

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE
FILIERE : CHIMIE

MEMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

THEME

**EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE
L'HUILE ESSENTIELLE ET DES TANINS EXTRAITS DE
LAVANDULA STOECHAS**

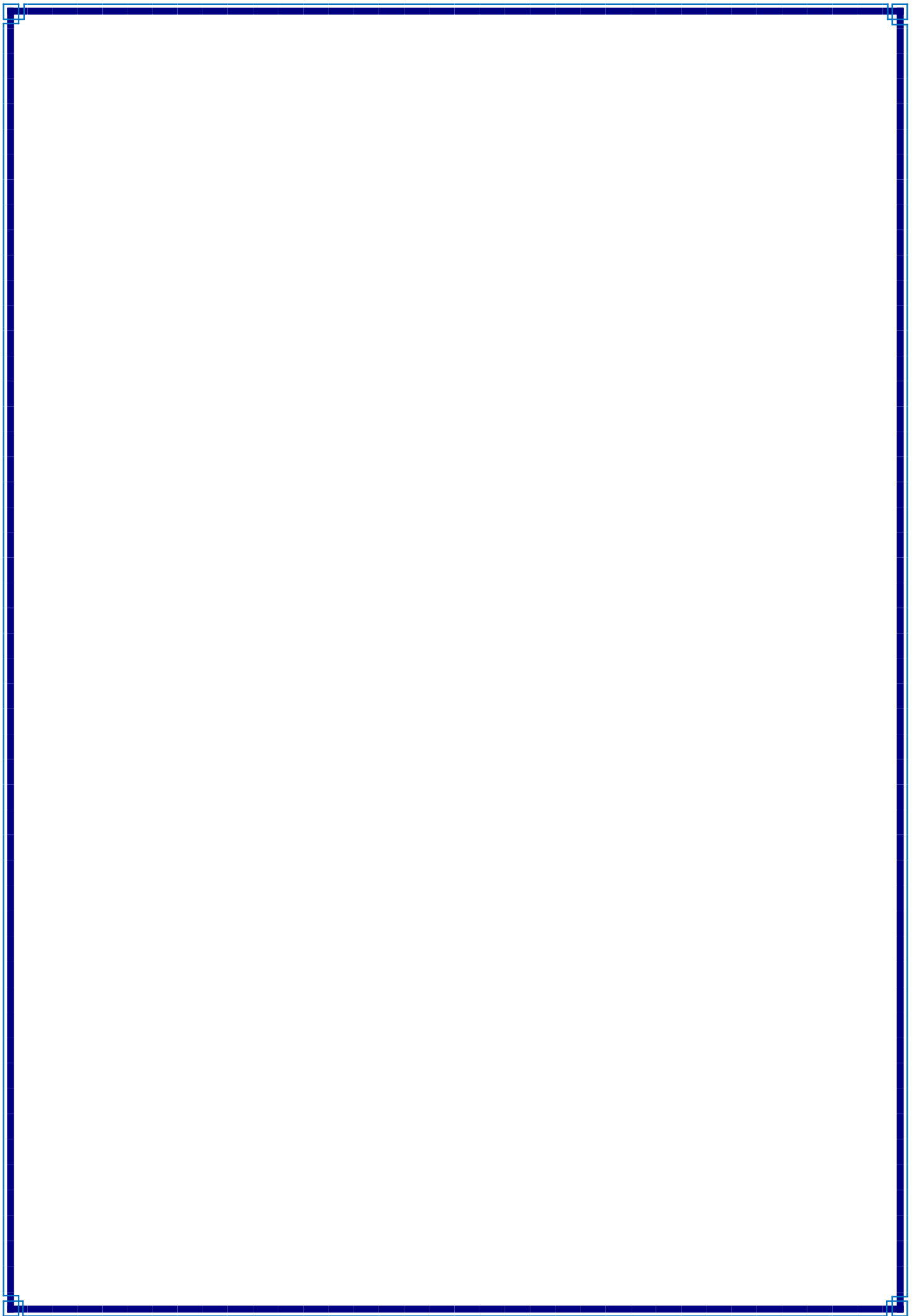
Présenté par :

**BOURKACHE
RAMDANI**

**KATHIA
SAIDA**

Soutenu publiquement, le **22 / 10 / 2016,** *devant le Jury composé de :*

KICHOU	NORA	MCB	UMMTO	PRESIDENTE
FERNANE	FARIDA	PROFESSEUR	UMMTO	ENCADREUR
MANSOUR	MALIKA	MCB	UMMTO	EXAMINATRICE
TOUZOUIRT	SAIDA	MAA	UMMTO	EXAMINATRICE



Remerciement

En préambule de ce mémoire, nous souhaitons adresser ici tous nos remerciements aux personnes qui nous ont apporté de l'aide et qui ont ainsi contribué à l'élaboration de ce mémoire

Tout d'abord, nous remercions notre promotrice, Madame FERNANE FARIDA chef de département chimie à l'université Mouloud Mammeri pour de nous avoir encadrés et orientés, tout au long de ce travail son aide et son soutien étaient la source de notre motivation. Ses compétences dans ce domaine nous ont permis de mûrir à bien ce mémoire

Nous tenons également à remercier Madame KICHOU NORA, maître de conférence classe B à l'UMMTO d'avoir accepté de présider le jury de thèse

Nous souhaitons aussi remercier madame TOUZOUIRT SAIDA maître assistante Classe A à l'UMMTO, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nos remerciements vont également à Madame MANSOUR MALIKA d'avoir accepté d'évaluer notre travail

Nous tenons à remercier également :

Docteur MAMOU chef de département pharmacie à L'UMMTO

Monsieur BARIZ chef de département des sciences biologique et agronomiques à l'UMMTO

Nous tenons à exprimer notre gratitude à Madame BEGGAZ DAHBIA ingénieur du laboratoire chimie pharmaceutique.

Merci également à MESSARA YASMINE d'avoir fait le nécessaire pour réaliser la CGMS en France.

Enfin nous adressons nos sincères remerciements à tous nos proches et amis qui nous ont toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui ma apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour tous les sacrifices qu'elle me contente, toute la confiance qu'elle m'accorde tout l'amour dont elle m'entoure.

A la mémoire de mon honorable père, et mon grand père qui m'ont appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, qui représentent pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement que le dieu l'accueille dans son vaste paradis

A mes chers frères Mourad & Mehdi.

A tous mes oncles et tantes et à chaque cousins et cousine pour le soutien indéfectible et leurs encouragements, je les témoigne mon grand amour

A tous mes camarades du Master chimie pharmaceutique.

A tous ceux qui me sont chers.

KATHIA

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents qui m'ont soutenu tout au long de mes études.

A mon chère frère : Fateh.

*Ames chers sœurs : Sabiha ,Anissa, Hassina ,Samira et hakima et leurs époux Samir et
Nourddine.*

*A mon chère neveu Adem et ma nièce Dacine sans oublier ma grand- mère et toutes ma
famille ;mes tantes ,cousins, cousines.*

Je dédie aussi ce travail à tous mes amis : Nabil ; Nina ;Jij ;Bedra, Lila ,Faiza.

Je dédie ce travail à ma promotrice Madame Fernane Farida.

Résumé

L'Algérie, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques y poussent spontanément. L'intérêt porté à ces plantes n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années. A cet effet, nous nous sommes intéressés à l'une des espèces de la famille des Lamiacées qui est la Lavande (*Lavandula stoechas*). Celle-ci est utilisée comme source d'extraits à fort pouvoir antimicrobien.

Cette étude a pour objectif l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et des tanins extraits de *lavandula stoechas* provenant de deux régions de la Kabylie (Tikobain et Beni Douala). La plante a été identifiée par le département d'Agronomie de la faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'UMMTO en tant que *lavandula stoechas*.

L'huile Essentielle et les tanins extraits des feuilles et des sommités fleuries pour des différentes périodes de la récolte présentaient des rendements variables. L'analyse par GC-MS de l'huile essentielle a révélé sa richesse en monoterpènes. L'analyse par HPLC des extraits de tanin nous a révélé la présence d'acide gallique.

L'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et des tanins extraits des feuilles sur les souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus*) et fongiques (*Aspergillus niger*) montre que le pouvoir antimicrobien de cette huile est très important et se caractérise par une action bactéricide contre ces bactéries et fongicide sur le champignon. L'huile essentielle de la région de Tikobain possède une meilleure activité sur les souches bactériennes étudiées comparée à celle de la région de Beni Douala. Le pouvoir antibactérien des tanins extraits a permis de visualiser une action inhibitrice sur les bactéries à Gram négatif.

Mots clés : lavande, tanins, activité antimicrobienne, huile essentielle.

Abstract

Algeria, for its location, offers a rich and diverse vegetation with a large number of aromatic plants growing there spontaneously. Interest in these plants has grown steadily in recent years. To this end, we are interested in one of the Lamiaceae species which is Lavender (*Lavandula stoechas*). This is used as a source of extracts with high antimicrobial power. This study aims to evaluate the antimicrobial activity of essential oils and tannins extracted from *Lavandula stoechas* issued from two regions of Kabylia (Tikobain and Beni Douala) the plant has been identified by the Department of Agronomy's Faculty of Biological and Agricultural Sciences at the UMMTO as *lavandula stoechas*.

The essential oil and tannin extract from the leaves and flowering tops for different periods of the crop had varying yields. The analysis by GC-MS of the essential oil revealed its rich monoterpene. The HPLC analysis of tannin extracts has revealed the presence of gallic acid.

The study of the antimicrobial activity of essential oil and extract of leaves tannins on bacterial strains (i.e. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus*) and fungal (*Aspergillus niger*) shows the very important antimicrobial power of this oil: characterized by antibactericidal action against these bacteria and antifungal on the fungus. The essential oil of Tikobain region has better activity against bacterial strains compared to that in the region of Beni Douala. The antibacterial extracts tannins enabled to view an inhibitory action on the bacteria Gram- .

Keywords: lavender, tannins, antimicrobial activity, essential oil.

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale.....1

Partie Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la lavande

1. Description de la famille des Labiées.....	2
2. Le genre "Lavandula".....	2
2.1. Présentation et description de la "Lavandula Stoechas".....	2
2.2. Position systématique.....	3
2.3. Composition chimique.....	3
2.4. Domaines d'applications et intérêts en phytothérapie.....	4

Chapitre II : les huiles essentielles

1. Définition.....	5
2. Localisation de l'HE dans la plante.....	5
3. Techniques d'extraction des HEs.....	5
4. Composition chimique des HEs.....	6
4.1. Terpènes.....	6
4.2. Les composés aromatiques.....	7
5. Facteurs influençant la composition chimique des HEs.....	8
5.1. Les facteurs environnementaux.....	9
5.2. Les facteurs génétiques et chémotype.....	9
5.3. Autres factures.....	9
6. Analyse des HEs.....	9
7. Propriétés et activités antimicrobienne des HEs.....	10
7.1. Activité antibactérienne.....	10

7.2. Activité antifongique.....	11
---------------------------------	----

Chapitre III : Tanins

1. Définition.....	12
2. Classification des tanins.....	12
2.1. Les tanins hydrolysables.....	12
2.2. Les tanins condensés (proanthocyanidine).....	12
3. Localisation et distribution des tanins.....	13
4. Activités biologiques et thérapeutiques des tanins.....	14
4.1. Activité antibactérienne des tanins.....	14
4.2. Activité antifongique des tanins.....	14

Partie expérimentale

Chapitre IV : Matériels et méthodes

1. Présentation du matériel végétal.....	15
2. Matériels et réactifs du laboratoire.....	16
3. Evaluation du taux d'humidité du matériel végétal.....	16
4. Extraction de l'HE.....	17
4.1. Montage.....	17
4.2. Mode opératoire.....	18
4.3. Evaluation du rendement en HE.....	18
5. Caractérisation de l'HE extraite.....	18
5.1. Tests organoleptiques.....	18
5.2. Paramètres physicochimiques.....	19
6. Analyse CGMS de l'HE extraite des feuilles de Lavande.....	20
7. Protocol d'extraction des tanins.....	20
8. Analyse par HPLC des tanins extrait à partir des feuilles de Lavande.....	21
9. Tests microbiologiques.....	21
9.1. Souches microbiennes utilisées.....	21
9.2. Milieux de culture utilisés.....	22
9.3. Tests microbiologiques sur l'HE.....	22

9.3.1. Préparation de l'inoculum bactérien.....	22
9.3.2. Diffusion sur le milieu gélosé.....	22
9.3.3. Evaluation de la concentration minimale d'inhibition CMI.....	23
9.3.4. Détermination de la nature de l'activité antimicrobienne de l'HE.....	24
9.4. Tests microbiologiques sur les tanins.....	24

Chapitre V : Résultats et discussions

1. Le taux d'humidité.....	25
2. Rendement en HE.....	25
3. Tests d'identification d'HE Extraite des feuilles	26
3.1. Caractères organoleptiques.....	26
3.2. Paramètres physicochimiques.....	26
4. Composition chimique de l'HE.....	26
5. Rendement d'extraction des tanins.....	29
6. Résultats de l'analyse HPLC des extraits de tanins.....	29
7. Résultats des tests microbiologiques.....	31
7.1. Activité antimicrobienne de L'HE.....	31
7.2. Détermination de la CMI.....	34
7.3 Nature de l'activité antimicrobienne.....	35
7.4. Pouvoir Antimicrobien des tanins.....	36
 Conclusion et perspectives.....	 39
 Références bibliographiques.....	 40

Glossaire

Annexes

Liste des figures

Figure 1- Structures chimiques des principaux composants des HEs.....	8
Figure 2- Formule développée d'un flavonoïde.....	13
Figure 3- Formules développées du Flavan-3-ol et du Flavan 3,4-diol.....	13
Figure 4- Photo de la <i>Lavandula stoechas</i>	15
Figure 5 - Montage d'hydrodistillation utilisé.....	17
Figure 6- Rendement en HE de <i>Lavandula stoechas</i>	25
Figure 7- Chromatogramme de l'HE de <i>Lavandula Stoechas</i> de la région Beni douala...	28
Figure 8- Chromatogramme de l'HE de <i>Lavandula Stoechas</i> de la région Tikobain.....	28
Figure 9- Rendement en tanins extrait de <i>Lavandula stoechas</i>	29
Figure10- Chromatogramme de l'acide gallique.....	30
Figure11- Profil chromatographique de l'Ech1.....	30
Figure 12- Profil chromatographique l'Ech2.....	30
Figure 13- Profil chromatographique de l'Ech3.....	31
Figure 14- Profil chromatographique de l'Ech4.....	31
Figure 15- Activité antibactérienne et antifongique de l'HE de la région de Tikobain sur A : <i>E.coli</i> ,B : <i>S.aureus</i> , C: <i>A.niger</i> , D : <i>P.Aeroginosa</i>	32

Figure 16-Activité antibactérienne et antifongique de l'HE de la région de Beni douala sur
A : *E.coli* , :*S.aureus*, C *A.niger*, D:*P.Aeruginosa*.....33

Figures 17-Photos des boîtes de pétri montrant l'activité antimicrobienne (AAM) de l'HE
sur les bactéries et les champignons utilisés.....35

Figure 18- Photos montrant la nature de l'AAM des bactéries et champignon utilisées
A: *A. niger*, B: *E. coli*, C: *S. aureus* et *P. aeruginosa*.....36

Figure 19-Activité antibactérienne et antifongique des extraits de tanin de la région de
Tikobain sur A : *E. coli*, B:*S. aureus*, C: *A.,niger*, D:;*P.aeruginos*.....37

Figure 20-Activité antibactérienne et antifongique de l'HE de la région de Beni douala sur
A : *E.coli* ,B :*S.aureus*, C: *A.niger*, D :*P.Aeruginosa*.....38

Liste des tableaux

Tableau 1 -Conditions climatiques et géographiques des deux régions de récolte.....	15
Tableau 2 -Liste des réactifs utilisés.....	16
Tableau 3 -Liste du matériel utilisé.....	16
Tableau 4 -Liste des souches microbiennes utilisées.....	22
Tableau 5 -Teneur en eau et en matière sèche de nos échantillons de Lavandula stoechas.....	25
Tableau 6 -Propriétés physico-chimiques de l'HE de Lavandula stoechas.....	26
Tableau 7 -Composition chimique de l'HE des feuilles de L.Stoechas déterminée par CGMS.....	27
Tableau 8 -Temps de retentions du standard et des échantillons.....	29
Tableau 9 -Résultats obtenus avec l'HE des feuilles recueillies en fin Mai.....	32
Tableau 10 -Activité antimicrobienne de l'HE de la région de Tikobain.....	34
Tableau 11 -Rapport CMB/CMI et CMF/ CMI.....	36
Tableau 12 -Valeur des diamètres de la zone d'inhibition des tanins pour différentes.....	37

Liste des abréviations

AFNOR : Association française de normalisation

AAM : Activité antimicrobienne

C : Carbone

C° : Degré Celsius

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMF : Concentration Minimale Fongicide

CMI : Concentration Minimale d'Inhibition

CG-MS : Chromatographie Gazeuse couplée à Spectrométrie de Masse

D : Diamètre

DO : Densité Optique

DMSO : Diméthyle Sulfoxyde

HPLC : Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance

HE : Huile Essentielle

HE_S : Huiles Essentielles

I_A : Indice d'Acide

I_R : Indice de Réfraction

M-H : Müller Hinton

MS : Matière Sèche

M : Molarité

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

R_{HE} : Rendement en Huile Essentielle

SAB : Saburraux

T_r : Temps de Rétention

μl : Microlitre

Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes ont permis à l'homme non seulement de se nourrir, se vêtir, se chauffer, se parfumer...mais aussi de maintenir son équilibre, soulager ses souffrances, préserver et soigner les maladies qui nuisent à sa santé.

Les plantes médicinales constituent une source naturelle de molécules chimiques, tels que les métabolites secondaires qui interviennent dans plusieurs domaines. Ils ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues.

Actuellement, et malgré les progrès réalisés en médecine, plusieurs populations recourent davantage aux plantes pour se soigner. Ceci est due au fait que, comparativement aux médicaments, les plantes prouvent de plus en plus leurs efficacité thérapeutique avec moins d'effets secondaires. De plus, les plantes sont moins agressives et moins nocives pour l'organisme. Il est donc important d'orienter les recherches vers la valorisation du règne végétale et spécifiquement les plantes médicinales lesquelles ont toujours servi de base pour la conception de nouveaux médicaments.

L'Algérie, de par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques y pousse spontanément. L'intérêt porté à ces plantes n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années. A cet effet, nous sommes intéressés à l'une des espèces de la famille des Lamiacées qui est la Lavande (*Lavandula stoechas*). Celle-ci est utilisée comme source d'extraits à fort pouvoir antimicrobien.

En effet, l'objectif de notre travail repose sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (HE) et des tanins extraits de cette plante.

Ce présent manuscrit est divisé en deux parties :

- La première partie, composée de trois chapitres, est consacrée à la synthèse bibliographique regroupant les généralités sur la lavande, les huiles essentielles et les tanins. Leurs propriétés et leurs intérêts pour la santé y sont présentés.
- La deuxième partie est consacrée au travail expérimental que nous avons effectué. Elle comporte deux chapitres: Le premier consacré à la présentation du matériel et des protocoles expérimentaux utilisés pour l'extraction, la caractérisation de l'huile essentielle et des tanins extraits de la *Lavandula Stoechas* ainsi qu'à l'évaluation de leurs activités antimicrobienne. Le second chapitre regroupe les résultats des différents tests effectués et leurs interprétations.

CHAPITRE I

Généralités sur la lavande

1. Description de la famille des Labiées

La famille des Labiées est une très grande famille de plantes aromatiques, connue pour sa diversité et ses propriétés médicinales. Elle comprend plusieurs herbes aromatiques représentées par plus de 236 genres et 7172 espèces, qui sont utilisés depuis l'antiquité en art culinaire, en parfumerie, et en thérapeutique (*Hussain, 2004*).

Caractérisées par leurs arômes, les labiées sont très riches en huiles essentielles ces dernières sont synthétisées pratiquement par toutes les parties des plantes, feuilles, tiges, fleurs,...etc. Elles contiennent des précieux réservoirs de composés chimiques multiples ayant une activité biologique différente selon leurs compositions structurales. Par conséquent, les huiles essentielles de cette famille possèdent plusieurs propriétés pharmacologiques : anti-infectieuses, antispasmodiques, antalgiques, toniques, digestives, cicatrisantes...etc (*Baikkalia et al. 2008*).

Les genres les plus cités dans la littérature sont : le genre "*Lavandula*" avec les lavandes, le genre "*Mentha*" avec les menthes, le genre "*Rosmarinus*" avec le romarin, le genre "*Salvia*" avec la sauge et le genre "*Thymus*" avec le thym (*Hussain, 2004*).

Pour le cadre de notre étude, nous nous intéressons au genre "*Lavandula*".

2. Le genre "*Lavandula*"

Le nom "*Lavandula*" vient du latin "*lavare*" qui signifie "laver". La lavande était ainsi nommée par les Romains car ils parfumaient leurs bains avec cette plante (*Chu et Kemper, 2001*).

Le genre "*Lavandula*" se compose d'environ 28 espèces qui sont réparties en quatre principales catégories: *Lavandula latifolia* ; *Lavandula angustifolia* ; *Lavandula X intermedia* (qui est un croisement de deux espèces *L. latifolia* et *L. Angustifolia*) et *Lavandula stoechas* (*Upson et Grayer, 2000*).

2.1. Présentation et description de la "*Lavandula Stoechas*"

La "*Lavandula Stoechas*" est communément appelée "Lavande Française", "Lavande Italienne", "Lavande Espagnole", "Lavande des Stoechades", "Lavande maritime", "Lavande papillon" ou "Lavande à toupet" (*Chu et Kemper, 2001*).

Elle a été historiquement la première lavande à être formellement décrite et elle est aussi la lavande dont le territoire géographique est le plus vaste. Elle est répandue dans tout

le bassin méditerranéen (Europe méridionale, l'Afrique du Nord et le Moyen Orient) (*Chu et Kemper, 2001*).

C'est un sous arbrisseau qui préfère les endroits ensoleillés et les sols riches. Les tiges étroites sont quadrangulaires à feuilles opposées. Elles tendent à être plus vertes que grises, à son extrémité une inflorescence terminée par un toupet de longues bractées violettes. L'ensemble fleurs et feuilles est très aromatique (*Allaby, 1992; Chu et Kemper, 2001*).

2.2. Position systématique

D'après *Quezel et Santa (1963)*, la systématique de "*Lavandula Stoechas*" est la suivante :

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Sous-classe : Dialypétales
- Ordre : Lamiales (Labiales)
- Famille : Lamiaceae
- Genre : *Lavandula*
- Espèce : *Lavandula stoechas* L.

2.3. Composition chimique

Selon *Ferres et al. (1986)* ; *Lawrence (1996)* ; *Mastelic et Kustrak (1997)*, les principaux constituants chimiques potentiellement actifs qu'on peut trouver dans le genre "*Lavandula*" sont:

- **Monoterpènes** : α -pinène, 3-pinène, 3-ocimène, camphre, limonène, p-cymène, sabinène, terpinène.
- **Monoterpènes alcools**: α -terpinéol, bornéol, lavandulol, linalol, p-cymen-8-ol, Transpivocarvéol.
- **Monoterpènes aldéhydes**: aldéhyde de cumin.
- **Monoterpènes éthers**: 1,8-cinéole.
- **Monoterpènes esters**: acétate de linalyl, acétate de terpényl.
- **Monoterpènes cétones**: carvone, coumarine, cryptone, fenchone, méthylhéptenone, noctanone, nopinone, p-méthylacétophénone.

- **Benzénoïdes:** eugénol, coumarine, carvacrol, acide hydroxycinnamique, aciderosmarinique, thymol.
- **Sesquiterpènes:** caryophyllène, oxyde de caryophyllène, α -photosantanol, α -santalal, α -norsantalénone.
- Quelques traces d'autres composés tels que les **flavonoïdes**.

Par ailleurs ; les composants majoritaires des huiles essentielles de la "*Lavandula Stoechas*" sont l' α -pinène, le fenchone, le camphre et l'acétate de myrtenyl (*skoula et al. 1996 ; Dob et al, 2006*). Les autres constituants sont le bêta pinène, le limonène, le bêta santalène, le bornéol, le camphre, la caryophyllène, la coumarine, le géraniol, le limonène, le linalol, le lutéoline, le 1,8-cinéole, l'acide rosmarinique, le tannin, l'umbelliférone et l'acide ursolique (*Esiyok et al. 2004*).

2.4. Domaines d'applications et intérêts en phytothérapie

La "*Lavandula Stoechas*" est une espèce végétale bien connue et utilisée à travers toute la région méditerranéenne pour ses vertus médicinales principalement attribués à sa teneur en huile essentielle (*Festy et Dupin, 2012*).

Elle est utilisée comme antispasmodique dans les douleurs des coliques, expectorant, stimulant, et pour les différentes maladies du système nerveux central, comme l'épilepsie et la migraine (*Giray et al. 2008*).

L'huile essentielle de la lavande a aussi des effets positifs sur les plaies, les infections urinaires, les maladies cardiaques et l'eczéma. Elle possède également des propriétés antimicrobiennes et anti-carcinogènes (*Gören et al. 2002*). Elle renferme aussi des propriétés sédatives, anxiolytique, analgésique, antidépresseur, antioxydant, anti-inflammatoire et insecticide (*Chu et Kemper, 2001*).

En cosmétique, la "*Lavandula Stoechas*" était à l'honneur chez les Romains et reprend aujourd'hui du galon, portée par l'engouement retrouvé pour les produits nature (*Festy et Dupin, 2012*). Son huile essentielle (HE) est largement employée dans l'industrie du parfum savons, eaux de Cologne, lotions pour la peau, vernis, démaquillants... (*Schauenberg et Paris, 2010*).

CHAPITRE II

Les huiles essentielles

1. Définition

Les huiles essentielles (HEs) sont des mélanges complexes de substances odorantes et volatiles contenues dans les végétaux (*Anton et Lobstein, 2005*). Le terme "huile" fait allusion à la propriété de ces composés à se solubiliser dans les graisses ainsi qu'à leur caractère hydrophobe. Le terme "essentielle" fait référence au parfum et à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante (*Bruneton, 1999*).

L'Association Française de Normalisation (**AFNOR, 2000**) définit les HEs selon leur mode d'extraction : Ce sont des produits obtenus soit à partir de matières premières d'origine végétale par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de citrus (zeste d'agrumes) par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques.

2. Localisation de l'HE dans la plante

Il arrive très fréquemment que la composition de l'HE d'une plante soit variable, selon la partie (feuille ; fleur...) utilisée pour l'extraire. Dans le cas de certaines plantes, l'essence est produite par des tissus sécréteurs. Dans d'autres cas, elle se trouve en liaison glycosidique à l'intérieur des tissus et ne se manifeste que lorsqu'on froisse, écrase, sèche ou distille la plante (*schauemberg et paris, 2010*).

Les essences peuvent être sécrétées dans différentes parties de la plante telles que les poils sécréteurs disposés à la périphérie des calices floraux, des feuilles et des tiges chez les labiées (thym, sauge) (*Scimeca et Tétou, 2005*). Toutes les plantes de la famille des Labiées possèdent dans leurs tissus épidermiques et foliaires des glandes sécrétrices riches en huiles essentielles (HEs) aromatiques (*Chambon, 1984*).

3. Techniques d'extraction des HEs

L'extraction des huiles essentielles à usage pharmaceutique est une opération qui doit permettre d'obtenir des produits volatils, de bonne qualité, sans additifs ni solvants susceptibles de nuire à la santé. Ainsi, la pharmacopée autorise deux méthodes d'extraction qui sont : l'expression et la distillation (*Bakkalia et al. 2008 ; Hussain, 2004*).

➤ Expression à froid

Le procédé d'expression à froid ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences fragiles. Ce procédé réalisé à température ambiante consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches sécrétrices d'essence afin d'en libérer leur contenu. Cette technique uniquement mécanique

limite l'oxydation car elle conserve les antioxydants naturels contenus dans la fraction non volatile. Le produit ainsi obtenu s'appelle aussi une essence car il n'a subi aucune modification chimique et reste identique au produit sécrété par la plante (*Roux, 2008*).

➤ Distillation

La distillation à la vapeur d'eau est une très ancienne technique utilisée pour extraire les huiles essentielles à partir des plantes aromatiques. Elle est simple dans son principe. (*Whish, 1996 ; Masango, 2004*). Il existe deux types de distillation, l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau.

Le principe de l'hydrodistillation consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont ensuite condensées dans un réfrigérant. On obtient ainsi un mélange d'HE et d'eau qui se sépare en deux phases en raison de la différence de densité (*Silo et al. 2004*).

Dans le cas de l'entraînement à la vapeur d'eau, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée à travers laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant (*Silo et al. 2004*).

4. Composition chimique des HEs

Les HEs sont des mélanges très complexes de composés organiques possédant des structures et des fonctions chimiques très diverses. Elles sont reconnues par deux ou trois composants majeurs présents à des concentrations assez élevées (20-70%) comparativement aux autres. En général les huiles essentielles pures sont composées de deux groupes biosynthétiques distincts : Un principal groupe composé de terpènes et Terpénoïdes et un autre constitué de composés aromatiques et aliphatiques (*Bakkalia et al. 2008*).

4.1. Les terpènes

Les terpènes regroupent structurellement et fonctionnellement différentes classes. Leur classification est basée sur le nombre de répétition de l'unité de base isoprène (5 carbones). Les principaux terpènes sont des mono terpènes (C10) et sesquiterpènes (C15), mais des hémiterpènes (C5), di terpènes (C20), tri terpènes (C30) et tétra terpènes (C40) existent également. Une combinaison oxygène terpène est appelée un terpénoïde (*Bakkalia et al. 2008*).

- **Les mono terpènes** : Ils sont formés à partir du couplage de deux motifs d'isoprène (C10). Ce sont les molécules les plus représentatives qui constituent 90% des HEs et permettent une grande variété de structures. Ils sont constitués de plusieurs fonctions: Carbures, Alcools, Aldéhydes, Esters, Éthers et Phénols.
- **Les sesquiterpènes** : Ils sont formés par l'assemblage de trois unités d'isoprènes (C15). La structure et la fonction des sesquiterpènes sont semblables à ceux des monoterpènes: Carbures, Alcools, Cétones et Époxydes.

4.2. Les composés aromatiques

Ils sont moins fréquents que les terpènes. Ils comprennent des aldéhydes, des alcools, des phénols et des méthoxy.

La figure 1 résume et regroupe les principaux composés dénombrés dans les HEs.

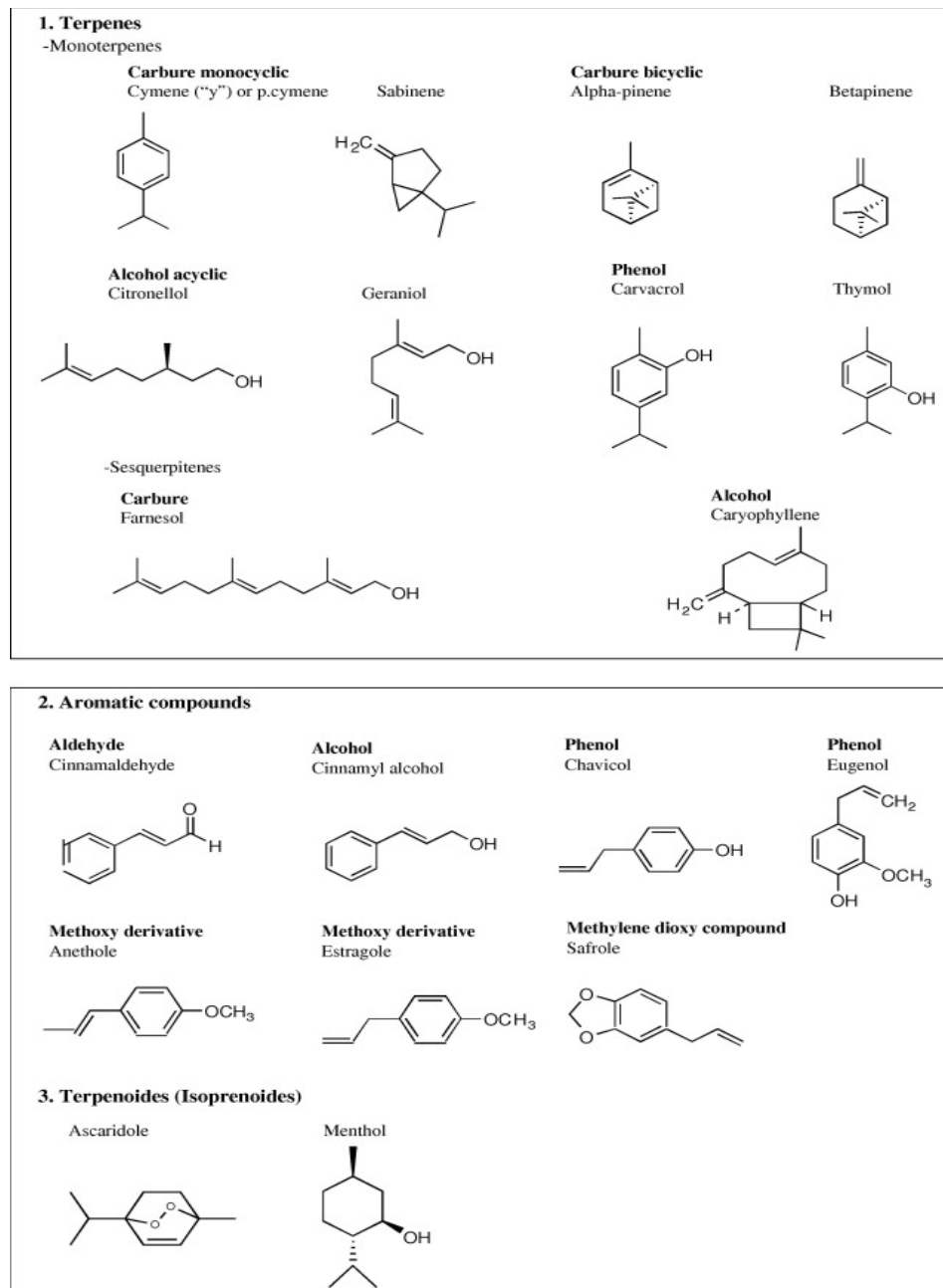


Figure 1- Structures chimiques des principaux composants des HEs (Bakkalia et al.2008).

5. Facteurs influençant la composition chimique des HEs

Nombreux facteurs influencent la composition quantitative et qualitative des plantes aromatiques. Ces facteurs déterminent la composition et le rendement des HEs obtenues. Dans certains cas, il est difficile d'isoler ces facteurs les uns des autres car beaucoup sont interdépendants et s'influencent mutuellement. Parmi ces facteurs nous pouvons citer : les variations saisonnières, géographiques et météorologiques ainsi que les variations génétiques et chémotypes (Hussain, 2004).

5.1. Les facteurs environnementaux

Plusieurs rapports scientifiques démontrent que les plantes aromatiques se trouvant dans les régions ensoleillées produisent des HEs proportionnellement à la durée de l'exposition à la lumière et à l'intensité de celle-ci. A cet ensemble lumière /chaleur s'ajoute la hauteur topographique (*Telci et al. 2010*). La quantité des sesquiterpène est plus élevée dans les endroits chauds tandis que celles des monoterpènes le sont dans les endroits tempérés (*Bourkhiss et al. 2009*).

5.2. Les facteurs génétiques et chémotypes

La biosynthèse d'une plante et son profil génétique peuvent influencer sur la composition chimique des huiles essentielles. Le chémotype est une race chimique où une même espèce végétale peut fournir des HEs de compositions chimiques différentes (*Fouche et al. 2002; Juliani et al. 2002*).

5.3. Autres facteurs

La technique de séchage, la partie de la plante utilisée, la période de la récolte, la teneur en humidité des plantes au moment de la récolte, le mode d'extraction, représentent autant de facteurs influant sur le rendement et la composition chimique d'une HE d'une plante aromatique donnée (*Vekiari et al. 2012*).

6. Analyse des HEs

Selon la Pharmacopée Française et Européenne, le contrôle des HEs s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques : indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants (*Pibiri, 2006*).

La meilleure carte d'identité quantitative et qualitative d'une HE reste cependant le profil chromatographique en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique.

➤ Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

La technique CPG/MS est la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles. Elle permet, dans la grande majorité des cas, de connaître la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation (*Carvalli, 2002*).

Le couplage CPG/MS possède plusieurs atouts : le chromatogramme en phase gazeuse permet de séparer les constituants d'un mélange et le spectromètre de masse associé permet d'obtenir le spectre de masse de chacun des constituants et bien souvent de les identifier (*Hoffmann, 2005*).

Cette technique consiste à ioniser les molécules par bombardement électronique, conduisant ainsi à la formation des ions en phase gazeuse. Les ions sont ensuite dirigés vers la partie analytique de l'appareil. Le faisceau d'ions ayant traversé l'analyseur de masse est ensuite détecté et transformé en un signal. A la fin, l'ordinateur enregistre les données provenant du spectromètre de masse et les convertit en valeurs de masses et d'intensités des pics (*Carvalli, 2002*).

7. Propriétés et activités antimicrobienne des HEs

Les HEs ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers. Elles ont donné naissance à une nouvelle branche de la phytothérapie qui est l'aromathérapie.

Les HEs sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses (*Valnet, 2005*).

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses différents composants. Sa valeur tient à son "totum" ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (*Lahlou, 2004*).

7.1. Activité antibactérienne

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (*Carson et al. 2002*).

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HEs sur Les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électrons et la coagulation du contenu protéique des cellules (*Davidson, 1997*).

Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer

dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (*Cox et al. 2000*).

Elles agissent aussi bien sur les bactéries à gram positif que sur les bactéries à gram négatifs. Toutefois, les bactéries à gram négatif paraissent moins sensibles à leur action et ceci est lié directement à la structure de leurs parois cellulaires. (*Cox et al. 2000*).

Les HEs les plus étudiés pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent à la famille des Labiées qui sont riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces derniers ont un effet antibactérien contre un large spectre de bactéries comme E.Coli, S.aureus, Bacillus cereus (*Pauli, 2001*).

7.2. Activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les HEs ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (*Lis-Balchin, 2002*).

Selon *Voukou et al. (1993)*, les HEs les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des *Labiées* : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc.

Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des HEs. (*Kurita et al 1979, 1981*) ont classé les composés purs selon leur activité antifongique vis-à-vis de sept champignons. Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance, déterminée par simple observation macroscopique.

Il en sort que l'activité antifongique décroît selon le type de fonctions chimiques (*Kurita et col. 1979, 1981*): Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Ethers > hydrocarbures.

CHAPITRE III

Les Tanins

1. Définition

Le terme " tanin" vient du mot "tannage", un procédé datant du moyen âge et permettant la formation de cuir imputrescible par la création de liaisons entre les fibres de collagène de la peau fraîche (*Bruneton, 2009*).

Les tanins sont des métabolites secondaires polyphénoliques solubles dans l'eau. Leur structure chimique leur confère une capacité très développée à se fixer sur des molécules telles que les alcaloïdes, la gélatine, les polysaccharides et essentiellement les protéines (*Aganga et Mosase, 2001 ; Peronny, 2005*).

Le rôle biologique des tanins dans la plante est lié à sa propre protection contre les infections, les insectes et les animaux herbivores (*Khanbaba et Ree, 2001*). En plus de la protection contre les attaques fongiques et bactériennes (*Peronny, 2005*).

2. Classification des tanins

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes basés sur des différences structurales : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables (tanins condensés) (*Fiorucci, 2006*).

2.1. Les tanins hydrolysables

Ce sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable de molécules d'acide phénolique. Le sucre est très généralement le glucose. L'acide phénolique est soit l'acide gallique, dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxy diphénolique, dans le cas des tanins classiquement dénommés tanins ellagiques (*Bruneton, 1999*).

2.2. Les tanins condensés (proanthocyanidine)

Les tannins condensés nommés encore "proanthocyanidine" ou "tanins catéchiques" présents dans la plupart des plantes vasculaires sont des polymères d'unités flavonoïde (figure 2). La structure dérive de flavan-3-ols et flavan-3,4-diol (figure 3). La dénomination proanthocyanidine est due au fait que les tanins condensés se dégradent par action de l'acide chlorhydrique HCl(5M) en milieu alcoolique pour former des pigments anthocyaniques de couleur rouge (*Stevanovis et Perrin, 2009*) et un précipité composé d'un polymère insoluble : les phlobaphènes (*Falcao et al. 2012*).

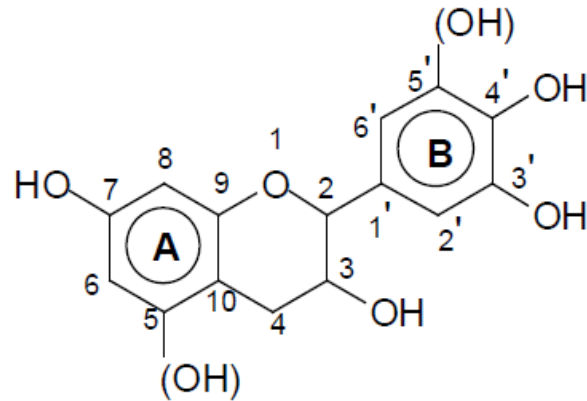


Figure 2-Formule développée d'un flavonoïde (*Osman, 2003*)

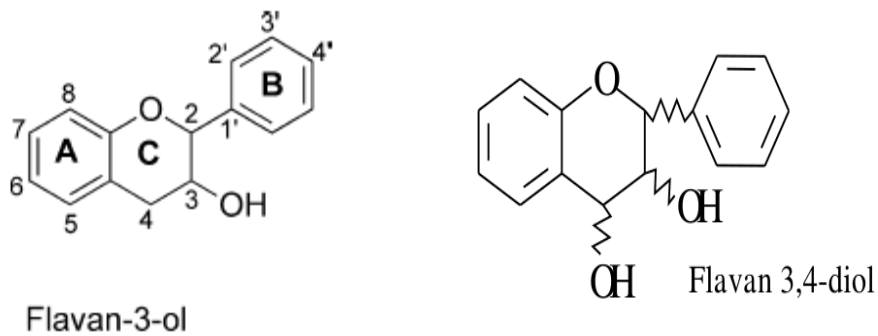


Figure 3- Formules développées du Flavan-3-ol et du Flavan 3,4-diol (*Haslam, 2007*)

3. Localisation et distribution des tanins

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal. Ils sont particulièrement abondants chez les Conifères, les Fagacées et les Rosacées (*Ghestem et al. 2001*). Tous les organes végétaux peuvent en renfermer : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (*Khanbaba et Ree, 2001*).

Les tanins sont présents dans une variété de plantes utilisées dans l'alimentation notamment les céréales ; les légumineuses (sorgho, millet, orge, haricots secs, petits pois, caroube) et les fruits comme la pomme, la mûre, la canneberge, les dattes, les raisins, l'aubépine, la pêche, la poire, le kaki, la prune, la framboise et la fraise (*Peronny, 2005*).

4. Activités biologiques et thérapeutiques des tanins

Les tanins sont des molécules biologiquement actives, douées d'activités pharmacologiques remarquables et des effets caractéristiques sur la santé humaine (*Chavan et al.2001 ; Okuda, 2005*).Ce sont des composés polyphénoliques qui permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections.

Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (*Igor, 2002*).

Les tanins réagissent aussi comme anti-inflammatoire et anti- cancérogénique. Leur potentiel peut être lié aux propriétés anti oxydantes qui semblent importantes pour la protection cellulaire des dommages oxydatifs (*Yang et al. 2000 ; Chung et Wei, 2001*).

Les tanins présentent aussi une activité antiulcéreuse et antiparasitaire. En effet, la consommation des plantes à tanins peut affecter la biologie de certaines espèces de parasites intestinaux (*Peronny, 2005*).

4.1. Activité antibactérienne des tannins

De nombreuses études ont montré l'importance de l'activité antibactérienne des tanins. Ces molécules ont été qualifiées de bactériostatique ou bactéricide sur plusieurs souches bactériennes (*Chung et Wei, 2001*).

En effet, il semble que l'acide tannique inhibe la croissance des bactéries des aliments et des bactéries intestinales humaines comme : *Escherichiacoli, Proteus vulgaris, Pseudo fluorescens, Salmonella enteritidis, et Salmonella typhimurium (Chung et Wei, 2001)*.

4.2. Activité antifongique des tannins

Les tannins condensés comme les hydrolysables, ont une action inhibitrice contre les moisissures et les levures. Des études ont montré que les proanthocyanidine du thé jouent un rôle dans la protection de cette plante contre l'*Exobasidium vexans (Punyasiri, 2005)* et les tannins hydrolysables des différentes plantes agissent contre une large gamme de champignons filamenteux (*Epidermophyton floccosum, Microsporium cassis,Trichophyton rubrun, Penicillium italicum, Aspergillus fumigatus,...*) et des levures (*Candida albicans, C. glabrata, Cryptococcus néoformans...*) (*Latte, 2000*).

Cette action antifongique est couramment utilisée pendant les opérations œnologiques lors de la manufacture des vins car les tannins polaires de ces derniers ont une grande capacité à se fixer sur les champignons néfastes (*Mazauric, 2005*).

CHAPITRE IV

Matériel et Méthodes

1. Présentation du matériel végétal

Les parties aériennes (feuilles et sommités fleuries) de *Lavandula stoechas* (figure4) ont été récoltés en des périodes différentes (mois d'avril, début et fin mai 2016) et de deux régions différentes : Tikobain commune de Ouaguenoun (au lieu-dit Ait Ouchelli), située à 15 kilomètres de la ville de Tizi Ouzou et Beni douala (au lieu-dit Thaddart-Oufella) située à 17 km au sud de la ville de Tizi Ouzou. Les conditions géographiques des sites de récolte sont regroupées dans le tableau 1.



Figure 4–Photo de la *Lavandula stoechas*

Tableau 1-Conditions climatiques et géographiques des deux régions de récolte (*Aouadi, 1989*)

Région	Altitude	Latitude	Longitude	Climat
Tikobain	300m	36° 46' 12"N	4° 10' 29"E	Climat méditerranéen avec un été chaud
Beni douala	750m	36° 37' 0" N	4° 4' 0"E	Climat méditerranéen avec été sec et hiver rigoureux

Une identification botanique a été effectuée au niveau des laboratoires pédagogiques du département d'Agronomie de la faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'UMMTO.

Les parties aériennes ont été séchées dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la lumière et à une température ambiante.

Après l'opération de séchage, les deux parties feuilles et sommités fleuries ont été séparées l'une de l'autre. Une partie de la matière sèche (feuille et sommité) a été utilisée et elle quelle pour l'extraction de l'HE. L'autre partie (feuille et sommité) destinée pour l'extraction des tanins a été réduite en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique.

2. Matériels et réactifs du laboratoire

Le matériel du laboratoire ainsi que les réactifs utilisés pour conduire nos expériences d'extraction et de séparation sont regroupés dans les tableaux 2 et 3.

Tableau 2-Liste des réactifs utilisés

Réactifs		
Nom	Fournisseur	Pureté
Méthanol HPLC	BIOCHE Chemopharma	99%
Méthanol	SIGMA ALDRICH	99.7%
Ether de pétrole	ORGANICS	---
Ether di éthylique	BIOCHE Chemopharma	98%
Acide acétique	SIGMA ALDRICH	98%
Ethanol	SIGMA ALDRICH	98%

Tableau 3-Liste du matériel utilisé.

Verreries	Appareils
-Eprouvettes	-Réfractomètre (Abbe)
-Erlenmeyer	- Appareil CG-MS (Thermo ScientistLab)
-Ampoules à décanter	-Appreil HPLC(Shimadzu)
-Ballons	- Chauffe ballon
-Tubes à essai	- Rote a vapeur

3. Evaluation du taux d'humidité du matériel végétal

La détermination de la teneur en eau de la plante a été réalisée par séchage à l'étuve à 105°C, pendant 2 heures, selon la méthode décrite par (*Twidwell et al. 2002*). Le taux d'humidité est évalué selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{m1-m2}{m1} \times 100 \quad (1)$$

Avec

m_1 : masse de l'échantillon avant dessiccation (g).

m_2 : masse de l'échantillon après dessiccation (g).

H% : Teneur en eau.

Pour plusieurs essais, on calcule la moyenne arithmétique selon l'équation suivante:

$$\mathbf{H\% = \frac{H1\%+H2\%+...Hn\%}{n}} \quad (2)$$

Avec :

$H_i\%$: Teneur en humidité de l'échantillon i (i variable de 1 à n)

$i = 1, 2, \dots, n$: nombre d'échantillons.

4. Extraction de l'HE

4.1. Montage

L'extraction de l'huile essentielle (HE) a été effectuée à l'aide d'un montage d'hydrodistillation simple : un ballon bi-col surmonté d'un coude en verre au quel est raccordé un réfrigérant. Ce dernier est relié à une ampoule à décantée à l'aide d'un autre coude en verre de rodage approprié. Le schéma du montage est présenté sur la figure 5.



Figure 5 - Montage d'hydrodistillation utilisé

4.2. Mode opératoire

On introduit une masse de matière sèche dans le ballon bi-col de 4 L avec un volume d'eau approprié à raison d'un rapport de 90 g par litre d'eau. Le mélange est porté à ébullition pendant 2 à 3h. Les vapeurs chargées d'huiles essentielles sont condensées dans le réfrigérant (*Mohammedi* , 2012).

Le distillat est recueilli dans une ampoule à décanter. Le mélange eau / HE se sépare par différence de densité. L'opération est reproduite plusieurs fois afin d'épuiser toute la matière végétale et recueillir une quantité suffisante d'HE.

Les fractions d'HE extraites sont conservées au frais dans des flacons en verre ombré.

Afin d'étudier l'effet de la région (Tikobain et Beni Douala) ; de la période de récolte (Avril et Mai) ainsi que de l'organe aérien de la plante (feuille ou sommité) sur le rendement en HE, nous avons effectué plusieurs opérations d'extraction par hydrodistillation.

4.3. Evaluation du rendement en HE

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue par extraction et la masse totale du matériel végétal traité. Il est calculé à l'aide la formule suivante:

$$R_{HE}\% = \frac{M_{HE}}{M_S} \times 100 \quad (3)$$

R_H : Rendement en HE (en %).

M_{HE} : Masse d'HE extraite (en g).

M_S : Masse de la matière végétale sèche (en g).

5. Caractérisation de l'HE extraite

5.1. Tests organoleptiques

L'aspect, la couleur et l'odeur de l'HE ont été déterminés.

5.2. Paramètres physicochimiques

- **Indice d'acide**

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

Dans un erlenmeyer on dissous 1g d'HE dans 5 ml d'éthanol à 96%, on ajoute 2 gouttes de solution de phénolphaléine, comme indicateur coloré. Après dissolution, on titre par une solution d'hydroxyde de potassium (KOH) 0.1M jusqu'à ce que la solution vire au rose.

L'indice d'acide I_A est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$I_A = \frac{5.61.VN}{m} \quad (4)$$

N : normalité de la solution de KOH.

V : volume de KOH utilisé pour le titrage (en ml).

m: masse de la prise d'essai.

5.61 : Le nombre de mg de potasse équivalent à 1 ml de soude à 0.1 N.

- **Densité relative**

Par définition, la densité de l'HE représente le rapport entre la masse d'un certain volume de cette huile et la masse du même volume d'eau distillée pris à la même température. La densité de l'huile est calculée à partir de l'équation (5) suivante :

$$d_{20}^{20} = \frac{m_1}{m_2} \quad (5)$$

m_1 : masse de 1ml d'HE (en g).

m_2 : masse de 1ml d'eau (en g)

La détermination de la densité de l'HE a été effectuée à l'aide d'une éprouvette de capacité de 5mL. Le volume prélevé est de 1ml pour l'huile, ainsi que pour l'eau.

- **Indice de réfraction**

L'indice de réfraction d'un milieu rapporté à l'air est égal au rapport du sinus de l'angle d'incidence d'un rayon lumineux dans l'air au sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré (HE).

Sauf indication contraire, l'indice de réfraction est déterminé à $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$ et la longueur d'onde spécifiée est rapportée à la raie D du sodium ($\lambda = 589,3 \text{ nm}$) ; le symbole est alors n_D^{20} .

L'indice de réfraction a été mesuré à l'aide d'un réfractomètre d'Abbe.

6. Analyse CGMS de l'HE extraite des feuilles de Lavande

L'analyse des échantillons d'HE des feuilles a été effectuée par injection de $1\mu\text{l}$ d'extrait (après dilution dans de l'Hexane à raison de 1/10 v/v) dans un appareil CG-MS (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse) de marque Thermo Scientist Lab. La colonne capillaire DB-5 ms utilisée est de 30m de longueur et 0,25mm de diamètre. Le gaz vecteur utilisé est de l'Hélium avec un débit de 1,2 ml/mn. La température d'injection est de 220°C , en split système. La température initiale d'injection de la colonne est de 60 à 120°C avec un rapport de $3^\circ\text{C} / \text{mn}$ pendant 20 mn, puis 120 - 300°C avec un rapport de $15^\circ\text{C}/\text{mn}$ pendant 12 mn. Le détecteur utilisé pour cette analyse est l'ionisation électronique à 70 eV .

7. Protocol d'extraction des tanins

Une quantité de 30 g de poudre végétale (issue des feuilles ou des sommités) a été dégraissée en la laissant macérer dans 100 ml d'éther de pétrole pendant 24 h. Après filtration, le marc est récupéré alors que la chlorophylle et les lipides sont éliminés.

Le marc récupéré est ensuite repris avec 50 ml d'éther diéthylique puis filtré pour éliminer les phénols, les catéchines et l'acide oxybutyrique.

Le marc est repris une seconde fois avec 100 ml de méthanol. Il est filtré dans un ballon préalablement pesé. Le filtrat méthanolique est soumis à une évaporation sous vide pour obtenir un résidu sec. C'est un extrait pur de tanins qui sera pesé.

Le rendement en tanins est évalué à l'aide de l'équation suivante :

$$R(\%) = \frac{P1 - P2}{P3} \quad (6)$$

Avec :

P₁: masse du ballon après évaporation (en g).

P₂: masse du ballon avant évaporation (en g).

P₃: masse de la poudre végétale de départ (en g).

8. Analyse par HPLC des tanins extrait à partir des feuilles de Lavande

L'analyse a été effectuée à l'aide d'un appareil de marque Shimadzu. La phase stationnaire est constituée d'une colonne en gel de silice (C18) (phase inversée) de 125×4.6 mm. La phase mobile est un mélange ternaire eau/méthanol/acide acétique à raison de 50:47:2,5 en volume en mode isocratique. Les extraits analysés sont à des concentrations de 0,5 mg. Le volume injecté est de 20 µl. Le débit est réglé à 1 ml/min. Le détecteur est de type UV-Visible réglé à une longueur d'onde de 254 nm.

9. Tests microbiologiques

Les tests microbiologiques consistent à rechercher l'activité antibactérienne et antifongique de nos extraits (HE et les poudres de tanins) sur la croissance des microorganismes (bactéries et moisissures) selon la méthode de diffusion sur milieu gélosé (*Rota et al. 2008*).

Ces tests ont été réalisés au niveau du laboratoire de microbiologie du département biologie de la faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'UMMTO.

9.1. Souches microbiennes utilisées

Les souches utilisées dans ces tests font parties de quatre groupes de microorganismes pathogènes et contaminants. Elles proviennent du laboratoire microbiologique du département biologie de la faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'UMMTO. Elles sont regroupées dans le tableau 4.

Tableau 4-Liste des souches microbiennes utilisées

Nom de lasouche	Référence	Gram	Famille
S.aureus	ATTC 25923	G ⁺	Micrococaceae
E.Coli	ATTC 25922	G ⁻	Enterobacteriaceae
P. aeruginosa	ATTC 27853	G ⁻	Pseudomonaceae
A. niger	---		Trichocomaceae

9.2. Milieux de culture utilisés

Selon les méthodes et les souches utilisées nous avons choisi les milieux de cultures suivants (*Rota et al.2008*):

- Gélose Muller –Hinton pour les bactéries.
- Gélose Nutritive pour les bactéries.
- Gélose Saburraux Base pour les moisissures.

La composition et les caractéristiques des milieux de culture sont rappelées en Annexe.

Par manque de temps, les tests microbiologiques n'ont été effectués que pour l'HE et les tanins extraits des feuilles uniquement.

9.3. Tests microbiologiques sur l'HE

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne et antifongique de l'HE nous avons utilisé la méthode de l'aromatogramme. Et pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'HE nous avons adopté la méthode décrite par (*Mebarki, 2010*).

9.3.1. Préparation de l'inoculum bactérien

A partir d'une culture pure et jeune de 18-24h pour les bactéries et de 48h pour les moisissures, et sur un milieu gélosé adéquat, des suspensions bactériennes dans l'eau physiologique à 0,9% ont été réalisées à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/ml. Cette dernière est obtenue à l'aide d'un spectrophotomètre en mesurant sa densité optique à 620nm. Cette concentration correspond à une DO située entre 0,08-0,1. L'ensemencement doit se faire dans les 15mn qui suivent la préparation de l'inoculum (*OMS, 2008*).

9.3.2. Diffusion sur le milieu gélosé

En premier lieu les deux milieux ont été fondus au bain marie à 95°C puis refroidis à l'air libre jusqu'à 45°C. Ensuite les Géloses M-Het SAB sont versées dans des boîtes pétries de diamètre 90 mm à raison de 15 ml par boîte. Après avoir fermé les boîtes de pétri on laisse les géloses séchées avant l'emploi (OMS, 2008).

Un écouvillon stérile est utilisé pour l'ensemencement en prenant soin de suivre toutes les étapes nécessaires et adéquates à la mise en place des différentes souches microbiennes (OMS, 2008). Les détails supplémentaires sont fournis en Annexe.

A l'aide d'une pince stérile, on prélève des disques en papier buvard de 6 mm de diamètre qu'on imbibe d'HE et que l'on dépose sur les boîtes pétries déjà ensemencées. Après 20 mn, on incube les boîtes à l'étuve réglée à 25°C pendant 48h pour les champignons et à 37°C pendant 24h pour les bactéries.

La lecture se fait par mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour des disques à l'aide d'une règle graduée.

9.3.3. Evaluation de la concentration minimale d'inhibition CMI.

Nous avons préparé les suspensions en suivant les mêmes étapes déjà décrites pour l'aromatogramme.

Dans des tubes stériles, on dilue l'HE dans le milieu M-H ou SAB additionné de Tween 80 (0,01 v/v) et maintenu en surfusion, de façon à obtenir des concentrations finales correspondantes à 1%, 0,5%, 0,2%, 0,1%, 0,05%, 0,03%, 0,02% (Mebarki, 2010). Les mélanges de chaque dilution sont immédiatement versés dans les boîtes pétries à raison de 15ml pour chaque boîte, qu'on laisse solidifiées sur la paillasse.

A l'aide d'une pince stérile, on dépose des disques en papier buvard stériles, imbibés de la suspension bactérienne ou fongique sur les boîtes correspondantes. Ces dernières sont incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour les moisissures.

La lecture des résultats se fait par observation de la croissance ou de l'inhibition des microorganismes testés.

La CMI est définie comme étant la plus petite concentration du produit pour laquelle aucune croissance n'est visible à l'œil nu (AFNOR, 2000).

Nous avons déterminé la CMI uniquement pour l'HE de *Lavandula stoechas* de la région de Tikobain qui a présenté une activité antimicrobienne importante vis-à-vis des souches utilisés.

9.3.4. Détermination de la nature de l'activité antimicrobienne de l'HE

Le principe consiste à déterminer si l'activité antimicrobienne de l'HE de *Lavandula. stoechas* est bactéricide ou bactériostatique ; contre les bactéries ; et fongicides ou fongistatique contre les champignons.

La méthode suivie est celle décrite par (*Kouamé et al. 2008*) qui consiste à transférer les disques des boîtes ne présentant pas de croissance microbienne, dans des boîtes de M-H (nature) et après incubation de 24h pour les bactéries et 48h pour les levures.

La lecture se fait en calculant le rapport CMB /CMI et CMF /CMI tel que :

- ✓ CMB/CMI ou CMF /CMI < 4 l'activité est bactéricide ou fongicide.
- ✓ CMB/CMI ou CMF/CMI \geq 4 l'activité est bactériostatique ou fongistatique.

9.4. Tests microbiologiques sur les tanins

Nous avons préparé des suspensions (bactérienne et fongique) de la même façon que celle décrite dans le cas de l'aromatogramme pour l'HE.

L'activité antimicrobienne des tanins a été testée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé (*Osato, 2009 ; Liao et al. 2010*).

Des disques stériles de papier Whatman de 6 mm de diamètre sont plongés dans des solutions de tanins à différentes concentrations (1, 5, 10,15 et 20 g/l).

Les poudres de tanins sont diluées dans le DMSO. Les disques imbibés par les différentes concentrations sont placés sur la gélose qui est préalablement inoculée avec les souches. Les boîtes sont ensuite incubées à une température de 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour les moisissures.

CHAPITRE V

Résultats et Discussion

1. Taux d'humidité

Les taux moyens d'humidité évalués pour les feuilles et les sommités fleuries de la *Lavandula stoechas* dépassent 50%. Ceci signifie que plus de la moitié du poids de la plante que nous avons utilisé est constitué d'eau.

Les valeurs moyennes en taux d'humidité (Eau) enregistrées pour les feuilles et les sommités fleuris de la *Lavandulas* de Tikobain et de Beni Douala sont regroupées dans le tableau 5.

Tableau 5-Teneur en eau de nos échantillons de *Lavandula stoechas*.

Région	Tikobain	Beni douala
Teneur	Eau	Eau
Feuilles	58%	61%
Sommités	68%	65%

Les résultats rassemblés dans le tableau4 révèlent un petit écart d'environ 3% entre les taux d'humidité enregistrés pour les feuilles et les sommités des deux régions. Ce petit écart peut être lié à la différence d'altitude entre les deux régions qui est d'environ 450m.

2. Rendement en HE

La figure 6 rassemble les résultats obtenus pour le rendement d'extraction en huile essentielle (HE) des feuilles et des sommités de la *Lavandula stoechas* des deux régions et pour les différentes périodes de récolte.

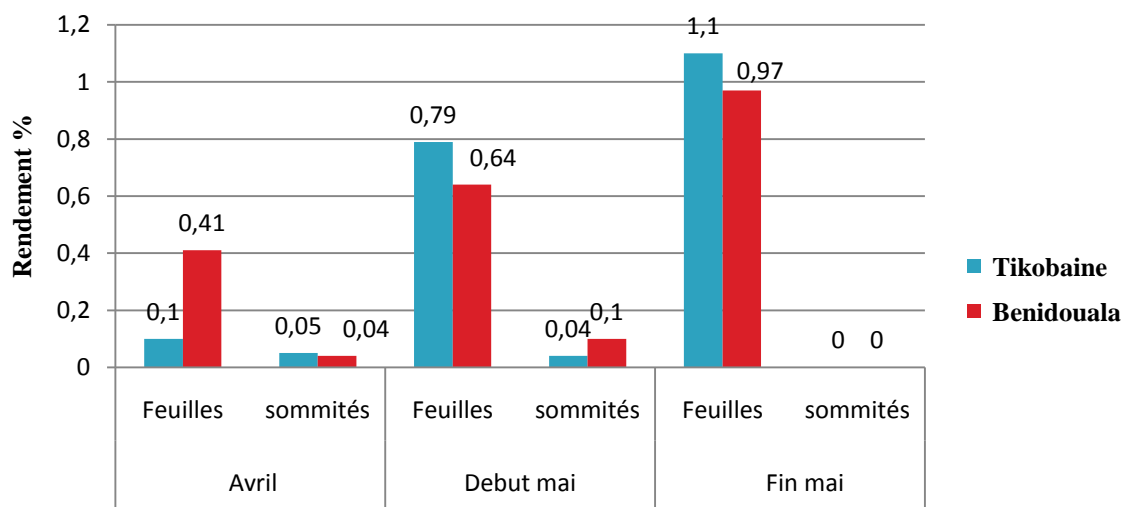


Figure 6 -Rendement en HE de *Lavandula stoechas*

Le rendement en huile essentielle de *Lavandula Stoechas* varie selon la région et la période de récolte ainsi que la nature de l'organe ciblé (feuilles ou sommités).

Pour la période de fin Mai ; il semble que le rendement en HE de Tikobain est plus élevé que celui de Béni douala. Ces rendements sont faibles pour les deux parties de la plante étudiée comparativement à ceux avancés dans la littérature (*Mohammedi, 2006 ; Benabdelkader, 2012*).

Ces différences dans les rendements en HE peuvent être dues à plusieurs facteurs notamment la maturité de la plante, l'interaction avec l'environnement (type de climat, sol), la période de la récolte.

3. Tests d'identification d'HE Extraite des feuilles

3.1. Caractères organoleptiques

L'HE de *Lavandula Stoechas* est un liquide visqueux, de couleur jaune, limpide d'odeur très intense, entêtante et camphrée.

3.2. Paramètres physicochimiques

Nous regroupons dans le tableau 6 quelques résultats obtenus pour les paramètres physico-chimiques de notre HE, comparés à ceux de la littérature.

Tableau 6-Propriétés physico-chimiques de l'HE de *Lavandula stoechas*

Paramètres physico-chimiques	Tikobain	Beni doula	Tlemcen
Indice d'acide	3.37	3.37	3.74
Indice de réfraction	1.488	1.486	1.468
Densité	0.874	0.881	0.813

Les résultats obtenus pour notre HE des deux régions, Tikobain et Beni douala, semblent très comparatifs à ceux annoncés dans la littérature (*Mohammedi, 2006*).

4. Composition chimique de l'HE

L'analyse par CGM a révélé la présence de plusieurs molécules actives dans l'HE extraite des feuilles de la *Lavandula Stoechas*. Nous regroupons dans le tableau 7 la liste des principaux composés identifiés par CGMS.

Tableau 7-Composition chimique de l'HE des feuilles de *Lavundula Stoechas* déterminée par CGMS

Nom du composé	Tr (min)	Tr (min)		Composition
		Beni douala	Tikobain	
Eucalyptol	7.6	7.59	7.55	monoterpène
L-Fenchone	9.48	9.49	9.48	monoterpène
Camphre	11.57	11.59	11.57	monoterpène
Endoborneol	12.45	12.42	12.45	monoterpène
Bornylacetate	17.31	17.29	17.31	monoterpène
Myrtenyl acetate	18.85	18.95	18.96	monoterpène
n-pentadecane	23.2	23.19	23.20	----
Viridiflorol	24.42	24.41	24.42	sesquiterpènes
Ledol	24.42	24.41	24.42	sesquiterpènes
Globulol	24.55	24.55		sesquiterpènes
6-Isopropenyl-4,8a-dimethyl-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydronaphthalene-2,3-diol	26,72		26,72	----
6-(1,3-Dimethyl-butyl-1,3-dienyl)-1,5,5-trimethyl-7-oxa-bicyclo[4.1.0]hept-2-ene	26.66	26.66	26.66	----

D'après résultats regroupés dans le tableau 7, nous constatons que l'HE extraite des feuilles de *Lavandula Stoechas* est très riche en monoterpènes. En effet, beaucoup de travaux ont révélé la prédominance des monoterpènes dans l'HE de *L. Stoechas* (*Messara, 2012 ; Mahammedi, 2006*).

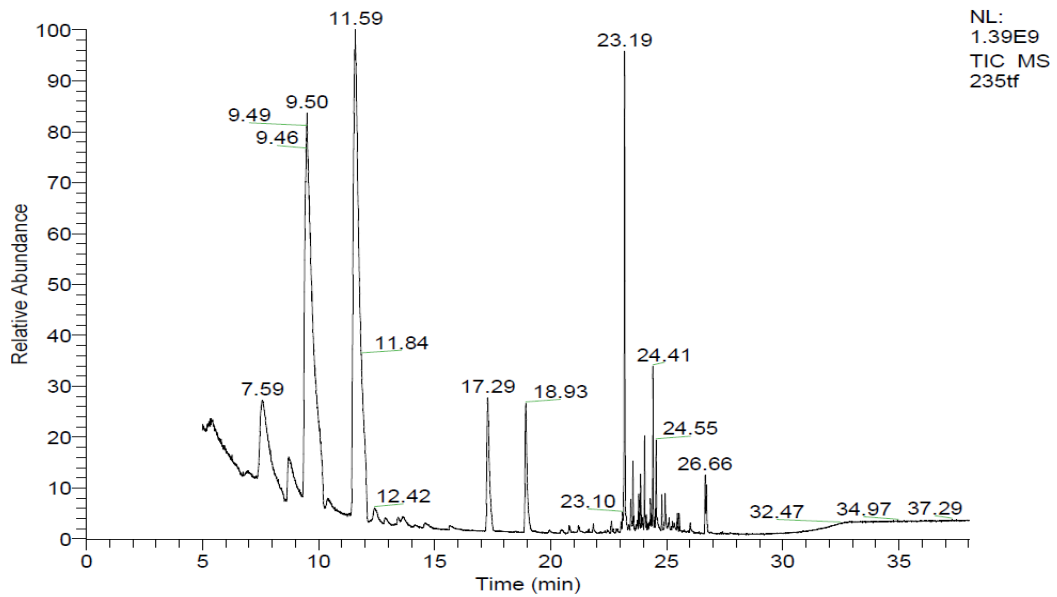


Figure 7-Chromatogramme de l'HE de *Lavandula Stoechas* de la région Beni douala

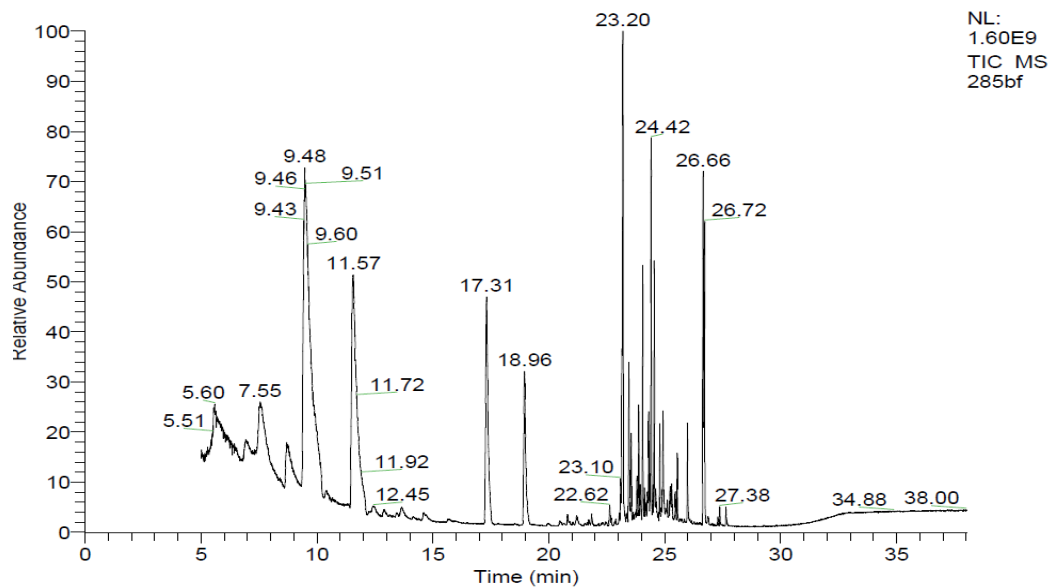


Figure 8-Chromatogramme de l'HE de *Lavandula Stoechas* de la région Tikobain

5. Rendement d'extraction des tanins

Les résultats de rendement en tanins extrait de *L.stoechas* des deux régions sont présentés sur la figure9.

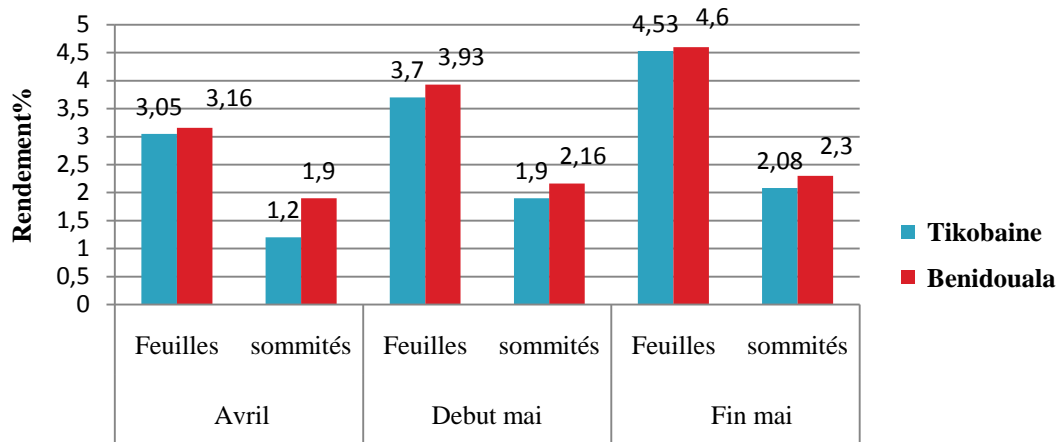


Figure 9-Rendement en tanins extrait de *Lavandula stoechas*

Les résultats de rendement en tanins de l'espèce étudiée dépendent de l'organe étudié ainsi que la maturité de la plante. Les rendements en tanins des feuilles sont plus élevés que ceux obtenues pour les sommités fleuries. Ces variations sont probablement liés à la maturité de la plante, régions de la récolte ainsi que le protocole d'extraction (*Ferreira et al. 2004 ;Tiemann et al.2010 ;Panamgama, 2007*).

6. Résultats de l'analyse HPLC des extraits de tanins

L'analyse HPLC effectuée sur les échantillons de tanins extraits des feuilles et des sommités des deux régions a permis d'identifier la présence de l'acide gallique.

Les résultats sont regroupés dans le tableau 8 et présentés par les chromatogrammes du standard (Figure10) et de nos échantillons (Figures 11, 12 , 13 et 14).

Tableau8-Temps de retentions du standard et des échantillons

	Standard (acide gallique)	Ech1:feuilles (Beni douala)	Ech2:feuilles (Tikobain)	Ech3:sommités (Beni douala)	Ech4:sommités (Tikobain)
Temps de rétention mn	1,871	1 ,806	1,801	1,796	1,796

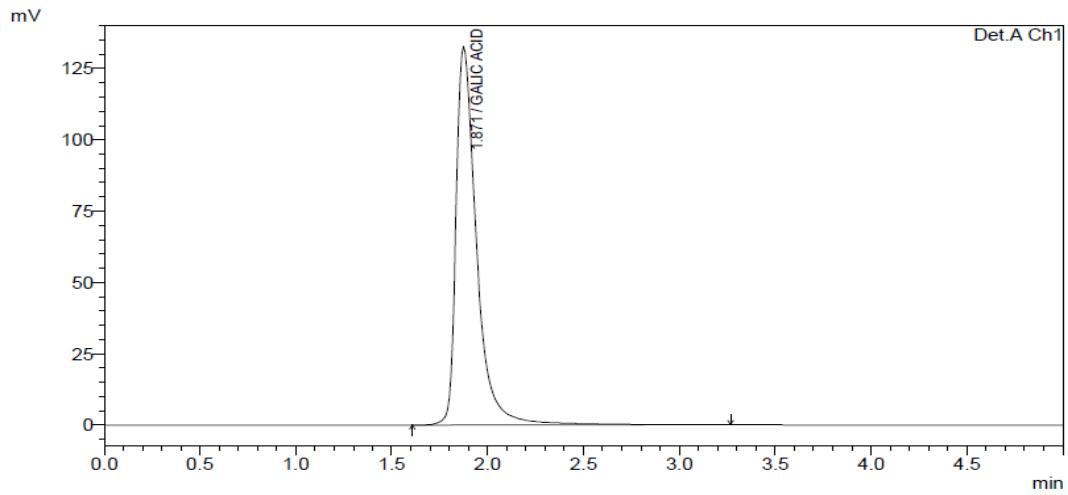


Figure 10-Chromatogramme de l'acide gallique

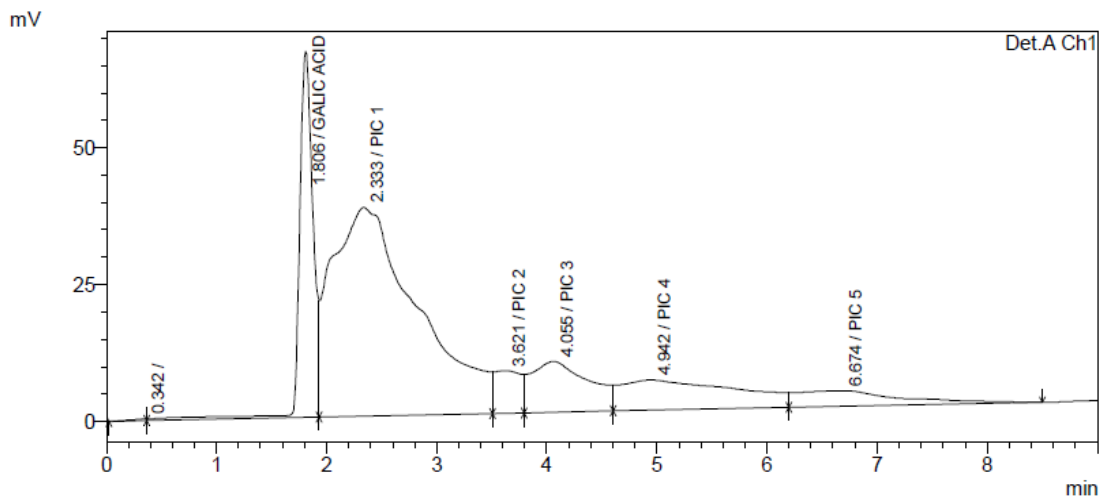


Figure 11-Profil chromatographique de l'Ech1

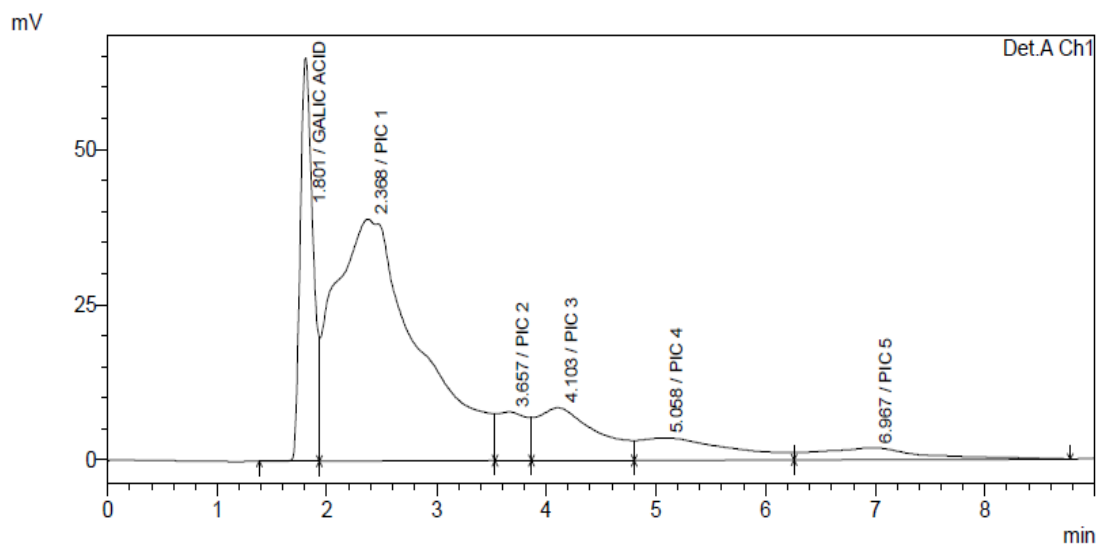


Figure12-Profil chromatographique l'Ech2

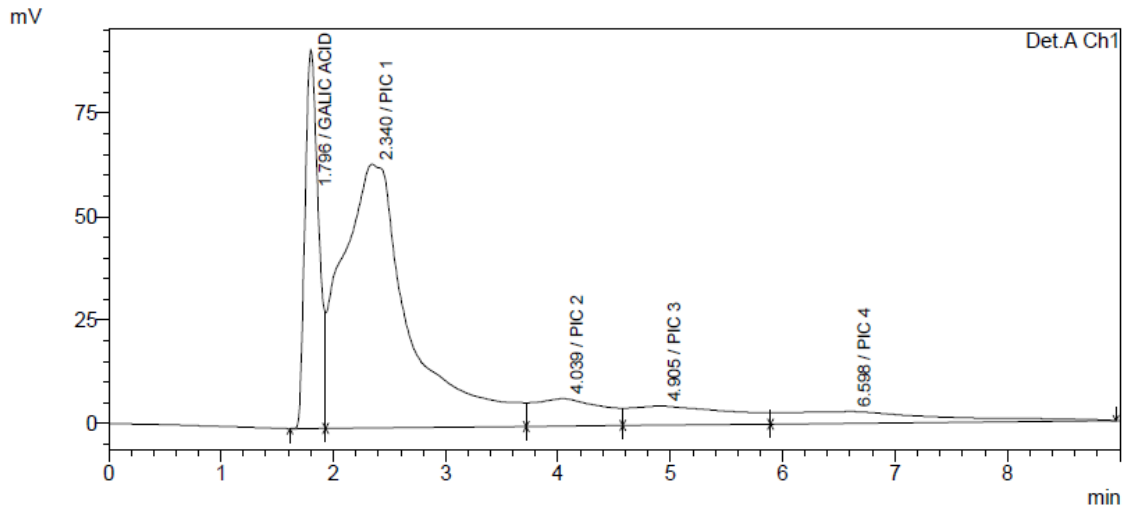


Figure 13-Profil chromatographique de l'Ech3

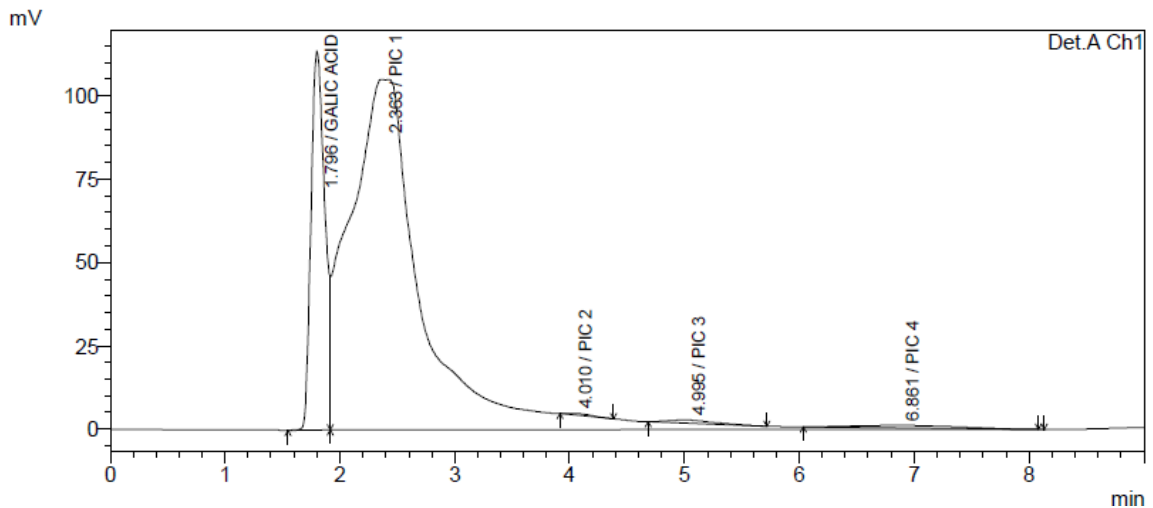


Figure 14- Profil chromatographique de l'Ech4

7. Résultats des tests microbiologiques

7.1. Activité antimicrobienne de L'HE

Les résultats de l'Activité antimicrobienne sont regroupés dans le tableau 8. D'après l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne donnée par (*Mutai et al.2009*), on peut classer les diamètres des zones d'inhibitions (D) de la croissance microbienne obtenus pour notre HE en deux classes :

- Très fortement inhibitrice : $D \geq 30\text{mm}$.
- Fortement inhibitrice : $21 \text{ mm} \leq D \leq 29\text{mm}$.

Tableau 9-Résultats obtenus avec l’HE des feuilles recueillies en fin Mai

Souches		Tikobain	Benidouala
Gram +	<i>S. aureus</i>	70 mm	40 mm
Gram -	<i>E. coli</i>	68 mm	38 mm
	<i>P.aeruginosa</i>	40 mm	27 mm
Champignon	<i>A.niger</i>	26 mm	25 mm

Les résultats présentés dans le tableau 9, montrent que l’HE de la *Lavandula Stoechas* de la région Tikobain est la plus active sur toutes les souches bactériennes utilisées par rapport à celle de la région Beni douala.

Les souches se comportent différemment avec des diamètres compris entre (26 à 70) et (25 à 40) mm. Donc notre l’HE possède un large spectre d’activité antimicrobienne sur les bactéries à Gram+ et Gram-, ainsi que sur le champignon *A.niger*(Figures 15 et 16)

Il est important de signaler que la bactérie à Gram+ est plus sensible à l’HE que les bactéries à Gram-. Selon *Kalemba et Kunicka (2003)*, la sensibilité d’un microorganisme aux HEs dépend de la propriété de l’HE et du microorganisme lui-même.

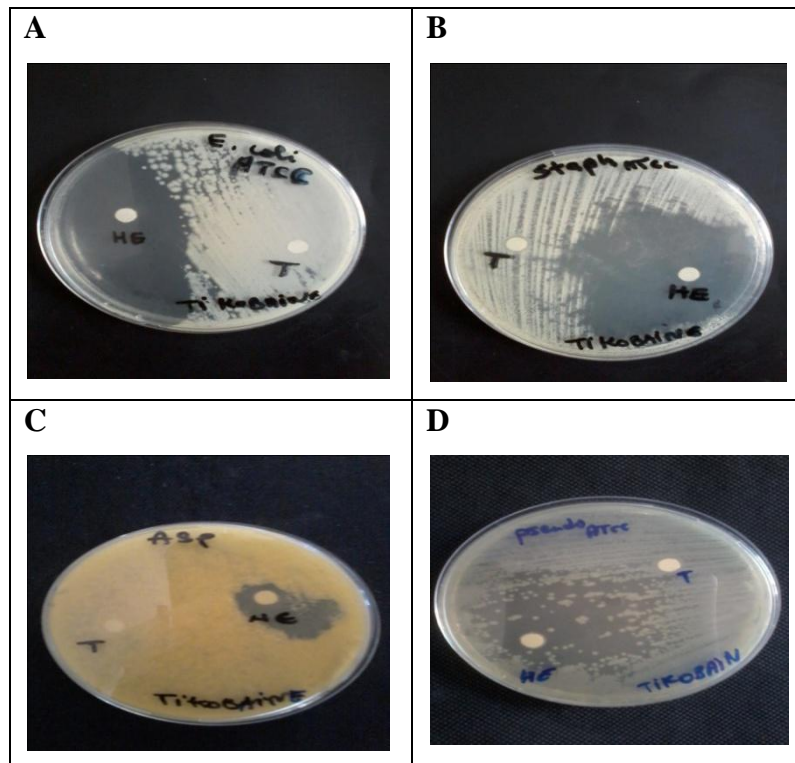


Figure 15-Activité antibactérienne et antifongique de l'HE de la région de Tikobain sur A : *E.coli* ,B :*S.aureus*, C: *A.niger*, D :*P.Aeruginosa*

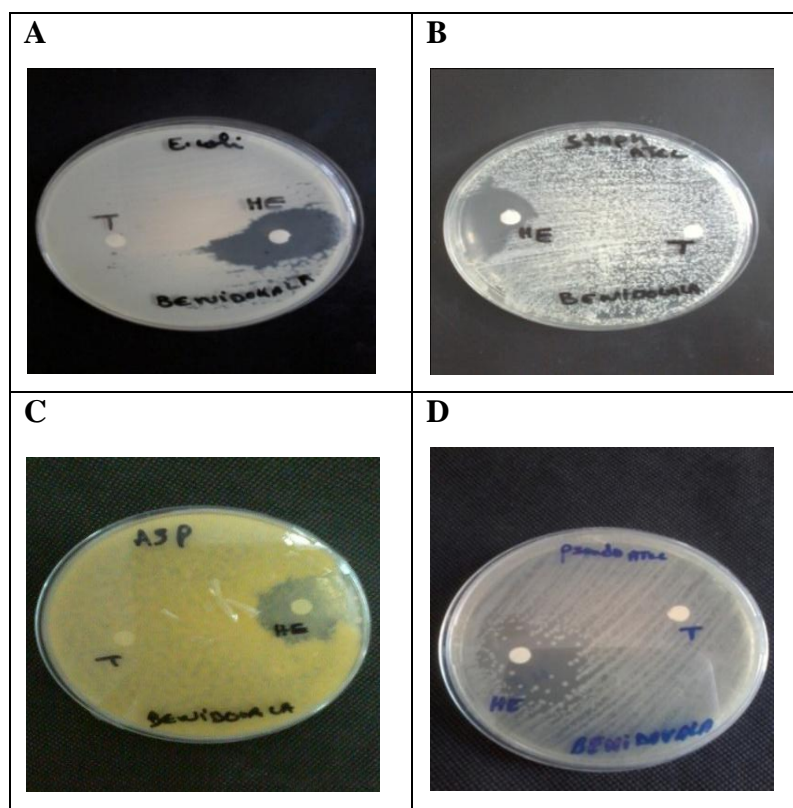


Figure 16-Activité antibactérienne et antifongique de l'HE de la région de Benidoulasur

A : *E.coli* , :*S.aureus*, *CA.niger*, D:*P.Aeruginosa*

La principale caractéristique des molécules présentes dans les HEs est leur hydrophobicité et leur capacité d'augmenter la perméabilité membranaire ce qui provoque une déstabilisation de la structure des bactéries et leur destruction (**Lambert et al. 2001**).

Selon **Burt (2004)** la résistance des bactéries à Gram- aux HEs est liée en partie à la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces microorganismes qui contient une double membrane qui est riche en lipo-polysaccharides (LPS) la rendant plus hydrophile, ce qui empêchent les terpènes hydrophobes d'y adhérer, et pourrait fonctionner comme barrière efficace contre n'importe quelle biomolécule entrant d'autre part. (**Inouye et al. , 2001**).

Comparativement aux résultats avancés dans la littérature (**Mohammedi , 2006**) , nous constatons que notre HE présente une forte activité antimicrobienne par rapport à l'HE de *Lavandula stoechas* de la région de Tlemcen qui a présenté une certaine activité modérée dont les diamètres des zones d'inhibition n'ont pas dépassé les 20mm.

7.2. Détermination de la CMI

Les résultats de l'activité antimicrobienne selon la méthode de contact direct sont consignés dans le tableau 10 et présentés par la figure 17.

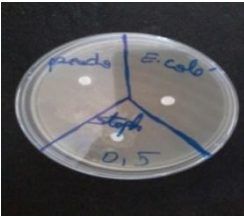






Tableau 10-Activité antimicrobienne de l'HE de la région de Tikobain

Dilution%		1	0.5	0.2	0.1	0.05	0.03	0.02	T
Concentration de l'HE dans le milieu (mg/ml)		8.74	4.37	1.75	0.87	0.44	0.26	0.17	0
Gram +	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
Gram -	<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	+	+	+
	<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
Champignon	<i>A.niger</i>	-	-	-	-	+	+	+	+

(-): absence de croissance

(+): présence de croissance

L'HE de *L.Stoechas* de la région Tikobain s'est avérée active sur les souches étudiées même à de très faibles concentrations pour certaine, malgré l'ajout de Tween 80 qui abaisse considérablement l'activité antimicrobienne des HEs (*Bekhechi et al.2008*).

			
AAM de l'HE à 0.5% sur E.coli, S.aureus et P.aeruginosa	AAM de l'HE à 0.2% sur E.coli, S.aureus et P.aeruginosa	AAM de l'HE à 0.1% sur E.coli, S.aureus et P.aeruginosa	AAM de l'HE à 0.05% sur E.coli, S.aureus et P.aeruginosa
			
AAM de l'HE à 0.03% sur E.coli, S.aureus et P.aeruginosa	AAM de l'HE à 0.02% sur E.coli, S.aureus et P.aeruginosa	AAM de l'HE à 0.1% sur A.niger	

Figures 17-Photos des boîtes de pétri montrant l'activité antimicrobienne (AAM) de l'HE sur les bactéries et les champignons utilisés.

L'E. Coli s'est montré le moins résistant, car il s'est inhibé à une concentration minimale de 0,05%. Tandis que *P. aeruginosa*, *S.aureus* et *A. niger* sont plus résistants, car ils se sont inhibés à une concentration de 0.1%. En se référant à la littérature, l'activité antimicrobienne de l'HE de *Lavandula Stoechas* est considérée comme forte lorsque les valeurs de CMI sont comprises entre 0.05 mg/ml et 0.50 mg/ml (*Benabdelkader, 2012*).

7.3 Nature de l'activité antimicrobienne

Les subcultures réalisées suite à l'obtention des CMI ont permis d'observer les concentrations minimales bactéricides CMB sur les 3 bactéries et les concentrations fongicides CMF sur le champignon et calculer le rapport CMB/CMI permettant de savoir si la substance est bactéricide ou fongicide .

Les résultats sont regroupés sur le tableau11 et présentés par la figure 18.

Tableau 11-Rapport CMB/CMI et CMF/ CMI

Souche	CMB/CMI et CMF/ CMI	Interprétation
<i>E.coli</i>	1	Bactéricide
<i>P.aeruginosa</i>	1	Bactéricide
<i>S.aureus</i>	1	Bactéricide
<i>A.niger</i>	1	Fongicide

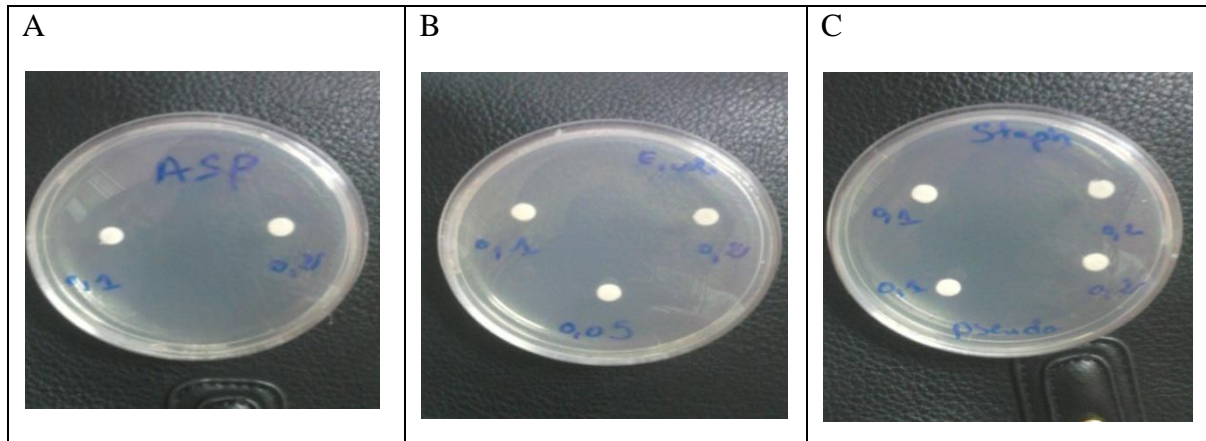


Figure 18- Photos montrant la nature de l’AAM des bactéries et champignon utilisées

A: *A. niger*, B: *E. coli*, C: *S. aureus* et *P. aeruginosa*

Des résultats présentés dans le tableau 11 et la figure 18, nous pouvons confirmer que L’HE de *Lavandula stoechas* a un pouvoir bactéricide et fongicide sur les bactéries et le champignon étudiés. Ce pouvoir bactéricide est dû sans doute à la présence de composés à activité antimicrobienne dans cette huile.

7.4. Pouvoir Antimicrobien des tanins

L’activité antimicrobienne des extraits de tanins de *Lavandula stoechas* a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, en mesurant les diamètres des zones d’inhibition de la croissance microbienne.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 12 et présentés par les figures 17 et 18.

Tableau-12 : Valeur des diamètres de la zone d'inhibition des tanins pour différentes concentrations

Souches		D (mm)									
		1g/l		5g/l		10g/l		15g/l		20g/l	
		BD	TK	BD	TK	BD	TK	BD	TK	BD	TK
Gram +	<i>S.aureus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gram -	<i>E.coli</i>	7	7	9	14	11	9	11	10	7	13
	<i>P.aeruginosa</i>	0	7	0	7	9	8	0	0	0	0
Champignon	<i>A.niger</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Les résultats rassemblés dans le tableau 11 et présentés par les figures 19 et 20, montrent que les tanins de la *Lavandula stoechas* des deux régions possèdent une activité antibactérienne sur les bactéries à Gram-. Contrairement aux bactéries à Gram+ et le champignon, ils ne présentent aucune activité.

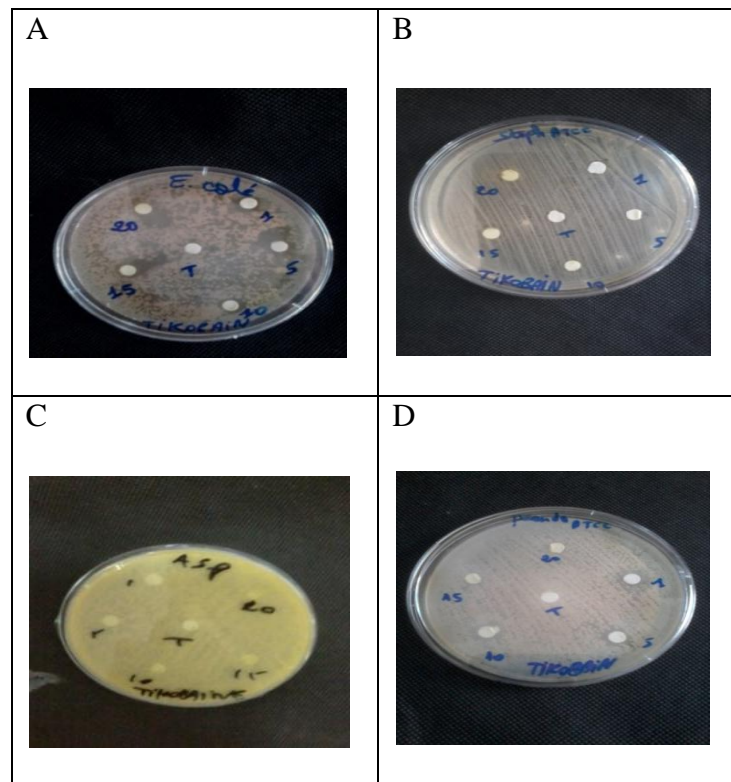


Figure 19-Activité antibactérienne et antifongique des extraits de tanin de la région de Tikobain sur A : *E. coli*, B: *S.aureus*, C: *A.,niger*, D: *P.aeruginosa*

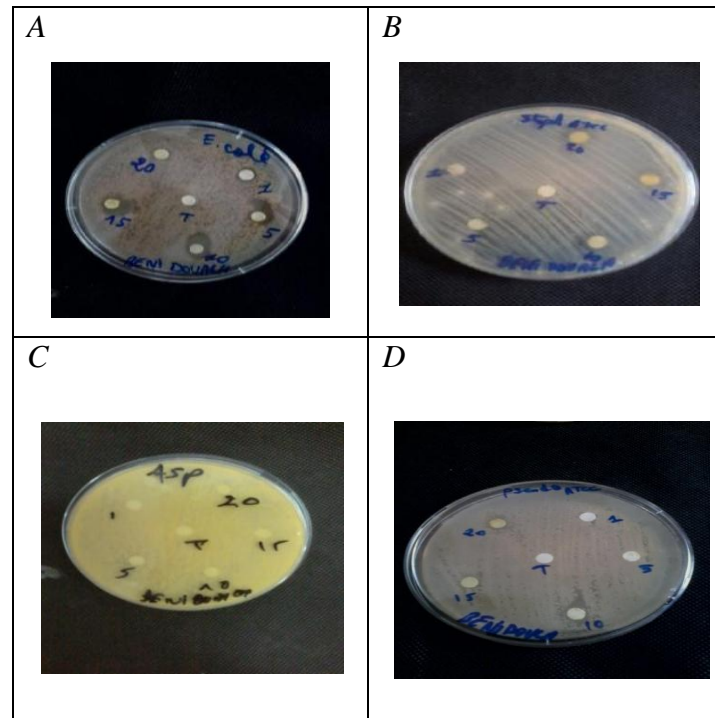


Figure 20-Activité antibactérienne et antifongique de l'HE de la région de Beni doualassur

A : *E.coli* ,B :*S.aureus*, C: *A.niger*, D :*P.Aeruginosa*

Kolodzie J et al. (1999) ont montré que les tanins présentent une activité antibactérienne sur les bactéries à Gram- que sur les bactéries à Gram+. Ceci grâce à leurs capacités de se fixer sur la membrane des bactéries à Gram- qui sont riches en lipopolysaccharides

Les tanins peuvent induire une fuite d'ions potassium au niveau de la membrane des bactéries à Gram- et ainsi causer des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur destruction (*Rhayour, 2002*).

Conclusion générale et perspectives

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs.

L'étude des propriétés microbiologiques a porté sur la *Lavandula Stoechas* poussant spontanément au niveau de Tikobain et Béni Douala.

Les feuilles et les sommités fleuries de la plante étudiée présentent une teneur en eau assez importante d'où l'intérêt de l'opération de séchage avant toute extraction afin d'obtenir des rendements assez rentables en huile essentielle ou en tanins.

La détermination des rendements d'extraction en huile essentielle, extraite par hydrodistillation, ainsi que des extraits de tanins pour les différentes périodes de récolte a révélé des teneurs variables.

L'analyse par CG-MS de l'huile essentielle a révélé sa richesse en monoterpènes. L'analyse par HPLC des extraits de tanin nous a révèlé la présence de l'acide gallique.

Les tests microbiologiques effectués sur l'huile essentielle de la *Lavandula Stoechas* ont montré que cette dernière possède un large spectre d'activité antimicrobienne sur les bactéries à Gram- et Gram+ ainsi qu'une activité antifongique sur l'*A.niger*.

L'huile essentielle de la région de Tikobain semble posséder une meilleure activité sur les souches bactériennes étudiées comparée à celle de la région de Beni douala.

L'étude du pouvoir antibactérien des tanins extraits des feuilles a permis de visualiser une action inhibitrice sur les bactéries à Gram-.

Les résultats présentés dans ce modeste travail ne constituent qu'une étape préliminaire dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives. Des essais d'isolation de substances biologiquement actives à partir des extraits de la *Lavandula Stoechas* pourront constituer un créneau très prometteur à l'avenir pour les industries pharmaceutiques et cosmétiques en Algérie.

Références bibliographiques

- Aouadi, (1989).La végétation de l'Algérie Nord orientale .Histoire des influences anthropiques et cartographiques à 1 /200. 000. Thèse de Doct.Univ.J.Fournier.Lab.Eco.Végétale.109 p.
- Allaby, M. (1992). The Concise Oxford Dictionary of Botany, Oxford University Press.
- AFNOR, (2000).Association Française de Normalisation, Recueil de normes Française Huiles essentielles ». AFNOR, Paris. AFNOR NF T 75-006.
- Aganga, A., Mosase, K. (2001). Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia Acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*, 91,107-113.
- Anton, R., Lobstein, A. (2005). Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Paris, p.522.
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 3ème Ed. Lavoisier. Paris, 199-388.
- Burt. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potentiel applications in foods-a review *International. J. Food Microbiol*, 94,223-253.
- Bakkalia, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils Areview. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446–475.
- Bekhechi, C., Atik-Bekkara, F., Abdelouahid, D.E. (2008).composition et activité des huilles essentielles d'Organum glandulous d'Algérie-Phytothérapie, 6, 153-159.

- Bourkhiss, M., M. Hnach, B. Bourkhiss, M. Ouhsine A. Chaouch., B. Satrani. (2009). Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Agrosolutions*, 20 (1), 44- 48.
- Bruneton, J. (2009) .Pharmacognosie - Photochimie, plantes médicinales. 4e éd., revue et augmentée, Paris, France : Tec & Doc. P.1288. - Éditions médicales internationales.
- Benabdelkader, T. (2012).Biodiversité, bio activité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailés, *Lavandula stoechas sensu lato*, un complexe d'espèces méditerranéenne d'intérêts pharmacologique.Thèse de doctorat. Ecole normale superieur Kouba-Alger.
- Chambon, L. (1984). La menthe : Etude génétique et recherche des critères de sélection : Mémoire de D.E.A. Université Claud Bernard- Lyon.
- Cox, S.D., Mann, C.M., Markham, J.L., Bell, H.C., Gustafson, J.F., Warmington, J.R., Wyllie, S.G. (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca Alternifolia* (tee tree oil), *Journal of Applied Microbiology*.170-175.
- Chung, K-T., Wei, C-I. (2001). Are tannins a double edged sword in biology and health? *Trends in Food Science and Technology*, 9,168-175.
- Chu C. J et Kemper, K. J. (2001). Lavender (*Lavandula spp.*). Longwood Herbai Task Force. p. 32.
- Chavan, U-D., Shahidi, F., Naczk M. (2001). Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus L.*) as affected by different solvents. *Food Chemistry*, 75,509-512.

- Carson, C.F., Rilley, T.V., Bosque, F.(2002). Antimicrobial activity of the major components of essential oil of *Malaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*. 78,264-269.
- Carvalli, J.F (2002). Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN de carbone -13 d'huile Essentielle de Madagascar. Thèse de Doctorat, Université de Corse Pascal Paoli.
- Davidson, P.M. (1997). Methods for testing the efficacy of food antimicrobial, *Food Technology*, p: 148-155.
- Dob, T., Dahmane, D., Chelghoum, C. (2006). Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus Algerian* is Boiss et Reuter-*The International Journal Of Aromatherapy*, 16, 95-100.
- Esiyok, D et al. (2004). Herbs as a Food Source in Turkey. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 5, 334-339.
- Ferres, F., Barberam, F. A.T., Tomas, F. (1986). Flavonoids from *Lavandula dentate*. *Fitoterapia*, 57, 199-200.
- Fouche, G., Horak, M. R., Wadiwala, E ., Maharaj, V.G. (2002). Investigation of the commercial potential of *Lippia javanica*. Poster presented at the 36th Convention of the South African Chemical Institute, 1-5 July, Port Elizabeth.
- Ferreira E.C. ;Noguera A.R.A ; Souza R.B ; Batista L.A.R. (2004).Effet of draying method and length of storage on tannin and total phenol concentrations in pigeon pea seeds, *Food Chemistry*, 86, 17-23.
- Fiorucci, S., (2006). thèse de doctorat Activités biologiques de composés de la Famille de flavonoïdes: approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Nice, p.211.

- Festy, D., Dupin, C. (2012). La lavande, c'est malin : Huile essentielle, fraîche ou séchée, découvrez les incroyables vertus de cette fleur, pour la beauté, la santé, la maison. Ed. Leduc.
- Falcao, L .M., Araujo, M.E.(2012). Tannins characterization in historic leathers by complementary analytical techniques ATR-FTIR, UV-Vis and chemical tests, Journal of Cultural Heritage.
- Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M., Orecchioni, A-M. (2001).Le préparateur en pharmacie .Dossier 2.Editions TEC & DOC Paris.p.275.
- Giray, E. S., Kırıcı, S. et al. (2008). Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandula stoechas*. Talanta, 74, 930-935.
- Hussain, A. (2004). Characterization and biological activities of essential oils of some species of lamiaceae. Thèse de doctorat. Université d'agriculture Faisalabad, Pakistan.
- Hoffmann, E et Vincent S (2005).Spectrométrie de masse. 3e édition, BUNOD.
- Haslam, E. (2007) .Vegetable tannins –Lessons of photochemical lifetime, phytochemistry, ,68,2713-2723 .
- <http://medetirraanee.revues.org/5264>.
- Inouye, S., Takizawa, T., Yamaguchi, H. (2001) .activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract Antibacterial pathogens by gaseous contact. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 47, 565-573.

- Igor Passi, L. B. (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides* Lam. (Rutaceae). Thèse Pharmacie, Bamako ; p.133 .
- Juliani, H.R., Karoch, A.R., Juliani, H.R., Trippi, V. S., Zygadlo, J. A. (2002). Intraspecific variation in the leaf oils of *Lippia junelliana* (Mold.) Tronc. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30,163-170.
- Kurita, N., Miyaji, M., Kurane, R., Takahara, Y., Ichimura, K. (1979). Antimicrobial activity of dalmatian sage oil from different regions of the Yugoslav Adriatic coast. *Agric Biol. Chem.* 43, (11), 2365.
- Kurita, N., Miyaji, M., Kurane, R., Takahara, Y. (1981). Antifungal activity of component of essential oil. *Agric Biol. Chem.*, 45, (4), 945.
- KOLODZIE, J., KAYSER, O., LATTE, K.P., FERREIRA, D. (1999). Evaluation of the antimicrobial potency of tannins and related compounds using the micro dilution both methods. *Planta medica*, 65,444-446.
- Khanbaba, K., Ree T.R. (2001). Tannins: Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry*, 18:641-649.
- Kalemba Det Kunicka A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry* .
- Kouamé Raphaël Oussou, Séri Yomou, Jean Brice Boti, Kouadio Nathalie Guessen Coffi Kanko, Coffy Ah ibo, Joseph Casanova. (2008). Etude Chimique et Activité Antidiarrhéique des Huiles Essentielles de Deux Plantes Aromatiques de la Pharmacopée Ivoirienne. *Européen Journal of Scientific Research*, 24 ,1, 94-103.
- Lawrence, B.M. (1996). Progress in essential oils. *Perfumer & Flavorist*, 21, 55-68.

- Latte, LP, Kolodziej H.(2000). Antifungal effects of hydrolysable tannins and related compounds on dermatophytes, mould fungi and yeasts. *Naturforsch* 55(5-6), 467-72
- Lambert RJ, Skandamis PN, Coote PJ, & Nychas GJ. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and caracole. *J. Appl. Microbiol.*
- -Lis-balchin, M. (2002). *Lavender, the genus Lavadula*. London & New York: Taylor and Francis, p.268.
- Lahlou, M. (2004) *Methods to Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential Oils*. *Phytother. Res.* 18: 435-448.
- Liao CH, Lai CC, Hsu MS, Chu FY, Wu MY, Huang YT, Hsueh PR. (2010).Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates determined by the agar dilution, disk diffusion and E test methods: comparison of results using GC agar and chocolate agar. *Int. J. Antimicrobial. Agents*, 35 (5): 457-60.
- Mastelic, J.M., Kustrak, D. (1997). Essential oil and glycosidically bound volatiles in aromatic plants: I. Lavandin (*Lavandula hybrida reverchon*). *Acta Pharmaceutica*, 47,133-138.
- Masango, P. (2004). Cleaner production of essential oil by steam distillation. *Journal of Cleaner Production*, 13, 833-839.
- Mazauric, JP. Salmon, JM. (2005). Interactions between yeast less and tannins and related compounds on demathophytes, mould fungi and yeasts.

- Mohammedia, Z. (2006). Etude du pouvoir antibactérien et antioxydant de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de magister. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen.
- Mutaii C, BiiC, VagiasC, AbatisD, Roussi V. (2009). Antimicrobial activity of Acacia mellifera extracts and lupine triterpenes. Journal of ethno pharmacology, doi: 10.1016/j.jep.02.007.
- Mebarki, N. (2010). Extraction de l'huile essentielle de thymus fanâtes et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne. thèse de magister. University M'hamed Bougara Boumerdes.
- Mohammedi, (2012). Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Option: Substances naturelles, Activités Biologiques et Synthèses. Faculté des Sciences.
- Osman, Z.A. (2003). Valorisation des panneaux de particules à partir de déchets agricoles, de tannins d'acacia nilotica et d'adhésifs synthétiques, Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré, Nancy 1, 1-239.
- Okuda, T. (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. Phytochemistry, 66: 2012-2031.
- Osato M. Comparison of the Etest and the NCCLS-approved agar dilution method to detect metronidazole and clarithromycin resistant Helicobacter pylori. Int. J. Antimicrobial. Agents 2009, 17 (1): 39-44.
- OMS, 2008. standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 5^{ème} édition.

- Peronny, S., (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta).Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle, Discipline Eco- Ethologie .p.151.
- PIBIRI, M.C. (2006).Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle .Thèse de Doctorat .polytechnique Fédérale de Lausanne.
- PAULI, A. (2001).Antimicrobial properties of essential oil constituents. International Journal off Aromatherapy.11:126-133.
- Punyasiri, P.A., Abeysinghe, S.B, Kumar, V.(2005).Performed and induced chemical resistance of tea leaf against Exobasidium vexans infections. J Chem Agri, 31(6), 1315-24.
- Panamgama L.A.(2007).Pholiphynolic Extracts of Pinus radiata Bark and Networking Mechanisms of Additive-Accelerated polycondensate, Journal of Applied Polymer Science, 103, 2487-2493.
- Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. C.N.R.S. Paris.
- Rota, M.C., Herrera, A., Martinez, R.M., Sotomayor, J.A., Jordan, M.J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of Thymus vulgaris, Thymus zygis and Thymus hymnals essential oils- Food control, 19, 681-687.
- Rhayour K., (2002). Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur Esherichia coli, Bacillus subtilis et sur Mycobacterium plie et Mycobacterium fortuitum, Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès. Maroc.158.
- Roux (2008). Daniel , Conseil en aromathérapie, 2ème édition Pro-officina, mars .

- Skoula, M., Abidi, C., Kokkalou, E. (1996) .Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology*, 24 (3), 255-260.
- Silou, T., Malanda, M., Loubaki, L. (2004). Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* grâce à un plan factoriel complet 23 – *Journal of Food Engineering*, 65, 219-223.
- Scimeca, D., Tétou, M. (2005). *Votre santé par les huiles essentielles, Guide pratique pour prévenir et guérir tout les maux quotidien*, Ed. Alpen, p. 12-13
- Stevanovis, T., Perrin, D. (2009). *Chimie d'un bois*, 1 ère édition, Italie, presses polytechniques et universitaires romandes, CH-1015 Lausanne, p .1-241.
- Schauenberg, P., Paris, F. (2010). *Guide des plantes médicinale : Analyse, description et utilisation de 400 plantes*, Ed. Delachaux et Niestlé, p.396.
- Schauenberg, P., Paris, F. (2010). *Guide des plantes médicinale : Analyse, description et utilisation de 400 plantes*, Ed. Delachaux et Niestlé, p.396
- Telci, I., Ibrahim, D., Emine, B., Olcay, A., Oya, K. (2010). Environmental variation on aroma components of pulegone/piperitone Richs pearmint. (*Mentha spicata* L). *Industrial Crops and Products*, 32,588–592.
- Twidell, E. K., Wagner, J.J., Thiex Nancy, J. (2002). Uses a Microwave Oven determine moisture content of frages ExEx8077, p.2.
- Tiemman T.T; Franco L.H; Raminez G ; Kreuzer M ; Lazano C.E; Hess H.D.(2010).Influence of cultivation site and fertilization on the properties of condensed tannin and in voter ruminant nutrient degradation of *Calliandra Calothyrsus* , *Flimigia macrophylla* and *leucopenia laucocephala*, *Animal Feed Science and Technology*,157, 30-40.

- Upson, T.M., Grayer, R. (2000). Leaf flavonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*. *Biochem. Syst. Ecol*, 28, 991-1007.
- Vokou, D., Kokkini, S. et al. (1993). Geographic variation of Greek Oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) essential Oils. *Biochem. Syst. Ecol*. 21:287-295.
- Valnet, M. (2005).Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth International. *Journal of Food Microbiology*.85:73-81.
- Vekiari, S.A., Protopapadakis, E.F., Papadopoulou, P., Papanicolaou, D., Panou, C., Vamvakias, M. (2012). Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a lemon variety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5(1), 147-153.
- Whish, J. P. M., Williams, R. R. (1996). Effects of post harvest drying on the yield of tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*). *Journal of Essential Oil Research*, 8, 47-51.
- Yang, L., Lee, C-Y., Yen, K-Y. (2000). Induction of apoptosis by hydrolysable tannins from *Eugenia jambos* L. on human leukemia cells. *Cancer Letters*, 157: 65-75.

Glossaire

Antifongique : Se dit d'un médicament qui agit contre les infections provoquées par les champignons ou les levures parasites. Synonyme : antimycosique.

Antiseptique : se dit d'un agent, d'un médicament propre à prévenir les infections.

Anti- inflammatoire : qui fait dégonfler et diminuer l'irritation. La plus part des anti-inflammatoires sont aussi des antidouleurs.

Bactéricide : se dit d'une substance qui inhibe et tue la bactérie.

Bactériostatique : se dit d'une substance qui bloque mais ne tue pas la bactérie

Fongicide : se dit d'une substance qui inhibe et tue les levures.

Fongistatique : se dit d'une substance qui bloque mais ne tue pas les levures.

Fongique : qui se rapporte aux champignons.

Inoculum : Échantillon contenant des germes vivants, destiné à être introduit au sein d'un milieu favorable à sa multiplication, afin de l'identifier, de l'étudier ou d'en produire une quantité supérieure.

Membrane : structure biologique formée de feuilles comportant une bicouche lipidique où sont insérées diverses protéines.

Sédatif : se dit de toute substance qui agit contre la douleur, l'anxiété l'insomnie ou qui modère l'activité d'un organe.

Annexes

Annexe 1

Quelques microorganismes et leurs pathologies affections :

Les microorganismes :

Ce sont des êtres vivants microscopiques, de nature végétale (micro algues par exemple) ou animale (microbe). Les micro-organismes ne peuvent pas être vus à l'œil nu, ce qui définit leur taille, ils sont très divers : les bactéries, les virus et champignons parmi ces familles de microorganismes on citera les plus connues et celle qu'on utilisera dans notre étude :

1. Bactéries :

Les bactéries sont des êtres vivants qui appartiennent à un groupe. Ce sont des organismes cellulaires simples appelés Procaryote qui ne contiennent pas de noyaux et qui sont d'habitude trouvé en très grand nombre parce qu'ils peuvent se multiplier rapidement. Il y a beaucoup de types de bactéries qui sont toutes séparées dans différents groupes, chaque groupe ayant des propriétés uniques.

Une caractéristique importante des bactéries est la paroi cellulaire. Les bactéries peuvent être divisées en deux groupes (Gram négatif et Gram positif) basé sur la différence de la structure et de la composition chimique de la paroi cellulaire mise en évidence grâce à la coloration de Gram.

1.1. Bactéries à gram - :

Il n'y a qu'une seule ou au plus deux couches de peptidoglycane qui ne représente que 5 à 20 % des constituants de la paroi bactérienne. Mais 3 polymères situés en dehors du peptidoglycane viennent compléter la paroi : des lipoprotéines, une « membrane externe » qui contient du lipopolysaccharide.

Les lipoprotéines sont le lien entre le peptidoglycane et la « membrane externe » : le composant protéine est un polymère de 15 acides aminés qui forme une liaison peptidique avec le térapeptide des chaînes latérales du peptidoglycane ; le composant lipide est relié à la « membrane externe ».

La « membrane externe » est constituée d'une double couche de phospholipides dans laquelle tout ou partie des phospholipides de la couche la plus externe sont remplacés par des molécules de lipopolysaccharide. Au sein de cette « membrane externe », qui est une

mosaïque fluide, se trouvent associés au moins deux types de protéines spécifiques : certaines sont dites protéines de structure car elles consolident la membrane externe; d'autres, appelées « porines » permettent le passage des petites molécules hydrophiles et en particulier, sur le plan médical, des antibiotiques (-lactamines, tétracyclines, quinolones...).

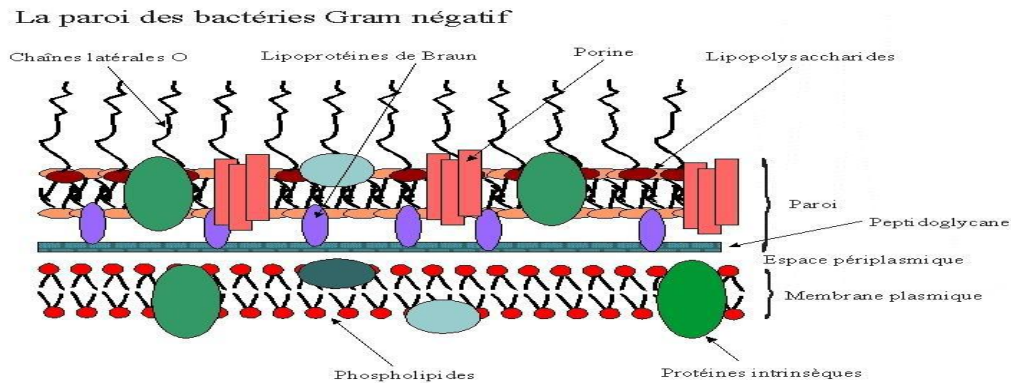


Figure 1: Paroi des bactéries à Gram –

- ***Escherichia coli* :**

Escherichia coli est un bacille gram négatif de la famille des *Enterobacteriaceae*. Sa taille varie en fonction des conditions de croissance, pesant de 0,5 à 5 pictogrammes, les bactéries en croissance rapide étant plus allongées et donc plus grandes que les bactéries quiescentes.

Escherichia coli (*E. coli*) est une bactérie que l'on trouve couramment dans le tube digestif de l'être humain et des animaux à sang chaud. Elle peut aussi provoquer des diarrhées par des mécanismes divers, ainsi que diverses infections communautaires ou nosocomiales. Certaines en revanche, comme *E. coli* entérohémorragique (ECEH), peuvent provoquer de graves maladies d'origine alimentaire. La transmission à l'homme passe principalement par la consommation d'aliments contaminés, comme de la viande hachée crue ou mal cuite, du lait cru, des légumes crus et des graines germées contaminés.

- ***Pseudomonas aeruginosa* :**

Il s'agit d'un petit bacille, mobile grâce à son flagelle simple, que l'on retrouve partout dans la nature, dans l'eau, le sol, les plantes, les animaux et l'homme. *Pseudomonas aeruginosa* produit deux pigments (colorant) bleu gris : la pyocyanine, d'où il tire son nom de bacille pyocyanique, nom usuel de la bactérie en France, colorant vert, la pyoverdine. Ce bacille est facilement mis en évidence en laboratoire, il est non sporulé (sans spore) et a une forme droite ou légèrement incurvée.

Cette bactérie préfère les milieux humides et on la trouve quelquefois au niveau de la peau, de l'appareil respiratoire supérieur, de l'oreille externe et du tube digestif chez l'individu sain. Ce sont essentiellement les individus qui ont reçu des antibiotiques, qui sont affaiblis sur le plan immunitaire ou qui ont été hospitalisés, qui développent le plus facilement le bacille. En dehors de ces cas, le taux de portage (transmission du germe) est relativement faible.

Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* sont le plus souvent des infections d'origine nosocomiale. Ce terme concerne tout ce qui est relatif aux hôpitaux. Plus généralement, il est employé pour une maladie contractée lors d'une hospitalisation.

1.2. Bactéries à Gram+ :

Il y a de nombreuses couches de peptidoglycane qui représentent jusqu'à 90 % des constituants de la paroi bactérienne. Celle-ci contient aussi un feutrage (10 à 50 % du poids sec de la paroi) d'acides teichoïques (polymères du glycérol ou du ribitol phosphate) associés étroitement au peptidoglycane et faisant parfois saillie à la surface de la bactérie. Certains, les acides lipoteichoïques, sont placés transversalement. Et s'enfoncent jusqu'à la membrane cytoplasmique. En général il n'y a pas ou peu de protéines dans la paroi des bactéries à Gram positif. Parmi les exceptions, notons la protéine A de *Staphylococcus aureus*.

La paroi des bactéries Gram positif

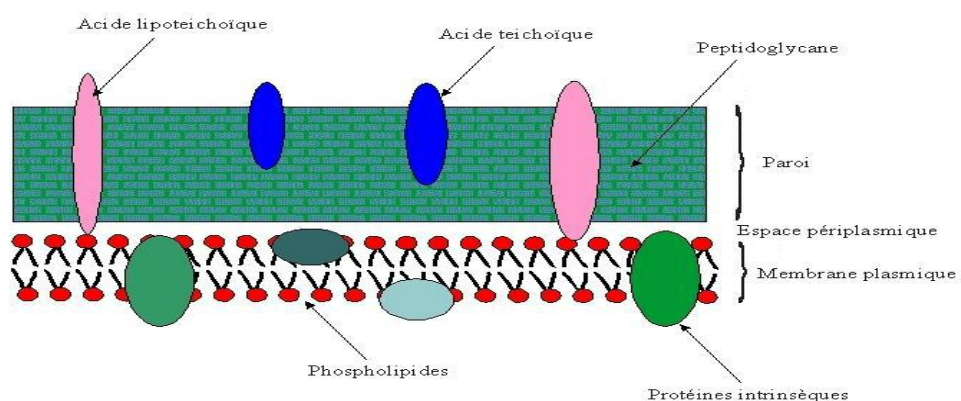


Figure 2 : Paroi bactéries à Gram +

- ***Staphylococcus aureus*** :

Staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*. Elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, de septicémies physiques (greffe, prothèses cardiaques). *S. aureus* se présente comme une coque en amas (grappes de raisin), Gram positif et catalase positif. Sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l'origine de son nom. Les Staphylocoques sont des cocci à Gram positif classiquement disposés en amas.

2 .Les moisissures :

Les moisissures sont omniprésentes dans notre environnement. La plupart sont phytopathogènes et se développent en saprophytes dans la terre et sur les plantes et débris végétaux en voie de putréfaction.

L'humidité favorise leur survie et leur développement. Elles sont retrouvées dans l'air, sur le sol et les surfaces (verticales ou horizontales), dans l'alimentation et parfois dans l'eau. Elles sont donc également présentes dans l'air ou sur les surfaces à l'hôpital, notamment par remise en suspension en cas de travaux (petits travaux ou gros œuvres), et véhiculées par les systèmes de ventilation.

- ***Aspzigilus niger*** : sont des moisissures à filaments cloisonnés hyalins, qui peuvent être responsables de mycoses opportunistes, à l'origine d'infections localisées ou invasives, d'allergies ou de mycotoxicoses.

Parmi les principaux éléments qui participent au pouvoir pathogène d'*Aspergillus niger*, on retrouve :

- la petite taille des spores (2 à 3 µm de diamètre) leur donnant la possibilité d'atteindre les alvéoles pulmonaires.

- la thermo tolérance (jusqu'à 55° C) permettant leur développement chez leur hôte à 37°C.

- La capacité d'adhérence à la membrane nasales (via le fibrogène, la laminine, la fibronectine, etc...) et la capacité d'induire des microlésions et des ulcérations vasculaires par le biais de toxines nécrosantes.

- le tripisme vasculaire (en particulier pour les *Aspergillus*).

Annexes 2

Caractéristique des milieux de cultures utilisés

1. Gélose Sabouraud-Base :

C'est un milieu recommandé pour l'isolement des champignons à partir des prélèvements cliniques.

Composition : Formule théorique en g/l d'eau purifiée

Peptones de viande « Bovin »	3g
Peptones de caséine « Bovin »	3g
Peptones de Soja	3g
Extrait de levure	2g
Extrait de malt	1g
Glucose	19g
Phosphate mono- potassique	0.5g
Phosphate disodique	0.5g
Agar	13 g

Principe : La présence des peptones et du glucose favorise le développement des souches fongique.

Préparation :

Mettre 65g de poudre en suspension dans un litre d'eau purifiée bien mélangé. Chauffer sous agitation et laisser bouillir pendant 1 minute.

Autoclaver à 118 °C pendant 15 minutes.

2. Gélose Mueller-Hinton :

C'est un milieu destiné à la réalisation d'antibiogramme par diffusion

Principe :

Sa faible teneur en thymine –thymidine « élément inhibiteur de l'activité des sulfamides. » diminue les phénomènes de repousse autour des disques et permet une meilleure détermination des diamètres d'inhibitions.

Composition : Formule théorique en g/l d'eau purifiée :

Peptones de viande « Bovin »	10
Peptones de caséine « Bovin »	10
Fécule de pomme de terre « amidon »	10 ml
Glycérol	15.0g
Magnésium sulfate	1.5
Agar	18

Préparation :

Mettre 46.4 g de poudre en suspension dans un litre d'eau purifiée contenant 10 g de glycérol, bien mélanger. Chauffer sous agitation et laisser bouillir pendant 1 minute. Autoclaver à 121 °C pendant 15 minutes.

La méthode d'ensemencement sur milieu gélosé :

L'ensemencement se fait à l'aide d'un écouvillon stérile : introduire ce dernier dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fortement sur la paroi interne du tube (en le tournant) afin de le décharger au maximum. Puis frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération trois fois en tournant la boîte de 60°, et en pivotant l'écouvillon sur lui-même et enfin, finir l'ensemencement en tournant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.