

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED KHEIDER BISKRA
FACULTE DES SCIENCES EXACTES ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de
Magister en biologie
(Option Biotechnologie)

Par
KIRAM Abderrazak

Thème

Etude phytochimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* (Coss. et Dur.) Benth et Hook de l'Est algérien

Soutenu le
Devant la commission d'examen

Président	Belhamra Mohamed	Professeur	U.M.K. Biskra
Rapporteur	Ramdani Messaoud	Maître de conférences	U.F.A. Sétif
Examinatrice	Lograda Takia	Maître de conférences	U.F.A. Sétif
Examineur	Zerroug Mohamed Mihoub	Maître de conférences	U.F.A. Sétif

LISTE DES FIGURE :

Figure 1 : <i>Pituranthos scoparius</i>	5
Figure 2 : Répartition géographique de <i>Pituranthos scoparius</i>	6
Figure 3 : Structures des monoterpènes cycliques et acycliques	11
Figure 4 : Structures des sesquiterpènes	12
Figure 5 : Population échantillonnées de <i>Pituranthos scoparius</i>	32
Figure 6 : Schéma du montage d'hydrodistillation Clevenger	33
Figure 7 : Technique de diffusion par disques	37
Figure 8: Distribution des Composants de l'huile essentielle de <i>Pituranthos scoparius</i> (population de T'kout, Batna).....	41
Figure 9 : Distribution des Composants de l'huile essentielle de <i>Pituranthos scoparius</i> (population de Boussaâda).	43
Figure 10 : Distribution des Composants de l'huile essentielle de <i>Pituranthos scoparius</i> (population d'El-Kantra, Biskra).	45
Figure 11 : Distribution des Composants de l'huile essentielle de <i>Pituranthos scoparius</i> (population d'El-Kantra, Biskra).	46
Figure 12 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles de <i>Pituranthos scoparius</i> (population de T'kout, Batna).	49
Figure 13 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles de <i>Pituranthos scoparius</i> (population de Boussaâda, M'Sila)	51
Figure 14 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles de <i>Pituranthos scoparius</i> (population d'El-kantra, Biskra)	52
Figure 15 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles de <i>Pituranthos scoparius</i> (population de Méchoneche, Biskra).	53

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau 1: Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Pituranthos scoparius</i> (populations de T'kout, Batna).....	40
Tableau 2: Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Pituranthos scoparius</i> (populations de Boussaâda, M'sila).....	42
Tableau 3: Composition chimique des huiles essentielles de <i>Pituranthos scoparius</i> , (population d'El-Kantra, Biskra).....	44
Tableau 4: Composition chimique des huiles essentielles de <i>Pituranthos scoparius</i> , (population de Méchoneche, Biskra).....	46
Tableau 5 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles de <i>Pituranthos scoparius</i> population de T'kout (Batna).	49
Tableau 6 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles de <i>Pituranthos scoparius</i> population de Boussaâda (M'Sila).....	50
Tableau 7 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles de <i>Pituranthos scoparius</i> population d'El-kantra (Biskra).....	51
Tableau 8 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles de <i>Pituranthos scoparius</i> population de Méchoneche (Biskra).....	53
Tableau n° 9 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites de la partie aérienne de <i>Pituranthos scoparius</i>	(Annexe 3)

Sommaire

Dédicace	I
Remerciement	II
Liste des abréviations	III
Liste des figures	IV
Liste des tableaux	V
Introduction	1
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique	
I - Présentation de la plante	3
I – 1. Description botanique de la famille des <i>Apiaceae</i>	3
I – 2. Classification	4
I – 3. Répartition géographique	4
I – 4. L'utilisation et propriété thérapeutique	6
II - Généralité sur les huiles essentielles	7
II – 1. Définition des huiles essentielles	7
II – 2. Répartition et localisation des huiles essentielles	7
II – 3. Caractéristiques physicochimiques des huiles essentielles	9
II – 3 – 1. Propriétés physiques	9
II – 3 – 2. Composition chimique	10
II – 3 – 2 – 1. Les Terpénoïdes	10
II – 3 – 2 – 1 – 1. Les Monoterpènes	10
II – 3 – 2 – 1 – 2. Les Sesquiterpènes	10
II – 3 – 2 – 2. Les composés aromatiques	12
II – 3 – 2 – 3. Les autres composés	12
II – 4. Facteur de variabilité des huiles essentielles	13
II – 4 – 1. Facteurs intrinsèques	13
II – 4 – 2. Facteurs extrinsèques	13
II – 5. Utilisation des huiles essentielles	14
II – 5 – 1. En pharmacie	14
II – 5 – 2. En parfumerie et cosmétique	15

II – 6. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	16
II – 6 – 1. La distillation	16
II – 6 – 1 – 1. L'hydrodistillation	16
II – 6 – 1 – 2. La distillation à la vapeur	17
II – 6 – 2. L'extraction par l'enfleurage	17
II – 6 – 3. L'extraction par les solvants volatils	18
II – 6 – 4. L'extraction par expression	18
II – 6 – 5. L'extraction par micro-ondes	19
II – 6 – 6. L'extraction au fluide supercritique	19
II – 7. Les méthodes d'analyses des huiles essentielles	19
II – 7 – 1. La chromatographie sur couche mince « CCM »	20
II – 7 – 2. La chromatographie en phase gazeuse	20
II – 7 – 3. Le couplage CPG/MS	21
II – 7 – 4. La chromatographie liquide à haute performance « HPLC »	21
III - L'activité antimicrobienne des huiles essentielles	23
III – 1. L'Aromathérapie	23
III – 2. L'activité antimicrobienne des huiles essentielles	25
III – 3. Mode d'action des huiles essentielles	28
III – 4. Les excellentes raisons d'utiliser les huiles essentielles comme antibiotiques	29

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

1 – Matériels	31
1 – 1. Matériel végétal	31
1 – 2. Matériel du test de l'activité antimicrobienne	31
1 – 2 – 1. Souches microbiennes	31
1 – 2 – 2. Les milieux de cultures	33
2 – Méthodes expérimentales	33
2 – 1. Extraction des huiles essentielles	33
2 – 2. Analyse des huiles essentielles	34
2 – 3. Etude de l'activité antimicrobienne <i>in vitro</i> des huiles essentielles ...	36

Chapitre 3 : Résultat et Discussion

1 - Résultat	39
1 – 1. Extraction des huiles essentielles	39
1 – 2. Analyse des huiles essentielles	39
1 – 2 – 1 - Population de T’Kout	39
1 – 2 – 2 - Population de Boussaâda	39
1 – 2 – 3 - Population d’El-kantra	43
1 – 2 – 4 - Population de Méchoneche	43
1 – 3. L’activité antimicrobienne des huiles essentielles	47
2 – 2 – 1 - Population de T’Kout	48
2 – 2 – 2 - Population de Boussaâda	50
2 – 2 – 3 - Population d’El-kantra	51
2 – 2 – 4 - Population de Méchoneche	53
2 – Discussion	55
2 – 1. Extraction des huiles essentielles	55
2 – 2. Analyse des huiles essentielles	55
2 – 3. L’activité antimicrobienne des huiles essentielles	56
Conclusion	60
Référence	62
Annexe	

I - Présentation de la plante

I – 1. Description botanique

a. La famille des *Apiaceae* « Ombellifères »

Les Ombellifères, sont des plantes sous-frutescentes ou herbacées, annuelles, bisannuelles et le plus souvent vivaces, localisées dans les régions tempérées, surtout dans l'Hémisphère Nord.

C'est une famille très homogène dont les caractères sont constants; facile à reconnaître, grâce à ses inflorescences en forme d'ombelle munies à leur base de bractées souvent très caduques (involucre). Ces ombelles peuvent être simples et le plus souvent composées d'ombellules munies ou non de bractéoles à leur base (QUEZEL et SANTA, 1962).

Elle se caractérise aussi par des fleurs régulières, pentamères, à 4 verticilles alternants régulièrement. Leurs sépales sont en général très petits ou nuls. Les pétales sont libres, égaux ou parfois rayonnants, plus grands à la périphérie des ombellules. L'androcée est formé de 5 étamines alternipétales, libres insérées sur un disque plus ou moins apparent, ce sont les premières pièces florales à apparaître. L'ovaire est infère et biloculaire, formé de 2 carpelles, chaque loge contient un ovule épitrope. Le fruit est à double akène.

Les Ombellifères doivent leurs principales propriétés aux essences et aux gommes-résines que contiennent leurs canaux sécréteurs (MESSAILI, 1995).

La famille des *Apiaceae* regroupe 300 genres et 3000 espèces (MESSAILI, 1995). En Algérie, elle est représentée par 55 genres et 300 espèces (QUEZEL et SANTA, 1962).

b. Le genre *Pituranthos*

Le genre *Pituranthos* regroupe 20 espèces. C'est une plante vivace, aphyllé, éphédroïde, à tige souvent très ramifiée. Elle a des ombelles à involucre et involucrelles polyphylles et méricarpes ovoïdes à 6 bandelettes.

Le genre *Pituranthos* en Algérie est représenté par quatre espèces, *P. Reboudii*, *P. Battandieri*, *P. chloranthus* et *P. scoparius* (QUEZEL et SANTA, 1962).

c. L'espèce *Pituranthos scoparius* (Coss. et Dur.) Benth et Hook.

Pituranthos scoparius est une plante endémique maghrébine vivace (QUEZEL et SANTA, 1962), sans feuilles ou presque, à tiges hautes de 40-80 cm, jaunâtres (Figure 1). Les tiges sont en touffes, ramifiées dans le haut seulement, simples et parallèle entre elles dans leur moitié inférieure, portant des ombelles latérales; pédoncules souvent courts, pétales blancs à nervures étroites (OZENDA, 2004). Toute la plante dégage une odeur agréable. Cette espèce est connue en arabe par Guezzah (QUEZEL et SANTA, 1962).

I – 2. Classification

La systématique de l'espèce *Pituranthos scoparius* est la suivante, selon QUEZEL et SANTA (1962):

Embranchement : *Spermaphytes*

Sous- Embranchement : *Angiospermes*

Classe : *Dicotylédones*

Sous- Classe : *Dialypétales, Rosidae*

Ordre : *Ombellales*

Famille : *Apiaceae*

Genre : *Pituranthos*

Espèce : *Pituranthos scoparius* (Coss. et Dur.) Benth et Hook.

I – 3. Répartition géographique

Pituranthos scoparius, est une plante commune de la partie nord du Sahara (Guir, Saoura, Boussaâda, Biskra ...) (OZENDA, 2004). Elle est réputée rare plus au sud, mais on l'observe très fréquemment sur le Plateau du Tassili (Figure 2) (BENCHELLAH et *al.*, 2000)



Figure 1: *Pituranthos scoparius*.

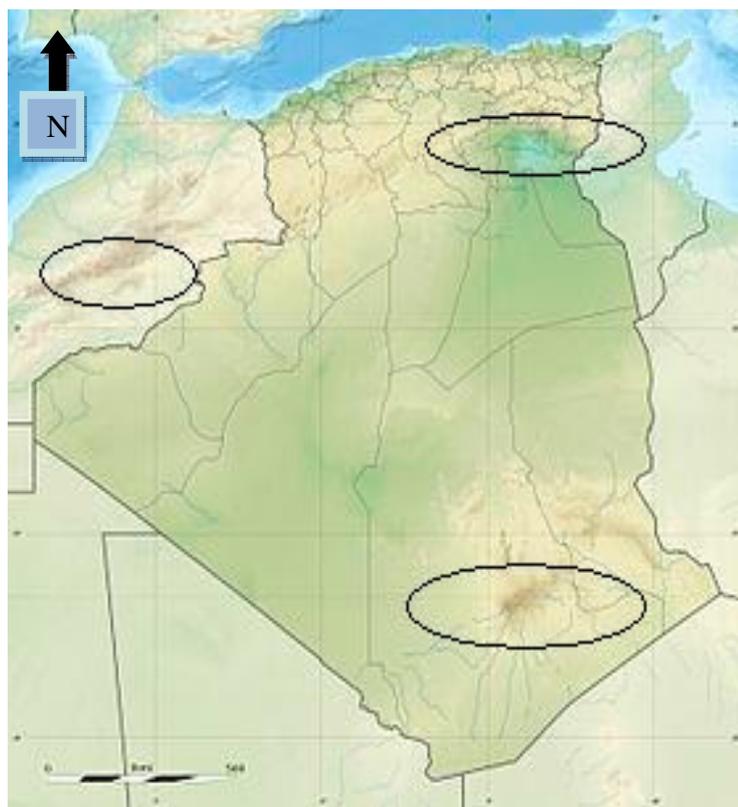


Figure 2 : Répartition géographique de *Pituranthos scoparius*

I – 4. Utilisation et propriété thérapeutique

Les animaux broutent cette plante sans qu'elle soit considérée comme un pâturage exceptionnel. Elle est appréciée pour l'arôme qu'elle communique à la nourriture. Avec les tiges, on tresse des claies pour y égoutter le fromage. On met également des branchettes sur la viande pour la parfumer (BENCHELLAH et *al.*, 2000).

Cette espèce semble être très peu utilisée dans le domaine médicinal traditionnel; elle est utilisée pour le traitement des diarrhées et de l'eczéma (BOUKEF, 1986 ; BENCHELLAH et *al.*, 2000).

II - Généralité sur les huiles essentielles

II – 1. Définition de l'huile essentielle

Les huiles essentielles sont des mélanges de substances odorantes et volatiles présentes sous formes de minuscules gouttelettes dans les différentes parties des végétaux (ABOU-ZEIDE, 1992; PADRINI et LURCHERONI, 1996). Ces substances sont obtenues par entraînement à la vapeur d'eau (cas général) ou par expression à froid (péricarpe des fruits de *Citrus*).

Les huiles essentielles sont considérées comme des substances secondaires du métabolisme végétal, élaborées naturellement par certaines plantes connues sous le nom de plantes aromatiques (GHESTEM *et al.*, 2001; GUINARD, 2009).

La volatilité des huiles essentielles les oppose aux huiles fixes (exemple l'huile d'olive) et aux graisses végétales dont elles diffèrent par leurs compositions chimiques et leurs caractéristiques physiques, elles sont fréquemment associées à d'autres substances comme les gommes et les résines et tendent elles-mêmes à se résinifier par exposition à l'air (BELAICHE, 1979; FESTY, 2007; BENKHECHI et ABDELOUAHID, 2010).

Chaque huile essentielle est unique, elle possède son odeur et ses caractéristiques spécifiques. Certaines sont particulièrement épaisses (visqueuses), d'autre très foncées. En général, elles sont de couleur jaune, mais certaines se distinguent par une couleur bleue, rouge, verte...etc. (FESTY, 2007). Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles présentent un certains nombre de caractères communs. Ce sont généralement des liquides à la température ordinaire et à odeur aromatique forte (GHESTEM *et al.*, 2001).

Les huiles essentielles sont plus légères que l'eau et non miscible (elles ne se mélangent pas à l'eau) ce qui permet de les séparer dans l'essencier de manière totalement naturelle (FESTY, 2007). En revanche, elles sont solubles dans les solvants organiques apolaires usuels et dans les alcools de titre élevé (GHESTEM *et al.*, 2001).

II – 2. Répartition et localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont très largement ré pondues chez les végétaux supérieurs (LAROUSSE, 1997; GHESTEM *et al.*, 2001), mais un nombre limité de

familles en sont particulièrement riches, telles que les Conifères, *Rutaceae*, *Apiaceae*, *Myrtaceae*, *Lamiaceae*, *Zingiberaceae*, *Cupressaceae*, *Poaceae*, *Piperaceae* et les *Asteraceae* (BRUNETON, 1999).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux, les fleurs (bergamotier, lavande), les feuilles (citronnelle), les écorces (cannelier), le bois (bois de rose), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre), les fruits (anis, badiane) et les graines (muscade) (ABOU-ZEIDE, 1996; BRUNETON, 1999; BENKHECHI et ABDELOUAHID, 2010). Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation dans l'organe végétale (ABOU-ZEIDE, 1996; BRUNETON, 1999). Chez les plantes médicinales et aromatiques, La partie aérienne (tige, pétiole, feuilles et fleurs) présente des formations glandulaires très développées, mais il ressort que la plus grande densité du système glandulaire est relevée sur le limbe foliaire, il convient de noter que les huiles essentielles sont élaborées au sein du cytoplasme de certaines cellules ; elles s'en séparent par synérèse, sous forme de petites gouttelettes qui confluent ensuite en plages plus moins étendues. Par suite elles sont accumulées, sous la cuticule dans les poils glandulaires sécréteurs situés au niveau des deux épidermes de la feuille et sur les tiges pendant la longue période allant de l'épanouissement des feuilles hors du bourgeon au stade de feuilles adultes. La cuticule joue un rôle important dans le stockage des huiles essentielles (BENKHECHI et ABDELOUAHID, 2010).

Chez les Ombellifères, racine, tige et feuille, sont parcourues par des canaux sécréteurs qui contiennent un mélange d'essence et de résine. Ils sont surtout abondants dans les tiges. Ce qui explique l'odeur forte qui se dégage des Ombellifères lorsqu'on écrase ces tiges (GUIGNARD, 1996).

Quantitativement, les teneurs en huiles essentielles sont faible, souvent inférieur à 1% (BENKHECHI et ABDELOUAHID, 2010), des teneurs fortes, comme celle du bronteurs floral de giroflier (15%), sont exceptionnelles (GHESTEM *et al.*, 2001).

Les huiles essentielles peuvent se localiser dans des cellules sécrétrices isolées (Lauracées), mais fréquemment, elles s'accumulent dans des organes sécréteurs :

poiles sécréteurs (*Lamiacées*), poches sécrétrices (*Myrtacées*, *Rutacées*) et canaux sécréteurs (*Apiacées*) (BRUNETON, 1999).

Le rôle des huiles essentielles n'est pas démontré clairement. En effet, elles sont considérées comme des produits de déchets du métabolisme (BELAICHE, 1979; BENKHECHI et ABDELOUAHID, 2010). Les huiles essentielles pourraient avoir un rôle pour attirer les insectes et favoriser la pollinisation, ou au contraire pour les repousser, et une action antiseptique contre certains microorganismes (ABOU-ZEIDE, 1996; BRUNETON, 1999). Certains auteurs les considèrent comme une ressource énergétique, facilitant certaines réactions chimiques (HAIKEL et OMAR, 1993).

II – 3. Caractéristiques physicochimiques des huiles essentielles

II – 3 – 1. Propriétés physiques

Les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques (BARDEAU, 1976; LEGRAND, 1978; BRUNETON, 1999):

- Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau à laquelle, toutefois, elles communiquent leur odeur.
- Leur point d'ébullition varie de 160°C à 240°C.
- Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0,75 à 0,99 (les huiles essentielles de girofle ou de cannelle constituent des exceptions).
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont dextrogyres ou lévogyres, rarement inactives sous la lumière polarisée.
- Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels.
- A température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaunes pâles, il existe, cependant, quelques exceptions.
- Ce sont des produits stimulants, employés à l'intérieur comme à l'extérieur du corps, quelquefois purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou un solvant adapté.

II – 3 – 2. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et de variables constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: Le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (BRUNETON, 1999).

II – 3 – 2 – 1. Terpénoïdes

Dans le cas des huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils ; monoterpènes (en C10) et des sesquiterpènes (en C15) (GHESTEM et *al.*, 2001; BARNES et *al.*, 2007) (Figure 3).

II – 3 – 2 – 1 – 1. Monoterpénoïdes

Les monoterpènes sont issus du couplage de deux unités « isopréniques ». Ils sont classés selon leur nombre de cycle : composé acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques (α et γ terpinène, ρ -cymène) ou bicyclique (pinène, Δ^3 carène, camphène, sabinène). Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle (citrus) (BRUNETON, 1999); aussi selon la nature des fonctions qu'ils portent : alcools (géraniol, α -terpinéol, trans farmésol), phénols (thymol), aldéhydes (citronellal) cétones (carvone, β -vetivone), esters (acétate de cédryle), éthers (1,8 cinéole) (BRUNETON, 1999, BENKHECHI et ABDELOUAHID, 2010).

II – 3 – 2 – 1 – 2. Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont issus du couplage de trois unités isopréniques. Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédent, carbures, alcools et cétones étant les plus fréquents (Figure 4).

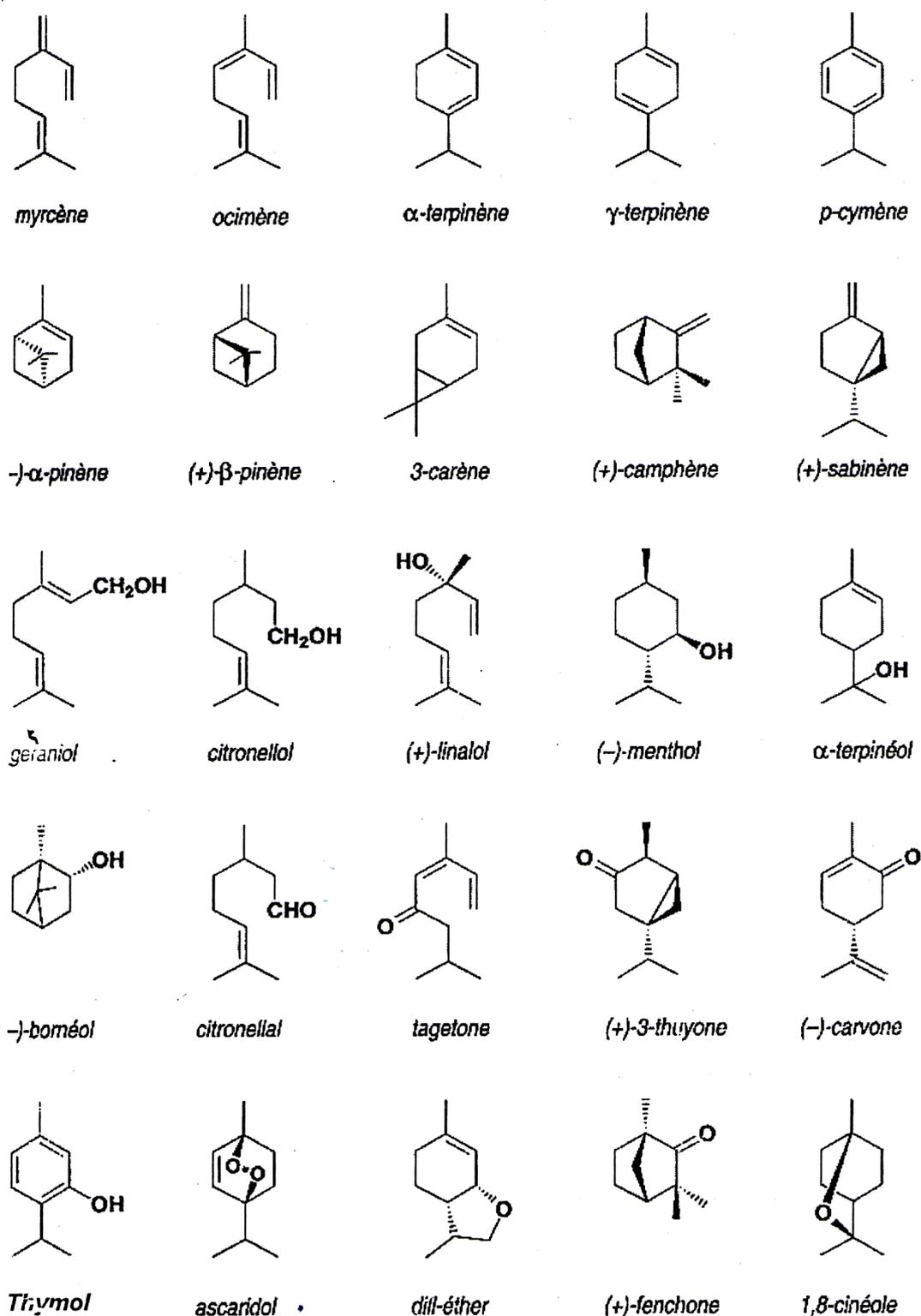


Figure 3: Structures des monoterpènes cycliques et acycliques (BRUNETON, 1999).

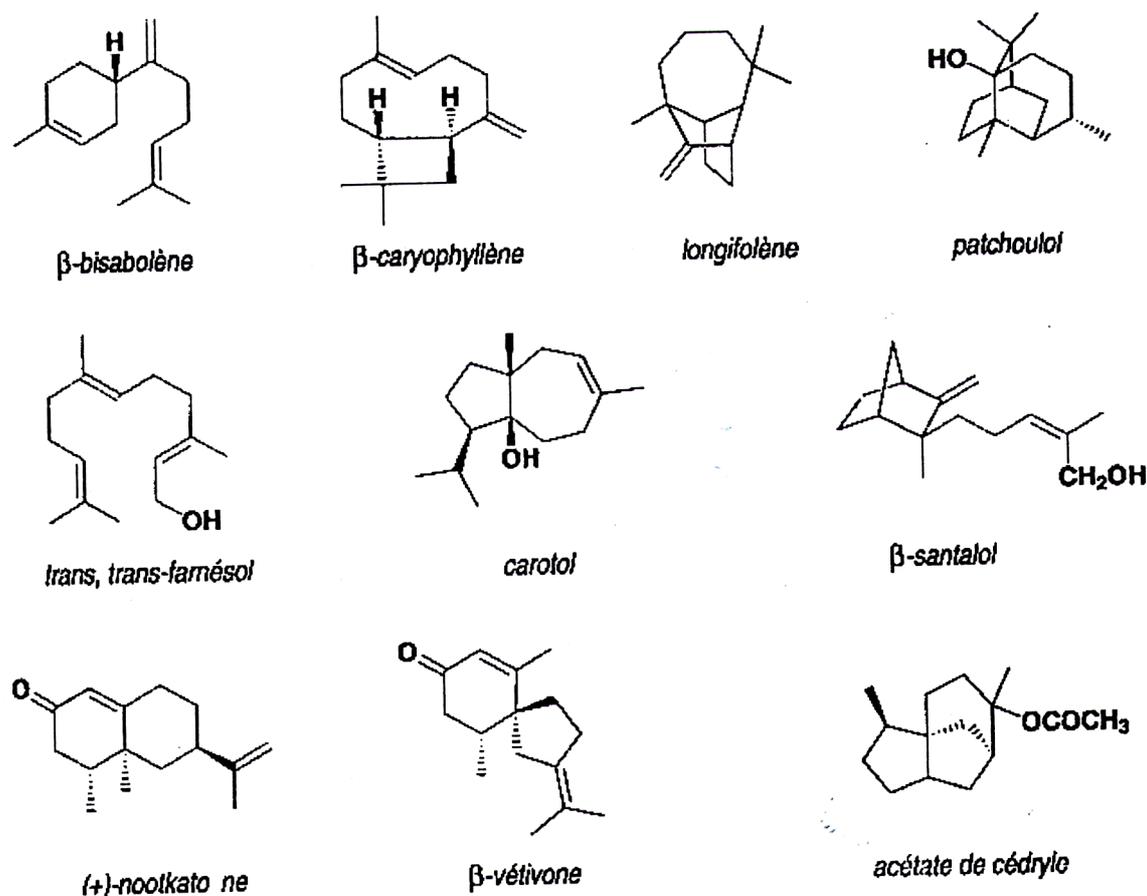


Figure 4: Structures des sesquiterpènes (BRUNETON , 1999).

II – 3 – 2 – 2. Les composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane (C6-C3) sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ce sont très souvent des allyl - et propénylphénols, parfois des aldéhydes, on peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en (C6-C1) comme la vanilline ou l'antranilate de méthyle (BRUNETON, 1999).

II – 3 – 2 – 3. Les autres composés

Il s'agit de produit résultant de la transformation de molécules non volatiles (acides gras et terpènes), les composés azotés ou soufrés sont plutôt rare dans les huiles essentielles. Il n'est pas rare de trouver des produits de masse moléculaire plus importante, non entraînable à la vapeur d'eau mais extractibles par les solvants, homologues des phénylpropanes, diterpènes etc... (ABOU-ZEIDE, 1992; BRUNETON, 1999).

II – 4. Facteurs de variabilité des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles et la proportion de ses différents constituants varient selon deux facteurs principaux (ABOU-ZEIDE, 1996; BRUNETON, 1999).

II – 4 – 1. Facteurs intrinsèques

- a- Origine botanique :** La composition d'une huile essentielle varie selon l'espèce productrice.
- b- Le cycle végétatif :** Pour une espèce donnée, la proportion des différents constituants d'une huile essentielle peut varier tout au long du cycle de développement.
- c- Les facteurs génétiques :** Plusieurs facteurs génétiques (hybridations, mutations, races chimiques) peuvent influencer la composition chimique des huiles essentielles.
- d- Procédé d'obtention des huiles essentielles**

La labilité des constituants des huiles essentielles stipule que la composition du produit obtenue par hydro-distillation soit, le plus souvent, différente de celle de mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétale (BRUNETON, 1999). Au cours de l'hydro-distillation, l'eau et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters, mais aussi, des réarrangements, des isomérisations, des racémisations et des oxydations.

II – 4 – 2. Facteurs extrinsèques

La nature du sol ainsi que les conditions climatiques influent directement sur la production des huiles essentielles.

a- La lumière et la température

Elles sont les plus influentes sur la composition des huiles essentielles, elles agissent sur celle-ci simultanément. Certains auteurs admettent que la quantité d'essence augmente dans la journée, atteint un maximum dans l'après midi ou le soir et diminue dans la nuit. D'autres disent, que les plantes destinées à l'extraction des essences doivent être cueillies avant l'aube, lorsque la rosée de matin est encore

présente et avant que la chaleur n'en libère les substances aromatiques. Cependant, sur d'autres espèces, on signale que le rendement nocturne en essence est de 20% supérieurs à celui de jour (BENKHECHI et ABDELOUAHID, 2010).

b- Les problèmes phytosanitaires

- 1) **Les maladies :** La récolte des plantes malades est compromise et la qualité de l'essence est dépréciée (BENKHECHI et ABDELOUAHID, 2010).
- 2) **Les ennemis animaux:** Les plus dévastateurs et les plus redoutables sont les nématodes pathogènes. Par les attaques qu'occasionnent aux plantes, ces derniers diminuent les rendements (BENKHECHI et ABDELOUAHID, 2010).
- 3) **La nature du sol :** Les pratiques culturales sont également déterminantes sur le rendement et la qualité du produit final. L'apport d'engrais et l'influence des variations N, P, K ont été étudiés pour diverses espèces (BENKHECHI et ABDELOUAHID, 2010).

II – 5. Utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent avoir d'intéressantes applications dans différentes secteurs:

II – 5 – 1. En pharmacie

Les huiles essentielles sont employées, en raison de leurs vertus curatives, dans la fabrication de certains médicaments ou comme aromatisants pour masquer le goût de certaines préparations pharmaceutiques. Elles peuvent aussi servir pour l'isolement de certains constituants (eugénol, pinène) ayant un intérêt médicamenteux (ABOU-ZEIDE, 1992; BRUNETON, 1999)

Les huiles essentielles ont un champ d'action très large, elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des levures et des moisissures. L'effet biologique a souvent été trouvé supérieurs à celui de plusieurs fongicides du commerce (SINGH *et al.*, 1983).

De plus, les huiles essentielles sont très efficaces sur les germes résistants aux antibiotiques; ce qui leur donne une place parmi les moyens thérapeutiques de désinfection. Elles sont utilisées comme anti-infectieux (girofle, eucalyptus, myrte),

analgésiques (girofle). Les essences d'eucalyptus qui, à cause de leur volatilité, favorises l'expectoration et sont, de ce fait, indiquées dans les bronchites chroniques (DUQUENOIS, 1968).

Les perspectives d'application peuvent s'étendre à d'autres domaines comme, par exemple, la stomatologie, le traitement des affections bactériennes et fongiques de la cavité buccale, les soins dentaires ou simplement pour l'hygiène dentaire sous forme de pâte (PELLECUER *et al.*, 1976).

II – 5 – 2. En parfumerie et cosmétique

La parfumerie, l'industrie du cosmétique et le secteur des produits d'hygiène utilisent d'importante quantité d'huile essentielle pour la fabrication de parfum (KAKHIA, 2005), de savon (KAKHIA, 2009a; KADHALEK, 2000), de crème et de dentifrice (WILLIAMS et SCHMITT, 1996), de shampooing (KADHALEK, 2002), de lotion (KAKHIA, 2009b) et de détergent (KADHALEK, 2004). Puisque la majorité des produits cosmétiques contiennent une certaine quantité d'huile essentielle comme un élément parfumant, il serait probable que ces essences servent aussi à préserver ces cosmétiques tout en leur assurant une odeur agréable (BEYLIER-MAUREL, 1976; DEBOUCHEBERG *et al.*, 1976; PELLECUER *et al.*, 1976).

II – 5 – 3. En agroalimentaire

L'activité antimicrobienne des extraits de plantes utilisées dans l'assaisonnement des aliments a été reconnue depuis longtemps. C'est pour cela, que les extraits sont de plus en plus utilisés dans la conservation des denrées alimentaires. C'est ainsi que l'on trouve le laurier dans certaines conserves et dans le miso (aliment japonais traditionnel) (KURITA et KOÏKE, 1982).

Les industries agroalimentaires utilisent les drogues à huiles essentielle en nature (épice et aromates) ou sous formes d'huile essentielle (MOHTADJI-LAMBALLAIS, 1989; MULTON, 2002 et CROUZE, 1998). Ces dernières sont incorporées dans tous les secteurs alimentaires surtout biscuits, confiseries, produits de boulangeries, produits laitiers, alcool, boissons non alcoolisées, sauces, soupes, produits carnés (BRUNETON, 1999), comme des aromes (JAENTET *et al.*, 2006) ou

des agents de conservations en raison de leur activité antimicrobienne (BUSTA et FOEGEDING, 1983).

II – 6. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

L'obtention des huiles essentielles fait appel à diverses techniques d'extraction, certaines sont plus anciennes et simples, et d'autres sont plus récentes et performantes mais plus complexes d'opération. Ces dernières interviennent de façon déterminante dans le rendement en huile et dans sa composition (BENJILALI, 2004). Le choix du type d'extraction doit permettre de retirer des végétaux des essences aromatiques avec le rendement le plus élevé et de conserver aussi intact que possible les parfums les plus délicats (BENKHECHI et ABDELOUAHID, 2010).

II – 6. 1 La distillation

La distillation convient aux huiles ayant une forte composante volatile. Elle se base sur la caractéristique que possèdent ces composantes qui peuvent être facilement transportées par des particules de vapeur d'eau (PADRINI et LURCHERONI, 1996).

La distillation est de loin le procédé le plus répandu (FESTY, 2007), à l'exception des huiles essentielles d'hespéridés (citron, orange, etc.) et l'huile de cade (BELAICHE, 1979). Il existe deux principaux modes de distillation.

II – 6 – 1 – 1. L'hydrodistillation

L'hydrodistillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. L'inconvénient de cette méthode est que le matériel végétal risque facilement de se calciner, ce qui entraîne une modification de la composition chimique et les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles (BRUNETON, 1999).

II – 6 – 1 – 2. La distillation à la vapeur

Dans cette méthode, le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau, la vapeur d'eau injecté au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées

où une grille (ABOU-ZEIDE, 1992; BRUNETON, 1999; KAKHIA, 2005). Les particules de vapeur d'eau, se dirigeant vers le haut, font éclater les cellules contenant l'essence et entraînant avec elles les molécules odorantes. La vapeur passe ensuite à travers un récipient réfrigérant où la température diminue, provoquant le détachement des molécules huileuses des particules de vapeur, qui se condense en eau. L'huile et l'eau se séparent du fait de leur poids spécifique différent, l'huile flottera sur l'eau car elle est plus légère (BENKHECHI et ABDELOUAHID, 2010).

Parfois, les huiles obtenues sont soumises à une distillation supplémentaire, appelée rectification, pour éliminer certaines substances particulièrement irritantes comme c'est le cas pour le thym, ou bien elles sont redistillées à des températures différentes afin d'obtenir des constituants comme le camphre blanc (PADRINI et LURCHERONI, 1996).

Bruneton (1999) signale qu'il est possible de travailler en surpression modérée afin de raccourcir le temps de traitement, limiter l'altération des constituants de l'huile essentielle et d'économiser l'énergie.

II – 6 – 2. L'extraction par l'enfleurage

Ce procédé met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Les fleurs sont déposées sur des plaques de verre recouvertes d'une mince couche de graisse. Le parfum exhalé par les fleurs se dissolvait dans le corps gras. Périodiquement, les fleurs sont éliminées et remplacées par des fleurs fraîches jusqu'à saturation du corps gras (BRUNETON, 1999). On mixe ce mélange avec l'alcool qui va diluer seulement l'huile essentielle, alors que les corps gras restent tels qu'ils sont (ABOU-ZEIDE, 1996). La digestion ou l'enfleurage à chaud consiste à immerger les fleurs, supportant une macération à chaud dans un corps gras fondu (BRUNETON, 1999).

La technique d'enfleurage est rarement pratiquée de nos jours, en raison de son faible rendement et de l'importante main d'œuvre qu'elle nécessite (ABOU-ZEIDE, 1992).

II – 6 – 3. Extraction par les solvants volatils

Cette méthode est utilisée soit pour l'obtention des essences que l'on ne peut pas extraire par d'autres techniques en se basant sur le pouvoir de solvant organique à dissoudre les composants, soit en vue d'un rendement bien supérieur, soit pour les matières végétaux présentant une concentration en essence relativement faible (PADRINI et LURCHERONI, 1996). Les extraits obtenus à partir de ce procédé possèdent des caractéristiques analytiques, physicochimiques différentes de celles des extraits obtenus à partir de procédés précédents (CROUZE, 1998).

Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques. Les solvants les plus utilisés, sont les hydrocarbures aliphatiques. Si le benzène est un bon solvant, sa toxicité limite de plus en plus son utilisation, on a également recours aux solvants halogènes (dérivés chlorés) et à l'éthanol, ce dernier étant surtout utilisé pour l'obtention d'absolues et de rétinoides lavés. Après l'extraction, le solvant est distillé. En fin d'opération, le solvant imbibant la masse végétale est récupéré par injection de vapeur d'eau dans celle-ci (BRUNETON, 1999).

L'inconvénient majeur de cette technique est le manque de sélectivité ; de nombreuses substances lipophiles peuvent se retrouver dans les concrètes (huiles fixes, phospholipides ...etc.), ça nécessite plusieurs procédés de purification à fin d'obtenir un produit de pureté absolue (BRUNETON, 1999).

II – 6 – 4. Extraction par expression

Cette technique consiste à presser la matière végétale en éclatant les tissus contenant les huiles essentielles et en les récupérant par un procédé physique (BRUNETON, 1999). Cette méthode artisanale est totalement abandonnée au profit des machines utilisées pour permettre l'extraction des jus et des essences (BELAICHE, 1979).

II – 6 – 5. L'extraction par micro-ondes

L'extraction par micro-ondes est une technique récente très rapide, peu consommatrice d'énergie, elle donne un produit supérieur au produit d'hydrodistillation ainsi que dans la plupart des cas des rendements élevés

(ZLOTORZYNSKI, 1995). Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé, les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant (non chauffé). Par filtrage l'extrait est ensuite récupéré (FERHAT *et al.*, 2010).

II – 6 – 6. L'extraction au fluide supercritique

Cette technique est assez récente, elle consiste à utiliser un fluide pour extraire une huile essentielle, ce fluide peut exercer une diffusibilité dans les matières solides et être un bon solvant dans des conditions particulières de températures et de pression situées au-delà du point critique. Si plusieurs gaz peuvent en théorie être utilisés, l'intérêt s'est porté initialement sur le dioxyde de Carbone qui est un produit naturel, inerte chimiquement, ininflammable, strictement atoxique, peu réactif chimiquement, peu coûteux et facile à éliminer totalement (BRUNETON, 1999).

La méthode est maintenant utilisée pour préparer des extraits d'épices (gingembre, paprika, céleri), des arômes (thé noir, bois de chêne fermé) et des essences végétales pures, débarrassées des terpènes, dépourvues d'intérêts olfactifs et oxydables, ou privées de certains constituant (BRUNETON, 1999).

II – 7. Les méthodes d'analyses des huiles essentielles

La séparation des composants d'un mélange constitue une étape essentielle pour entreprendre une étude, les techniques de séparation utilisées en biochimie et en biologie, basées sur le comportement des macromolécules en solution, sont très diversifiées (SINE, 2003). L'utilisation de techniques chromatographique autorise une bonne séparation des substances en mélange dans les essences et les corps lipophiles non volatils, voir même préfractionnement des monoterpènes et des sesquiterpènes (BRUNETON, 1999).

La chromatographie est une technique de séparation basée sur une partition des molécules à séparer entre deux phases non miscible (CAUDE et JARDY, 1993), l'une fixe dite phase stationnaire et l'autre en mouvement dite mobile. Pour chaque type, la proportion de molécules dans la phase stationnaire et mobile dépend des forces d'interactions relatives entre la phase stationnaire et les molécules (PRATS, 2002).

II – 7. 1 La chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est la plus simple méthode chromatographique qualitative (SINE, 2003) mais beaucoup moins performante, cette méthode qualitative qui repose sur des phénomènes d'adsorption peut être utilisée en routine pour le contrôle de qualité des huiles essentielles (BRUNETON, 1999). La phase stationnaire forme une couche sur un support inerte (plaque de verre ou d'aluminium). La phase mobile migre de bas en haut par capillarité. Chaque molécule est caractérisée par son rapport frontal (RF), qui est le rapport de la distance parcourue par le soluté à la distance parcourue par le solvant (STAHL, 1975; BOUNIAS, 1983)

II – 7 – 2. La chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Cette méthode d'analyse par séparation permet de séparer des mélanges gazeux, complexes susceptible d'être vaporisés par chauffage sans décomposition (TRANCHANT, 1996), par une suite continue d'équilibres s'établissant entre une phase mobile gazeuse et une phase stationnaire liquide (CPG gaz-liquide), ou parfois solide, placée à l'intérieur d'une colonne (CPG gaz-solide) (HAMON *et al.*, 1990; MAHUZIER *et al.*, 1999). Le gaz vecteur est le gaz qui véhicule les solutés (AUDIGIE *et al.*, 1995). La CPG est considérée comme la méthode la mieux adaptée à l'analyse des huiles. Elle permet une évaluation qualitative et quantitative de la composition chimique des huiles essentielles (BRUNETON, 1999).

II – 7 – 3. Le couplage CPG/MS

La spectrométrie de masse permet d'identifier et de doser une substance ou un élément à l'aide de la mesure du rapport masse/charge d'ions issus de l'échantillon. (AUDIGIE *et al.*, 1995b; CONSTANTIN *et al.*, 1996, BOTTER *et al.*, 1996; BOUKHARI, 1999). Elle est considérée comme une technique d'analyse extrêmement puissante pour la caractérisation structurale des molécules organiques (MORTAGNE, 2000). Le couplage CPG/MS permet d'associer la puissance séparative de la chromatographie et la sensibilité et sélectivité de la détection par spectrométrie de masse à partir d'une quantité minimale d'échantillon (du mg au pg) (DEMAACK *et SABLIER*, 1994; HAMON *et al.*, 1990)

Dés 1980, le couplage chromatographique avec la spectrométrie de masse a été maîtrisé totalement (SABLIER, 1997). Si la chromatographie permet à elle seule de séparer correctement les différents constituants d'un mélange, il est néanmoins délicat de se livrer à une interprétation structurale permettant une identification certaine, car les paramètres déduits de la rétention sélective des solutés au travers de la colonne sont souvent lourds à manier et, dans la plupart des cas, peu reliés aux édifices moléculaires organiques (DEMAACK et SABLIER, 1994).

II – 7 – 4. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Cette technique de séparation permet l'analyse de très faible quantité de molécules non volatiles, thermosensible ou de polarité élevée (MAHUZIER *et al.*, 1999). Elle est efficace pour s'assurer de l'authenticité des huiles essentielles de citrus ou pour doser les huiles essentielles de lavande ou d'estragon (BRUNETON, 1999). Elle se caractérise par la grande diversité des phénomènes (adsorption, exclusion-diffusion, ionique et phase inversée ... etc.) (AUDIGIE *et al.*, 1995a; MAHUZIER *et al.*, 1999).

La HPLC comporte une (ou des) pompe (s) qui propulse l'éluant (la phase mobile) dans une colonne analytique dont la phase stationnaire est très fine. L'injection de l'échantillon à analyser est pratiquée en introduisant un faible volume de produit (quelques μl) dans l'éluant sous pression. Après leur séparation, les différents constituants de l'échantillon sont détectés en sortie de la colonne. Un ordinateur assure l'acquisition et le traitement des données (AUDIGIE *et al.*, 1995a).

III - L'activité antimicrobienne des huiles essentielles

Les plantes aromatiques appartiennent à la fois au domaine des plantes médicinales et des matières premières industrielles d'origine végétale, et constituent des sources de substances naturelles complexes, destinées à apporter des caractères organoleptiques particuliers aux aliments. Les plantes aromatiques fraîches, séchées ou conservées peuvent servir à l'assaisonnement des mets et également donner naissance à des formes galéniques particulières que sont les extraits végétaux, les huiles essentielles ou les oléorésines.

Les épices et les herbes aromatiques sont constituées par des parties de plantes apportant une odeur et une saveur destinées à améliorer un bien-être lors de la dégustation. Il peut s'agir soit d'une plante entière ou d'un organe particulier (fleurs, fruits, bourgeons, graines, écorces, racines, rhizomes, ou bulbes), le plus souvent à l'état sec (TEUSCHER *et al.*, 2005).

III – 1. L'Aromathérapie

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie, elle utilise les propriétés odoriférantes des huiles essentielles que contiennent les plantes aromatiques (TELPON, 2003). Ce terme, a été créé en 1928 par un pharmacien français Gattefossé, désignant l'emploi des huiles essentielles issues des plantes aromatiques pour traiter des pathologies et améliorer la santé et le bien-être (PADRINI et LUCHERONI, 1996).

Depuis des millénaires, les essences sont exploitées pour leurs propriétés antiseptiques car elles s'opposent au développement des germes et les tuent.

Pour lutter contre les agressions microbiennes, on utilise aujourd'hui les antibiotiques ou autres médicaments similaires. Or ces produits non seulement enravent l'infection mais affaiblissent en même temps l'organisme qui par la suite aura des difficultés à recréer son propre système de défense. Par contre, de récentes études ont pu revaloriser les essences et prouver que leur action antibiotique est exempte de toutes réactions secondaires sur les fonctions de l'organisme (BENKHECHI et ABDELOUAHID, 2010).

L'essence de thym par exemple à un pouvoir antiseptique supérieur à celui de l'eau oxygénée et du gaïacol grâce à sa teneur en thymol. La solution aqueuse de thymol détruit en deux minutes le bacille de la typhoïde, en quatre minutes le streptocoque, et en une heure le bacille de Koch (CHIEJ, 1982).

Par ailleurs, l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata*, riche en thymol, a une forte action stimulante et un remarquable pouvoir antimicrobien. En effet, elle a une action très importante sur les maladies microbiennes (ABDELOUAHID et BEKHECHI, 2004).

En outre, les essences sont dotées d'un pouvoir antitoxique, c'est-à-dire d'inactivation des produits de la détérioration des cellules ; dans les plaies infectées, elles se lient aux toxiques et les désactivent, non pas pour cacher les mauvaises odeurs mais pour empêcher les processus de décomposition (PADRINI et LUCHERONI, 1996).

Il a été prouvé que le pouvoir antiseptique des essences ne diminue pas avec le temps. Le corps ne «s'accoutume» pas aux essences, mais celles-ci agissent toujours efficacement, en renforçant les défenses de l'organisme (FESTY, 2007).

Les propriétés antiseptiques des essences sont complétées par leur pouvoir cicatrisant; l'appel sanguin qu'elles provoquent stimule, en effet, la régénération cellulaire. Des solutions aqueuses d'huiles essentielles, surtout celles de la famille des lamiacées (lavande, sauge, romarin, thym), facilitent les processus de réparation des tissus et stimulent la cicatrisation des plaies et des ulcères cutanés, en prévenant les surinfections bactériennes (BRUNETON, 1999).

Les propriétés antiparasitaires de certaines essences de thym, Géranium et laurier se manifestent en éloignant certains insectes, vers et moustiques, et dans le traitement des pédiculoses et de la gale. Certaines essences sont dotées de propriétés antitoxiques et antivenimeuses, elles contribuent à neutraliser le venin des guêpes, des abeilles et des araignées (par exemple la lavande et le géranium) (PADRINI et LUCHERONI, 1996).

De nombreuses essences ont des propriétés antirhumatismales et antinévralgiques (par exemple le romarin ou la camomille), utiles pour le traitement d'affections douloureuses articulaires (arthrose, goutte). Elles agissent aussi

lorsqu'elles sont appliquées localement par compresse ou par massage, grâce à leur grande capacité de propagation, de l'épiderme aux tissus profonds (FESTY, 2007).

La plupart des essences (par exemple du pin, du géranium, du basilic, de la sarriette et du romarin) sont stimulantes et tonifiantes au niveau des glandes endocriniennes, entre autres, le cortex surrénal responsable de la capacité de résister au stress (BRUNETON, 1999).

L'action antispasmodique est commune à de nombreuses essences (par exemple la lavande, la marjolaine, la verveine et la mélisse). Elle permet de traiter des cas de spasmes viscéraux tels que les coliques, le syndrome du colon irritable, le hoquet ainsi que la tendance aux coliques hépatiques ou rénales (BENKHECHI et ABDELOUAHID, 2010).

Certaines essences de plantes (comme la sauge, le cyprès, la verveine ou le fenouil) ont des propriétés hormonales, elles exercent une action de régulation sur les glandes endocriniennes (PADRINI et LUCHERONI, 1996).

La renaissance de l'aromathérapie marque une nouvelle étape dans la consécration scientifique d'une branche très importante qui est la phytothérapie (CHIEJ, 1982).

III – 2. L'activité antimicrobienne des huiles essentielles

La capacité des huiles essentielles à neutraliser les germes est indéniable. Les premiers travaux mettant en évidence le pouvoir antiseptique des huiles essentielles datent de 1887 par De Chamberland (SURCH et NIELSEN, 2003). Depuis, médecins, pharmaciens, biologistes, et chercheurs travaillent sur les multiples propriétés des huiles essentielles et l'intérêt s'est porté tout particulièrement sur leur activité antimicrobienne. De nombreux articles scientifiques sont publiés chaque année démontrant le pouvoir antibactérien et antifongique des huiles essentielles.

SCHROEDER et MISSING ont découvert, entre 1949 et 1950, une technique qui sera le point de départ de l'aromatogramme. Ils mesurent les zones d'inhibition autour de disques de buvard imprégnés d'essences aromatique plongés au sein d'une colonie microbienne.

PATTNAIK *et al.*, (1997) ont testé l'activité microbienne de cinq constituants des huiles essentielles; le cinéole, le citral, le géraniol, le linalol et le menthol sur 18 bactéries (cocci gram⁺) et 12 champignons (3 levures et 9 mycètes). Le linalol était le plus efficace en inhibant 17 bactéries, suivi du cinéole, géraniol (chacun a inhibé 16 bactéries). Le menthol et le citral ont inhibé 15 et 14 bactéries, respectivement. Contre les champignons le citral et le géraniol sont les plus actifs (inhibition des 12 champignons), suivis par le linalol (qui a inhibé 10 champignons). Le cinéole et le menthol (ont inhibé tout les deux 7 champignons).

INOUYE *et al.*, (1998) ont testé l'activité antifongique des huiles essentielles de 5 espèces végétales (le citron, la lavande, le thé, la citronnelle et le thym), dont leurs constituants majoritaires sont le limonène, linalol, le terpinène, le perillaldéhyde, le citral et le carvacrol. Il paraît que ces huiles inhibent la croissance apicale d'*Aspergillus fumigatus* par l'accumulation des vapeurs sur le mycélium. Les auteurs ont conclu que ces huiles seront plus efficaces dans la prévention des mycoses que des infections bactériennes quand elles sont utilisées sous forme de vapeur.

HAMMER *et al.*, (1999), ont évalué des concentrations minimales inhibitrice (CMI), obtenues par la méthode de dilution, de 52 huiles et extraits, leurs résultats étaient les suivants :

- L'huile de la citronnelle, d'origan et du noyau d'abricot a inhibé tous les organismes à moins de 2% (v/v).
- Les HE de palissandre, de coriandre, du thé, de niaouli, de la menthe poivrée, de la sauge et du marjoram, ont inhibé tous les microorganismes à $\leq 2\%$ (v/v), à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*.
- Six huiles, comprenant les huiles fixées (les huiles du noyau d'abricot et d'amande douce) et l'huile essentielle de sauge, n'ont inhibé aucun microorganisme même à des fortes concentrations qui étaient de 2% (v/v).
- Les huiles du myrte et du cyprès ont inhibé les bactéries Gram+ seulement, alors que les huiles de carotte, de patchouli, et de vétiver ont inhibé les bactéries Gram+ et *Candida albicans*.
- L'huile de mandarine inhibe *Candida albicans* à 2% (v/v), alors que les bactéries ne sont pas inhibées à une concentration $\leq 2\%$ (v/v).

- *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus* étaient les organismes les plus sensibles, inhibés à une concentration $\leq 2\%$ (v/v) par 41 extraits.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles du poivre (*Piper nigrum*), du géranium (*Pelargonium graveolens*), d'origan (*origanum vulgare*) et du thym (*thymus vulgaris*) sur 25 genres différents de bactéries est testée. Les huiles volatiles ont montré des effets inhibiteurs considérables contre tous les organismes testés, alors que leurs constituants majeurs ont montré des degrés différents au niveau de la culture bactérienne. L'activité des huiles volatiles est comparée à celle des antibiotiques sur des bactéries en culture, Ces recherches ont montré que les constituants à structure phénolique tels que le carvacrol, l'eugénol et le thymol, sont hautement actifs contre les microorganismes. Les composants de cette classe sont connus d'être des agents bactéricides ou bactériostatiques selon la concentration utilisée (DORMAN et DEANS, 2000).

MORI *et al.*, (2002), ont démontré l'inhibition de l'élastase pancréatique du porc (EPP) et de l'élastase des neutrophiles humaine (ENH) par les huiles essentielles du citronnier et du genévrier.

Les huiles essentielles des tiges et des grains de *Pituranthos scoparius*, collectée de la région de Ghardaïa et de Ain Diss, ont montré une activité antibactérienne élevée sur *Enterobacter*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Psodomonas aerogenosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* et *Staphylococcus aureus* (BOUTAGHANE *et al.*, 2004).

Les huiles essentielles de *Pituranthos tortuosus*, collectée de Tunisie, présentent des activités antibactériennes élevées sur *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* (ABDELWAHED *et al.*, 2006).

YANGUI *et al.*, (2008) ont montré que les huiles essentielles de *Pituranthos chloranthus*, collectée de Tunisie, sur *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus hirae*, *Psodomonas aerogenosa*, *Escherichia coli* et *Candida albicans*. Ont une activité antibactérienne élevée.

III – 3. Mode d'action des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisque elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Très peu d'études portant sur le mode d'action des huiles essentielles vis-à-vis des microorganismes ont été réalisées sur le mode d'action. Les huiles essentielles empêchent la multiplication, la sporulation et la synthèse des toxines des bactéries. Elles agissent sur les levures en modifiant la biomasse et la production du pseudo mycélium, sur les moisissures, elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium et la toxicogénèse (HULIN *et al.*, 1998).

HULIN *et al.*, (1998) rapportent que les huiles essentielles semblent posséder plusieurs modes d'action sur les différents microorganismes. Elles agissent par :

- L'interférence avec la bicouche lipidique de la membrane cellulaire, provoquant une augmentation de la perméabilité et la perte des constituants cellulaires.
- L'altération des différents Systems enzymatiques dont ceux impliqué dans la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- La destruction ou inactivation du matériel génétique (ADN et ARN).

Chaque souche de microorganisme répond de manière variable aux différentes huiles essentielles. Toutefois, il a été souligné dans plusieurs études que les bactéries à Gram⁺ semblent être plus sensibles à l'effet des huiles essentielles que les bactéries à Gram⁻ (INOUYE, 2001; DE BILLEBECK *et al.*, 2002). Cette différence de sensibilité provient de la différence la paroi des bactéries (INOUYE, 2001).

D'autre part, il a été constaté que les champignons sont moins sensibles à l'action des huiles essentielles par rapport aux autres microorganismes. Ceci a été attribué à la durée d'incubation relativement longue de ces champignons, entraînant une évaporation et une décomposition des huiles essentielles (JANSSEN *et al.*, 1987).

La sensibilité des souches vis-à-vis d'une huile essentielle donnée est différente selon l'espèce, mais aussi selon le stade de développement, Les huiles essentielles induisent des modifications morphologiques qui peuvent être de différentes sortes; gonflement, rétrécissement, distorsion, lyse et éclatement (DE BILLEBECK, 2000).

III – 4. Utilisation des huiles essentielles comme antibiotiques

FESTY (2007) a montré qu'il y a quelques différences majeures expliquant l'intérêt des huiles essentielles par rapport aux médicaments antibiotiques

Les huiles essentielles ne provoquent pas d'antibiorésistances. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), les antibiotiques ne sont plus aussi efficaces qu'avant. Ils sont devenus inactifs sur de nombreux germes qui se sont «habitués» et modifiés en conséquence. Il faut alors augmenter de plus en plus les doses pour obtenir un résultat. Au contraire, l'efficacité des huiles essentielles ne faiblit pas au fur et à mesure de leur utilisation, et il n'y a pas besoin de multiplier les doses pour guérir. L'extrême variété de leurs composants empêche les microbes d'organiser leur résistance (FESTY, 2007).

La majorité des huiles essentielles sont également antivirales. Les antibiotiques sont encore souvent prescrits abusivement dans ce cas, alors qu'ils sont totalement inutiles contre les virus! En revanche, les huiles essentielles vont lutter contre les virus (en traitant la grippe ou le rhume). Les médicaments antibiotiques empêchent les germes de se reproduire et de survivre en bloquant leurs fonctions de base (organiques et métaboliques). Les huiles essentielles agissent de même, mais modifient aussi « l'environnement », qu'elles rendent impropre à la vie de ces germes

Les huiles essentielles sont efficaces par voie orale à des concentrations cinquante fois moindre que celles des antibiotiques. Elles stoppent la prolifération des germes nocifs tout en ayant une influence positive sur la réponse immunitaire. Ce qui n'est pas le cas des médicaments antibiotiques classiques

L'aromathérapie peut également être utilisée soit à la place d'un antibiotique classique, soit en complément, afin de renforcer ses effets et d'obtenir des résultats plus rapides et durables. Elle est tout aussi précise que l'antibiothérapie. Une huile essentielle «antibiotique» détruit un nombre très élevé de bactéries différentes, alors qu'un médicament antibiotique classique n'agit que sur quelques germes.

1 – Matériel

1 – 1. Matériel végétal

Les parties aériennes de *Pituranthos scoparius* de quatre populations de l'est algérien (T'kout (Batna), Boussaâda (M'sila), Méchoneche (Biskra) et El-kantra (Biskra)) (Figure 5) sont échantillonnées, pendant la période de floraison, en octobre 2009 et 2010. Les échantillons sont débarrassés des impuretés puis séchés à l'ombre à une température ambiante jusqu'à leur utilisation.

1 – 2. Matériel des tests de l'activité antimicrobienne

1 – 2 – 1. Souches microbiennes

L'activité antimicrobienne et antifongique des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* des quatre populations de l'est algérien, a été évaluée sur 12 souches bactériennes (Gram⁺ et Gram⁻) et une levure.

Parmi les bactéries, quatre souches sont référenciées (American Type Culture Collection (ATCC). Elles proviennent de l'Institut Pasteur d'Alger : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aerogenosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Les autres souches bactériennes ont été isolées à partir des prélèvements cliniques humains (pus, selles, urines, liquide céphalo-rachidien et sang) et identifiées au niveau du laboratoire de bactériologie et de parasitologie de l'hôpital Hakim Saadane de Biskra (*Escherichia coli*, *Shigella* sp., *Salmonella typhimurium*, *Salemonella paratyphimurium*, *Acenitobacter baumannii*, *Serratia marcescens*, *Proteus premeri*, *Staphylococcus aureus*). Le champignon pathogène utilisé dans cette étude est *Candida albicans*, agent causal des vaginites et du muguet. Il a été prélevé et identifié au niveau du même laboratoire.

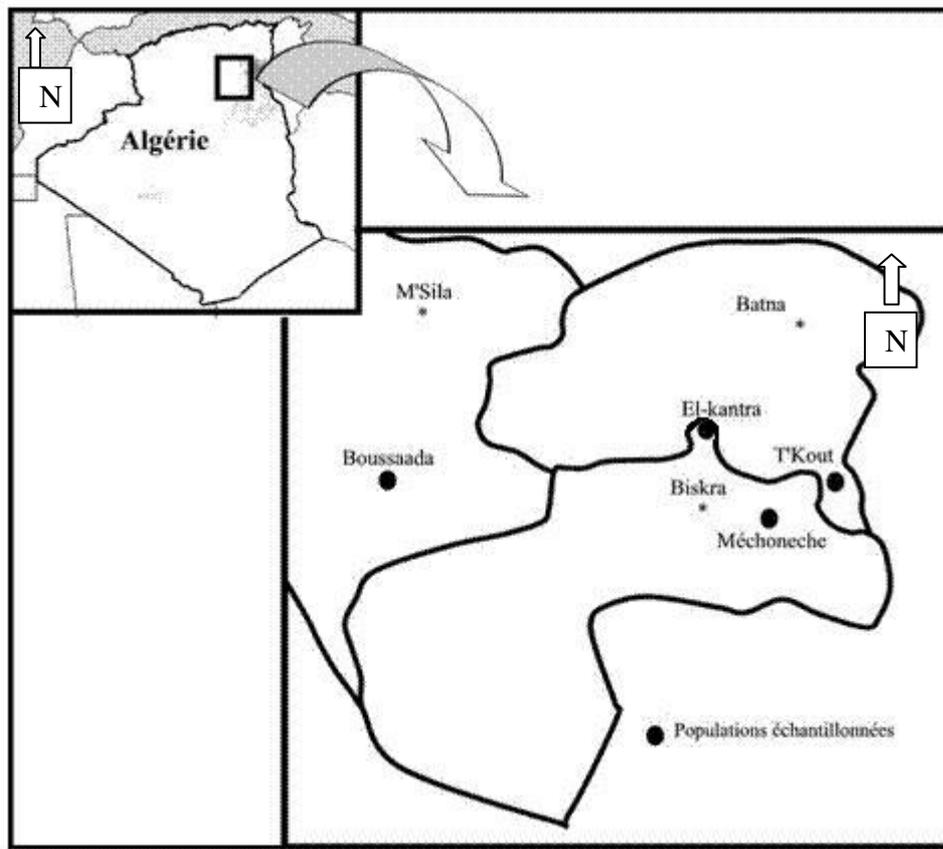


Figure 5: Populations échantillonnées de *Pituranthos scoparius*.

1 – 2 – 2. Les milieux de cultures

Les milieux de culture utilisés ont pour provenance l'Institut Pasteur d'Alger (Annexe 1). La culture des bactéries a nécessité l'utilisation des milieux suivants : la gélose Mueller Hinton, la gélose nutritive et les bouillons nutritifs. Alors que le milieu Sabouraud-chloramphénicol a été utilisé pour cultiver les champignons.

2 – Méthodes expérimentales

2 – 1. Extraction des huiles essentielles

Avant de procéder à l'extraction des huiles essentielles, les parties aériennes de *Pituranthos scoparius* sont débarrassées des impuretés puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique afin d'obtenir une poudre homogène.

Le matériel végétal est soumis à une hydrodistillation, selon la technique décrite par la pharmacopée européenne, en se servant d'un dispositif d'extraction type

Clevenger (Figure 6). L'hydrodistillation se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles.

L'opération consiste à immerger 100mg de masse végétal dans un grand ballon en verre contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter le débordement de l'ébullition.

Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huiles essentielles passent à travers le vertical, puis dans le réfrigérant où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli au préalable d'eau distillée. En raison de la différence de densité, l'huile essentielle surnage à la surface de l'eau.

L'huile essentielle ainsi obtenue est récupérée puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium, pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile. L'hydrodistillation dure 3 heures. Les huiles essentielles obtenues sont conservées dans des flacons opaques bien scellés à température de 4 à 6C°.

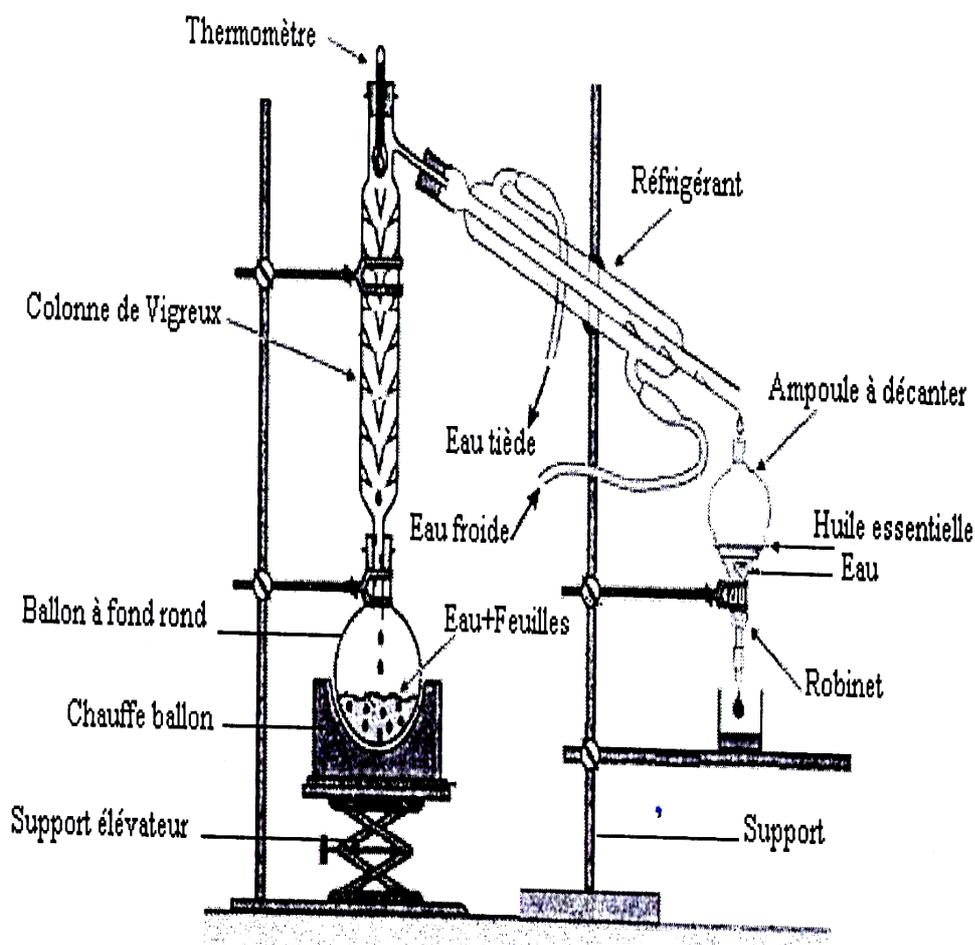


Figure 6: Schéma du montage d'hydrodistillation type Clevenger

2 – 2. Analyse des huiles essentielles

L'analyse des huiles est réalisée dans le laboratoire de chimie des huiles essentielles à l'Université Blaise Pascal de Clermont (France).

L'identification des constituants volatiles des huiles essentielles a été réalisée au moyen de la Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) couplée à la spectrométrie de masse (GC/SM) et la détermination quantitative a été faite sur un appareil équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (CG/FID).

La quantification des constituants des huiles essentielles est déterminée par la méthode universelle de normalisation interne sans coefficient de réponse, compte tenu que tous les produits présents ne sont pas isolés, connus et clarifiés.

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CPG/MS utilisé est le Chromatographe Hewlett-Packard HP 7890 couplé à un spectromètre de masse HP 5975-C.

Conditions opératoires

- Colonne: DB5: 30m x 0,25mm, épaisseur de film: 0,25m
- Gaz vecteur: Hélium: 1mL/min
- Energie d'ionisation: 70eV
- Température de l'injecteur: 250°C
- Température du détecteur: 280°C
- Programmation du four : 50°C pendant 5min, 5°C/min de 50° à 300°C, 5min à 300°C
- Injecteur mode split 1: 100.

L'identification des composés a été réalisée par comparaison de leurs spectres de masse et de leurs KI (Indice de Kovats) avec ceux des bases de données Adams (361), NIST (362), Mc Lafferty (363), Jennings (364), Joulain (365), et celle établie par le laboratoire d'accueil.

La chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme CPG/FID utilisé est le Chromatographe Hewlett-Packard HP 6890 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme.

Conditions opératoires

- Colonne: DB5: 30m x 0,25mm, épaisseur de film 0,25m
- Gaz vecteur: Hydrogène: 1mL/min
- Température de l'injecteur: 280°C
- Température du détecteur: 300°C
- Programmation du four : 50°C pendant 5min, 5°C/min de 50° à 300°C, 5min à 300°C
- Injecteur mode split 1: 60

2 – 3. Etude de l'activité antimicrobienne *in vitro* des huiles essentielles

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* de quatre régions de l'est algérien est réalisée en suivant la technique par contact direct (Méthode de diffusion).

Elle est aussi appelée méthodes des disques. C'est une vieille méthode, mais toujours d'actualité puisque elle est encore mondialement utilisée dans les laboratoires de bactériologie pour la mesure du pouvoir antibactérien des antibiotiques de synthèse (antibiogramme), mais en substituant les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés par de l'huile essentielle (aromatogramme). Après incubation, les diamètres d'inhibition sont mesurés en mm, ces derniers correspondent aux zones où les germes avaient été inhibés ou détruit par la diffusion de l'huile essentielle.

La sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égale à 8mm. La sensibilité est limite pour un diamètre compris entre 8 et 14mm. Elle est moyenne pour un diamètre entre 14 et 20mm. Pour un diamètre supérieur ou égale à 20 mm le germe est très sensible (DURAFFOURD et *al.*, 1990).

Pour la culture des bactéries, le milieu utilisé est Mueller Hinton agar. Les géloses sont coulées dans des boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4mm puis séchées à l'étuve à 37°C avant l'emploi.

L'inoculation de ces géloses par un inoculum préparé s'effectue à partir d'une culture pure et jeune de 18 heures dans de l'eau physiologique stérile. L'opacité de la suspension bactérienne doit être équivalente à 0,5 Mc Farland (10^8 Colony Forming Units CFU/ml) ou à une densité optique de 0,08 – 0,1 à la longueur d'onde de 625 nm.

Celle-ci est obtenue en comparant la turbidité de notre suspension à celle d'un étalon (annexe 2). Il est signalé que l'inoculum ne doit pas être utilisé au delà de 15 minutes à partir de sa préparation. La concentration et l'opacité risque d'augmenter à cause de la croissance bactérienne (Figure 7).

L'ensemencement est effectué par écouvillonnage. Il consiste à tremper un écouvillon stérile dans le tube contenant la suspension bactérienne préparée puis le frotter, après l'avoir essoré à l'intérieur du tube, sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas de façon de former des stries serrées. On doit répéter l'opération sur la même boîte à 3 reprises en la tournant à un angle de 60°, le même écouvillon doit être rechargé pour chaque boîte.

Des disques de papier chromatographiques de 6mm de diamètre sont ensuite déposés à la surface de la gélose ensemencée. Ces disques sont imprégnés de 10µl d'huile essentielle pure et d'autres d'huile essentielle diluée dans l'éthanol à 1/2, 1/4 et 1/8 (v/v). D'autres disques utilisés comme témoins négatifs sont imprégnés de 10µl d'éthanol. Des disques de Gentamycine sont utilisés comme témoins positifs. Les boîtes de Pétri sont ensuite portées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 h.

Pour tester les huiles essentielles sur les champignons, une suspension de cellules fongiques est préparée à partir d'une culture pure et jeune de *Candida albicans*, dans de l'eau physiologique stérile. Cette suspension sert à ensemercer la gélose Sabouraud chloramphénicol.

Les géloses sont préparées au préalable dans des boîtes de Pétri de 9cm de diamètre, l'épaisseur de la gélose est de 4mm. L'ensemencement de milieu se fait par écouvillonnage selon la recommandation de l'OMS (RAHAL *et al.*, 2005).

Des disques en papier chromatographique imprégnés de 10µl d'huile essentielle pure et d'autres d'huile essentielle diluée dans de l'éthanol au 1/2, 1/4 et 1/8 (v/v) sont encore déposés de la même méthode à celle dans le cas des bactéries à la surface des géloses ensemencées.

L'incubation des boîtes de Pétri se fait à 37°C pendant 48 h pour *Candida albicans*. La sensibilité ou la résistance des souches sera évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance autour du disque.

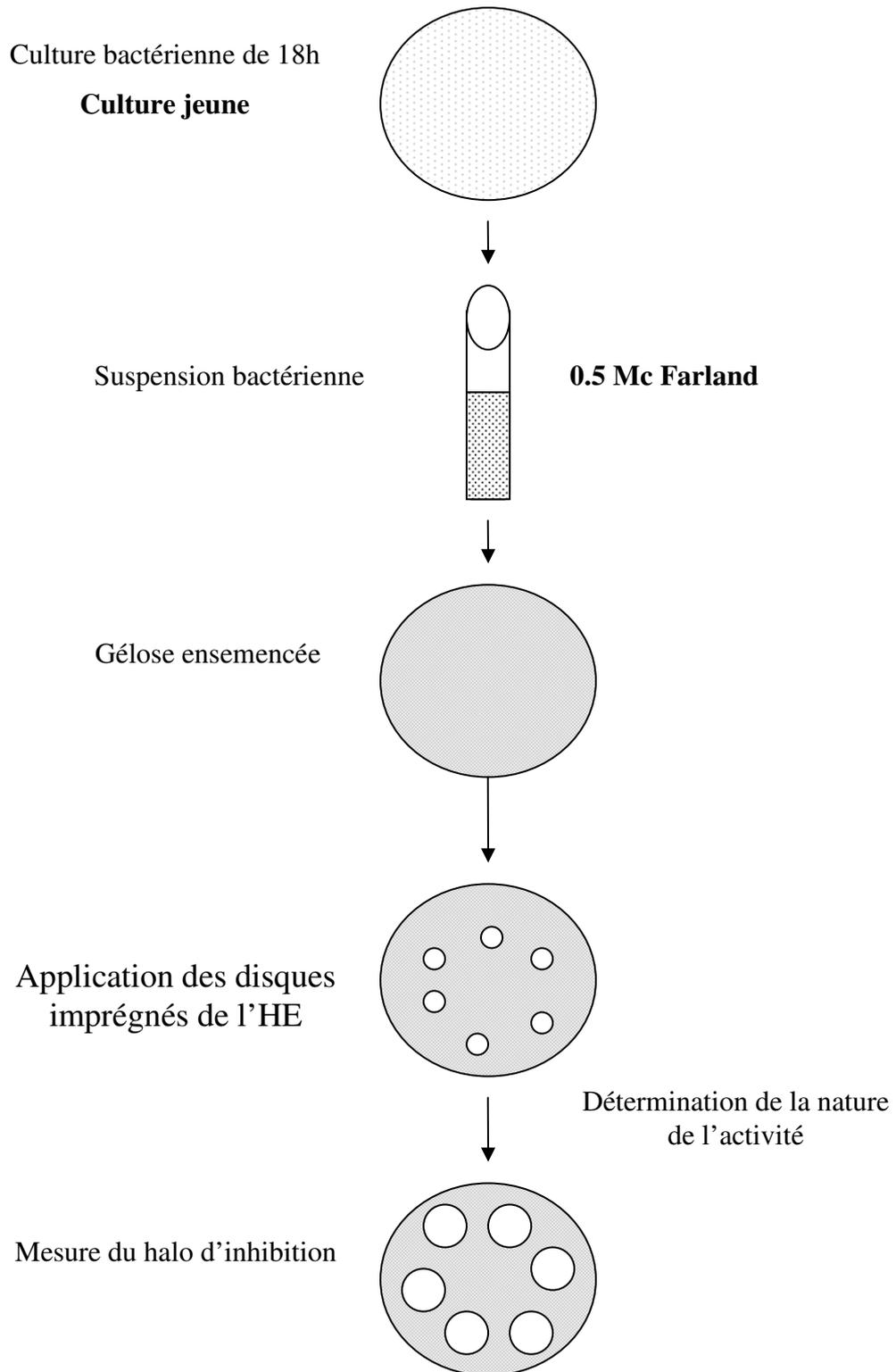


Figure 7: Technique de diffusion par disques

1 - Résultats

1 - 1- Extraction des huiles essentielles

L'hydrodistillation des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* des quatre populations de l'Est algérien (T'kout, Boussaâda, Méchoneche et El-kantra) a fournit un rendement moyen en huile essentielle de 0,25%. Cette huile a une odeur spécifique (odeur de fenouille). L'huile essentielle des populations de T'kout et de Boussaâda est de couleur jaune clair tandis que celle des populations de Méchoneche et d'El-kantra est incolore.

1 - 2 - Analyse chimique des huiles essentielles

L'analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) a permis d'identifier 61 composants dans les huiles essentielles de *Pituranthos scoparius*.

1 – 2 – 1 - Population de T'Kout

L'analyse de l'huile essentielle de la population de T'Kout de la région de Batna nous a permis d'identifier 49 composants, formant 98,6% de l'huile essentielle (tableau 1).

Le constituant majoritaire de l'huile essentielles de la population de T'kout est l' α -pinène (23,3%) suivi du Sabinène (18,6%). D'autres constituants sont présents à des concentrations moindres α -terpinène (7,7%), β -ocimène-*E* (7,6%), Terpinolène (5,3%) et le β -pinène (5,1%) (Figure 8).

1 – 2 – 2 - Population de Boussaâda

L'analyse de l'huile essentielle de la population de Boussaâda nous a permis d'identifier 51 composants, formant 99,4% de l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius* (Tableau 2). Le constituant majoritaire de l'huile de la population de Boussaâda est l' α -pinène (16,37%) puis vient le Sabinène (14,77%). D'autres constituants sont présents en concentrations modérées tels que Caryophyllène oxyde (9,69%), α -Farneèsène (7,67 %), α -terpinène (5,81 %) et l' α -humulène (4,72 %) (Figure 9).

Tableau 1: Composition chimique de l'huile essentielle
de *Pituranthos scoparius* (population de T'kout)

Composants	KI	%	Composants	KI	%
α -thujene	932	3,1	α -cubebene	1341	0,2
α -pinene	939	23,3	α -copaene	1370	0,2
Thuja-2,4(10)-Diene	948	0,2	β -bourbonnene	1378	0,6
Camphene	953	0,3	β cubebene	1381	0,2
Verbenene		0,3	Methyl Eugenol	1394	0,5
Sabinene	976	18,6	β -caryophyllene	1412	0,5
β -pinene	979	5,1	β -copaene	1423	0,5
α -Phellandrene	1005	2,2	Sesquisabinene-A	1445	0,5
α -terpinene	1014	7,7	α -Humulene	1449	0,2
Limonene	1027	1,3	β -Acoradiene		0,8
β -ocimene-Z	1036	1,0	Germacrene-D	1475	0,2
β -ocimene-E	1045	7,6	β -Selinene	1482	1,3
γ -Terpinène	1057	0,1	Bicyclogermacrene		2,7
Terpinolene	1083	5,3	α -Farneesene	1495	0,3
3-methyl-2(2-methylbutenyl) furane	1090	2,3	Germacrene-A		0,1
Para Cymenene		1,5	γ -Cadinene		0,6
α -camphoaldehyde	1124	0,7	γ -Calacorene	1553	0,5
Trans-pinocarveol	1140	0,3	1,5-epoxysalvial-4(14)-ene		0,4
p-Cymen-8-ol	1186	0,2	Spathulenol	1570	0,7
Verbenone	1203	0,2	Salvial-4(14)-en-1-one	1584	0,3
Cuminaldehyde	1239	0,1	Humulene-1,2-Epoxyde	1601	0,2
Phellandral	1274	1,8	Dill Apiole	1610	0,4
Bornyle acetate	1279	1,8	Isospathulenol		1,3
Dihydroedulane-I		0,5	β -eudesmol	1648	0,2
Carvacrol	1299	0,1	Total		98,6

KI : Indice de Kovats

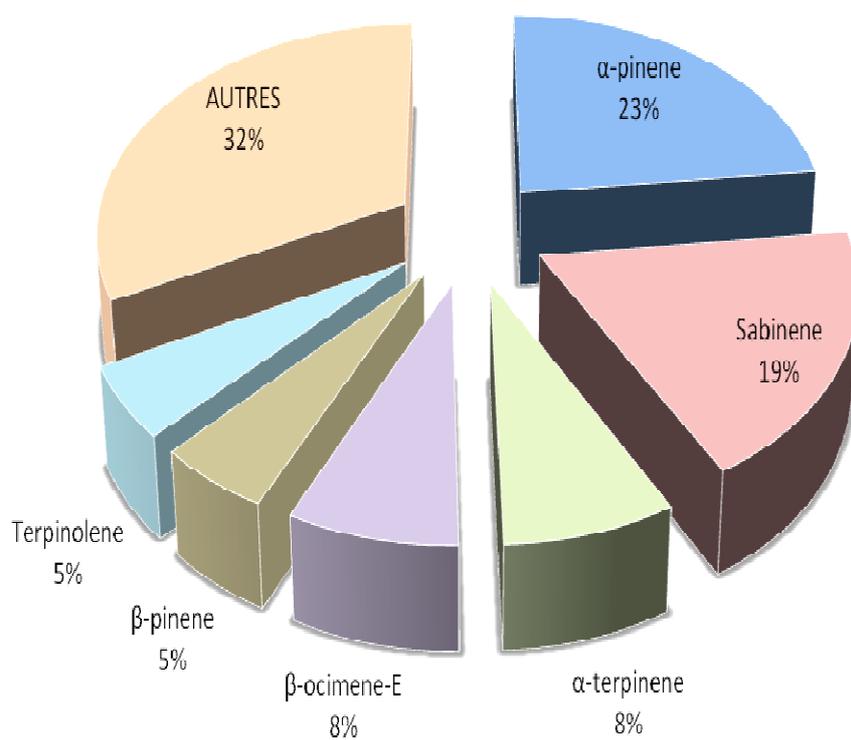


Figure 8: Distribution des Composants de l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius* (population de T'kout).

Tableau 2: Composition chimique de l'huile essentielle
de *Pituranthos scoparius* (population de Boussaâda)

Composants	KI	%	Composants	KI	%
α -thujene	932	2,5	Bornyle acetate	1279	0,1
α -pinene	939	16,4	Carvacrol	1299	1,0
Thuja-2,4(10)-Diene	948	0,2	α -cubebene	1341	0,2
Sabinene	976	14,8	α -copaene	1370	0,7
β -pinene	979	2,8	β -bourbonnene	1378	2,0
Myrcene	990	1,3	β cubebene	1381	0,3
α -Phellandrene	1005	0,7	β -caryophyllene	1412	0,9
α -terpinene	1014	5,8	β -copaene	1423	0,3
Para-cymene	1023	1,0	Sesquisabinene-A	1445	0,2
Limonene	1027	0,7	α -Humulene	1449	4,7
β -phellandrene	1029	3,9	γ -Murolene	1468	1,3
β -ocimene-E	1045	1,6	Germacrene-D	1475	0,4
γ -Terpinène	1057	0,5	β -Selinene	1482	0,3
Terpinolene	1083	0,4	α -Farneesene	1495	7,7
3-methyl-2(2-methylbutenyl) furane	1090	0,6	Δ -Cadinene	1510	0,7
Menthatriene <1,3,8-Para->	1109	0,1	Myristicin DB5-1691	1514	0,7
α -camphoaldehyde	1124	0,1	α -Calacorene	1533	1,3
Trans-pinocarveol	1140	0,4	γ -Calacorene	1553	0,6
Sabinacetone (origan)	1155	2,0	Spathulenol	1570	0,3
Pinocarvone	1159	0,8	Caryophyllene oxyde	1575	9,7
p-Cymen-8-ol	1186	1,5	Salvial-4(14)-en-1-one	1584	2,8
Myrtenal	1192	0,7	Humulene-1,2-Epoxyde	1601	0,8
Estragole	1195	0,3	Dill Apiole	1610	0,9
Myrtenol	1200	0,4	α -epi-muurolol	1636	0,4
Verbenone	1203	0,2	β -eudesmol	1648	1,4
Phellandral	1274	0,2	Total		99,4

KI : Indice de Kovats

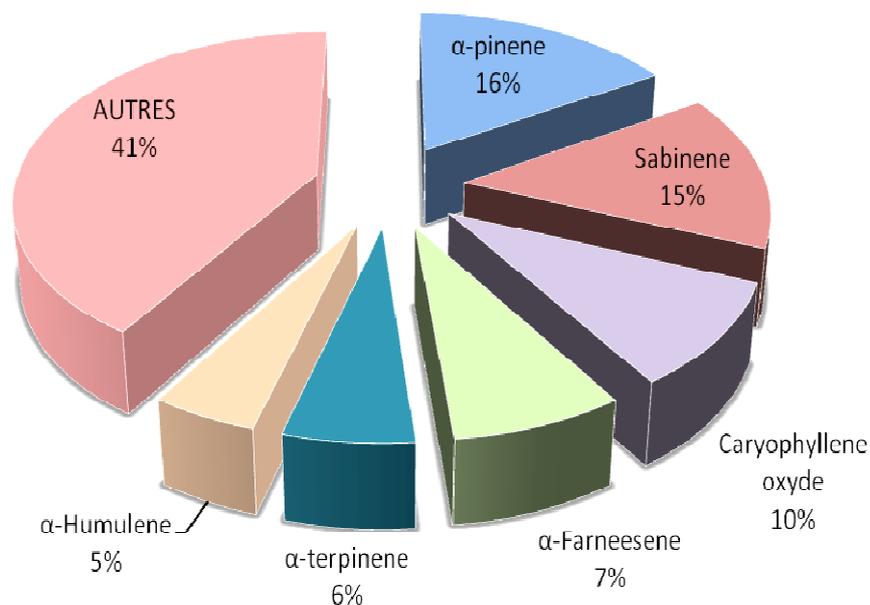


Figure 9 : Distribution des Composants de l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius* (population de Boussaâda).

1 – 2 – 3 - Population d'El-kantra

L'analyse de l'huile essentielle de la population d'El-kantra nous a permis d'identifier 41 composants, formant 76,0% de l'huile essentielle (Tableau 3).

Le sabinène avec un pourcentage de 18,91 % constituant le composant majoritaire de l'huile de *Pituranthos scoparius* de la population d'El-kantra. D'autres constituants sont présents en concentrations moindres, l'α-pinène (8,28 %), le dill apiole (6,61 %) et le myristicine (7,61 %) (Figure 10).

1 – 2 – 4 - Population de Méchoneche

L'analyse de l'huile essentielle de la population de Méchoneche nous a permis d'identifier 29 composants, formant 85,5% de l'huile essentielle (Tableau 4).

Le constituant majoritaire de l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius* de la population de Méchoneche est le sabinène (24,81%), suivi du dill apiole (16,77%) et l'α-pinène (13,42%). D'autres constituants sont présents en concentrations moindres tels que et Myristicine (7,67%), le terpinène-4-ol (4,58%) et le β-pinène (4,50%) (Figure 11).

Tableau 3: Composition chimique des huiles essentielles
de *Pituranthos scoparius*, (population d'El-Kantra).

Composants	KI	%	Composants	KI	%
<i>α-thujene</i>	924	1,9	<i>Terpinene-4-ol</i>	1182	3,8
<i>α-pinene</i>	932	8,3	<i>NI</i>	1187	0,3
<i>Camphene</i>	947	0,1	<i>NI</i>	1195	0,5
<i>Sabinene</i>	973	18,9	<i>Sabinol</i>	1203	0,3
<i>β-pinene</i>	976	3,6	<i>NI</i>	1209	0,3
<i>Myrcene</i>	988	0,9	<i>Thymol</i>	1299	0,1
<i>α-Phellandrene</i>	1004	2,0	<i>α-copaene</i>	1377	0,1
<i>NI</i>	1006	3,7	<i>β cubebene</i>	1388	0,1
<i>α-terpinene</i>	1015	1,1	<i>Methyl Eugenol</i>	1399	0,3
<i>Para-cymene</i>	1023	3,2	<i>β-caryophyllene</i>	1421	0,1
<i>Limonene</i>	1028	1,8	<i>Germacrene-D</i>	1483	0,9
<i>β-phellandrene</i>	1029	0,6	<i>α-Selinene</i>	1491	0,1
<i>β-ocimene-Z</i>	1035	3,6	<i>Myristicin DB5-1691</i>	1523	7,6
<i>β-ocimene-E</i>	1045	0,1	<i>Spathulenol</i>	1580	0,3
<i>γ-Terpinène</i>	1057	1,4	<i>Elemicin</i>	1571	0,1
<i>cis hydrate de sabinène</i>	1069	0,3	<i>Caryophyllene oxyde</i>	1586	0,5
<i>Terpinolene</i>	1083	0,5	<i>Salvial-4(14)-en-1-one</i>	1596	0,1
<i>trans hydrate de sabinene</i>	1098	0,3	<i>Gamma Murolène</i>	1606	0,1
<i>menth-2-ène-1-ol trans</i>	1142	0,2	<i>Dill Apiole</i>	1621	6,6
<i>Cis-verbenol</i>	1145	0,2	<i>Muurolol-épi-Alpha</i>	1647	0,8
<i>NI</i>	1162	0,3	Total		76,0

NI : Non Identifié.

KI : Indice de Kovats

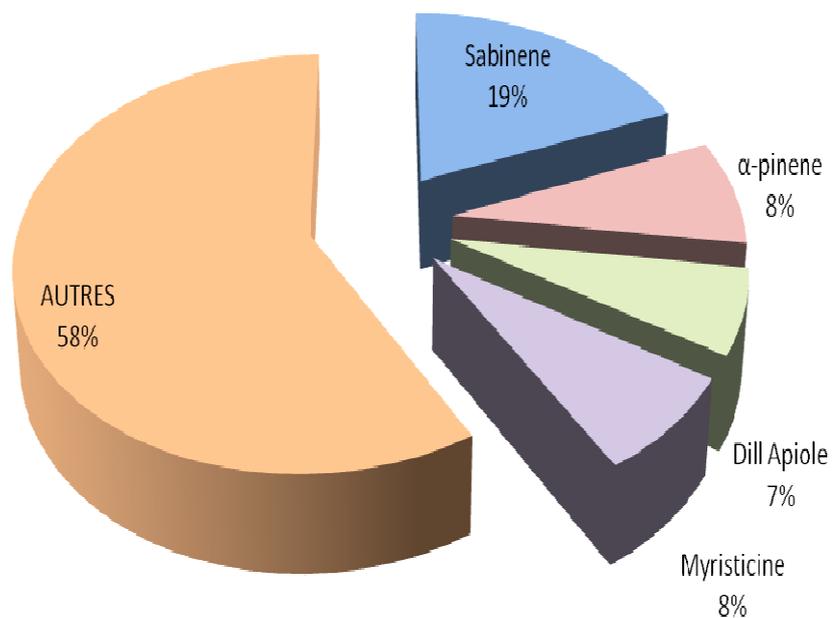


Figure 10 : Distribution des Composants de l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius* (population d'El-Kantra).

Tableau 4: Composition chimique des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius*, (population de Méchoneche)

Composants	KI	%	Composants	KI	%
α -thujene	924	1,6	trans hydrate de sabinene	1098	0,5
α -pinene	933	13,4	NI	1123	0,3
Camphene	947	0,4	Sabinol	1140	0,2
Sabinene	974	24,8	Sabinacetone (origan)	1157	0,1
β -pinene	977	4,5	Terpinene-4-ol	1182	4,6
Myrcène	988	1,2	Methyl Eugenol	1399	0,3
α -Phellandrene	1004	1,7	trans - β - Bergamotene	1452	0,0
NI	1006	3,8	β -Selinene	1491	0,1
α -terpinene	1015	1,3	Daucène	1497	0,1
Para-cymene	1023	2,4	valerenol	1585	0,2
Limonene	1028	2,5	Carotol	1605	0,1
β -ocimene-Z	1035	0,3	Dill Apiole	1623	16,8
γ -Terpinène	1057	2,1	α -cadinol	1647	0,7
cis hydrate de sabinène	1069	0,7	β -eudesmol	1659	0,4
NI	1083	0,7	<i>Total</i>		85,8

NI : Non Identifié.

KI : Indice de Kovats

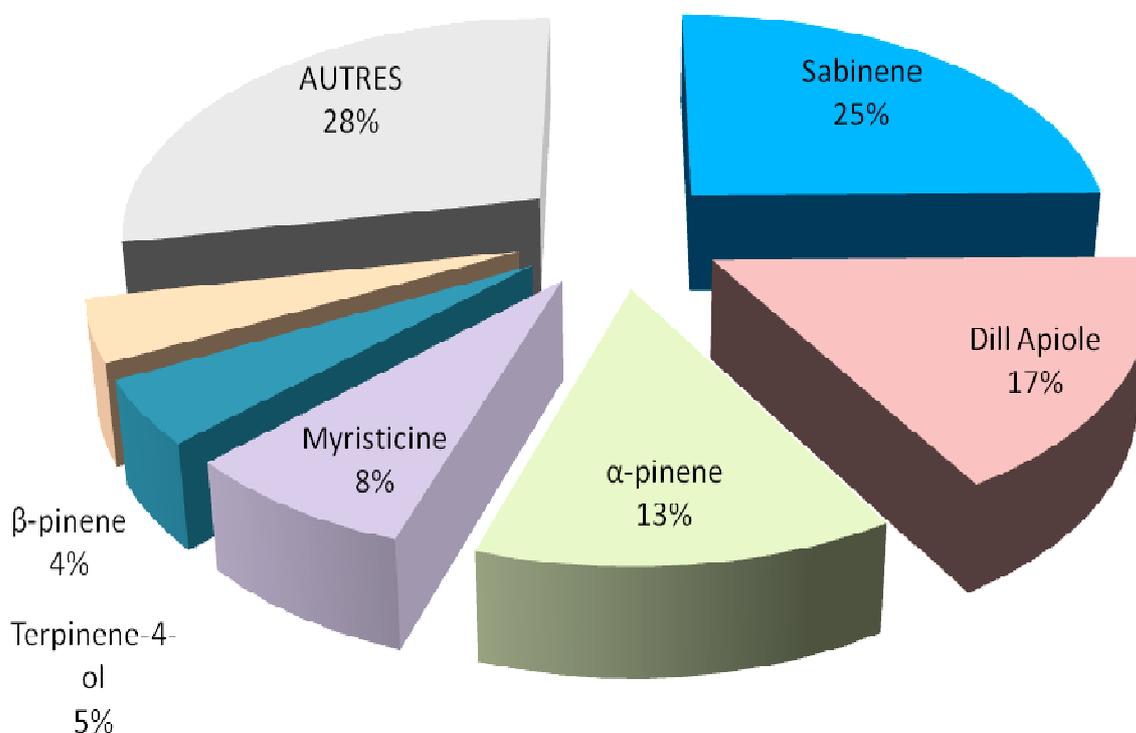


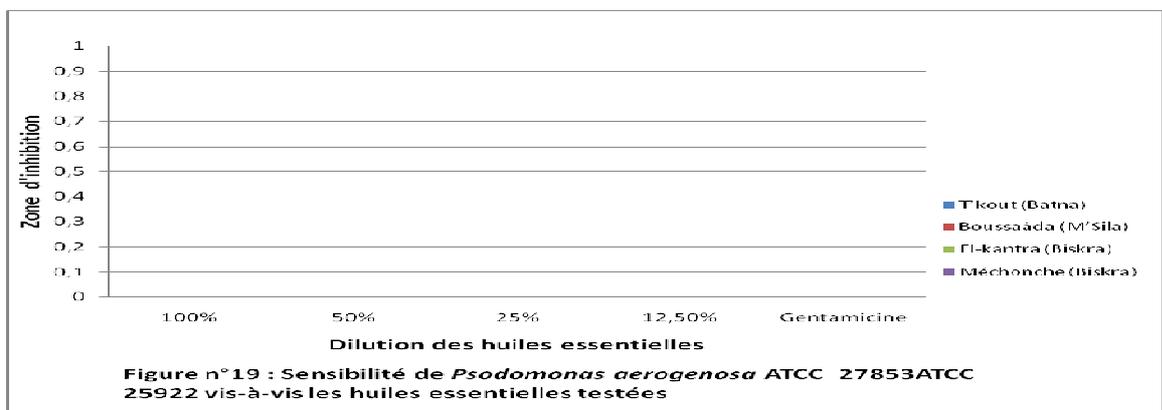
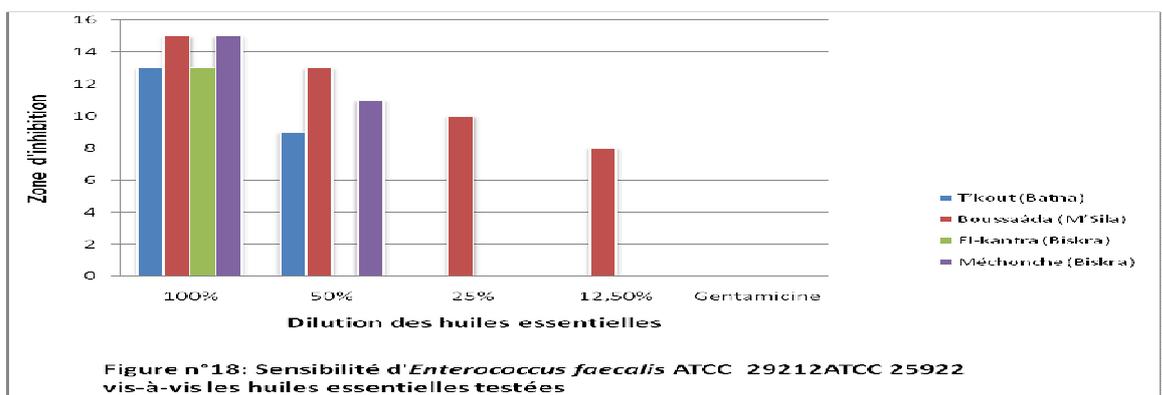
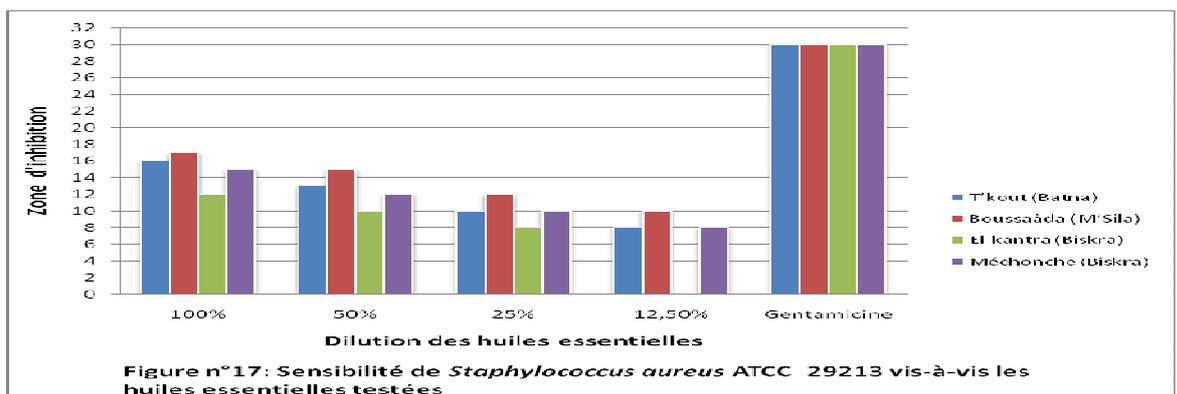
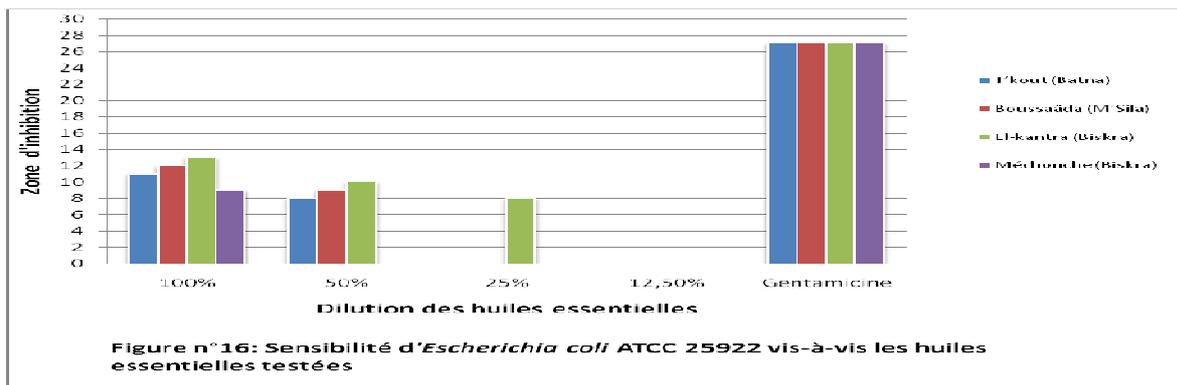
Figure 11 : Distribution des Composants de l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius* (population d'El-Kantra).

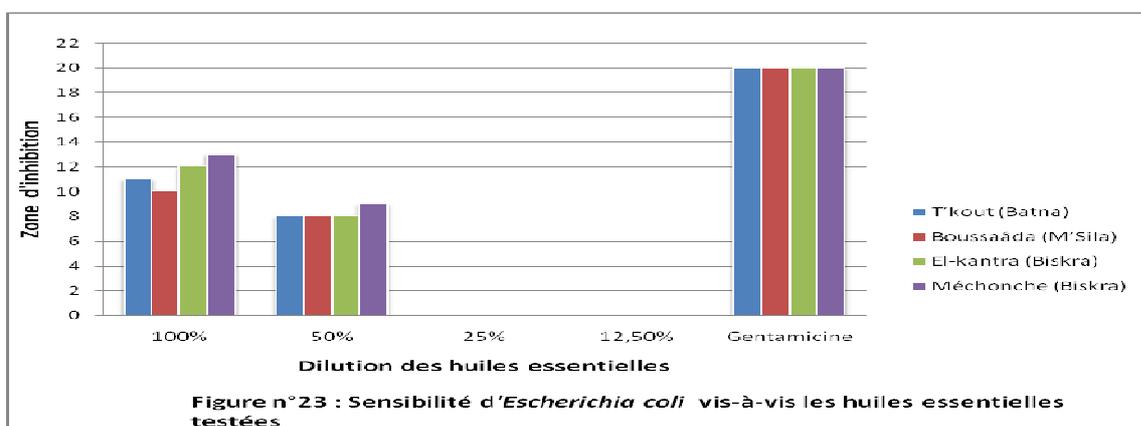
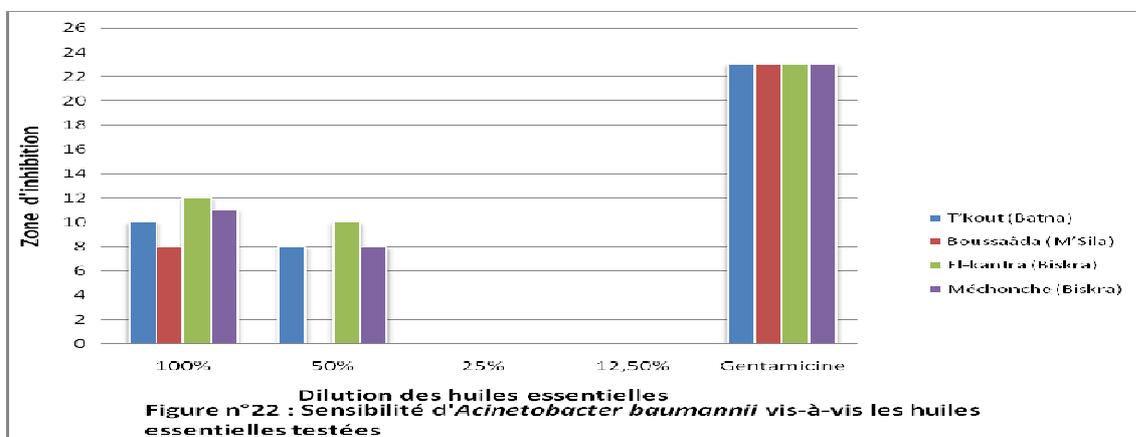
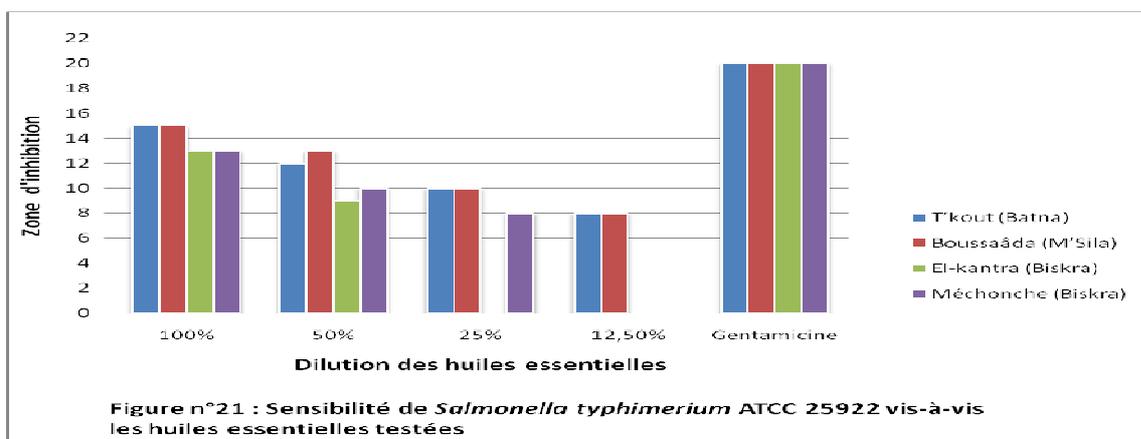
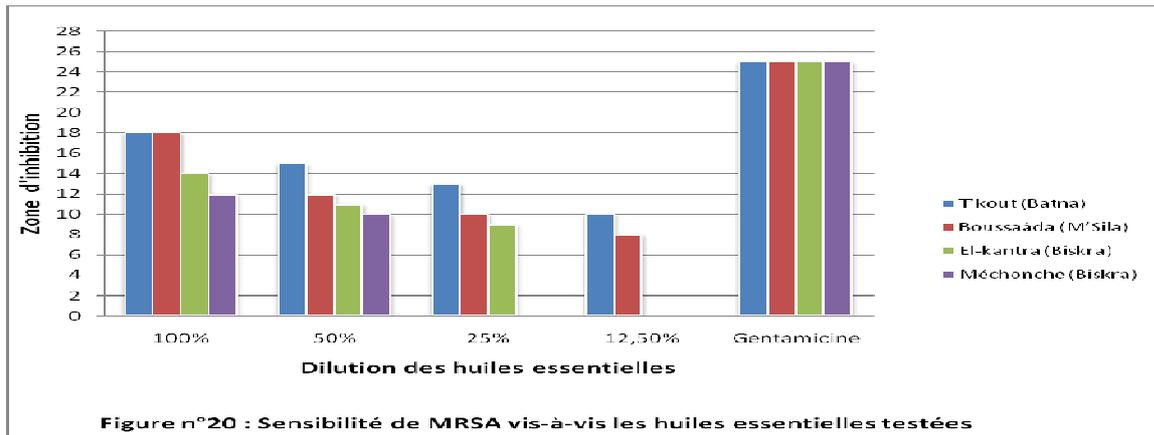
1 – 3 Activité antimicrobienne des huiles essentielles

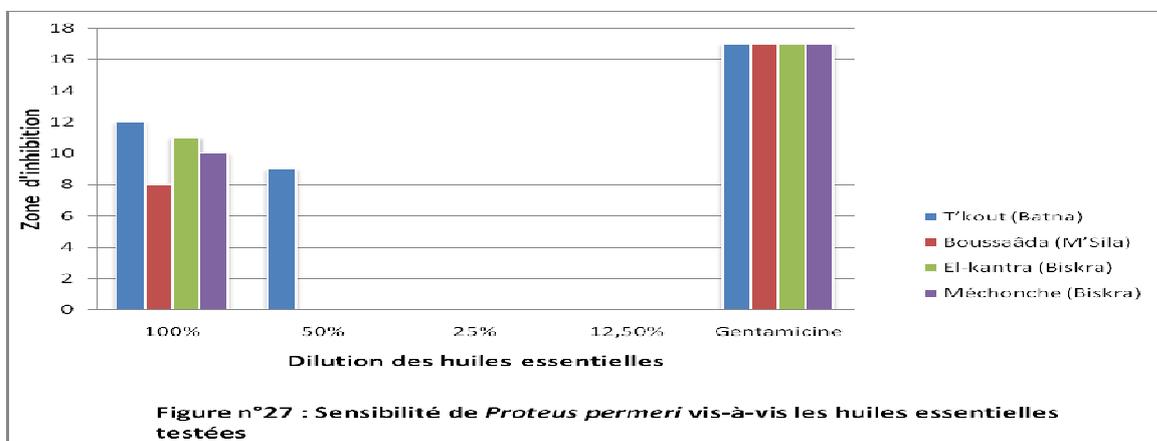
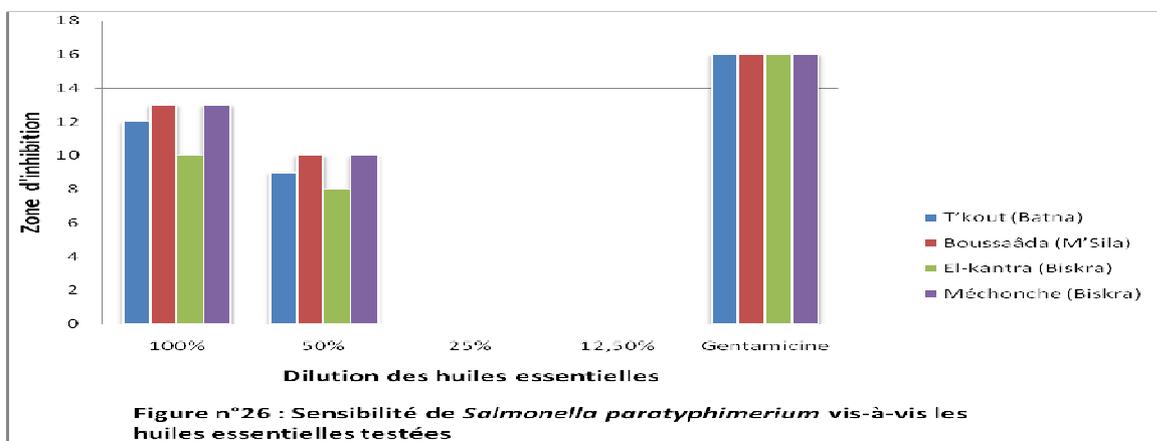
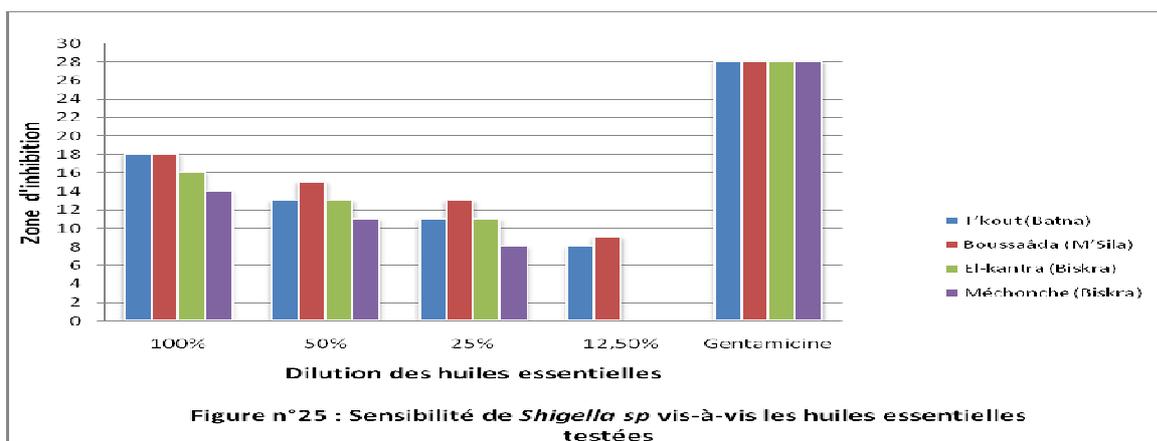
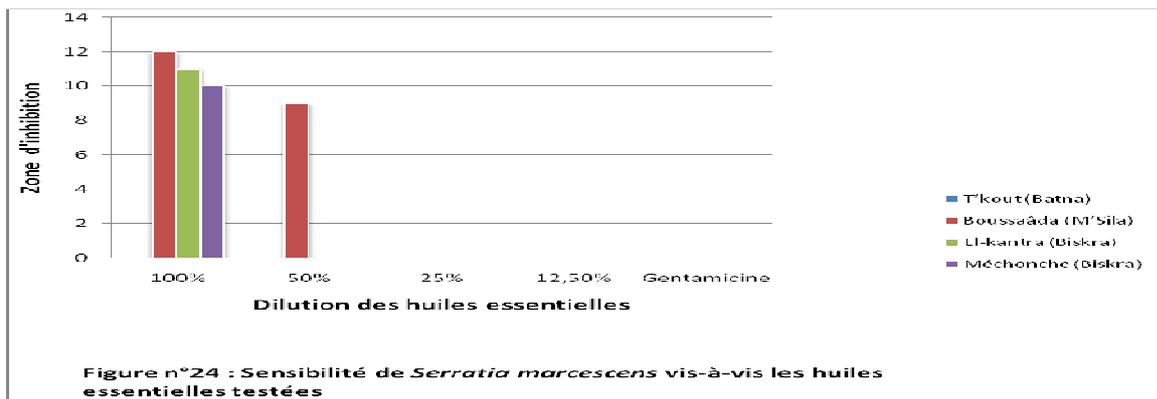
L'activité antimicrobienne des huiles essentielles évaluée par la méthode des disques montre que les huiles essentielles extraites des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* des populations de T'kout et de Boussaâda présentent des activités antimicrobiennes généralement moyennes sur l'ensemble des souches testées à l'exception de l'espèce *Serratia marcescens* qui a manifesté une sensibilité importante à l'huile essentielle de la population de T'kout, tandis que les huiles essentielles des populations de Méchoneche et d'El-kantra présentent de faible activité antimicrobienne, à l'exception de l'espèce *Psodomonas aerogenosa* ATCC 27853 qui a manifesté une résistance pour toutes les huiles essentielles testées. Il apparait bien que le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles testées, exprimé par le diamètre d'inhibition en mm, est inversement proportionnel à la dilution (tableau 9, annexe 3). C'est-à-dire que l'effet diminue avec l'augmentation de la dilution de l'huile essentielle.

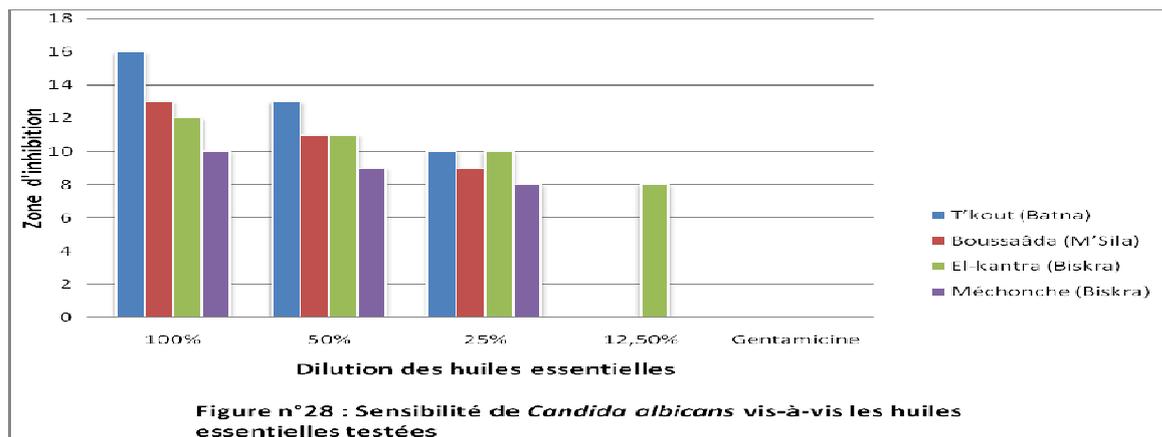
Les huiles essentielles testées agissent aussi bien sur les espèces à Gram⁺ que sur les espèces à Gram⁻. Toutefois, la plupart des bactéries ne présentent pas le même degré de sensibilité. Certaines semblent se distinguer par une sensibilité relativement moyenne, d'autres présentent une sensibilité faible, d'autres au contraire sont plutôt résistantes (tableau 9, annexe 3). La sensibilité des souches bactériennes à la gentamicine varie avec une zone d'inhibition comprise entre 16 et 30 mm. La souche la plus sensible à toutes les huiles essentielles brute testées est *Shigella* sp avec une zone d'inhibition comprise entre 14 et 18 mm, suivi par MRSA (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline) et *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 avec une zone d'inhibition comprise entre 12 et 18 mm (Figure 17, 20, 25 ; Annexe 4).

La sensibilité des souches : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphimerium* et *Proteus permeri*, aux huiles essentielles brutes testées, est faible, ainsi qu'à la dilution de 1/2 (v/v), et nulle à aux dilutions 1/4 et 1/8 (v/v) (Figure 16, 22, 23, 26, 27 ; Annexe 4).









La bactérie, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, a montré une sensibilité moyenne à huile essentielle brute des populations de Boussaâda et de Méchouche, une sensibilité faible à huile essentielle brute des populations de T'kout et d'El-kantra et une sensibilité nulle aux dilutions 1/4 et 1/8 (v/v) des huiles essentielles des populations de T'kout, d'El-kantra et de Méchouche (Figure 18; Annexe 4).

Salmonella typhimerium a manifesté une sensibilité moyenne aux huiles essentielles brutes des populations de T'kout et de Boussaâda, faible aux huiles essentielles brutes des populations d'El-kantra et de Méchouche et nulle à leur dilution de 1/8 (v/v) (Figure 21 ; Annexe 4).

Serratia marcescens a montré une sensibilité très faible aux huiles essentielles brutes testées, à l'exception à l'huile de la population de T'kout, où la bactérie a présenté une forte résistance (Figure 24 ; Annexe 4).

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 est complètement résistant aux huiles essentielles testées, même à la Gentamicine (Figure 19 ; Annexe 4).

Les résultats de l'activité antifongique laissent apparaître la faible efficacité des huiles essentielles extraites de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* des quatre populations de l'est algérien sur *Candida albicans*, à l'exception de l'huile essentielle de la population de T'kout, qui présente une activité antifongique moyenne (Figure 28 ; Annexe 4).

1 – 3 – 1 - Population de T'kout

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles brutes de *Pituranthos scoparius* de la population de T'kout, est moyenne sur, *Staphylococcus aureus* ATCC

29213, MRSA (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline), *Salmonella typhimerium*, *Shigella sp* et *Candida albicans* avec une zone d'inhibition comprise entre 15-18mm. Cette activité est faible sur le reste des germes microbiens à l'exception de *Psodomonas aerogenosa* ATCC 27853 et *Serratia marcescens* qui ont manifesté une grande résistances.

L'activité, de l'huile essentielle issue de la population de T'Kout, reste faible à la dilution $\frac{1}{2}$ sur tous les germes microbien et nulle aux dilutions $\frac{1}{4}$ et $\frac{1}{8}$ sur tous les germes microbien à l'exception de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, MRSA, *Salmonella typhimerium* et *Shigella sp* qui ont présenté une sensibilité faible (Tableau 5, Figure 12).

Tableau 5 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* population de T'kout

Population Souches	T'kout (Batna)				Gentamicine
	[c]	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	11	8	0	0	27
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	16	13	10	8	30
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	13	9	0	0	0
<i>Psodomonas aerogenosa</i> ATCC 27853	0	0	0	0	0
MRSA (<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline)	18	15	13	10	25
<i>Salmonella typhimerium</i>	15	12	10	8	20
<i>Acinetobacter baumannii</i>	10	8	0	0	23
<i>Escherichia coli</i>	11	8	0	0	20
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	0	0	0
<i>Shigella sp</i>	18	13	11	8	28
<i>Salmonella paratyphimerium</i>	12	9	0	0	16
<i>Proteus permeri</i>	12	9	0	0	17
<i>Candida albicans</i>	16	13	10	0	0

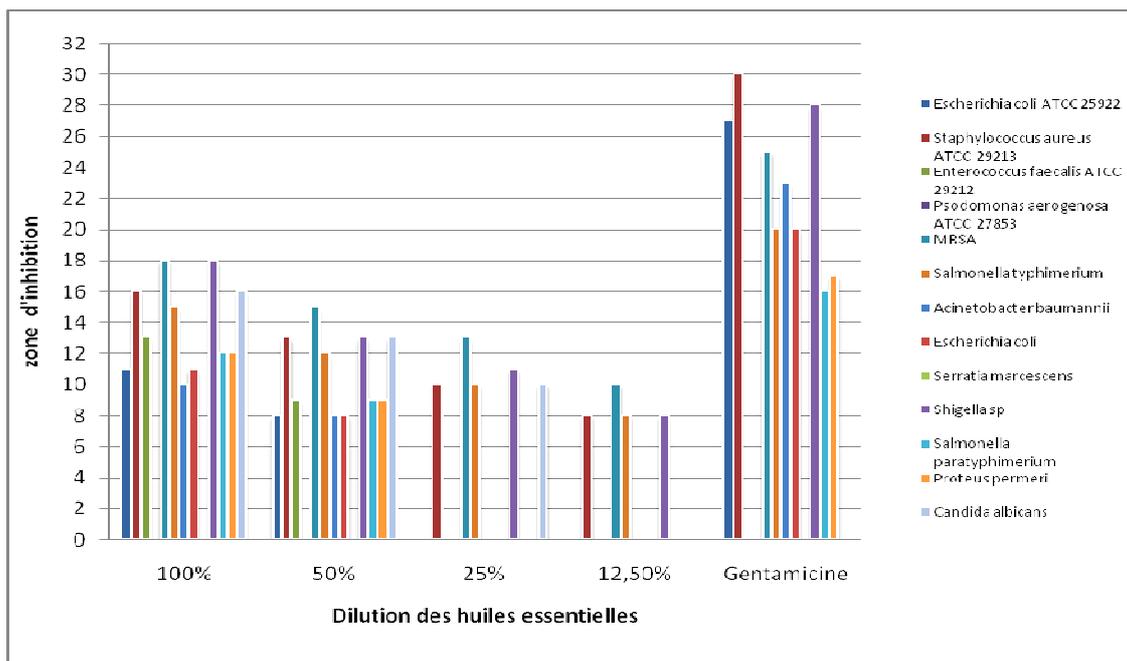


Figure 12 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* (population de T'kout).

1 – 3 – 2 - Population de Boussaâda

Les huiles essentielles brutes de *Pituranthos scoparius* de la population de Boussaâda, présentent une activité microbienne moyenne sur *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, MRSA, *Salmonella typhimurium* et *Shigella* sp, en présentant une zone d'inhibition comprise entre 15-18mm. Cette activité est faible sur le reste des germes microbiens à l'exception de l'espèce *Psodomonas aeruginosa* ATCC 27853, qui a manifesté une grande résistance, (Tableau 6, Figure13).

Tableau 6 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* population de Boussaâda

Population Souches	Boussaâda (M'Sila)				Gentamicine
	[c]	½	¼	1/8	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	12	9	0	0	27
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	17	15	12	10	30
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	15	13	10	8	0
<i>Psodomonas aerogenosa</i> ATCC 27853	0	0	0	0	0
MRSA (<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline)	18	12	10	8	25
<i>Salmonella typhimerium</i>	15	13	10	8	20
<i>Acinetobacter baumannii</i>	8	0	0	0	23
<i>Escherichia coli</i>	10	8	0	0	20
<i>Serratia marcescens</i>	12	9	0	0	0
<i>Shigella sp</i>	18	15	13	9	28
<i>Salmonella paratyphimerium</i>	13	10	0	0	16
<i>Proteus permeri</i>	8	0	0	0	17
<i>Candida albicans</i>	13	11	9	0	0

1 – 3 – 3 – Population d'El-kantra

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles brutes de *Pituranthos scoparius* de la population d'El-kantra est moyenne sur et *Shigella sp* avec une zone d'inhibition comprise entre 14-16mm, et faible sur le reste des germes microbiens à l'exception de l'espèce *Psodomonas aerogenosa* ATCC 27853 qui a manifesté une grande résistance. Cette activité reste faible sur les différentes dilutions à l'exception des espèces *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Serratia marcescens* et *Proteus permeri* dont le pouvoir antimicrobien est nulle (Tableau 7, Figure 14).

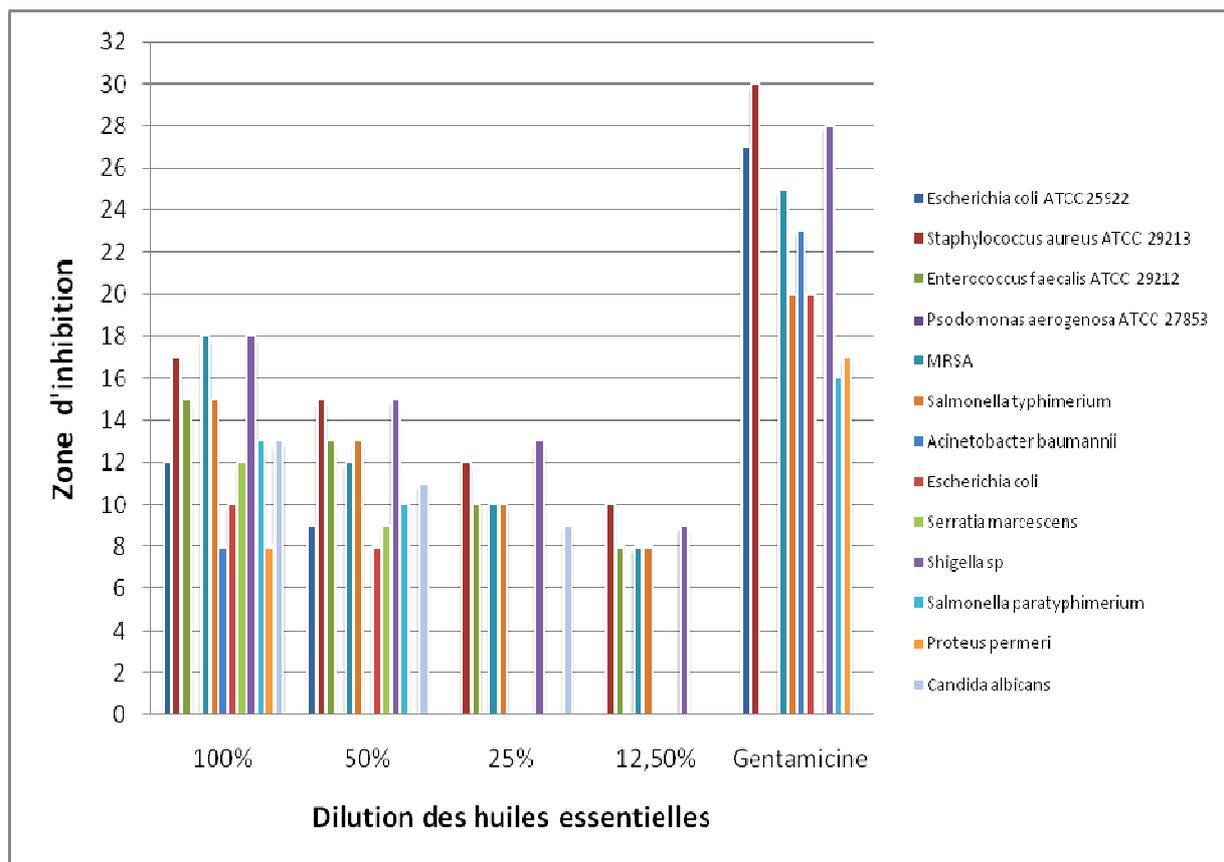


Figure 13 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* (population de Boussaâda)

Tableau 7 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* population d’El-kantra

Population Souches	El-kantra (Biskra)				Gentamicine
	[c]	½	¼	1/8	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	13	10	8	0	27
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	12	10	8	0	30
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	13	0	0	0	0
<i>Psodomonas aerogenosa</i> ATCC 27853	0	0	0	0	0
MRSA (<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline)	14	11	9	0	25
<i>Salmonella typhimerium</i>	13	9	0	0	20
<i>Acinetobacter baumannii</i>	12	10	0	0	23
<i>Escherichia coli</i>	12	8	0	0	20
<i>Serratia marcescens</i>	11	0	0	0	0
<i>Shigella sp</i>	16	13	11	0	28
<i>Salmonella paratyphimerium</i>	10	8	0	0	16
<i>Proteus permeri</i>	11	0	0	0	17
<i>Candida albicans</i>	12	11	10	8	0

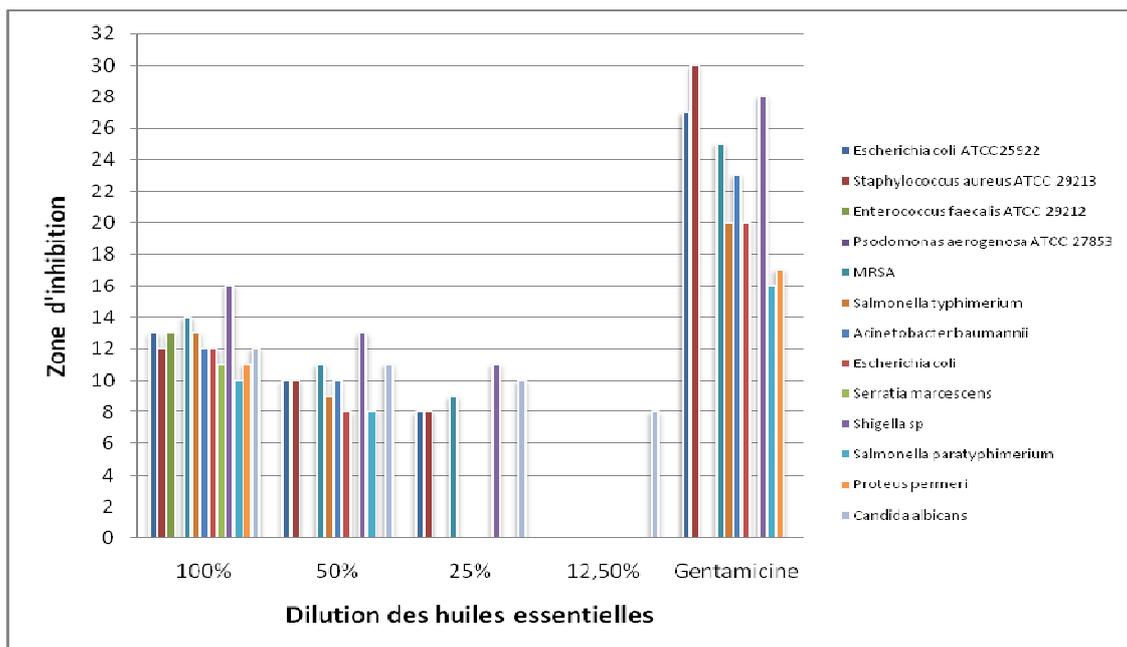


Figure 14 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* (population d'El-kantra)

1 – 3 – 4 - Population de Méchoneche

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles brutes de *Pituranthos scoparius* de la population de Méchoneche, est moyenne sur *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et *Shigella sp* avec une zone d'inhibition comprise entre 14-15 mm, et faible sur le reste des germes microbiens à l'exception de l'espèce *Psodomonas aerogenosa* ATCC 27853 qui a manifesté une grande résistance. Cette activité reste faible sur tous les germes microbiens à l'exception des espèces *Escherichia coli* ATCC 25922, *Serratia marcescens* et *Proteus permeri* dont le pouvoir antimicrobien est nulle (Tableau 8, Figure 15).

Tableau 8 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* population de Méchoneche

Population Souches	Méchonche (Biskra)				Gentamicine
	[c]	1/2	1/4	1/8	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	9	0	0	0	27
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	15	12	10	8	30
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	15	11	0	0	0
<i>Psodomonas aerogenosa</i> ATCC 27853	0	0	0	0	0
MRSA (<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline)	12	10	0	0	25
<i>Salmonella typhimerium</i>	13	10	8	0	20
<i>Acinetobacter baumannii</i>	11	8	0	0	23
<i>Escherichia coli</i>	13	9	0	0	20
<i>Serratia marcescens</i>	10	0	0	0	0
<i>Shigella sp</i>	14	11	8	0	28
<i>Salmonella paratyphimerium</i>	13	10	0	0	16
<i>Proteus permeri</i>	10	0	0	0	17
<i>Candida albicans</i>	10	9	8	0	0

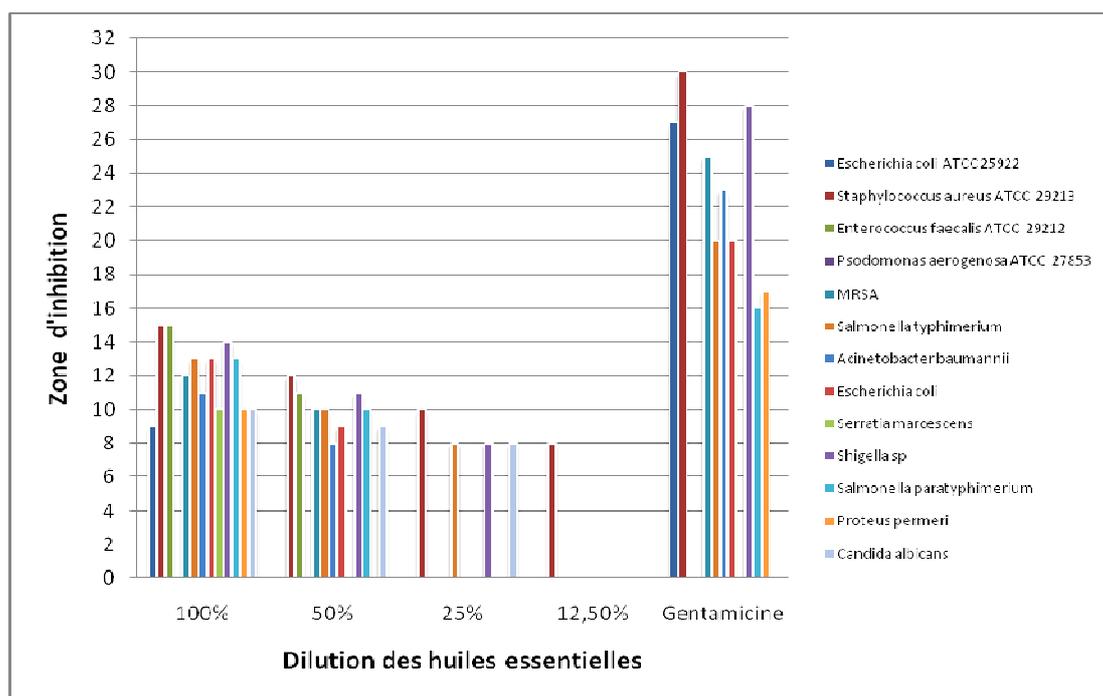


Figure 15 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* (population de Méchoneche)

2 – Discussion

2 – 1 Extraction des huiles essentielles

Le rendement moyen des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* des quatre populations étudiées est de 0.25%. Ce rendement est considéré comme faible comparé aux rendements obtenus par VERITE *et al.*, (2004) à partir de la même espèce collectée de la région de Ghardaïa qui est de 0,50%. Ce rendement est similaire ou proche à ceux des autres espèces du genre *Pituranthos*, tels que ceux de *P. chloranthus* de Gabes et Medenine en Tunisie, qui sont respectivement de 0.15% et 0.30% (NEFFATI *et al.*, 2009). Le rendement de *P. tortuosus* collecté de la région de Monastir en Tunisie est semblable à notre résultat (ABDELWAHED *et al.*, 2006).

Nos rendements sont inférieurs aux ceux de *P. chloranthus* collecté de deux régions (Gabes et Medenine) en Tunisie et dont les rendements sont respectivement de 0.42% et 0.60% (NEFFATI *et al.*, 2009), alors que celui de *P. tortuosus* collecté de la région du Monastir en Tunisie est de 1.2% (ABDELWAHED *et al.*, 2006).

Ces différences de rendement sont dues à plusieurs facteurs ; la technique d'obtention des huiles essentielles, les facteurs environnementaux, l'espèce végétales elle-même, le stade et les conditions de croissance de la plante, ainsi que la période et le lieu géographique de cueillette (HAEKEL et OMAR, 1993).

2 – 2 Analyse des huiles essentielles

Les analyses chimiques des huiles essentielles, de *Pituranthos scoparius* des quatre populations de l'est algérien, montrent qu'ils contiennent presque les même constituants majoritaires, α -pinène, Sabinène, β -pinène, Dill apiole, α -terpinène et Myristicine. Ces résultats sont similaires à ceux retrouvés par BOUTAGHANE *et al.*, (2004) et VERITE *et al.*, (2003), dans les huiles de *Pituranthos scoparius* de la région de Gardaia, ainsi qu'à ceux des huiles essentielles de *P. tortuosus* de la région du Monastir en Tunisie (ABDELWAHED *et al.*, 2006).

Cependant, une différence quantitative notable des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* a été constatée chez les quatre populations étudiées.

Le Dill Apiole et le Myristicine sont représentés par des proportions de (16,77 % et 7,67 %) et (6,61 % et 7,61 %) dans les huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* des deux populations (Méchoneche et El-kantra) respectivement. Ces pourcentages sont plus élevées que ceux dans les huiles essentielles des populations de T'kout et Boussaâda, (0.41%-0 et 0.9%-0.69%).

Ces variations dans la composition des huiles essentielles sont dues à plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques. Pour une espèce donnée, la proportion des différents constituants d'une huile essentielle peut varier tout au long de sa croissance. La formation des principes actifs se fait spécialement pendant la période de pleine croissance et durant les temps des métabolismes intensifs comme les périodes de floraison et de fructification (BRUNETON, 1999; EL-ZAKHEM, 2003; GONNY *et al.*, 2004).

La composition peut varier suivant les conditions écologiques, la saison de récolte et le procédé de distillation. De plus, les procédés physiques ou chimiques utilisés lors de l'extraction et l'analyse peuvent donner lieu à des transformations des constituants (BELAICHE, 1979 ; KOFIDIS *et al.*, 2004).

D'autres facteurs telles que les conditions de stockage, les pratiques culturelles, la température, l'humidité, la durée totale de l'insolation peuvent influencer le rendement et la composition des huiles essentielles (BRUNETON, 1999 ; GYORGYI *et al.*, 2006).

La composition chimique des huiles essentielles de certaines plantes aromatiques varie qualitativement et quantitativement selon les chimiotypes, par exemple le *Thymus vulgaris* de la méditerranée occidentale regroupe sept chimiotypes différents (BRUNETON, 1999).

2 – 3 Activité antimicrobienne des huiles essentielles

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles, évaluée par la méthode des disques, montre que les huiles essentielles extraites de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* des populations de T'kout et de Boussaâda présentent des activités généralement moyennes sur l'ensemble des souches testées, tandis que les huiles essentielles des populations de Méchoneche et d'El-kantra présentent de faibles

activités. L'espèce *Psodomonas aerogenosa* ATCC 27853 a manifesté une résistance totale à toutes les huiles essentielles testées.

Les huiles essentielles testées agissent faiblement sur les bactéries (Gram⁺ et Gram⁻) que sur les champignons. Toutefois, une différence dans la sensibilité des espèces microbiennes a été enregistrée. Cette différence suggère la susceptibilité des différents microorganismes aux divers composants de l'huile essentielle.

La souche la plus sensible à toutes les huiles essentielles brute testées est *Shigella* sp avec une zone d'inhibition comprise entre 14 et 18 mm, suivi par MRSA (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline) et *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 avec une zone d'inhibition comprise entre 12 et 18 mm. Cette sensibilité est faible par rapport à celle obtenue par BOUTAGHANE *et al.*, (2004) qui ont montré que *Staphylococcus aureus* a une grande sensibilité à l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius* avec une zone d'inhibition comprise entre 26 et 28mm.

En faite, *Staphylococcus aureus* n'est pas seulement sensible à l'huile essentielle de l'espèce *Pituranthos scoparius* mais à une gamme très variée d'huile essentielle de différentes espèces végétales. Guesima, (2002) a montré que le développement de *Staphylococcus aureus* est complètement inhibé par l'huile essentielle de *Nigella sativa*.

La sensibilité des souches, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphimerium* et *Proteus permeri* est faible aux huiles essentielles brutes testées ainsi qu'à leur dilution de 1/2 (v/v), aux dilutions 1/4 et 1/8 (v/v) la sensibilité est nulle. Cette sensibilité est faible par rapport à celle obtenue par BOUTAGHANE *et al.*, (2004) qui ont montré qu'*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Proteus mirabilis* ont une grande sensibilité aux huiles essentielles brutes de *Pituranthos scoparius* et à leur dilution.

Enterococcus faecalis ATCC 29212 a montré une sensibilité moyenne aux huiles essentielles brutes des populations de Boussaâda et de Méchoneche avec une zone d'inhibition comprise entre 13-15mm; cette sensibilité est faible aux huiles essentielles brutes des populations de T'kout et d'El-kantra et nulle aux dilutions de 1/4 et 1/8 (v/v) des huiles essentielles des populations de T'kout, d'El-kantra et de Méchoneche. Ces résultats sont semblables à ceux trouvés par ABDELWAHED *et al.*,

(2006), qui ont montré qu'*Enterococcus faecalis* a une certaine sensibilité aux huiles essentielles du genre *Pituranthos*.

La sensibilité de *Serratia marcescens* est très faible aux huiles essentielles brutes testées avec une zone d'inhibition comprise entre 10-12mm. L'absence de pouvoir antimicrobien des huiles essentielles brutes de la population de T'kout est due probablement à l'absence de para-cymène comparativement aux huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* de Boussaâda, El-kantra et Méchoneche.

Salmonella typhimerium a manifesté une sensibilité moyenne aux huiles essentielles brutes des populations de T'kout et de Boussaâda, une sensibilité faible aux huiles essentielles brutes des populations d'El-kantra et de Méchoneche et nulle à leur dilution de 1/8 (v/v). Cette sensibilité est faible comparée à celle obtenue par BOUTAGHANE *et al.*, (2004) qui ont montré que *Salmonella typhimerium* a une grande sensibilité aux huiles essentielles brutes de *Pituranthos scoparius*, et moyenne à leur de dilution 1/4 et 1/8 (v/v).

Chaque souche de microorganisme répond de manière variable aux différents composés des huiles essentielles, mais il a été souligné dans plusieurs études que les bactéries Gram⁺ semblent être plus sensibles que les bactéries Gram⁻ (HULIN *et al.*, 1998; HOLLEY et PATEL, 2005; SINGLETON, 2005).

Il ressort que *Psodomonas aerogenosa* est la plus résistante aux huiles testés et se développait normalement sauf dans le cas des huiles essentielles de la population de Boussaâda, alors que BOUTAGHANE *et al.*, (2004) ont signalé que cette espèce est très sensible à l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius*. Cette résistance est confirmée par ABDELWAHED *et al.*, (2006).

Psodomonas aeruginosa est résistante a l'huile d'*Ocimum gratissimum* (NAKAMURA *et al.*, 1999), à l'huile de *Salvia tomentosa* (HAZNEDAROGLU *et al.*, 2001), à l'huile de *Salvia lanigera* et à l'huile de *Cordia verbenacea* (DE CARVALHO *et al.*, 2005), à l'huile de *Haplophyllum tuberculatum* (AL-BURTAMANI *et al.*, 2005), à l'huile de *Cyclotrichium origanifolium* (TEPE *et al.*, 2005), et à l'huile de *Pulicaria odora* (EZOUBEIRI *et al.*, 2005).

L'activité antifongique des huiles essentielles brutes de *Pituranthos scoparius* des quatre populations de l'est algérien sur *Candida albicans* est faible avec une zone

d'inhibition comprise entre 16 et 20 mm, à l'exception de l'huile essentielle de la population de T'kout, qui a présenté une activité antifongique moyenne sur *Candida albicans*. Ces résultats sont similaires à ceux trouvées par YANGUI *et al.*, (2008).

L'action antifongique des huiles essentielles vis-à-vis *Candida albicans* est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc le mort de la levure (COX *et al.*, 2000).

Les résultats l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* obtenus, indiquent que l'huile essentielle de la population de T'kout a un pouvoir antimicrobien, sur les bactéries et la levure, qui est supérieur à ceux des huiles essentielles des autres populations.

Conclusion

L'extraction des huiles essentielles est réalisée par hydrodistillation à la vapeur en utilisant un dispositif d'extraction du type Clevenger.

Les valeurs des rendements en huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* étaient faibles mais proches du rendement obtenus par d'autres espèces du genre *Pituranthos*.

Les huiles essentielles sont analysées par CPG/SM et la composition chimique est déterminée. L'analyse chimique a permis d'identifier 61 composants dans les huiles essentielles de *Pituranthos scoparius*. Les constituants majoritaires des huiles essentielles de la population de T'kout est l' α -pinene (23,3%), Sabinene (18,6%). Ceux de Boussaâda sont l' α -pinene (16,4%) et le sabinene (14,8%), dans la population d'El-kantra c'est le Sabinene (18,9%), pour la population de Méchonche c'est le sabinene (24,8%), dill apiole (16,8%) et l' α -pinene (13,4%). En comparant les résultats de l'analyse chimique des huiles essentielles extraites des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* des quatre populations de l'est algérien avec les résultats obtenus de plusieurs espèces appartenant au genre *Pituranthos*, on a constaté beaucoup de ressemblances et peu de différences, qui peuvent être attribuées aussi bien aux facteurs extrinsèques qu'aux facteurs intrinsèques.

L'activité antimicrobienne in vitro des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* de quatre populations de l'est algérien T'kout, Boussaâda, El-kantra et Méchonche, a été testée à l'aide de la méthode de diffusion par disque. Elle montre que les huiles essentielles extraites des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* des population de T'kout et de Boussaâda présentent des activités antimicrobiennes généralement moyennes sur l'ensemble des souches testées à l'exception de l'espèce *Serratia marcescens* qui a manifesté une résistance vis-à-vis à l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius* de la population de T'kout, tandis que les huiles essentielles des populations de Méchoneche et d'El-kantra présentent de faible activités antimicrobiennes, à l'exception de l'espèce *Psodomonas aerogenosa* ATCC 27853 qui a manifesté une résistante pour toutes les huiles essentielles testées.

La souche la plus sensible aux huiles essentielles brutes testées est *Shigella sp*, suivi par MRSA et *Staphylococcus aureus ATCC 29213*

Ces activités antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles varient en fonction de la technique utilisée, de la souche testée et de la concentration appliquée, mais aussi à la synergie qui pourrait exister entre tous les constituants présents dans les huiles essentielles.

En conclusion, l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* montrent que l'huile essentielle de la population de T'kout a un pouvoir antimicrobien sur les bactéries et la levure, supérieur à ceux des huiles essentielles des autres populations. Ces résultats montrent qu'il ya une corrélation entre les activités antimicrobiennes et la composition et les concentrations des huiles essentielles.

Parmi les perspectives immédiates de cette étude est d'évaluer la cytotoxicité de ces huiles sur des modèles animales, de l'étude de l'activité antiparasitaire et l'étude de l'activité antimicrobienne sur d'autres souches bactériennes et fongiques pathogènes. D'autres testes sont préconisés en vue de connaitre des éventuels effets indésirables ou des effets secondaire juste après les teste de cytotoxicité.

Références Bibliographique

- ABDELWAHED A., HAYDER N., KILANI S., MAHMOUD A., CHIBANI J., HAMMAMI M., CHEKIR-GHEDIRA L. and GHEDIRA K., 2006. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Tunisian *Pithuranthos tortuosus* (Coss), *Flavour and Fragrance Journal*, 21: 129-133.
- AHMED I., AQIL F. and OWAIS M., 2006. *Modern phytomedecin, turning medicinal plants into drugs*. Edition WILEY-VCH Verlag GmbH & CO. KGaA, Weinheim. 384 p.
- AL-BURTAMANI S.K., FATOPE M.O., RUCHI G., MARWAH G., ONIFADE A. K. and AL-SAIDI S.H., 2005. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the essential oil of *Haplophyllum tuberculatum* from Omam. *Journal of Ethnopharmacology*, 96: 107-112.
- AUDIGIE C., DUPONT G. et ZONSZAIM F., 1995a. *Principe des méthodes d'analyse biochimique*. Tome 1, Ed. DUNOD, Paris, 208 p.
- AUDIGIE C., DUPONT G. et ZONSZAIM F., 1995b. *Principe des méthodes d'analyse biochimique*. Tome 2, Ed. DUNOD, Paris, 144 p.
- BARRIER DU VIMONT H., 2006. *Thérapie naturelle : L'ARTHROSE*. Ed. La plage, Paris, 96 p.
- BARDEAU F., 1976. *La médecine par les fleurs*. Edition Robert Laffont, Paris, 335 p.
- BARNES J., ANDERSON L. and PHILIPSON J.D., 2007. *Herbal Medecines*. Ed. Pharmaceutical. U.S.A., 710 p.
- BELAICHE P., 1979. *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. Tome 1, Ed. Maloine S. A., Paris, 915 p.
- BELOUED A., 2009. *Plantes médicinales d'Algérie*. Ed. O.P.U., Alger, 7 p.
- BENCHELLAH A.C., BOUZIANE H., MAKHA M. et OUHES C., 2000. *Fleurs du Sahara, voyage ethnobotanique avec les Touaregs du Tassili*. Ed. Ibis, Paris. P. 105-106.
- BENJILALI B., 2004. *Extraction des plantes aromatiques et médicinales : cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements*. Institut agronomique et vétérinaire, Maroc. P. 43-106.

- BENKHECHI C. et ABDELOUAHID D., 2010. Les huiles essentielles. Ed. Office de publication universitaire, Alger, 56 p.
- BEYLIER-MAUREL F., 1976. Activité bactériostatique de certaines matières premières de parfumerie. Ed. Risista Italiana Eppos, 58: 283-286.
- BOTTER R., BOUCHOUX G., 1996. Spectrométrie de masse. Dossier : PE 2615. Base documentaire : Traité Analyse et caractérisation. vol papier n° : P 3.
- BOUSSAID M., BENFADHEL N., ZAOUALI Y., BENSALAH A. et ABDELKEFI A., 1999. Plantes pastorales en milieux arides de l'Afrique du Nord. Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie, Tunisie, P. 55-59.
- BOUDOUX D., 2000. L'aromathérapie, se soigner par les huiles essentielles. Collections douce alternative atlantica. Ed. atlantica, France, 416 p.
- BOUKEF M.K., 1986, Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. Ed. Agence de Coopération Culturelle et Technique, 5: 228-230.
- BOUKHARI A., 1999. SPECTROSCOPIE. Ed. O.P.U., Alger, 160 p.
- BOUNIAS M., 1983. Analyse biochimique quantitative par nano chromatographie en couche mince. Ed. MASSON, Paris, 198 p.
- BOUTAGHANE N., NACER A., KABOUCHE Z. and AIT-KAKI B., 2004. Comparative antibacterial activities of the essential oils of stems and seeds of *Pituranthos scoparius* from Algerian septentrional sahara. *Chemistry of Natural Compounds*, 40 (6): 606-607.
- BRUNETON J., 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Technique et documentation, Paris, 1120 p.
- BUSTA F. and FOEGEDING P.M., 1983. Chemical food preservatives in S. block: "Desinfection, stérilisation and preservation". Lea and Febiger Ed., USA, 694 p.
- CAUDE M. et JARDY A., 1995. Chromatographie en phase liquide, théorie et méthodes de séparation. Dossier : PE 1455. Base documentaire : Traité Analyse et caractérisation. vol papier n° : P 2.
- CAUDE M. et JARDY A., 1993. Méthode Chromatographique. Dossier : PE 1445. Base documentaire : Traité Analyse et caractérisation. vol papier n° : P 2.

- CAVIN A.L., 2007. Contribution à la connaissance taxonomique et chimique de fruits africains du genre *Detatium* (*Fabaceae. Caesalpinioideae*) : *D. microsorpum* Guill et Perr et des formes comestibles et toxiques de *D. senegalense* J. F. Gmel. Thèse de doctorat. Université de Genève, 120 p.
- CHIEJ R., 1982. Les plantes médicinales. Edition Solar, Paris, 442 p.
- CONSTANTIN E., TRALDI P., FAVRETTO D. and SCHNELL A., 1996. Spectrométrie de masse, principes et applications. Ed. Tec et Doc, Paris, 280 p.
- COX S. D., MANN C. M., MARKHAM J. L., BELL H. C., GUSTAFSON J. E., WARMINGTON J. R. and WYLLIE S. G., 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88: 170-175.
- CROUZE T.J., 1998. Aromes alimentaires. Ed. Technique de l'ingénieur. Dossier : F 4100. Base documentaire : Traité génie de procédés. vol papier n° : F3.
- DE BILLEBECK V. G., 2000. Activité antifongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon nardus* (L) W. Watson sur *Aspergillus niger*, évaluation d'un bioréacteur pour l'étude de l'effet inhibiteur des substances volatiles en phase vapeur. Thèse doctorat d'état, INP, Toulouse, 208 p.
- DE BILLEBECK V.G., ROQUES C.G. and VANNIERE P., 2002. Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Hygenes*, 10 (3): 248-251.
- DEBOUCHEBERG M.S., ALLEGRINI J., BESSVERE C., AHISSO M., PASSET J. et GRANGER R., 1976. Propriétés microbiologiques des huiles essentielles de chimiotype de *Thymus vulgaris linalus*. *Rivista Italiana EPPOS*, Rome, P. 527- 536.
- DE CARVALHO C. and DA FONSECA M.M.R., 2005. Carnove : Why and how should one bother to produce this terpene. *Food Chemistry*, 95(3): 413-422.
- DEMAACK F., SABLIER M., 1994. Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Dossier : PE 2614. Base documentaire : Traité Analyse et caractérisation. vol papier n° : P 3.

- DORMAN H. J. D. and DEANS H. J. D., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2): 308-316.
- DUQUENOIS P., 1968. L'utilisation des huiles essentielles en pharmacie, leur normalisation et l'Europe du médicament. *Parf. Cosm. Sav.*, Paris, 414 p.
- DURAFFOURD C., DHERVICOURT L. et LAPRAZ J. C., 1990. Cahier de phytothérapie clinique, examen de laboratoire galénique, éléments thérapeutiques synergiques. Tome 1, Ed. MASSON, Paris, 89 p.
- EL-ZAKHEM M., 2003. Effets antifongiques des huiles essentielle extraites de l'*Origanum syiacum* L. et de *Salvia libanotica* Boiss et Gaill contre les *Candida : albicans, holmii, et famata*. Mémoire de Diplôme d'études approfondie en agroalimentaire et assurance-qualité. Institut National Agronomique Paris-Grignon (INA-PG), Paris, 58 p.
- EZOUBEIRI A., GADHI C.A., FODIL N., BENHARREF A., JANA M. and VANHAELEN M., 2005. Isolation and antimicrobial activity of two phenolic compounds from *Pulicaria odora* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(2): 287-292.
- FERHAT M. A., MEKLATE B. Y. et CHEMAT F., 2010. Citrus d'Algérie, les huiles essentielles et leurs procédés d'extractions. Ed. O.P.U., Alger, 157 p.
- FESTY D.J., 2007. Ma bible des huiles essentielles., Ed. Le DUC, Paris, 550 p.
- FRANCE IDA J., 1996. Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huile essentielle. Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles, Paris, 130 p.
- GHESTEM A., SEGIUM E., PARIS M. et Orecchioni A.M., 2001. Le préparateur en pharmacie "dossier 2", Botanique, pharmacognosie, phytothérapie, homéopathie. Ed. Technique et documentation, Paris, 274 p.
- GONNY M., BRADESI P. and CASANOVA J., 2004. Identification of the essential oil from wild corsican *Daucus carota* L. using ¹³C-NMR spectroscopy. *Flavour and Fragrance Journal*, 19: 424-433.
- GUIGNARD J. C., 1998. Botanique. Ed. Masson, Paris, 278 p.
- GUINARD J.L., 2009. Biochimie végétale. Ed. DUNOD, Paris, 189 p.

- GYORGYI H., LASLO GY S. and EVA H., 2006. Essential oil composition of three cultivated *Thymus* chemotypes from Hungary. *Journal of Essential Oil Res.*, 18(3): 315-317.
- HAMMER K. A., CARSON C. F. and RILEY T. V., 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86: 985-990.
- HAMMICHE V. and MAIZA K., 2006. Traditional Medecine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of Ethnopharmacology*, 105 : 358–367.
- HAMON M., PELLERIN F., GUERNET M. et MAHUZIER G., 1990. Chimie analytique, méthode spectrales et analyse organique. Tome 3, Ed. Masson, Paris, 266 p.
- HAZNEDAROGLU M. Z., KARABY N. U. and ZEYBEK U., 2001. Antibacterial activity of *Salvia tomentosa* essential oil., *Fitoterapia*, 72(7): 829-831.
- HOLLEY R.A. and PATEL D., 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, 22(4): 273-292.
- HULIN V., MATHOT A. G., MAFART P. et DUFOSSE L., 1998. Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'aromes. *Science des aliments*, 18: 563-582.
- INOUYE S., TSURUOKA, WATANABE M., TAKEO K., AKAO M., NISHIYAMA Y. and YAMAGUCHI H., 1998. Inhibitory effect of essential oils on apical growth of *aspergillus fumigattus* by vapour contact. *Mycoses*, 43(1): 17-23.
- INOUYE S., TAKIZAWA T. and YAMAGUCHI H., 2001. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47: 565-573.
- JEANTET, ROGUENNEC, SCHUCK, BRULE, 2006. *Science des aliments, stabilisation biologique et physicochimique*. Ed. Technique et documentation, T2, Paris, 456 p.

- JANSSEN A.M., SCHEFFER J.J.C. and SVENDSEN A.B., 1987. Antimicrobial activity of essential oils : A 1976-1986 literature review on possible application. *Pharm. Weekbl. Sci. Ed.*, 9: 193-197.
- KOFIDIS G., BOSABALIDIS A. and KOKKINI S., 2004. Seasonal variation of essential oils in a Linalool-Rich chemotype of *Mentha spicata* grown wild in Greece., *Journal of Essential Oils*, 16: 469-472.
- KURITA N., KOIKE S., 1982. Systematic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils components. *Agric. Biol. Chem.*, (13) : 159-165.
- LAROUSSE, 1997. Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation, soin. Ed. Larousse, Bordas, 225 p.
- LEGRAND G., 1978. Manuel préparatoire en pharmacie. Edition Laffont, Paris, P. 57-86.
- MAHUZIER G., HAMON M., FERRIER D. et PROGNON P., 1999. Chimie analytique, Tome 2, Méthode spectrales et analyse organique., Ed. MASSON, Paris, 312 p.
- MANN C. M., COX S. D. and MARKHAM J.L., 2000. The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil)., *Letters of Applied Microbiology*, 30(4): 294-297.
- MOHTADJI-LAMBALLAIS C., 1989. Les aliments. Ed. Maloine, Paris, 192 p.
- MORI M., IKEDA N., KATO Y., MINAMINO M. and WATABE K., 2002. Inhibition of elastase activity by essential oils *in vitro.*, *Journal of Cosmetic Dermatology*, 1(4): 183-187.
- MOROBURONZO A., 1999. GRAND GUIDE DES HUILES ESSENTIELLES, santé beauté et bien-être. Ed. HACHETTE PRATIQUE, Paris, 254 p.
- MORTAGNE B., 2000. Caractéristique des polymères par couplage CG/SM. Dossier : PE 3768. Base documentaire : Traité Analyse et caractérisation. vol papier n° : P 5.
- MULTON J.L., 2002, Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. Ed. Tec et Doc, Paris, 750 p.

- NAIT SAID N., 2007. Etude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes « *Pituranthos chlorantus* et *Marrubium vulgare* », Thèse de Magistère en biologie, Université EL HADJ LAKHDAR BATNA, P. 68-77.
- NAKAMURA C. V., UEDA-NAKAMURA T., BANDO T., MELO A.F.N., CORTEZ D.A.G. and FILHO B.P.D., 1999. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L., *Essential Oil. Mem.*, 94 (5): 675-678.
- NEFFATI A., BOUHLEL I., BEN SGHAIER M., BOUBAKER J., LIMEM I., KILANI S., SKANDRANI I., BHOURI W., LE DAUPHIN J., BARILLIER D., MOSRATI R., CHEKIR-GHEDIRA L. and GHEDIRA K., 2009. Antigenotoxic and antioxydant activities of *Pituranthos chloranthus* essential oils. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 27: 187-194.
- OZENDA P., 2004. Flore et végétation du Sahara. Ed. CNRS, Paris, 662 p.
- PADRINI F., LURCHERONI M.T., 1996. Le grand livre des huiles essentielles. Ed. de Vecchi, Paris, 206 p.
- PARIS M. et HURABIELLE M., 1981. Abrégé de matière médicale (pharmacognosie). Tome 1, Ed. Masson, Paris, 339 p.
- PATTNAIK S., SUBRAMANYAM V.R., BAPAJI M. and KOLE C.R., 1997. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbios.*, 89(358) : 39-46.
- PELLECUER J., ALLEGRINI J. and DEBOUCHEBERG M.S., 1976. Huile essentielle bactéricides et fongicides. *Revue de l'institut Pasteur de Lyon*, P. 135-159.
- PERE J. P., 1999. Technique spectroscopiques en biochimie analytique. Ed. Centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine, Bordeaux, 152 p.
- PRATS M., 2002. Biochimie, méthodes biophysiques expérimentales. Edition DUNOD, Paris, 178 p.
- QUEZEL P. et SANTA S., 1962. Nouvel Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. T2, Ed. CNRS, Paris, 1170 p.
- RAHAL K., 2005. Standardisation de l'antibiogramme en médecine Humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS, 4eme édition,

- Edition Ministère de la santé et de la population et de la réforme hospitalière, Alger, 68 p.
- REYNAND J., 2002. La flore du pharmacien. Ed. Tec et Doc, Paris, 242 p.
- SABLIER M., 1997. Couplage CG/SM/SM. Dossier : P 1487. Base documentaire : Traité Analyse et caractérisation. vol papier n° : P 2.
- SINE J.P., 2003. Séparation et analyse des biomolécules. Ed. Ellipses. Paris, 254 p.
- SINGH A. K., DIKSHIT, DIXIT S. M., 1983. Fungitoxic properties of essential oil of *Mentha arvensis varpepirascens*. Parfumer and Flavorist Ed., 58 p.
- SINGLETON P., 2005. BACTERIOLOGIE pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. Ed. DUNOD, Paris, 542 p.
- SIOUFFI A. M., POSTAIRE E. and PRADEAU D., 1999. Chromatographie planaire. Dossier : P 1475. Base documentaire : Traité Analyse et caractérisation. vol papier n° : P 2.
- STAHL E., 1975. Analyse chromatographique et microscopique des drogues, Manuel pratique pour les pharmacopées européennes. Ed. Tec et Doc, Paris, P. 13-36.
- SURCH K. I. and NIELSEN P. V., 2003. Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. Journal of Applied Microbiology, 49: 1-11.
- TEPE B., DAFARERA D., SOKMEN A., SOKMEN M. and POLISSIOU M., 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (*Lamiaceae*)., *Food Chemistry*, 90: 333-340.
- TEUSCHER E., ANTON R. and LOBSTEIN A., 2005. Plante aromatique : épices, aromates, condiments et huiles essentielles, Ed. Tec et Doc, Paris, P. 8-15.
- TRANCHANT J., 1996. Chromatographie en phase gazeuse. PE 1485. Dossier : PE 1485. Base documentaire : Traité Analyse et caractérisation. vol papier n° : P 2.
- VERITE P., NACER A., KABOUCHE Z. and SEGUIN E., 2004. Composition of seeds and stems essential oils of *Pituranthos scoparius* (Coss. & Dur.) Schinz. Flavor and Fragrance Journal, 19: 562-564.

- WICHTL M. and ANTHON R., 1999. Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, sciences et thérapeutiques. Ed. Tec et Doc, Paris, 372 p.
- WILLIAMS D.F. and SCHMITT W.H., 1996. Chemistry and Technology of the Cosmetics and Toiletries Industry. Edition BLACKIE ACADEMIC & PROFESSIONAL, London. 395 p.
- YANGUI T., BOUAZIZ M., DHOUB A. and SAYADI S., 2008. Potential use of Tunisian *Pituranthos chlaranthus* essential oils as a natural disinfectant, Journal compilation, 48: 112-117.
- ZLOTORZYNSKI A., 1995. Microwaves assisted extraction of essentials oils from vegetal material., Anal Chem., 25(1): 43-76.

المراجع العربية:

- أندرو شوقالييه. 2010. الطب البديل، التداوي بالأعشاب والنباتات العطرية. أكاديمية أنترناشيونال، بيروت، ص 15.

- قسمية خ. 2002. الزيت الأساسي للحبة السوداء *Nigella sativa* L. : تركيب كيميائي ونشاطية مضادة للأحياء الدقيقة. مذكرة لنيل شهادة الماجستير، معهد البيولوجيا، جامعة فرحات عباس، سطيف.
- كاخيا إ. ط. 2005. صناعة العطور وموادها الطبيعية والتركيبية. ط 1، دار علاء الدين، دمشق، ص 44 – 19.
- كاخيا إ. ط. 2009. صناعة الصابون والشامبو والمنظفات الصناعية. ط 2، دار علاء الدين، دمشق، ص 85 – 83.
- كاخيا إ. ط. 2009. الصناعات التجميلية وموادها. ط 2، دار علاء الدين، دمشق، ص 5 – 17.
- كذلك م. م. 2000. فن صناعة معطرات الصابون. مكتبة ابن سينا، القاهرة، ص 27 – 32.
- كذلك م. م. 2002. صناعة الصابون والشامبو. مكتبة ابن سينا، القاهرة، ص 28 – 39.
- كذلك م. م. 2004. فن صناعة المنظفات السائلة ومساحيق التنظيف الحديثة. مكتبة ابن سينا، القاهرة، ص 99 – 75.
- نصر أبوزيد الشحات. 1992. النباتات العطرية ومنتجاتها الزراعية والدوائية. دار العربية للنشر والتوزيع، القاهرة، ص 21 – 65.
- نصر أبوزيد الشحات. 1996. فسيولوجيا وكيمياء الزيوت الطيارة للنباتات العطرية. دار المريخ للنشر والتوزيع، الرياض، ص 33 – 50 , 86 – 120 , 300 – 405.
- هيكل م. أ. و عمر ع. ع.، 1993. النباتات الطبية والعطرية، كيمياؤها، انتاجها وفوائدها. منشأة المعارف، الإسكندرية، ص 62 – 86.

Annexe n°1 :

Les milieux de culture

Milieu Mueller-Hinton Agar (MH) :

Infusion de viande de bœuf déshydraté	300g
Hydrolysate de caséine	17.5g
Amidon de maïs	1.5g
Agar Agar	13g
Eau distillée QSP	1000 ml

Sabouraud simple :

Peptone Chapoteau	10g
Gélose	20g
Glucose	20g
Eau distillée	1000 ml

Sabouraud+Chloramphénicol :

Milieu de Sabouraud	
Chloramphénicol	0.5%

Bouillon nutritif :

Peptone	5g
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
Chlorure de Sodium	5g
Eau distillée	1000 ml

Annexe n°2 :

Préparation de l'inoculum

L'étalon 0.5 Mc Farland se prépare en versant 0.5 ml d'une solution de BaCl₂ dihydraté à 1 % dans une éprouvette de 100ml. Compléter à 100ml avec du H₂SO₄ à 1%. L'étalon doit présenter une densité optique de 0.08 à 0.1 lue à 625nm ($\approx 10^8$ UFC/ml).

- Répartir la solution en volume de 10ml dans des tubes identiques à ceux qui vont servir à la préparation des inocula.
- Sceller ces tubes de façon à éviter toute évaporation.
- Repérer le niveau du liquide à l'aide d'un marqueur, et le contrôler régulièrement en prenant la densité optique.
- Conserver les tubes à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Il faut homogénéiser le tube d'étalon avant de le comparer à l'inoculum préparé.

Annexe n°3 :

Tableau n° 9 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius*.

Populations	T'kout (Batna)				Boussaâda (M'Sila)				El-kantra (Biskra)				Méchonche (Biskra)				Gen
	[c]	1/2	1/4	1/8	[c]	1/2	1/4	1/8	[c]	1/2	1/4	1/8	[c]	1/2	1/4	1/8	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	11	8	0	0	12	9	0	0	13	10	8	0	9	0	0	0	27
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	16	13	10	8	17	15	12	10	12	10	8	0	15	12	10	8	30
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	13	9	0	0	15	13	10	8	13	0	0	0	15	11	0	0	0
<i>Psodomonas aerogenosa</i> ATCC 27853	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MRSA	18	15	13	10	18	12	10	8	14	11	9	0	12	10	0	0	25
<i>Salmonella typhimerium</i>	15	12	10	8	15	13	10	8	13	9	0	0	13	10	8	0	20
<i>Acinetobacter baumannii</i>	10	8	0	0	8	0	0	0	12	10	0	0	11	8	0	0	23
<i>Escherichia coli</i>	11	8	0	0	10	8	0	0	12	8	0	0	13	9	0	0	20
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	0	0	12	9	0	0	11	0	0	0	10	0	0	0	0
<i>Shigella sp</i>	18	13	11	8	18	15	13	9	16	13	11	0	14	11	8	0	28
<i>Salmonella paratyphimerium</i>	12	9	0	0	13	10	0	0	10	8	0	0	13	10	0	0	16
<i>Proteus permeri</i>	12	9	0	0	8	0	0	0	11	0	0	0	10	0	0	0	17
<i>Candida albicans</i>	16	13	10	0	13	11	9	0	12	11	10	8	10	9	8	0	0