

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire Salhi Ahmed de Naâma



Institut des Sciences et Technologies
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'étude
En vue de l'obtention du diplôme de
Master Académique en Microbiologie Appliquée

Thème

**Composition Chimique et Activité Antibactérienne des Huiles
Essentielles de *Deverra scoparia* de la région de Naama**

Présenté par :

Mme ATBI Fatima Zohra & Mme GHAZOUL Fatima

Soutenu le : 28 Juin 2020

Devant le jury composé de :

Président :	Mr AMROUCHE ABDELILAH	Pr.
Encadreur:	Mr GHERIB MOHAMMED	M.C.A
Examineur :	Mme YAKOUBI MERYEM	M.A.B

Année Universitaire 2019 / 2020

El hamdou lillah, le tout puissant, pour nous avoir prêté force et patience pour l'aboutissement de ce modeste travail

Nous tenons à remercier très chaleureusement **Dr GHERIB.M** qui nous a permis de bénéficier de son encadrement, les conseils qu'il nous a prodigué, sa patience et son disponibilité,

Nos vifs remerciements sont adressés à **Pr AMROUCHE.A** pour avoir l'amabilité d'accepter de présider le jury de soutenance.

Nous exprimons aussi nos meilleurs sentiments de gratitude à **Dr YAKOUBI M** d'avoir accepté de faire part du jury et consacré son temps à la lecture et à la correction de ce mémoire.

Nos sincères remerciements à Sabah et Otman et Fatima, ingénieurs de laboratoire de biochimie et microbiologie.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire, à tous nos proches et ami(e)s, qui nous ont toujours soutenu et encouragé au cours de notre Master.

*Je dédie le présent travail
A mes très chers parents
A mes sœurs et mes frères
A mon mari et mes enfants
A l'ensemble de ma famille et mes amies*

Ghazoul Fatima

*Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts
A la mémoire de **mon père** que son âme repose en paix.
A l'être le plus cher au monde, **ma mère** qui a été toujours présente pour moi et pour
l'affection dont elle m'a fait preuve.
Je voudrais dédier et remercier mon mari **Mostapha** et ma fille **Hibat Errahmane Allaa** qui
ont survécu aux aléas d'une femme et d'une mère préoccupée et souvent de mauvais
caractère surtout en période des examens. L'achèvement de ce master n'aurait pas été
possible sans leur amour inconditionnel, leur soutien et leur patience.*

*Je tiens à exprimer ma gratitude envers mes **frères, sœurs, neveux et mes nièces** qui m'ont
toujours encouragé et soutenus.
A mon binôme **Fatima**, ainsi qu'à toute sa famille
A toute la promotion de Master Microbiologie Appliqué qui m'on chaleureusement accueilli
parmi eux.
A ceux que j'aime et qui ont été toujours présent pour moi.
A tous les esprits positifs du monde.*

Fatima Zohra

ملخص

النباتات الطبية هي تراث ثمين للبشرية ومصدر متجدد من المواد والمركبات الطبيعية النشطة بيولوجيا. ويعتبر اللجوء الى الطب التقليدي في العالم وفي الجزائر امرا شائعا خاصة في ولاية النعامة. في هذه الدراسة، يصب اهتمامنا بتحليل التركيب الكيميائي وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الطيارة (الزيوت الطيارة للأوراق، الزيوت الطيارة للأزهار) لنبته القزاح.

يوفر استخراج الزيوت الطيارة عن طريق التقطير المائي عائدا بنسبة 0.23% للزيوت الطيارة للأوراق و1.4% للزيوت الطيارة للزهور. كشف التحليل الكيميائي للزيوت الطيارة التي تم الحصول عليها بواسطة الفصل الكروماتوغرافي الغازي/قياس الطيف الكتلي (GC-MS) عن مجموع اربعة واربعين مركبا معرفة في الزيوت الطيارة لأوراق نبتة القزاح، تمثل 95.22% من إجمالي التكوين. هيمن على التركيبة هيدروكربونات مونوتربين (71.40%) يليها هيدروكربونات سيكستربين (8.86%). والمكونات الاساسية كانت (الفا بنين (32,78%)، بيطا بنين (15,11%)، دي ليمونين (11,02%)) في حين تم تحديد ثلاثة وثلاثين مركب في الزيوت الطيارة للزهور، تمثل (95.72%) من التركيبة بأكملها. يهيمن عليها هيدروكربونات مونوتربين (53.48%) ثم مونوتربينات مؤكسجة (40.61%). كانت المكونات الاساسية ميثيل الأوجينول (34,17%)، الفا بنين (19,13%)، دي ليمونين (17,31%).

تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا في الزيوت الطيارة في المختبر مقابل سبعة بكتيريا مسببة للأمراض باستخدام طريقة توزيع القرص على الصلب (أروماتوجرام). تشير النتائج إلى أن الزيوت الطيارة لنبته القزاح لديها حساسية متوسطة إلى منخفضة ضد البكتيريا المسببة للأمراض التي تم اختبارها. يتم الحصول على أفضل نشاط بالزيت الطيارة للأوراق ضد *staphylococcus aureus*.

الكلمات المفتاحية: نبات طبية، نبتة القزاح، للزيوت الطيارة ، نشاط مضاد للبكتيريا، CG /SM.

ABSTRACT

Medicinal plants constitute a precious heritage for humanity and an inexhaustible source of natural bioactive substances and compounds. The recourse to traditional medicine is frequent in the world and in Algeria, in particular in Naama.

In this study, we are interested in the analysis of the chemical composition and the evaluation of the antibacterial activity of essential oils (EO of leaves, EO of flowers) of *Deverra scoparia*.

The extraction of essential oils by hydrodistillation provided yields of 0.23% for the essential oils of the leaves and 1.4% for the essential oils of the flowers. Chemical analysis of the essential oils obtained by gas phase chromatography-mass spectrometry (GC-MS) revealed a total of forty-four compounds identified in essential oils of the leaves of *D. scoparia*, representing (95.22%) of the total composition. The composition was dominated by monoterpene hydrocarbons (71.40%) followed by sesquiterpene hydrocarbons (8.86%).

The principal components were α -pinene (32.78%), β -pinene (15.11%) and D limonene (11.02%). While thirty-three compounds have been identified in the essential oil of flowers, representing (95.72%) of the entire composition dominated by monoterpene hydrocarbons (53.48%) and then oxygenated monoterpenes (40.61%). The main components were methyl eugenol (34.17%), α -pinene (19.13%) and D limonene (17.31%).

The in vitro antibacterial activity of essential oils was evaluated against seven pathogenic bacteria using the solid disk diffusion method (aromatogram). The results suggest that *Deverra Scoparia* essential oil has moderate to low sensitivity to the pathogenic bacteria tested. The best activity is obtained with the essential oil of the leaves against *staphylococcus aureus*.

Keywords: medicinal plant, *Deverra scoparia*, essential oil, antibacterial activity, CG /SM.

RÉSUMÉ

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs. Le recours à la médecine traditionnelle est fréquent dans le monde et en Algérie notamment à Naama .

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés par l'analyse de la composition chimique et l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles (HE des feuilles, HE des fleurs) de *Deverra scoparia*.

L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation a fourni des rendements de 0,23 % pour les HE des feuilles et 1,4 % pour les HE des fleurs. L'analyse chimique des huiles essentielles obtenues réalisé par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS) a révélé au total, quarante-quatre composés identifiés dans HE des feuilles de *D. scoparia*, représentant 95,22% de la composition totale. La composition était dominée par les hydrocarbures monoterpéniques (71,40%) suivis par les hydrocarbures sesquiterpéniques (8,86%). Les principaux composants étaient l' α -pinène (32,78%), le β -pinène (15,11%) et le D limonène (11,02%). Alors que trente-trois composés ont été identifiés dans l'huile essentielle des fleurs, représentant (95,72%) de l'ensemble de la composition, dominée par les hydrocarbures monoterpéniques (53,48%) puis les monoterpènes oxygénés (40,61%). Les principaux composants étaient le méthyleugénol (34,17%), α -pinène (19,13%) et D limonène (17,31%).

L'activité antibactérienne in vitro des huiles essentielles a été évaluée contre sept bactéries pathogènes ; en utilisant la méthode de diffusion sur disque solide (aromatogramme), Les résultats suggèrent que l'huile essentielle de *Deverra scoparia* a une sensibilité modérée à faible aux souches testées. La meilleure activité est obtenue avec l'huile essentielle des feuilles contre le *staphylococcus aureus*.

Mots clés : plante médicinale, *Deverra scoparia*, huile essentiel, activité antibactérienne, CG /SM.

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR : Agence Française de Normalisation

ATCC : Américain Type Culture Collection

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

DMSO : Di-Méthyl-Sulf-Oxyde

HE : Huile Essentielle

MH : Mueller Hinton

OMS : Organisation Mondiale de Sante

SM : Spectroscopie de Masse

UFC : Unité Formant Colonie

LISTE DES TABLEAUX

Tableau IV. 1. <i>Souches bactériennes testées</i>	29
Tableau V. 1. <i>Rendements en huiles essentielles de Pituranthos scoparius des fleurs et feuilles(%)</i>	33
Tableau V.2. <i>Caractéristiques des huiles essentielles</i>	34
Tableau V.3. <i>Composants de l'huile essentielle de D. scoparia (Fleurs et feuilles) de la province de Naama (Algérie occidentale)</i>	36
Tableau V. 4. <i>Diamètres des zones d'inhibitions (mm) d'un extrait d'huile Essentiel des feuilles et des fleurs du Deverra Scoparia vis-à-vis des souches bactériennes testées</i> .	39

LISTE DES FIGURES

Figure I.1. <i>Carte de répartition géographique de Deverra scoparia</i> Coss. & Dur. (Dobignard et Chatelain, 2013).....	6
Figure I.2. <i>diagramme fleural et le diakène des Apiaceae</i> (Guignard, 1989).....	7
Figure I.3. <i>Espèce Pituranthos scoparius</i>	8
Figure II.1. <i>Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile</i> (Lagunez, 2006).	11
Figure II. 2. <i>Schéma de l'appareil d'entraînement à la vapeur d'eau</i> (Bousbia, 2011).....	12
Figure III. 1. <i>Mode d'action des antibiotiques</i> (Singh et Barrett, 2006).....	19
Figure III. 2. <i>Différents modes d'acquisition des gènes de résistance (R) aux antibiotiques chez les bactéries</i> (Levy et Marshall, 2004).....	20
Figure III. 3. <i>Mécanisme d'Action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne</i> . (Liet et al, 2014).....	23
Figure IV.1. <i>Situation géographique de lieu de récolte de la plante étudiée</i>	25
Figure IV. 2. <i>plante de Deverra scoparia</i>	26
Figure IV. 3. <i>Montage de Clevenger</i>	27
Figure IV. 4. <i>Schéma simplifié du principe de la méthode des aromagrammes</i> (Smith et Navilliat, 1997).....	30
Figure V.1. <i>Aspect d'huile essentielle des fleurs</i>	34
Figure V.2. <i>Aspect d'huile essentielle des feuilles</i>	34
Figure V.3. <i>Chromatogramme d'huile essentielle de fleurs de D. scoparia</i>	38
Figure V.4. <i>Chromatogramme d'huile essentielle de feuilles de D. scoparia</i>	38
Figure V. 5 <i>Spectre de masse de l'échantillon inconnu au temps TR = 46,442 mm (Fleurs de D.scoparia) et celui du méthyl eugénol (spectres de masse avec des données d'Adams, US National Institute of Standards and Technology (NIST, USA), (WILEY 1996 Ed)</i>	38
Figure V.6. <i>Zones d'inhibition de HE de fleurs (A) et H.E des feuilles (B) sur les souches testés</i>	41
Figure V. 7. <i>Activité des antibiotiques contre les bactéries</i>	42

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS.....	i
DÉDICACES	ii
ملخص	iv
ABSTRACT.....	v
RÉSUMÉ	vi
LISTE DES ABREVIATIONS.....	vii
LISTE DES TABLEAUX	viii
LISTE DES FIGURES	ix
Table des matières.....	x
<i>INTRODUCTION</i>	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	4
Chapitre I : Etude de la plante étudiée <i>Deverra scoparia</i>	5
I.1.Famille des Apiaceae.....	5
I.2. Genre	5
I.3. Description botanique.....	6
I.4.Systématique de l'espèce <i>Deverra scoparia</i> Coss. & Dur	7
I.5.Propriétés thérapeutiques.....	8
I.6. Travaux préalables réalisés sur <i>Deverra scoparia</i>	8
Chapitre II : Les différentes techniques d'extraction, d'analyse des huiles essentielles de la plante	11
II.1. Techniques d'extraction des constituants dans un mélange naturel	11
II.1.1 Techniques de l'hydrodistillation et de l'entraînement à la vapeur	11
II.1.2. Technique d'extraction par les solvants	12
II.2. Identification des constituants dans un mélange complexe.....	13
II.2.1. Analyse par des couplages « en ligne » : Voie A.....	13
II.3. Caractérisation des huiles essentielles.....	14

II.3.1. Propriétés physiques	14
II.3.2. Composition chimique	14
Chapitre III. Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles	17
III. 1. Description des bactéries étudiés	17
III.2. antibiotiques	18
III.2.1. antibiotiques naturels et synthétiques	18
III.2.2. cibles bactériennes des antibiotiques	19
III.3. résistance aux antibiotiques	19
III.3.1. résistance naturelle	20
III.3.2. résistance acquise	20
III.4. mécanismes de résistance :	21
III.5. Stratégies moléculaires de lutte contre la résistance	21
III.6. huiles essentielles	21
III.6.1. Définition	21
III.6.2. activités biologiques des huiles essentielles	22
III.6.3. activités antibactériennes des huiles essentielles	22
III.6.4. Mode d'action des huiles essentielles sur les microorganismes	23
Chapitre IV. Matériel et méthodes	25
IV.1. Matériel végétal et extraction des huiles essentielles	25
IV.1. 1. Matériel végétal	25
IV.1.2. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation	26
IV.1.3. Rendements en huile essentielles des différentes parties	27
IV.2. Analyse des huiles essentielles	27
IV.2.1. Identification des constituants	28
IV.3. Etude du pouvoir antibactérien des huiles essentielles	29
IV.3.1 .Origine et choix des souches bactériennes	29

IV.3.2. Etude qualitative de l'activité antibactérienne (Méthode de diffusion sur disque).....	29
Chapitre V : Résultats et discussion	33
V.1. Rendements en huiles essentielles	33
V.2. Caractérisation des huiles essentielles	34
V.2.1. Caractérisation organoleptique	34
V.2.2. Analyse des huiles essentielles	35
V.3. Evaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles	39
V.3.1. Détermination de l'activité antibactérienne	39
Conclusion générale	44
Bibliographie.....	47

INTRODUCTION

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), 75 à 95% des populations rurales (particulièrement dans les pays en développement) font recours à la médecine traditionnelle faite en grande partie à base de plantes (OMS, 2003). Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques et ils possèdent un très large éventail d'activité biologique. (Mazari *et al*, 2010).

Ces métabolites secondaires ont une exclusivité du monde végétale. Elles ne paraissent pas essentielles à la vie de la plante, on les appelle métabolites secondaires. Ces produits sont très dispersés et très différents selon les espèces. C'est seulement à partir de la deuxième moitié du 20^{ème} siècle qu'il y a eu explosion des recherches dans ce domaine grâce à l'évolution du matériel d'analyse :

- Chromatographie.
- Résonance magnétique nucléaire.
- Spectrométrie de masse. (Benmekhebi, 2004).

En effet, les plantes aromatiques ont l'aptitude à synthétiser de nombreux métabolites secondaires en réponse aux stress biotiques et abiotiques qu'ils peuvent subir. Ces métabolites secondaires possèdent diverses propriétés biologiques. Les huiles essentielles ou essences, font partie de ce groupe de métabolite avec les alcaloïdes et les phénols (Haddouchi *et al*, 2008).

Certaines huiles essentielles sont décrites comme extraordinaires « antibiotiques naturels ». Elles sont remarquables par leur très large spectre d'action, à la fois anti-infectieuse, antiseptique et antivirale, l'aromathérapie se présente comme une très bonne alternative (dans le cadre de pathologie bénigne). (Laurent, 2017)

Aujourd'hui, la résistance bactérienne aux antibiotiques est un grave problème de santé publique mondial qui progresse très rapidement. L'Organisation Mondiale de Santé (OMS) prévoit qu'en 2050, les maladies infectieuses résistantes aux antibiotiques seront la première cause de décès par maladie. Il serait question de plus de 10 millions de morts par an dans le monde contre 700 000 actuellement, c'est-à-dire plus que le cancer (Carlet et Le Coz, 2014).

Face à l'urgence de trouver de nouvelles thérapies, avec l'apparition des effets secondaires des médicaments synthétiques et l'augmentation de la résistance des microorganismes pathogènes vis-à-vis des antibiotiques classiques, une bonne partie des recherches scientifiques s'orientent actuellement vers la voie de l'usage des extraits

biologiques actifs des plantes aromatiques et médicinales, notamment vers les huiles essentielles (**Essawi et Srour, 2000**).

A cet effet, dans le cadre de la valorisation de la flore Algérienne en général, spécialement la flore locale et afin de trouver de nouvelles moyen de lutte contre les infections microbiennes, Nous sommes intéressé par une espèce de famille des Apiaceae.

L'espèce sur laquelle a porté notre choix est *Deverra scoparia* de la région de Naama, afin d'étudier la composition chimique des huiles essentielles et leurs activités antibactérienne en réalisant des tests *in vitro*.

La première partie de cette étude est consacrée à une recherche bibliographique

Concernant la plante étudiée, les différentes techniques d'extraction, d'analyse des constituants dans un mélange nature et le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles.

La seconde partie du travail est l'étude expérimentale, dans laquelle nous allons :

Extraire par hydrodistillation les huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *Deverra scoparia* provenant de la région de Sfisifa, wilaya de Naama.

Evaluer le rendement d'extraction.

Analyse de la composition chimique des huiles essentielles.

Évaluer l'activité antibactérienne d'huile essentielle des feuilles.

Analyse statistique.

La troisième partie consacrée à la présentation des résultats et discussion.

Enfin, nous avons terminé le travail avec une conclusion générale.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Etude de la plante étudiée *Deverra scoparia*

I.1.Famille des Apiaceae

Anciennement appelée Ombellifères, la famille des Apiaceae comprend plus de 3000 espèces réparties en 469 genres (**Ozenda, 1983**). En Algérie 55 genres regroupent 117 espèces, dont 24 endémiques répertoriés (**Quezel et Santa, 1963**). Ce sont essentiellement des plantes herbacées annuelles, bisannuelles, ou souvent vivaces (**Deysson, 1979**) caractérisées par une inflorescence en ombelle. La famille des Apiaceae présente une distribution cosmopolite, elle est répartie sur la majeure partie du globe, plus commune dans les régions montagneuses tempérées et rare en zone tropicale (**Heywood et al, 1996**). Les genres se répartissent entre les divers continents : asiatique (265), Amérique (197), Europe (139), Afrique (126), Australie (36) (**Pimenov et Leonov, 1993**).

I.2. Genre

Le genre *Deverra* ou *Pituranthos* est une plante vivace, totalement aphyllé, à tige très ramifiées, portant des ombelles à involucre et involucelles polyphylles et des péricarpes ovoïdes à six bandelettes. Feuilles toutes, ou presque toutes, réduites à des écailles; tiges rameuses jaunâtres de 40 à 80 cm (**Ozenda, 1977**).

Le genre *Deverra* possède plus de vingt espèces, dont certaines sont spécifiques à l'Afrique du nord et sont souvent rencontrées dans les régions arides ou désertiques (**QUEZEL et SANATA, 1963**). Le potentiel floristique algérien de ce genre comporte les espèces suivantes : *Deverra scoparia* Coss. & Dur. Ou *Pituranthos scoparius* Benth. & Hook ; *Deverra chlorantha* Coss. & Dur. Ou *Pituranthos chloranthus* Benth. & Hook ; *Pituranthos battandrieri* Maire (**Ozenda, 1977**).

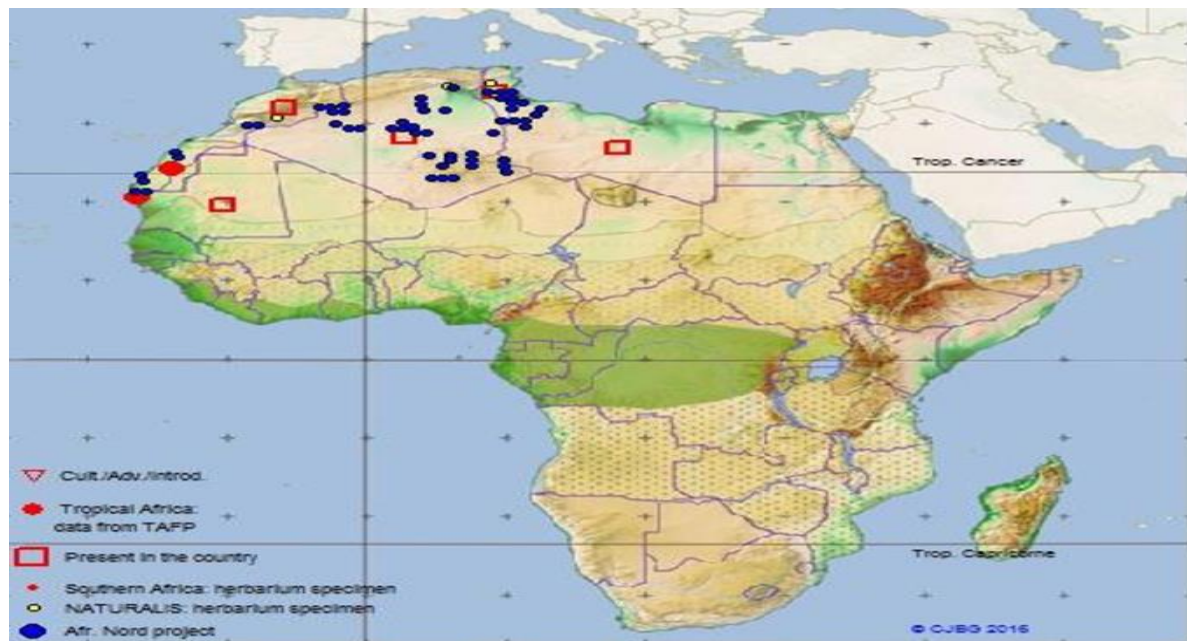


Figure I.1. Carte de répartition géographique de *Deverra scoparia* Coss. & Dur. (Dobignard et Chatelain, 2013).

I.3. Description botanique

Deverra scoparia Coss. & Dur ou *Pituranthos scoparius* Benth. et Hook est une plante vivace, à tiges en touffes. Les feuilles toutes, ou presque toutes sont réduites à des écailles (Ozenda, 1977), elles sont alternes, sans stipules, pennées ou palmées. Les pétioles sont souvent élargis à leur base, engainant la tige (Guignard, 1980). Les tiges sont creuses terminées à leur base par un système racinaire organisé en racines pivotantes (fenouil), en rhizome ou en tubercule.

Leurs tiges sont souvent creuses à canaux sécréteurs contenant des huiles essentielles, des résines, des saponines triterpéniques, des coumarines, des polyacétylènes, des monoterpènes et des sesquiterpènes comme matière de réserve (Quezel et Santa, 1963). Les inflorescences sont des ombelles latérales; pédoncules souvent courts (1-3 cm) ; munies à la base d'un verticille de bractées (involucre) ou composées de plusieurs ombelles simples (ombellules) presque toujours pourvues de bractéoles (involucelle) (Bach et al, 1979). La floraison s'étale de Février à Octobre (Quezel et Santa, 1963).

Les fleurs sont actinomorphes blanches ou jaunâtres, hermaphrodites, pentamères à pollinisation entomophile. Le calice est composé de cinq sépales, la corolle de cinq pétales, l'androcée de cinq étamines soudées à l'ovaire qui alternent avec les pétales, le gynécée, ovaire infère, à deux carpelles soudés : chaque loge contient 1 seul ovule (Dewit, 1965).

Elle possède des fleurs hermaphrodites, rarement dioïques ou polygames, disposées en ombelles, souvent munies à la base d'un verticille de bractées (involucre) ou composées de plusieurs ombelles simples (ombellules) presque toujours pourvues de bractéoles (involucelle) (Bach et al, 1979) (Fig. 2).

Le fruit est un diakène, les deux loges de l'ovaire restent longtemps soudées, puis se séparent en deux akènes qui se détachent l'un de l'autre avant de tomber au sol.

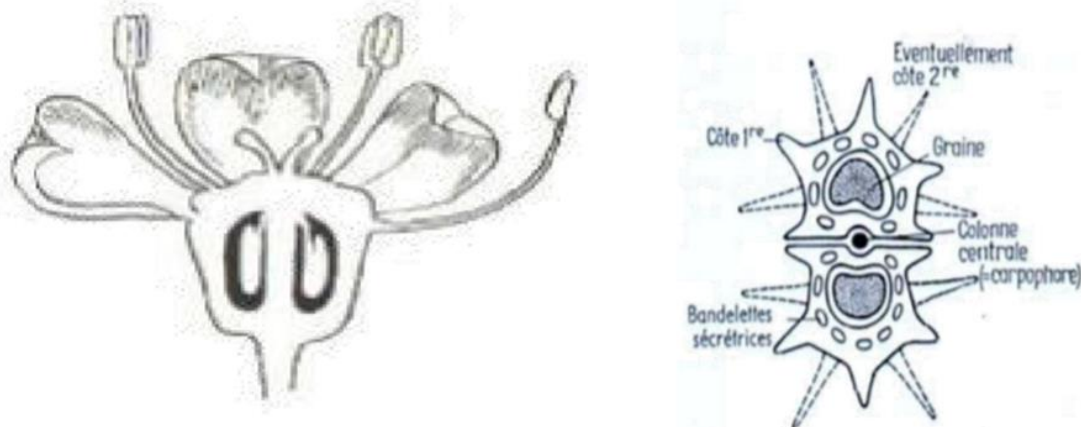


Figure I.2. diagramme floral et le diakène des Apiaceae (Guignard, 1989).

I.4. Systématique de l'espèce *Deverra scoparia* Coss. & Dur

D'après, APG IV (2016), *Deverra scoparia* (Coss. & Dur.), est classé comme suit :

Règne: *Plantae*

Classe: Magnoliopsida

Ordre: Apiales

Famille: Apiaceae

Genre: *Deverra*

Espèce: *Deverra scoparia* Coss. & Dur.

Synonyme homotypique: *Pituranthos scoparius* (Coss. & Dur.) Benth. & Hook.

(Dobignard et Chatelain , 2013).

Elle est appelée en Tamahaq: Tattayt,

En arabe : Guezzah, Ghezzaha

Le nom vernaculaire français: Fenouil sauvage.



Figure I.3. Photo de l'espèce *Pituranthos scoparius*.

I.5. Propriétés thérapeutiques

Le genre *Deverra* est très utilisé en pharmacopée traditionnelle dans de nombreuses régions et les propriétés pharmacologiques de certaines espèces ont été validées par les tests appropriés (Bellakhdar, 1997 ; Hammiche et Maiza, 2006 ; Anonyme, 2005).

Concernant les modes d'emploi de cette plante, elles sont généralement employées en infusion pour le traitement de l'hépatite, du diabète, des infections urinaires, des problèmes d'indigestion et des maux d'estomac (Hammiche et Maiza, 2006). De plus, certains travaux rapportent que la poudre de tiges est utilisée pour soulager les morsures des vipères et les piqures des scorpions (Didi et Zabeirou, 2003 ; Hammiche et Maiza, 2006 ; Boudjelal et al, 2013).

La population locale emploie les tiges de *Deverra scoparia* Coss. & Dur. pour le traitement de la rougeole, rhumatisme, l'asthme et l'ictère (Adida et al, 2014), due à son odeur de fenouil agréable, les tiges sont employées pour confectionner des claies pour y égoutter le fromage, aussi que pour parfumer le beurre de chèvre (Hammoudi, 2015).

Cette plante est utilisée contre les douleurs dorsales. Les tiges sèches entrent dans la préparation de poudres contre les morsures de reptiles. Lorsqu'elle est prise en infusion, elle facilite la digestion (Sahki et Sahki, 2004 ; Benchelah et al, 2011).

I.6. Travaux préalables réalisés sur *Deverra scoparia*

Les travaux antérieurs ont étudié la composition chimique des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* et ont montré sa richesse en α -pinène, limonène, sabinène, dill-apiole et β -pinène [(Vérité et al., 2004) ; (Hammiche et Maiza, 2006) ; (Gourine et al, 2011) ; (Smaili et al, 2011) ; (Takia et al, 2013)]. En plus de ces composés chimiques Kalla en

2012, a détecté quelques nouveaux constituants pour la première fois dans l'huile du *Pituranthos scoparius* notamment: δ - 3-carane, tricyclène, 2- β - pinène, 1-cyclohexyliden -2-methylpropenem, α -pyronene, 3,7-Guaiadiene, 8-methoxy-1,2,3,4 -tetrahydro-1- isopropyl-naphtalene, butylidene phtalide, 3-methyl-7-methoxy-2-benzopyran-1(1H)-one , Butylidene dihydro-phtalide.

En 2004, l'étude de Hamada et ses collaborateurs, a permis l'isolement de deux isocoumarines à partir de l'extrait acétate d'éthyle des racines de *Pituranthos scoparius* de la région de Biskra : 3-n-propyl-5-methoxy-6-hydroxy-isocoumarine et 3-n-propyl-5,7 dimethoxy-6-hydroxy-isocoumarine.

Les travaux de Boutaghane et al. (2004) ont montré que les huiles essentielles de cette plante présentent une activité antibactérienne vis-à-vis des souches pathogènes de référence dont *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec une CMI de 1 mg/mL et *Proteus mirabilis* avec une CMI de 2 mg/mL.

De même les travaux de Benmekhbi et al. (2008) ont montré que l'extrait butanolique de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* a une forte activité antibactérienne vis-à-vis des souches pathogènes telle qu'*Escherichia coli* ATCC25922 avec une CMI de 0,03 μ g/mL et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec une CMI de 0,125 μ g/mL.

Chapitre II

*Les différentes techniques d'extraction Et d'analyse des huiles essentielles de la plante *Deverra scoparia**

CHAPITRE II : Les différentes techniques d'extraction, d'analyse des huiles essentielles de la plante

II.1. Techniques d'extraction des constituants dans un mélange naturel

Il y a plusieurs techniques, variables, selon la partie du végétal traitée, selon sa fragilité de la plante utilisée, selon ses caractéristiques botaniques

II.1.1 Techniques de l'hydrodistillation et de l'entraînement à la vapeur

II.1.1.1 Hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode nommée pour l'extraction des huiles essentielles. elle est la plus ancienne et, également, la plus utilisée selon **Bruneton (1999)**, ce procédé consiste à immerger directement le matériel végétale à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition, les vapeurs hétérogènes condensées sur une surface froide se transforme à l'état liquide, le mélange l'huile- eau se sépare par différence de densité. Cette méthode est généralement utilisée en cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants (**kabouche et al, 1993**). La Figure II.1 illustre l'appareillage de l'hydrodistillation.

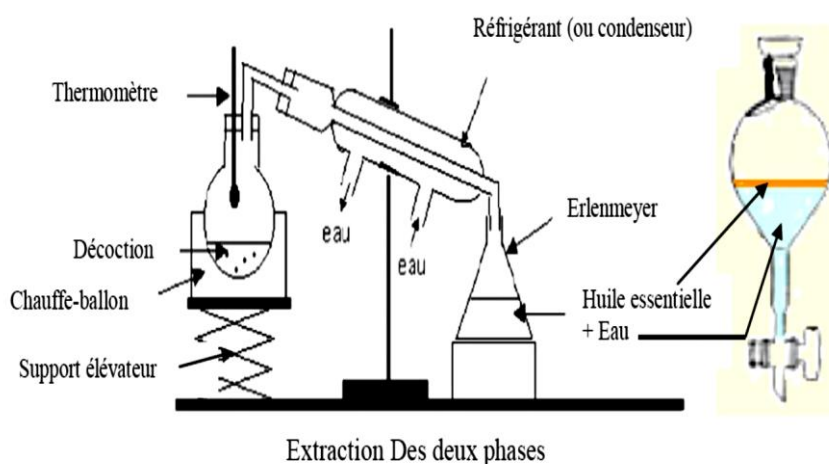


Figure II.1. Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile (**Lagunez, 2006**).

II.1.1.2. Entraînement à la vapeur

« steam distillation » à la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter (**Lahlou, 2004**). C'est la seule distillation préconisée par la Pharmacopée française, car elle minimise les altérations hydrolytiques (notamment des esters). Les plantes entières, ou broyées (lorsqu'ils'agit d'organes durs: racine, écorce), sont disposées dans un alambic traversé par un courant de vapeur d'eau

produit par la chaudière. La vapeur d'eau injectée à travers la masse végétale, disposée sur des plaques perforées, entraîne l'HE. Elle se condense ensuite dans le serpentin du réfrigérant. A la sortie de l'alambic, le vase florentin (essencier) permet de séparer l'eau de l'HE grâce à la différence de densité des deux liquides (Da Silva, 2010).

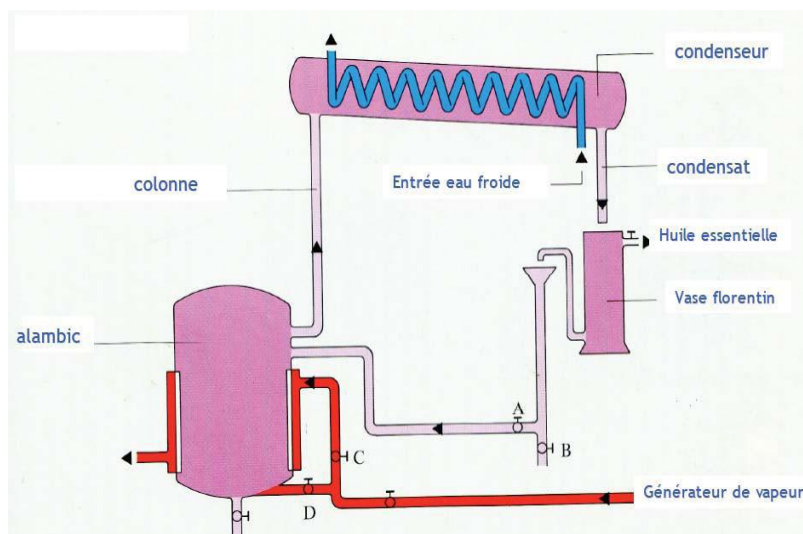


Figure II. 2. Schéma de l'appareil d'entraînement à la vapeur d'eau (Bousbia, 2011).

II.1.2. Technique d'extraction par les solvants

Elle est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée, en continu, semi-continu ou en discontinu. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui sera ensuite éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne la concrète: mélange odorant de consistance pâteuse. L'extraction de la concrète avec l'alcool conduit à l'absolue.

Le choix du solvant est effectué en tenant compte des paramètres techniques, économiques et des propriétés physico-chimiques des solvants.

Cette technique a l'avantage d'éviter les modifications et les artefacts chimiques. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone (Samate, 2002).

L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation de solvants. Un autre inconvénient majeur de l'extraction par les solvants est leur manque de sélectivité: de ce fait, de nombreuses substances lipophiles peuvent se retrouver dans les concrètes (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines, etc.) et imposer une purification ultérieure (Ouis, 2015)

II.2. Identification des constituants dans un mélange complexe

II.2.1. Analyse par des couplages « en ligne » : Voie A

II.2.1.1. Chromatographie en Phase Gazeuse et les indices de rétention

La chromatographie en phase gazeuse est un outil incontournable dans l'analyse des HE. Cette méthode permet de séparer les molécules d'un mélange et de donner la composition de l'HE ce qui permettra de déterminer son identité biochimique et son chémotype. Elle s'applique sur les composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition (Stobiecki, 2000).

Un faible volume de l'échantillon (0,2 à 5 μ l) est injecté dans l'appareil où il est transformé en gaz par la chaleur du four. Il est alors emporté par un gaz vecteur dans une colonne capillaire. C'est dans cette colonne que vont être séparées les différentes molécules en fonction de leur affinité avec la phase stationnaire. Plus un composé dispose d'affinités avec la phase stationnaire, plus il sera retenu par la colonne. Ce faisant, il disposera d'un temps de rétention plus important, sachant que le temps de rétention se définit comme l'intervalle de temps entre l'injection de l'échantillon et l'apparition du signal maximum du composant au détecteur, représenté par un pic sur le chromatogramme. Un pic est obtenu pour chaque molécule composant l'échantillon. Pour identifier ces pics, le chromatographe est couplé à d'autres instruments analytiques comme le spectromètre de masse ou la spectroscopie infrarouge. On obtient alors un chromatogramme caractéristique de chaque huile essentielle (El -HACI ,2015).

II.2.1.2. Couplage d'une technique chromatographique avec une technique spectroscopique

II.2.1.2.1. couplages CPG-SM

Le couplage CPG-SM permis simultanément la séparation et l'analyse de différents constituants d'un mélange complexe .il existe deux modes d'ionisation : ionisation par impact électronique(IE) et ionisation chimique (IC). (Ouis, 2015)

Le détecteur SM permet, via les spectres, de donner des informations sur la structure des composés d'une H.E permettant ainsi leur identification.

En sortie de colonne (partie CPG), le composé élué est bombardé par un faisceau d'électrons de haute énergie (70 e V) .la molécule s'ionise et se fragmente en différent ions. Ces ions sont séparés selon leur rapport masse/charge (m/z). Cette séparation se fait dans le quadripôle. Tout le processus se fait à vide afin d'éliminer toute les entités non chargées positivement et d'augmenter la durée de vie des ions formes. (EL-HACI, 2015).

II.3. Caractérisation des huiles essentielles

II.3.1. Propriétés physiques

Les HE sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites « fixes ». Leur densité est en grande majorité inférieure à celle de l'eau. Pour autant quelques HE font exception cette règle. C'est le cas du sassafras, du girofle et de la cannelle. Elles sont huileuses, mais non grasses et s'évaporent facilement. Chaque HE est unique et se caractérise par une odeur, une couleur, une viscosité. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Elles sont solubles dans l'alcool et dans tout type de corps gras (liposolubles). (Bruneton, 2016).

II.3.2. Composition chimique

La composition des huiles essentielles est très complexe, appartient de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par les origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (Benayad, 2008).

II.3.2.1. Terpènes

Les terpènes sont les molécules les plus répandues dans les huiles essentielles. sont des polymères de l'isoprène (2-méthylbuta-1,3-diène) répondant à la formule générale $(C_5H_8)_n$. On peut les retrouver sous formes saturées ou insaturées, linéaires ou cycliques. Ces différentes configurations confèrent à la famille des terpènes des propriétés pharmacologiques spécifiques à chaque variété. Les terpènes ont tendance à se polymériser sous l'influence de divers facteurs comme la lumière, l'atmosphère ou la chaleur. On définit alors les hémiterpènes (1 unité : C₅), les monoterpènes (2 unités : C₁₀), les sesquiterpènes (3 unités : C₁₅), les diterpènes (4 unités : C₂₀), les sesterpènes (5 unités : C₂₅), les triterpènes (6 unités : C₃₀), les carotènes (8 unités : C₄₀) et les polyisoprènes (n unités : C_{5n}). (Gherib, 2014)

II.3.2.2. Composés aromatiques

Les composés aromatiques des HE sont principalement des dérivés du phénylpropane. C₆-C₃ ont une biogénèse différente de celle des terpènes, On peut citer l'acide et l'aldéhyde cinnamique (HE de cannelle), l'eugénol (HE de girofle), le carvacrol (HE d'origan), qui sont les principaux membres de cette famille. Les acides organiques, les cétones de faible poids moléculaire et les coumarines volatiles entrent également en faible proportion dans la

constitution des HE (**El Mansouri, 2013**). Les phénylpropanoïdes sont moins réponde dans l'HE que les terpènes, néanmoins elles sont caractéristiques dans certaines huiles essentielles d'Apiaceae (anis, fenouil, persil, cannelles (eugénole, myristicine, asarones, cinnamaldéhyde)) (**Bruneton, 1999**).

Chapitre III

Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

CHAPITRE III. POUVOIR ANTIMICROBIEN DES HUILES ESSENTIELLES

Les plantes sont capables de produire des substances naturelles très diversifiées .en effet, à cote des métabolites primaire, ils accumulent des métabolites dites secondaires parmi lesquels, les huiles essentielles, très⁰²³ utilisées par l'homme dans des domaines différents. (Hadouchi et Benmansour ,2008). Ces substances naturelles ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie (pharmacologie ou l'agroalimentaire). Les huiles essentielles représentent un groupe très intéressant de ces métabolites qui sont dotés de propriétés antimicrobiennes les rendant intéressantes comme produits de remplacement des antibiotiques. (Kiram et al, 2013).

III. 1.Description des bactéries étudiés

Escherichia coli : Cette espèce appartient à la famille des Enterobacteriaceae. C'est un coccobacille, gram négatif et mobile (ciliature peritriche) (Kayser et al, 2005). C'est une bactérie aérobie ou anaérobie facultative, catalase positif et oxydase négatif (Irving et al, 2005). Elle fermente le glucose et le lactose avec production de gaz. C'est une bactérie indicatrice de contamination fécale des eaux potables et des aliments. *E. coli* est un l'agent pathogène le plus fréquemment impliqué dans les infections humaines, d'origines bactériennes (Kayser et al, 2005).

Pseudomonas aeruginosa : Cette espèce appartient à la famille des Pseudomonadaceae. Bacille (bâtonnets renflés) à Gram négatif et mobile (ciliature monotriche). C'est une bactérie aérobie, catalase positif et oxydase positif. Agent pathogène opportuniste actif, provoque des infections nosocomiales, sous forme d'infections urinaires, d'infections du sang, des plaies et de l'appareil respiratoire (Lambin et German, 1969 ; Perry et al, 2004).

Enterococcus faecalis : Cette espèce appartient à la famille des Enterococcaceae . C'est des coques (diplocoque ou chaînette), Gram positif et mobile. C'est une bactérie anaérobie facultative, catalase négatif et oxydase négatif. Flore normale du tractus gastro-intestinal, des voies génitales féminines, et de la cavité orale, entraîne des infections des voies urinaires, des plaies et des tissus mous, une endocardite en présence de valvules cardiaques déjà lésées. (Txixeira et al., 2007).

Staphylococcus aureus : Cette espèce appartient à la famille des Enterobacteriaceae . De forme sphériques (coque) et se regroupe généralement en amas, souvent qualifiés de grappes de raisin. Gram positif, immobiles. *Staphylococcus aureus* à un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif .cette bactérie possède une activité catalase mais pas oxydase. (Accaris ,2014) .Responsables d'infections graves communautaires et nosocomiales,

d'infections des plaies, de la peau et du sang, des abcès, ostéites, otites, infections urinaires, endocardites, gastro-entérites et infection pulmonaires. (**Hart et Shears, 2002; Perry et al, 2004**).

Listeria monocytogenes : Cette espèce appartient à la famille des Listeriaceae. *Listeria* est un petit bacille, Gram positif, isolé ou en chaînettes, mobile, non sporulé. Aéro-anaérobie facultatif, catalase positive sauf de rares souches, hydrolysant l'esculine, oxydase négative, *Listeria* fermente de nombreux glucides sans production de gaz. Les souches de *L. monocytogenes* sont toujours D-xylose négatives et produisent des lécithinases. (**Hirsch,2000**)

Bacillus subtilis : Cette espèce appartient à la famille des Bacillaceae. Est une Bacille à Gram positif, mobile par des cils péritriches, capsulé, en forme de bâtonnets.

C'est une bactérie aérobie pouvant se développer en anaérobiose par fermentation en présence de nitrate comme accepteur final d'électrons (**Nakano MM et AL 997**).

L'infection à *B. subtilis* survient surtout en milieu hospitalier dans le cadre d'infections nosocomiales. (**Ozkocaman V et AL, 2006**).

Bacillus cereus : Cette espèce appartient à la famille des Bacillaceae. C'est un bacille gram positif et mobile (ciliature peritriche) ou immobile, aérobie ou anaérobie facultative, résistante à la polymyxine, incapable à métaboliser mannitol. Synthèse d'une lécithinase. *B.cereus* est très répandue dans la nature et souvent isolée du sol de la poussière, ce qui favorise leur propagation dans les aliments. (**Bad Bug Book, 2012**).

III.2. antibiotiques

Un antibiotique est une substance thérapeutique qui a pour but de lutter contre des bactéries responsables d'infection. Les antibiotiques sont par définition, des produits microbiens, ou leurs dérivés, capables de neutraliser les micro-organismes sensibles ou d'inhiber leur croissance (**Prescott et al, 1995**). Leur action étant spécifique et dirigée contre les micro-organismes, ils ne sont pas toxiques pour les cellules eucaryotes.

III.2.1. antibiotiques naturels et synthétiques

Les antibiotiques sont des substances naturelles produites par des bactéries du sol ou certains champignons ; extraits de substances d'organismes vivants, leur origine est dite naturelle mais ils peuvent aussi être synthétisés de façon totale ou partielle (origine semi-synthétique). (**Ait-mouhoub ,2015**)

Les antibiotiques sont en majorité d'origine naturelle. Le premier antibiotique identifié est la pénicilline (isolée à partir de *Penicillium notatum*), antibiotique à large spectre d'activité, qui appartient à la classe des β -lactames. (Toure, 2015).

Il existe seulement trois classes d'antibiotiques synthétiques. Les sulfamides, premiers antibiotiques utilisés cliniquement, les quinolones (ou fluoroquinolones) découverts lors de la synthèse de la chloroquine (Singh et Barrett, 2006),

III.2.2. cibles bactériennes des antibiotiques

L'action des antibiotiques peut s'exercer sur des structures ou des mécanismes essentiels à la croissance ou à la survie des bactéries. Ainsi, ceux qui inhibent la croissance bactérienne sont qualifiés de « bactériostatiques » alors que ceux qui neutralisent les bactéries sont dits « bactéricides ».

Les principales cibles des antibiotiques sont la paroi cellulaire et les ribosomes bactériens. D'autres cibles sont impliquées dans les fonctions physiologiques ou métabolites, à savoir l'inhibition de la biosynthèse des acides nucléiques (ADN et ARN) et l'interférence avec les voies métaboliques de synthèse de l'ADN (Figure III.1). Des interactions spécifiques avec les cibles bactériennes des antibiotiques sont également régies par la complexité des motifs structuraux et la grande variabilité des groupements fonctionnels. Cette spécificité se trouve engagée dans les processus de la sélection de bactéries résistantes aux antibiotiques (Toure, 2015).

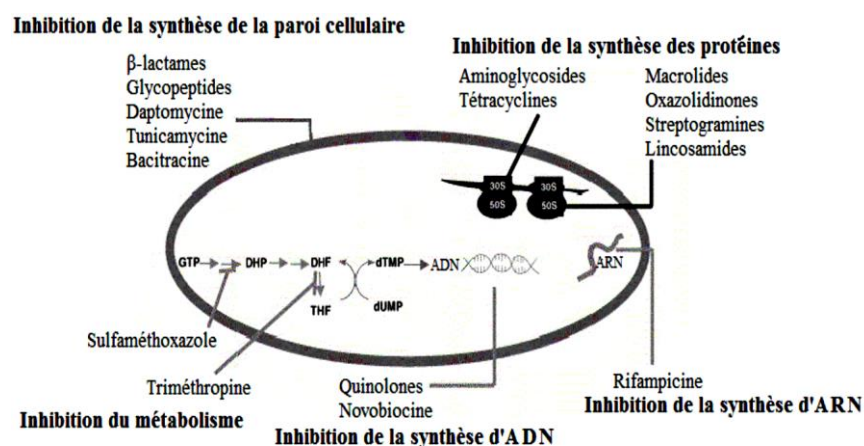


Figure III. 1. Mode d'action des antibiotiques (Singh et Barrett, 2006).

Avec DHP: dihydroptéroate ; DHF: dihydrofolate ; THF: tétrahydrofolate

III.3. résistance aux antibiotiques

Confrontées aux antibiotiques, les bactéries ont élaboré plusieurs stratégies. Les bactéries s'opposent à l'action des antibiotiques par des barrières qui limitent leurs accès. (Sahli, 2017)

La résistance bactérienne est retenue lorsqu'un antibiotique perd sa capacité à inhiber efficacement la croissance bactérienne. Autrement dit, les bactéries continuent de se multiplier en présence de concentrations thérapeutiques d'antibiotiques (Bush et Schmidt, 2018). La résistance d'une bactérie aux antibiotiques est soit naturelle soit acquise. (Trémolières et al, 2006)

III.3.1. résistance naturelle

La résistance naturelle d'une bactérie à un antibiotique se définit par la présence d'une résistance existante chez tous les membres d'une même espèce ou d'un même genre. Cette résistance naturelle est liée à un patrimoine génétique (Jehl et al, 2012)

III.3.2. résistance acquise

La résistance acquise atteint des souches au sein d'une espèce normalement sensible. Une souche devient résistante lorsqu'elle peut se multiplier en présence d'une concentration d'antibiotique plus élevée que la concentration qui inhibe les souches normalement sensibles de la bactérie. Cela résulte d'une modification du patrimoine génétique de la bactérie par mutation ou par acquisition d'ADN étranger. (Jehl et al, 2012).

Cette résistance peut être acquise par mutation ou par transfert de gènes (Toure, 2015).

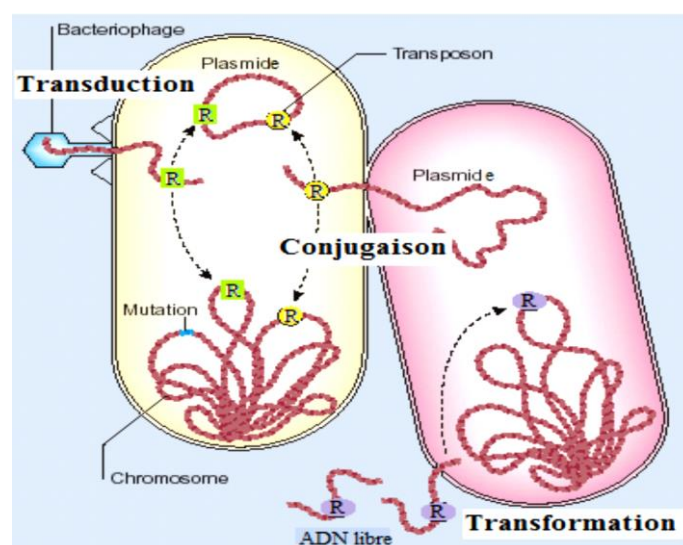


Figure III. 2. Différents modes d'acquisition des gènes de résistance (R) aux antibiotiques chez les bactéries (Levy et Marshall, 2004).

III.4. mécanismes de résistance :

Un antibiotique agit du fait de son affinité pour une cible vitale pour la bactérie. Sa fixation spécifique inhibe le fonctionnement de cette cible qui est en général une enzyme ou une structure clé impliquée dans la synthèse de la paroi, les acides nucléiques, des protéines ou de la membrane cytoplasmique. Il en existe **3** modes de résistance:

- ✓ La modification de la cible: la cible de l'antibiotique est modifiée et l'antibiotique ne peut plus s'y fixer.
- ✓ L'inactivation enzymatique: l'antibiotique est modifié par la production d'une enzyme bactérienne et ne reconnaît plus sa cible.
- ✓ L'imperméabilité: c'est la diminution de la pénétration et l'efflux actif par des pompes plus ou moins spécifiques. (Valcourt, 2016)

III.5. Stratégies moléculaires de lutte contre la résistance

Au vu de la propagation du phénomène de résistance et du nombre limité d'antibiotiques en cours de développement, la découverte de nouveaux agents antibactériens, est devenue plus qu'indispensable. . Les pistes de recherche sont nombreuses mais l'exploration des ressources naturelles apparaît comme des plus prometteuses car celles-ci constituent, de par leur biodiversité, la plus grande réserve de substances actives. (El amri et al, 2014)

Deux grandes stratégies recourant aux progrès récents de la modélisation moléculaire, de la biologie moléculaire de la génomique et de la protéomique, se désignent dans le domaine de recherche (Guinoiseau ,2010.)

- La plus originale se base sur l'identification de nouvelles cibles bactériennes, en vue de développer des agents susceptibles d'inhiber les mécanismes de résistance ou d'interférer avec la virulence bactérienne
- La recherche d'agent antimicrobien, capable d'agir par de nouveau mécanisme d'action. (Schmidt ,2017)

III.6. huiles essentielles

III.6.1. Définition

les huiles essentielles connues aussi sous le nom d'essences ou d'huiles éthérées ; les huiles essentielles désignent un ensemble de substances volatiles tout à fait caractéristiques que l'on extrait de certains végétaux , dits aromatiques , soit par entraînement à la vapeur

d'eau ,soit par distillation sèche ,soit par expression , par incision de la plante , ou bien parfois par séparation a l'aide de solvant , soit encore par adsorption sur les graisses (enfleurages). (**Maarouf et Templin, 2009**). Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ses composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante et au fait qu'elles soient inflammables. (**Bruneton ,1999**).

III.6.2. activités biologiques des huiles essentielles

Les effets biologiques bénéfiques de ces mélanges sont connus depuis la nuit des temps. Les recherches récentes ont approuvé l'utilisation des huiles à des fins thérapeutiques. (**El hachi ,2015**). Les plantes aromatiques possèdent plusieurs activités biologiques, parmi lesquelles on peut citer les activités Fongicide, Insecticide, Herbicide, Bactéricide. Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, antioxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses. L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires. (**Lahlou, 2004**)

Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (**Daroui-Mokaddem, 2012**).

III.6.3. activités antibactériennes des huiles essentielles

Les HEs ont un effet sur la croissance des bactéries. Elles agissent en empêchant leur multiplication, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines antimicrobienne est le résultat de groupes fonctionnels présents dans les métabolites et de leurs synergies. Les plus actifs de ces groupes fonctionnels sont les : phénols > aldéhydes> cétones > alcools > éthers > hydrocarbures (**Fernandez et Chemat, 2012**). Ces dernières attirent actuellement beaucoup d'attention parce qu'elles ont montré une activité contre les pathogènes résistants aux antibiotiques, tels que les staphylocoques dorés résistants à la méticilline (SARM), les β -Lactamases à spectre élargi (BLSE) et les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) (**Tohidpour et al. 2010 ;**).

III.6.4. Mode d'action des huiles essentielles sur les microorganismes

III.6.4.1. Mode d'action antibactérien

Compte-tenu de la diversité des molécules présentes dans les HEs, l'activité antibactérienne semble résulter d'une combinaison de plusieurs modes d'action, impliquant différentes cibles cellulaires (figure 2). D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases

- Attaque de la paroi bactérienne, ce qui provoque une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule provoquant la coagulation des constituants cellulaires par la dénaturation des protéines, ce qui bloque la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;
- Destruction du matériel génétique, ce qui cause la mort de la bactérie (**Fernandez et Chemat, 2012**).

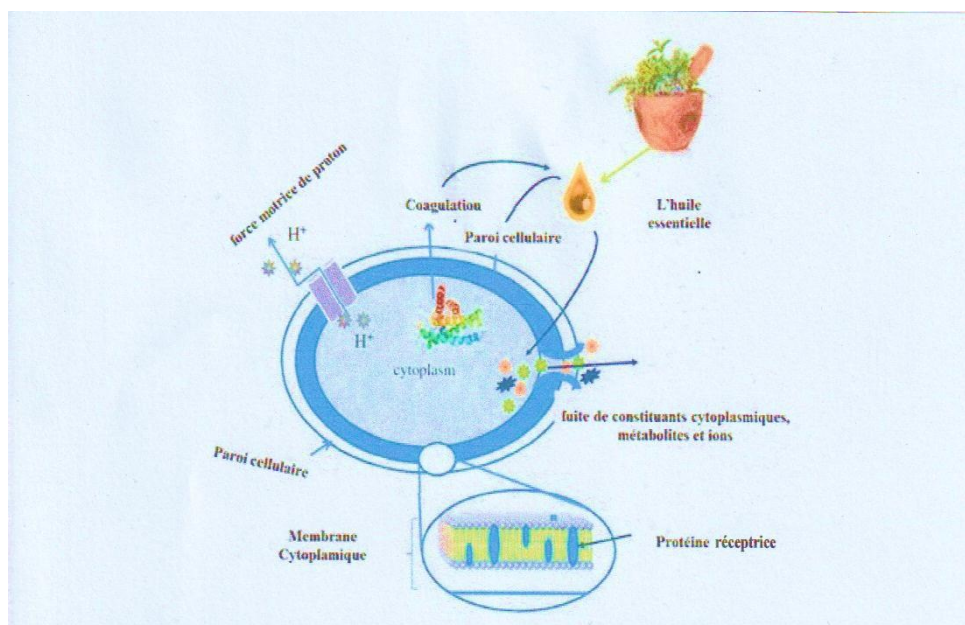


Figure III. 3. Mécanisme d'Action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne. (Liet et al, 2014)

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE IV. MATERIEL ET METHODES

L'Algérie, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques y pousse spontanément. L'intérêt porté à ces plantes n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années.

A cet effet, on s'est intéressé à l'espèce *Deverra scoparia* de la région de Naama (Sfissifa) et il est important de définir son identité, connaître la composition chimique des huiles essentielles et de déterminer leurs activités antibactérienne.

IV.1. Matériel végétal et extraction des huiles essentielles

IV.1.1. Matériel végétal

IV.1.1.1. Récolte de matériel végétal

La plante *Deverra scoparia* a été cueillie en période de floraison au mois d'Octobre 2019 dans la région de (SFISSIFA). La plante est utilisée traditionnellement dans la région de Naama (Sfissifa). La plante a été identifiée au sein du centre universitaire Salhi Ahmed de Naama par le professeur Maarouf A. Nous avons utilisé la partie aérienne (feuilles et fleurs)

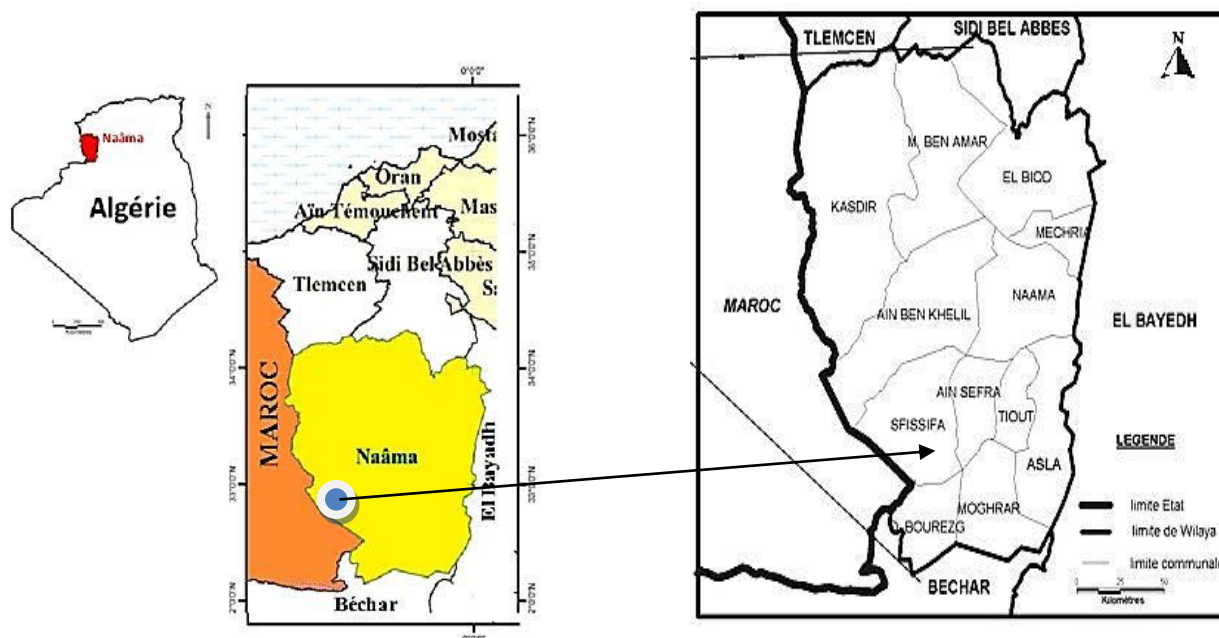


Figure IV.1. Situation géographique de lieu de récolte de la plante étudiée.

IV.1.1.2. préparation de l'échantillon

Le matériel végétal (partie aérienne) ainsi récolté a été trié ensuite séché à l'abri de la lumière. Une fois séché il a été broyé enfin hydrodistillé pour extraire l'huile essentielle.



Figure IV. 2. Photo de la plante de *Deverra scoparia*.

IV.1.2. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

La distillation est la méthode la plus utilisée pour l'obtention des composés d'arômes volatiles. Nous avons utilisé la méthode d'hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger pour l'extraction des huiles essentielles de notre plante.

Le temps d'extraction est de trois heures. Le rendement des huiles essentielles est déterminé par le rapport entre la masse d'huile essentielle et la masse végétale sèche à traiter (Gherib, 2014).

IV.1.2. 1. Mode opératoire

Des quantités de 100g de matière végétal séchée ensuite broyée sont mises dans un ballon imprégné de 500ml d'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition (95° c) 3 heures.

Après installation et fermeture du montage, la mise en marche de la chauffe ballon est effectuée avec un réglage optimum du chauffage pour permettre une stabilité de l'extraction à une vitesse constante et bien maîtrisée.

Les vapeurs chargés d'huiles, en traversant un réfrigérant se condensent et chute dans une ampoule à décanté, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité et de couleur. (Rafaa et Saidi, 2007).



Figure IV. 3. *Montage de Clevenger.*

IV.1.2. 2. Conservation des huiles essentielles

Pour éviter leur dégradation, due à l'action de l'air ou de la lumière, nous avons conservé et stockés les HE dans un tube en verre stérile et bien enveloppée par du papier aluminium et garder à la réfrigération à (4°C) à l'abri de la lumière (**Rafaa et Saidi, 2007**).

IV.1.3. Rendements en huile essentielles des différentes parties

Selon la norme **AFNOR (1986)**, le rendement en huile essentielle (RHE), est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction (MHE) et la masse de la matière végétale utilisée (MS).

Il est donné par la formule suivante : $RHE (\%) = MHE/MS.100$

RHE: rendement de l'huile essentielle %.

MHE: masse de l'huile essentielle obtenue en gramme.

Ms: masse en gramme de la matière végétale sèche.

IV.2. Analyse des huiles essentielles

L'analyse des huiles essentielles de la plante par CPG-SM est effectuée au laboratoire Centre de Recherche Technique et Scientifique en Analyses Physico-chimiques **CRAPC**

Des analyses par GC-MS (chromatographie en phase gazeuse (BrukerScion SQ) couplée à la spectrométrie de masse) ont été effectuées avec un instrument Fisons GC 8000, équipé d'un détecteur sélectif de masse avec analyseur quadripolaire, MD 800. L'énergie d'ionisation des électrons était de 70 eV, température de la source ionique 200 ° C et la température d'interface 280 ° C.

Une injection divisée - sans division (rapport de division 1: 100) à une température d'injecteur de 250 ° C a été utilisée. Une colonne de silice fondue à 5% de phényl-polydiméthyl-siloxane (DB-5 MS 25 m x 0,220 mm i.d. et 0,25 µm d'épaisseur de film) a été utilisée.

La température du four a été programmée comme suit : de 50 ° C (10 min de maintien) élevée à 2 ° C / min à 250 ° C (15 min de maintien). Un échantillon de 0,2 µl a été injecté. L'acquisition des données a été réalisée avec le logiciel Mass Lab pour les gammes de masse 35 - 600 u avec une vitesse de balayage de 1 balayage / s.

IV.2.1. Identification des constituants

Les différents constituants des huiles essentielles ont été identifiés par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des composés des bases de données internes (HP chemstation Wily 07et Nist 02) du spectromètre de masse CPG/SM et ceux de la base de données spectrales externe Nist 02.

Deux logiciels d'aide ont été utilisés : - Agilent GC-MSD ChemStation , logiciel intégré à l'appareil. - AMDIS 32, logiciel intégré à la banque de spectres externe (NIST/EPA/NIH MASS SPECTRAL LIBRARY (NIST 02)).

Les indices de rétention des composés ont été calculés à partir des temps de rétention d'une gamme étalon d'alcane (C8-C28), en programmation de température sur une colonne apolaire 5HPMS à partir de la relation suivante :

$$KI= 100 (Z+ (Tr_{1x}+Tr_{2z}))/((Tr_{1z+1} - Tr_{1z}))$$

KI : l'indice de rétention d'un composé (x) inconnu. Z : le nombre d'atomes de carbone de l'alcane qui précède le composé (x) sur le chromatogramme. tr,z : le temps de rétention de l'alcane qui précède le composé (x). tr,z+1 : le temps de rétention de l'alcane qui vient après le composé (x) sur le chromatogramme.

Les indices ont été ensuite comparés avec ceux de produits de référence décrits dans la littérature. Bien que la majorité des composés soient identifiés par les banques internes ; on précise que les spectres de référence ainsi que toutes les intensités données dans ce mémoire sont fournis par la banque externe.

Nous signalons que cela engendre quelques fois des différences entre les deux spectres. Dans le cas des composés qui apparaissent dans les deux chromatogrammes, on donne seulement les intensités d'un seul spectre de masse.

Le logiciel fourni seulement les intensités des 10 pics les plus intenses bien que d'autres pics significatifs peuvent exister à faibles intensités

IV.3. Etude du pouvoir antibactérien des huiles essentielles

L'une des premières mises en évidences *in vitro* de l'activité antibactérienne des huiles essentielles date de la fin du XIX^{ème} siècle, lorsque Buchholtz a étudié la croissance des propriétés inhibitrices de l'huile des graines de carvi et de l'huile de thym en 1875.

Toutefois, il aura fallu attendre le début du XX^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser.

Dès lors, plusieurs recherches ont démontré le pouvoir antimicrobien de certaines essences sur une large palette de micro-organismes, y compris sur des bactéries résistantes aux antibiotiques. (Ouibrahim, 2015).

IV.3.1 .Origine et choix des souches bactériennes

Les souches pathogènes utilisées sont présentes dans le Tableau IV.1. Elles sont choisies parmi ceux qui causent les maladies pathogènes à émergence. Fournis par le laboratoire de Microbiologie département des Sciences de la Nature et de la Vie Centre universitaire Salhi Ahmed Naama.

Tableau IV. 1. *Souches bactériennes testées.*

	Espèces	Références
Bactéries à Gram -	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25912
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Non référencé
Bactéries à Gram+	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 49452
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
	<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 15313
	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 21332
	<i>Bacillus cerus</i>	ATCC 10876

IV.3.2. Etude qualitative de l'activité antibactérienne (Méthode de diffusion sur disque)

Afin de tester l'activité antibactérienne de nos huiles. Nous avons fait appel à la méthode de diffusion sur disque solide (l'aromatogramme).

IV.3.2.1. Principe

Le principe de l'aromatogramme est inspiré de l'antibiogramme, vieille méthode mais d'actualité puisqu'elle est encore utilisée fréquemment dans les laboratoires de bactériologie pour la mesure du pouvoir antibactérien des antibiotiques de synthèse.

Elle consiste à tester la sensibilité des souches bactériennes par la diffusion de HE sur le milieu solide dans une boîte de Pétri. (Ouibrahim, 2015).

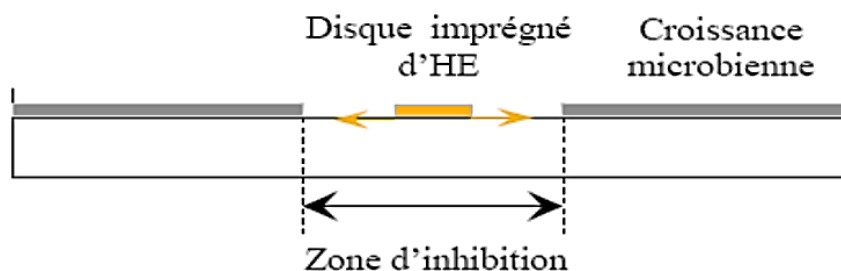


Figure IV. 4. Schéma simplifié du principe de la méthode des aromatogrammes (Smith et Navilliat, 1997).

L'étude de l'activité antibactérienne vis-à-vis de 7 souches bactérienne de références est réalisée comme suite :

- Nous avons utilisé :
 - Pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes, la gélose nutritive.
 - Pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et à l'huile essentielle, la gélose Muller Hinton.
 - les antibiotiques disponibles au laboratoire de Biochimie: Amoxicilline (AML2), Pénicilline (P1), Vancomycine (VA).

IV.3.2.2. Conservation des souches :

Les souches bactériennes ont été conservées à 5C° dans des tubes stériles contenant 10ml de gélose nutritive incliné.

IV.3.2.3. Préparation de l'inoculum :

IV.3.2.3.1. Préparation de la pré-culture :

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes en phase de croissance exponentielle.

L'enrichissement des cultures est effectuée par repiquage à la surface de la gélose nutritive pré coulée en boîte de Pétri ensuite incubée à 37C° pendant 18 à 24h.

IV.3.2.3.2.Préparation de la suspension bactérienne :

Dans de l'eau physiologique stérile, 3 à 5 colonies similaires bien isolées sont déchargées. Après homogénéisation de la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex, la standardisation à 10^6 UFC/ml a été réalisée par spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620 nm. La densité optique obtenue doit être comprise entre 0,08 et 0,1 ce qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 UFC/ml selon Mc Ferland. (**Haddouchi et al, 2008**)

IV.3.2.4. Ensemencement et incubation

Après avoir ensemencé en surface en nappe les boites de Pétri contenant la gélose MH (Mueller Hinton) avec 1 ml d'une suspension bactérienne de 18 à 24 h. Des disques stériles en cellulose de 6 mm de diamètre sont déposés sur la surface de la gélose, imprégnés d'un mélange de 15 μ l d'HE des feuilles ou bien des fleurs de *Deverra scoparia* avec 5 μ l de DMSO. Les cultures sont incubées pendant 24 heures à la température de croissance des bactéries cible 37 °c.

En parallèle, un antibiogramme est effectué pour chaque souche bactérienne étudiée vis-à-vis trois antibiotiques; (Amoxicilline (AML2), Pénicilline (P1), Vancomycine (VA) et un témoin négatif imbibé par DMSO (20ul). (**Gherib ,2014**)

IV.3.2.5. La lecture

Les résultats se sont réalisés par la mesure du diamètre en (mm) de la zone claire autour des disques, appelée : zone d'inhibition. L'apparition et l'importance du diamètre de la zone d'inhibition reflète l'impact des HE sur les souches bactériennes. Ainsi, ces dernières seront qualifiées de sensibles ou très sensibles, ou résistantes.

L'estimation de l'activité antibactérienne des HE est basée sur une échelle de mesure mise en place par **BOUHARB et al (2014)**. Ces derniers ont classé le pouvoir antibactérien, en fonction des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne, en 04 classes :

- $\emptyset < 8$ mm : huile essentielle (HE) sans action inhibitrice (-)
- $14 > \emptyset > 9$ mm : HE à une action inhibitrice intermédiaire (+)
- $19 > \emptyset > 15$ mm : HE à une action inhibitrice importante (++)
- $\emptyset > 20$ mm : HE à une action inhibitrice très efficace (+++).

Chapitre V
Résultats et discussion

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSION

V.1. Rendements en huiles essentielles

Les huiles essentielles des parties aériennes fleurs et feuilles de cette espèce végétale sont obtenues par hydrodistillation. Les rendements sont calculés par rapport à la matière végétale sèche et représentés dans le tableau V.1.

Tableau V. 1. Rendements en huiles essentielles de *Deverra scoparia* des fleurs et feuilles (%).

Partie de la plante	Rendement	Période
Fleurs	1,4 %	Octobre 2019
Feuilles	0,23 %	Octobre 2019

L'étude de **Lograda et al, (2013)** qui ont travaillé sur les feuilles de *Deverra scoparia* des régions (Boussâada (M'sila), T'Kout (Batna), ElKantra et Mechouneche (Biskra), l'HE des fleurs de couleur jaune vert avec une odeur forte a donné pour les quatre populations un rendement de **0.93%** inférieur à ce que nous avons obtenue.

L'étude de **Kiram et al, (2013)**, l'hydrodistillation des parties aériennes de *Deverra scoparia* de la région de Biskra (Méchoneche et El-kantra) a fourni un rendement moyen en huile essentielle de **0,25%**.

Hammoudi ,(2015) pour les parties aériennes de la plante *Deverra scoparia* d'Oued TASSENA (10 km de Tamanrasset ville), a obtenu un rendement de **0.55%**, la population de Elkantra **2.29%** et pour T'kout **0.47%**.

Nous avons observé que les rendements des HE varient considérablement entre les différentes études. Ces variations sont le résultat de différents facteurs notamment les facteurs climatiques (chaleur, froid, stress hydrique...).

Plusieurs chercheurs ont montré que le rendement d'extraction des HE varie en fonction de l'origine de la plante. Une étude réalisée dans la région sud de la Tunisie a montré que le rendement en huile essentielle varie selon l'origine de la plante. Le deuxième paramètre considéré était le mois de la récolte.

D'autres études avaient montré, d'une part, l'influence de la technique d'extraction et, d'autre part, l'influence du cycle végétatif sur le rendement et la qualité d'HE. Le temps de séchage de la plante influe également sur le rendement en HE. (**Demarne, 1985 ; Boukhatem et al, 2010 ; Michel, 2011; Abdallah et Ezzat, 2011; Hammoudi, 2015**)

V.2. Caractérisation des huiles essentielles

V.2.1. Caractérisation organoleptique

L'huile essentielle est caractérisée par ces caractères organoleptiques tels que : l'aspect physique, l'odeur et la couleur (**Maarouf et Tremplin, 2009**).

Les huiles essentielles extraites à partir des feuilles de *Deverra scoparia* et fleurs provenant de la région de Sfissifa présentent les caractéristiques regroupés dans le tableau V.2.

Tableau V.2. *Caractéristiques des huiles essentielles.*

Partie	Couleur	Odeur	Aspect
Les feuilles	Légèrement jaune	Forte odeur	Liquide
Les fleurs	Jaune de champagne	Forte odeur	Liquide

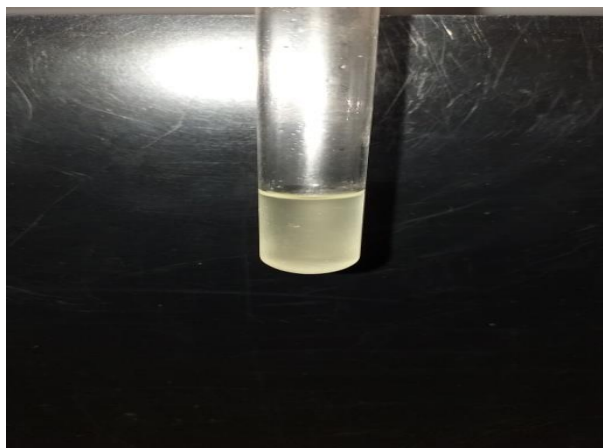


Figure V.1. *Aspect d'huile essentielle des fleurs.*



Figure V.2. *Aspect d'huile essentielle des feuilles.*

V.2.2. Analyse des huiles essentielles

Les différents constituants des huiles essentielles ont été identifiés par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des composés des bases de données internes (HP Chemstation Nist 02 et Wiley 07) du logiciel d'identification Aligent GC-MSD Chemstation. Diverses confirmations ont été obtenues par comparaison des indices de rétention des composés (calculés à partir des temps de rétention d'une gamme étalon d'alcane (C8–C28)) avec ceux connus dans la littérature.

La série d'alcane a été injectée sur le même type de colonne et dans les conditions opératoires, déjà précitées ci-dessus.

V.2.2.1. Analyse détaillée de l'huiles essentielles

L'huile essentielle a été analysée par GC / SM avec colonne apolaire tableau V.4. Au total, quarante-quatre composés ont été identifiés dans l'huile de feuilles de *D. scoparia*, représentant 95,22% de la composition totale. La composition était dominée par les hydrocarbures monoterpéniques (71,40%) suivis par les hydrocarbures sesquiterpéniques (8,86%). Les principaux composants étaient l' α -pinène (32,78%), le β -pinène (15,11%) et le D limonène (11,02%). Divers monoterpènes oxygénés étaient présents en quantités appréciables: cis-verbénol (2,11%), isopinocarveol (1,26%) et α -campholénal (1,01%). Les hydrocarbures sesquiterpéniques comprenaient le δ -cadinène (2,18%), le γ -muurolène (1,66%) et le β -caryophyllène (1,22%). (Figure V.3.)

Au total, trente-trois composés ont été identifiés dans l'huile essentielle des fleurs, représentant (95,72%) de l'ensemble de la composition, dominée par les hydrocarbures monoterpéniques (53,48%) puis les monoterpènes oxygénés (40,61%). Les principaux composants étaient le méthyleugénol (34,17%), α -pinène (19,13%) et D limonène (17,31%). (Figure V.4.)

On remarque que le chémotype de l'huile essentielle des fleurs est différent de celui des feuilles de *D scoparia* de la province de Naama.

Le chémotype de l'huile essentielle des feuilles est identique à celui trouvé dans plusieurs régions Msila, Djelfa, Laghouat, Ghardaia, **Gourine et al (2001)** dominé par l' α -pinène par contre le chémotype de l'huile essentielle de nos fleurs (méthyle eugenol 34,%) est différent de celui trouvé par **Hammiche Victoria et Khadra Maiza (2006)**. au Sahara central (Tassili N'ajjer)

Les principaux constituants de l'huile essentielle de fleurs étaient la myristicine (24,1%), l' α -pinène (17,4%), l' α -phellandrène (15,6%) et le sabinène (7,5%) et par **Adel benarfa 2020**

dans la région de Djelfa (α -pinène (42,32% - 25,58%), Ghardaïa (p-cymène 44,22%) et Laghouat (α -pinène 18-53%),

Très récemment un ouvrage publié sur la variabilité de la composition chimique des parties aériennes de cette plante collectées dans différentes régions d'Algérie «Ghardaïa, Biskra, Batna et Béchar».

La composition du groupe I (36 échantillons) présentait une composition atypique caractérisée par une très forte teneur en 6-méthoxyélémicine (13,0 - 59,6%), suivie de sabinène (1,1 - 43,0%) et de limonène (6,6 - 39,0%), tandis que les échantillons du groupe II (12 échantillons) contenaient une teneur élevée en limonène (9,2 - 44,0%), suivie de myristicine (0,0 - 29,4%) et une quantité inférieure de sabinène (0,8 - 2,3%). **Malti et al, (2018).**

Tableau V.3. Composants de l'huile essentielle de *D. scoparia* (Fleurs et feuilles) de la province de Naama (Algérie occidentale).

N°°	Composants	RI	Feuilles		Fleurs	
			RT (min)	Area %	RT (min)	Area %
1	α -thujene	925	7,138	0,94	7,165	0,9
2	Apinene	932	7,711	32,78	7,621	19,13
3	Camphene	940	8,249	0,65	8,254	1,36
4	Thuja-2,4(10)-Diene	944	8,629	0,49	-----	-----
5	β-Pinene	967	10,363	15,11	10,246	5,44
6	β-Myrcene	987	11,944	2,98	12,014	4,77
7	α -Phellandrene	998	12,750	0,33	12,775	1,16
8	3-Carene	1003	13,278	0,09	13,313	0,23
9	α -terpinene	1010	14,054	0,04	-----	-----
10	Para-cymene	1018	14,996	1,54	15,045	0,47
11	D Limonene	1024	15,721	11,02	15,861	17,31
12	trans-β-Ocimene	1037	17,187	2,29	17,138	0,19
13	β-Ocimene	1046	18,246	2,61	18,218	1,1
14	γ -Terpinene	1051	18,854	0,26	18,902	1,42
15	cis-p-Mentha-2,8-dien-1-ol	1105	24,910	0,04	24,905	0,01
16	α -Campholenal	1108	25,164	1,01	25,153	0,01
17	Isopinocarveol	1121	26,169	1,26	26,105	0,01
18	Verbenol	1128	26,645	0,61	-----	-----
19	cis-Verbenol	1133	27,081	2,11	-----	-----
20	Pinocarvone	1147	28,106	0,5	-----	-----
21	Terpinen-4-ol	1166	29,613	0,62	1166	0,13

22	Myrtenal	1183	30,887	0,98	30,871	0,04
23	Myrtenol	1189	31,318	0,85	31,277	0,01
24	D Verbenone	1198	32,023	0,36	32,017	0,08
25	Carvone	1237	34,808	0,18	-----	-----
26	Bornyl acetate	1285	38,189	0,13	38,175	6,15
27	α-Cubebene	1345	42,378	0,04	-----	-----
28	α -Copaene	1368	43,990	1,22	43,955	0,07
29	Methyl Eugenol	1403	46,428	0,27	46,452	34,17
30	β -caryophyllene	1406	46,651	1,22	-----	-----
31	trans- α -Bergamotene	1429	48,050	0,03	-----	-----
32	Humulene	1441	48,749	0,24	48,833	0,06
33	cis- β -Farnesene	1457	49,702	0,46	49,719	0,03
34	γ -Muurolene	1471	50,569	1,66	50,581	0,14
35	Germacrene-D	1475	50,822	1,08	50,824	0,07
36	α -Farnesene	1508	52,821	0,59	52,794	0,06
37	δ-Cadinene	1517	53,353	2,18	53,250	0,45
38	β -Guaiene	1524	53,728	0,03	-----	-----
39	α -Calacorene	1532	54,235	0,11	-----	-----
40	Caryophyllene oxide	1570	56,436	1,46	56,401	0,27
41	n.i	1595	57,896	1,17	57,902	0,01
42	n.i	1601	58,266	0,13	-----	-----
43	n.i	1620	59,183	0,14	59,179	0,01
44	tau.-Muurolol	1650	60,090	2,8	59,979	0,3
45	β -Eudesmol	1682	60,278	0,32	60,212	0,15
46	α -Cadinol	1697	60,658	0,29	61,282	0,01
	Monoterpene hydrocarbons			71,4 %		53,48 %
	Oxygenated monoterpenes			8,65 %		40,61%
	Sesquiterpene hydrocarbons			8,86 %		0,88 %
	Oxygenated sesquiterpene			3,52 %		0,73 %
	Identification totale			95,22 %		95,72 %

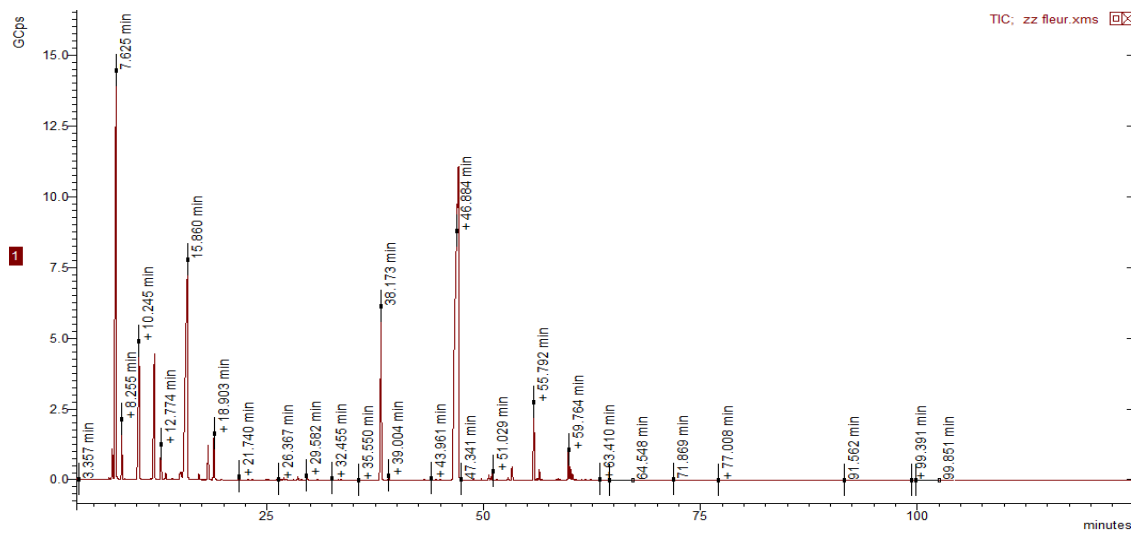


Figure V.3. Chromatogramme d'huile essentielle de fleurs de *D. scoparia*.

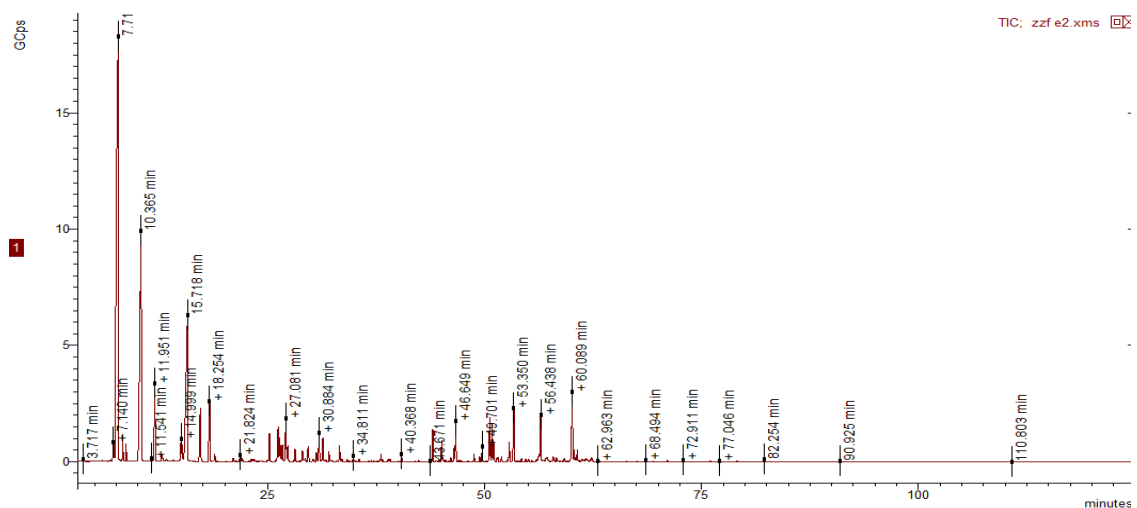


Figure V.4. Chromatogramme d'huile essentielle de feuilles de *D. scoparia*.

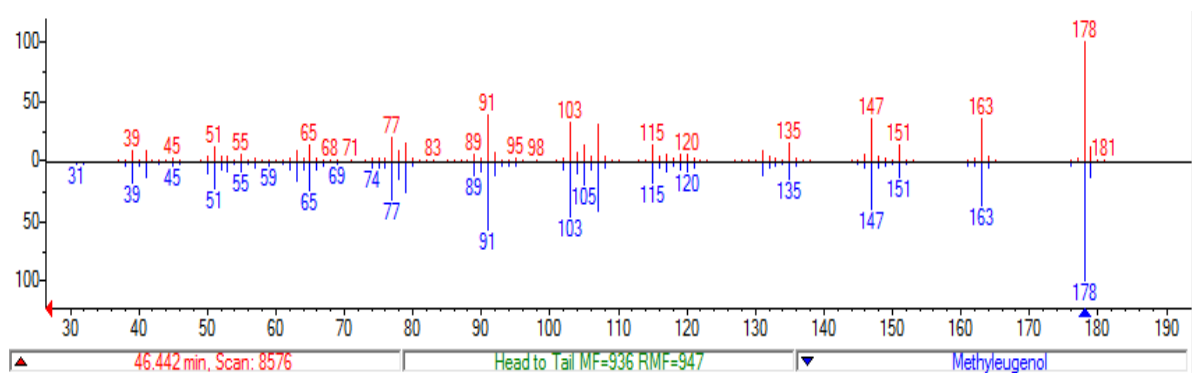


Figure V. 5 Spectre de masse de l'échantillon inconnu au temps $TR = 46,442$ mm (Fleurs de *D.scoparia*) et celui du méthyl eugénol (spectres de masse avec des données d'Adams, US National Institute of Standards and Technology (NIST, USA), (WILEY 1996 Ed)

V.3. Evaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

V.3.1. Détermination de l'activité antibactérienne

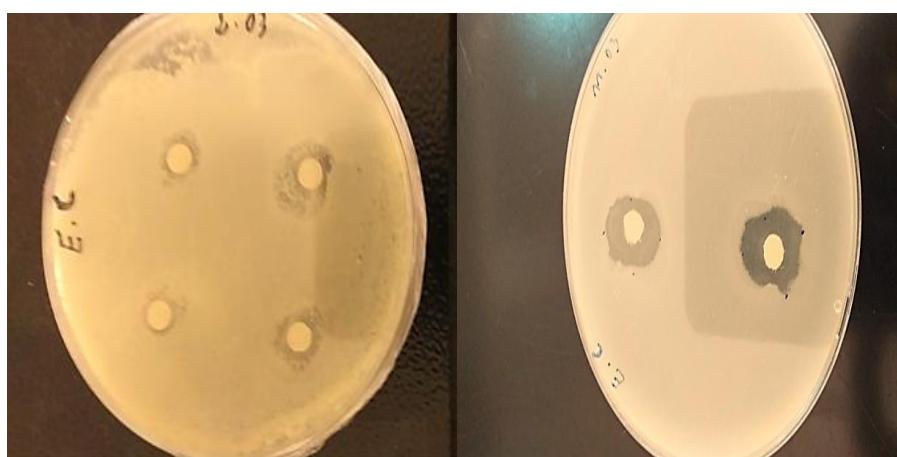
L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été estimée qualitativement sur 7 souches bactériennes par la technique de diffusion sur milieu solide.

Nos résultats expérimentaux sont présentés dans le tableau V.4. Et les figures V.6, V.7. Nous avons testé l'antibiorésistance de chaque souche bactérienne vis-à-vis de trois antibiotiques : pénicilline, amoxicilline et vancomycine.

Le DMSO utilisé pour la dissolution des HEs n'a pas montré un effet antibactérien sur les souches testées.

Tableau V. 4. Diamètres des zones d'inhibitions (mm) d'un extrait d'huile Essentiel des feuilles et des fleurs du *Deverra scoparia* vis-à-vis des souches bactériennes testées.

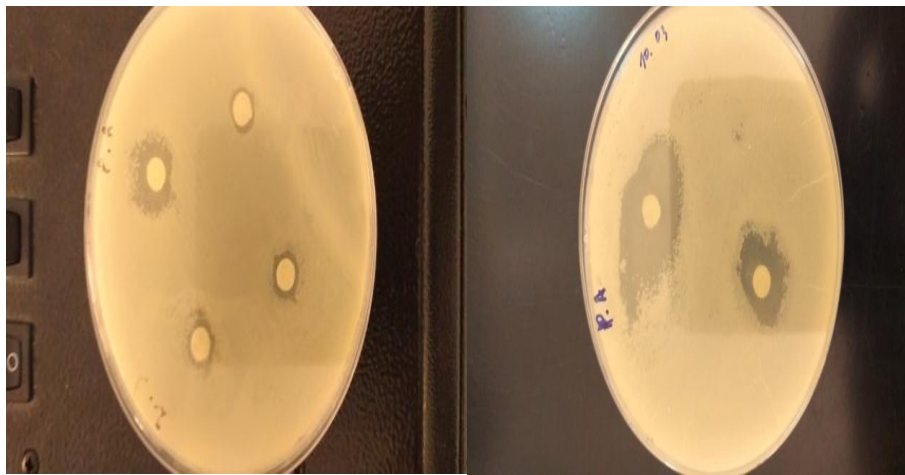
Extrait Huile Essentiels	Diamètres des zones d'inhibitions (mm)							DMSO
	Bacteries Gram (-)		Bacteries Gram (+)					
	<i>E. Coli</i>	<i>P. Aerugenosa</i>	<i>E. Fecalis</i>	<i>L.monocytogene</i>	<i>B. Subtilis</i>	<i>B. Cereus</i>	<i>S.Aureus</i>	
Feuille	15.75±0.53	28±0.00	20.25±0.17	16.25±0.17	06±0.00	7.25±0.17	27.25±0.17	06
Fleure	11.08±0.88	9.33±062	7.5±0.00	11.91±0.62	7.41±0.62	7.66±0.14	11.33±0.52	06



(A)

(B)

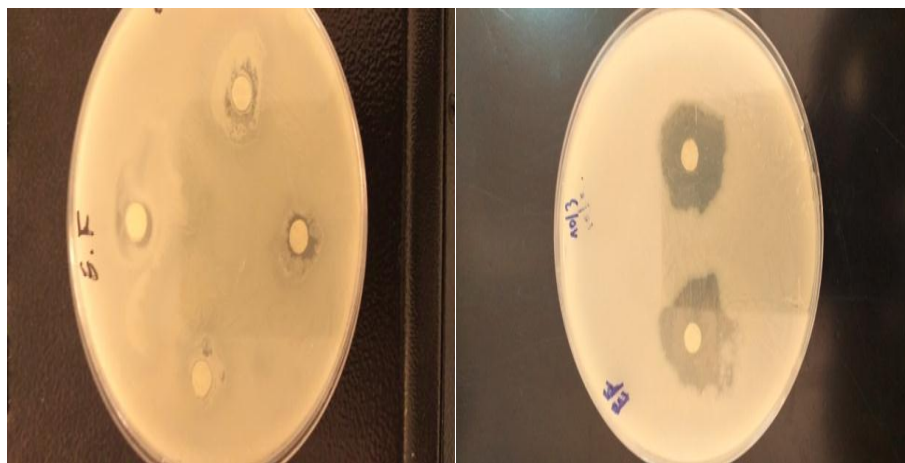
Escherichia coli



(A)

(B)

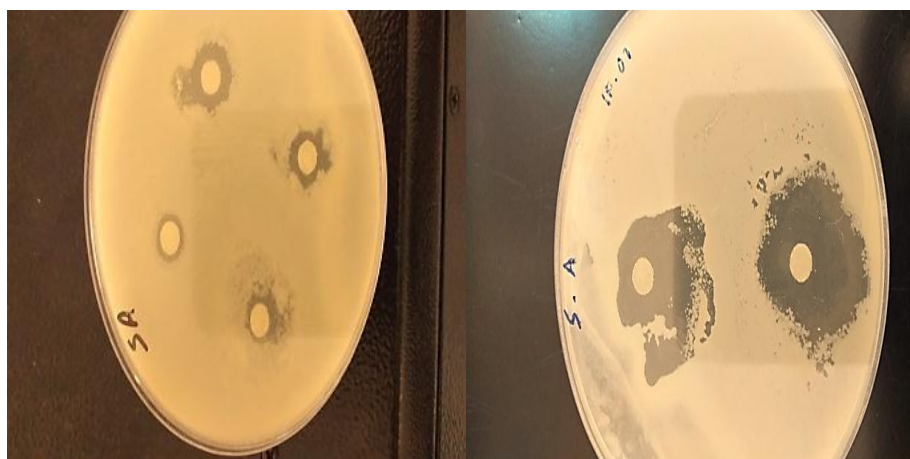
Pseudomonas aeruginosa.



(A)

(B)

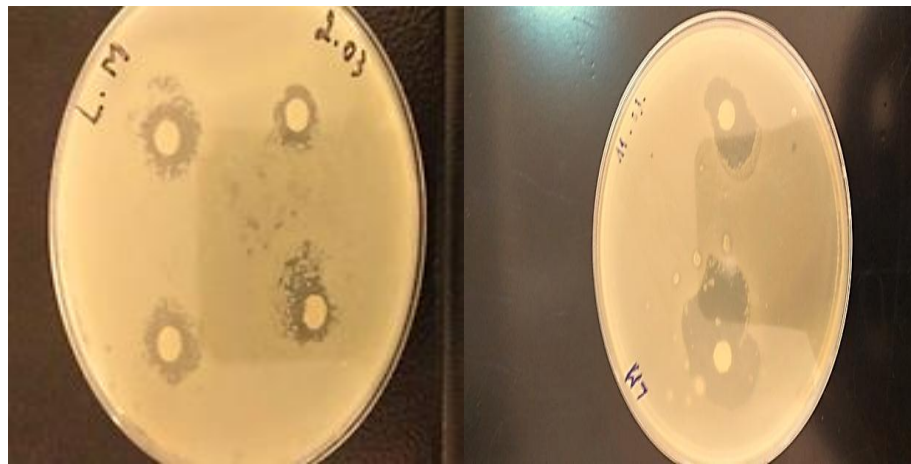
Enterococcus faecalis.



(A)

(B)

Staphylococcus aureus



(A)

(B)

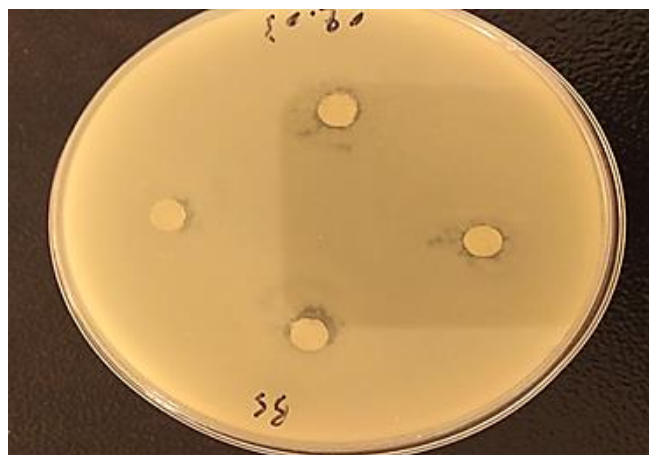
Listeria monocytogenes



(A)

(B)

Bacillus cerus



(A)

Bacillus subtilis

Figure V.6. Zones d'inhibition d'HE de fleurs (A) et HE des feuilles (B) sur les souches testés.

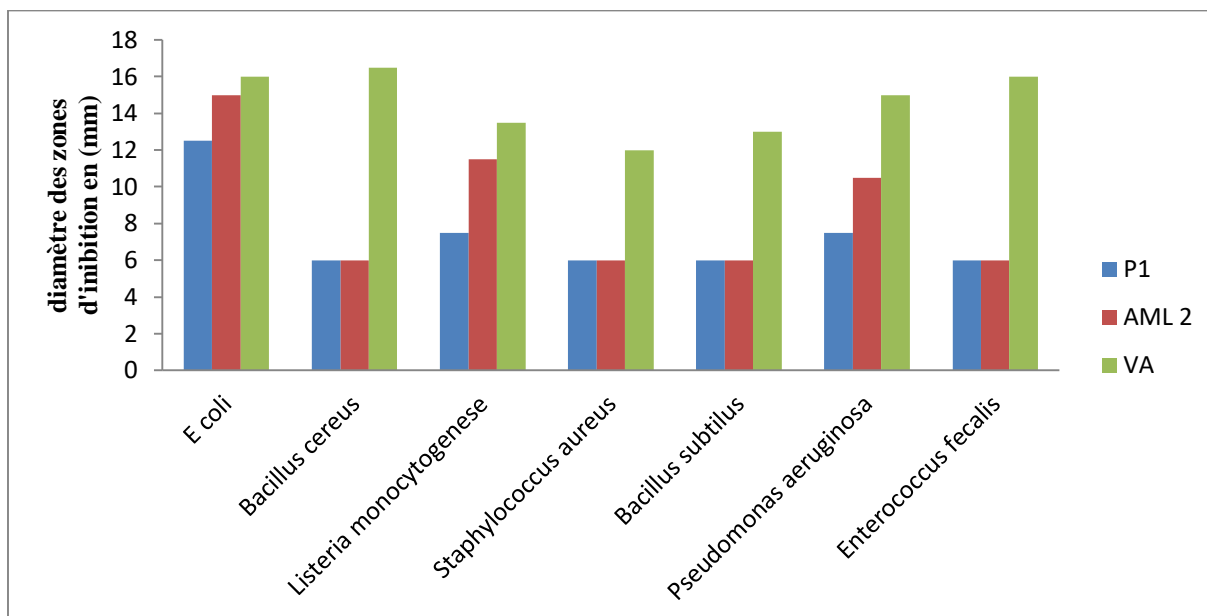


Figure V. 7. *Activité des antibiotiques contre les bactéries*
P1 : Penicilline, AML2 : Amoxicilline, VA : Vancomycine

Nos résultats expérimentaux présentés dans le Tableau , montrent que l'huile essentielle des feuilles présente une activité antibactérienne très importante sur *Pseudomonas aeruginosa* , *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* (action inhibitrice très efficace) avec un diamètre 28mm , 27mm et 20mm respectivement , une action inhibitrice importante vis- a -avis *Escherichia coli* et *Listeria monocytogenes* comme nous avons remarqué que *Bacillus cerus* et *bacillus subtilus* ont manifesté une grande résistance .

Pour l'action des huiles essentielles des fleurs, on a constaté une action inhibitrice intermédiaire vis-à-vis *Listeria monocytogenes* (11mm), *Escherichia coli* (11mm) *Staphylococcus aureus* (11mm), *Pseudomonas aeruginosa*, et aucune action inhibitrice sur *Enterococcus faecalis* , *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus cerus*(*bactérie non sensible*)

Les résultats obtenus montre que les HE de (feuilles et fleurs) possèdent une activité antibactérienne variable mais efficace selon la souche testée, cette différence d'activité peut être expliquée par la présence dans ces huiles d'un composé doué de pouvoir antimicrobien tel que α pinène, β pinène et D Limonène .

Ces deux composés (α pinène, β pinène) augmente la perméabilité membranaire, inhibe la respiration et les processus de transport ionique ainsi qu'il détruit l'intégrité cellulaire. Cette activité peut être attribuée à la valeur relativement élevée du D Limonène. Comme elle pourrait être expliquée par l'interaction des groupements fonctionnels des HE avec les parois des bactéries ce qui provoque de fortes lésions (**Brahimi et al ; 2018**)

Mais l'activité antibactérienne des HE des feuilles est plus importante que celle remarqué chez les HE des fleurs cela peut être justifié par le chémotype spécifique qui caractérise chacun d'eux.

Quelques études ont été réalisées sur l'activité antibactérienne des HE de *Pituranthos scoparius* tel que **KIRAM et al ;(2013)** mais qui ont étudiées la partie aérienne entière de deux populations de la région de Biskra (El-kantra (Biskra) et Méchonche (Biskra) . cette étude indique une différence avec nos résultats.

Selon **HAMMOUDI ;(2015)**, L'huile essentielle de *Deverra scoparia* a montré une activité inhibitrice plus ou moins importante sur les souches testées, avec une activité plus importante sur *Escherichia coli* d'une zone d'inhibition égale à 14 mm. Les zones d'inhibition de diamètres 11 mm et 10 mm ont été observées autour des disques imprégnés d'huile essentielle sur les souches *Staphylococcus aureus* ATCC 27923 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853 respectivement.

Nos tests de l'antibiorésistance de chaque souche bactérienne vis-à-vis de trois antibiotiques : pénicilline, amoxicilline et vancomycine ont démontré :

L'amoxicilline : a une action inhibitrice intermédiaire sur les bactéries *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* et *Pseudomonas aeruginosa* alors qu'il ne présente aucune activité sur les souches restante.

Vancomycine : a une action inhibitrice importante sur les bactéries *Escherichia coli*, *Bacillus cerus* et *Enterococcus faecalis* et une activité intermédiaire sur les souches restante. Par comparaison avec l'action des huiles essentielles étudiée, les antibiotiques utilisés ont une activité intermédiaire à faible vis-à-vis les souches étudiées sauf qui a une montre action inhibitrice importante sur les bactéries *Escherichia coli*, *Bacillus cerus* et *Enterococcus faecalis*.

Pénicilline : une activité inhibitrice intermédiaire sur les *Escherichia coli*, et aucune action sur les autres souches étudiées.

Conclusion générale

Dans la lutte perpétuelle contre les infections microbiennes notamment la résistance des antibiotiques. Les populations se tournent de plus en plus vers des thérapeutiques plus naturelles. Parmi les qu'elles, on retrouve l'aromathérapie car ces plantes aromatiques sont la source principale des substances et de composés biologiquement actifs tels que les huiles essentielles. Dans le cadre de la valorisation des ressources végétales natives, nous sommes intéressés par *Deverra scoparia*, une plante utilisée dans la médecine traditionnelle par les populations locales, il est intéressant de connaître ses vertus thérapeutiques.

Raison pour laquelle nous avons exploré la composition chimique et l'activité antibactérienne in vitro des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de cette plante contre sept souches bactéries pathogènes.

Le rendement en HE montre une rentabilité faible pour les feuilles (0.23%) et (1.4%) pour les fleurs.

L'analyse chimique des huiles essentielles obtenues réalisée par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS) a révélé quarante-quatre composés dans les HE des feuilles de *D. scoparia*, représentant 95,22% de la composition totale.

La composition était dominée par les hydrocarbures monoterpéniques (71,40%) suivis par les hydrocarbures sesquiterpéniques (8,86%). Les principaux composants étaient l' α -pinène (32,78%), le β -pinène (15,11%) et le D limonène (11,02%).

Alors que trente-trois composés ont été identifiés dans l'huile essentielle des fleurs, représentant (95,72%) de l'ensemble de la composition, dominée par les hydrocarbures monoterpéniques (53,48%) puis les monoterpènes oxygénés (40,61%). Les principaux composants étaient le méthyleugénol (34,17%), α -pinène (19,13%) et D limonène (17,31%).

L'aromatogramme a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle vis-à-vis les souches bactériennes testées à savoir : *Es.coli* , *P. aeruginosa*, *S. aureus* , *E. faecalis* , *S.aureus*, *B.cereus*, *B.subtilus*.

Les résultats nous ont permis de constater que toutes les souches testées sont sensibles a -au moins- sensibles à l'un des deux HE étudiés. Cette sensibilité se diffère selon les souches, On observe des souches très sensibles, des souches moyennement sensible et autres moins sensible.

Toutefois, ces résultats restent préliminaires et afin de les approfondir, d'autres approches et études sont souhaitables à réaliser, il serait intéressant de :

Tester d'autres méthodes d'extractions pour déterminer leur influence sur le rendement en huiles essentielles.

Etudier les huiles essentielles de période différentes de l'année.

Etudier d'autres propriétés et activités biologiques de cette plante.

Références bibliographiques

BIBLIOGRAPHIE

- Adida H., Frioui E., et Djaziri R. 2014.** In vitro antibacterial activity of *Pituranthos scoparius* from Algeria. . Algeria : Int J Biol Chem Sci, 5:2095-2108.
- Ait mouhoub S. 2015.** L'automédication aux antibiotiques en médecine générale : étude quantitative auprès de patients. Thèse de doctorat d'état de docteur en médecine générale. Université de picardie jules verne.P96.
- Anonyme. 2005.** Guide to medicinal plants in north africa. Spain : IUCN, Centre of mediteranean cooperation, Pedro Molino.
- APG. 2016.** Angiosperm phylogeny group iv. an update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: apg iv. Botanical journal of the linnean society, 181: 1-20.
- Attia S., Grissa KL., Lognay G., Heuskin S., Mailleux AC., et Hance T. 2011.** Chemical composition and acaricidal properties of *deverra scoparia* essential oil (araliales: apiaceae) and blends of its major constituents against *tetranychus urticae* (acari: tetranychidae). journal of economic entomology, 104(4): 1220-1228.
- Bach D., Mascré M., et Deysson G. 1979.** Organisation et classification des plantes vasculaires. Paris : Cours de botanique générale quatrième série, tome II, 529., 1979.
- Bellakhdar J. 1997.** Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires. La pharmacopée marocaine traditionnelle, ibis Press.
- Belmekki N., Bendimerad N., Bekhechi C., et Fernandez X. 2013.** Chemical analysis and antimicrobial activity of *Teucrium polium* L. essential oil from Western Algeria. Journal of Medicinal Plants Research, 7(14): 897-902.
- Benayad N. 2008.** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Université Mohammed V-Agdal, Maroc, 61.
- Benchelah A C., Bouzian H., et Maka M. 2011.** Fleurs du Sahara, Voyage ethnobotanique avec les Touaregs du Tassili. paris : Edition Ibis press, ISBN 978-236122-021-1 17. 255P.
- Benmakhebi L. 2004.** Etude phytochimique et activités biologiques de l'extrait plantes médicinales endémiques butanoliqueet les huiles essentielles des graines et des tiges de l'espèces endémique du Chebkha du Mzab *Pituranthos scoparius*. mémoire de magister en chimie, université de Larbi Ben Mhidi Oum Bouaghi ,112P.

- Boudjelal A., Henchiri C., Sari M., Sarri D., Hendel Benkhaled A., et Ruberto G. 2013.** Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. Algeria : Journal of ethnopharmacology, 148(2): 395-402.
- Bouharb H., El Badaoui K., Zair L., El amri J., Chakir1.S ., et Alaoui1 T. 2014.** Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. . Journal of Applied Biosciences 78:6685 – 6693.
- Bousbia N. 2011.** extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydant a partir de produits naturels et de co-produits agro-alimentaires. Thèse de doctorat en Chimie de l'université d'Avignon et des pays de Vaucluse et de l'Ecole Nationale Supérieure. p216.
- Brahimi S, Dahia M, Azouzi B, Nasri M, et Laouer H. 2018.** Composition chimiques et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Deverra reboudii* . phytothérapie et ethnopharmacologie. La voisier SAS 2018.
- Bruneton J. 2016.** Pharmacognosie - Phytochimie. Paris : plantes médicinales .5° Ed : Lavoisier.
- Bruneton J. 2009.** Pharmacognosie : phytochimie. plantes médicinales. 4e Ed, 2009.
- Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie : phytochimie. plantes médicinales. 3e Ed.
- Burt S. 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. Int. J. Food Microbiol. 94: 223-253.
- Carlet J P, Le Coz. 2016.** Tous ensemble, sauvons les antibiotiques. Available from: http://social-sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport_antibiotiques.pdf.
- Chouitah O. 2012.** Composition chimiques et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabo* . Oran : thèse de doctorat LMD en biologie ,université d'Oran ,p 136.
- Da silva F. 2010.** Utilisation des huiles essentielles en infectiologie ORL. Thèse de doctorat en Pharmacie .Université Henri Poincaré - Nancy p17, 10,p18.
- Dahia, Meridja. 2015** . Evaluation des constituants bioactifs et potentiel antioxydant des extraits de quelques plantes médicinales poussant en algerie. memoire magister universite abderrahmane mira de bejaïa .
- Daroui-Mokaddem H. 2012.** Etude phytochimique et biologique des especes *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniololus* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* et *chrysanthemum trifurcatum* (asteraceae). Annaba : Thèse de doctorat en Biochimie Appliquée. Université Badji Mokhtar Annaba, P8,14,28.
- Dewit H. 1965.** Les plantes du monde,. les plantes à fleurs.Tome II, 339.,

- Deysson G. 1979.** Organisation et classification des plantes vasculaires. Paris : Cours de botanique générale quatrième série, tome II, 529.
- Dobignard A., Chatelain C. 2013.** Index synonymique de la flore d'Afrique du Nord. . Genève : Conservatoire et Jardin botaniques Ville de Genève , 5: 100.
- El amri J., Elbadaoui K., Zair T ,bouharb H, chakir S., et Alaoui T. 2014.** Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testées. Journal of Applied Biosciences 82: 7481-7492.
- EL Mansouri K. 2013.** Recherche et évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes médicinales. Thèses de Doctorat en médecine, Université Cadi Ayyad. 107p.
- El-haci Imad Abdelhamid,. 2015.** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales endémiques de Sud de l'Algérie : *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur., *Anabasis aretioides* Moq. & Coss. *Limoniastrum feei* (Girard) Batt .thèse de doctorat en Biologie , option Biochimie .université Abou –Bakr- Belkaid.p 164.
- Elhafid, Hadouchi Farah., et Benmansour Abd. 2008 .** huiles essentielles, utilisations. activités biologiques application à deux plantes aromatiques.
- Essawi T., Srour. 2000.** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. J. Ethnopharm. 70: 343-349.
- Fernandez X., Chemat F. 2012.** La chimie des huiles essentielles. et *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. : Tradition et innovation, Vuibert-Paris,217-227 in thèse de doctorat en biologie. Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales endémiques du sud de l'Algérie: *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur., *Anabasis aretioides* Moq.
- Gherib M. 2014.** Analyse des huiles essentielles de *Warionia saharae* Benth. et Coss et de *Pulicaria mauritanica* Coss. du Sud Ouest Algérien (Nâama). thèse doctorat en Biologie, Option : Substances Naturelles, Activités Biologiques et Synthèse par CPG-Ir, CC ; CPG-SM et RMN 13Cet étude de leur pouvoir antimicrobien. Université Abou- Bakr-Bilkaid.Tlemcen.P146.
- Gourine N., Merrad B., Yousfi M., Stocker P., et Gaydou E. M. 2011.** Chemical composition of the essential oil of *Pituranthos scoparius*. Natural product communications, 6 (8), 1151-1154.
- Guignard J.L. 1989.** Abrege de botanique. 7eme ed: masson.

- Guignard J.L. 1980.** Abrege de botanique, 4^e Ed: Masson, Paris, 259.
- Guinoiseau L. 2010 .** Molécules antibactériennes issues d’huiles essentielles :séparation, identification et mode d’action . thèse d’état de docteur de l’université .université de Corce.P149 .
- Haba H., Benkhaled M., Georges M., Christophe L., et Catherine L. 2004.** Alkylated Isocoumarins from *Pituranthos Scoparius* . Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters, 18(5): 409-413.
- Hadouchi., Benmansour. 2008 .** composition chimique et activité antioxydant des HE de *Deverre scoparia* .Libanaise science journal ,vol 16,2,2015.
- Hammiche V., Maiza K. 2006.** Traditional medicine in Central Sahara. Pharmacopoeia of Tassili N’ajjer, Journal of Ethnopharmacology 105 :358–367.
- Hammoudi R. 2015.** Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional Algérien. Ouargla, Algérie : Thèse doctorat, Université Kasdi Merbah, 131.
- Hammoudi R. 2015.** Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. thèse doctorat en Biologie. Université Kasdi Merbah-Wergla.P166.
- Heywood V.H., Moore D.M., Richardson I.B., et Stearn W.T. 1996.** Les plantes à fleurs 306 Familles de la flore mondial, 218-219.
- Hirsch. 2000.** Le journal du sida / n 124. Disponible sur : www.journaldusida.org/ressources/101/jds-n124---04-2000.pdf(consulté le 03/02/2018).
- Hameurlaine S. 2009.** Mise en evidence des huiles essentielles contenues dans les plantes *pituranthos scoparius* et *rhantherium adpressum* de la region de ghardaïa. memoire magister universite de kasdi merbah –ouargla,
- Harchaoui L. 2019.** Etude biotechnologique, biochimique de *Deverra scoparia*, plante endémique de Tamanrasset. Recherche de quelques activités biologiques. Thèse doctorat université des sciences et de la technologie houari Boumediene usthb/Alger.
- Jehl F, Chomar M, Weber M et Gerard A. 2012.** La résistance des bactéries aux antibiotiques in « De l’antibiogramme à la prescription. ». . s.l. : Editions Biomérieux.. Chapitre 2 pages 34-43.
- Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Ait-Kaki Z., et Benlabed K. 2005.** Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. TheInternational Journal of Aromatherapy, 15, 129–133.

- Kayser, M.D. F. H., Bienz, K. A., Eckert, Ph.D. J. et Zinkernagel, M.D. M. R. 2005.** s.l. : Medical Microbiology. Edition Thieme. 698.
- Kiram A, Ramdani M., et Zeraib A. 2013.** Etude Phytochimique et de L'activité antimicrobienne des Huiles Essentielles de Pituranthos Scoparius de la Région de Biskra (Sud-est Algérien). . . s.l. : Tunisien Journal of Medicinal Plants and Natural Products, Tunis. 10(2),p1-7.
- Lagunez R. 2006.** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe. s.l. : Thèse de Doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse.P180.
- Lahlou M. 2004.** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. s.l. : Phytotherapy Research. 18(6): p. 435-448.
- Laurent J. 2017.** Conseils et utilisation des huiles essentielles les plus courante en officine. s.l. : These d'état en docteur de pharmacie. Université de PAUL SABATIER TOULOUSE III .P 220.
- Leonov M.V., Pimenov M.G. 1993 .** The genera of the Umbelliferae Nomenclator. s.l. : Royal Botanic Gardens, 151-156.
- Levy S.B., Marshall B. 2004.** Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. . s.l. : Nat. Med. 10, 122-129.
- Lograda T., Ramdani M., Kiram, Chalard P.,et Figueredo G. 2013.** Variation of essential oils composition of pituranthos scoparius in algeria. global j res. med. plants & indigen. med. | vol 2(1).p11, 2013.
- Liet L., Yang J-l. 2010.** phytochemical and biological activities of Pulicaria species. chemistry and biodiversity ;7(2).327-349 .
- Maarouf A., Templin G. 2009.** Abrégé de biochimie appliquée. Collection Grenoble Sciences, p133.
- Makhloufi.A. 2013.** Etude des activités antimicrobiennes et anti oxydantes de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar(Matricaria pubescens (Desf.) et Rosmarinus officinalis L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. thèse de doctorat d'état en biologie ,p136.
- Malti.C.E.w, Boussaid.M, Belyagoubi.L, Paoli.M, Gibernau.M, Tomi, et Atik Bekka et Bekhechi.C. 2018.** Chemical variability of the essential oil of pituranthos scoparius from Algeria. Chem. Biodivers.15(7), e 1800149.<https://doi.org/10.1002/cbdv.201800149>.

- Mazari K., Bendinerad N., Benkhechi Ch., et Fernandez X. 2010.** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* and *Cupressus sempervirens*. *Medicinal Plants Research*. 4(10) : 959-964.
- Nait Said Nadla.,** étude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes *Pituranthos*.
- OMS. 2003.** Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAP) relatives aux plantes médicinales., . Genève, Suisse : 96 p.
- Ouibrahim A. 2015.** « Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien » ; Thèse de doctorat ; Univ. Badji Mokhtar – Annaba.
- Ouis N. 2015.** Étude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil, et de persil. Thèse de doctorat en science, spécialité chimie organique. université Ahmed Ben Bella 1.Oran.p196.
- Ould el hadj M. D., Hadj-mahammed M., et Zabeirou H. 2003.** Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d'ouargla (sahara septentrional est). *Courr sav*, 3: 47-51.
- Ozenda P. 1977.** Flore du sahara. paris, france : ed. 2. centre national de la recherche scientifique (cnrs.)
- Ozenda P. 1983.** Flore du sahara. paris, france : ed. 3. centre national de la recherche scientifique (cnrs.),401.
- Pimenov M.G., Leonov M.V. 1993.** The genera of the umbelliferae nomenclator. s.l. : royal botanic gardens, 151-156.
- Prescott L M.,Harley J., et Pet Klein D A. 1995.** Microbiologie. s.l. : De Boeck ed. p 1014.
- Quezel P., Santa S. 1963.** Nouvelle Flore d'Algérie et des régions Désertiques Méridionales. Tome I et II. CNRS.
- Rafaa Z., Saidi. 2007.** Étude physicochimique et l'effet antibactériennes des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* chez les *Streptococcus faecalis* et *Pseudomonas aeruginosa*. d'ingénieur d'état en Biologie, université de Sidi Be Bel Abbes.135P.
- Sahki A., Sahki R. 2004.** Le Hoggar promenade botanique. s.l. : Espèces herbacées. Edition Ésope, p 311.
- Sahli R. 2017.** étude phytochimique de quelques plantes extremophiles tunisiennes et exploration de leurs activités biologiques. thèse de doctorat en "Sciences du médicament et des autres produits de santé" et En "Génie Biologique. université de Lille 2 P117.

- Samate AD. 2002.** composition chimique des huiles essentielles extraites des plantes aromatiques de la zone Soudanienne de Burkina faso . Thèse en docteur es Science physiques.P195.
- Schmidt F.R. 2004.** The challenge of multidrug resistance: actual strategies in the development of novel antibacterials. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63: 335-343.
- Schmidt, Larry M., Bush., et Charles E. 2017.** Overview of Bacteria. <http://www.merckmanuals.com/home/infections/bacterialinfections/overview-of-bacteria>.
- Flavour Frage. J. 2004.** Oils of *Pituranthod Scoparius* coss.& dur. schinz. 19: 562-564.
- Singh F., Barrett J. 2006.** Empirical antibacterial drug discovery-foundation in natural products. *Biochemical Pharmacology*, 71, 1006-1015.
- Smaili T., Zellagui A., Gherraf N., Flamini G., et Cioni P. L. 2011.** Essential oil content of the flowers of *Pituranthos scoparius* in Algeria. *Medicinal Plants- International Journal of Phytomedicines and Related Industries*, 3 (2), 177-179.
- Smith M., Navilliat D. 1997.** A new protocol for antimicrobial testing of oils. *Journal of Microbiological Methods*, 28, 21-24.
- Stobiecki M. 2000.** Application of mass spectrometry for identification and structural studies of flavonoid glycosides, *Phytochemistry*, 54 (3): 237-256.
- Takia L., Messaoud R., Abderazak K., Pierre C., et Gilles F. 2013.** Variation of essential oils composition of *Pituranthos scoparius* in Algeria. *Med. Plants & Indigen*, 2 (1): 1-11.
- Toure D. 2015.** études chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire. Thèse de doctorat, Université Felix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire .P129.
- Trémolières F., Cohen R., et Schlemmer B. 2006.** Requiem pour les antibiotiques. Faut-il craindre une disparition des antibiotiques ?. *Médecine Thérapeutique*. Mai-juin ;volume 12, n°3.
- Valcourt C. 2016.** Contribution à l'étude du traitement de bactériesmulti-résistantes : Associations de composants aromatiques d'huiles essentiels nano-encapsulés avec des antibiotiques. thèse de grade de Docteur de l'Université'.Université Nantes Angers le Mans, P222.
- Vérité P., Nacer A., Kabouche Z., et Seguin E. 2004.** Composition of seeds and stems essential oils of *Pituranthos scoparius* (Coss. & Dur.) Schinz. *Flavour and fragrance journal*, 19 (6), 562-564.

