

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'INSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE SIENCE DE LA NATURE ET DE VIE



Mémoire de Master

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire : biologie moléculaire des
procaryotes

Thème : Détermination De L'effet Antibactérien De L'huile Essentielle *D'ocimum
Basilicum L*

Préparé par :

KHAZNADJI Naserdine

MANSOURI Asma

SAIDIA Wahiba

Devant le jury composé de :

Président : Mr ROUABHIA. K (MAB)

Examinatrice : Mme HAMDIKANE . M (MAA)

Encadreur : Mme ZIDI . S (MAA)

Juin 2013

Remerciements

Avant tout nous remercions Dieu le tout puissant qui nous a donné la force et le courage pour qu'on puisse accomplir ce modeste travail

« En préambule a ce mémoire, on souhaite adresser nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'a la réussite de cette formidable année universitaire. »

On tient à remercier sincèrement au Melle ZIDI SOROUR maitre assistante au Département de SNV de l'Université de 8 mai 1945 en tant qu'encadreur qui s'est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Nos remerciements s'adressent également à Monsieur le professeur BENOUARTHE. D pour leur grande patience dont ils sont sus faire preuve malgré leurs charges professionnelles.

A Melle HAMDI KEN. M, mette assistante a l'université 8 mai 1945 –Guelma- De nous avoir fait le grand honneur de l'amabilité d'être l'examineur de ce modeste travail.

A Mr RWABHIYA. K, maitre assistant a l'Université 8 mai 1945-Guelma- D'avoir accepté de présidé ce jury.

A Mr ZAFOUR.Y professeur en botanique au niveau de Département de SNV de l'Université de Sidi Amar d'Annaba.

A Mr LAREDJ .H docteur au niveau de la faculté de pharmacie de l'Université de Badji Mokhtar d'Annaba.

Nous tenons également à remercier tous les membres du laboratoire de biochimie et de microbiologie de Département de SNV de l'Université de 8 mai 1945, ainsi aux membres du laboratoire de botanique médicale de la faculté de pharmacie de l'Université de Badji Mokhtar d'Annaba.

*Aux doctorantes en biologie de Département de SNV de l'Université de 8 mai 1945,
merci pour votre temps et votre aide qui nous ont permis de mener à bien notre travail.*

*On n'oublie pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience ainsi à
tous nos proches et amis qui nous ont toujours soutenues et encouragées au cours de la
réalisation de ce mémoire.*

Merci à a tous et à toutes.

Dédicaces

*A ma chère mère, et mon cher père, pour tout le mal qu'il
se sont donnés afin de me faciliter ma tâche, en témoignage
de la profonde affection que je leur porte*

*A mes sœur Hanane, Amira, Imen et Anoussa et a mes cousins Hocine, Djalil, Mounir
et Kader qui m'ont*

Beaucoup soutenu durant toutes mes études.

*A tous ceux qui me sont proches et ceux qui ont contribué à ma
formation qu'ils trouvent là toute ma reconnaissance.*

A tous mes amis surtout : Rabie, Hichem, Chouaib, Asma et Wahiba.

A ma future femme Ikram.

NASREDDINE

*A ma chère mère, et mon cher père, et mon cher marie pour tout le mal qu'ils
se sont donnés afin de me faciliter ma tâche, en témoignage
de la profonde affection que je leur porte*

A mes frères Alaa et salah qui m'ont

beaucoup soutenu durant toutes mes études.

*A tous ceux qui me sont proches et ceux qui ont contribué à ma
formation qu'ils trouvent là toute ma reconnaissance.*

A tous mes amis surtout : Wahiba, Nassima, Zeyneb ,Meriem ,Salima et Nasreddine.

ASMA

A mes chères mère et grand mère, et mes chers père et grand père, pour tout le mal qu'il

se sont donnés afin de me faciliter ma tâche, en témoignage

de la profonde affection que je leur porte

A mon frère Nabil et mes sœurs Bouchra, Radja, Mina et Asma qui m'ont

Beaucoup soutenu durant toutes mes études.

A tous ceux qui me sont proches et ceux qui ont contribué à ma

formation qu'ils trouvent là toute ma reconnaissance.

*A tous mes amis surtout : Asma, Nassima, Zeyneb, Meriem, Salima, Bilel, Issam et
Nasreddine, Aymen.*

WAHIBA

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction Erreur ! Signet non défini.

Partie théorique

Chapitre I : Généralité sur les bactéries et les antibiotiques

1 La découverte du monde microbien **Erreur ! Signet non défini.**

2 Les microorganismes et les maladies **Erreur ! Signet non défini.**

3 Morphologie et Structure fine des bactéries **Erreur ! Signet non défini.**

3-1 Morphologie des bactéries **Erreur ! Signet non défini.**

3-2 Structure des bactéries..... **Erreur ! Signet non défini.**

Exemples des bactéries Gram négatif : **Erreur ! Signet non défini.**

Escherichia coli **Erreur ! Signet non défini.**

- Définition **Erreur ! Signet non défini.**

- Classification **Erreur ! Signet non défini.**

- Habitat..... **Erreur ! Signet non défini.**

- Pouvoir pathogène..... **Erreur ! Signet non défini.**

- Résistance aux antibiotiques..... **Erreur ! Signet non défini.**

➤ *Pseudomonas aeruginosa* **Erreur ! Signet non défini.**

- Définition **Erreur ! Signet non défini.**

- Classification..... 7

- Habitat..... **Erreur ! Signet non défini.**

- Pouvoir pathogène..... **Erreur ! Signet non défini.**

- Résistance aux antibiotiques..... **Erreur ! Signet non défini.**

➤ *Staphylococcus aureus* 8

- Définition 8

- Classification..... **Erreur ! Signet non défini.**

- Habitat..... **Erreur ! Signet non défini.**

- Pouvoir pathogène..... **Erreur ! Signet non défini.**

- Résistance aux antibiotiques..... 9

➤ *Streptococcus faecalis (D)* **Erreur ! Signet non défini.**

- Définition **Erreur ! Signet non défini.**

- Classification..... **Erreur ! Signet non défini.**

- Habitat..... **Erreur ! Signet non défini.**

- Pouvoir pathogène..... **Erreur ! Signet non défini.**

- Résistance aux antibiotiques..... **Erreur ! Signet non défini.**

4 Cultures des bactéries	Erreur ! Signet non défini.
5 Les antibiotiques.....	Erreur ! Signet non défini.
5-1 Définition.....	Erreur ! Signet non défini.
5-2 Historique	Erreur ! Signet non défini.
5-3 Critères de Classification.....	Erreur ! Signet non défini.
5-4 Modes d'action des antibiotiques	Erreur ! Signet non défini.
5-5 Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	Erreur ! Signet non défini.
• La résistance naturelle.....	Erreur ! Signet non défini.
• La résistance acquise.....	Erreur ! Signet non défini.
5-6 Mécanisme de Résistance aux antibiotiques.....	Erreur ! Signet non défini.
• Modification de la cible des antibiotiques	Erreur ! Signet non défini.
• Synthèse d'enzymes inactivant les antibiotiques.....	Erreur ! Signet non défini.
• Baisse de la perméabilité de la paroi bactérienne	Erreur ! Signet non défini.
Chapitre II : La phytothérapie et l'aromathérapie	
1 Généralités sur la phytothérapie	Erreur ! Signet non défini.
1-1 Définition.....	Erreur ! Signet non défini.
1-2 Historique	Erreur ! Signet non défini.
1-3 Les formes d'utilisation des plantes	Erreur ! Signet non défini.
1-3-1 Les tisanes : Utilisation des plantes sèches :.....	Erreur ! Signet non défini.
1-3-2 Les poudres :	Erreur ! Signet non défini.
1-3-3 Alcoolatures :	Erreur ! Signet non défini.
1-4 Les principes actifs des plantes	Erreur ! Signet non défini.
1-4-1 Les saponines (ou saponosides).....	Erreur ! Signet non défini.
1-4-2 Les alcaloïdes (-ine)	Erreur ! Signet non défini.
1-4-3 Les tanins	Erreur ! Signet non défini.
1-4-4 Les flavonoïdes (lat. flavus, jaune).....	Erreur ! Signet non défini.
1-4-5 Les terpènes.....	Erreur ! Signet non défini.
1-4-6 Les mucilage	Erreur ! Signet non défini.
1-4-7 Les hétérosides (ou glucosides).....	Erreur ! Signet non défini.
1-4-8 Les anthocyanes	Erreur ! Signet non défini.
1-4-9 Les vitamines	Erreur ! Signet non défini.
2 Généralités sur l'aromathérapie.....	Erreur ! Signet non défini.
2-1 Définition.....	Erreur ! Signet non défini.
2-2 Historique	20
2-3 Les huiles essentielles	Erreur ! Signet non défini.

2-3-1 Définition.....	Erreur ! Signet non défini.
2-3-2 Localisation et lieu de synthèse des huiles essentielles	Erreur ! Signet non défini.
2-3-3 Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	Erreur ! Signet non défini.
A- La distillation.....	Erreur ! Signet non défini.
B- L'extraction a froid.....	Erreur ! Signet non défini.
C- L'extraction par les solvants.....	Erreur ! Signet non défini.
D- L'extraction mécanique.....	Erreur ! Signet non défini.
E- L'extraction par fluide à l'état supercritique.....	Erreur ! Signet non défini.
F- L'extraction par infusion :.....	Erreur ! Signet non défini.
2-3-4 Conservation des huiles essentielles.....	Erreur ! Signet non défini.
2-3-5 La composition chimique des huiles essentielles.....	Erreur ! Signet non défini.
2-3-6 Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles	Erreur ! Signet non défini.
2-3-7 Les propriétés des huiles essentielles.....	Erreur ! Signet non défini.
2-3-8 Les activités biologiques des huiles essentielles.....	Erreur ! Signet non défini.
2-3-9 Les mode d'action des huiles essentielles.....	Erreur ! Signet non défini.
2-3-10 L'utilisation des huiles essentielles.....	Erreur ! Signet non défini.
 Chapitre III : <i>Ocimum basilicum L</i>	
1 Le basilic commun.....	30
2 Historique.....	30
3 Description botanique.....	Erreur ! Signet non défini.
• Le systéma racinaire.....	Erreur ! Signet non défini.
• La tige.....	Erreur ! Signet non défini.
• Les feuilles.....	Erreur ! Signet non défini.
• Les fleurs.....	Erreur ! Signet non défini.
• Les fruits.....	Erreur ! Signet non défini.
• Les graines.....	Erreur ! Signet non défini.
4 Taxonomie :.....	Erreur ! Signet non défini.
5 Répartition géographique.....	Erreur ! Signet non défini.
6 Culture et Acclimatation.....	Erreur ! Signet non défini.
a- Type de sol.....	Erreur ! Signet non défini.
b- Culture.....	Erreur ! Signet non défini.
c- Multiplication.....	Erreur ! Signet non défini.
d- La récolte.....	Erreur ! Signet non défini.
e- La conservation.....	Erreur ! Signet non défini.
7 Composition chimique.....	Erreur ! Signet non défini.
7-1 L'huile essentielle.....	Erreur ! Signet non défini.

a- Teneur :	Erreur ! Signet non défini.
7-2 Les flavonoïdes.....	Erreur ! Signet non défini.
7-3 Les tanins	Erreur ! Signet non défini.
7-4 Les poly-phénols	Erreur ! Signet non défini.
7-5 Les sels minéraux.....	Erreur ! Signet non défini.
7-6 Vitamines	Erreur ! Signet non défini.
8 Utilisation	Erreur ! Signet non défini.
8-1 Partie utilisée	Erreur ! Signet non défini.
8-2 Utilisation en phytothérapie.....	Erreur ! Signet non défini.
8-4 Utilisation culinaire.....	Erreur ! Signet non défini.
8-5 Utilisation domestique.....	Erreur ! Signet non défini.
8-6 Utilisation industrielles.....	Erreur ! Signet non défini.
Partie expérimentale	
Matériels et Méthodes	
I Matériels	Erreur ! Signet non défini.
1 Matériel Végétal	Erreur ! Signet non défini.
1-1 Cueillette	Erreur ! Signet non défini.
1-2 Séchage.....	Erreur ! Signet non défini.
1-3 Conservation	Erreur ! Signet non défini.
2 Matériel microbologique:.....	Erreur ! Signet non défini.
A-Les bactéries utilisées :	Erreur ! Signet non défini.
B- Milieux de culture utilisés :	Erreur ! Signet non défini.
II Methods	41
1 Étude phytochimique.....	Erreur ! Signet non défini.
• Les saponosides (ou les saponines).....	Erreur ! Signet non défini.
• Les alcaloïdes	Erreur ! Signet non défini.
• Les tanins	Erreur ! Signet non défini.
• Les flavonoïdes	Erreur ! Signet non défini.
• Les terpènes	Erreur ! Signet non défini.
• Les mucilages.....	Erreur ! Signet non défini.
2 L'extraction de l'huile essentielle d'ocimum basilicum L	Erreur ! Signet non défini.
A-Principe :	Erreur ! Signet non défini.
B- Consignes d'extraction.....	Erreur ! Signet non défini.
3 Évaluation de l'activité antibactérienne	Erreur ! Signet non défini.
• L'antibiogramme des souches testées	Erreur ! Signet non défini.
• L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de basilic.....	Erreur ! Signet non défini.

III Résultat et discussion

1 Résultats Erreur ! Signet non défini.

1-1 L'études phytochimique..... **Erreur ! Signet non défini.**

1-2 Extraction de l'huile essentielle **Erreur ! Signet non défini.**

1-3 Evaluation de l'activité antibactérienne **Erreur ! Signet non défini.**

• Resultats de L'antibiogramme de souches testées**Erreur ! Signet non défini.**

• Resultats de L'aromatogramme des souches testées.....**Erreur ! Signet non défini.**

2 Discussion Erreur ! Signet non défini.

Conclusion et perspectives 60

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des figures

Fig n° 1	Structure d'une bactérie.	03
Fig n° 2	Mode d'action des antibiotiques.	13
Fig n° 3	Structure d'isoprène.	25
Fig n° 4	<i>Ocimum basilicum L</i> (a), Les feuilles d' <i>Ocimum basilicum</i> (b), Les fleurs d' <i>Ocimum basilicum L</i> (c1 ,c2), Les graines d' <i>Ocimum basilicum L</i> (d).	32
Fig n° 5	<i>Kaempférol</i> : structure.	37
Fig n° 6	<i>Quercétine</i> : structure.	37
Fig n° 7	Acide rosmarinique : structure.	38
Fig n° 8	Acide caféique : structure.	38
Fig n°9	L'appareil d'extraction par hydrodistillation (Licken Nickerson).	43
Fig n° 10	Mise en évidence des saponosides (a), des tanins (b), des flavonoïdes(c), des terpènes (d), des mucilages (e).	48
Fig n° 11	Rendement des feuilles de basilic en huile essentiel selon la période de récolte.	49
Fig n° 12	Résultat d'antibiogramme (a) et présentation graphique(b) des testes de l'antibio- et l'aromatogramme sur <i>E.coli</i> .	53
Fig n° 13	Résultat d'antibiogramme (a) et présentation graphique(b) des testes de l'antibio- et l'aromatogramme sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	54
Fig n° 14	Résultat d'antibiogramme (a) et présentation graphique(b) des testes de l'antibio- et l'aromatogramme sur <i>S. aureus</i> .	55
Fig n° 15	Résultat d'antibiogramme (a) et présentation graphique(b) des testes de l'antibio- et l'aromatogramme sur <i>Streptococcus D fécaux</i> .	56

Liste des tableaux

Tableau n° 1	Structure des principaux composants d'huile essentielle <i>d'ocimum basilicum L.</i> et leurs propriétés.	35
Tableau n° 2	Valeurs critiques des zones d'inhibition dues aux antibiotiques	45
Tableau n° 3	Rendement des feuilles de basilic en HE selon les périodes de récolte.	49
Tableau n° 4	Résultat d'antibiogramme des souches testées.	50
Tableau n° 5	Diamètre d'inhibition de souches testées.	51

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique.

ARNr : acide ribonucléique ribosomale.

ATCC: American type culture collection.

CHCl₃ : chloroforme

C₂H₆O : éthanol.

CO₂ : dioxyde de carbone.

FeCl₃ : chlorure de fer.

HCL : acide chlorhydrique.

HE : huile essentielle.

Hg Cl₃ : chlorure de mercure.

H₂O : l'eau.

H₂SO₄: acide sulfurique.

GN : gélose nutritive.

KI : iodure de potassium.

LPS : lipopolysaccharides.

MH : Muller Hinton.

NaCl : chlorure de sodium.

OMS : l'organisation mondiale de santé.

PH : potentiel hydrogène.

PLP : protéine de liaisons aux pénicillines.

Introduction

C'est depuis l'antiquité, que les hommes, en cherchant à se nourrir par la cueillette de végétaux, qui ont pu découvrir fortuitement des plantes aux effets thérapeutiques. Les plantes médicinales ont donc joué un rôle déterminant dans la survie de l'humanité. La recherche des drogues végétales a évolué avec le temps et les progrès scientifiques.

Actuellement, l'industrie pharmaceutique a pris conscience des limites et du coût de la chimie de synthèse. Beaucoup de molécules artificielles ainsi obtenues ont un faible taux d'efficacité et présentent par contre de plus en plus d'effets secondaires. Dans le cas des infections bactériennes, le traitement est en général basé sur l'utilisation des antibiotiques. Cependant, l'apparition de résistances aux antibiotiques pose un problème crucial aux médecins (OMS., 2002). C'est pour cela que les chercheurs se sont tournés vers la nature et ont entrepris une vaste étude sur le terrain pour répertorier les plantes les plus prometteuses. Plus de 60% des molécules exploitées aujourd'hui par l'industrie sont de près ou de loin originaires du monde végétal et exactement des plantes aromatiques qui sont caractérisées par la synthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle les huiles essentielles (HE) ou essences, connues depuis longtemps pour leur activité antiseptique et leur activité thérapeutique dans la médecine populaire (AFNOR., 1986).

Le but de notre étude est la recherche de l'effet antibactérien de l'huile essentielle contenue dans les feuilles de basilic.

Cette étude est subdivisée en 2 parties :

Une partie théorique dans laquelle nous avons essayé de cerner l'état actuel des connaissances sur :

- Généralité sur les bactéries et les antibiotiques.
- La phytothérapie et l'aromathérapie.
- La plante utilisée dans cette étude.

Et une partie pratique où nous avons effectué :

- Une étude phytochimique pour rechercher les différents principes actifs contenus dans la plante exemple : flavonoïdes, tanins, saponosides...
- Extraction de notre huile essentielle à partir des feuilles de basilic par hydrodistillation
- Recherche de l'existence éventuelle d'un effet antibactérien de cette huile sur **quatre souches testées** (*E. coli*, *S.aureus*, *Streptococcus feacalis* (D), et *P.aeruginosa*).

Partie théorique

Chapitre 1

**Généralité sur les bactéries et les
antibiotiques**

1 La découverte du monde microbien

Dès 1546, Fracastoro suggéra que des organismes invisibles pouvaient être responsables des infections, mais c'est le Hollandais van Leeuwenhoek (1632-1723) qui a révélé à l'homme l'existence du monde microbien, en utilisant des microscopes simples. Les formes de bactéries qu'observait Leeuwenhoek n'étaient pas toutes identiques. Il a dessiné des formes sphériques (cocci²), des formes allongées, en bâtonnets (bacilles), et des spirilles contournées en spirale (**Philippon, Prots., 2002**).

2 Les microorganismes et les maladies

Avant même que les microbiologistes ne prouvent expérimentalement le rôle joué par les microorganismes dans les maladies, beaucoup d'observations ont été faites dans ce domaine.

- 1546, on suggérait que les maladies pouvaient être provoquées par des organismes trop petits pour être vu et sont transmis d'une personne à une autre.
- 1762, on prétendait que différents microorganismes provoquaient des maladies différentes.
- 1843, on suggérait que la fièvre puerpérale, infection que contractait la femme après l'accouchement, était contagieuse et causée par des microorganismes transportés d'une patiente à une autre par des sages femmes et les médecins.
- 1870, **Robert Koch** a travaillé sur la maladie du charbon (maladie qui touche le bétail, les moutons et parfois l'homme). Il isola le microbe du charbon, du sang des animaux morts. C'était la première fois qu'on prouvait qu'une bactérie provoque une maladie animale. Plus tard, Koch découvrit les bactéries responsables de la tuberculose et du choléra (**Hart, Shears., 1997**).

3 Morphologie et Structure fine des bactéries

3-1 Morphologie des bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires, de petite taille (1 μ de diamètre) Ce sont des cellules procaryotes, c'est à dire des cellules qui ne possèdent qu'un seul chromosome et qui sont dépourvues de membrane nucléaire.

La bactérie est également dépourvue d'appareil mitotique, n'a pas de mitochondrie, pas de réticulum endoplasmique et pas d'appareil de golgi.

Par contre la plupart des bactéries possède un constituant qui leur est spécifique : **le peptidoglycane (Rougier., 2010)**.

- **Formes des cellules bactériennes** : les bactéries sont des organismes de formes variées :
 - Bactéries de formes arrondies ou **cocci**, isolées, en chaînette ou en amas (nombre variable de cellules), exemple : Staphylocoques, Streptocoques ...
 - Bactéries de forme allongée ou **bacilles** isolés, en chaînette ou amas, de longueur et diamètre variables, exemple : *E. coli*, *Salmonella*, *Bacillus* etc....
 - Bactéries de forme **spiralée** , spirilles ou spirochètes comme: *Treponema*...
 - Un groupe particulier de bactéries de forme filamenteuse se rapprochant des moisissures : les Actinomycètes (**Rougier., 2010**).

- **Taille** : les bactéries les plus petites ont une taille d'environ 0,2 μm (Chlamydia) et les plus longues sont certaines Spirochètes. Elles peuvent atteindre 250 μm de long. En moyenne la taille se situe entre 1 et 10 μm (**Rougier., 2010**).

3-2 Structure des bactéries

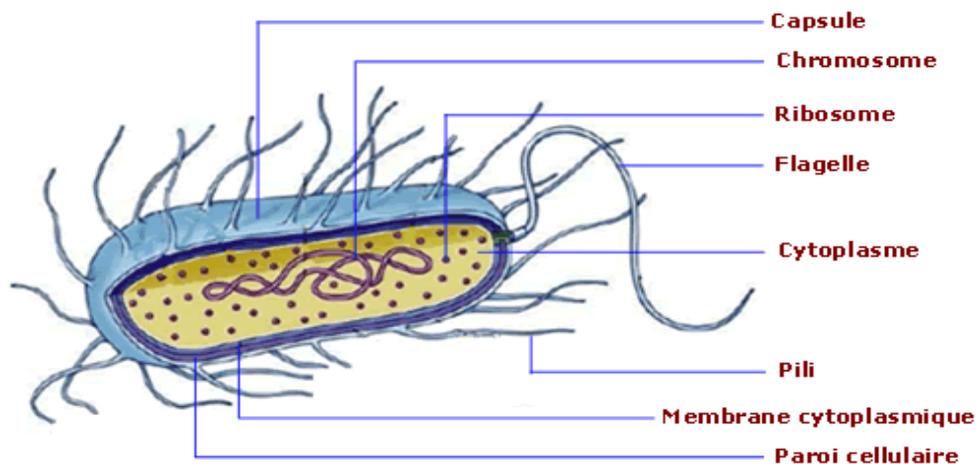


Fig n° 1 : structure d'une bactérie (1).

➤ Le nucléoïde

Chez les bactéries, le chromosome consiste typiquement en une boucle fermée d'acide désoxyribonucléique. Il y a cependant des espèces telles que *borrelia burgdorferi* dont le chromosome est fait d'une molécule d'ADN linéaire. Dans l'un et l'autre cas, le chromosome est considérablement replié en un corpuscule compact, le *nucléoïde* (**Singleton., 2005**).

➤ Les plasmides

Les plasmides sont de petits éléments, circulaires, constituant du matériel génétique extra-chromosomique. Ils sont autonomes et capables de se répliquer indépendamment du chromosome. Ils codent pour la synthèse de différentes protéines enzymatiques conférant ainsi à la bactérie qui les possède, des caractères particuliers tels que la possibilité d'utiliser

tel ou tel substrat et la **résistance aux antibiotiques**. Les plasmides sont **transmissibles** à d'autres bactéries (**Singleton., 2005**).

➤ **Le cytoplasme**

Est un fluide aqueux (à base d'eau) qui contient des ribosomes, des éléments nutritifs, des ions, des enzymes, des déchets et diverses molécules impliquées dans les synthèses, l'entretien cellulaire et le métabolisme énergétique. Dans certaines conditions, on peut y trouver des granules de réserves. Il n'y a pas d'équivalents de réticulum endoplasmique des cellules eucaryotes (**Singleton., 2005**).

➤ **Les ribosomes**

Sont des corpuscules arrondis minuscules, d'environ 0,025 µm de diamètre, faits d'ARNr la sous unité ribosomique 30S contient l'ARNr 16S, tandis que la sous unité 50S contient les ARNr 5S et 23S), et de protéines. Ils constituent les sites de synthèses des protéines (**Singleton., 2005**).

➤ **Les granules de réserve**

Mises dans les conditions adéquates, beaucoup de bactéries produisent des polymères qui sont stockés dans le cytoplasme, sous forme de granules. Ces composés contiennent du poly-β-hydroxybutyrate et du polyphosphate (**Singleton., 2005**).

➤ **Les vacuoles gazeuses**

Un groupe de petites vésicules allongées, creuses et remplies de gaz. Chaque vésicule est entourée d'une paroi protéique et a communément un diamètre de 60 à 250 nm (**Singleton., 2005**).

➤ **Les carboxysomes**

Sont des corpuscules intracellulaires de 100 à 500 nm de diamètre, qu'on trouve dans beaucoup de bactéries autotrophes, c'est-à-dire les bactéries capables d'utiliser le CO₂ pour une grande partie ou pour la totalité de leurs besoins de carbone. Un carboxysome est un sac ou coquille membranaire renfermant de nombreuses copies d'une enzyme (RuBisCO) impliquée dans la fixation du CO₂ atmosphérique (**Singleton., 2005**).

➤ **Les thylacoïdes**

Sont des sacs membranaires intracellulaires aplatis, présents dans la plupart des cyanobactéries. Ils se localisent à proximité de et parallèlement à l'enveloppe cellulaire, mais il semble qu'il s'agisse d'une structure différente de la membrane cytoplasmique. Les membranes des thylacoïdes contiennent des chlorophylles et il s'y effectue de la photosynthèse et dans certains cas, ce sont des sites d'activités respiratoires (**Singleton., 2005**).

➤ **Le Glycocalyx**

C'est un feutrage c'est à dire un ensemble de fibres qui entoure les bactéries et qui permet d'adhérer à un support (**Rougier., 2010**).

➤ **La Capsule**

Est une structure extérieure non constante. Elle entoure la bactérie. Sa constitution est le plus souvent polysaccharidique, parfois protéique. Elle n'est pas colorable par les techniques bactériologiques. C'est un facteur de virulence car elle protège la bactérie de la phagocytose. La capsule est antigénique. Les antigènes capsulaires sont dénommés **antigène K (Singleton., 2005)**.

➤ **Les flagelles**

Les flagelles ou cils sont des structures rigides, ondulées qui naissent de la membrane cytoplasmique. Ils permettent la mobilité des bactéries et seules les espèces qui en sont pourvues, sont mobiles. Ils sont constitués d'une protéine appelée **flagelline (Rougier., 2010)**.

➤ **Les pili**

Les pili (poils) sont des formations qu'on ne peut observer qu'au microscope électronique. On différencie les pili communs ou fimbriae des pili sexuels :

Les pili communs ou **fimbriae** : sont courts et cassants. Ils sont utiles pour l'adhésion des bactéries aux interfaces et aux muqueuses et sont donc des facteurs de virulence. Ils ont une structure protéique : **la piline (Rougier., 2010)**.

Les pili sexuels : plus longs, relient deux bactéries et sont des voies d'échanges de matériel génétique entre les bactéries. Les bactéries capables de produire des pili sexuels sont des bactéries "mâles" à l'opposé des autres qui sont dites "femelles" (**Rougier., 2010**).

➤ **La membrane cytoplasmique**

Est constituée d'une double couche de molécules lipidiques de 7 à 8 nm d'épaisseur, dans laquelle des molécules de protéines sont partiellement ou complètement enchâssées. Certaines protéines s'étendent sur toute l'épaisseur de la membrane. La disposition des molécules de lipides est telle que les deux phases (interne et externe) de la membrane sont hydrophiles tandis que l'intérieure est hydrophobe (**Singleton., 2005**).

➤ **La paroi bactérienne**

Une couche externe solide qui détermine la forme cellulaire. Elle constitue également une barrière de perméabilité qui exclut diverses molécules.

D'une espèce bactérienne à l'autre, la paroi cellulaire peut différer beaucoup en épaisseur, en structure et en composition. Selon ces paramètres, on peut distinguer deux types de

paroi et donc deux types de bactéries :

➤ **Les bactéries à paroi Gram négatif**

Ce type de paroi est de 20 à 30 nm d'épaisseur, composée de couches distinctes. On décrit la couche directement extérieur à la membrane cytoplasmique comme un « gel périplasmique » de peptidoglycane (en plusieurs couches), épais d'environ 15 nm (1 à 10%) du poids sec de la cellule, et une couche externe de la paroi, dite membrane externe qui est une bicouche lipidique contenant des protéines. Cependant, alors que la couche lipidique interne est faite de phospholipides, la couche lipidique externe, quant à elle se compose de macromolécules appelées lipopolysaccharides (LPS) (Singleton., 2005).

➤ **Les bactéries à paroi Gram positif**

La paroi est épaisse (de 30 à 300 nm), ayant un aspect simple et uniforme. Un polymère complexe et résistant, le *peptidoglycane* (murène), constitue entre 40 à 80% de la paroi. Ce peptidoglycane, est fait de chaîne linéaire hétéropolysaccharidique pontée par de courts peptides (Singleton., 2005).

Exemples des bactéries Gram négatif :

- *Escherichia coli*

Définition

Bacille à Gram négatif, se développe sur gélose ordinaire (ex :gélose nutritive), habituellement mobile et pourvu de fimbriae, métabolisme respiratoire lorsque les conditions sont aérobies. Les réactions typiques sont les suivantes : fermente le glucose, indole⁺, uréase-négative, H₂S-négatif, lactose positif, gazogène, mais ne produit pas d'acétine (Singleton., 2005).

Classification

- Domaine : Bactérie
- Phylum : Proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : Enterobacterales
- Famille : Enterobacteriaceae
- Genre : *Escherichia*
- Espèce : *Escherichia coli* (Garrity et al., 2007).

Habitat

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. *E coli* ou *colibacille* est habituellement une bactérie commensale qui peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers. (Nauciel., Vild., 2005).

Pouvoir pathogène

Infections intestinales.

Infections urinaires (femme).

Infection abdominales.

Infections méningées néonatales (Helene., 2003)

Résistance aux antibiotiques

E. coli était sensible à beaucoup d'antibiotiques comme exemple : céfazoline, céftriaxone, cefixitine... mais l'acquisition de la résistance à un large spectre d'antibiotiques est très fréquente surtout en milieu hospitalier.

Elle est résistante à certains antibiotiques mais à des fréquences différentes. Elle résiste beaucoup plus à la Gentamycine, Érythromycine, Lyncomycine... alors que les fréquences de résistance sont faibles pour les sulfamides (45%), chloramphénicol (20%) (Hart, Shears ., 1997)

- *Pseudomonas aeruginosa*

Définition

P aeruginosa (ou bacilles pyocyanique) sont des bacilles à Gram négatif, fins, droit et très mobiles grâce à un flagelle polaire. Ils ont une ciliature monotriche et sont dépourvus de spores et de capsule. Ils sont aérobies strictes, se cultivant facilement sur tous les milieux en aérobiose (Singleton., 2005). Cette bactérie croît à 37°C et même à 42°C. Elle dégage une odeur aromatique de seringa. La caractéristique fondamentale de cette espèce est la production de pigments spécifiques : pyoverdine et pyocyanine, qui donne une couleur bleu-vert aux colonies (Helene., 2003)

Classification

- Domaine : Bactérie
- Phylum : Proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : *Pseudomonasales*

- Famille : Pseudomonaceae

- Genre : *Pseudomonas*

- Espèce : *Pseudomonas aeruginosa* (Garrity et al., 2007).

Habitat

La bactérie est très répandue dans l'eau et les milieux humides. Elle peut aussi coloniser l'homme. Cette bactérie est fréquente en milieu hospitalier entraînant l'apparition de véritables souches d'Hôpital, qui se développent même dans l'eau distillée ou salée (Garrity et al., 2007).

Pouvoir pathogène

La bactérie n'est pas pathogène pour le sujet normal, mais elle peut provoquer des infections parfois sévères chez des sujets dont les défenses sont amoindries.

Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques, pulmonaires, oculaires, ostéo-articulaires mais également surinfecter des lésions cutanées et provoquer des otites externes (Garrity et al., 2007).

Résistance aux antibiotiques

Pseudomonas aeruginosa est très résistante, beaucoup plus aux antibiotiques suivants : Pipéracilline, Ticarcilline, Pristin, Péfloxacine, Trimétoprime+sulfaméthoxazole, Tobramycine.

L'activité de ces antibiotiques sur cette souche doit être toujours vérifiée par un antibiogramme (Garrity et al., 2007).

Exemples des bactéries Gram positif :

- *Staphylococcus aureus*

Définition

C'est une bactérie à Gram positif, aérobie, anaérobie facultatif, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative. son optimum de croissance est atteint à 37°C, mais végète à 10°C et à 40°C, il pousse sur des milieux contenant de fortes concentrations salines comme le milieu Chapman qui comporte 7.5% de NaCl. *S. aureus* provoque sur milieu Chapman un virage au jaune dû à l'acidification produite par la dégradation du mannitol (Helene ., 2003).

Classification

- Domaine : Bactérie.
- Phylum : Ficcus.
- Classe : Micrococci.
- Ordre : Micrococcales.
- Famille : Micrococcaceae.
- Genre : *Staphylococcus*.
- Espèce : *Staphylococcus aureus* (**Garrity et al., 2007**).

Habitat

S.aureus est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (rhino-pharynx, intestin). On le trouve sur la muqueuse nasale d'un tiers environ des sujets normaux et les zones cutanées humides (périnée, aisselles)
Éliminé dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement (**Nauciel, Vild., 2005**).

Pouvoir pathogène

Staphylococcus aureus est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus* car il tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales en plusieurs formes :

Formes cutanées : atteinte plus ou moins sévère des follicules pilo-sébacés, atteinte péri-onguéale. Certaines formes superficielles peuvent se compliquer de lésions bulleuses graves lorsque la souche de staphylocoque est productrice d'exfoliative.

Formes muqueuses : otites, sinusites, mastoïdites, conjonctivites.

Formes généralisées :

-Septicémie succédant à un foyer initial cutanéomuqueux.

-Formes intestinales par absorption de toxine préformée dans des aliments contaminés par *staphylocoque* (**Helene., 2003**)

Résistance aux antibiotiques

S.aureus est en générale multi-résistante aux antibiotiques surtout aux pénicillines G et A, mais elle est sensible aux pénicillines M, macrolides, fluoroquinolones.

- *Streptococcus faecalis* (D)

Définition

Sont des coques de 1µm, Gram-positifs, non-sporulants. Leur Capsule est souvent présente, catalase négatifs, chimioorgano-hétérotrophes, possédant un métabolisme fermentatif. (Singleton., 2005).

Ce groupe est caractérisé par la présence de l'antigène du groupe D qui n'est pas un polysaccharide mais qui est constitué par l'acide teichoïque de la paroi.

Les streptocoques sont des germes exigeants qui ne poussent donc pas sur les milieux de culture ordinaires. Ceux-ci doivent être additionnés de sérum ou de sang frais (Helene., 2003).

Classification

- Domaine : *Bactérie*.
- Phylum : *fimicutes*.
- Classe : *bacilli*.
- Ordre : *lactobacillales*.
- Famille : *Streptococcaceae*.
- Genre : *enterococcaceae*.
- Espèce : *Streptococcus faecalis* (D) (Bonney et al., 2002).

Habitat

Les *streptocoques* regroupent de nombreuses espèces. Certaines sont des parasites de l'espèce humaine (streptocoques des groupes A, C et G de LANCEFIELD), d'autres des commensaux de la muqueuse buccale (*streptocoques* du groupe B et *streptocoques* non groupables et non hémolytiques) ou de la muqueuse génitale (groupe B) ou de l'intestin (*streptocoques* du groupe D) (Helene., 2003).

Pouvoir pathogène

Les streptocoques du groupe D, sont des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux. Elle est responsable d'infections localisées, de septicémies et d'endocardites (Piochon., 2002).

Résistance aux antibiotiques

Les *streptocoques faecalis* du groupe D sont plus accessibles que les entérocoques aux antibiotiques mais des résistances acquises peuvent être observées. Un antibiogramme est

nécessaire pour les détecter. Les infections bénignes répondent bien aux bêtalactamines mais les infections sévères nécessitent une association **bêta-lactamine-aminoside (Piochon., 2002).**

4 Cultures des bactéries

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries, des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de gélose, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à ébullition et de se solidifier à des températures inférieures à 40°C.

En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, les bactéries se déposent à la surface. Lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visibles à l'œil nu, que l'on appelle colonie (si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe.). L'emploi de milieu solide permet ainsi le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon. Il suffit en effet pour cela, d'étaler sur des milieux solides (gélifiés) un volume connu de différentes dilutions de l'échantillon et de compter les colonies obtenues avec la dilution adéquate. Un autre intérêt des milieux solides est qu'ils permettent d'apprécier la morphologie des colonies qui peut varier selon les espèces bactériennes (**Nauciel., Vild., 2005**).

5 Les antibiotiques

5-1 Définition

On appelle « Antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant ou substance chimique produite par synthèse ou encore substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes :

- Activité antibactérienne.
- Activité en milieu organique.
- Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme (**Auckenthaler, Bergogne-Berezin., 1995**).

5-2 Historique

Les antibiotiques existent depuis déjà plusieurs décennies. En 1877 Louis Pasteur et Joubert avaient constaté que la présence de certains contaminants bactériens nuisait à la croissance d'autres espèces bactériennes.

En fait, un médecin britannique, Sir Alexander Fleming, a découvert en 1928 que la moisissure *Penicillium* exerçait un effet bactéricide sur les bactéries pathogènes, qui ne pouvaient se multiplier en sa présence. Grâce à cette observation importante, la pénicilline fut découverte.

Bien que les sulfamidés aient été démontrés bactéricides dès 1935, c'est l'utilisation de la pénicilline lors de la 2^{ème} Guerre mondiale (1939-1945) qui a véritablement lancé l'ère des antibiotiques.

Après plusieurs années d'utilisation des antibiotiques, le Chirurgien Chef des États Unis sonnait en 1969 le glas des maladies infectieuses en affirmant que celles-ci étaient choses du passé.

Entre 1945 et 1980, plusieurs catégories d'antibiotiques ont vu le jour. Chacun de ces produits s'avérant très efficace.

La création de nouveaux antibiotiques s'est par contre arrêtée entre 1980 et 1990, puisque des centaines de ces produits existaient. Cependant, aucune nouvelle classe d'antibiotiques, c'est-à-dire s'attaquant à une cible bactérienne inédite, n'a été commercialisée depuis 25 ans. Ceci constitue un point faible de l'antibiothérapie (Fournier., 2003).

5-3 Critères de Classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon son :

- **Origine** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).
- **Mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.
- **Spectre d'activité** : les espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)
- **Nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse (Auckenthaler, Bergogne-Berezin., 1995).

5-4 Modes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie (**Voir Fig n° 2**).

Ils agissent par :

➤ **Toxicité sélective au niveau de la**

1-Synthèse des peptidoglycanes de la paroi bactérienne (β lactamines, glycopeptides et fosfomycine).

2-Membrane cytoplasmique (Polymixine B et E).

3-Synthèse des protéines (Aminosides, Macrolides-Lincosamides- Streptogramines (MLS), Tétracyclines, Phénicolés).

4-Acides nucléiques (Quinolones et Fluoroquinolones, Rifamycines, Nitrofuranes, Novobiocine et Nitro-imidazoles).

➤ **Inhibition compétitive :**

Dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie (**Auckenthaler., Bergogne-Berezin., 1995**).

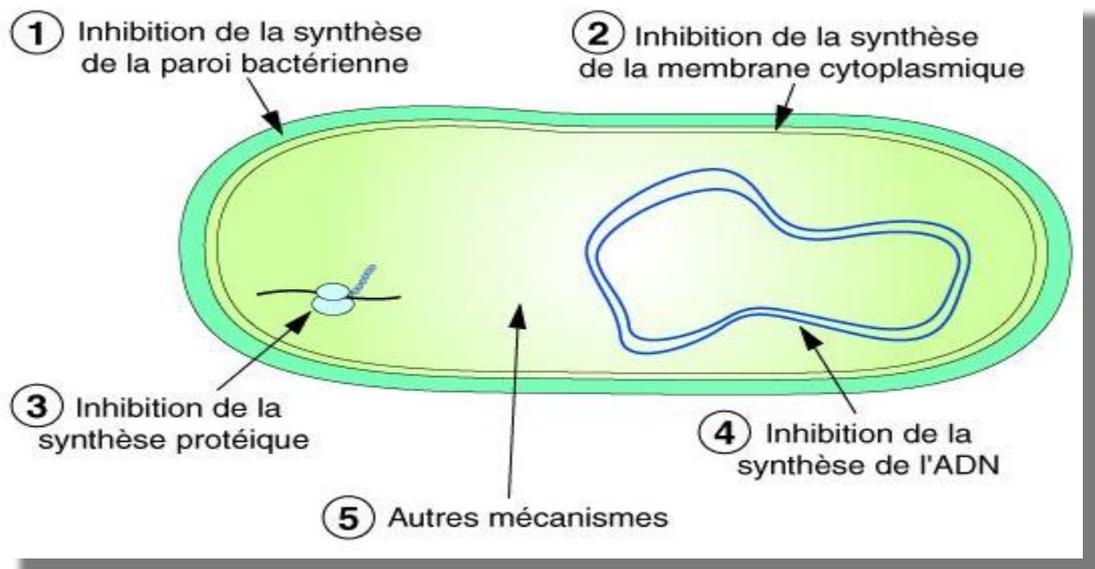


Fig n° 2 : mode d'action des antibiotiques (Auckenthaler, Bergogne-Berezin., 1995).

5-5 Résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance des bactéries aux antibiotiques est soit naturelle, ou acquise.

• **La résistance naturelle**

- Une caractéristique propre, concernant l'ensemble des souches de la même espèce ou du même genre.

- Portée par un chromosome donc toujours transmissible à la descendance.

- Un caractère permettant de définir le phénotype sauvage de l'espèce.
- Une aide à l'identification d'une espèce (**Auckenthaler, Bergogne-Berezin., 1995**).

- **La résistance acquise**

- Ne concerne qu'une proportion plus ou moins importante, variable entre les souches de la même espèce.
- Résulte d'une modification génétique par mutation ou par acquisition de plasmides ou transposons (**Auckenthaler, Bergogne-Berezin., 1995**).

5-6 Mécanisme de Résistance aux antibiotiques

3 principaux mécanismes sont responsables de la résistance aux antibiotiques :

- **Modification de la cible des antibiotiques**

Pour être actif, l'antibiotique doit se fixer d'abord sur une cible. Dans le cas des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) situées dans la membrane cytoplasmiques bactériennes, il peut s'agir soit d'une substitution de ces PLP et ou soit d'une diminution de l'affinité de ces PLP (**Fournier., 2003**)

- **Synthèse d'enzymes inactivant les antibiotiques**

Ex : Les bêta lactamases pour les bêtalactamines.

C'est le cycle bêtalactame qui est hydrolysé et inactivé par les bêtalactamases, entraînant ainsi la perte de l'activité antibactérienne (**Auckenthaler, Bergogne-Berezin., 1995**).

- **Baisse de la perméabilité de la paroi bactérienne**

La synthèse d'une porine ou du lipopolysaccharide peut être affectée, ce qui réduit la perméabilité externe : l'antibiotique ne peut plus atteindre sa cible. Il peut aussi s'agir d'un efflux actif de l'antibiotique de l'intérieur vers l'extérieur de la bactérie (**Auckenthaler, Bergogne-Berezin., 1995**).

Chapitre I

**La phytothérapie et
l'aromathérapie**

1 Généralités sur la phytothérapie

1-1 Définition

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes ». Il s'agit d'une pratique millénaire basée sur un savoir empirique qui s'est transmis et enrichi au fil d'innombrables générations.

On peut distinguer trois types de phytothérapie :

- Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Selon l'OMS, cette phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et encore massivement employée dans certains pays dont les pays en voie de développement. C'est une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'étude clinique.
- Une pratique basée sur les avancées scientifiques qui recherche des extraits actifs des plantes. Les extraits actifs identifiés sont standardisés.

Cette pratique conduit aux phytomédicaments et selon la réglementation en vigueur dans le pays, la circulation des phytomédicaments est soumise à l'autorisation de mise sur le marché pour les produits finis, et à la réglementation sur **les matières premières à usage pharmaceutique (MPUP)** pour les préparations magistrales de plantes médicinales, celles-ci étant délivrées exclusivement en officine (**Gahbiche., 2009**).

On parle alors de pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique.

- Une pratique de prophylaxie déjà utilisée dans l'antiquité. c'est notamment le cas dans la cuisine, avec l'usage de la ciboulette, de l'ail, du thym, du gingembre ou simplement du thé vert... Une alimentation équilibrée et contenant certains éléments actifs étant une phytothérapie prophylactique (**Sabai, Boudali., 2012**).

1-2 Historique

Depuis la création, les hommes se sont tournés vers la nature pour chercher et découvrir empiriquement les moyens de sauvegarder leur santé. Cette recherche s'est approfondie avec l'évolution. Déjà **(40000 ans avant Jésus-Christ)** avant notre ère, les thérapeutes aborigènes d'Australie utilisaient des plantes notamment les feuilles de *MELALEUCA ALTERNIFOLIA*. Mais ce sont surtout les thérapeutes chinois **(4500 ans avant Jésus-Christ)** (**Spichiger., 2002**).

Il est vraisemblable que la première médecine par les plantes, hormis une utilisation presque instinctive des propriétés thérapeutiques des plantes qui existe depuis la nuit des

temps et est toujours pratiquée dans certaines tribus, soit née en Inde, il y a plus de **(4000 ans avant Jésus-Christ)** (Sabai, Boudali., 2012).

Des papyrus datant de **(3500 ans avant Jésus-Christ)** indiquent que les Égyptiens employaient plusieurs centaines de plantes tant pour leurs valeurs culinaires que thérapeutiques. Ces deux usages demeurèrent inextricablement liés pendant des siècles, comme l'écrivait un médecin grec : « que votre nourriture soit votre médecine, et votre médecine votre nourriture » (Sabai, Boudali., 2012).

Le premier texte connu sur la médecine par les plantes est gravé sur une tablette d'argile, rédigé par les Sumériens en caractères cunéiformes **(3000 ans avant Jésus-Christ)** Ils utilisaient des plantes telles que le myrte, le chanvre, le thym, le saule en décoctions filtrées (Sabai, Boudali., 2012).

Les Grecs et les Romains utilisaient également de nombreuses plantes. On en retrouve des références, entre autres, dans l'œuvre de Dioscoride (médecin grec du I^{ère} siècle) (Gahbiche., 2009).

Lorsque les Romains leur succédèrent, leurs médecins militaires propagèrent plantes et herboristerie dans le monde entier. Des quantités de plantes méditerranéennes furent ainsi transplantées dans toute l'Europe et en Angleterre (Gahbiche., 2009).

Au 16^e siècle, les ouvrages d'herboristerie furent essentiellement publiés en langues nationales, et non plus en latin.

Au 18^e siècle, c'est le botaniste suédois **Linné** qui recensent les classifications des végétaux et les premières descriptions (Sabai, Boudali., 2012).

En Europe, les plantes représentent l'essentiel de la pharmacopée jusqu'à la fin du **XIX^e siècle** et l'avènement de la chimie moderne. Encore largement utilisées après la seconde Guerre mondiale, elles furent ensuite supplantées par les médicaments de synthèse plus simple d'emploi (Spichiger., 2002).

La plus grande trouvaille a été faite au XVIII^e siècle, avec la découverte par le botaniste Jussieu du quinquina.

En 1820, deux français : **Pelletier et Caventou** en isolaient **le principe actif** : la quinine.

En France, le diplôme d'herboriste a été supprimé en **septembre 1941** par le gouvernement de Vichy. De 4 500 herboristes en **1941**, ils sont désormais une dizaine tandis qu'en Allemagne ou en Italie, on compte plusieurs milliers d'herboristes.

Actuellement, l'industrie pharmaceutique a pris conscience des limites et du coût de la chimie de synthèse. Beaucoup de molécules artificielles ainsi obtenues ont un faible taux

d'efficacité et présentent par contre de plus en plus d'effets secondaires. C'est pour cela qu'elle se tourne elle aussi vers la nature et a entrepris une vaste étude sur le terrain pour répertorier les plantes les plus prometteuses. De toute façon, plus de 60% des molécules exploitées aujourd'hui par l'industrie sont de près ou de loin originaires du monde végétal (Sabai, Boudali., 2012).

1-3 Les formes d'utilisation des plantes

1-3-1 Les tisanes : Utilisation des plantes sèches :

Les tisanes sont obtenues par macération, digestion, infusion ou décoction en utilisant de l'eau

- **L'infusion :**

Elle consiste à verser sur la plante de l'eau bouillante, couvrir et laisser refroidir 2 à 15 minutes. Elle convient aux plantes fragiles (fleurs et feuilles) (Sabai, Boudali., 2012).

- **La décoction :**

Elle consiste à maintenir la drogue avec de l'eau à ébullition pendant une durée de 15 à 30 minutes. Elle convient aux plantes "dures " (écorces, racines, fruits et certaines feuilles) (Sabai, Boudali., 2012).

- **La macération :**

Il s'agit de maintenir la plante en contact avec l'eau (température ambiante) pendant 30 minutes à 4 heures (Sabai, Boudali., 2012).

- **La digestion :**

On maintient la plante en contact avec l'eau (température inférieure à celle de l'ébullition, mais supérieure à la température ambiante) pendant 1 à 5 heures (Sabai, Boudali., 2012).

1-3-2 Les poudres :

Préparées par pulvérisation suivie d'un tamisage, elles entrent directement dans la composition des gélules mais servent aussi à la fabrication d'autres formes galéniques comme les extraits et les teintures (Sabai, Boudali., 2012).

- **Les extraits :**

Les extraits sont obtenus en traitant la plante dans une solution vaporisable (éther, eau, alcool,...) par divers procédés d'extraction (macération, digestion, infusion, digestion, lixiviation) puis en évaporant ces solutions jusqu'à obtenir une consistance fluide, molle ou sèche. On les classe donc selon leurs consistances (Sabai, Boudali., 2012).

- **Teintures :**

Elles sont obtenues à partir de poudres végétales sèches et leur titre alcoolique varie selon le type de drogue. Il peut être à 60° (principes actifs très solubles), à 70 ou 90° à 80° (ex. Produits résineux et huiles volatiles) (**Sabai, Boudali., 2012**).

1-3-3 Alcoolatures :

Ce sont des teintures préparées avec des plantes fraîches n'ayant donc pas subi les effets de la dessiccation. .

1-4 Les principes actifs des plantes

1-4-1 Les saponines (ou saponosides)

Les saponosides (savon –saponaire) sont des hétérosides naturels dont la matière est un composé soluble à l'eau qui la rend moussante comme une eau de savon (**Sabai, Boudali., 2012**).

1-4-2 Les alcaloïdes (-ine)

Ce sont des substances toxiques et parfois à faibles doses et qui ont des effets thérapeutiques connues. C'est une substance organique azotée d'origine végétale, à caractère alcalin, de structure complexe. On trouve des alcaloïdes dans plusieurs familles de plantes et on en connaît plus de mille (**Sabai, Boudali., 2012**).

1-4-3 Les tanins

Le tanin c'est un **phénol** qui est associé à un sucre. Un des tanins de base est l'acide gallique. Ils précipitent (agglutiner) les protéines et la gélatine ce qui est beaucoup plus rare (**Sabai., Boudali., 2012**).

1-4-4 Les flavonoïdes (lat. flavus, jaune)

Ils sont présents dans la plupart des plantes, ce sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres à colorer les fleurs et les fruits en jaune et en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales (**Sabai., Boudali., 2012**).

1-4-5 Les terpènes

Ce sont des produits naturels, formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta-carbonées ramifiées dérivées du 2-méthyl butadiène, appelées unités isopréniques (**Iserin., 2001**).

1-4-6 Les mucilage

Sont des hétérosides en grosses molécules liées à des gommés qui sont d'énormes concrétions de sucres. Ils vont déposer spontanément sur les tissus et vont agir comme protecteur (Iserin., 2001).

1-4-7 Les hétérosides (ou glucosides)

Ce sont des molécules de sucres qui sont liées soit à une fonction **phénol** soit à un dérivé nitré ou soufré qui donnera des propriétés particulières à la molécule (Sabai, Boudali., 2012).

1-4-8 Les anthocyanes

A forte dose, les anthocyanes sont des poisons *apparentés au cyanure*. Ce sont des dérivés de l'acide cyanhydrique (produit de la combinaison de l'hydrogène avec le cyanogène) (Iserin., 2001).

On les trouve dans les fleurs bleues (bleuet, violette, mauve) (Sabai, Boudali., 2012).

1-4-9 Les vitamines

Substances aminées nécessaires, en faible quantité, au maintien de la vie. Les vitamines sont des substances qui agissent à faibles doses. On distingue les vitamines hydrosolubles et liposolubles. Les plantes fournissent quasiment toutes les vitamines (Sabai, Boudali., 2012).

2 Généralités sur l'aromathérapie

2-1 Définition

Le terme aromathérapie vient du chimiste Français René-Maurice Gattefosse, qui a utilisé l'huile essentielle de lavande pendant la première guerre mondiale pour soigner des blessures et des infections.

C'est une branche de la phytothérapie, du grec « aroma » qui signifie odeur et « thérapia » qui signifie soin, est une méthode de soin naturel par les huiles essentielles utilisées seules ou diluées dans des huiles végétales pures et naturelles, elles permettent de rééquilibrer l'organisme physiquement et psychiquement.

C'est une thérapeutique naturelle d'une remarquable efficacité, qui repose sur la relation existant entre les principes actifs contenus dans les huiles essentielles et les propriétés thérapeutiques qui en découlent (Roulier., 1995).

2-2 Historique

L'histoire de l'aromathérapie peut se résumer en quatre grandes époques :

-La première est celle au cours de laquelle étaient utilisées des plantes aromatiques telles que, dans l'alimentation, puis sous forme de macérations et ensuite sous forme d'infusions ou de décoctions.

-Dans la seconde période les plantes aromatiques étaient brûlées ou mises à infuser ou à macérer dans une huile végétale ; c'est à cette époque qu'apparaît la notion d'activité liée à la substance odorante.

-La troisième époque qui cherche à extraire cette substance odorante, c'est la naissance du concept d'huiles essentielles, qui aboutit à la création et au développement de la distillation.

Puis arrive la période moderne, dans laquelle l'étude et la connaissance des composants des huiles essentielles permettent d'expliquer les activités physiques, chimiques, biochimiques et électriques des arômes végétaux.

Cette thérapeutique a ainsi voyagé et évolué à travers les siècles. Mais si l'aromathérapie est devenue ce qu'elle est à notre époque c'est grâce aux connaissances et aux procédés de fabrications des trois grands berceaux géographiques de la civilisation aromatique que sont **l'Inde, la Chine et le Bassin Méditerranéen**. (Gilly., 2005).

Le continent Indien est une des régions du monde la plus riche en plantes aromatiques, elles y sont de longue date à l'honneur dans le traitement des troubles de santé. Il y a plus de **(7000 ans avant Jésus-Christ)** les eaux aromatiques y étaient connues et utilisées. (Hallal., 2011).

En Chine, il y a environ **(4500 ans avant Jésus-Christ)**, **Shen Nung** a rédigé le plus ancien traité de phytothérapie dans lequel il cite de nombreuses plantes aromatiques.

Vers la même époque le **HUANG DI NEI JING SU WEN**, écrits à l'empereur **Huang Di**, un livre qui fait référence à l'utilisation de préparations oléo-aromatiques pour le massage.

Des écrits datant d'environ **(3000 ans avant Jésus-Christ)** décrivent de nombreuses formules de bains et de massages ou entrent la cannelle, la cardamome, le gingembre et la myrrhe. (Hallal., 2011).

Autour du **Bassin Méditerranéen** l'usage des plantes aromatiques occupait une place prépondérante aussi bien dans la vie quotidienne que lors de rituels.

En Égypte, entre **(3000 et 2000 ans avant Jésus-Christ)** des écrits attribués à **Imhotep** indiquent des recettes se rapprochant de celles de l'aromathérapie moderne.

Les Perses, (1000 ans avant notre ère), semblent être les inventeurs de la distillation proprement dite. Il faudra attendre **(2000 ans)** pour voir ce procédé être sensiblement perfectionné.

Les Romains apporté la connaissance des propriétés thérapeutiques des huiles, transmise et affinée depuis Dioscoride. Un très ancien alambic datant de l'époque romaine et fabriqué en terre cuite a été retrouvé récemment en Italie.

Les arabes permirent une évolution considérable de la chimie et de la technique de distillation. Bien que l'intérêt thérapeutique des huiles essentielles ne fût que peu connu à l'époque, on peut leur attribuer le titre de « fondateurs de l'aromathérapie ».

L'avènement de la civilisation industrielle entraîna un oubli presque total de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Les travaux expérimentaux qui démontrèrent les capacités des huiles essentielles à neutraliser les germes sonnèrent le renouveau de l'aromathérapie ; ces recherches furent entreprises **en France par Chamberland en 1887**.

Le terme aromathérapie fut forgé en **1928 par René-Maurice Gattefossé** qui poursuivit ses travaux et ses recherches sur les huiles essentielles pendant plusieurs années.

C'est dans **les années 70** que **Jean Valent** amorça un mouvement de renaissance du courant français, en travaillant sur l'extraordinaire puissance curative des huiles essentielles. La publication de son ouvrage **AROMATHERAPIE** lança une nouvelle vague d'intérêt auprès du grand public et un grand nombre de médecins intégrèrent cette thérapeutique à leur arsenal.

Dans la seconde moitié **des années 70** de nombreux médecins, tel que **Daniel Penoël** pharmaciens, biologistes et chercheurs tel que **Pierre Franchomme**, étudièrent les huiles essentielles et poursuivirent leurs travaux en aromathérapie. Sur le plan scientifique, ils enseignent que les huiles essentielles ne sont pas des corps simples mais des assemblages de molécules diverses, ayant chacune leurs propriétés particulières (**Hallal., 2011**).

2-3 Les huiles essentielles

2-3-1 Définition

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante (**Laib., 2011**).

Il s'agit d'un mélange de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. Extraites de la plante grâce à des procédés physiques tels l'hydro distillation, l'entraînement à la vapeur ou par expression à

froid dans le cas des agrumes, les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique des plantes aromatiques (AFNOR., 1986).

Les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.). Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétal et contenue dans les cellules de la plante, soit dans les fleurs, soit dans les sommités fleuries, soit dans les feuilles, ou dans l'écorce, ou dans les racines, ou dans les fruits, ou dans les graines ou encore autre part dans la plante. (Laib., 2011).

2-3-2 Localisation et lieu de synthèse des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont produites dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors stockées dans des cellules à huiles essentielles (Lauraceae ou Zingiberaceae), dans des poils sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (Apiaceae ou Asteraceae). Elles peuvent aussi être transportées dans l'espace intracellulaire lorsque les poches à essences sont localisées dans les tissus internes.

Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur caractère lipophile et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air (Botton, Bertron., 1990).

2 -3-3 Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs procédés différents pour extraire les huiles essentielles des plantes :

A- La distillation

➤ Hydrodistillation

Ce mode d'extraction a été proposé par Garnier en 1891, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les HE et pouvoir les séparer à l'état pur mais aussi de fournir de meilleurs rendements. Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparée par différence de densité (Botton, Bertron., 1990).

➤ **Distillation par entraînement à la vapeur d'eau**

Dans ce type de distillation le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau, la vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant, cette méthode apporte une amélioration de la quantité de l'HE en minimisant les altérations hydrolytique (**Bruneton., 1993**).

➤ **Hydrodiffusion**

Cette technique est relativement récente. Elle consiste à faire passer du haut vers le bas, et à pression réduite la vapeur d'eau au travers la matière végétale, l'avantage de cette méthode est plus rapide donc ; moins de dommage pour les composés volatils (**Bruneton., 1993**).

B- L'extraction à froid

Elle constitue le plus simple des procédés mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences, ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les restes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence, le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence car il n'a subi aucune modification chimique (**Bruneton., 1993**).

C- L'extraction par les solvants

Ce procédé est utilisé dans le cas de plante qui contiennent peu d'huile essentielle. Les plantes sont placées dans un extracteur mélangées à un solvant. Lorsque ce solvant se trouve saturé d'huile essentielle, il est distillé, ce qui permet d'obtenir une pâte crémeuse dénommée "concrète". Celle-ci est lavée à l'alcool puis glacée et filtrée. Seul l'alcool est conservé car il est chargé en parfum. Il faut alors procéder à une dernière opération qui consiste à faire évaporer cet alcool, il ne reste finalement que l'essence de la plante. Cependant, il faut savoir que cette technique ne permet pas d'obtenir des huiles essentielles totalement pures puisqu'elles contiennent encore un faible pourcentage de solvant (**Bruneton., 1993**).

D- L'extraction mécanique

Il s'agit d'extraire les huiles par expression de l'écorce de fruits frais. Ceux-ci sont placés dans une cuve comportant des sortes de râpes qui vont presser les glandes contenant les huiles essentielles. Celles-ci sont recueillies puis filtrées (**Bruneton., 1993**).

E- L'extraction par fluide à l'état supercritique

L'extraction par gaz liquéfié ou par fluide à l'état supercritique met en œuvre généralement le CO₂. Dans ce système, le solvant est utilisé en boucle par interposition d'échangeurs de chaleur, d'un compresseur et d'un détendeur afin de porter le solvant à l'état désiré à chaque stade du processus. La séparation de l'extrait a lieu en phase gazeuse par simple détente (**Bruneton., 1993**).

F- L'extraction par infusion :

Dans ce cas, il faut macérer la plante après l'avoir réduite en petits morceaux et mélanger à de l'huile d'olive. Cette opération peut prendre plusieurs jours jusqu'à ce que les constituants soient tous absorbés par l'huile d'olive. Une fois cette étape terminée, il suffit de filtrer l'ensemble afin de retirer tous les résidus d'huiles essentielles (**Bruneton., 1993**).

2-3-4 Conservation des huiles essentielles

Après distillation, les huiles essentielles doivent être filtrées, puis stockées dans des cuves hermétiques inaltérables entreposées dans une cave fraîche. Leur mise en bouteille doit se faire uniquement dans des flacons en verre opaque brun ou bleu pour assurer leur conservation à l'abri de la lumière et de l'oxygène (**Gahbiche., 2009**).

2-3-5 La composition chimique des huiles essentielles

Le nombre des molécules chimiquement différentes qui constituent une huile essentielle est variable (**Belaiche., 1979**). A côté des composés majoritaires (entre 2 et 6 généralement), on retrouve des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces (**Laib., 2011**).

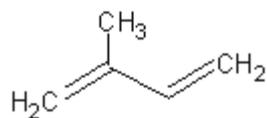
Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes.

❖ **le groupe de terpénoïdes (C₅H₈) n.**

❖ **le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C₆-C₃).**

La structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés. Cette structure varie en fonction :

❖ Du nombre de résidus isoprènes (C₅H₈) que groupent les composés terpéniques :



Isoprene

Fig n° 3 : Structure d'isoprène (Benayad., 2008).

- Les monoterpènes, formés de deux isoprènes, (C₁₀H₁₆).
- Les sesquiterpènes, formés de trois isoprènes, (C₁₅H₂₄).
- Rarement les diterpènes, formés de quatre isoprènes, (C₂₀H₃₂).
- ❖ Du caractère saturé ou insaturé des liaisons
- ❖ De leur agencement : linéaire ou cyclique
- ❖ De la configuration spatiale (forme de chaise, de bateau, de trièdre...).
- ❖ De la nature des groupes fonctionnels à savoir :
 - Terpènes : R₁-HC=CH-R₂.
 - Alcools terpéniques : R-OH.
 - Cétones: R₁-CO-R₂.
 - Phenols: C₆H₆-OH.
 - Aldéhydes : R-CHO.
 - Esters : R₁-COO-R₂.
 - Éthers : R₁-O-R₂. (14)

2-3-6 Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles

Les HE présentent une très grande variabilité, car étant formées de mélanges généralement complexes, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs, on distingue deux catégories des facteurs :

- ❖ **Facteurs intrinsèques** : liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, à l'interaction avec l'environnement (type de sol ou climat, ...) et au degré de maturité du végétal concerné, voire au moment de la récolte au cours de la journée (**Besombes., 2008**).
- ❖ **Facteurs extrinsèques** : en lien avec la méthode d'extraction, le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des HE, des pertes considérables d'HE lors d'un stockage prolongé au congélateur, mais peu d'évolution de la composition en plus la nature du sol, la température et l'humidité (**Besombes., 2008**).

2-3-7 Les propriétés des huiles essentielles

➤ Propriétés physico-chimique

Les huiles essentielles forment un groupe très homogène. Les principales caractéristiques sont :

- Liquides à température ambiante.

N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.

- Volatiles et très rarement colorées.
- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes.
- Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse.
- Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau.
- Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques.
- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air (Laib., 2011).

➤ Toxicité des huiles essentielles

Par leur composition chimique riche, les huiles essentielles doivent être utilisées avec une extrême prudence, du fait qu'elles peuvent présenter de très graves dangers lors d'une utilisation aléatoire autonome, surtout que le consommateur est attiré par la facilité d'emploi de ces essences en absorption interne ou en application externe, en ignorant que certaines sont plus rapidement dangereuses que les autres. D'autres sont à éviter durant la grossesse, ou interdites aux personnes souffrant d'épilepsie, d'hypertension ou d'affections dermatologiques.

En règle générale, les huiles essentielles ont une toxicité aiguë par voie orale faible ou très faible : une DL 50 comprise entre 2 et 5 g/kg pour la majorité des huiles couramment utilisées.

Tandis que la toxicité chronique est assez mal connue. Reste à savoir que dans leur emploi externe, les risques de toxicité sont fortement réduits.

Les huiles essentielles peuvent provoquer : agitation, tremblements généralisés, coma, hématurie, néphrite aiguë, ivresse, congestion cérébrale et pulmonaire, dépression du tonus

sympathique, hallucination, spasmes musculaires etc. Dans certains cas la neurotoxicité de quelques huiles peut nécessiter l'hospitalisation.

En ce qui concerne leur cancérogénicité, il faut noter la présence de constituants "allylethylpropénylphénols" de certaines huiles qui sont capables d'induire l'apparition de cancers (chez les rongeurs). Mais actuellement, l'apiol, le dillapiol, l'eugénol et la myristicine ne sont pas considérés comme cancérogènes. Ainsi le cinnamaldéhyde n'induit pas l'apparition de tumeurs, dans certaines conditions (**Benzeggouta., 2005**).

2-3-8 Les activités biologiques des huiles essentielles

➤ **Antibactérienne**

Grace aux **phénols** (carvacrol, thymol) qui possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé, suivi des **monoterpénols** (géraniol, menthol, terpinéol), **aldéhydes** (néral, géranial) (**BENAYAD, 2008**).

➤ **Antivirale**

Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des problèmes non résolubles. Les HE constituent une aubaine pour traiter ces fléaux infectieux, les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques (**Benayad., 2008**).

➤ **Antifongique**

Les huiles essentielles ou leurs Composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes (**Benayad., 2008**).

➤ **Antiparasitaire**

Le groupe des **phénols** possède une action puissante contre les parasites (**Benayad., 2008**).

➤ **Antiseptique**

Les **aldéhydes** et les **terpènes** sont réputés pour leurs propriétés désinfectantes et antiseptiques et s'opposent à la prolifération des germes pathogènes (**Benayad., 2008**).

2-3-9 Les mode d'action des huiles essentielles

Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude qui puisse nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des HE. Étant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des HE ait son propre mécanisme d'action. L'activité antibactérienne est attribuable par plusieurs mécanismes d'action:

- **Dégradation des constituants des parois bactériennes**

-de la perméabilité membranaire.

-Lyse bactérienne et mort.

- **Trous dans la membrane**

-Déséquilibre osmotique.

-Sortie de matériel cytoplasmique.

-Mort cellulaire.

- **Coagulation du cytoplasme.**

- **Interactions avec les ribosomes**

-Arrêt de la synthèse des protéines.

-Mort cellulaire. (Laib., 2011).

2-3-10 L'utilisation des huiles essentielles

➤ **En aromathérapie**

Les HE sont largement utilisés pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HE ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries, **La listerine** qui est une solution constituée d'HE de **thymol** et d'**eucalyptol** possède une grande activité bactéricide sur les microorganismes de la salive et de la plaque dentaire.

Les huiles essentielles de thym et de romarin ont été utilisées pour soulager la fatigue, les maux de tête, les douleurs musculaires et quelques problèmes respiratoires.

Malheureusement, ces prescriptions ne possèdent pas de bases scientifiques rigoureuses car elles sont souvent tirées de pratiques et de tâtonnements empiriques.

Des études très récentes ont montré que le géraniol a une action sur les cellules cancéreuses du colon, en plus de l'activité anti-inflammatoire, récemment mise en évidence (Laib., 2011).

➤ **En parfumerie et cosmétologie**

L'utilisation des HE dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et antioxydante, tout en leur assurant leur odeur agréable. (Laib., 2011).

➤ **En industrie alimentaire**

En industrie alimentaire, des nouvelles techniques pour réduire la prolifération des micro-organismes réside dans l'utilisation des HE. Les plantes aromatiques et leur HE sont

utilisés dans la conservation des denrées alimentaires. Parmi le groupe diversifié des constituants chimiques des HE, le carvacrol, qui exerce une action antimicrobienne bien distinguée, est additionné à différents produits alimentaires en industrie agro-alimentaire. Ils y sont rajoutés pour rehausser le goût et pour empêcher le développement des contaminants alimentaires. Plusieurs travaux ont montré que les HE de thym, d'origan, de cannelle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxigenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infections alimentaires (**Laib., 2011**).

➤ **Utilisation en aéro-ionisation**

Dans les locaux, on peut aseptiser l'atmosphère avec un ionisateur d'huiles essentielles. Il se forme ainsi des aérosols vrais aromatiques, ionisés, créant de l'oxygène naissant ionique, fortement bactéricide, tout en contribuant à dépolluer l'atmosphère.

Elles servent dans la fabrication du " paragerm ", solution volatile à base d'essences naturelles (citron, lilas) à activité bactéricide, acaricide et fongistatique qui s'est révélée sans aucune toxicité pour l'homme aux doses utilisées (**Laib., 2011**).

Chapitre III

Ocimum basilicum L

1 Le basilic commun

Le basilic vient du latin *basilicum* qui l'a emprunté au grec *basilikos*, « petit roi » (Lahiouel, Boussaha., 2009), cette plante médicinale à plusieurs appellations :

Noms communs

Français : *basilic, basilic commun, basilic aux sauces, le basilic romain, herbe royale, oranger des savetiers, basilic officinal «Pistou»*, ce dernier mot, d'origine provençale, signifiant « broyer, piler », tout comme *pesto* d'ailleurs, son équivalent italien, *basilic des cuisiniers, balico* (Lahiouel, Boussaha., 2009 ; Duke., 2001).

Allemand : *Basilie, Basilikum, Basilienkraut, gemeinesBasi -Lienkraut.*

Anglais: *Sweet basil*

Arabe: *Rehan, Habek*

Chinois : *Luo le*

Espagnol : *Albacar, Albahaca, Alfabreguera, Alfàbrega, ocimo.*

Grec : *Basilicum*

Indien : *Babuitulsi*

Italien : *Basilico*

Portugais : *Alfavaca-cheirosa, Alfavacão.*

Russe : *Bazilik.*

Nom latin (scientifique) : *Ocimum basilicum* L (Lahiouel, Boussaha., 2009 ; Duke., 2001 ; Hanelt., 2001).

2 Historique

Ce n'est qu'en 1398 qu'on a commencé à l'employer pour désigner l'aromate, possiblement parce que, selon certains, son arôme est tel, qu'il peut figurer sur la table des rois, ou qu'il faisait traditionnellement partie d'un onguent ou d'un médicament magistral (Lahiouel, Boussaha., 2009).

Le basilic est une herbe royale originaire de l'Asie du sud ouest où il est connu il y a plus de 5000 ans, de l'Asie, plus précisément des Indes où il est exclusivement utilisé autour des sanctuaires on l'offre aux dieux indiens *Vishnou* et *Krishma* (Addan., 2005) Est une plante à **forte connotation religieuse** dans de nombreuses confessions : en Inde, dans la Grèce antique, chez les orthodoxes et même dans la religion catholique : c'est la plante qui pousse autour du tombeau du Christ après sa résurrection. Une tige de basilic placée sur la poitrine du mort le protège des esprits malveillants et il est utilisé par les **hindous** lors des funérailles pour protéger l'âme des défunts (Lahiouel, Boussaha., 2009).

Il est entré en Afrique par l'Égypte où **Les égyptiens** considéraient cette plante comme une herbe de protection pour les morts dans leur voyage vers l'au-delà et il fait partie de la dizaine d'herbes utilisée pour la momification.

De l'Égypte, il est remonté jusqu'à Rome et s'est étendu à toute l'Europe méridionale.

La France a connu le basilic au XII^e siècle avec le retour des croisades, l'Angleterre au XVI^e siècle.

L'huile essentielle de basilic est connue depuis le XIV^e siècle et utilisée principalement dans les troubles gastriques et intestinaux mais aussi pour combattre la fatigue nerveuse.

L'Amérique n'a connu le basilic qu'avec l'arrivée des premiers colons sur le nouveau continent au XVII^e siècle (**Addan., 2005**).

3 Description botanique

La hauteur et le port de la plante ainsi que la couleur des feuilles et des fleurs varient énormément d'une variété à l'autre. Le basilic est une petite herbe annuelle trapue, très aromatique appartenant à la famille des labiées .Il offre les caractères botaniques suivants :

- **Le système racinaire** est de type pivotant, la racine souvent assez grosse et dure, brune et fibreuse.
- **La tige** de 15-60 cm de haut, droite, dressée, ramifiée, quadrangulaire, verte ou rougeâtre presque glabre à la base et duveteuse vers le sommet, les rameaux sont opposés en croix.
- **Les feuilles** sont de 2-5 cm de long et d'environ 12mm de large, a une couleur vert vif elles sont opposées, pétiolées, ovales, lancéolées, a pointé émoussée, les bords sont dentèles ou entiers et pubescents, une nervures latérales courbées traversent la feuilles qui est glabre.
- **Les fleurs** crème, blanche, rose ou violacée ou multicolores selon la variété. Sont odorantes et disposées en ombelles, axillaires aux parties supérieures de la tige ou aux extrémités des branches et munies a leur base 2 petites bractées de 1-1,5 cm. Hermaphrodites ,mesurant 0.72-1.25 cm de long , apparaissent au début de l'été .
Le calice campanulé, bilabiée, possède 5 dents et persiste après la chute de la corolle
La dent supérieur est plate, très grande, presque orbiculaire.

La corolle porte deux lèvres (bilabiée) qui **sont disposées en sens contraire de celles du calice** : une supérieure constituée de quatre lobes courts égaux et une inférieure plus longue, concave et arrondie. La corolle s'oriente le plus souvent vers le soleil.

Chaque fleur porte 4 étamines inégales sortant de la corolle, style filiforme à stigmates divisés en deux lobes à leur extrémité (bifide), ovaire bicarpellé.

- **Les fruits** renfermant 4 petites graines ovoïdes et lisses brunes.
- **Les graines** fines, oblongues, sont de couleur marron foncé et de forme ovoïde (Voir Fig n°7) (Lahiouel, Boussaha., 2009 ; Addan., 2005 ; Lauzar., 1868 ; Mulot., 2005).



(a)



(b)



(c1)



(c2)



(d)

Fig n°4 : *Ocimum basilicum* L (a), Les feuilles (b), Les fleurs L (c1, c2), Les graines (d)

(2).

4 Taxonomie :

Règne : Plantae.

Division : Magnoliophyta.

Classe : Magnoliopsida.

Ordre : lamiales.

Famille : Lamiaceae.

Sous-famille : népétoidés.

Genre : *Ocimum*.

Espèce : *O.basilicum L (Lahiouel, Boussaha., 2009)*.

5 Répartition géographique

Le basilic commun, originaire de l'Inde et de régions tropicales asiatiques est répandu dans toutes les régions chaudes ainsi que dans les régions à climat méditerranéen (**Aiboud., 2012**).

6 Culture et Acclimatation

La culture du basilic nécessite un climat chaud et ensoleillé, méditerranéen ou tropical. Il peut aussi se cultiver en pays tempérés, soit en pots ou jardinières, ou en pleine terre moyennant quelques précautions (**Addan., 2005**).

a- Type de sol

Le basilic a besoin d'une température d'au moins 7 à 27 °C et d'un pH de 5 à 8 avec une pluviométrie de 600-4200 mm et une altitude variant entre 0 et 1800. Les champs doivent être situés en plein soleil entre 5 et 10 heures de soleil par jour ou 12 heures de lumière artificielle, et le sol doit être léger, fertile et bien drainé et riche en matière organique (**Addan., 2005**).

b- Culture

Une bonne préparation du sol par des travaux superficiels ou profonds est donc indispensable pour le développement optimum de la culture. La profondeur de semis doit se situer entre 5-6 mm et les graines doivent être recouvertes très légèrement de terre, généralement semé en rangées distantes de 60 cm, les plants étant espacés de 30 cm. En fonction de la profondeur de semis et le type de sol (**Addan., 2005**).

c- Multiplication

Le semis est le principal mode de propagation du basilic. Au moment de la germination, qui a lieu dans les 10 à 15 jours suivant le semis, on modère les arrosages puisque les jeunes

plantules sont très fragiles à la fonte des semis. Lorsqu'ils atteignent 15 cm de hauteur, on pince les jeunes plants afin de favoriser l'apparition de nouvelles tiges (Addan., 2005).

d- La récolte

La récolte du basilic a lieu lorsque les plantes ont atteint au moins 15 cm de haut. Si le basilic est cultivé pour ses feuilles, la coupe s'effectue juste avant l'apparition des premières fleurs. La coupe doit s'effectuer de manière à favoriser la repousse en laissant des nœuds sur la tige. Le nombre de coupe est de 1-3 dans les régions tempérées tandis que dans les régions tropicales, on peut aller jusqu'à 8 coupes. Les rendements en matières fraîches des feuilles du basilic, en zones tempérées, sont de l'ordre de 15 -20 t.ha⁻¹, avec une teneur en huile essentielle des feuilles sèches de 0,7 %. Les rendements en feuilles fraîches de basilic sont de 8-18 t.ha⁻¹. Le rendement potentiel est estimé à 25 t.ha⁻¹ (Addan., 2005).

e- La conservation

-Séchoir : le basilic perd beaucoup de son arôme au séchage. Il est donc préférable de le consommer frais ou congelé. Toutefois, pour certaines recettes traditionnelles, on exige du basilic séché. Dans ce cas, le ciseler finement et le mettre à sécher à l'ombre sur un cadre recouvert de gaze ou de toile moustiquaire, ou au déshydrateur.

-Réfrigérateur : hacher les feuilles et les mettre dans de l'huile d'olive avec du gros sel. Fermer hermétiquement le pot et garder au réfrigérateur (Lahiouel, Boussaha., 2009).

7 Composition chimique

La drogue d'*Ocimum basilicum L* contient une huile essentielle, elle contient aussi des tanins des flavonoïdes, et des saponosides.

7-1 L'huile essentielle

a- Teneur : La teneur d'*Ocimum basilicum L* en huile essentielle varie entre (0,4 à 7ml /kg) dont les composants majoritaires diffèrent selon la variété l'origine géographique (chimiotype) et la période de récolte (Lahiouel, Boussaha., 2009 ; Wicht, Anton., 1999).

La composition de cette huile change avec la provenance de la plante par exemple :

-L'huile essentielle du basilic des îles de l'Océan Indien contient surtout de *l'estragole* (= *méthylchavicol*), avec d'autres *terpènes* en petites quantités (*cinéol, fenchol, linalol et méthyle-eugénol*) (Lahiouel, Boussaha., 2009).

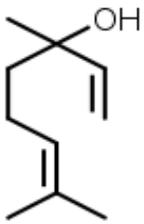
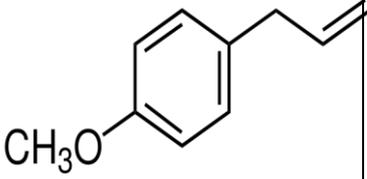
-En Europe la plante contient plus de *linalol* (jusqu'à 85 %) ou de *méthyle-eugénol*.

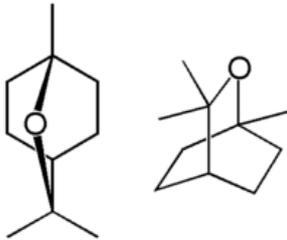
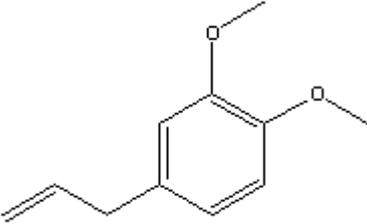
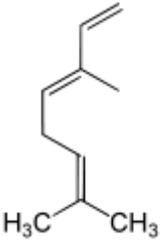
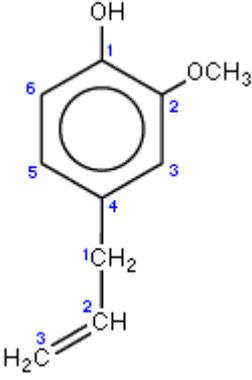
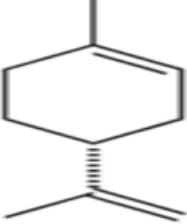
- **Autres composants**

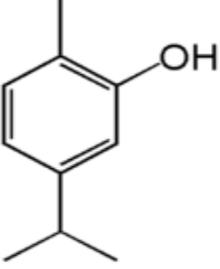
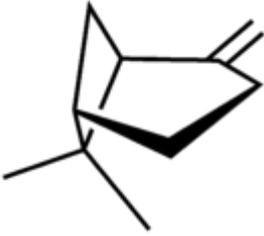
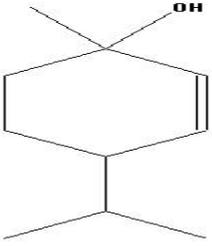
Monoterpènes (Ocimène, limonène, alpha-pinène, bêta-pinène, sabinène, myrcène) (Lahiouel, Boussaha., 2009).

Sesquiterpènes (Méthyle cinammate, B-caryophyllène (E)-alpha-bergamotène, gamma-cadinène).

Tableau n° 1 : Structure des principaux composants d'huile essentielle d'*ocimum basilicum L* et leurs propriétés.

Composant	Structure	Propriétés
<i>Linalol</i>		<p>Anti-infectieux : bactéricide, virocide et fongicide à utiliser parallèlement aux phénols selon les cas lors d'infections qui sont également d'excellents immunostimulants.</p> <p>Moins violents que les phénols, les alcools sont en effet de remarquables toniques généraux, plus spécifiquement neurotoniques.</p> <p>Moins hyperthermisants et hypertensifs, ils n'ont pas la toxicité des phénols : non dermocaustiques, non hépatotoxiques</p>
<i>Estragole</i> : Méthylchavicol	 <p>[93]</p>	<p>Anti-inflammatoire. Antiallergique. Pouvoir anti-infectieux .Antispasmodique.</p> <p>Particulièrement efficace dans tous les troubles spastiques, en particulier en cas de dysménorrhée. Fortement anti-infectieux et immunostimulants. Ils agissent en hyper : hyperthermisants, hypertensifs. Toniques à faible dose ils deviennent excitants à dose plus élevée.</p>

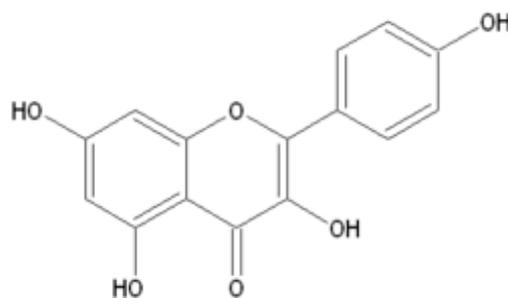
<p><i>Eucalyptol</i> (1,8scinéole)</p>	<p>[93]</p> 	<p>Antifatigue ; Anti-inflammatoire ; Antipharyngitic ; Antiseptique ; Antispasmodique Antistaphylococcique.</p>
<p><i>Méthyle eugéol</i></p>		<p>Antispasmodique. Anti-infectieux les phénols méthyle-éther possèdent des propriétés antispasmodique et antalgiques doublées d'un effet de recharge et de tonification à la différence des esters qui sont apaisants. Les phénols méthyle-éther fortement anti-infectieux et immunostimulants.</p>
<p><i>Ciménte :</i></p>		<p>Antispasmodique. Pouvoir anti-infectieux.</p>
<p><i>Eugéol</i></p>		<p>antiseptique et analgésique.</p>
<p><i>Limonène</i></p>		<p>Stimulant général. Antiseptique atmosphérique.</p>

Carvacrol		Antibactérien. Anti-infectieux.
Beta-pinene		Allergénique, Antinflammatoire; Antiseptique; Antispasmodique
Myrcène		Stimulant du système immunitaire. Utile en cas de douleurs localisées : ils sont donc antalgiques à action percutanée. Leur utilisation doit être limitée dans le temps sinon ils deviennent dermocaustiques et agressifs pour les muqueuses.

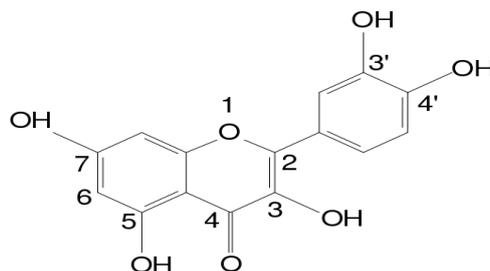
(Benayad., 2008).

7-2 Les flavonoïdes

Kaempférol : structure (Benayad., 2008).



Quercétine : structure (Benayad., 2008).



- **Autres flavonoïdes**

Lutéol-7-glucoside, vicénine (D-glucopyranosylapigénol) et l'orientine (Wicht, Anton., 1999).

7-3 Les tanins

- Teneur : le basilic contient 5% de tanins.

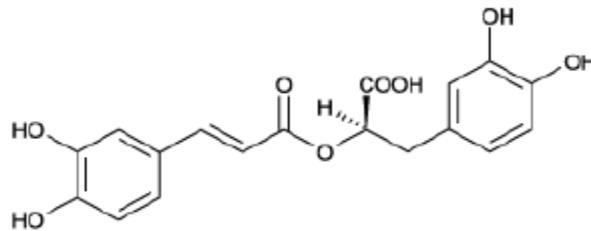
Le basilic renferme les tanins des lamiacées (Wicht, Anton., 1999).

7-4 Les poly-phénols

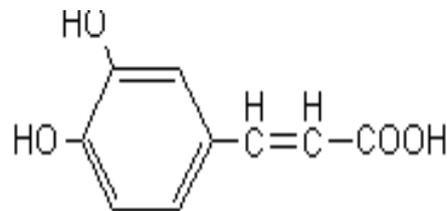
a- Esculoside

Vitaminique P, Vasculoprotecteur et veinotonique, antihémorroïdaire.

b- Acide rosmarinique : structure (Benayad., 2008).



c -Acide caféique : structure (Benayad., 2008).



7-5 Les sels minéraux

ZINC, MAGNESIUM, FER , PHOSPHORE, POTASSIUM, SODIUM, CUIVRE, BORE (Werbach., 1993; Davie., Stewart., 1990).

7-6 Vitamines

Vitamine A, Vitamine k, Vitamine B1, Vitamine B2, Vitamine B3, Vitamine C, Vitamine E (Werbach., 1994 ; Davie., Stewart., 1990).

8 Utilisation

8-1 Partie utilisée

Les **feuilles** et les **sommités fleuries**, elles sont récoltées de l'été jusqu'à l'automne séchées puis mondées, et les **huiles essentielles** extraient des feuilles (**Beliveau., 2008**).

8-2 Utilisation en phytothérapie

La plante est utilisée en infusion, en décoction, en poudre ou sous forme des extraits alcooliques issus des sommités fleuries fraîche.

Le basilic agit principalement sur le système nerveux et l'appareil digestif, agit en cas de flatulences, de maux de estomac, de coliques et d'indigestions.

L'utilise également pour provenir ou soulager musées et vomissements, et pour éliminer les vers. Du fait de son action sédative légère, le basilic est préconise pour soigner l'irritabilité, la dépression l'anxiété et les troubles du sommeil. On le prescrit également contre l'épilepsie, la migraine et la coqueluche, en usage externe, les feuilles soulagent morsure et piqûre d'insectes. Le basilic a une action antibactérienne bien établie (**Iserin., 2001**).

8-3 Utilisation culinaire

Les feuilles de basilic s'utilisent crues, finement coupées, pour parfumer les crudités, les salades, certains légumes, les mayonnaises, ou accompagnent les canards et les aubergines farcies, la ratatouille niçoise, la salade niçoise, certaines omelettes. Elles parfument aussi les poissons au court-bouillon, les pâtes et certaines sauces. Ajouter toujours le basilic au dernier moment, juste avant de servir. Les feuilles de basilic sont à la base de la célèbre soupe de pistou (**Beliveau., 2008**).

8-4 Utilisation domestique

Il éloignerait les mouches, et les moustiques, et probablement les puces (dans le passé on en recouvrait le sol) (**Kowalchik et al., 1998**).

8-5 Utilisation industrielles

Préparations dentaires, insectifuges, Les huiles essentielles de basilic sont employées en parfumerie, pour les savons et produits capillaires et les bains de bouche (**Kowalchik et al., 1998**).

Partie pratique

I Matériels

1 Matériel Végétal

Le but de notre travail est de tester l'effet antibactérien d'une huile essentielle extraite des feuilles d'*Ocimum basilicum L* (le basilic). Pour Cela, nous avons procédé aux étapes Suivantes :

1-1 Cueillette

La cueillette des feuilles de la plante s'est déroulée pendant les mois de décembre jusqu'à mars de l'année 2013, à partir de la région de djballa lakhmissi de la Wilaya de Guelma.

Elles ont été prélevées le matin entre 8 heures et 10 heures sur des plantes en pleine floraison.

1-2 Séchage

Après la récolte, les feuilles on été rincées avec l'eau afin de leur enlever toutes traces d'impuretés telles que : terre, poussière, souillure, infections fongiques, contaminations animales, résidus d'insecticides...etc. Le séchage s'est fait à l'ombre et en plein air. La dessiccation de la drogue végétale inhibe la prolifération des bactéries, des moisissures, oxydases, polymérases... De ce fait l'activité thérapeutique de la plante a été préservée au maximum.

1-3 Conservation

Après séchage, une quantité des feuilles à été émietée et le reste a été réduit en poudre et conservé dans des récipients hermétiques à l'abri de l'air, la lumière, des insectes et de toutes contaminations.

2 Matériel microbiologique:

A- Les bactéries utilisées :

Cocci Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus feacalis* (D).

Bacilles Gram négatif : *Escherichia, coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

B- Milieux de culture utilisés :

Chaque souche a été cultivée sur son milieu approprié.

Pour les Bacilles Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, les milieux utilisés respectivement sont : le milieu Mac conkey et King A.

Pour les Cocci Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Streptococcus faecalis* (D), les milieux utilisés respectivement sont : le milieu Chapman et le gélose au sang cuits.

Pour Nous avons également utilisé le milieu MH (Mueller Hinton) dans le but de tester l'effet antibactérien de notre huile essentielle utilisée et la comparer aux effets des antibiotiques.

II Méthodes :

1 Étude phytochimique

Nous avons réalisé un ensemble de tests chimiques sur la plante dans le but d'exprimer la présence ou l'absence de certains principes actifs végétaux. Ces tests sont décrits comme suit :

❖ Les saponosides (ou les saponines)

A 2 g de la poudre de plante, on ajoute 80 ml d'eau distillée et on met le mélange à ébullition. Après filtration, on laisse refroidir la solution. Par la suite on agite le filtrat verticalement. L'apparition d'une mousse qui dure quelques instants indique la présence des saponines (**Karumi et al., 2004**).

❖ Les alcaloïdes

A 10 g de la drogue végétale pulvérisée, on ajoute 100 ml de HCL à 1%. On laisse le mélange en macération pendant 30 min. Le mélange est filtré. On ajoute 10 ml de réactif de Mayer (5g de KI+1,358 g de HgCl₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillée). L'apparition d'une solution trouble indique la présence des alcaloïdes (**Duhou es al., 2003**).

❖ Les tanins

A 10 g de poudre sèche de plante, on ajoute 200 ml de (C₂H₆O) à 1%. On filtre et on teste le filtrat avec une goutte d'une solution aqueuse de FeCl₂. L'apparition d'une couleur vert- noire indique la présence des tanins (**Karumi et al., 2004**).

❖ Les flavonoïdes

On met 10 g de poudre sèche de la drogue, dans 150 ml d'une solution d'HCl à 1%. On laisse macérer pendant 24h. Après filtration, on prend 10 ml du filtrat et on lui rajoute une goutte de NH₄OH. L'apparition d'une couleur jaune dans la partie supérieure du tube indique la présence des flavonoïdes (Okumu., 2005).

❖ Les terpènes

Dans 210 ml d'éther de pétrole, on dissout 5g de poudre sèche. On filtre, puis on évapore l'éther de pétrole à sec dans le rotavapor. Le résidu obtenu est dissout dans 0,5 ml d'acide acétique et ensuite dans 0,5 ml de CHCl₃. La solution obtenue est transférée dans un tube à essai. On ajoute par la suite, 1ml de H₂SO₄ concentré. Un cercle violet ou marron est alors formé dans la zone de contact entre les deux liquides. Ce dernier devient gris par suite. Ceci indique la présence de stérols et terpènes (Duhou et al., 2003).

❖ Les mucilages

A 1 ml de la solution aqueuse obtenue du test des saponosides, on ajoute 5 ml d'éthanol à 95%. L'apparition de précipités floconneux montre la présence de mucilages (Adiaratou et al., 2001).

2 L'extraction de l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum* L

L'extraction a été effectuée au niveau du laboratoire de botanique médicale- Département de Pharmacie- de la faculté de médecine-Université Badji Mokhtar -Annaba. On a utilisé pour ce procédé, les feuilles sèches et émietées du basilic.

Parmi les diverses méthodes d'extractions des huiles essentielles, nous avons choisi l'hydro distillation dont le principe est le suivant :

A- Principe :

La drogue sèche et émietée est introduite dans un ballon imprégné d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition. Mises au contact avec un réfrigérant, les vapeurs chargées d'huile se condensent : l'eau et l'huile se séparent par différence de densité.

B- Consignes d'extraction

-Avant l'emploi, nettoyer l'appareil successivement par l'éthanol puis par l'eau (Voir Fig n° 05).

-Veiller à le rincer deux fois soigneusement à l'eau.

-Sécher l'appareil et monter le sur un endroit à l'abri de tout courant d'air.

-Recueillir le matériel végétal et le mettre dans le ballon à fond rond. Le remplir avec une

quantité suffisante d'eau et déposer le tout à la chauffe ballon.

-Adapter le ballon à l'appareil de condensation.

-La température adéquate pour l'extraction varie entre 80 et 100 °C.

-La durée de l'extraction est d'environ 1h.30 pour le basilic et elle varie selon la plante utilisée.

-L'huile essentielle doit être récupérée dans des flacons opaques en verre teinté et bien fermés. Elle doit être conservée à l'abri de la lumière et de la chaleur.



Fig n° 05 : appareil d'extraction par hydrodistillation

(Licken Nickerson)

Calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle est le rapport de la quantité d'huile essentielle récupérée sur la quantité de la plante qui a été traitée par hydrodistillation, il est exprimé en pourcentage et est calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{P_b}{P_a} \times 100$$

R : Rendement de l'huile essentielle.

P_b : Quantité de l'huile essentielle récupérée en gramme.

P_a : Quantité de la plante utilisée en gramme.

3 Évaluation de l'activité antibactérienne

➤ L'antibiogramme des souches testées

-Repiquer les 4 souches bactériennes utilisées sur les milieux appropriés à leur croissance : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Chapman), *Streptococcus feacalis* (D) (Gélose au sang cuit), *E.coli* ATCC 25922 (Mac conkey) et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (King A).

-Incuber 24 heures à 37 °C.

-Prélever à l'aide d'une pipette pasteur stérile, quelques colonies bien isolées à partir des colonies bactériennes nouvellement formées.

-Décharger ces colonies à la pipette pasteur, dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile 0,9 % et homogénéiser la suspension bactérienne de façon à obtenir visuellement une opacité équivalente à 0.5 Mac Ferland. L'inoculum doit être ensemencé dans les 15 min qui suivent sa préparation.

-Couler la gélose Mueller Hinton(MH) dans des boites de pétri (pour *E.coli*, *P.aeruginosa* et *sataphylococcus aureus*).

-couler la gélose au sang cuit (pour *Streptococcus feacalis* (D)).

-Laisser la gélose solidifier.

-Ensemencer sur cette gélose, à partir du différent inoculum et par la méthode d'écouvillonnage, les différentes souches à tester.

-Déposer dans les boites de pétri, les disques d'antibiotiques suivants :

Pour *E. coli* : Gentamycine, Lincomycine, Pénicilline, Érythromycine, Vancomycine.

Pour *P. aeruginosa* : Lincomycine, Érythromycine, Vancomycine, Pipiracilline, Tétracycline, Nitroxoline.

Pour *S.aureus* : Pénicilline, Érythromycine, Vancomycine.

Pour *Streptococcus feacalis* (D): Pénicilline, Érythromycine, Vancomycine, Lincomycine.

-Incuber les boites à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

-Pour chaque souche, et pour chaque antibiotique :

-Mesurer avec précision, en millimètre le diamètre de la zone d'inhibition.

-Les résultats de l'antibiogramme indiquent alors si la bactérie est sensible (S), Intermédiaire (I) ou résistante (R) à l'antibiotique.

Tableau n° 2 : Valeurs critiques des zones d'inhibition dues aux antibiotiques
(CASFM., 2009)

ATB testés	Sigle du disque	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)	
			Sensibles	Résistants
Pénicilline	P	6µg	≥ 29	< 18
Tétracycline	TE	30µg	≥ 19	< 17
Vancomycine	VAN	30µg	≥ 17	-
Gentamicine	GM (CN sur disque)	10µg	≥ 18	< 16
Lincomycine	L	15µg	≥ 21	< 17
Érythromycine	E	15 µg	≥ 22	< 17
Pipiracilline	PIP	75µg	≥ 22	< 18
Nitroxoline	NTX	20µg	≥ 30	< 12

➤ **L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de basilic (l'Aromatogramme)**

Principe : C'est une méthode qui reflète l'aspect qualitatif de la sensibilité bactérienne aux huiles essentielles. L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion en milieu solide (**Bauer et al., 1966**). Cette technique consiste à déposer des disques en papier buvard imprégnés de l'huile à tester à la surface de la gélose préalablement ensemencée par la souche microbienne déterminée. Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à 37° C pendant 18-24 heures. Il est possible de mesurer en millimètres le diamètre du halo d'inhibition entourant les disques.

Cette zone claire montre la destruction des germes pathogènes et évalue donc l'efficacité des huiles essentielles testées. En fonction de l'importance du halo d'inhibition, on établit une classification des huiles essentielles en rapport avec leur spectre d'activité antimicrobienne :

-Si la zone claire mesure 1 millimètre, les germes testés sont faiblement sensibles. L'huile essentielle possède une action bactéricide moyenne et on lui attribue (+).

-Si la zone claire mesure 2 à 3 millimètres, les germes testés sont assez sensibles. L'huile essentielle possède une bonne action bactéricide et on lui attribue (++).

-Si le halo d'inhibition mesure plus de 3 millimètres, les germes testés sont très sensibles et l'efficacité de l'huile essentielle est excellente. Il lui sera donné trois (+++) pour son

spectre antimicrobien.

-S'il n'y a pas de zone claire, l'huile essentielle ne développe aucune activité sur le germe analysé (Baudoux ., 2010).

➤ Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes utilisées sont entretenues par repiquage sur les milieux de cultures favorables à leur croissance (afin d'obtenir des souches jeunes) et incubées 24 heures à 37 °C.

À partir d'une culture sur milieu de repiquage, racler à l'aide d'une pipette pasteur stérile quelques colonies (3-5) bien isolées et parfaitement semblables.

Décharger ces colonies à l'aide de la pipette pasteur dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile (0,9 %) et homogénéiser la suspension bactérienne de façon à obtenir visiblement une opacité équivalente à 0.5 Mac Ferland (qui correspond à 10^6 - 10^8 CFU /ml). L'inoculum doit être ensemencé dans les 15 min qui suivent sa préparation.

➤ Ensemencement

Couler le milieu Mueller-Hinton (MH) dans les boîtes de pétri (pour *E.coli*, *P.aeruginosa* et *staphylococcus aureus*) et la gélose au sang cuit (pour *Streptococcus feacalis (D)*), à une épaisseur de 4 mm à proximité du bec bunsen et laisser la gélose se solidifier.

Tremper un écouvillon stérile dans chaque suspension bactérienne préalablement préparée et l'essorer en le pressant sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum.

Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose (les boîtes sont préalablement séchées) de haut en bas, en stries serrés .Répéter l'opération en tournant la boîte deux fois de 60°.

➤ Application des disques

Des disques de papier filtre préalablement stérilisés sont imbibés d'huile essentielle.

À l'aide d'une pince flambée, décharger l'excès de l'huile absorbée par le disque avant de le déposer à la surface de la gélose ensemencée.

Un disque stérile non imbibé par l'huile est également appliqué en guise de témoin.

➤ Incubation

à 37° entre 18-24 heures.

➤ Lecture

Mesurer en millimètre avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle, la lecture est effectuée par 3 expérimentateurs, et le résultat représente la moyenne des 3 lectures.



III Résultat et discussion

1 Résultats

1-1 L'études phytochimique

Les tests chimiques effectués sur la poudre de la plante ont démontré la présence de saponosides, de tanins, de flavonoïdes, de terpènes, de mucilages et une absence d'alcaloïdes.

Ils sont présentés par les figures suivantes :



Avant



(a)

Après



Avant



(b)

Après



Avant



(c)

Après



Avant



(d)

Après



Avant



(e)

Après

Fig n° 06 : mise en évidence des Saponosides (a), des Tanins (b), des Flavonoïdes(c), des Terpènes (d), des Mucilages (e).

1-2 Extraction de l'huile essentielle

On a extrait l'huile essentielle de basilic, à partir des feuilles, en plusieurs périodes. Le temps d'extraction était d'une heure et demie. On a constaté que tous les échantillons récoltés sont limpides, d'une odeur fraîche et trop forte et de couleur jaune pâle à l'exception de celui récolté en mois de Mars qui est d'une couleur jaune verdâtre.

Selon les résultats affichés sur le (**Tableau n°3**), on remarque que le rendement en HE est bien meilleur, au mois de décembre que les autres mois.

Tableau n°3 : Rendement des feuilles de basilic en HE selon les périodes de récolte.

Poids des feuilles sèches (g)	Rendement (ml)	Rendement (%)	Date de récolte
35	0,6	0,54	06 Décembre 2012
25	0,2	0,38	13 Janvier 2013
30	0,3	0,46	05 Février 2013
25	0,2	0,38	09 Mars 2013

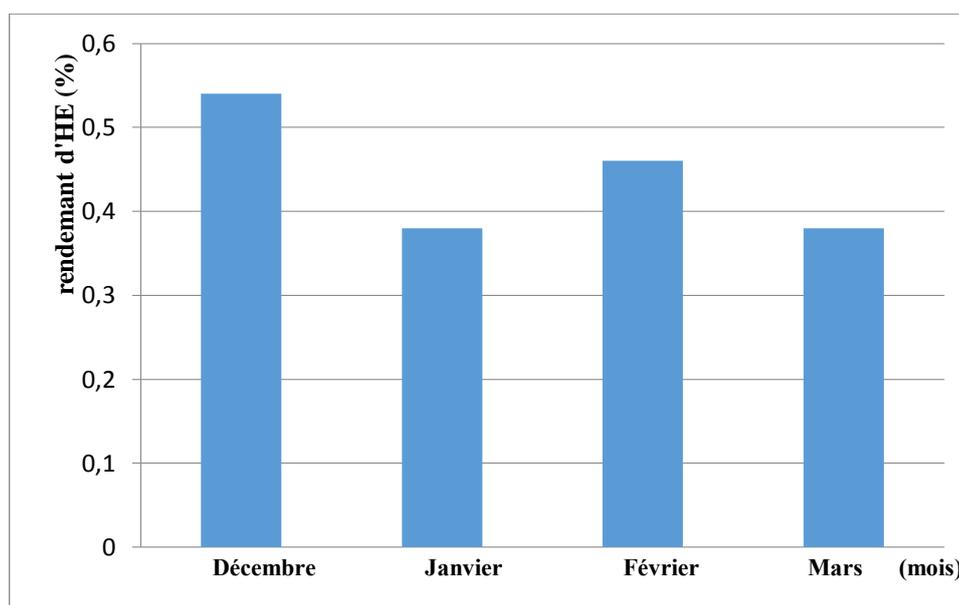


Fig n° 07 : Rendement de l'huile essentielle des feuilles de basilic, selon les périodes de récoltes.

1-3 Evaluation de l'activité antibactérienne

➤ L'antibiogramme de souches testées

Les différentes souches bactériennes ont été testées aux antibiotiques et les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau n° 4 : Résultat d'antibiogramme des souches testées.

		Les espèces bactériennes											
		<i>E. coli</i>			<i>S.aureus</i>			<i>Streptococcus feacalis (D)</i>			<i>P.Aeruginosa</i>		
ATB	D (mm)	Ini (%)	Sig	D (mm)	Ini (%)	Sig	D (mm)	Ini (%)	Sig	D (mm)	Ini (%)	Sig	
CN	19	21,11	S										
E	22	24,44	I	23	25,55	S	25	27,77	S	10	11,11	R	
P	0	-	R	0	-	R	0	-	R				
VAN	14	15,55	I	25	27,77	S	17	18,88	S	14	15,55	I	
L	15	16,66	R				23	25,55	S	0	-	R	
NTX										14	15,55	I	
PIP										25	27,77	S	
TE										16	17,77	R	

D : diamètre.

Ini : Inhibition.

Sig : signification.

R : résistante.

S : sensible.

I : intermédiaire.

ATB : antibiotiques.

CN : Gentamycine, **L** : Lincomycine, **P** : pénicilline, **E** : Erythromycine, **VAN** : Vancomycine, **PIP** : Pipéracilline, **NTX** : Nitroxoline, **TE** : Tétracycline.

Selon les résultats de l'antibiogramme (**Tableau n° 4**) on remarque que :
Sur cinq antibiotiques utilisés (CN, E, P, VAN, L), *E. coli* a été sensible uniquement à un antibiotique : la Gentamycine avec un diamètre d'inhibition de 19 mm et un pourcentage de la zone d'inhibition de 21, 11%. Elle possède une sensibilité intermédiaire vis à vis de l'Érythromycine et de la Vancomycine avec un diamètre d'inhibition de 22mm (24, 44%) pour le premier antibiotique et 14mm (15, 5%) pour le second. *E. coli* est résistante aux antibiotiques restants (P et L).

Sur trois antibiotiques utilisés (E, P, VAN), *S. aureus* est uniquement sensible à deux: la VAN et l'E avec une plus grande sensibilité pour le premier antibiotique que pour le second. Les diamètres et pourcentages des zones d'inhibition sont respectivement de 25mm (27, 77%) et de 23 mm (25, 55%).

Sur quatre antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme (E, L, VAN et P), *Streptococcus feacalis* (*D*) est sensibles à trois (E, L, VAN) avec un plus grand diamètre d'inhibition pour l'E:25mm(27, 77%) suivit de la L:23mm(25, 55%) et enfin par la VAN:17mm(18, 88%).

Sur six antibiotiques utilisés (PIP, VAN, NTX, L, E et TE), *P.aeruginosa* est sensible uniquement à un seul antibiotique qui est : le PIP avec un diamètre d'inhibition de 25mm (27, 77%).Elle a une sensibilité intermédiaire pour la VAN et la NTX avec un diamètre d'inhibition de 14 mm (15, 55%) et est résistante à deux antibiotiques: l'L, l' E et TE.

➤ **L'aromatogramme des souches testées**

Les résultats d'aromatogramme sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau n°5 : Diamètre et pourcentage d'inhibition de souches testées.

	HEB	
<i>E. coli</i>	Diamètre	15 mm
	Inihibition%	16,66
	Sig	+++
<i>P. aeruginosa</i>	Diamètre	8 mm
	Inihibition%	8,88
	Sig	+
<i>S. aureus</i>	Diamètre	12 mm
	Inihibition%	13,33
	Sig	++
<i>Streptococcus feacalis (D)</i>	Diamètre	11 mm
	Inihibition%	12,22
	Sig	++

Sig : Signification.

HEB : Huiles Essentielle de Basilic.

+++ : Très sensibles.

++ : Assez sensibles.

+ : faible sensibilités.

-Les résultats (**voir Tableau n°5**) montrent que l'huile essentielle de basilic est active sur tous les germes testés, mais la sensibilité varie selon la souche : *E. coli* est la plus sensible ensuite vient le *S. aureus* suivit du *Streptococcus feacalis (D)* et enfin *P. aeruginosa*.

➤ Selon les souches

1-Bacille Gram⁻ fermentaire

Escherichia coli ATCC 25922 : les résultats obtenus dans notre étude montrent que la bactérie *E. coli* a exprimée une sensibilité importante à l'huile essentielle de basilic, avec une auréole d'inhibition de 15mm.

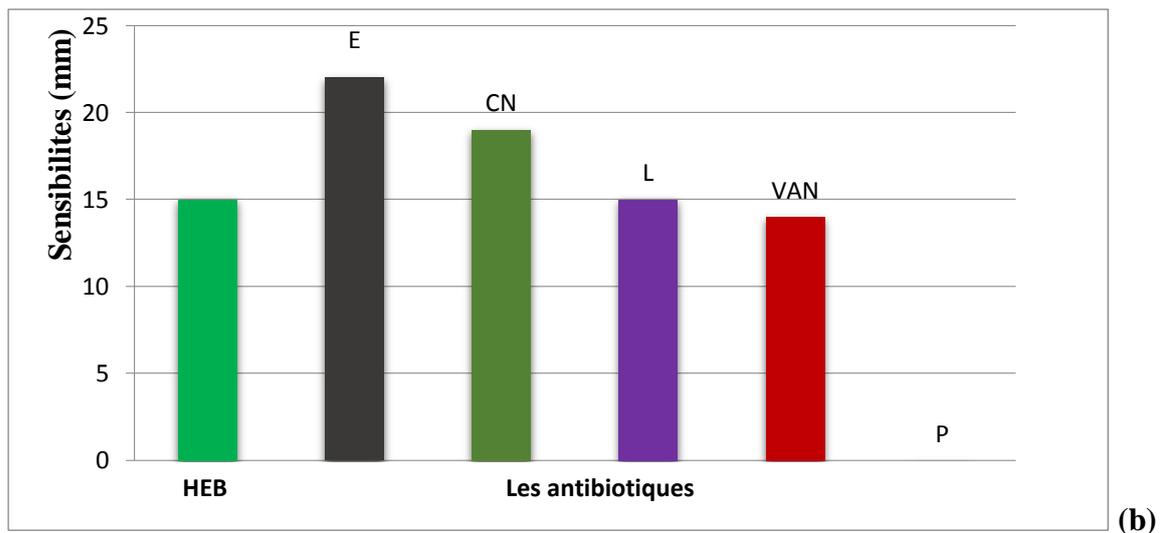
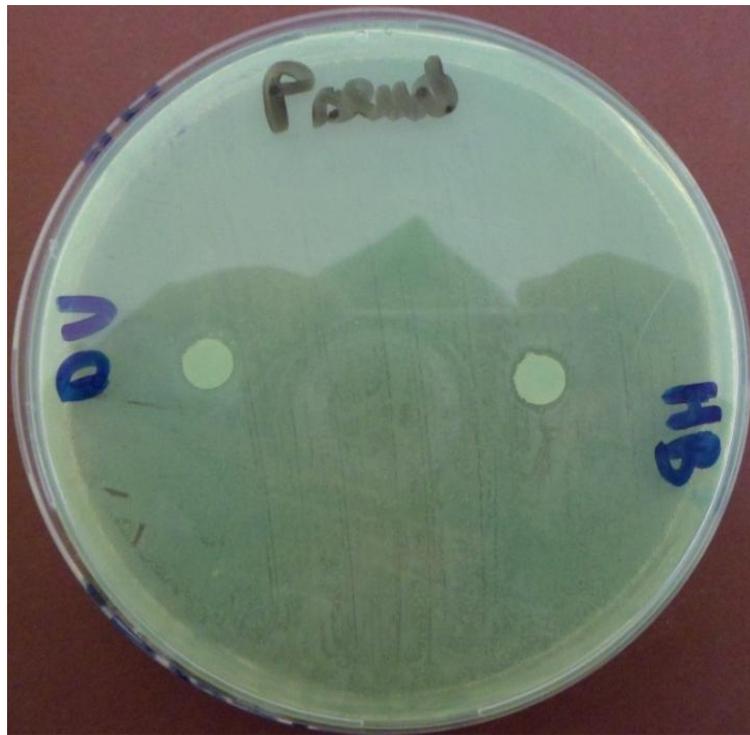


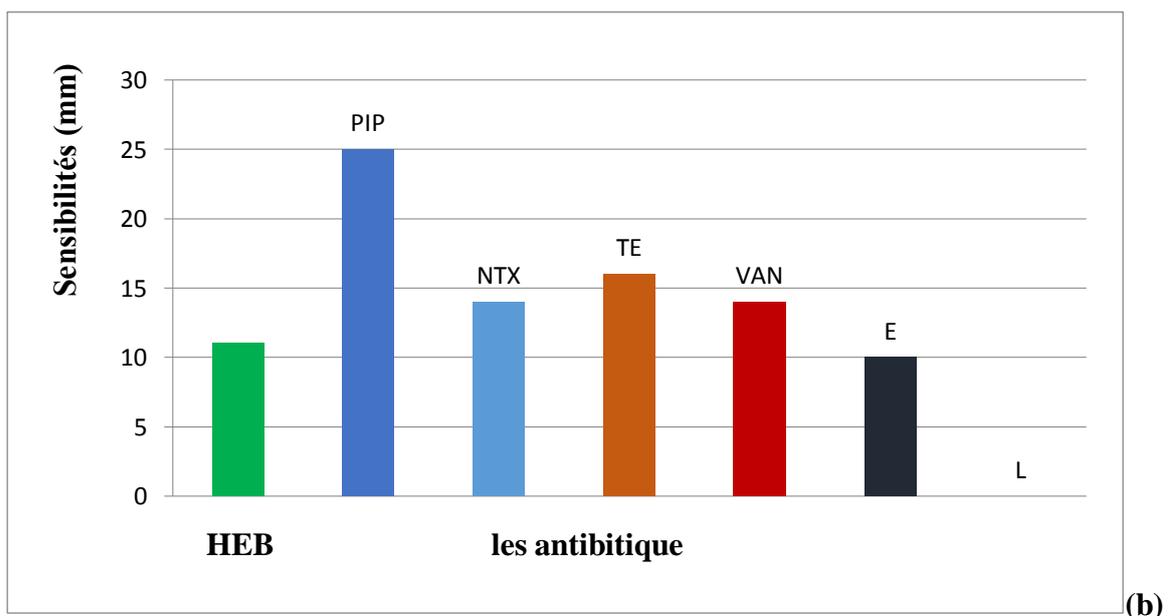
Fig n° O8 : Résultat (a) de l'antibiogramme et (b) présentation graphique des testes de l'antibio- et l'aromatogramme sur *E.coli*.

2-Bacille Gram⁺ oxydatif

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 : d'après les données obtenues nous avons constaté une faible sensibilité de germe vis-à-vis l'huile essentielle de basilic qui a donné une auréole d'inhibition de 8 mm.



(a)



(b)

Fig n° 09 : Résultat (a) de l'antibiogramme et (b) présentation graphique des testes de l'antibio- et l'aromatogramme sur *Pseudomonas aeruginosa*.

2-Cocci Gram⁺ :

Staphylococcus aureus ATCC 25923 : les résultats démontre que *S.aureus* s'est avéré relativement sensible en vers l'huile essentielle de basilic .L'auréole d'inhibition de 12mm.

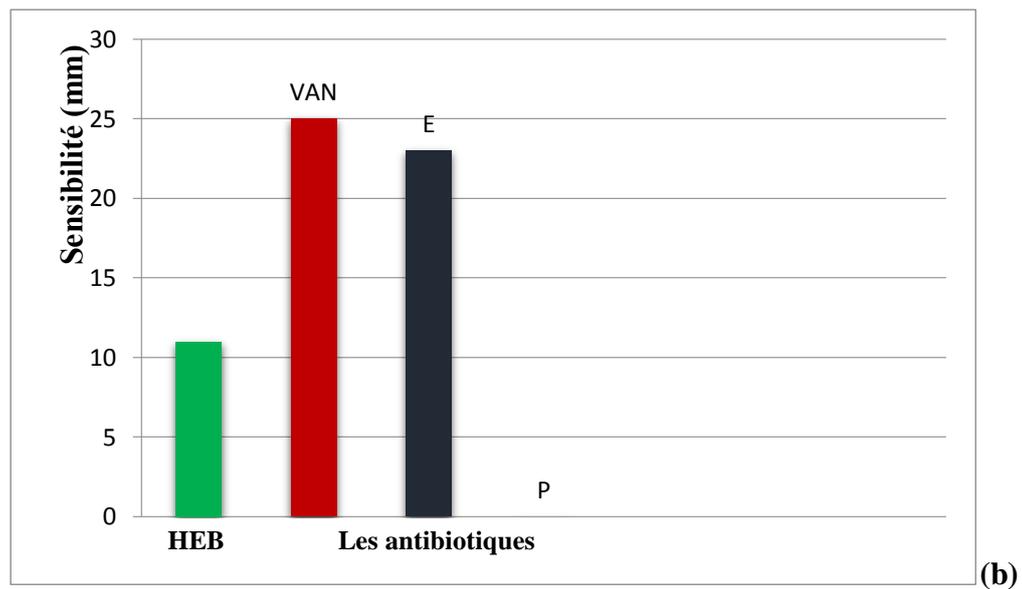
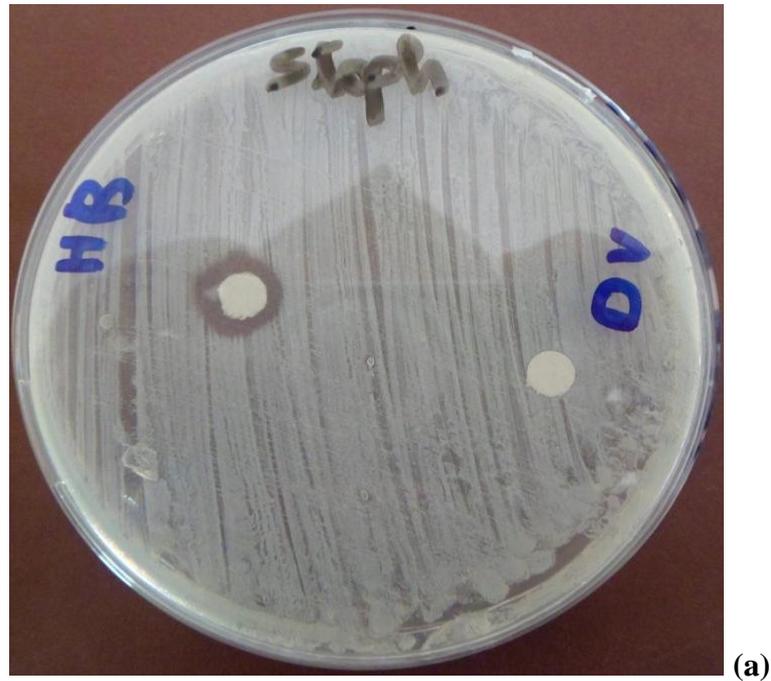


Fig n° 10 : Résultat (a) de l'antibiogramme et (b) présentation graphique des testes de l'antibio- et l'aromatogramme sur *S. aureus*.

Streptococcus feacalis (D): le germe a exprimé une sensibilité remarquable vis-à-vis l'huile essentielle de basilic qui a donné une zone d'inhibition de 11mm.

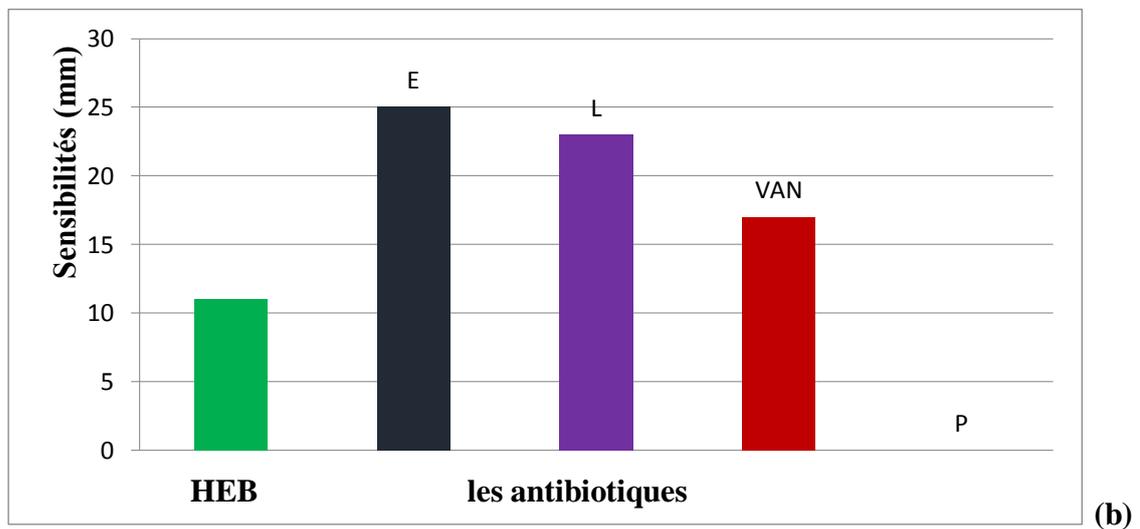
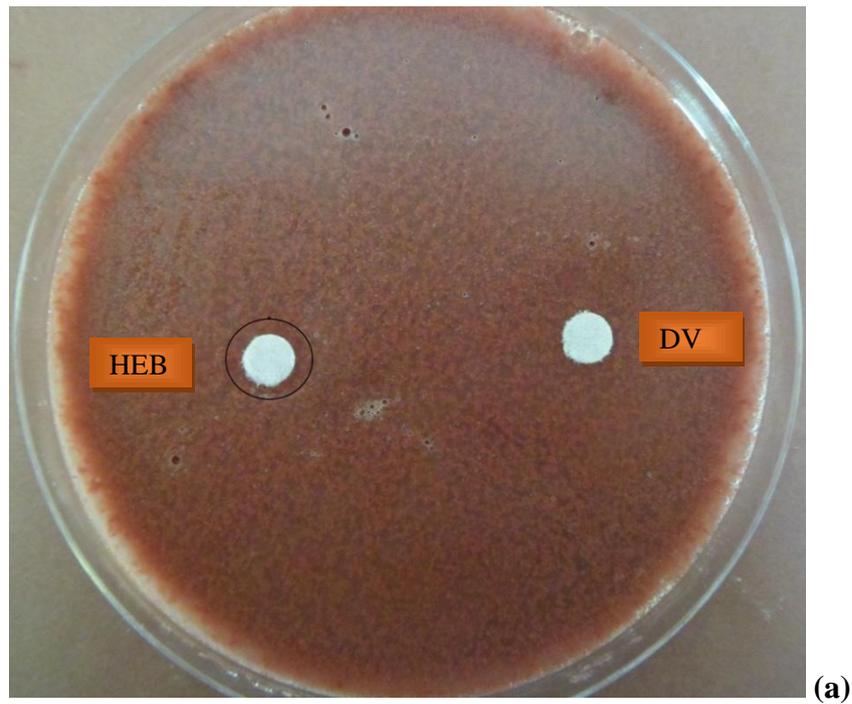


Fig n° 11 : Résultat (a) de l'antibiogramme et (b) présentation graphique des testes de l'antibio- et l'aromatogramme sur *Streptococcus feacalis* (D).

II Discussion

Le but de notre étude est d'extraire par hydrodistillation, l'huile essentielle contenue dans les feuilles d'*ocimum basilicum L*, ainsi de vérifier son effet antibactérien sur quatre souches bactériennes différentes.

L'étude phytochimique réalisée sur la poudre sèche d'*ocimum basilicum L*, a démontrée l'existence de plusieurs principes actifs : Saponosides, Tanins, Flavonoïdes, Terpènes et Mucilages. Par contre on remarque l'absence des alcaloïdes qui sont connues comme étant toxiques (**Marles et Farnsworth., 1995**).

Après extraction de l'huile essentielle de basilic, il a été remarqué que son rendement variait selon la période de récolte. Ce dernier est important lorsque la récolte des feuilles s'est déroulée au mois de décembre, alors qu'il est moins important pour les échantillons récoltés durant la période qui s'est écoulée entre les trois mois de janvier, février et mars.

On peut expliquer ces variations par les conditions climatiques de cette année qui sont caractérisées par un hiver long, ce qui a empêché le bon développement du basilic, plante très sensible au froid nécessitant un bon ensoleillement, un sol bien drainé et une température de 15 °C à 30 °C (**Addan., 2005**).

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*ocimum basilicum L*, a été testée sur les quatre souches de références suivantes : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, et *Streptococcus feacalis* (D).

Nous avons premièrement testé leur sensibilité vis-à-vis certains antibiotiques, pour la comparer à celle de l'HE (l'aromatogramme), Les résultats montrent que la souche *E. coli* est sensible à la Gentamycine, a une sensibilité intermédiaire vis-à-vis des deux antibiotiques; Érythromycine et Vancomycine et est résistante à la Pénicilline et à la Lincomycine.

Alors que *S. aureus* est sensible aux deux antibiotiques : l'Érythromycine et Vancomycine avec résistante a la Pénicilline.

La souche *P. aeruginosa* est sensible a la Pipéracilline, et est résistante a l'Érythromycine, Tétracycline et Lincomycine, elle a une sensibilité intermédiaire a la Vancomycine et a la Nitroxoline.

La souche *Streptococcus feacalis(D)* est sensible à trois antibiotiques sur quatre utilisés: l'Érythromycine, Vancomycine et Lincomycine. Elle est résistante au Pénicilline.

La résistance aux antibiotiques est soit naturelle, ou acquise : **naturelle**, lorsqu'elle est portée sur un chromosome ou un plasmide et **acquise** lorsqu'elle résulte d'une modification génétique par mutation ou par acquisition de plasmides ou transposons (**Auckenthaler, Bergogne-Berezin., 1995**).

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle a été testée en parallèle à l'antibiogramme, sur les quatre souches, par la méthode de diffusion en disques (l'aromatogramme). Cette méthode a fait ses preuves malgré quelques inconvénients : la diffusion de l'huile essentielle dans la gélose, peut être limitée, vu son caractère hydrophobe et volatile. La capacité d'absorption des disques est aussi un obstacle majeur (**Benzeggouta., 2005**).

Les résultats de l'aromatogramme ont montré que la zone d'inhibition la plus importante, est celle d' *Escherichia coli* avec un diamètre et un pourcentage d'inhibition qui sont respectivement de (15 mm et 16,66%), ce qui fait d'elle la souche la plus sensible, suivit d' *S. aureus* avec un diamètre et un pourcentage d' inhibition de (12 mm et 13,33%) et enfin de *Streptococcus feacalis (D)* (11mm et 12,22%). *P. aeruginosa* quant à elle, est résistante à l'huile essentielle avec un diamètre et un pourcentage d'inhibition de (8 mm et 8,88%). Ce résultat concorde avec celui de (**Koffi et al ., 2009**), qui ont testé l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la même plante sur les mêmes souches.

Selon la littérature, face à une huile essentielle, les bactéries Gram + sont plus sensibles que les bactéries Gram- (présence de membrane externe hydrophile empêchant les substances hydrophobes de la traverser et arriver jusqu' à la membrane cytoplasmique pour la détruire). Cependant, *E. coli* qui est une bactérie Gram-, a donné un bien meilleur effet antibactérien que les autres souches Gram + (*S.aureus* et *Streptococcus feacalis D*). Cela peut être expliqué par la capacité de cette huile de basilic à provoquer des endommagements dans la paroi bactérienne suite à la pénétration de quelques uns de ses composés à faible poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol .Alors que dans le cas de *P.aeruginosa* (bactérie Gram-), il est connu que son insensibilité aux substances bioactives pourrait être due à sa multirésistance, à sa paroi qui est imperméable ainsi qu'à la présence de la membrane externe(**Rhayour., 2002**).

À l'échelle moléculaire, l'activité bactéricide d'un HE est liée à leur composition complexe. Elle débiterait par une fixation de ces molécules sur les membranes bactériennes, provoquant des altérations de structure et de perméabilité, conduisant à la

perte des constituants cellulaires due à une lyse importante des cellules bactériennes. Les HE peuvent aussi perturber le gradient ionique de part et d'autre de la membrane cytoplasmique, ce qui diminue la stabilité membranaire et perturbe aussi le transport membranaire (**Rhayour., 2002**).

L'activité bactéricide d'une huile essentielle est intimement liée à sa richesse en phénols et en monoterpènes (**Ozcan, Chalchat., 2008**).

En comparant notre résultat du screening chimique de la poudre d'*Ocimum basilicum* (Présence de terpènes, polyphénols) à celui de (**Boussaha Et Lahioul., 2009**) sur la CPG de l'huile essentielle de la même plante de la région d'Annaba (présence des monoterpènes et polyphénols), on pourrait conclure qu'il y' ait une forte chance que notre essence contienne ces composés monoterpéniques et phénoliques, ce qui expliquerait son activité antibactérienne remarquable.

En comparant les résultats de l'aromatogramme d'une souche testée à son antibiogramme (**Voir Figure 08, 09, 10 et 11**) ; on remarque que :

E.coli est plus sensible à la Gentamycine et à l'Érythromycine que l'HE (par comparaison des zones et pourcentages d'inhibition). Mais elle est plus sensible à l'HE qu'à la Vancomycine et à la Pénicilline.

S. aureus est plus sensible à la Vancomycine et l'Erythromycine qu'à l'HE. Mais elle est plus sensible à l'HE qu'à la pénicilline.

Streptococcus faecalis (D) est plus sensible aux trois antibiotiques (Erythromycine, Lincomycine, Vancomycine) qu'à l'HE. Mais elle est plus sensible à cette dernière qu'à la Pénicilline.

P. aeruginosa est plus sensible aux trois antibiotiques (Pipéracilline, Vancomycine, Nitroxolline) qu'à l'HE. Mais cette dernière est plus sensible à l'HE qu'à la Lincomycine.

L'huile essentielle de basilic est plus efficace sur *E. coli*, *S. aureus*, *Streptococcus faecalis (D)* que la pénicilline. Elle est plus efficace sur *E. coli* que la Vancomycine et plus efficace sur *P. aeruginosa* que la Lincomycine. On conclut donc, que pour les souches testées, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de basilic, peut rivaliser avec celle de certains antibiotiques mais pas tous.

Conclusion

La phytothérapie est très répandue dans le monde. Beaucoup de gens utilisent les plantes et leurs extraits pour guérir.

Les infections bactériennes comptent parmi les affections les plus répandues. Le traitement par les antibiotiques et l'apparition de souches multirésistantes a fait qu'actuellement, les chercheurs se sont tournés vers la nature en quête de nouvelles substances antimicrobiennes purement naturelles telles que les huiles essentielles.

Différents travaux ont montré que les HE, dont les composés majoritaires sont de nature phénoliques et terpéniques ont un large spectre bactérien.

Dans notre étude, nous avons voulu mettre en évidence, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite des feuilles d'*ocimum basilicum L.* Cette activité a été testée par la méthode de diffusion en disques (l'aromatogramme).

Pour les trois souches bactériennes (*E. coli*, *S. aureus*, *Streptococcus faecalis D*), une activité importante a été enregistrée avec un effet supérieur vis-à-vis d'*E. coli* suivit de *S. aureus* et enfin de *Streptococcus faecalis (D)*, alors que la souche *P. aeruginosa* semble n'avoir qu'une faible sensibilité envers cette huile.

Un antibiogramme à été mis au point dans le but de comparer l'effet des antibiotiques par rapport à celui de l'huile essentielle. Les résultats ont montré que selon l'antibiotique testé, les souches utilisées sont parfois plus sensibles à l'huile et dans d'autres cas plus sensibles à l'antibiotique. Ces résultats sont positifs et ouvrent voie vers d'autres recherches.

Perspectives

L'objectif de ce travail est la mise en évidence des propriétés antibactériennes de l'huile essentielle du basilic et dans le but de faire progresser ce travail, il est intéressant d'envisager dans un proche avenir de :

- Déterminer la composition chimique précise de l'huile essentielle de basilic par CPG- SM, pour mieux comprendre son mécanisme d'action.
- Faire une extraction des composés de l'HE et tester leur effet antibactérien, tout d'abord individuellement, ensuite leur combinaison.
- Élargir la gamme d'espèces bactérienne testées. Il est également intéressant d'utiliser des champignons et des virus.
- Faire des dilutions de l'HE d'*Ocimum basilicum L* par DMSO.
- Utiliser différentes méthodes d'aromatogramme.

Références bibliographiques

ADDAN. A., estimation des besoins en N, P et K du basilic (*ocimum basilicum* L) par le module DSSP et gestion optimale de N dans la région maritime du Togo. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention d'un diplôme d'ingénieur agronome : université de Lomé, école supérieure d'agronomie, 2005, P70- 80.

ADIARATOU. T., Étude de la phytochimie et de l'activité antipaludique e *Alchornea cordifolia* Schmach (*Euphobiaceae*). Doctorat en pharmacie, Bamako (Mali), 2001, P60.

AFNOR, 1986. Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris. P57.

AIBOUD. K., étude de l'efficacité de quelques huiles essentielles à l'égard de bruche de niébé *callosobruchus maculatus* (coleoptera : bruchidae), et impacts des traitements sur la germination des graines de vigna unguiculata (L) walp, mémoire en vue l'obtention de diplôme de magister en biologie et écologie des populations des communautés, option : interaction « plantes- environnement », P 19, 2012.

AUCKENTHALER R., BERGOGNE-BEREZIN .E. DELLAMONICA .P ., Activité antibactérienne. Spectre. Mode d'action. Cibles bactériennes In : Antibiothérapie en pratique clinique. Masson, 1995, P17-32.

BAUER. A. W., KIRBY. M. M., SHERRIS.J .C, TRUCK. M., antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*, 493, 1966.

BELAICHE. P., L'aromatogramme. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. M.S.A.

BELIVEAU. R., le basilica le roi des aromates, le journal de Montréal. P 40, 2008.

BENAYAD .N., les huiles essentielles extraites de plantes médicinales marocaines moyenne efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées, laboratoire des substances naturelles et thermolyse éclair, département de chimie, faculté des sciences de Rabat, 2008, P7-15.

BENCHAAR. C., CALSAMIGLIA. S., CHAVES. A. V., FRASER G.R., COLOMBATTO D., MCALLISTER T.A. ET AL., Plant –derived essential oils in ruminant nutrition and production. *ANIM. FEED. SCI. TECH.* 145:209-228, 2008.

BENZEGGOUTA .N., étude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments, université Mantouri Constantine institut de chimie, présentation en vue de l'obtention du diplôme de magister en pharmacochimie, 2004-2005, P 7, 77.

BESOMBES. C., Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées, Thèse Doctorat. Université de La Rochelle, 2008, p 41-45.

BONNEFOY.C., GUILLET.F., LEYRAL.G., VERNE-BOURDIS.E., microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaire, Walters Kluwer, France, P 105, 2002.

BOTTON. B., BERTRON .A., FEVERE. M., GAUTHIER.S., GUPH .D., LARPENT .J.P., REYMOND .P., SANGLIER.J.J., VAYSSER .Y.,VEAU S., Moisissures utiles et nuisibles importance Industrielle, 2^{ème} édition, Masson collection biotechnologies, p 5-10,1990.

BRUNETON. J., Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc, Lavoisier, Paris, P 915-920, 1993.

CASFM, comite de l'antibiogramme de la société française de microbiologie recommandations, édition de janvier 2010.

DAVIES.S., STEWART. A., Nutritional Medicine, Avon Books, New York, P 509, 1990.

DORMAN. H. J. D., DEANS S. G., antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbial.88: 308-316, 2002.

DUHOU. N., YAMNI. K., TAHROUCH. S., Screening phytochimique d'une plante endémique Ibéro-Marocaine, Thymeloealythroïdes. Bull Soc Phrm. Bordeaux 142 : 61-78, 2003.

DUKE. J.A., handbook of medicinal herbs, second Edition, CRC press, P 60-90, 2002.

Éditeur, Paris, Tome 1, p204, 1979.

FOURNIER. V., La résistance bactérienne aux antibiotiques, PISTES, PARIS, P, 2003.

GAHBICHE.S., phytothérapie, école supérieur de la santé de Sousse, section : hydrothermo-thalassothérapie, P 2, 2008-2009.

GARRITY. G. M., LILBURN .T.G., COLE. J.R., HARRISON. S.H., EUZÉBY .J. AND TINDALL .B.J., Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, Release 7.7 March 6, Part 9- the Bacteria: Phylum "Firmicutes": Class "Bacilli",P 30-45, 2007.

GILLY.G., les plantes aromatiques et les huiles essentielles a grâce, Botanique- Culture Chimie- Production, L'HARMATTAN ; P240-251, 2005.

Groupe scientifique sur l'eau, sur l'eau Les entérocoques et streptocoques fécaux, institut national de santé publique du Québec, P1-5 2002.

HALLAL. Z., contribution a l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydant de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine (*sardina pilchardus*), en vue d'obtention du diplôme de magister en biologie option biochimie appliqué et biotechnologie université mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 2011, p 3.

HANELT.P. R., Mansfield's encyclopedia of agricultural and horticultural crops, Springer edition, 1954-1956, 2001.

HART. T., SHEARS.P., Atlas de poche de microbiologie, 1^{ère} édition, Médecine-Sciences Flammarion, Paris, P71, 1997.

HELENE.M., Cours de Bactériologie, Service de Bactériologie, Université Pierre et Marie Curie, P29-40, 2002 – 2003.

ISERIN.P., Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse Bourdasse, Paris, p335, 2001.

KARUMI. Y., ONYEYILI. P. A, OGUGBUAJA. V. O, Identification of active principales of *M.balsamina* (balsam Apple) leaf extract .J Med Sci 4:179-182, 2004.

KOFFI. K., POUTOULI. P., RAYNAUD.C., CAUMONT JPKOMLA. S., Chemical composition and antimicrobial properties of different basil essential oils, chemotypes from Togo, journal of the Bangladesh Pharmacological Society, P1-18, 2009.

KOWALCHIK. C., HYLTON. W.H., CARR. A., 1998, Rodale's illustrated encyclopedia of herbs. Paper backshope, U.S, P 22-26, 1998.

LAHIOUEL. M., BOUSSAHA. A., *ocimum basilicum L*, étude botanique, ethnobotanique, analytique et microbiologique, mémoire de fin d'étude en vue l'obtention d'un diplôme d'état en pharmacie : Université Badji Mokhtar Annaba, 2008-2009, P 17-30, 90.

LAIB.I., étude des activités antioxydant et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs, Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Magister en Sciences Alimentaires Option : Technologie alimentaire, Université Mentouri Constantine, 2011, P21-30.

LAUZAR. A.M., revue de thérapeutique médico-chirurgicale, BOSTON médical Library, P267-674, 1968.

MARLES.R. G, FARNSWORTH.S.K., antidiabétic plants and their active constituants phytomédecine 2, P137-189,1995.

MOHAMMEDI.Z., étude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de quelques plantes de la région de Tlemcen, thèse pour l'obtention du diplôme de magister en biologie option : produits naturels, activités biologique et synthèse, 2006, P 58.

MULOT. M., secrets d'une herboriste, dauphin, Paris, P76-77.504,2005.

NAUCIEL.C., VILD.G.L., Bactériologie médicale, 2^{ème} édition, Masson, PARIS, P, 2005

OKUMU. D. E., Vitamines and mineral catents of two Nigerian plants. Int J Mol Adv Sci 1:375-38, 2005.

OZCAN. M. CHALCHAT. J.C., Essential oil composition of *ocimum basilicum L.* and *Ocimum minimum L* in Turkey, Czech J, Food Sci. 1-20, 2008.

Partie pratique

PHILIPPON.A., PROTS.L., Cours de Bactériologie Générale, Faculté de médecine COCHIN-PORT-ROYAL, Paris, P 7-9, 2002.

RHAYOUR. K., Étude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*, Présentée en vue de l'obtention du doctorat National en Biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé, 2002, P 9-12, 119-120.

ROUGIER.A., cour de bactériologie, 1TSBioT, PARIS, P 1-3, 2010.

ROULIER.G., Les huiles essentielles pour votre santé. Traité pratique d'aromathérapie : propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes, D'angles, France, P, 1992.

SABALM, BOUDALIM., la phytothérapie entre confiance et méfiance, mémoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédicale CHETTIA, 2009-2012, p 7-10,15.

SIKKEMA. J., BONT. J. A. M., POOLMAN. B., Interaction of cyclic hydrocarbons with biological membranes. J. Biol. Chem. 26:8022-8028, 1994.

SINGLETON.P., traduit de l'anglais par Dusart.J., bactériologie pour la médecine, la biologie et la biotechnologie, 6^{ème} édition, Dunod, Paris, P14-33, 2005.

SPICHIGER.R.E., botanique systématique des plantes a fleurs, presse polytechnique romandes ,2^{ème} édition, P330 ,2002.

STITT. P. A., why George Should Eat Brpccoli. Dougherty Co, Milwaukee, WI, 399, 1990.

WERBACH. M., healing food, Harper Collins, New York, P443, 1994.

WICHTL. M., ANTON.R., plantes thérapeutiques (tradition pratique officinale, science et thérapeutique), amazone, France, P73-75.636, 1999.

ZAHALKA. J.P., les huiles essentielles 230huiles essentielles 100 maux traités, dauphin, Paris, P : 18-24, 2010.

Webographie

Anonyme

1)http://www.google.dz/search?q=structure+de+la+bacterie&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=UdijUaWfE4WV7Ab114DwCw&ved=0CAcQ_AUoAQ&biw=1366&bih=667
(14/03/20013).

2)http://www.google.dz/search?q=ocimum+basilicum&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=g9ejUYTYMM20hAfCxIHACg&sqi=2&ved=0CAcQ_AUoAQ&biw=1366&bih=667(20/04/2013).

Résumé

Le basilic ou *Ocimum basilicum L* est une plante de la famille des Lamiacées. Elle est aromatique donc riche en huiles essentielles.

Dans cette étude, nous avons testé l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite des feuilles de la plante, sur des bactéries Gram⁻ (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) et des bactéries Gram⁺ (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Streptococcus faecalis*(D), par la méthode de diffusion en milieu solide.

Les diamètres d'inhibition varient d'une souche à un autre : *E. coli* est la plus sensible à l'huile essentielle avec un diamètre de 15 mm, suivit de *S. aureus* avec un diamètre de 12mm, 11 mm pour *Streptococcus faecalis D*, et enfin 8mm pour *P. aeruginosa* (bactérie la moins sensible).

Il a été remarqué qu'*in vitro*, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de basilic, est meilleure que celle de certains antibiotiques. Cet effet pourrait être attribué à certains composés actifs de l'huile ; phénoliques et/ou terpéniques.

Mots clés : *Ocimum basilicum L*, huile essentielle, activité antibactérienne, antibiotiques, phytothérapie, aromathérapie.

Summary

Basil or *Ocimum basilicum L*, is a plant of the Lamiaceae's family. It's aromatic, rich in essential oils.

In this study we tested the antibacterial activity of the essential oil extracted from the plant leaves, in Gram- bacteria (*E.coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853) and Gram⁺ bacteria (*S.aureus* ATCC 29213, *Streptococcus faecalis* (D)) by the diffusion method on solid medium.

The inhibition diameters vary from one strain to another : *E. coli* is the most sensitive to the essential oil with an inhibition diameter of 15 mm ,then come *S. aureus* with 12mm of diameter, after that *Streptococcus faecalis*(D) with 11mm and finally, *P. aeruginosa* with 8mm (the least sensitive bacterium).

It has been remarked that *in vitro*, the antibacterial activity of the Basil's essential oil is better than that of some antibiotics. This effect could be attributed to certain oil's compounds; phenolic and / or terpene.

Keywords: *Ocimum basilicum L*, essential oil, antibacterial activity, antibiotic-drugs, phytotherapy, aromatherapy.

ملخص

الريحان نبات من عائلة الورديات, يعتبر من النباتات العطرية الغنية بالزيوت الطيارة.

في هذه الدراسة قمنا باختبار النشاط المضاد للبكتيريا للزيت العطري المستخرج من اوراق هذا النبات, عن طريق التقطير بالبحار على بكتيريا : rGam⁻ (بكتيريا القولون ATCC 25922, الزائفة الزنجارية ATCC 27853), m□Gr⁺ (المكورات الذهبية العنقودية ATCC 29213, العقدية البرازية (D), باستخدام طريقة الانتشار في وسط صلب

اقطار التثبيط تختلف من سلالة الى اخرى: بكتيريا القولون اكثر حساسية بقطر يساوي 15 ملم, متبوعة بالزائفة الزنجارية 8 ملم, 12 ملم للعنقودية الذهبية و 11 ملم للعقدية البرازية (D)

نستخلص ان, مخبريا, التأثير المضاد للبكتيريا للزيت العطري للريحان له تاثير احسن من بعض المضادات الحيوية. هذا التأثير ربما يعود الى المكونات الفعالة لهذا الزيت.

كلمات المفتاح: الريحان, العلاج بالنباتات العطرية, المضادات الحيوية, النشاط المضاد للبكتيريا.

