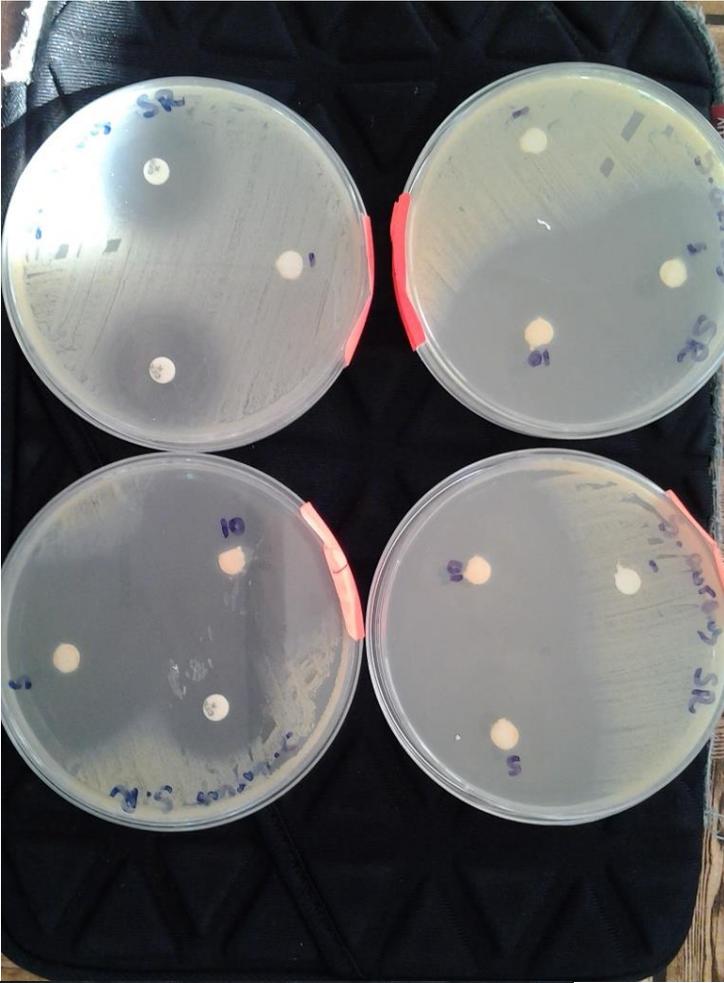
L'étude de l'activité antifongique de l'huile essentielle de cannelle de chine a été réalisée sur une souche de *Candida albicans* par la méthode de contact direct en milieu gélosé (PDA) en déposant un disque. Les résultats obtenus sont indiquées dans le tableau 3 :

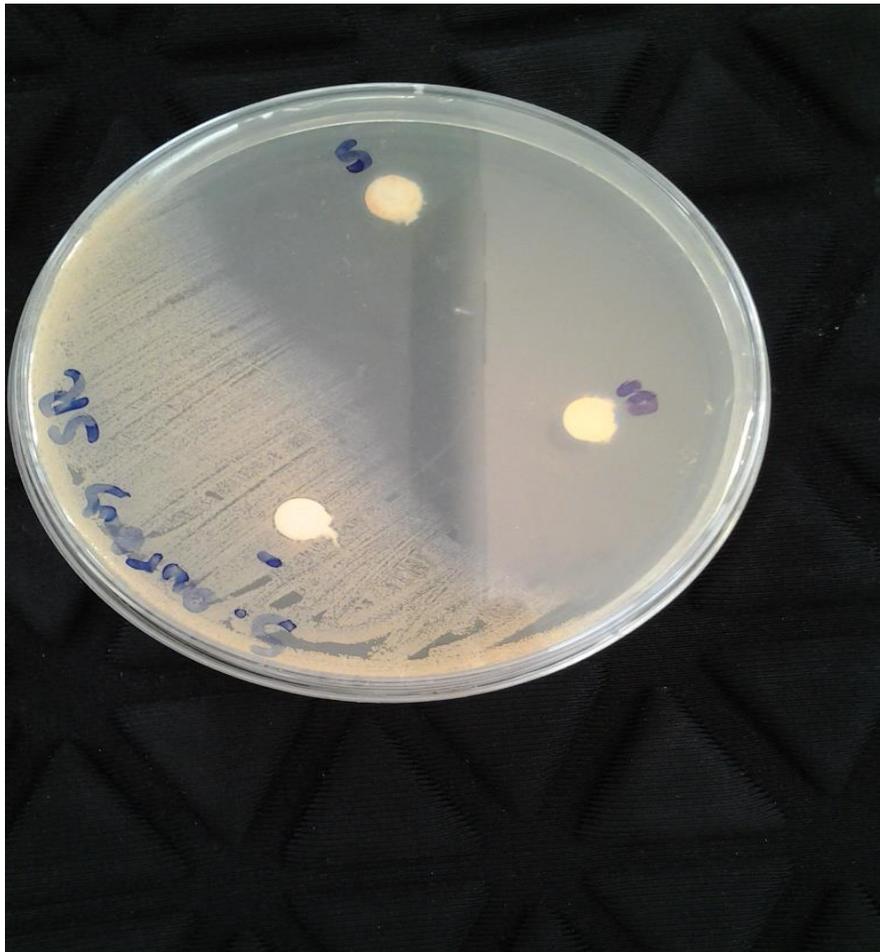
	1	2	3	4	5	6
Temoin (-)	0cm	/	0cm	/	/	cm
HEC5m l	/	4.2cm	/	3cm	2.4cm	/
HEC10 ml	5cm	/	3cm	/	/	4.5cm
ATB	/	2cm	/	2cm	2cm	/

Tableau 3 : diamètre en cm des zones d'inhibition pour *Candida albicans*

Après avoir testé le pouvoir antifongique de l'huile essentielle vis-a - vis une souche de *Candida albicans*

Ont à trouvé un diamètre d'inhibition inferieur à celui des bactéries .compris entre 2et 5 cm mais présente une sensibilité en vers l'HEC .donc l'huile de cannelle de chine à une activité antifongique .





**Figure 7 :** Photos montrant l'effet de l'H.E

#### 4.2.2. Concentration minimale inhibitrice

Les résultats des CMI de H.E testée sont représentés dans (le tableau 4) pour les 3 souches :

S.A	Concentrations	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/2800	1/5600	1/1200
	CMI	-	-	-	CMI	+	+	+	+	+	+
CMB	-	CMB	+	+	+	+	+	+	+	+	

**Tableau 4:** Valeurs des CMI et CMB de l'huile essentielle de la cannelle sur S.A

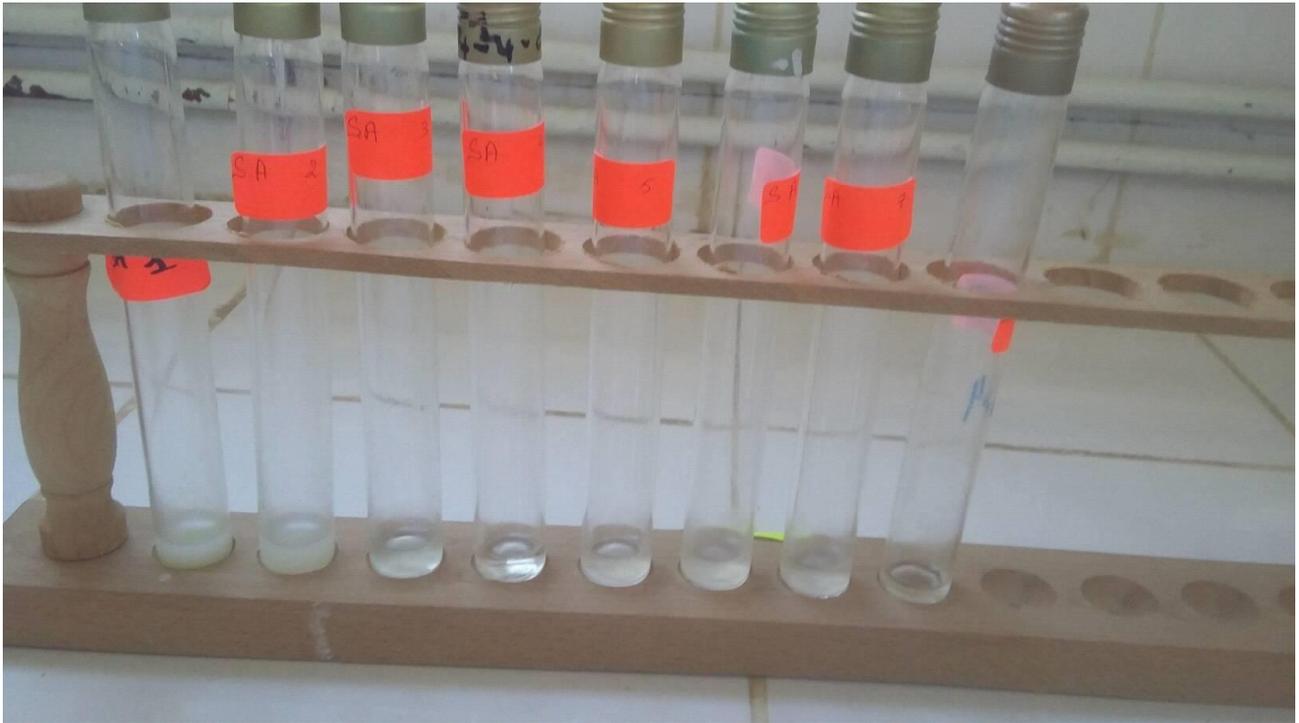
<i>E. Coli</i>		1/100	1/200	1/400	1/800	1/600	1/300	1/400	1/800	1/2500	1/5100
	CMI	-	CMI	+	+	+	+	+	+	+	+
	CMB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**Tableau 5:** Valeurs des CMI et CMBs de l'huile essentielle de la cannelle sur *E. coli*

<i>C. Albicans</i>		1/100	1/200	1/400	1/800	1/600	1/300	1/400	1/800	1/2500	1/5100
	CMI	-	-	CMI	+	+	+	+	+	+	+
	CMB	-	CMB	+	+	+	+	+	+	+	+

**Tableau 6 :** Valeurs des CMI et CMBs de l'huile essentielle de la cannelle sur *Candida albicans*

. Par la détermination des CMI, nous pouvons noter que toutes les bactéries testées réagissent de la même manière vis-à-vis l'HEC. Ces CMI sont inversement proportionnelles aux diamètres des zones d'inhibition, obtenus avec la méthode de l'aromatogramme. On remarque également, que l'appartenance des souches bactériennes à Gram (+) ou à Gram (-) n'influe pas sur leur sensibilité. La susceptibilité des bactéries est en effet indépendante du Gram. Ainsi, l'huile essentielle est sans réserve très active sur l'ensemble des souches testées, même les *Candida albicans*



**Figure 8 :** la méthode de déterminer la CMI d'HEC

Par la détermination des CMBs, nous pouvons noter que les souches testées réagissent exactement de la même manière vis-à-vis L'HEC

## 5. Conclusion

La méthode de diffusion sur gélose nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de cannelle vis-à-vis des souches testées. « *staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* ».

L'activité d'huile sur les champignons est moins intéressante par rapport aux bactéries ; Cette faible différence pourrait être due au fait qu'au cours de la période d'incubation quelques composants volatils de l'huile peuvent s'évaporer des milieux de culture, ce qui diminuerait sa concentration, et par la suite son activité antibactérienne.

Nous constatons l'absence de croissance de toutes les souches au niveau de la solution mère contenant 0.5ml d'huile essentielle dans le milieu.

La sensibilité de *staphylococcus aureus* se situe entre les dilutions 1/1600 et 1/3200 et celle d'*E. coli* se situe les dilutions 1/1600 alors que la sensibilité de *candida albicans* se situe entre les dilutions 1/400 et 1/800

De ces résultats, nous pouvons conclure que l'huile essentielle de cannelle à une activités antimicrobienne, mais il est plus active sur les bactéries que sur les levures.

## **Conclusion générale et Perspectives**

La recherche de nouvelles substances antimicrobiennes purement naturelles est la préoccupation capitale de la plupart des gens et des chercheurs, actuellement. Pour cela une évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile de cannelle est faite avec la méthode de diffusion sur gélose. Cette particularité a été trouvée après les tests effectués, mais d'autres travaux mentionnent cela [39, 49].

On comparant notre travail effectué au niveau de laboratoire de l'université de Ibn Khaldoun Tiaret pour évaluer l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de cannelle par la méthode de diffusion sur gélose, on conclut que :

L'HEC a un pouvoir antifongique acceptable par rapport au antibactérien qui est intéressant.

L'évaluation de telles propriétés demeure une tâche intéressante et utile, en particulier pour trouver de nouvelles sources d'agents antimicrobiens naturels

## Références bibliographiques :

### A

[1] Auteroche B ,1993. Une plante familière de la pharmacopée chinoise: Le cannelier - *Cinnamomum cassia* .Presl. (Gui). Méridiens; 101: 87-98.

[2] Abdellatif El Fadl et Noureddine Chtaina , 2010 : Etude De Base Sur La Culture De La Menthe Au Maroc.

[3] Atik Bekkara et al , 2007 :Composition chimique de L'huile essentielle de Romarins officinalis L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & santé* .7

[4] Akoua K.et Guessennd N., 2004.- Methicillin resistance of *Staphylococcus* : 34 (3):132-6.

### B

[5] Bruneton , 1993.Pharmacognosie : phytochimie, Plantes médicinales, Tec & Doc ,Lavoisier, Paris, p: 915.

[6]. Bruneton, 1999 ; .Composition and antimicrobial activity of essential oils .*Flavour and Fragrance Journal* 18,221-2224

[7] Berche et al, 1989.Bactériologie ;Bactéries des Infections Humaines ,édition Médecine – sciences-F lammation. Paris 100-103

[8] Buffo et al, 1984. Characterization of PH-regulated dimorphism in *candida albicans* .*Mycopathologia* .: 85 :21-30]

[9] Barnette , 2000 : EL KIRAT :Développement d'outils cellulaire et moléculaire pour l'étude des interactions :candida-phagocytes]

[10] B.Pinel,T. et el ,2012 : :oropharyngeal candidasis anradiotherapy :222-229

[11] Bland-J effrey , Hidden , 1984. Diseases caused by candida :preventive medecine :3,12.

[12] Bruneton J., 1993 - Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. , Lavoisier : 623p.

[13] Bruneton J,1993. Pharmacognosie Phytochimie Plantes Médicinales. Pp 41-54. 2°Edition, Lavoisier, Paris

[14] Boullard ,2010. Boudjemaa Nour Elyakin et Ben guegua Hadjer, L'effet antibactérien de Nigella Sativa. Université Kasdi Merbah Ouargla.

### C

[15] Chao, Hua, Hsu, Cheng, Liu et Chang, 2005 : Study on the anti-inflammatory activity of essential oil from leaves of Cinnamomum osmophloeum .Journal of Agricultural and Food Chemistry ,53,7274-7278

[16] Chaudhry N. M.A. et Perween T,2006. Anti-microbial activity of Cinnamomum cassia against diverse microbial flora with its nutritional and medicinal impacts.Journal of Botany; 38(1): 169-174

### E

[17] Ebrhard teuscher R.A et al, 2005. Plantes aromatiques : épics, aromates, condiments et huiles essentielles .Edition Tec & Doc. Paris, 3-6-19-155 p.

[18] Euzeby J , 1994 :Mycologie médicale comparée .collection Mérieux ,Fondation manuel ,tome2 ,88-251 ;28

### F

[19] Franchomme, J. P ,2001 L'aromathérapie exactement Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles .Edition Dolois

[20] Flandrois,1997) Bactériologie Médicale ,édition Presses Universitaires de Lyon :pp 107-180

[21] Finkelman , F.D et al 2004 ;Immunology reviews pages :139-155]

[22] F. Senatore, et al , 2005.Chemical Composition And Antibacterial Activity Of The Essential Oil Of A 1,8-Cineole Chemotype Of Mentha Aquatica L. Growing Wild In Turkey,” J. Essent. Oil Bear. Plants, Vol. 8, No. 2, Pp. 148–153.

## G

[23] Gaillard et al,1989 .Les bactéries des infections humaines ,Edition Flammarion Médecine – science –Paris pp 100-108 ;236

[24] Gow, N, A, candida albicans switches mates .Mole cell 2002.10 :217-218)

[25] GONZALEZ-TRUJANO et al , 2007. Evaluation of antioiceptive effet

## H

[26] Huguet M, 2008. La route des épices naturelles, mélanges d'épices aromates et condiment naturels. p 11

[27] Henrich, et al ,2006. Ethnobotany and Flavonoids-potent and versatile.

## I

[28] Il Edrissi A., 1982. Thèse De Troisième Cycle: Etude Des Huiles Essentielles De Quelques Espèces Salivia, Lavandula Et Mentha Du Maroc, Faculté Des Sciences De Rabat, Maroc, 18-22

## J

[29] J-L Avril et al ,1992).Bactériologie clinique ,2eme édition Doin paris 9-13,16-20,155-158

[30] J.Fleurette ,1990 Bactériologie Médicale 2<sup>ème</sup> édition Flammarion .France :773-794

## K

[31] K .Oteng -Gyang,(1984).Introduction à la Microbiologie alimentaire ,édition technique et documentation ,Lavoisier pp 62,225,226

[32] Kaper ,2004. Maladies infectieuses, Masson, paris Milan p322

[33] Koenig .H,1995. Guide de mycologie médicale .collection Ellipes,

[34] Kocevski D.et al ,2013. Antifungal effect of Allium tuberosum, Cinnamomum cassia and Pogostemon cablin essential oils and their components against population of Aspergillus species. Food microbiology and safety; 78(5): 731–737.

## L

[35] Lardry et Haberkorn ,2007 :L'aromathérapies les huiles essentielles kinesithier Revu 66 :14-7

[36] Le Minoir ,1990 :Bactériologie Médicale .Méd.Sci .Flammation .2<sup>ème</sup> Ed. , chapitre 48,965-1017

[37] Leminor et Verron , 1990 : Bactériologie Médicale ,2<sup>ème</sup> édition ; édition Flammarion et Cie :395-46

[38] Lallemand H.et al ,2000. La cannelle : historique, production et principales caractéristique. Fruits ; 55(1) :421-432.

## N

[39] Nisrin Benayad, 2008. Thèse Sur: Les Huiles Essentielles Extraite Par Plantes Médicinales Marocaine : Moyen Efficace De Lutte Contre Les Ravageurs Des Dénrées Alimentaires Stockées, Université Mohammed V– Agdal De Rabat, 13-30.

## O

[40] Odds FC, 1988 .Candida and candidosis , 2<sup>nd</sup> édition .Baillière Tindall , London.

## P

[41] *Pascal Debauche et Dominique Baudoux ,2012 :Guide pratique d'Aromathérapie chez l'animal de compagnie Broché .*

## S

[42] Schaechter et al, 1999 :.Microbiologie et pathologie infectieuses .traduction de la 2<sup>ème</sup> édition américaine de Boeck lascier S.A

[43] Sudbery ,2001 , : P.E ,The germ tubes of candida albicans hyphae and pseudohyphae show different pattenrns of septing ring localization .Moll Microbiol .41 :19-31)

[44] Sudbery ,P, Gow N et Berman, the distinct morphogenic states of candida albicans.Trends Microbiol2004.12 :317-324.)

[45] Shan B.et al,2005. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. Agriculture and food chemistry;53:7749-7759

[46] Sacchetti, et ses Collaborateurs , 2005.Growing in Argentina.Bioresource Technology . (In press)

[47] Schauenberg P. et Paris F., 2010 :Guide des plantes médicinale : Analyse, description et utilisation de 400 plantes, Ed. Delachaux et Niestlé, p.396.

## T

[48] Tucker, AO Et RFC Naczi, 2007. Mentha : Un Aperçu De La Classification Et Les Relations. En 16-17: Laurent, BM, Ed, Monnaie. Du Genre Mentha . 16-17.

[49] Tucker, AO Et RFC Naczi , 2007. Mentha : Un Aperçu De La Classification Et Les Relations. En 16-17: Laurent, BM, Ed, Monnaie. Du Genre Mentha . 16-17.

[50] Tsai et al ,2007 :In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of streptococcus sodrinus .Food chem. (in press).

## W

[51] Wang L.et al ,2008 : Rapid extraction and analysis of essential oil from Cinnamomum cassia. Chemical Research in Chinese Universities; 24(3): 275–280.

[52] W. Dhifi, M , et al 2011.Identification Of A New Chemotye Of The Plant Mentha Aquatica Grown In Tunisia: Chemical Composition, Antioxidant And Biological Activities Of Its Essential Oil,” J. Essent. Oil Bear. Plants, Vol. 14, No. 3, Pp. 320–328,

[53] Weckesser et al , 2007. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeast with dermatological relevance. *Phytomedicine*. (In press).

Y

[54] Y.LE LOIR ,2010 : *Staphylococcus aureus* ,Tech et Doc –Lavoisier p 13

## Annexes

### Annexe N°1 : Milieux de culture.

#### ✓ Composition

- Infusion de viande bœuf
- Bio-case
- Amidon
- Ph

#### ✓ Préparation

- Mettre en suspension en 38g de milieu déshydraté (BK048) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.