

*République Algérienne Démocratique et Populaire*

*Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique*

*Université Mentouri de Constantine  
Institut de Chimie*

*N° d'ordre :.....*

*Série :.....*

*Thèse*

*Présentée en vue de l'Obtention du Diplôme de  
Magister en Pharmacochimie*

*Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles  
Infusées de Quatre Plantes Médicinales Connues  
Comme Aliments*



*Présentée par : M<sup>elle</sup> Benzeggouta Nairouz*

*Devant le jury :*

*Président : Kabouche Zahia Pr. Université de Constantine*  
*Rapporteur : Benguedouar Ammar M.C. Université de Constantine*  
*Examineurs : Bellatar AbdelHamid Pr. Université de Constantine*  
*Ait Kaki Zahia née Semra Pr. C. H. U. de Constantine*

*2004-2005*

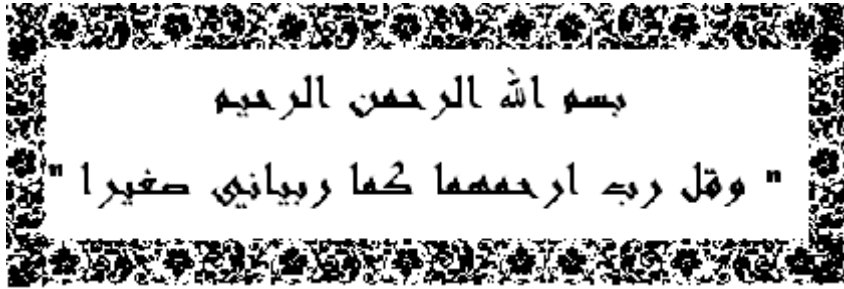
بسم الله الرحمن الرحيم

# فليُنظر الإنسان إلى طعامه

صدق الله العظيم



*A Mes Parents*



*A toute ma famille*

*A toutes mes amies*

*Nairouz*

# Remerciements

الحمد لله الذي هداني لهذا وما  
كنت لأهتدى لولا أن هدانى الله

*Je remercie Dieu le tout puissant qui m'a aidé  
à faire ce travail.*

*Je remercie mon encadreur le Dr. Benguedouar A. pour ses  
conseils.*

*Je remercie aussi les Pr. Kabouche Z. et Pr. Ait Kaki Z. pour  
leur collaboration, et d'avoir accepté de juger mon travail.*

*Je tiens à remercier aussi le Pr. Bellatar A.H. qui a bien voulu  
participer à ce jury.*

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

( فلا أقسم بما تبصرون \* و  
ما لا تبصرون )

صدق الله العظيم

بسم الله الرحمن الرحيم

( و قل اعملوا فسيرى الله عملكم و رسوله و  
المؤمنون )

صدق الله العظيم

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

( فادع لنا ربك يخرج لنا مما تنبت الأرض من بقلها و قنائها و  
فومها و عدسها و بصلها )

صدق الله العظيم

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

\* وَ لَا تَقْفُ مَا لَيْسَ لَكَ بِهِ عِلْمٌ \*

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ



بسم الله الرحمن الرحيم

( و قل رب زدني علماً )

صدق الله العظيم

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

( وَ الْحَبُّ دُو الْعَصْفِ وَ الرِّيحَانُ )

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ

# Table des Matières

## **Introduction**

### L'Aspect Théorique

#### **Chapitre 1: Des Bactéries aux Antibiotiques**

1- Introduction.....	5
2- La découverte du monde microbien.....	5
3- Rôle des microorganismes dans les maladies.....	6
4- L'infection.....	8
5- Morphologie et Structure fine des bactéries.....	8
6- Bactériologie médicale	
6-a- bactéries à gram négatif	
6-a-1- Genre <i>Pseudomonas</i> .....	12
6-a-2- Genre <i>Acinetobacter</i> .....	13
6-a-3- Famille des Entérobactéries.....	14
i- Genre <i>Salmonella</i> .....	14
ii- Genre <i>Escherichia</i> .....	14
iii- D'autres Entérobactéries.....	15
6-b- bactéries à gram positif	
6-b-1- Genre <i>Staphylococcus</i> .....	16
6-b-2- Les Streptocoques.....	16
7- Les antibiotiques	
7-1- Introduction.....	17
7-2- Définition.....	18
7-3- Une découverte très ancienne.....	18
7-4- Les premiers agents antibactériens.....	19
7-5- La pénicilline.....	20
7-6- Mode d'action des antibiotiques et Résistance bactérienne.....	22
7-7- Toxicité des antibiotiques.....	24
8- Annotation.....	25

#### **Chapitre 2: L'Aromathérapie**

I- Historique.....	26
--------------------	----

II-	<i>Les huiles infusées</i>	
	1- Introduction.....	27
	2- Définition.....	28
	3- Préparation .....	29
	a- choix des plantes.....	29
	b- le mélange plante / huile .....	29
	c- conservation.....	30
	4- Importance des huiles infusées.....	31
III-	<i>L'aromathérapie.....</i>	31
IV-	<i>Quelques dates importantes dans l'histoire de l'aromathérapie.....</i>	32
V-	<i>Les huiles essentielles</i>	
	1- Introduction.....	34
	2- Définition .....	35
	3- Extraction des huiles essentielles.....	36
	4- Composition chimique.....	38
	5- Caractéristiques et propriétés physiques.....	39
	6- Emploi et propriétés pharmacologiques.....	40
	7- Toxicité des huiles essentielles.....	42
VI-	<i>L'Aromatogramme</i>	
	1- Recours à l'aromatogramme.....	43
	2- Comment faire un aromatogramme ? .....	43
	3- Intérêt de l'aromatogramme.....	44
	4- prescription .....	44

### ***Chapitre 3: Généralités sur les Quatre Plantes Médicinales Utilisées***

I-	<i>Allium cepa L</i>	
	1- Classification.....	45
	2- Description.....	45
	3- Composition chimique.....	46
	4- Propriétés pharmacologiques et emplois .....	49
II-	<i>Allium sativum L</i>	
	1- Classification.....	51
	2- Description.....	51
	3- Composition chimique.....	52
	4- Propriétés pharmacologiques et emplois .....	55

III- <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	
1- Classification.....	57
2- Description.....	57
3- Composition chimique.....	59
4- Propriétés pharmacologiques et emplois .....	62
IV- <i>Eugenia caryophyllata</i>	
1- Classification.....	63
2- Description. ....	63
3- Composition chimique.....	65
4- Propriétés pharmacologiques et emplois.....	67

## L'Expérimentation

### Matériel et Méthodes

1- Matériel végétal.....	69
2- Préparation des huiles infusées.....	69
a- Huiles à la cannelle et aux clous de girofles .....	69
b- Huiles à l'ail et à l'oignon.....	70
3- Extraction des huiles essentielles et des jus frais	
a- Huiles essentielles de la cannelle et des clous de girofle.....	71
b- Les jus frais de l'ail et de l'oignon.....	71
4- Souches bactériennes et milieu de culture.....	72
5- Tests de l'activité antibactérienne	
5-1- Essais préliminaires .....	73
5-2- L'Aromatogramme ou Méthode des Disques	
* L'inoculum .....	73
* L'ensemencement .....	74
* Préparation des disques d'aromatogramme.....	74
* Incubation et Lecture.....	75
* Interprétation des résultats.....	75
5-3- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (C M I).....	75

### Résultats et Discussion

Tests préliminaires.....	77
Ail et oignon.....	82
Cannelle et clou de girofle.....	88

<i>Conclusion</i>	109
<i>Références et Bibliographie</i>	110
<i>Définitions</i>	
<i>Résumés</i>	
<i>Français</i>	
<i>Arabe</i>	
<i>Anglais</i>	

# *INTRODUCTION*



Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme parfois affecté de troubles insidieux [5].

La connaissance par l'homme de l'utilisation des plantes, qu'il s'agisse de plantes alimentaires, médicinales ou toxiques, est très ancienne [70]. Alors que se soigner par les plantes est un instinct, qui se retrouve d'ailleurs dans le comportement des animaux. Cette pratique a engendré d'innombrables croyances sur ce qui sauve la vie et sur les forces qui lui sont néfastes. Beaucoup de remèdes phytothérapeutiques sont nés des observations, de l'inspiration et de l'expérience des guérisseurs, devenus des personnages révéérés dans toutes les tribus et chez tous les peuples [13]. Ces notes, observations et applications ont été enregistrées depuis des millénaires dans les diverses parties du monde [8]. Les plus anciens sont des tablettes d'argile gravées de signes cunéiformes, datant de l'époque sumérienne vers le IV<sup>e</sup> millénaire, qui représentent des "*Recueils de Formules de Plantes Médicinales*"; le Shennong Bencao Jing (2000 ans av. J.C.) considéré comme le premier recueil de "*Matière Médicale*", il contient 365 remèdes d'origine végétale par analogie aux 365 jours de l'année; le Papyrus égyptien d'Ebers (1510 av. J.C.) décrit plusieurs maladies et leurs traitements avec les plantes médicinales; l'Ayurveda ou "*Science de la Vie*" qui regroupe de très anciens textes médicaux indiens [5]. Mais c'est vers 1865 que le docteur Auguste Soins donne le nom de "*Phytothérapie*" pour définir la médecine par les plantes [8].

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ)

لِيَذِقَ الَّذِينَ يُبْغُونَ لِمَا كَانُوا يَكْسِبُونَ

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمِ

Ce verset indique la propagation de "la corruption" sur la terre et dans la mer à cause des faits des hommes, peut être reviendront-ils vers Dieu pour trouver tous ce qui est bénéfique à l'homme:



## بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

( فليُنظر الإنسان إلى طعامه \* أنا صببنا الماء صبا \* ثم  
شققنا الأرض شققا \* فأنبتنا فيها حبا \* وعنا وقضبا \*  
وزيتونا وقثلا \* وحدائق غلبا \* وفاكهة وأبا \*  
متاعا لكم ولأنعامكم \* )

## صدق الله العظيم

Le regain d'intérêt aux plantes médicinales et leurs extraits telles les huiles essentielles, vient essentiellement d'une prise de conscience des malades et de leur désir profond de revenir aux moyens naturels et efficaces [8]. Car les plantes offrent un espoir de guérison dans le domaine des maladies contemporaines, et le besoin d'information sur les nouveaux produits phytothérapeutiques s'accroît [13]. Le malade tend de plus en plus à fuir les substances chimiques et à éviter les dangers qu'elles peuvent induire [8].

Les indications données par la phytothérapie ou l'aromathérapie, n'ont pas pour but de faire oublier ou sous-estimer l'importance de toute la profession médicale et de la médecine, à condition que celle-ci soit avant tout humaine et respecte fidèlement le serment d'Hippocrate: "*primum non nocere*": "*d'abord, ne pas nuire*". Les médecines douces ne visent pas à encourager chacun à devenir son propre médecin; en effet, il faut savoir qu'à n'importe quel stade de la maladie, intervient un élément très important: "*Le Diagnostic*", qui ne saurait relever que d'un professionnel [8].

La pensée scientifique occidentale traditionnelle s'attache à expliquer un tout en analysant les propriétés des éléments qui le composent. Ainsi, la botanique expose la "*fonction*" de chaque partie d'une plante, et la chimie analyse ses composants pour "*isoler les principes actifs*". Toutefois, en se fondant sur des hypothèses très circonscrites, les chercheurs occidentaux ont peut être négligé certaines interactions subtiles entre les plantes et l'homme. Au contraire, les phytothérapeutes soutiennent depuis longtemps que la plante forme un tout et que ses composants actifs n'agissent pas isolément. Aujourd'hui, la physique quantique, qui met l'accent sur les processus naturels plus que sur les éléments, donne une certaine crédibilité à cette théorie en ouvrant la voie à une nouvelle compréhension de la maladie comme "*dysharmonie*" [13].

Une plante agit par l'ensemble de ses constituants, vivifiés et dosés par le végétal lui-même dont c'est le rôle exclusif. Lorsque l'on en extrait une substance unique considérée comme le principe actif, il s'agit en général d'un poison dont l'usage peut être valable, mais il s'agit alors là d'une branche très spéciale de la pharmacopée allopathique [8]. Les herboristes utilisent la plante entière pour préparer des remèdes qui offrent une guérison lente mais plus sereine et plus sûre que les médicaments puissants, fabriqués à partir d'agents isolés, qui provoquent plus d'effets secondaires. Des études américaines ont confirmé la présence de substances diminuant le besoin d'alcool dans le kudzu (*Pueraria lobata*), utilisé depuis longtemps en Chine contre l'alcoolisme. Mais isoler le principe actif d'une plante peut engendrer des effets secondaires qui se manifestent moins, différemment ou pas du tout lorsqu'on utilise la plante entière. Il semble en effet que certains de ses composants équilibrent le principe actif. Dans la médecine chinoise, il est rarement administré une plante seule mais combinée avec d'autres pour renforcer son action et contrecarrer ses effets secondaires. Les Chinois attribuent une valeur thérapeutique à la combinaison de certaines plantes et de certains aliments [13].

La recherche de nouveaux médicaments utilise plusieurs approches parmi lesquelles l'approche "*Ethnopharmacologique*", qui consiste à recueillir des renseignements concernant l'utilisation empirique auprès des populations, d'ethnies vivant encore près de la nature [70]. Et comme Hippocrate a dit un jour " *Il ne faut pas rougir d'emprunter au peuple ce qui peut être utile à l'art de guérir* ". *L'Ethnopharmacologie* ou *l'Anthropologie Médicale* visent à faire connaître l'emploi traditionnel des plantes médicinales, et valoriser rationnellement cet usage dans le cadre d'études scientifiques.

Dans le domaine des anti-infectieux, la découverte de nouvelles substances est le but de l'homme depuis toujours, car la cause principale des décès autrefois était les maladies infectieuses, malgré les excellentes défenses contre l'infection dont est pourvu le corps humain [74]. Lorsque la pénicillothérapie fut pratiquée pour la première fois, l'homme a cru avoir gagné la bataille contre les bactéries pathogènes. Cependant avec l'apparition des bactéries pénicillino-résistantes il a eu l'impression de régression, et avec l'extraction et la synthèse de nouveaux antibiotiques assez puissants, la peur se dispersa devant la volonté humaine de vaincre [34]. Mais comme tout médicament, les antibiotiques ne sont pas totalement inoffensifs pour l'organisme et peuvent provoquer, en plus de leur action antibactérienne, un certain nombre d'effets indésirables [7]. Ces antibiotiques, qui ont sauvé des vies et soulagé des souffrances de millions de personnes durant des années et jusqu'à ce jour, sont menacés aussi par l'apparition et la propagation des germes multirésistants [83].

Pour cela, le retour vers le naturel est devenu indispensable et doit suivre certaines conditions en vue de son utilisation dans le monde vaste des anti-infectieux, qui s'élargit d'un jour à l'autre avec des substances plus puissantes, plus toxiques et plus coûteuses. La condition principale pour ce regain, est une étude scientifique rigoureuse et rationnelle de l'activité antimicrobienne des différents extraits naturels.

Le travail présent concerne une partie limitée des agents antimicrobiens: étudier et évaluer le pouvoir antibactérien des extraits de quatre plantes alimentaires et médicinales utilisées depuis la nuit des temps pour traiter divers affections: l'oignon, l'ail, la cannelle et les clous de girofle.

Dans un premier chapitre, les bactéries et les agents antibactériens sont largement traités; du début de la révélation de ces "*petits animaux*" au monde entier en passant par leur rôle dans les maladies, leurs structure fine, leur classification pour arriver aux moyens utilisés contre ces germes et leur toxicité croisée sur les bactéries et les cellules humaines.

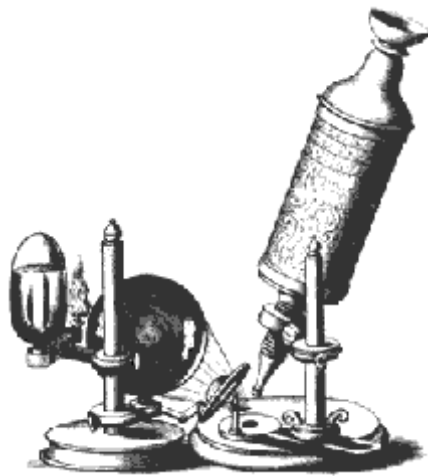
Le deuxième chapitre développe l'histoire et l'usage des huiles infusées comme parfums et en thérapeutique contre plusieurs pathologies, depuis au moins 5000 ans, puis leur évolution en huiles essentielles plus fines, plus agréables et plus onéreuses utilisées surtout en tant qu'agents antimicrobiens en *Aromathérapie*, testées par la méthode de *l'Aromatogramme*.

Alors que le troisième chapitre présente une connaissance détaillée des différentes caractéristiques des quatre plantes employées, leur classification, description, composition chimique et leurs propriétés pharmacologiques.

Cependant la partie expérimentale, expose l'étude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de ces plantes selon plusieurs méthodes pour trouver des explications rationnelles aux résultats obtenus, en les comparant avec les jus et les huiles essentielles connus pour leur pouvoir antibactérien.

# *L'ASPECT THEORIQUE*

*CHAPITRE 1*  
*DES BACTÉRIES*  
*AUX ANTIBIOTIQUES*



## 1- Introduction:

L'homme vit dans un environnement peuplé d'un grand nombre de microorganismes qui sont présents dans l'air, dans le sol, dans les eaux douces, dans les eaux marines, à la surface de la peau et les muqueuses ainsi qu'au niveau du tube digestif, de l'arbre respiratoire et de l'appareil urinaire. Ces microorganismes sont constitués par les bactéries, les virus, les champignons et les parasites. Ils sont soit des hôtes naturels de l'homme et donc saprophytes (flore digestive par exemple), soit ils déterminent une infection et donc pathogènes.

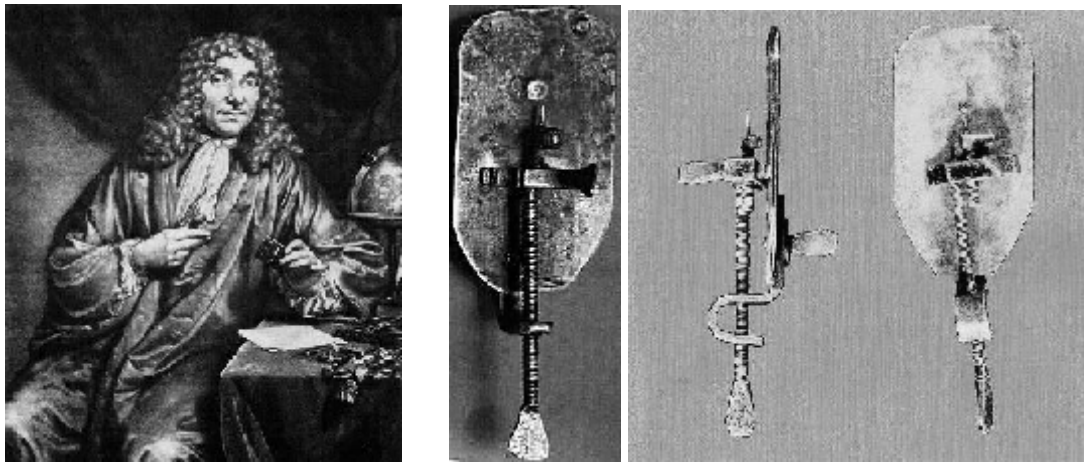
Le monde bactérien est très vaste et les bactéries peuplent notre environnement. Elles assurent à la surface du globe, sur le sol et dans les eaux d'innombrables fonctions; elles exercent des actions bénéfiques (ex: bactéries fertilisantes du sol), mais d'autres peuvent provoquer des infections chez les plantes, les animaux et également chez l'homme [42].

## 2- La découverte du monde microbien:

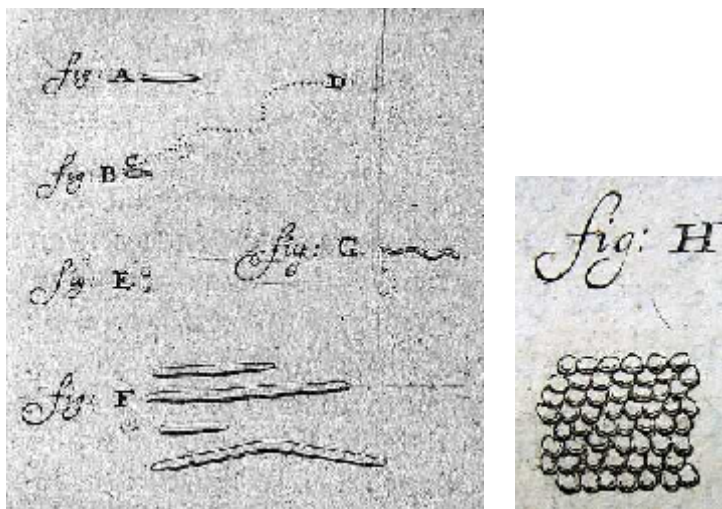
C'est au cours du XVII<sup>e</sup> siècle qu'Antony van Leeuwenhoek<sup>1</sup> révèle au monde scientifique la prodigieuse diversité des microorganismes et l'incroyable richesse des milieux naturels en protozoaires, algues, levures et bactéries. Ses observations et ses magnifiques descriptions sont d'une précision telle qu'aujourd'hui encore elles forcent l'admiration et permettent l'identification [43]. Entre-temps, les médecins continuent d'attribuer les maladies à des "*miasmes*" ou à des causes mystiques, et ils demeurent à peu près imperméables à la notion de contagion. C'est par dizaines de milliers que se comptent les victimes de cette ignorance, fondée sur des croyances philosophiques [50]. Il faut attendre pourtant le XIX<sup>e</sup> siècle et les expériences de Pasteur pour que ce monde microbien soit exploré et que les différents caractères des microorganismes inventoriés apparaissent dans leur immense variété [43, 74].

---

<sup>1</sup> Antony van Leeuwenhoek (1632-1723) marchand hollandais de la ville de Delf ayant des activités scientifiques en plus de ses affaires, ne faisait pas exception à l'époque du XVII<sup>e</sup> et XVIII<sup>e</sup> siècle où les chercheurs professionnels n'existaient pas. Il communiqua ses observations à la "*Royal Society*" de Londres qui publia les travaux scientifiques, et peu après le nomma membre associé en 1680. Il transmit toutes ses découvertes pendant 50 ans jusqu'à sa mort en 1723.



*Fig. n°1: Antony van Leeuwenhoek et ses microscopes.\**



*Fig. n°2: Les premières bactéries vues (de la bouche).\**

(\*) À partir du site: [www.euronet.nl/users/warnar/leeuwenhoek.html](http://www.euronet.nl/users/warnar/leeuwenhoek.html), Antonie van Leeuwenhoek

### 3- Rôle des microorganismes dans les maladies:

Au cours de ses études sur la fermentation, Pasteur s'est intéressé de près à la bière et au vin avariés et a montré que c'était dû à la croissance de microorganismes indésirables. Il a utilisé un terme particulier et significatif pour désigner ces processus d'avaries induits par des germes, il les appela "*maladies du vin et de la bière*". Il envisageait la possibilité pour les microorganismes d'être les agents de maladies infectieuses chez les organismes supérieurs. D'ailleurs, certaines constatations étaient déjà en faveur de cette hypothèse. Dès 1813, il a été montré que certains champignons étaient responsables de maladies du blé et du seigle. En 1836 l'italien Bassi a montré qu'une maladie des vers à soie était provoquée par un champignon. Quelques années plus tard, Schönlein établit que certaines maladies cutanées humaines étaient de nature fongique. En 1845 Berkeley a montré que la maladie de la pomme de terre était provoquée par un champignon

[74]. Ensuite vient Davaine<sup>2</sup> en 1850 qui était le premier à découvrir "*le bacille du charbon*", et l'un des premiers à prouver la responsabilité des germes dans les maladies, c'était *Bacillus anthracis* le premier microbe identifié dans l'histoire de la bactériologie [34, 50].

En dépit de ces informations, très peu de médecins étaient disposés à attribuer une origine microbienne aux principales maladies infectieuses humaines, et moins nombreux encore ceux croyant que des organismes aussi petits et apparemment aussi simples que des bactéries pouvaient être les agents de maladies [74].

Mais avec les expériences de Pasteur<sup>3</sup> et Koch<sup>4</sup>, à peu près en même temps en 1876 sur la maladie du charbon, il a été admis l'existence d'une relation de cause à effet entre un microorganisme et une maladie donnée. Ce travail sur le charbon ouvrit d'un seul coup les portes de l'âge d'or de la bactériologie médicale. Alors Koch concentra ses efforts sur l'isolement, la culture et la caractérisation de l'agent spécifique des principales maladies infectieuses de l'homme. Tandis que Pasteur se tourna d'emblée vers l'analyse expérimentale de l'infection, de la guérison et de l'immunité [50, 74].



*Fig. n°3: Louis Pasteur*



*Fig. n°4: Robert Koch.*

---

<sup>2</sup> Davaine Casimir Joseph: Médecin français (1812-1882). Il fut un précurseur de Pasteur par sa découverte de la bactérie charbonneuse (Bacille de Davaine).

<sup>3</sup> Louis Pasteur (1822-1895) chimiste et microbiologiste français, en étudiant les fermentations il montra qu'elles étaient dues à l'action des microorganismes, et que la théorie des générations dites spontanées des microbes n'existait pas, il étudia les maladies infectieuses et l'agent causal, mais ce qui lui valut la gloire est le vaccin antirabique (contre la rage) (1885). Il a fondé l'Institut Pasteur en 1888, qui poursuit l'œuvre de Pasteur dans le domaine biologique.

<sup>4</sup> Robert Koch (1843-1910) médecin et microbiologiste allemand, il a découvert le bacille du choléra, de la tuberculose (1882) auquel son nom reste attaché: bacille de Koch. Prix Nobel en 1905.



#### 4- L'infection:

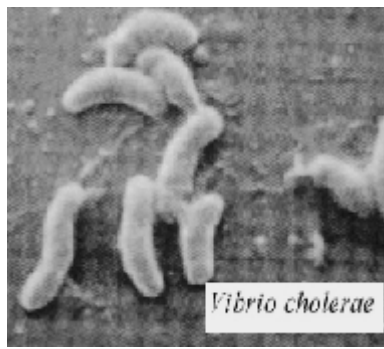
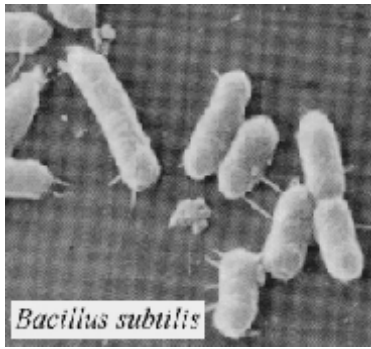
L'infection est la conséquence du développement, dans un organisme sain, de microorganismes pathogènes: bactérie, parasite, virus ou autres. Elle résulte de la rupture d'équilibre qui existe entre le germe et l'homme (hôte). Ce déséquilibre provient donc soit d'une diminution des défenses du sujet (congénitale ou acquise), soit d'un accroissement de virulence de germes [42, 59].

Le monde bactérien, qui sera traité dans ce travail, comprend plusieurs milliers d'espèces mais, seulement près d'une centaine sont pathogènes pour l'homme et l'animal. Une bactérie pathogène est susceptible d'induire, lorsqu'elle infecte un hôte, une maladie se traduisant par des signes anormaux, l'un des plus constants étant la fièvre. Mais il faut distinguer, les pathogènes authentiques qui déclenchent régulièrement une maladie chez des individus aux défenses immunitaires normales, des pathogènes dits opportunistes qui, dans la grande majorité des cas, ne sont à l'origine d'infections que chez des sujets aux défenses immunitaires altérées [43].

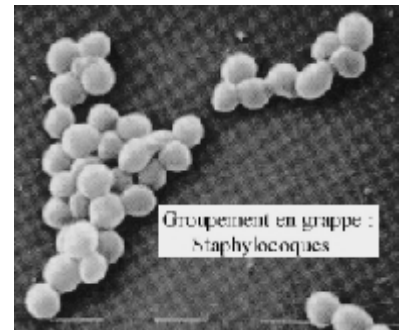
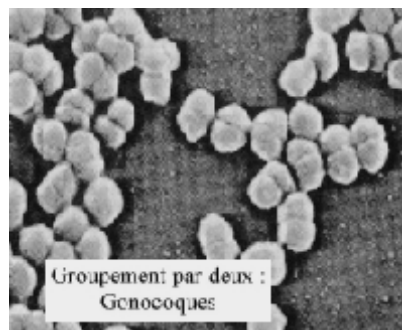
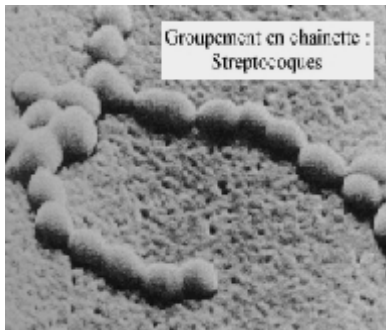
#### 5- Morphologie et Structure fine des bactéries:

Durant de longues années, la bactérie a été considérée comme "*un sac d'enzymes*" car le pouvoir de résolution du microscope optique était insuffisant pour révéler les détails de structure. L'observation des bactéries, alors, permet seulement de reconnaître la forme des cellules (sphérique ou coccoïde, cylindrique ou bâtonnet, spiralée ou hélicoïdale), leurs dimensions (qui varient selon les espèces de 0.1µm à 600µm; les *Entérobactéries* 2 à 3 µm de long, certaines *Spirochaeta* entre 30 et 500 µm) et les arrangements ou les groupements qu'elles constituent entre elles (en grappe, en chaînette, en paire ou diplocoque, en palissade ou paquet d'épingles chez les *Corynébactéries*...). Ce sont les caractéristiques qui définissent la morphologie bactérienne, et qui étaient les critères essentiels de reconnaissance et d'identification, et qui ont un rôle très important dans le diagnostic [43, 47].

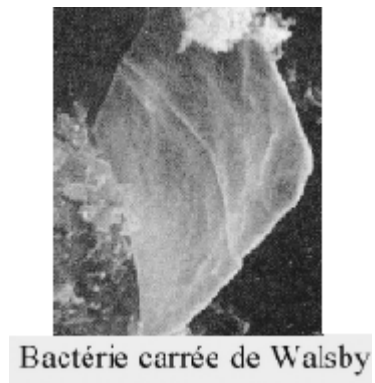
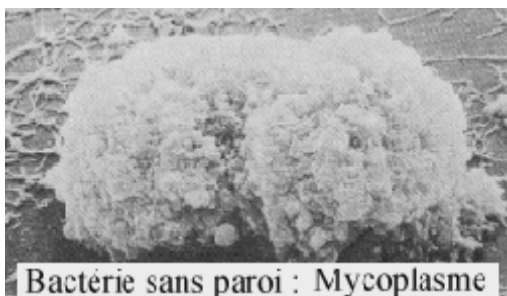
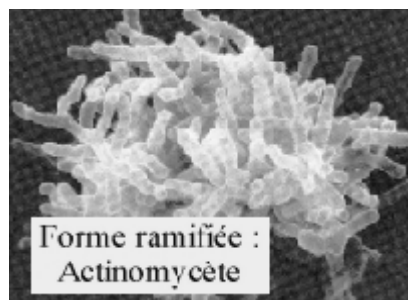
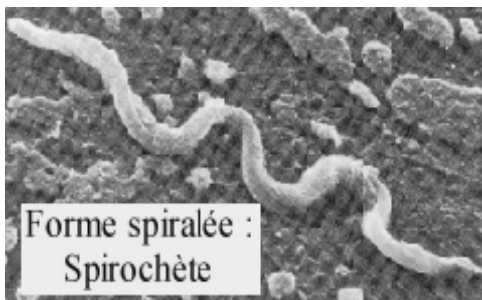
Les caractères morphologiques sont une stratégie d'adaptation et de survie; dans l'environnement aquatique ou tellurique il existe des bactéries qui sont amorphes, ovoïdes, cubiques, étoilées, filamenteuses; elles peuvent être groupées en amas, en paires, et aussi en rosettes en réseau, en cubes, en corps fructifiants, ... [43].



A - Des bacilles.



B - Des cocci.



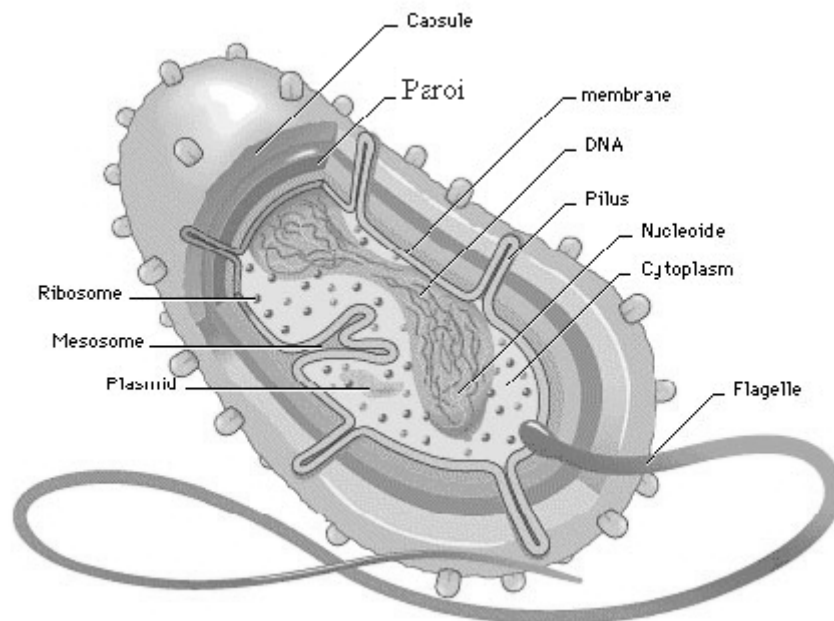
C - Autres formes.

Fig. n°5: Morphologie bactérienne

Pour distinguer entre les bactéries au microscope optique, une méthode importante et largement utilisée en bactériologie, c'est "*la coloration de Gram*"<sup>5</sup>. Elle consiste à traiter des bactéries fixées à la chaleur, par un colorant basique (violet de gentiane) puis une solution iodo-iodurée (mordantage), toutes les cellules se colorent en violet. Soumises ensuite à l'action de l'alcool éthylique elles se répartissent en: cellules qui conservent la coloration violette dites à gram positif et qui sont décolorées, appelées à gram négatif. Pour mieux distinguer ces deux catégories, le frottis bactérien est finalement traité par de la fuchsine basique, les bactéries à gram négatif sont roses et celles à gram positif restent violettes [43].

Après leur réaction avec les différents colorants utilisés par cette méthode, les bactéries se divisent en deux groupes majeurs: *bactéries à gram positif* (colorées en violet), *bactéries à gram négatif* (colorées en rose). Cette distinction de réponse à la coloration de gram est due à la différence qui existe dans la composition des parois bactériennes, celles des bactéries à gram négatif laissent passer la solution alcoolique, tandis que celles des bactéries à gram positif représentent une véritable barrière que la solution alcoolique ne peut franchir [43, 47].

C'est la microscopie électronique avec ses différents modes d'exploitation qui a mis en lumière l'architecture interne de la bactérie telle qu'elle est représentée ci-dessous:



*Fig. n°6: Structure d'une bactérie avec ses différents éléments: obligatoires et facultatifs.*

<sup>5</sup> Découverte par le médecin danois Hans Christian Joachim Gram, mit en 1884 une méthode de coloration des bactéries, toujours utilisée.

La cellule est enveloppée par une *paroi* rigide, qui lui donne sa forme et sa résistance. Epaisse chez les bactéries à gram positif et plus mince chez les bactéries à gram négatif; la paroi entoure une *membrane cytoplasmique*, plus fine et plus délicate. Les bactéries à gram négatif possèdent une seconde membrane, qui est la *membrane externe* pour la distinguer de la *membrane cytoplasmique*, dite *interne*. Le *cytoplasme* sous-jacent contient essentiellement des granulations *d'acide ribonucléique*, les *ribosomes* ainsi que des substances de réserve comme le *glycogène*. *L'appareil nucléaire* se distingue par son aspect fibrillaire, finement réticulé, et qui occupe une grande partie de l'espace cellulaire, et il n'est pas entouré d'une membrane. Il existe des structures membranaires intra-cytoplasmiques appelées *mésosomes* qui sont le plus souvent étroitement associés à *l'appareil nucléaire* (rôle de fixation). D'autres composants peuvent être présents (éléments facultatifs), comme le *glycocalyx* (polymère de surface polysaccharidique), la *capsule*, les *flagelles* (mobilité), les *fimbriae* (fixation sur d'autres cellules), les *pili sexuels* (interviennent au cours des processus de conjugaison). Enfin, certaines bactéries peuvent contenir des éléments *d'ADN circulaires* extra chromosomique ou *ADN mobile*, qui sont les *plasmides* et qui portent des informations génétiques spécifiques (exemple résistance à certains antibiotiques) [43].

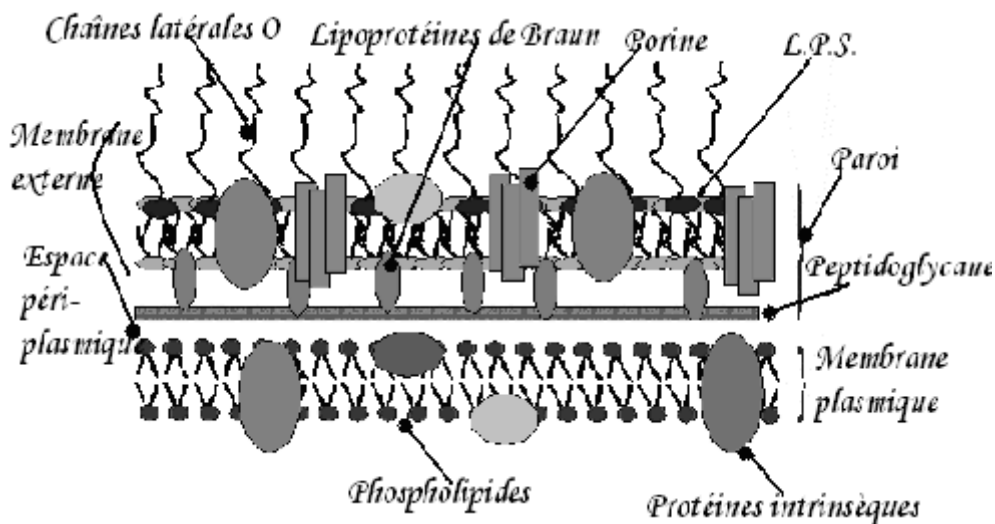
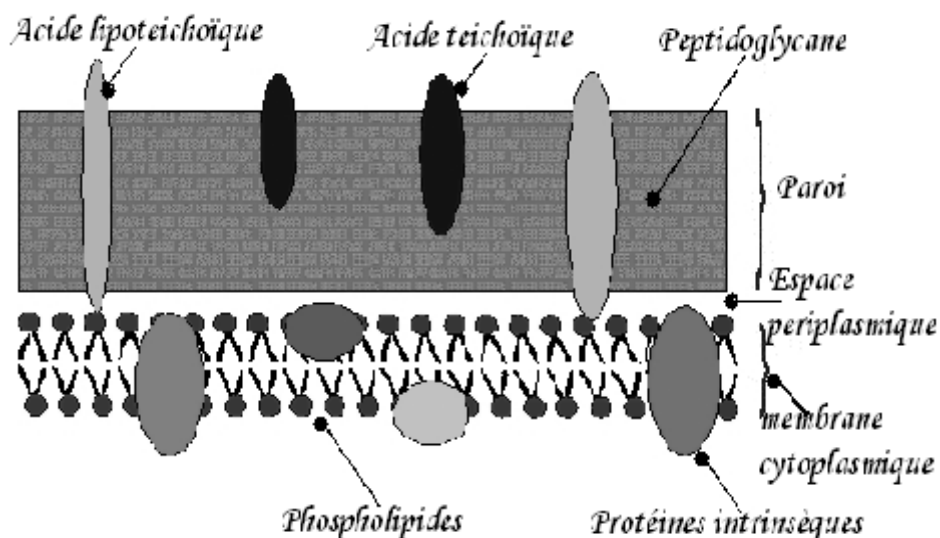


Fig. n°7: Schéma de la paroi des bactéries à gram négatif.



*Fig. n°8: Schéma de la paroi des bactéries à gram positif.*

Les différentes enveloppes bactériennes, parois et membranes, ou autres structures tels les antigènes somatiques, capsulaires, flagellaires..., représentent une architecture essentielle pour s'adapter aux situations de l'environnement, température, osmose, pH; pour se fixer sur des supports (cellules), se nourrir, coloniser et infecter; pour résister aux substances antibactériennes etc. [43].

## 6- Bactériologie médicale:

Avec la diversité des bactéries responsables de maladies infectieuses plus ou moins graves, il ne sera étudié que celles faisant l'objet des expérimentations pratiques.

La plupart des bactéries étudiées ont un pouvoir pathogène naturel et sont résistantes naturellement à certains antibiotiques.

### 6-a- bactéries à gram négatif:

#### 6-a-1- Genre *Pseudomonas*:

Ce genre appartient à la famille des *Pseudomonadaceae*. Les bactéries de cette famille sont des bâtonnets, mobiles par cils polaires, aérobies strictes. Les *Pseudomonas* cultivent facilement sur milieux usuels, en aérobiose, à la température de 30°C, certaines espèces comme *P.aeruginosa* en sont capables à 41°C et même 43°C; ce caractère étant utilisé pour le

diagnostic. La production d'un pigment est assez commune dans le genre. Deux sont particulièrement fréquents et utiles pour la reconnaissance des espèces: la pyocyanine, pigment phénazinique, soluble dans l'eau et le chloroforme, spécifique de l'espèce *P.aeruginosa*; la pyoverdine, ou pigment vert fluorescent, soluble uniquement dans l'eau et élaborée en particulier par *P.aeruginosa* et *P.fluorescens*. Ces bactéries sont capables d'utiliser une variété très large de substrats comme source de carbone et d'énergie. Ceux-ci comprennent les glucides, lipides, acides aminés, acides organiques, et aussi un grand nombre de corps aromatiques benzéniques, phénoliques, terpénique, des stéroïdes, etc.

Dans le genre *Pseudomonas* quelques espèces se signalent à l'attention, du fait de leur pouvoir pathogène opportuniste. *P.aeruginosa*, l'espèce type, est un germe ubiquiste communément rencontré dans le sol et plus encore dans les eaux, capable de se multiplier à 41°C contrairement à *P.fluorescens* et *P.putida*. Fréquemment isolé sur la peau et les muqueuses de l'homme ou de l'animal, il est aussi particulièrement résistant aux antibiotiques et même aux antiseptiques. En milieu hospitalier il est à l'origine de surinfections et de suppurations locales ou profondes, isolé essentiellement chez des patients présentant une immunodéficience locale ou générale (brûlés, cancéreux, etc.), et très fréquemment impliqué dans les infections nosocomiales (infections pulmonaires, cutanées...). De même qu'il est phytopathogène avec beaucoup d'autres espèces du même genre [43].

#### **6-a-2- Genre Acinetobacter:**

Les *Acinetobacter* appartiennent à la famille des *Neisseriaceae*, ce sont des bacilles à gram négatif, souvent coccoïdes, aérobies stricts, et habituellement résistants à la pénicilline. Elles ont un caractère ubiquiste, présentes naturellement dans le sol et les eaux, possédant des capacités de dégradation voisines de celles des *Pseudomonas*, et par conséquent, ont un rôle important dans les processus de minéralisation (eaux) ou d'altération (aliments).

Elles colonisent la flore cutanée des patients hospitalisés, et sont de plus en plus fréquemment rencontrées dans les infections nosocomiales chez les malades immunodéprimés: septicémies, méningites, endocardites, abcès du cerveau, pneumonies... *A.baumannii* est l'une des espèces les plus représentatives. Leur grande résistance aux antibiotiques (voisine des *Pseudomonas*) est à l'origine de leur expansion hospitalière [43].

### **6-a-3- Famille des Entérobactéries:**

Ce sont des hôtes du tube digestif de l'homme et des animaux, mais aussi de nombreuses souches de cette famille ont été isolées de l'environnement aquatique ou terrestre. Les bactéries de cette famille cultivent facilement sur milieux ordinaires et utilisent une très large variété de composés organiques simples comme source d'énergie: sucres, acides aminés, acides organiques. Elles sont anaérobies facultatives, bâtonnets, mobiles par cils péritriches ou immobiles, possédant des fimbriae appelés aussi pili communs, qui leur confèrent des propriétés hemagglutinantes, et dans certains cas, des propriétés d'adhésion aux cellules animales. La présence d'une capsule est parfois observée chez les *Klebsiella*. La plupart des Entérobactéries pathogènes se multiplient à la température optimale de 37°C [43].

#### **i- Genre *Salmonella*:**

Les bactéries du genre *Salmonella* forment une seule espèce, à l'intérieur il y a plusieurs sous espèces, chaque sous espèce est divisée en sérotypes caractérisés par une formule antigénique spécifique. Les sérotypes peuvent être subdivisés à leur tour en biotypes (caractères biochimiques). Les sérotypes de *Salmonella*, sont identifiés par leurs réactions antigéniques.

Certaines *Salmonella* sont strictement adaptées à l'homme comme: *S.typhi*, *S.paratyphi* (A, B et C), *S.sendaii*, responsables de la fièvre typhoïde et paratyphoïde humaine, et ne manifestent pas de pouvoir pathogène en dehors de l'espèce humaine, ce sont les "salmonelles majeures". Et il y a d'autres sérotypes, qui peuvent engendrer des toxi-infections alimentaires comme *S.enteritidis* et *S.typhimurinum*, qui sont connues comme des "salmonelles mineures" [43, 28], qui peuvent déterminer des infections chez de nombreuses espèces animales [7]. Un manque d'hygiène est très souvent à l'origine de la transmission.

#### **ii- Genre *Escherichia*:**

Ce genre comprend 5 espèces, mais *E.coli* est la plus importante. Cette espèce est subdivisée en sérotypes sur la base des antigènes présents.

*E.coli*, un hôte commun de l'intestin de l'homme ( $10^8$  / g de selles), et des animaux; elle est recherchée à ce titre, comme germe témoin de contamination fécale, dans l'eau et les aliments.

A l'intérieure de l'espèce il y a des pathotypes souvent associés à des sérotypes particuliers. Certains de ces pathotypes sont responsables d'infections intestinales (gastro-entérites et diarrhées), leur pouvoir pathogène est induit par des facteurs d'adhésion et/ou la production d'entérotoxines. *E.coli* entéropathogène (diarrhées infantiles), *E.coli* entérotoxigène

(turista), *E.coli* entéroinvasif (invasion des cellules intestinales), *E.coli* entérohémorragique (diarrhées sanglantes), *E. coli* entéroadhérent (diarrhée du voyageur).

D'autres responsables de méningites néonatales, provoquent des infections du tractus urinaire, ou encore des septicémies qui correspondent à un nombre restreint de sérotypes [43].

### **iii- D'autres Entérobactéries:**

C'est surtout des souches opportunistes responsables de nombreuses infections chez l'homme, en particulier les malades hospitalisés ou immunodéprimés. Ils ont une capacité de résister à de nombreux antibiotiques ce qui explique la gravité de certaines de ces infections [7].

Les *Proteus*: Caractérisés par leur grande mobilité, et sont vraisemblablement d'origine tellurique. Certaines espèces d'intérêt médical tels *P.mirabilis*, *P.vulgaris*, *Morganella morganii* (ancien *Proteus morganii*), peuvent induire des infections des voies urinaires (dans 60% des cas d'infections urinaires), des infections cutanées (surinfections des plaies chirurgicales, brûlures...), des infections des voies respiratoires (otites chroniques suppurées, sinusites ...), et même des septicémies [7].

Le groupe K.E.S: C'est-à-dire *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia* ou groupe des acétoïne positive (un métabolite de leur fermentation). Il rassemble des espèces considérées depuis longtemps comme commensales, et actuellement responsables d'un grand nombre de complications infectieuses en milieu hospitalier. Les infections broncho-pulmonaires souvent dues à *K.pneumoniae* (1 à 5 % de toutes les pneumonies bactériennes) et plus rarement sont rencontrés *Enterobacter* et *Serratia*. Les bactéries K.E.S. provoquent 20 % des infections urinaires nosocomiales avec une prédominance de *K.pneumoniae*. Autres infections secondaires dues à des soins ou des gestes chirurgicaux: cutanées, vasculaires, péritonéales, vésiculaires ou des septicémies causées par un matériel souillé (la mortalité reste élevé malgré une antibiothérapie adaptée) [7].

*Citrobacter*: Il fait partie du groupe des coliformes intestinaux qui sont des indicateurs de contamination fécale, recherchée dans l'eau et les aliments [43]. *Citrobacter freundii* est rarement observée dans les infections urinaires, respiratoires ou septicémiques uniquement chez les malades immunodéprimés. Ces bactéries commensales posent un problème de diagnostic différentiel avec les Salmonelles [7].



## 6-6- bactéries à gram positif:

### 6-b-1- Genre Staphylococcus:

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques, qui se divisent sur plusieurs plans pour former des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin, d'où leur nom (en grec staphylos), ils sont immobiles et cultivent sur des milieux contenant 5% de Na Cl et pour certains jusqu'à 10 et même 15%. Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs.

Les staphylocoques sont des germes ubiquistes largement distribués dans l'environnement naturel de l'homme, mais ils le sont plus fréquemment et en plus forte densité sur les surfaces cutano – muqueuses des mammifères.

Il existe une certaine relation entre les espèces de staphylocoques et l'hôte qui les héberge. *S.epidermidis* est l'espèce la plus fréquente et la plus abondante sur les surfaces cutanées de l'homme. *S.aureus* est l'espèce prédominante chez l'homme et autres mammifères, la cavité nasale de l'homme est sa niche préférentielle.

Les staphylocoques ont un pouvoir pathogène opportuniste extrêmement large qui s'exerce avec une grande fréquence en milieu hospitalier. L'espèce *S.aureus*, responsable d'infections pyogènes de la peau et des muqueuses (furoncle, impétigo, staphylococcie maligne de la face, staphylococcies bulleuses, etc.), mais aussi osseuses (ostéomyélite), digestives (entéocolites post-antibiotiques), septicémiques. *S.epidermidis* un agent de plus en plus fréquent d'infections nosocomiales [43].

### 6-b-2- Les Streptocoques:

Ils sont subdivisés selon les études phylogénétiques en trois genres majeurs: le genre *Streptococcus* correspondant aux espèces d'intérêt médical en particulier *S.pyogenes* (groupe pyogenes), et à celles de la cavité orale qui comprennent les espèces  $\alpha$  – hémolytiques (groupe viridans), le genre *Enterococcus* qui rassemble les espèces de la flore intestinale de l'homme et de certains animaux (groupe entérocoques), et le genre *Lactococcus* propre aux espèces lactiques (groupe lactique).

Les Streptocoques sont des cellules ovoïdes, sphériques ou quelquefois allongées en fuseaux, se divisent sur un seul plan pour former des paires ou des chaînettes. Ce sont des anaérobies aérotoles c'est-à-dire incapables d'utiliser l'oxygène mais se multiplient en sa présence, se cultivent bien dans une atmosphère contenant du CO<sub>2</sub>.

Les espèces du premier groupe, peuvent être responsables d'infections de gravité variable. *S.pyogenes* est un hôte inconstant du rhino-pharynx des individus en bonne santé et

peut déterminer des infections aiguës, de la sphère ORL (angines érythémateuses, scarlatine, rhinites, sinusites, otites), de la peau et des muqueuses (érysipèle, impétigo, pyodermite), des complications non suppurées (rhumatisme articulaire aigu, glomérulonéphrite aiguë). *S.agalactiae* est un pathogène pour le nouveau né ou le jeune enfant (méningite, pneumonie, conjonctivite, otite). Le deuxième groupe représente l'essentiel de la flore microbienne de la bouche et des voies respiratoires supérieures, *S.mutans* qui rassemble sept espèces dont le rôle dans la carie dentaire est discuté, *S.oralis* (huit espèces) certaines de ces espèces sont isolées au cours d'infections purulentes ou d'endocardites.

Les espèces du groupe des Entérocoques n'ont pas un rôle important dans les infections mais sont quelquefois isolées dans les endocardites et les infections urinaires. Ils sont recherchés aussi comme indicateurs de contamination fécale des eaux de consommation et des produits alimentaires [43].

## 7- Les Antibiotiques:

### 7-1- Introduction:

Pour de multiples raisons, il est apparu utile et, dans certains cas indispensable, de contrôler le développement des microorganismes, car certaines bactéries sont hautement pathogènes pour l'homme ou l'animal et qu'il fallait tout naturellement se protéger de leurs effets néfastes et empêcher la transmission des maladies infectieuses.

Les bactéries ne sont pas seulement nuisibles pour l'homme et l'animal, mais d'autres produits, substances ou matériaux peuvent être détruits ou altérés sous l'effet de leur multiplication: détérioration des produits alimentaires; plusieurs monuments d'un grand intérêt historique sont dégradés (*maladie de la pierre*); les canalisations aussi peuvent être perforées. Alors, il est devenu indispensable à l'homme de mener une lutte contre l'envahissement des microorganismes, pour conserver ses biens, son potentiel industriel, son patrimoine artistique et pour "*protéger son existence*" même.

Les moyens de lutte sont nombreux, les agents physiques (température, rayonnements...), les agents chimiques (métaux lourds, chlore et dérivés, alcools...) sont très actifs mais nocifs, aussi bien pour les bactéries que pour les cellules humaines ou animales. Mais il y a d'autres agents, possédants une "*toxicité sélective*": ils s'opposent à la multiplication bactérienne sans nuire aux cellules de l'hôte, et sont utilisés pour cette raison en thérapeutique, ce sont les "*Antibiotiques*" [43].

## 7-2- Définition:

Qui s'oppose à la vie, terme créé par Waksman<sup>6</sup> [7]. Ce sont des substances chimiques élaborées par des microorganismes; ces substances possèdent le pouvoir d'inhiber la croissance ou le développement d'autres microorganismes (bactéries) [42], dans lesquelles elles pénètrent en perturbant le métabolisme [28] ou en agissant spécifiquement sur une étape essentielle de ce dernier [7], mais qui sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules humaines ou animales [43]. Le cadre des antibiotiques était limité d'abord à des substances d'origine biologique produites par des champignons, s'est élargi plus tard et comprend actuellement d'autres produits possédant la même action antibactérienne, mais obtenus par synthèse [28].

Selon leur formule chimique, la manière dont-ils agissent sur les microorganismes et leurs effets cliniques, les antibiotiques sont groupés en dix familles (suivant les références): les bêtalactamines, les aminosides (ou oligosaccharides), les phénicol, les tétracyclines, les polypeptides, les macrolides, les antituberculeux, les antifongiques, les antimétabolites et les antibiostatiques [28, 43, 47].

Le mode d'action des antibiotiques est, soit bactériostatique (empêche le développement microbien) essentiellement tétracyclines, phénicol, macrolides; soit bactéricide (qui détruit les germes) les bêtalactamines, les aminosides, les polypeptides [28, 42]. Chaque antibiotique possède un spectre d'action, qui est la flore microbienne sur laquelle il exerce son activité bactéricide ou bactériostatique, il est d'autant plus large, ou étendu, que le nombre des espèces microbiennes sensibles est grand. Le spectre d'action varie d'un antibiotique à l'autre [28].

## 7-3- Une découverte très ancienne:

Il y a 3500 ans, les égyptiens consommaient couramment et surabondamment de la streptomycine naturelle, comme l'indiquent les analyses de squelettes de cette époque. Avant 2500 ans, les chinois avaient constaté que la crème de soja sur laquelle s'étaient développées des moisissures était efficace contre les infections de la peau, et ils s'en servaient couramment. Il a été rapporté aussi que durant la seconde guerre mondiale, les prisonniers russes des camps allemands, qui acceptaient de manger du pain moisi, souffraient moins de furonculose que les autres [50].

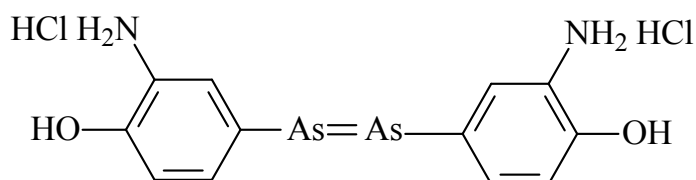
---

<sup>6</sup> Selman Abraham Waksman (1888-1973) microbiologiste américain d'origine russe, prix Nobel en 1952 pour la découverte de la Streptomycine en 1944.

## 7-4- Les premiers agents antibactériens:

Après la découverte du rôle pathogène des microbes, Pasteur s'est penché vers l'immunologie et la préparation des vaccins. Bien que la recherche de nouveaux médicaments antibactériens s'est poursuivie.

Vers 1909 une notion de thérapeutique au moyens de médicaments "*sélectivement toxiques*" pour les microbes sans endommager les cellules animales ou humaines était introduite par Ehrlich<sup>7</sup>, grâce à des observations effectuées sur la coloration sélective des bactéries dans les préparations de tissus infectés. Suivant l'idée de la toxicité sélective, de nombreux bactériologistes ont centré leurs espoirs sur les colorants. Mais pendant plusieurs années, les résultats des expériences au moyen des colorants n'ont apporté que déception [43, 74]. Cependant, l'étude systématique des composés organiques de synthèse a conduit Ehrlich à la découverte des "*arsphénamines*", dérivés arsenicaux actifs dans le traitement de "*la syphilis*", leur chef de file était le *Salvarsan* [43, 47].

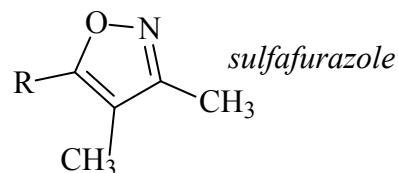
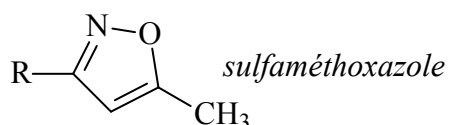
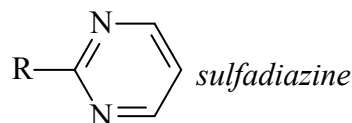
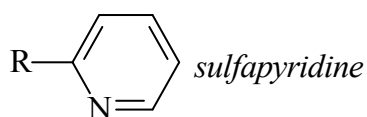
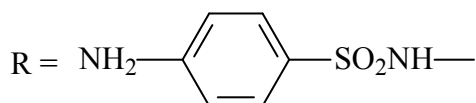


*Fig. n°9: le Salvarsan*

Plus tard, un certain Domagk<sup>8</sup> en Allemagne signala qu'un colorant diazoïque: la para-sulfamidochrysoïdine appelé "*Prontosil*" pouvait guérir les infections bactériennes des souris grâce à une véritable toxicité sélective, et la seule fraction active est un corps simple: le para-aminobenzène-sulfanylamide ou "*Sulfamide*" [43, 74], c'était un dérivé des acides sulfoniques, dits "*Sulfamides*", qui a été commercialisé en 1932 [50]. En moins de dix ans, plus de 5000 dérivés du sulfamide ont été synthétisés [43], mais peu qui ont été utilisés en thérapeutique.

<sup>7</sup> Paul Ehrlich (1854-1915) médecin allemand, il découvrit l'action des arsénobenzènes sur la syphilis, prix Nobel en 1908.

<sup>8</sup> Gerhard Domagk (1895-1964) médecin allemand; il a découvert le premier sulfamide utilisé en thérapeutique; Prix Nobel en 1939: Further progress in chemotherapy of bacterial infections.



*Fig. n°10: Structures de quelques sulfamides d'intérêt médical.*

### 7-5- La pénicilline:

La connaissance du pouvoir bactériostatique de certains microorganismes vis-à-vis d'autres microorganismes avait déjà été signalée par Pasteur et Joubert<sup>9</sup>, tandis que l'ère véritable des antibiotiques commença en 1929 avec Fleming<sup>10</sup> [43]. Cette demi découverte de Fleming ne fut complétée que près de dix ans plus tard par d'autres chercheurs, qui déclenchèrent enfin la production industrielle des antibiotiques [50].

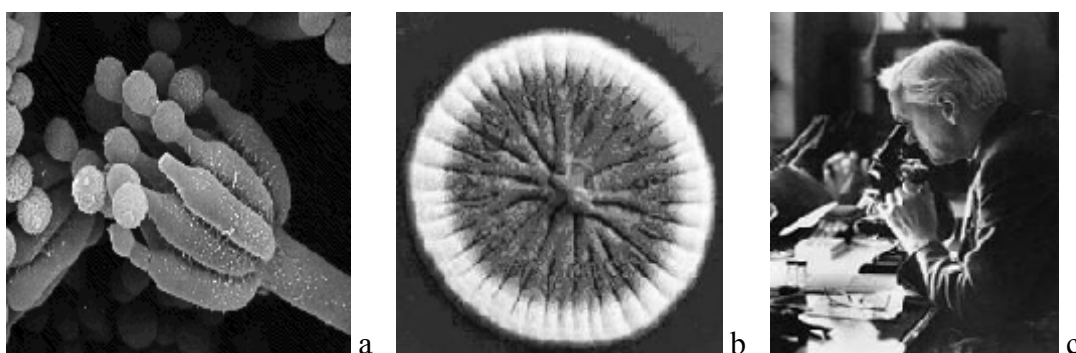
L'été de 1928, Fleming découvrit que quelques boîtes étaient contaminées par une toute petite tache verte qui se développait sur les cultures des Staphylocoques, l'espace environnant la moisissure devenait claire, et les bactériesensemencées étaient inhibées. Il conduisit ses recherches pour mieux connaître la moisissure, c'était *Penicillium notatum* – espèce bien connue des biologistes étudiant les végétaux microscopiques – qui sécrétait un suc capable de détruire différentes bactéries. Il testa alors le suc sur une goutte de sang, sur des animaux de laboratoire, puis sur un homme volontaire (son assistant Stuart Craddock), pour déduire enfin que le suc du *Penicillium* qu'il nomma "*Pénicilline*", n'était pas nuisible à l'homme, en plus de son action destructive vis-à-vis des bactéries pathogènes [34, 74].

<sup>9</sup> Joubert, collaborateur de Pasteur dans son travail sur la maladie du charbon vers 1876 (possédant des connaissances médicales).

<sup>10</sup> Sir Alexander Fleming (1881-1955) médecin et bactériologiste britannique, auteur de travaux sur l'action des antiseptiques. Sa découverte de la pénicilline lui valut le prix Nobel de physiologie et de médecine en 1945.

En Juin 1929, Fleming publia son premier mémoire sur la pénicilline, mais son rapport passa presque inaperçu et n'attira que très peu d'attention. Pour plusieurs raisons, principalement la difficulté d'obtenir la pénicilline pure du fait de son instabilité [34], en plus, plusieurs chercheurs avant Fleming avaient observé ce phénomène, ainsi que l'utilisation en thérapeutique avait même été proposée [74].

Dix ans plus tard, en 1938 deux chercheurs de l'université d'Oxford: Florey<sup>11</sup> et Chain<sup>12</sup> avaient utilisé de nouvelles méthodes pour isoler la pénicilline. Ils l'avaient obtenue extrêmement pure et active un million de fois plus que celle employée par Fleming dans ses premières expériences, mais en quantités insuffisantes. En Février 1941, ils réussirent à extraire le contenu d'une cuillère de pénicilline jaune (ou pure), toujours insuffisante pour sauver la vie d'un malade ayant une infection bactérienne. En collaborant avec les américains et après une année de recherches, ils rapportèrent ce qu'ils n'avaient pas réalisé [34]: produire la pénicilline en grandes quantités et éprouver cliniquement sa valeur thérapeutique, ce qui a permis son utilisation par les armées alliées pendant la seconde guerre mondiale [74].

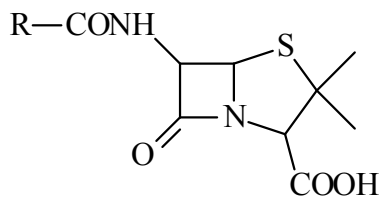


*Fig. n°11: a- Un Pénicillium (forme de pinceau) observé au microscope. b- vue macroscopique du champignon sur boîte. c- Sir Alexander Fleming.*

---

<sup>11</sup> Sir Howard Florey (1898-1968) médecin australien d'origine anglaise, découvrit avec Chain et Fleming les applications médicales de la pénicilline. Et il partagea avec eux le prix Nobel de médecine en 1945.

<sup>12</sup> Ernest Boris Chain (1906-1979) biochimiste britannique, collaborateur de Florey et Fleming à la mise au point de la pénicilline. Partagea avec eux le prix Nobel de médecine en 1945.



Pénicilline G R = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>—  
 Pénicilline V R = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OCH<sub>2</sub>—  
 Ampicilline R = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH(NH<sub>2</sub>)—  
 Amoxicilline R = *p*. HOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH(NH<sub>2</sub>)—

*Fig. n°12: Structure de la Pénicilline et quelques dérivés.*

Pour répondre à la demande croissante et réaliser une meilleure rentabilité, d'autres procédés avaient été utilisés, il a pu être découvert une espèce dérivée avec un meilleur rendement en pénicilline, peu après il a été trouvé de nouvelles substances nutritives favorisant la culture et le rendement de la moisissure [34]. A partir de 1939 et pendant une vingtaine d'années, des centaines d'antibiotiques ont été isolés surtout à partir d'actinomycètes. Mais depuis 1965, c'est la période des antibiotiques semi-synthétiques ayant un spectre d'activité élargi par rapport aux antibiotiques naturels. Leur utilisation clinique, dès la fin de la première moitié du XX<sup>e</sup> siècle, a radicalement modifié le pronostic des maladies infectieuses d'origine bactérienne [43].

Ainsi, et par la découverte de la pénicilline, l'homme espérait qu'il pourrait gagner la guerre contre les maladies infectieuses [34] dont certaines avaient été parmi les fléaux les plus redoutés de l'humanité et qui avaient perdu leur importance dans de nombreuses parties du monde [74]. Cependant un problème s'était présenté: la résistance!

### 7-6- Mode d'action des antibiotiques et Résistance bactérienne:

Des docteurs dans un hôpital en Australie rapportèrent en 1948 que certaines bactéries semblaient être plus puissantes que la pénicilline. Une nouvelle question s'est imposée désormais: comment ces bactéries pouvaient elles échapper à l'action destructive de la pénicilline? [34].

A la différence des antiseptiques, les antibiotiques agissent sur des cibles bactériennes précises, à des concentrations mille à dix mille fois plus faibles que les antiseptiques. Chaque famille d'antibiotiques regroupe un nombre de molécules très variable, ayant une structure de base identique. Certaines molécules altèrent la structure des bactéries en inhibant la formation de leur paroi: cas des  $\beta$ -lactamines, des glycopeptides et de la fosfomycine, qui bloquent différentes étapes de la voie de synthèse du peptidoglycane; ou en désorganisant leurs membranes (cas des polymyxines). D'autres, comme les aminoglycosides, les tétracyclines, les phénicoles, les macrolides, les lincosamides et les streptogramines, qui se fixent sur le ribosome bactérien

inhibant différentes étapes de la synthèse protéique. La synthèse des acides nucléiques (ADN et ARN) peut aussi être perturbée par les antibiotiques: cas des sulfamides, du triméthoprime, des quinolones, des rifamycines et des nitro-imidazoles [7, 43].

En revanche, les bactéries avaient trouvé les moyens pour résister et par conséquent, éviter l'action des antibiotiques, et se développer en présence d'une concentration en antibiotique significativement plus élevée que celle habituellement active sur les souches de cette espèce. Il faut distinguer la résistance innée ou naturelle, de la résistance acquise apparaissant chez des bactéries sensibles aux antibiotiques. Celle-ci, correspond à une adaptation des bactéries aux antibiotiques, qui est due soit à des mutations, soit à la présence de nouveaux gènes portés par des plasmides ou des transposons. La résistance par mutation chromosomique ne concerne qu'un faible pourcentage des souches isolées en clinique; par contre la résistance d'origine plasmidique est beaucoup plus fréquente, découverte à la fin des années 50, au Japon à la suite d'une épidémie de dysenterie bacillaire [43].

Schématiquement, les mécanismes généraux qui permettent aux bactéries de résister à un antibiotique:

- 🌿 Par *impermeabilité* des bactéries, aux  $\beta$ -lactamines qui concerne uniquement les bactéries à gram négatif (principalement les *Pseudomonas*) peut être due à une diminution quantitative des canaux de transport hydrophiles (porines) ou une modification de la structure de ces porines ou des LPS (lipopolysaccharide), ces altérations sont consécutives à une mutation dans le génome bactérien, et elles affectent assez souvent le passage d'autres antibiotiques, chloramphénicol, quinolones, tétracyclines: c'est une résistance croisée.
- 🔪 Par *inactivation de l'antibiotique*, action enzymatique sur les  $\beta$ -lactamines par ouverture du cycle  $\beta$ -lactame, qui est le mécanisme principal de résistance des bactéries à ces antibiotiques, ce sont des  $\beta$ -lactamases. Parfois leur synthèse est augmentée en présence de  $\beta$ -lactamines, l'enzyme alors est inductible (cas de la pénicillinase de *Staphylococcus aureus*).
- 🌿 Par *altération de la cible cellulaire de l'antibiotique*, ou modification de la cible sur laquelle se fixe l'antibiotique cas des  $\beta$ -lactamines se fixant sur les PLPs (protéines de liaison aux pénicillines), essentiellement observée chez les bactéries à gram positif, ou la synthèse de molécules ayant une faible affinité pour les antibiotiques. [7, 43]



## 7-7- Toxicité des Antibiotiques :

En plus de son action sur les bactéries, un antibiotique peut exercer des effets néfastes sur les cellules eucaryotes. Cette toxicité se manifeste la plupart du temps quand la dose administrée est trop élevée ou lorsque le traitement est de longue durée. Par ailleurs, certains antibiotiques peuvent augmenter les effets thérapeutiques et toxiques d'autres médicaments en inhibant leur fixation, ou leur inactivation dans l'organisme.

Il faut noter que les troubles toxiques causés par les antibiotiques sont différents d'une famille à l'autre, et même dans une famille il y a des discordances entre les antibiotiques, il peut y avoir une molécule très toxique et l'autre dépourvue de toxicité ou peu toxique. Cas de la streptomycine qui n'est pratiquement pas toxique pour le néphron, alors que la néomycine est la plus toxique pour cet organe. [7]

\* Toxicité Hépatique: Les antituberculeux peuvent induire des désordres importants dans le métabolisme du foie: lyse hépatocytaire (cytolyse) parfois associée à une cholestase. Une insuffisance hépato-cellulaire aiguë, consécutive à une dégénérescence graisseuse du parenchyme hépatique peut apparaître lors d'un traitement par la tétracycline.

\* Toxicité rénale: Une nécrose du tube contourné proximal, fréquemment associée à une infiltration cellulaire modérée de l'interstitium est observée lors de l'administration d'un aminoside à posologie trop élevée. Dans cette famille le risque de néphrotoxicité n'est pas le même pour tous les antibiotiques. Une tubulo-néphrite aiguë interstitielle peut se développer au cours d'un traitement mal conduit (posologie trop élevée) par la colistine (polymyxine E).

\* Toxicité du système nerveux et des organes sensoriels: Une neuropathie sensitivo-motrice périphérique représente l'un des effets indésirables sur le système nerveux le plus souvent observé lors de l'utilisation d'antibiotiques, ex: isoniazide, en particulier chez les sujets âgés, alcooliques ou dénutris. Cette polynévrite peut également se développer au cours d'un traitement prolongé ou d'un surdosage de certains antibiotiques. Des troubles visuels, telle une névrite optique, surgissent en cas de surdosage.

\* Toxicité hématologique (sang et la moelle osseuse): Causée principalement par le chloramphénicol; un déficit transitoire de l'hématopoïèse se traduisant par une anémie progressive, parfois accompagnée d'une leucopénie ou une thrombopénie modérée. Autres antibiotiques (ou une association) peuvent provoquer une agranulocytose, inhibition de l'agrégation plaquettaire, diminution de la synthèse de prothrombine.

\* Autres types de toxicité: de la peau (éruption prurigineuse ou urticarienne, érythème noueux, ulcération des muqueuses oculaires ou buccale...); du tube digestif (nausées, épigastralgies,

vomissements, et diarrhée par modification de la flore microbienne intestinale); dents, os et articulations (altération de la minéralisation dentaire et osseuse, arthralgies, parfois hypoplasie de l'émail ou dyschromie dentaire définitive chez les enfants de moins de 8 ans); allergie (œdème laryngé, collapsus cardio-vasculaire, choc anaphylactique qui est déclenché surtout par les  $\beta$ -lactamines chez un patient antérieurement sensible à l'antibiotique).

### 8- Annotation:

Malgré l'importance des antibiotiques et leur utilité dans le traitement de diverses maladies infectieuses, plusieurs obstacles se sont manifestés: résistance, multi résistance, toxicité; ce qui a poussé un grand nombre de gens à fuir ces traitements pour se diriger vers la *médecine douce* ou *médecine naturelle "moderne"* avec ses différentes disciplines: *phytothérapie, aromathérapie, nutrithérapie (diétothérapie)*, basée sur les connaissances antiques et leurs applications scientifiques rigoureuses, *in vitro* (au laboratoire) et même *in vivo* (essais cliniques); qui s'est montrée aussi efficace que les remèdes chimiques et moins nuisibles et pour la plupart des cas, sans danger.

# CHAPITRE 2

## L'AROMATHERAPIE



## *I- Historique:*

Le nom de parfum vient du latin "*per fumum*" qui veut dire "*à travers la fumée*" [31]. L'origine des parfums remontait à la préhistoire où déjà les hommes brûlaient des bois odoriférants, pratique encore utilisée. L'histoire des *arômes* et des *baumes* est très ancienne, ils étaient utilisés lors des cérémonies religieuses et dans le traitement des maladies [8, 31, 75]. En outre, les *résines aromatiques*, les *épices* et les *parfums* étaient utilisés comme "*monnaie d'échange*" ou comme "*cadeaux*" entre souverains, du fait de leur coût élevé [75]. L'usage des "*huiles parfumées*" ou "*parfums*" de cette époque, était limité à une certaine catégorie de gens, et comme signe d'hospitalité, ils parfumaient leurs hôtes en versant sur la tête un bol d'huile. Plus agréable, enduire les colombes d'arômes et les faire voler dans la pièce pour créer un parfum d'ambiance [31].

En Egypte, avant 5000 ans, ils réalisaient des vins aromatiques aux vertus anesthésiques, les huiles aromatiques de cèdre et de basilic servaient à l'imprégnation des tissus utilisés pour l'art de l'embaumement. Il y a 4000 ans, à Babylone ils brûlaient du cyprès pour lutter contre les épidémies. Avant 3500 ans en Chine, le massage se pratiquait à l'aide de préparations déo-aromatiques. En Europe, il apparut plusieurs savants, qui avaient contribué – avec leurs ouvrages – à la connaissance des herbes médicinales et aromatiques ainsi que d'autres plantes [5, 91].

Le commerce des plantes et de leurs substances (épices, arômes...) était florissant, et les Arabes eurent un rôle capital dans leur expansion dans l'antiquité, ils commençaient déjà avec l'Inde, le Proche-Orient et l'Afrique, si bien que les Grecs crurent que de nombreuses substances végétales provenaient d'Arabie [5].

Avec la chute de Rome au V<sup>e</sup> siècle, le centre du savoir classique se déplaça vers l'est et l'étude de la médecine galénique se concentra à Constantinople et en Perse. Elle fut adoptée par les Arabes et fusionna avec les croyances populaires et les survivances des connaissances égyptiennes. Ce mélange de conceptions médicinales, de pratique classique et de traditions reviendra en Europe plus tard. Les Arabes qui étaient de grands négociants avaient ajouté de nombreuses herbes et épices exotiques d'Orient, telles que la muscade, les clous de girofle, le safran, le séné, à la "*Materia Medica*" de Dioscorides<sup>1</sup> et celle de Galien<sup>2</sup> [55].

---

<sup>1</sup> Dioscorides vers 70, médecin grec de l'armée romaine, auteur d'un traité de pharmacologie, traduit en latin sous le titre de « *Materia Medica* » : *Matière Médicale* ; près de 600 plantes y sont décrites.

<sup>2</sup> Claude Galien 131-201, médecin grec, auteur de nombreux traités médicaux, son œuvre qui reposait sur l'existence des humeurs, a joui jusqu'à la renaissance d'un grand prestige. Il fit d'importantes découvertes en anatomie. Il est l'initiateur de la médecine galénique. Il classa les plantes médicinales selon leurs qualités essentielles.

A partir du premier millénaire, il y a eu apparition de très nombreuses matières aromatiques en Europe, et la science des Arabes – qui étaient à l'époque les maîtres de la moitié du littoral méditerranéen – pénètre tout l'Occident, par le biais des croisades du XI<sup>e</sup> au XIII<sup>e</sup> siècle, et par le biais de Venise qui était déjà un centre d'échange actif. C'est par là, qu'arrivent en Europe les épices: poivre, cannelle, muscade, girofle, ainsi que de nombreuses substances aromatiques telles que le musc, la civette, le benjoin, le santal, l'encens, les baumes, les gommes, le camphre...en bref, tous les éléments d'un luxe dont certains croisés, partis "*frustes*" mais revenus "*cultivés et artistes*", ramènent le "*goût*" [75].

Ce n'est pas hasard que l'Islam avait pris une telle avance en matière de science des cosmétiques sur l'occident. A la différence des moralistes chrétiens qui en condamnaient l'usage personnel, l'Islam n'a pas restreint l'usage du parfum au culte, au contraire la bonne odeur et les aromates sont signes de pureté. Durant ce temps, sur l'occident commence à s'étendre une lourde couche de puanteur qui persistera pendant des siècles. Un voyageur décrivait en 1764 le Palais Royal de Versailles: "le parc, les jardins, le château font soulever le cœur par leurs mauvaises odeurs...". Les médecins de cette époque affirmaient que c'est une erreur de se laver, gommant la peau de ses défenses naturelles ouvrant les portes à l'infection. Et pour masquer l'odeur corporelle, ils s'imprégnaient de lourdes essences à base de musc et de civette. Plus le parfum était capiteux, plus la barrière qu'ils élevaient entre soi et les miasmes, véhicules de maladies, était efficace [31].

C'est vrai que le berceau de la civilisation est l'Est, mais comme dans de nombreux champs de la connaissance humaine, toutefois, c'est en Occident que ces premières tentatives ont atteint leur plein développement [75].

## II- Les huiles infusées:

### 1- Introduction:

Les procédés d'élaboration des essences et des parfums sont très anciens, et les premières manipulations des "*parfums naturels*" étant le fait des "*thérapeutes*" qui s'approprièrent les ressources immédiates de la nature. Les égyptiens ont extrait les huiles essentielles des herbes aromatiques, il y a 5000 ans par pression des plantes ou par extraction des constituants parfumés avec de l'huile d'olive ou l'huile de palme. Chez ce peuple, le parfum sort insensiblement du naturel et devient un élément de "*l'Art de Guérir*". Cette civilisation a transmis

toute une iconographie des procédés de la préparation des huiles, des baumes et des liqueurs fermentées [75].

Pline l'ancien (23-79 après J.-C.), l'historien romain, publie une "*Histoire Naturelle*" en 37 volumes dont les 15<sup>e</sup> au 27<sup>e</sup> sont consacrés à la botanique. Il indique des procédés d'élaboration des parfums au moyen de "*l'extraction par les corps gras*". Les Romains, par leurs conquêtes, ont rapidement appris à connaître les parfums, dont beaucoup de ces connaissances touchent à la "*Matière Médicale*". Peu à peu, le luxe des parfums se répand dans le monde romain, les riches conservaient les "*Huiles Parfumées*" dans des vases de terre et des cornes de rhinocéros [75].

Des siècles plus tard, "*l'huile*" base de tout "*parfum ancien*", était remplacée par des solutions alcooliques, qui rendaient les senteurs plus fines et plus volatiles. Ce fut un Arabe, *Avicenne (Ibn Sina)* qui ouvrit le chemin utilisant un alambic pour distiller un parfum à base de roses, 1000 ans avant cette ère. En occident ils continuaient à utiliser des huiles aromatiques infusées, il fallait attendre la moitié du XIV<sup>e</sup> siècle pour produire les premiers parfums à base alcoolique [31]. Ainsi, les huiles essentielles ou "*Parfums d'Arabie*", gagnèrent progressivement toute l'Europe.

Aujourd'hui, les huiles parfumées ou huiles aromatiques infusées sont peu utilisées, et ont des usages limités, surtout en cuisine ou pour le massage.

## 2- Définition:

Certains principes actifs des plantes peuvent être extraits sous forme d'huiles [55]. Ainsi, l'infusion d'une plante dans de l'huile permet d'extraire les principes actifs liposolubles [26], le résultat est une huile infusée.

En général, les macérations concernent les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur (par ébullition). Elles peuvent être définies comme des infusions froides de longues durées (de plusieurs jours). On distingue les macérations aqueuses, huileuses et alcoolisées qu'on appelle aussi teintures. Les plantes à macérer doivent être scrupuleusement nettoyées et désinfectées avant d'être disposées dans un récipient en verre, qui sera rempli du liquide approprié. Dans certains cas, on fait porter la macération, habituellement huileuse au bain marie. Après quelques jours, la potion doit être filtrée. Les macérations alcoolisées et huileuses peuvent être conservées assez longtemps. Pour les macérations huileuses, on emploie habituellement de l'huile d'olive, qui est déjà elle-même

très bénéfique (émollient...) mais d'autres huiles, par exemple de tournesol ou de maïs, de bonne qualité peuvent aussi bien convenir [5].



Les huiles infusées sont des extraits bruts préparées par dissolution des principes actifs dans un solvant avec conservation de ce dernier [58]. Mais le solvant ici, est une huile ou une matière grasse; c'est un cas particulier de l'extraction par solvant [15]. D'autres ingrédients absorbent aussi les senteurs: vinaigre chauffé, miel chaud... Le beurre manié aux fines herbes ou recouvert de pétales de roses, captera en une nuit les saveurs [13].

Ces huiles ont plusieurs appellations: huiles infusées, huiles macérées, huiles aux plantes ou huiles aromatiques.

### **3- Préparation:**

Les huiles infusées sont des huiles de base (huiles fixes ou huiles végétales) auxquelles des herbes aromatiques sont rajoutées. La plante est laissée dans l'huile pour une certaine durée de temps afin de permettre aux constituants actifs (et même les couleurs) de diffuser dans l'huile de base.

Il y a deux façons pour obtenir une huile infusée:

-  une infusion à l'huile froide, qui permet d'en retenir plus facilement les propriétés de la plante avec une durée d'infusion de 2 à 3 semaines et plus [55].
-  des huiles médicinales élaborées à chaud et qui peuvent être portées à faible ébullition ou dans un bain-marie. La durée de l'infusion est en maximum 3 heures [26, 55].

#### **a- Choix des plantes:**

La première étape du procédé de la préparation de ces huiles est la sélection des plantes aromatiques séchées (ou fraîches) pour parfumer l'huile fixe, et seront ramassées les parties de la plante les plus parfaites (feuilles, tiges ou autres).

La combinaison de plusieurs arômes différents pour avoir un résultat plaisant peut être un but difficile à accomplir et peut donner un résultat négatif. Alors il est préférable d'utiliser un ou deux genres seulement.

#### **b- Le mélange plante-huile:**

Il faut éviter de sélectionner des branches si volumineuses pour être insérée dans la bouteille; insérer en premier les parties des plantes les plus grandes ensuite ceux qui sont plus minces et plus raides; presser doucement les feuilles contre la tige pour garder la plante intacte.

Puis essayer d'arranger les herbes à l'intérieur de la bouteille en tapoter ou en utilisant une pince si nécessaire.

Il est possible d'utiliser aussi les plantes sous forme de poudre, si leur quantité est trop grande, ou pour avoir un arôme accentué, même si les plantes en forme de poudre peuvent perdre une partie de leur saveur et par conséquent les constituants volatils.

Ensuite, remplir les bouteilles de l'huile à l'aide d'un petit entonnoir d'un volume déterminé pour couvrir la plante (ou bien un poids dans certains cas [87]). Il faut que le volume de l'huile soit supérieur à celui de la plante.

Enfin fermer les bouteilles hermétiquement.

### ***c- Conservation:***

L'assaisonnement de l'huile est le résultat de l'extraction des huiles essentielles des herbes aromatiques, et c'est un processus qui se produit lentement. Donc, laisser agir au moins quatre à six semaines. Si les bouteilles sont transparentes gardez-les dans un endroit sombre, mais la meilleure façon, c'est d'utiliser des bouteilles en verre fumé et les laisser à température ambiante. Il ne faut pas secouer ou faire n'importe quoi jusqu'à la fin de la période de l'extraction.

Après la macération, retirer les plantes de l'huile ou bien filtrer l'huile dans de nouvelles bouteilles hermétiques et sombre et les garder dans un endroit frais.



*Fig. n° 1: Différentes plantes en infusion.*

Puisque le processus entier implique beaucoup de préparations et de travail et de temps, il ne vaut pas la peine de le traverser pour en faire juste une bouteille d'huile parfumée, il vaut mieux avoir assez d'herbes et d'huiles pour remplir au moins six à huit bouteilles.



Sans oublier de placer des étiquettes sur chaque bouteille qui précise la date, le nom des herbes à utiliser, le nom de l'huile ou sa marque.

Cette procédure est valable pour l'infusion à froid. Mais il y a une autre méthode plus rapide avec les mêmes étapes, seulement les bouteilles sont placées dans un bain-marie pendant 2 à 3 heures au minimum.

#### 4- Importance des huiles infusées:

Les huiles ainsi préparées sont utilisées lorsque l'extraction des huiles essentielles peut ne pas être économique, l'exemple de l'huile de rose qui nécessite 60000 roses pour faire 30g d'huile essentielle d'où un prix extrêmement élevé [13] ou bien le cas de l'oignon qui a un rendement en essence très faible de 0.005 à 0.02 % [11]. Certaines huiles infusées sont préférables que le fruit, cas du piment de Cayenne: *Capsicum frutescens L.*, où l'huile infusée est moins irritant et possède les même propriétés thérapeutiques. D'autres huiles, bien qu'elles soient commercialisées mais ne se trouvent pas toujours. Mieux encore les huiles infusées se préparent facilement malgré leur faible pouvoir par rapport aux huiles essentielles [55].

Les huiles infusées, se conservent plus d'un an au frais et à l'abri de la lumière; cependant, fraîchement préparées en petites quantités, elles sont plus actives [55]. Ce qui n'est pas le cas du mélange huiles essentielles avec des huiles de base, qui réduit la durée de conservation à quelques mois [13].

Ces huiles sont employées en cuisine pour parfumer les aliments, en usage externe comme huile de massage et pour fabriquer des crèmes, des onguents et des pommades [55].









### III- L'Aromathérapie:

L'odeur souvent agréable qui s'exhale de certains organes végétaux: feuilles, fleurs, écorces..., est contemporaine de matières actives tels que les phénols et les terpènes, qui sont de puissants antiseptiques, et bien d'autres substances volatiles odorantes, douées aussi, selon les cas, de propriétés: balsamique, antirhumatismale, circulatoire, tonique, antifongique... [5].

Le terme *Aromathérapie* désigne, l'emploi thérapeutique exclusif des huiles essentielles en usage interne par absorption ou en usage externe. La naissance de l'aromathérapie était en 1928 par René Maurice Gattefossé qui, en travaillant sur les parfums, et suite à un accident, redécouvrit les vertus de l'huile essentielle de Lavande. Plongeant par réflexe sa main brûlée, lors d'une explosion dans le premier liquide à proximité, il nota une guérison rapide et sans infection,

c'était l'huile essentielle de Lavande, il étudia donc les propriétés de ces huiles de façon approfondie. En 1937 il publia son livre intitulé "*Aromathérapie*", cette appellation est conservée depuis pour désigner l'emploi médicinal des huiles essentielles. La publication de cet ouvrage a marqué le début d'un intérêt croissant de la médecine pour cette forme de thérapeutique, et cet intérêt s'est manifesté encore davantage depuis les années 1944 – 45. Il ne fait que s'amplifier, tant dans les applications déjà connues que dans la recherche de nouvelles possibilités [8].

#### IV- Quelques dates importantes dans l'histoire de l'aromathérapie:

-  la plus ancienne description des effets antimicrobiens des épices a été faite par Antony van Leeuwenhoek le 9 Octobre 1676; il décrit la baisse du nombre et de l'activité des "*animalcules*" dans un échantillon d'eau de puits, suite à l'addition du poivre.
-  1881 Koch a travaillé sur l'action bactéricide de l'huile essentielle de térébenthine sur les spores de l'anthrax.
-  1887 Chamberland a étudié l'activité des essences de l'origan, la cannelle et le clou de girofle sur *Bacillus anthracis*.
-  1910 Martindale montre que l'huile essentielle de l'origan est l'agent antiseptique le plus puissant dérivé de plante, connu jusqu'à ce jour. L'origan est 25 à 76 fois plus actif que le phénol isolé, sur le colibacille. Il mit au point les coefficients phénol de plusieurs huiles essentielles.
-  1931 René Maurice Gattefossé, ingénieur chimiste passionné par les huiles essentielles, démontre de façon scientifique les relations entre les structures et les activités des composants aromatiques. Il codifie les huiles essentielles selon leurs propriétés: tonifiantes, antiseptiques, bactéricides, fongicides, stimulantes, calmantes...il crée la terminologie *Aromathérapie*, dans son livre qui porte le même titre.
-  Vers 1949-1950 Schroeder et Messing, développent une technique qui devient plus tard *l'Aromatogramme*. Une méthode qui permet de tester et examiner l'efficacité des huiles essentielles dans le traitement; ils réalisent le premier aromatogramme.
-  1954-1956 Kellner et Kobert publient une étude sur l'action de 175 huiles essentielles contre 8 bactéries aérobies et champignons. Ils identifient un groupe particulier de 21 huiles, y compris l'origan d'Espagne.
-  1958 Jasper et Coll. démontrent l'action antifongique des huiles essentielles d'origan, de bouleau et de thym.

- 🌸 1960 Maruzzella montre les effets antibactériens et antifongiques d'une centaine de composés aromatiques.
- 🌸 Entre 1960 et 1964 le Pr. Paolo Rovesti, Directeur de l'Instituto Derivati Vegetali à Milan, a été capable de montrer que la dépression et l'anxiété peuvent être guéries par l'inhalation des huiles de certaines plantes.
- 🌸 1964 le Dr. Jean Valnet publie: la pratique de l'aromathérapie. Il trouve qu'il est capable de guérir des patients ayant des troubles psychiatriques à long terme, par administration des huiles essentielles, avec presque des résultats immédiats.
- 🌸 1969 le Dr. Maurice Girault montre le pouvoir bactéricide de 8 huiles essentielles. Il utilise la technique de l'aromatogramme pour développer des traitements efficaces à huiles essentielles pour la flore spécifique de chaque patient.
- 🌸 1972 H. Audhoni, P. Belaiche, J. Bourgeon, P. Duraffourd, C. Duraffourd, M. Girault et J.P.Lapraz, utilisent la technique de l'aromatogramme pour développer des traitements pour plusieurs maladies infectieuses. Alors, 40 essences et une teinture ont été étudiées, et des aromatogrammes sont effectués sur des cas de pathologies infectieuses.
- 🌸 1973 Jacques Pellecuer établit à nouveau l'action antibactérienne et antifongique des Labiées Méditerranéennes, romarin et thym, et l'efficacité phénoménale de la sarriette (*Satureja montana*).  
Wagner et Sprinkmeyer montrent qu'un mélange d'huiles essentielles possède une activité plus étendue que les antibiotiques à large spectre.
- 🌸 1974 Deininger fournit des preuves cliniques, en double aveugle sur l'efficacité des huiles essentielles pour les déséquilibres du système nerveux autonome.
- 🌸 1977 Robert Tisserand publie le premier livre sur l'aromathérapie en anglais: *The Art of Aromatherapy*.  
P. Belaiche crée *l'indice origan* qui classe les huiles essentielles en terme de pouvoir bactéricide.
- 🌸 1978 Paul Belaiche publie son étude en trois volumes, sur les usages cliniques de l'aromathérapie pour traiter un large rang de maladies infectieuses et dégénératives.  
P. Belaiche, H. Audhoni, M. Girault et G. Sens Olive, définissent l'aromatogramme en phase liquide, ainsi que l'immunoaromatogramme.
- 🌸 1979 Kubeczka développe des guides "*instructions générales et conseils*" pour déterminer la qualité des huiles essentielles utilisées pour des intentions médicales.

- 🌸 1987 le Dr. Penoel et P. Franchomme, développent des recherches sur les chlamydioses et les infections catharrales muccopurulententes des voies respiratoires et génitales: l'aromathérapie à visée anti-infectieuse.  
Deiningering et Lembke prouvent l'activité antivirale des huiles essentielles et leurs composés isolés.
- 🌸 1990 Pierre Franchomme et Daniel Penoel publient leur livre sur l'aromathérapie médicale: *l'Aromathérapie Exactement*.
- 🌸 1995 R. Deiningering, un chercheur dans le domaine des huiles essentielles, a écrit: "l'usage principal de l'action antimicrobienne des huiles essentielles, c'est les infections banales dans le contexte de l'automédication: infections du système respiratoire (en combinaison avec l'action spasmolytique des huiles essentielles), infection de la peau (virus de l'herpes), maladies gastro-intestinales (avec l'action spasmolytique), infections des voies urinaires (avec l'action diurétique). Ses avantages: un large spectre d'activités incluses. Les effets secondaires ne surviennent pas si les produits sont utilisés correctement".
- 🌸 Jusqu'à ce jour, les chercheurs à travers le monde étudient encore l'activité antimicrobienne des huiles essentielles *in vitro*, mais peu de recherches *in vivo*.

## V- Les huiles essentielles:

### 1- Introduction:

Les flaveurs caractéristiques de plusieurs plantes, viennent de produits chimiques présents, variant en quantité, de partie par billion à partie par million. Dans la nature, quelques espèces de plantes évoluent avec de hauts niveaux de composants odorants que d'autres. Telles herbes et épices ont été utilisées depuis très longtemps pour aromatiser d'autres aliments, et même pour le traitement de certaines maladies [86].

Avec la découverte de la distillation, il est devenu possible de séparer le mélange de produits chimiques odorants du matériel végétal, ainsi, les huiles essentielles sont nées [86]. Ce sont les produits odorants, volatils du métabolisme secondaire des plantes supérieures [35]. Les huiles essentielles se trouvent dans certaines cellules spécialisées des fleurs, feuilles, graines et des racines, ainsi que dans l'écorce, la résine et le bois des arbres [13].

La fonction des huiles essentielles est largement communicative, permettant aux plantes d'utiliser ces huiles pour influencer leur environnement [35]. Elles fournissent aux

plantes une protection antiseptique, leur saveur et une partie de leurs vertus médicinales. De nos jours, plus de 400 essences ont été identifiées [13].

## 2- Définition:

En complément aux constituants de base de la plante (minéraux, glucides, lipides et protides), il existe de nombreuses autres substances, dont certaines interviennent directement dans le métabolisme de la plante et contribuent à donner à chaque individu (quelquefois à des genres entiers tel que *Lavendula*, *Mentha*, *Thymus* ...) son caractère spécifique. Ainsi, les *huiles essentielles* (essences volatiles) et les *résines* (gouttelettes colloïdales), qui sont en réalité des produits résiduels ou produits d'excrétion (résultant d'un mécanisme complexe), s'expriment par une odeur ou un arôme et donne à la plante son cachet particulier [5].

Les huiles essentielles, essences ou huiles volatiles sont: "des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatiles contenus dans les végétaux et plus ou moins *modifiés* au cours de la préparation. Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés. Deux seulement sont utilisables pour la préparation des essences officinales: celui par distillation dans la vapeur d'eau de plantes à essences ou de certains de leurs organes, et celui par expression", le second procédé est recommandé pour obtenir les essences de fruits du genre *Citrus*, d'après la Pharmacopée Française 1965, 8<sup>e</sup> édition. Depuis la 9<sup>e</sup> édition 1972, la pharmacopée n'utilise plus que le terme: Huiles Essentielles. Le terme "*essence*" est utilisé pour désigner des produits odorants qui ne préexistent pas dans le végétal mais qui résultent, après l'altération des tissus, de la dégradation enzymatique d'un substrat, comme le cas des moutardes et des *Alliums* [15].

Plus récemment, la norme AFNOR NFT 75-006 (Février 1998) a donné la définition suivante d'une huile essentielle: "Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par procédé mécanique à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention; elle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition [par exemple: redistillation, aération,...]"[15].

En plus des huiles essentielles naturelles, il y a des huiles artificielles ou synthétiques. Les imitations sont parfois parfaites comme odeur mais les corps composants sont habituellement fort différents du produit naturel végétal. Leur emploi est souvent destiné à la

parfumerie, à la droguerie, à l'industrie, mais rarement à la thérapeutique, qui pour usage interne ou externe, n'est pratiquement faite qu'avec des essences extraites des végétaux [8].

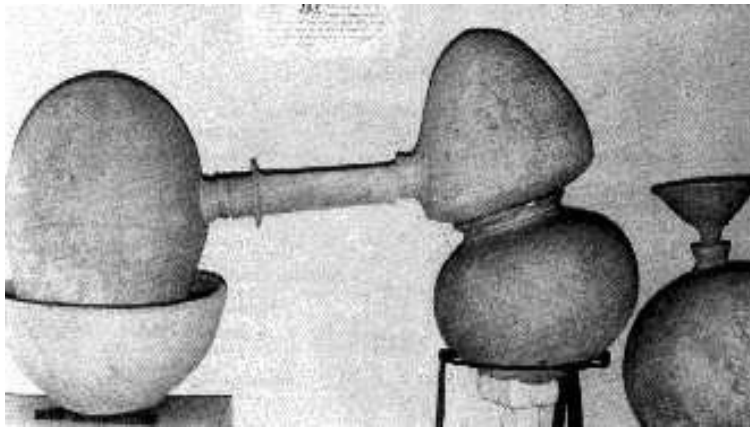
### 3- Extraction des huiles essentielles:

Les huiles essentielles sont obtenues des épices, herbes aromatiques, fruits ou fleurs [45]. Elles s'extraient par distillation (hydrodistillation simple ou distillation à vapeur saturée), pression, enfleurage ou au moyen d'un solvant, selon la partie de la plante utilisée et la fragilité de l'huile [13, 15]. La méthode pratiquée est très importante pour rapporter une huile essentielle capable de produire la saveur et l'odeur de la plante la plus naturelle, avec un *changement chimique minimal* des composés présents dans l'huile obtenue [45]. Il y a aussi d'autres procédés plus développés: hydrodistillation par micro-ondes sous vide et hydrodiffusion. Mais la composition des huiles est qualitativement différente de celles obtenues par les procédés classiques [15].

La méthode la plus commune est la distillation, qui est employée pour les plantes les moins sensibles à la chaleur, comme la lavande, ainsi qu'avec la plupart des feuilles, des graines et des bois. L'enfleurage, où un corps gras absorbe le parfum, est pratiqué pour les pétales fragiles, comme ceux du jasmin [13]. Cette dernière technique n'est qu'un cas particulier de l'extraction par un solvant (le solvant ici, soit des huiles ou des graisses). Ce procédé met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. L'extraction se fait par diffusion à froid vers le corps gras, alors que l'enfleurage à chaud ou "digestion" se pratique à chaud par immersion des organes végétaux dans le corps gras fondu [15].

Mais les procédés utilisés pour l'obtention des huiles essentielles peuvent influencer sur la composition de ces dernières. Dans le cas de l'hydrodistillation qui est la méthode la plus utilisée, la composition du produit obtenu, le plus souvent, est différente de celle du mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal. Cela est dû à la labilité des constituants des huiles essentielles. Au cours de l'hydrodistillation, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters -par exemple- mais aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations, des oxydations,...etc [15].

Il est à mentionner que d'autres facteurs comme le climat, le sol, et les conditions de croissance influent sur la qualité et la concentration des composés dans les huiles essentielles, et par conséquent leurs pouvoirs thérapeutiques [45, 61].



*Fig. n°2: Distillateur fabriqué en argile, date depuis 5000 ans. Musé de Taxila, Pakistan. (\*)*



*Fig. n°3: Distillerie de plantes, XVI siècle. (\*)*



a



b

*Fig. n°4: Montages de distillation: a- l'hydrodistillation. b- distillation par entraînement à la vapeur.*

(\*) A partir du site: [www.bth.co.uk](http://www.bth.co.uk) : Beauty Through Herbs.

#### 4- Composition chimique:

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires des plantes [17]. Ce sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe de *Terpénoïdes* (les plus volatils c'est-à-dire à masse moléculaire peu élevée [15]), spécialement monoterpènes: (C 10) cinéol, menthol... qui constituent parfois plus de 90 % de l'huile essentielle, et sesquiterpènes: (C 15) caryophyllène, humulène... [19, 45] bien que des diterpènes (C 20) peuvent aussi être présents [19]. Le groupe des composés aromatiques: des dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquent, comme le safrol, l'apiol, l'anisaldéhyde, l'eugénol, la vanilline et le cinnamaldéhyde. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (qui contribuent souvent aux arômes des fruits) [15].

Il peut exister, aussi, une variété d'hydrocarbures aliphatiques à faible poids moléculaire (linéaires, ramifiés, saturés et non saturés), acides, alcools, aldéhydes, esters ou lactones acycliques et exceptionnellement des composants contenant de l'azote, du soufre ou des coumarines [19, 40], et de quelques autres, dont certains indéfinis, tous en proportions variées en fonction de chaque essence, et ne contiennent ni acides gras, ni vitamines, ni sels minéraux [8]. L'immense famille de composés naturels connus sous le nom de "*terpènes*", qui ont été découverts dans les huiles essentielles, se sont avérés être la source du parfum de nombre d'entre elles. La caractéristique chimique commune aux terpènes réside dans leurs structures: ce sont des multiples d'une unité à cinq atomes de carbone ayant pour base un diène conjugué dont le nom commun est "*isoprène*" (2-méthylbuta-1,3-diène). Les terpènes sont ainsi parfois désignés sous le nom de "*composés isoprénoïdes*" [40], mais de préférence "*terpénoïdes*" pour tous les composés constitués d'unités d'isoprène, sans prendre en considération les groupes fonctionnels présents [65].

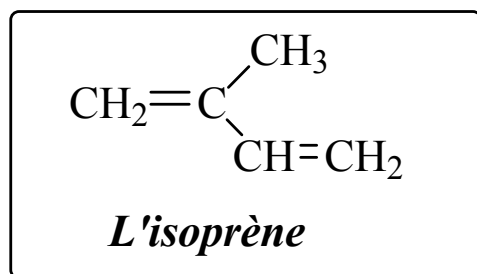
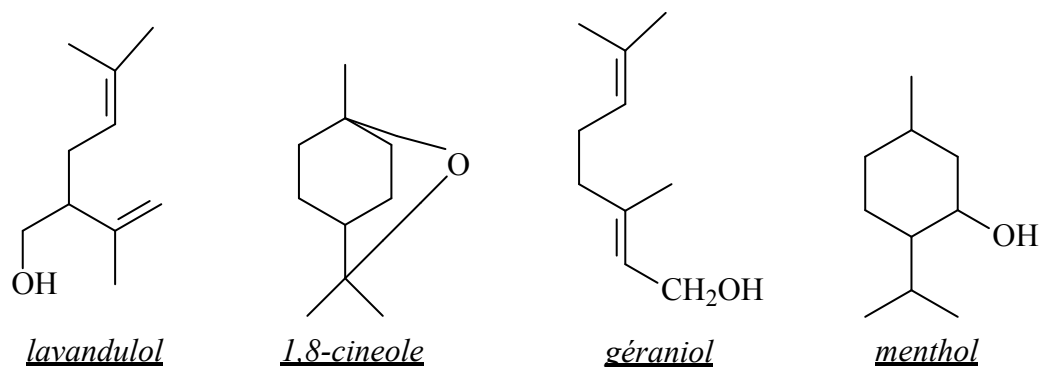


Fig. n°5: L'unité de base des terpènes.



Les monoterpènes et leurs dérivés (alcools, esters, acétates, ...) sont les composés les plus abondants dans les huiles essentielles, et sont responsables des saveurs caractéristiques et de l'arôme que possède la plante [45, 65]. Leur étude chimique est compliquée, par la difficulté d'obtenir ces produits purs du mélange complexe dans lequel ils sont présents et les réarrangements qu'ils peuvent subir [65]. Exemple de quelques monoterpènes: menthol, alpha terpinéol, linalol, lavandulol, géraniol...



*Fig. n° 6: Quelques monoterpènes.*

Il faut savoir que les huiles essentielles, qui sont obtenues à partir des épices et aromates par entraînement à la vapeur d'eau, contiennent les produits volatils constitutifs de l'arôme, mais non ceux responsables de la sapidité, en particulier saveur piquante ou chaude, qui ne sont pas entraînés par la vapeur. Par contre, les oléorésines, extraites par les solvants organiques, contiennent la totalité des produits aromatiques et sapides [62].

### 5- Caractéristiques et propriétés physiques:

Liquides à température ambiante, exposées à l'air, les huiles essentielles se volatilisent [44], ce qui les différencie des huiles "fixes". Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (les huiles essentielles de saffran, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (optiquement active). Solubles dans les solvants organiques usuels, elles sont liposolubles. Entraînables à la vapeur d'eau, elles sont très peu solubles dans l'eau; elles le sont toutefois suffisamment pour communiquer à celle-ci une odeur nette. Cette eau est une "eau distillée florale" [15]. Elles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras, par évaporation, peuvent retourner à l'état d'odeur sans laisser de traces, ce qui

n'est pas le cas des huiles fixes (olive, tournesol ...) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace grasse persistante [8].

Les monoterpénoïdes, qui sont les composés majeurs de plusieurs huiles essentielles, ont les mêmes propriétés que ces dernières, ils sont incolores, insolubles dans l'eau, liquides distillables à la vapeur et ont une odeur parfumée et quelques uns sont optiquement actifs [65].

## 6- Emplois et Propriétés pharmacologiques:

L'intérêt pour les huiles essentielles s'est accru, et la demande est de plus en plus forte tant pour l'enseignement de l'aromathérapie que pour les traitements [13]. Beaucoup d'entre elles sont utilisées pour assaisonner et aromatiser les aliments [45]. Elles ont aussi une grande importance économique comme saveurs, parfums et solvants [65], il est fabriqué aussi des désodorisants, de l'encens et des produits pour le bain [13]. L'emploi des huiles essentielles est en particulier dans le domaine des antiseptiques externes, mais peuvent être destinées à l'aromatisation des médicaments administrés par voie orale. Elles constituent aussi le support d'une pratique de soins particulière: *l'Aromathérapie*. De même qu'elles sont utilisées dans l'industrie agro-alimentaire comme conservateurs [73], et dans l'industrie chimique [15].

Sachant que les essences n'ont pas les mêmes composants que les plantes dont elles sont issues, elles ne peuvent donc pas avoir les mêmes actions ni être employées à leur place. Par exemple, la feuille d'*Eucalyptus*, en infusion exerce un effet favorable certains chez les diabétiques, alors que l'essence de cette même plante est absolument sans effet antidiabétique. Mais cette dernière est plus assainissante de l'atmosphère dans certains cas, que les vapeurs de décoction des feuilles [8].

Cependant plusieurs activités sont attribuées aux huiles essentielles: cholérétique, cicatrisante, neurosédative, spasmolytique, digestive, stomacique, antimicrobienne, anti-inflammatoire [15], désinfectante du système respiratoire [36, 37, 92], antioxydante [20], acidifiante, tonicardiaque, oxydante des déchets du métabolisme, fluidifiante du sang, antivenimeuse, antispasmodique, pour la conservation tissulaire (embaumement vivant), pouvoir de protéolyse rapide, sédation épidermique locale, revitalisation par oxygénation et défloculation du sang [8]. Ce sont les terpènes, parmi les constituants chimiques, qui sont responsables de ces vertus et par conséquent, usages médicaux des plantes aromatiques et médicinales [19]. La propriété la plus importante des huiles essentielles est l'osmose facile au travers des tissus et leur élimination complète et rapide [8].

Les qualités antiseptiques des plantes aromatiques et médicinales et de leurs extraits ont été reconnues depuis l'antiquité [19, 45, 92], tandis que les essais pour caractériser ces propriétés en laboratoire datent de 1900 [19]. L'utilisation alors des huiles essentielles comme agents antimicrobiens a été décrite qualitativement, initiée par les coefficients phénol de plusieurs huiles essentielles par Martindale 1910<sup>3</sup> [35].

Le pouvoir antiseptique des huiles essentielles, s'exerce à l'encontre de bactéries pathogènes variées, y compris de souches habituellement antibiorésistantes. Certaines huiles sont également actives sur des champignons responsables de mycoses et sur des levures (par exemple *Candida*) [15], et d'autres microorganismes [6, 17, 19, 27, 33, 35-37, 39, 53, 56, 57, 61, 66, 73, 76, 77, 81]. Les huiles essentielles les plus antiseptiques sont celles de: la cannelle, le thym, le girofle, la lavande, et l'eucalyptus [15].

En employant les essences sous forme de parfums, par la respiration directe ou en évaporation dans la vapeur d'eau, il est possible d'agir sur certains centres nerveux (hypothalamus) en vue d'obtenir des actions psychophysiologiques, il s'agit alors d'*olfactothérapie* ou usage olfactif [8]. Ces substances merveilleuses peuvent éveiller, rafraîchir ou calmer l'esprit et le corps, relâcher les muscles et embellir la peau [13].

Le mécanisme d'action des terpènes n'est pas complètement compris, mais il est spéculé qu'ils entraînent la rupture des membranes par les composants lipophiles [17]. Chez l'homme, les constituants lipophiles sont rapidement absorbés par voie pulmonaire, cutanée, ou digestive, puis exercer l'activité voulue. Mais à cause de leur toxicité par voie orale, et leur agressivité à l'encontre des muqueuses et/ou de la peau, il faut prendre toutes les mesures de prudence et, ne doivent être utilisées qu'après dilution dans un véhicule approprié: huiles fixes [15], lait, yaourt, fromage blanc, crème, miel, confiture, alcool [8].

Les doses actives sont en général faibles, et celles qui sont déterminées par une expérimentation *in vitro* sont directement transposables pour une utilisation par voie externe [15]. En pratique chez les aromathérapeutes, les essences à absorber doivent être incluses dans des excipients alimentaires divers, et les doses employées sont 1 à 3 gouttes d'essence pure à la fois selon les essences, ou diluée au 1/10<sup>e</sup>, mais ce n'est pas une prescription! [8]. Un tel mélange avec les huiles fixes – souvent utilisées – réduit la durée de conservation à quelques mois [13].

---

<sup>3</sup> Martindale W. (1910) The chemistry and manufacture of cosmetics, Vol 3. pp 85-109. Allured Publishers USA.

## 7- Toxicité des huiles essentielles:

Par leur composition chimique riche, les huiles essentielles doivent être utilisées avec une extrême prudence, du fait qu'elles peuvent présenter de très graves dangers lors d'une utilisation aléatoire autonome, surtout que le consommateur est attiré par la facilité d'emploi de ces essences en absorption interne ou en application externe, en ignorant que certaines sont plus rapidement dangereuses que les autres: absinthe, armoise, chénopode, sauge officinale, hysope, thuya, tanaïsie, aneth, rue, anis, carvi, romarin [8]. D'autres sont à éviter durant la grossesse, ou interdites aux personnes souffrant d'épilepsie, d'hypertension ou d'affections dermatologiques [13].

Cet aspect de la connaissance des huiles essentielles est d'autant plus important que le développement de pratiques telles que l'aromathérapie et autres, conduisent à une utilisation souvent abusive. L'automédication est dangereuse, souvent favorisée par le fait que bon nombre de ces produits sont distribués en dehors du secteur pharmaceutique [15].

En règle générale, les huiles essentielles ont une toxicité aiguë par voie orale faible ou très faible: une DL 50 comprise entre 2 et 5 g/kg pour la majorité des huiles couramment utilisées: anis, eucalyptus, girofle...ou le plus fréquemment supérieure à 5 g/kg (camomille, citronnelle, lavande, marjolaine, vétiver, etc.). D'autres ont une DL 50 inférieure à 1g/kg: l'huile essentielle de boldo (0.13 g/kg, convulsions apparaissent dès 0.07 g/kg); l'essence de moutarde (0.34 g/kg); l'origan et la sarriette (1.37 g/kg); le basilic, l'estragon et l'hysope (1.5 ml/kg). Tandis que la toxicité chronique est assez mal connue [15]. Reste à savoir que dans leur emploi externe, les risques de toxicité sont fortement réduits [8].

Les huiles essentielles peuvent provoquer: agitation, tremblements généralisés, coma, hématurie, néphrite aiguë, ivresse, congestion cérébrale et pulmonaire, dépression du tonus sympathique, hallucination, spasmes musculaires etc. Dans certains cas la neurotoxicité de quelques huiles peut nécessiter l'hospitalisation [15].

En ce qui concerne leur cancérogénicité, il faut noter la présence de constituants "allyl- et propénylphénols" de certaines huiles qui sont capables d'induire l'apparition de cancers (chez les rongeurs). Mais actuellement, l'apiol, le dillapiol, l'eugénol et la myristicine ne sont pas considérés comme cancérogènes. Ainsi le cinnamaldéhyde n'induit pas l'apparition de tumeurs, dans certaines conditions [15].

## VI- L'Aromatogramme:

### 1- Recours à l'aromatogramme:

C'est un examen de laboratoire simple et peu coûteux [67]. Lorsque les antibiotiques classiques n'agissent plus ou que la sensibilité de la personne aux infections devient chronique ou tout simplement par choix, le praticien peut avoir recours à l'aromatogramme [46].

Après de nombreuses expérimentations qu'ils ont mené depuis 1972, une équipe de chercheurs (Dr. Duraffourd C et Lapraz J-C) est restée fidèle à la technique des disques, car elle est la plus fiable, la plus simple, la moins onéreuse. Selon ces chercheurs, il n'existe aucun avantage à utiliser une autre technique, et notamment celle en phase liquide. Ils ont affirmé cela sur un recul de plus de 25 ans.

Pour son utilisation pratique, l'aromatogramme n'est qu'un examen complémentaire pratique en laboratoire, en aucun cas il ne fait le diagnostic. Comme tout examen de laboratoire, quelle que soit sa spécificité, il n'apporte au clinicien qu'un complément d'information: confirme le diagnostic, l'étaye, l'oriente [21].

### 2- Comment faire un aromatogramme?

C'est un test de laboratoire pour déterminer quelle huile essentielle est plus active, dans une situation clinique donnée. Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques, préalablement sélectionnées et reconnues. Cette technique datant de 1950 et a été perfectionnée depuis lors [46].

Elle consiste à faire une culture de pathogènes venant des échantillons de tissus infectés, urines, prélèvements..., puis tester les huiles essentielles sur ces microorganismes.

- ✚ Ce test nécessite l'utilisation de disques de papier buvard, qui sont stérilisés à 110°C, après ils sont imprégnés avec une quantité d'huile essentielle. Les disques imprégnés avec la même huile sont conservés ensemble dans un récipient hermétique, loin de la lumière, pour une durée maximale de 3 mois, et ne sont pris que par une pince stérile. Les diamètres des disques et la quantité d'huile diffèrent selon les techniques utilisées [39].
- ✚ Les microorganismes sont cultivés sur gélose nutritive dans des boîtes de Pétri, pouvant contenir 10 à 12 disques.
- ✚ Les zones d'inhibition autour des disques, de diamètres variés, indiquent les huiles essentielles auxquelles les germes sont sensibles.

Les limites de l'aromatogramme sont ceux de n'importe quelle technique *in vitro*, il représente un point de référence essentiel, puisqu'il est identique à la technique utilisée pour mesurer l'activité bactéricide des antibiotiques, alors la comparaison est simple pour n'importe quel praticien. Cependant, l'activité anti-infectieuse est spécifique au malade, non au germe. Ce qui est en contraste avec le mode d'action des antibiotiques [53].

### 3- Intérêt de l'aromatogramme:

Il permet un choix judicieux, en adaptant la prescription d'essences à chaque syndrome infectieux. Il permet une aromathérapie véritablement sur mesure et appropriée à chaque cas particulier.

Les essences les plus efficaces et qui se retrouvent le plus souvent sont: l'origan d'Espagne, la sarriette de Provence, le thym (hémotypes variables), la cannelle de Ceylan et la cannelle de la Chine, le girofle. Elles sont appelées: *les essences majeures* de germe. Mais l'aromatogramme révèle aussi des sensibilités à certaines essences, dont le pouvoir antiseptique était totalement insoupçonné. Il semblerait que ces essences, soient marquées par le terrain de l'individu d'où proviennent les germes, ce qui les rendait efficaces contre eux dans ce cas précis. Ce sont *les essences de terrain* et peuvent être très variables [46].

### 4- Prescription:

A partir des huiles essentielles qui se sont révélées actives, le thérapeute prescrira selon les cas, des gélules, des ovules, des suppositoires, des gouttes, des lotions antiseptiques et traitantes. Il veillera à associer dans ces préparations essences majeures de germes et essences de terrain pour tout à la fois assainir et renforcer le terrain du patient. Les résultats de tels traitements sont le plus souvent très positifs.

Il est évident que les huiles essentielles utilisées pour la prescription doivent être les mêmes que celles qui ont servi à dresser l'aromatogramme. Si leur qualité diffère, si leurs composants ne sont pas exactement les mêmes, le traitement peut être totalement inefficace bien que le nom de ces huiles soit bien choisi [46].

*CHAPITRE 3*  
*GENERALITES SUR*  
*LES QUATRE*  
*PLANTES*  
*MEDICINALES*  
*UTILISEES*



*Les plantes sont classées selon l'ordre alphabétique des  
noms scientifiques.*



# I- Allium cepa L.

## 1- Classification:

Royaume :	Plante
Sous royaume :	Trachéophyte = plantes vasculaires
Embranchement :	Spermatophytes ou Phanérogames = plantes à graines
Sous embranchement :	Angiospermes = plantes à fleurs
Classe :	Monocotyledonae
Sous classe :	Liliidae
Ordre :	Liliales
Famille :	Liliaceae ou Liliacées
Genre :	<i>Allium</i>
Espèce :	<i>Allium cepa</i> L.
Nom commun :	Oignon
Nom en anglais :	Onion

## 2- Description :

Plante herbacée, glabre, d'environ 80cm de haut (peut atteindre 1,2m [44]). Vivace par un bulbe volumineux, charnu [9], ordinairement simple, parfois avec des caëux, arrondi plus ou moins déprimé ou ové, gros ou très gros, à tuniques membraneuses non lacérées, blanches, jaunes, rousse ou purpurin (pourpre) violacé [48]. À tige florifère dressée et creuse, fortement renflée fusiforme. À feuilles généralement cylindriques d'un vert bleuâtre, creuses également, aiguës au sommet. Les fleurs (inflorescence), blanches ou rose-violacées, sont groupées en une très grosse ombelle, atteignant 10 cm de diamètre, ronde sub-globuleuse munie de 2à4 bractées [9, 48], elles sont recouvertes initialement par une spathe membraneuse [15]. Périanthe à 6 sépales pétaloïdes blanchâtres ou verdâtres en étoile soudées à la base et 6 étamines [5]. Le fruit est une capsule, les graines noires  $n = 8$  [5, 48].

Originaire du Moyen Orient, spontané en Iran et dans quelques régions avoisinantes [44, 93], l'oignon est parmi les plus anciens légumes que l'homme a connu [91], aujourd'hui cultivé partout dans le monde, comme légume et condiment grâce à son importance dans la

cuisine et même en médecine naturelle [44]. D'après ce qu'on connaît, le dernier repas que notre Prophète avait mangé contenait de l'oignon [91].

Dans le cas de l'oignon commun, ses variétés sont regroupées en deux catégories selon que l'extérieure de leur bulbe est blanc ou coloré. La forme et la taille du bulbe varient selon la variété, de 2 à 20 cm, aplati, sphérique, piriforme, etc [15]. En Algérie, de nombreuses variétés sont cultivées: doux, blanc ou jaune, rouge fort, hâtif, extra hâtif... [5].

L'oignon est caractérisé par son odeur et son goût forts, surtout lorsqu'il est écrasé ou coupé, en plus il stimule la lacrymation [84].



*Fig. n°1: Différentes variétés d'oignon spécifiées avec la grosse ombelle.*

### 3-Composition chimique :

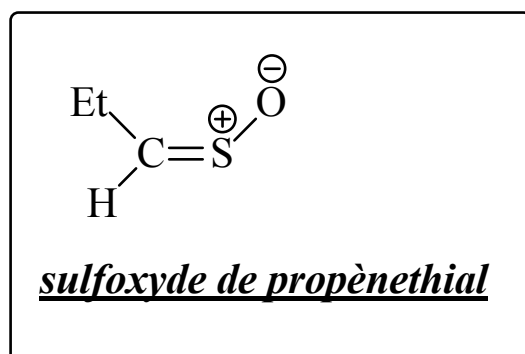
Il a été isolé divers composés chimiques soufrés et non soufrés, du bulbe d'oignon, mais les composés soufrés sont les plus caractéristiques [84].

L'étude la plus ancienne sur l'oignon, concernait la distillation de son huile essentielle, c'est Semmler en 1892<sup>1</sup> qui a trouvé qu'elle est constituée surtout de sulfures organiques [11, 72], et il a isolé le constituant majeur qui était un *disulfure* [30]. En 1910 Kooper<sup>2</sup>, examinant le jus frais pressé de l'oignon commun, a identifié: *l'acide thiocyanique* et *l'allyl thiocyanate* [30].

<sup>1</sup> Semmler FW (1892) The essential oil of onion. *Archiv der pharmazie*.230:443-448.

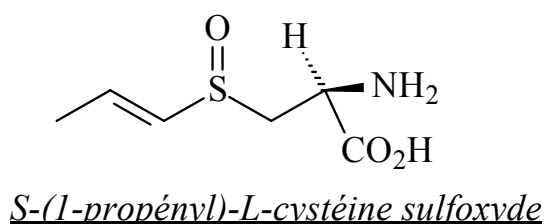
<sup>2</sup> Kooper WD (1910) Investigation of the sulfur compounds of the onion. *Z. Untersuch Nahru.Genussm* 19: p 569. Cited from Chem.Abstr. 1910, 4: 2337.

Après, viennent d'autres recherches sur l'oignon, mais les plus importantes sont celles de Wilkens<sup>3</sup> en 1961 et de Virtanen<sup>4</sup> la même année, Wilkens a postulé que le *facteur lacrymogène* est le *sulfoxyde de propènethial* [11].



*Fig. n°2: Le facteur lacrymogène.*

Le finlandais Virtanen, a montré que le *sulfoxyde de propényl cystéine* qui est présent en quantité de 0.2 % par poids d'oignon est le précurseur du facteur lacrymogène [11]. C'est *l'isoalliine*, l'isomère de *l'alliine*, sous l'action de *l'alliinase* donne le facteur lacrymogène.



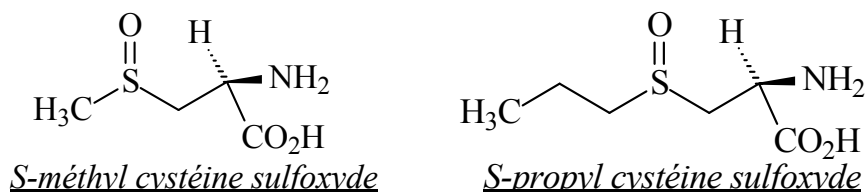
*Fig. n°3: Précurseur du facteur lacrymogène.*

Globalement, le bulbe d'oignon frais renferme des fructanes de faible degré de polymérisation (10 à 40 %), et des polysaccharides hétérogènes, des flavonoïdes (principalement des glucosides du quercétol, dans les oignons colorés: 2.5-6.5 %), des saponosides (glycosides de furostanols), des stérols (cholestérol, stigmastérol,  $\beta$ -sitostérol,...)[15], vitamines (A, C, B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub>), pectine, anthocyanines et plusieurs composés soufrés "*labiles*" [9], qui sont: *trans-S-(1-propényl) cystéine sulfoxyde* (précurseur du facteur lacrymogène), *S-méthyl cystéine sulfoxyde*, *S-propyl cystéine sulfoxyde* (ces trois composés sont des amino acides soufrés non protéiniques du métabolisme secondaire [11]) et la *cycloalliine*. A l'exception de cette dernière, ces cystéines

<sup>3</sup> Wilkens WF (1961) Ph D. Thesis. Cornell University. Ithaca. New York.

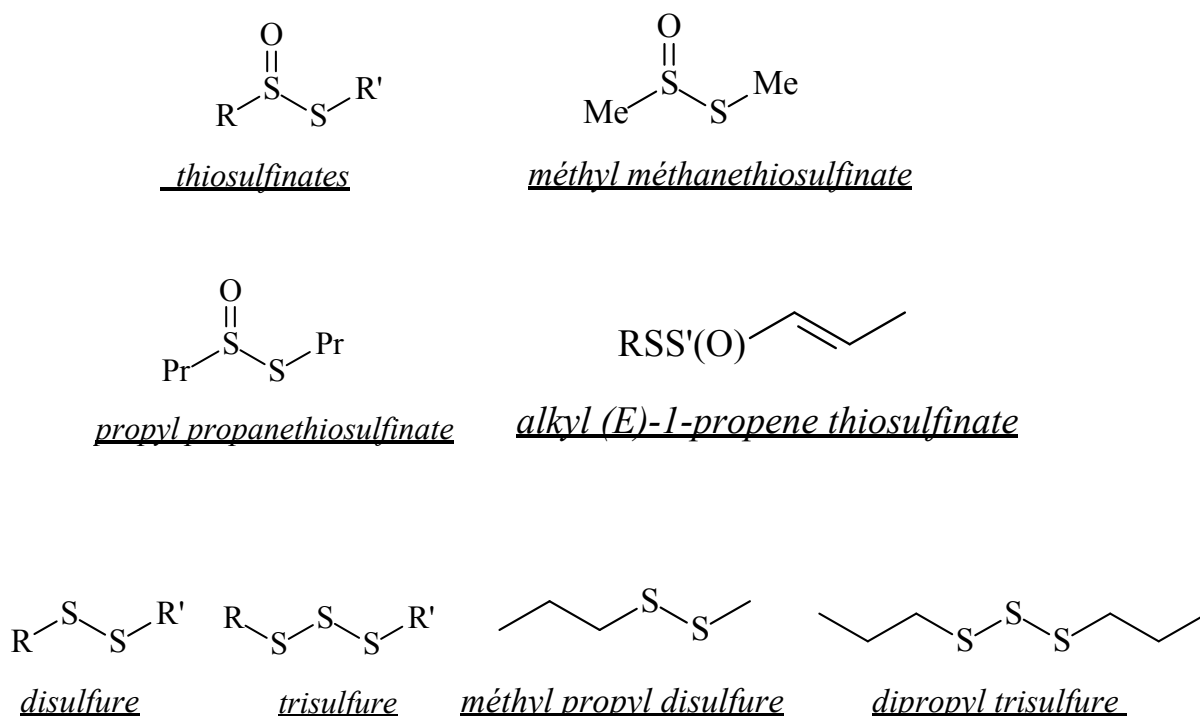
<sup>4</sup> Virtanen Artturi I. (1895-1973) Finlandais, Prix Nobel de chimie 1945: The biological fixation of nitrogen and the preservation of fodder in agriculture, and their importance to human nutrition.

sulfoxydes sont convertis à d'autres composés plus simples, sous l'action de l'enzyme alliinase - présente dans le bulbe intact- lorsque l'oignon est coupé ou haché [44, 84].



*Fig. n°4: Structure de quelques composés de l'oignon intact.*

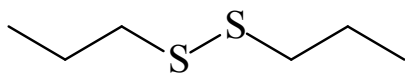
Alors il y a libération de l'acide pyruvique et des alkylthiosulfonates -composés simples- instables [15], parmi ces thiosulfonates: méthyl méthanethiosulfonate, alkyl (E)-1-propene thiosulfonate, (E,Z)-1-propenyl alkanethiosulfonates, propyl propanethiosulfonate, ces thiosulfonates avec le facteur lacrymogène contribuent au goût et arôme de l'oignon [11], qui subissent après un temps plus ou moins court, une décomposition (transformation) en sulfures: di-, tri-, tetrasulfures,...[15] et autres constituants responsables de l'odeur de l'oignon spécialement méthyl propyl disulfure, méthyl propyl trisulfure et dipropyl trisulfure [44].



*Fig. n°5: Structure de quelques composés de l'oignon coupé ou haché.*

D'autres composés ont également été caractérisés dans les extraits: cépaènes ( $\alpha$ -sulfinyl disulfures), zwiebelanes (dérivés disoufrés bicycliques), di- et tripeptides soufrés [15].

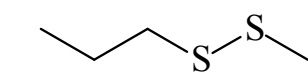
Il existe aussi des traces d'huile volatile: 5000 kg d'oignon ont été distillés pour donner 233 g d'huile: 0.005% [11]. Elle est constituée essentiellement de composés soufrés, avec le *dipropyl disulfure* comme constituant majeur, mais ne contribuant pas à l'odeur [44].



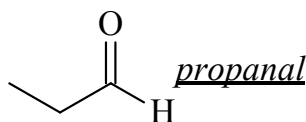
*dipropyl disulfure*

*Fig. n°6: Composé principal de l'huile essentiel de l'oignon.*

L'huile essentielle ou "essence d'oignon" est obtenue par distillation, sous vide, des bulbes, avec un rendement allant de 0.005 à 0.02 %. Ses propriétés physicochimiques varient largement et dépendent de l'origine de la plante. C'est un liquide jaunâtre avec une odeur caractéristique de l'oignon. Les constituants les plus importants sont: d-n-propyl disulfure et méthyl n propyl disulfure, propanal, 1-propanethiol, SO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S [11, 16].



*méthyl n propyl disulfure*



*propanal*

*Fig. n°7: Autres composés de l'huile essentielle de l'oignon.*

L'arome de l'oignon est dû à un ensemble de composés soufrés. Frais, il possède une flaveur provenant des thiosulfinate et thiosulfonates [54], ces derniers surviennent en concentrations faibles seulement si l'oignon est fraîchement coupé ou haché [84]. Lorsque le végétal est bouilli, l'odeur est due aux trisulfures de propyl et propèn-1yle [54]. Frit, il présente un arome agréablement sucré causé par la présence des diméthyl-thiophènes [63].

#### 4- Propriétés pharmacologiques et emplois:

Etant un aliment majeur dans la cuisine, l'oignon ne peut perdre sa place dans la phytothérapie, surtout que les anciens l'ont utilisé pour traiter plusieurs maladies [15].

La médecine populaire l'a longtemps utilisé en cas de furoncle, d'anthrax, de panaris [15], comme antispasmodique, carminatif, diurétique, expectorant, anthelminthique ... [44]. Les écrits antiques médicaux montrent la propriété diurétique de l'oignon [93], qui est prouvée

maintenant par la présence d'une forte proportion de fructosane (jusqu'à 40 %) [9], mais, diurétique vrai ou stimulant l'élimination de l'eau ? [15].

Pour l'utilisation médicinale, il est préférable celui de couleur rouge et cru, pour sa richesse en composants volatils [93].

C'est un hypoglycémiant: l'un des constituants actifs est la diphénylamine [9] et l'expérimentation animale met en évidence cette activité, un anti-hypercholestérolémiant chez les animaux de laboratoire, il possède aussi une activité antiagrégante plaquettaire et fibrinolytique liée à certains composés soufrés, la plupart sont des inhibiteurs de la cyclo-oxygénase et de la lipooxygénase [15]. Après son absorption il est capable de provoquer un allongement du temps de saignement [9]. Les extraits ont également une activité anti-asthmatique (cobaye) et anti-allergique cutanée et pulmonaire (l'utilisation populaire de l'oignon en friction pour atténuer les effets d'une piqûre de guêpe est connue) [15]. Ses effets dans la prévention de certains cancers ont été étudiés: la consommation régulière de l'oignon réduit considérablement le risque du cancer de l'estomac [18].

Cuit, il conserve merveilleusement ses vitamines et convient à tous, stimule l'appareil digestif, nettoie l'intestin, lutte contre embarras de matières mal digérées. Il prévient aussi bien la nervosité excessive, les insomnies, l'artériosclérose, l'hypertension et certains cancers. Une cure d'oignon, pour les calculs des reins ou de la vessie, œdèmes, rétention d'urine, albuminurie, goutte ou rhumatisme. Il est très apte à provoquer l'élimination des toxines par sudation particulièrement en cas de maladies infectieuses [51].

Enfin, l'activité antimicrobienne de l'oignon et ses extraits, est connue depuis longtemps; le premier qui a noté cette activité des extraits d'oignon était Louis Pasteur en 1858<sup>5</sup> [11]. Virtanen a étudié aussi en 1958<sup>6</sup> l'activité antibactérienne de l'oignon haché [72]. Le jus est antimicrobien *in vitro*: bactériostatique et antifongique [9, 15], l'huile essentielle est antibactérienne et antifongique [90], ainsi que des extraits aqueux qui ont montré une faible activité antimicrobienne par rapport aux extraits aqueux de l'ail [25].

L'effet antimicrobien du méthyl methanethiosulfinate, propyl propanethiosulfinate et les thiosulfates trouvés dans les extraits d'oignon, est plus faible que celui de l'allicine [11].

---

<sup>5</sup> L. Pasteur (1858) Ann.Chim.Phys.Ser.3. 52,404-418.

<sup>6</sup> Virtanen AI and Matikkala EJ (1958) The isolation of S-methyl cysteine sulfoxide and S-n-propyl cysteine sulfoxide from onion (*Allium cepa*) and the antibiotic activity of crushed onion. Acta Chem.Scand., 13, 1898-1900.

## II- Allium sativum L.

### 1- Classification:

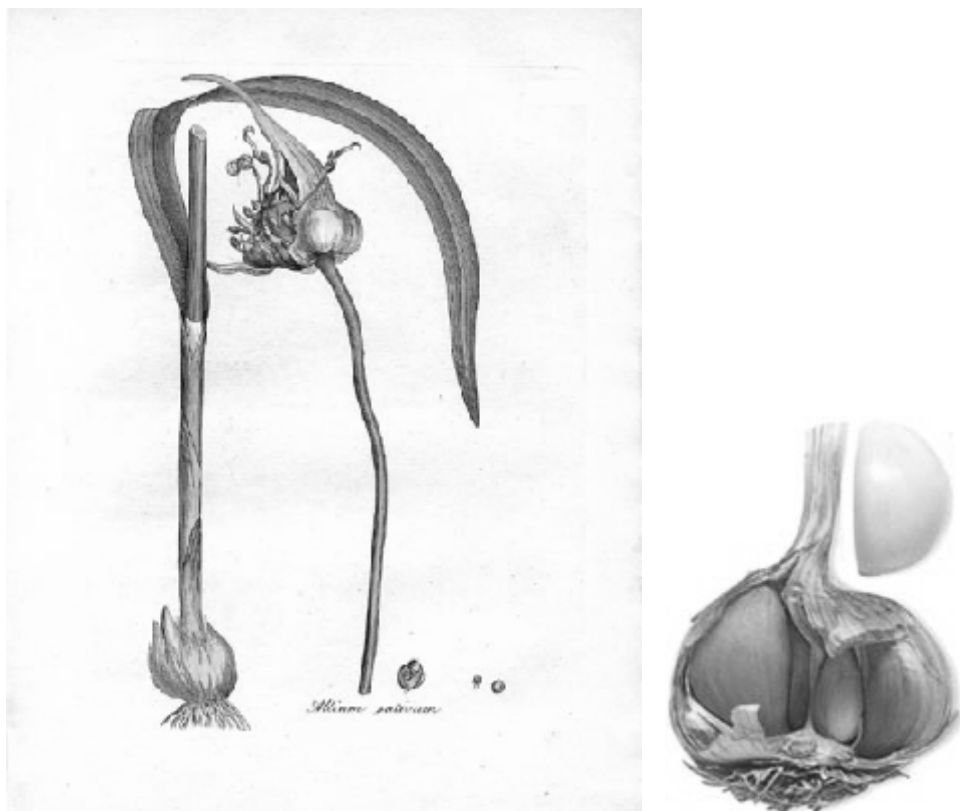
Royaume :	Plante
Sous royaume :	Trachéophyte = plantes vasculaires
Embranchement :	Spermatophytes ou Phanérogames = plantes à graines
Sous embranchement :	Angiospermes = plantes à fleurs
Classe :	Monocotyledonae
Sous classe :	Liliidae
Ordre :	Liliales
Famille :	Liliaceae ou Liliacées
Genre :	<i>Allium</i>
Espèce :	<i>Allium sativum</i> L.
Nom commun :	Ail
Nom en anglais :	Garlic

### 2- Description:

Plante vivace herbacée, de 20 à 40 cm de haut (peut atteindre 1m [16]), l'ail se compose d'un bulbe à nombreux caïeux (gousses) souterrains, rassemblés dans une même enveloppe. De feuilles planes linéaires (0.5 à 1.5 cm de largeur [44]) partant du bulbe, et à gaines embrassantes. D'une tige sortant du bulbe et se terminant en ombelle globuleuse [64], elle peut atteindre 1.2 m de haut [44]. Avec des fleurs blanches ou rougeâtres entourées – avant la floraison [9] – d'une longue spathe membraneuse caduque, terminée en pointe [15].

L'odeur, faible, se développe – forte et soufrée – dès que les tissus sont lésés [15]. Parmi les "*Alliums*", l'ail possède la plus puissante et pénétrable odeur [72], les Grecs l'appelaient "*rose puante*" [68]. Le nom commun "ail" et le nom botanique "*Allium*", viennent du mot celtique "*All*" qui signifie "*qui brûle*" [11].

L'ail est originaire d'Asie centrale [9] et cultivé partout dans le monde [44]. La partie utilisée est le bulbe frais ou déshydraté, l'huile essentielle ainsi que son jus frais.



*Fig. n°8: l'ail avec la spathe membraneuse spécifique, terminée en pointe.*

### 3- Composition chimique:

La chimie de l'ail est tout à fait complexe [1]. Les études sur l'ail ont commencé en 1844 avec Wertheim<sup>7</sup> qui a extrait, examiné l'huile essentielle puis a établi le terme "allyl" pour le radical  $C_3H_5$  [38]. Son travail a été repris, continué et corrigé par Semmler<sup>8</sup> en 1892, qui a publié plus de détails sur les constituants soufrés que contient l'huile de l'ail, il a trouvé des di- et trisulfures, dont le *diallyl disulfure*, comme constituant majeur [30], à la place du *diallyl sulfure* qu'a identifié Wertheim en 1844 [11]. En 1909, Rundqvist<sup>9</sup> avance une théorie (plus tard réfutée) que le précurseur des disulfures était un glucoside qu'il a nommé "alliine" mais n'a pas pu l'isoler sous une forme pure [30].

Les premiers exposés sur les propriétés physiques et la structure chimique du principal composé odorifiant et antibactérien de l'ail écrasé, étaient donnés par Cavallito<sup>10</sup> et al. en 1944. Il a suggéré la structure:  $CH_2=CH-CH_2-S(O)-S-CH_2-CH=CH_2$ , et a introduit le terme "Allicine"

<sup>7</sup> Wertheim T (1844) Ann.Chem.Pharm: 51, 289.

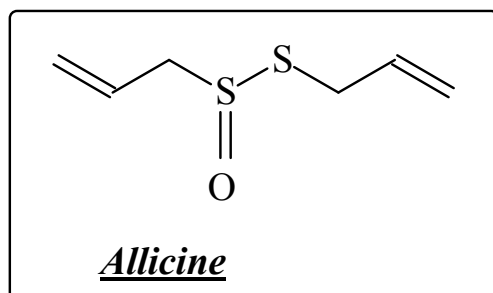
<sup>8</sup> Semmler FN (1892) Archiv der Pharmazie: 230, 434.

<sup>9</sup> Pharm.Notisblad 18(1909) 323. Apoth Ztg. 25(1910) 105.

<sup>10</sup> Cavallito CJ et al (1944) J.Am.Chem.Soc: 66, 1950 et 1952 / (1945) 67, 1032.



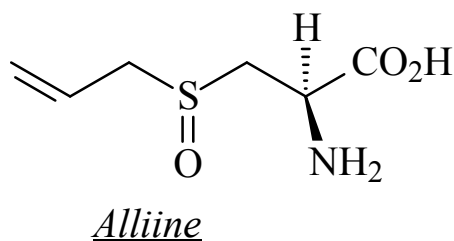
pour ce composant [38]. D'autres investigations par Stoll et Seebeck<sup>11</sup> montraient que l'allicine est formée par une réaction enzymatique d'un amino acide, appelé "Alliine" [38,72].



*Fig. n°9: Composé principal de l'ail coupé.*

L'ail contient approximativement entre 0.1 à 0.36 % d'huile volatile (peut aller jusqu'à 0.2-0.5% [1]), des enzymes exp: alliinase peroxydase, des protéines 16.8% du poids sec, des minéraux, des vitamines: thiamine – riboflavine – niacine ..., des amino acides [44]. Il renferme également des sucres: fructanes, des saponosides (hétérosides de furostanol) mais connu surtout pour ses composés soufrés.

Le constituant principal de l'ail frais non contusé est l'alliine ou sulfoxyde de S-allyl-L-(+)-cystéine [15], il y a aussi le S-(E)-1-propenyl cystéine sulfoxyde et le S-méthyl-cystéine sulfoxyde. Ces trois composés sont des amino acides non protéiniques du métabolisme secondaire de l'ail [11].



*Fig. n°10: Constituant majeur de l'ail intact.*

Lorsque les tissus sont coupés ou broyés, l'alliine est dégradée par l'enzyme l'alliinase (S-alkyl-L-cystéine sulfoxyde lyase), en acide pyruvique et acide 2-propènesulfénique, ce dernier étant aussitôt transformé en allicine (0.3 % de la masse fraîche) [15], qui est un diallyl thiosulfinate [72], d'autres thiosulfines sont présents: méthane thiosulfines, allyl méthane thiosulfines, propyl propanethiosulfines, et autres... [11].

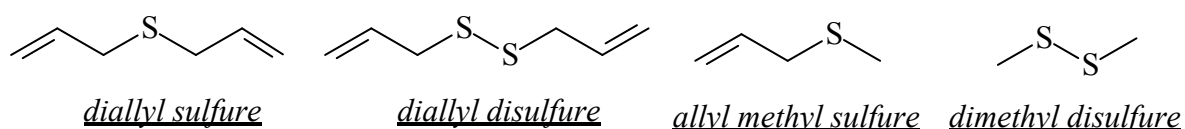
L'huile essentielle, qui est obtenue par entraînement à la vapeur et sous pression, contient une variété de sulfures: diallyl disulfure (DADS), diallyl trisulfure (DATS)... [1]. Ses

<sup>11</sup> Stoll A, Seebeck E (1948) Helv.Chim.Acta. 31,189 / (1950) Scientia Pharm. 18, 61.

caractéristiques: liquide claire, jaune pâle à rouge-orange [16], piquant, acide et odeur aromatique de l'ail [71]. Les disulfures et les polysulfures sont moins volatils que les sulfures, mais possèdent une odeur plus offensive. Ils surviennent à travers des transformations secondaires provoquées par des enzymes de la plante et la chaleur de distillation [65].

*Tableau N° (1): Composition chimique de l'huile essentielle de l'ail non diluée [56].*

<b><u>Constituants</u></b>	<b><u>Concentrations (mg / g)</u></b>	<b><u>Pourcentages</u></b>
Diallyl monosulfure	106 ± 7	10.6
D.A. disulfure	530 ± 7	53.0
D.A. trisulfure	115 ± 4	11.5
D.A. tetrasulfure	43 ± 2	4.3
D.A. pentasulfure	10.5 ± 0.4	1.1
D.A. hexasulfure	0.14 ± 0.01	0.01
Méthyle allyl disulfure	44.1 ± 2	4.4
M.A. trisulfure	69.9 ± 2.2	7
M.A. tetrasulfure	24.6 ± 2.0	2.5
M.A. pentasulfure	6.3 ± 0.6	0.6
M.A. hexasulfure	1.5 ± 0.1	0.2
Diméthyl trisulfure	12.0 ± 1.3	1.2
D.M. tetrasulfure	4.3 ± 0.6	0.2
D.M. pentasulfure	2.0 ± 0.4	0.2

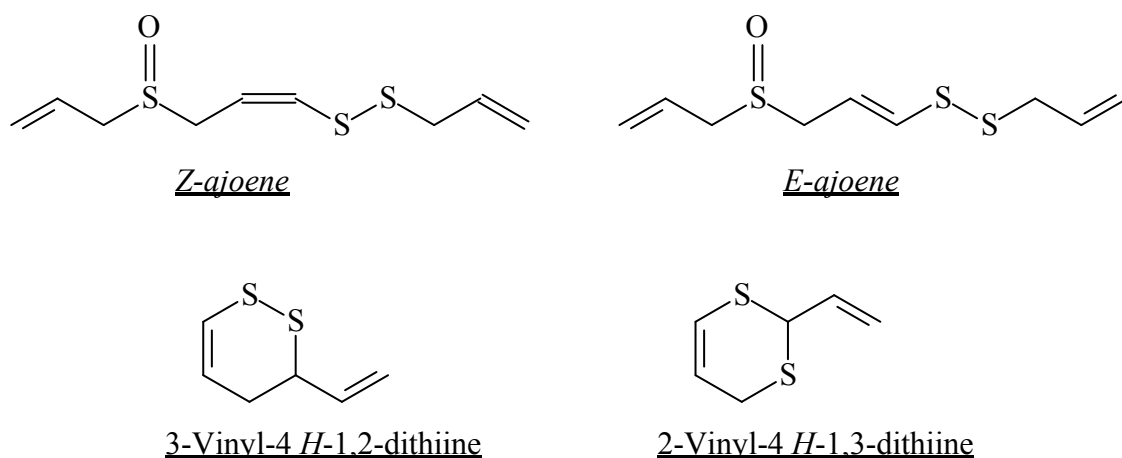


*Fig. n°11: Structure de quelques composés de l'huile essentielle de l'ail.*

Les huiles macérées issues de l'ail, sont développées pour leur usage comme condiment [1], mais trouvent aussi d'autres utilisations comme antimicrobiens [57, 87-89] et comme anticancéreux [57].

Durant le processus de la fabrication de cette huile (macération de l'ail dans une huile végétale), peu d'alliine est converti en allicine. Mais puisque cette dernière est instable, et se décompose facilement, la préparation de l'huile macérée contient les constituants de la

décomposition de l'alicine [82]: vinylthiines, composés majeurs des préparations à l'huile de l'ail [23, 24, 57, 82], ajoenes [1, 57, 82], diallyl disulfure [22] et différents dialk(en)yl sulfures [82], qui sont liposolubles [1, 24].



*Fig. n°12: Structure de quelques composés de l'huile macérée de l'ail.*

#### 4- Propriétés pharmacologiques et emplois:

C'est une des plantes les plus étudiées et utilisées hier et aujourd'hui. Il possède des applications traditionnelles alimentaires et médicinales [66]. Durant plusieurs siècles l'ail était un principal régime alimentaire, un condiment mais aussi un médicament, et dans plusieurs cultures contre le mauvais œil [71].

Utilisé par les Egyptiens pour éviter les maladies [64], sur le Papyrus (1500 av. J.C.) il est inscrit que l'ail était un remède contre plusieurs maladies. Dans la Grèce antique et dans l'île de Cos, où la 8<sup>e</sup> conférence internationale sur les saveurs s'est tenue, Hippocrate a recommandé plusieurs préparations à l'ail [71]. Les Romains l'utilisaient dans tous les potages et en distribuaient à leurs légionnaires avant chaque combat. Preuve qu'ils lui attribuaient déjà des vertus stimulantes [68]. Le naturaliste romain, Pline l'ancien a inscrit plusieurs usages de l'ail: pour éloigner les scorpions, désinfecter les morsures de chiens, guérir la lèpre, asthme et épilepsie [71].

Dans la médecine chinoise il était utilisé contre la diarrhée, dysenterie (bactérienne ou parasitaire), tuberculose pulmonaire, hématurie (sang dans les urines), diphtérie, coqueluche, typhoïde, hépatite, trachome, teigne du cuir chevelu ... [44]. Les Irlandais, les Danois et les Russes utilisaient l'ail, il y a des centaines d'années pour traiter la toux et le froid [71].

L'ail était considéré comme *une panacée* (remède à tous), et ce jusqu'au Moyen Age, quand les grandes épidémies de peste mirent alors ses vertus à rude épreuve. Il était utilisé comme remède sous forme de vinaigre à l'ail, ou encore avec d'autres aromates et épices pour combattre la contagion. Les gens pensaient que son odeur puissante éloignait les puces et autres parasites vecteurs de maladies [68]. Il était aussi utilisé pour traiter la bronchite chronique, mal de dents, douleurs d'oreille, pellicules, hypertension, artériosclérose, hystérie [44].

Plusieurs de ces usages traditionnels ont été repris et vérifiés par des essais cliniques. Du fait que l'ail est riche en fructosanes jusqu'à 75% du poids sec, il est diurétique. C'est un hypotenseur dont l'effet est connu depuis longtemps chez l'homme, et a été confirmé chez l'animal. Egalement un antiathéromateux capable de faire diminuer triglycérides et cholestérol sanguins et d'augmenter le taux des HDL [9]. Une alimentation suffisamment riche en ail diminue l'agrégation plaquettaire et augmente l'activité fibrinolytique, d'où l'intérêt de la plante dans la prévention des thromboses [9, 10].

C'est aussi un expectorant, larvicide, insecticide [44], hypoglycémiant [9], antiviral [82], et prévient de certains cancers [9], dont plusieurs études sur le cancer de l'estomac [41, 56, 57].

Ses propriétés antiseptiques ont été mises à profit depuis des siècles contre des maladies telles que la peste ou le choléra [1]. Louis Pasteur, en 1858, était le premier à avoir constaté que l'ail tue les bactéries. Durant la Première Guerre Mondiale, l'armée Britannique utilisait l'ail pour contrôler les infections. Les docteurs Russes traitaient leurs malades avec de l'ail à défaut de Pénicilline [71]. Ces activités antibactériennes et même antifongiques de l'ail ont été mis en évidence in vitro [15,17, 25, 41, 52, 56, 57, 66, 76, 77, 85].

L'huile essentielle possède les mêmes usages et propriétés que l'ail frais ou ses extraits [44, 25]. Des études récentes montrent l'activité antimicrobienne de l'huile macérée de l'ail contre, des bactéries à gram positif et à gram négatif, des levures et même peut inhiber la croissance de la bactérie *Helicobacter pylori* responsable du cancer de l'estomac [57, 87-89].

Les composés soufrés volatils spécialement: allicine, diallyl disulfure, diallyl trisulfure, ajoènes, vinylthiines, sont généralement considérés responsables de la plupart des activités pharmacologiques [1, 10, 44, 56, 66, 76, 77, 82, 85, 87-89].

Enfin, il faut savoir que dès qu'il est cuit, l'ail perd une grande partie de ses propriétés médicinales et antiseptiques. Mieux vaut donc le consommer cru et finement haché [50], dans certaines pathologies – pour ne pas nuire aux gens avec l'odeur forte – comme le cas de l'oignon, selon le livre de "*la Médecine du Prophète*" ou "*Tibb Ennabaoui*".

### III- *Cinnamomum zeylanicum*:

#### 1- Classification:

Royaume :	Plante
Sous royaume :	Trachéophyte = plantes vasculaires
Embranchement :	Spermatophytes ou Phanérogames = plantes à graines
Sous embranchement :	Angiospermes = plantes à fleurs
Classe :	Dicotyledonae
Sous classe :	Magnoliidae
Ordre :	Magnoliales
Famille :	Lauraceae
Genre :	<i>Cinnamomum</i>
Espèce :	<i>C. zeylanicum</i> Nees ou <i>C. verum</i> J. Presl
Nom commun :	Cannelle de Ceylan
Nom en anglais :	Ceylon cinnamon ou cinnamon

#### 2- Description:

Le cannellier de Ceylan est un arbre d'une dizaine de mètres de haut [80] (peut atteindre 20m [44]), originaire de l'Inde, introduit dans les îles de l'océan Indien et dans le sud-est asiatique, il est principalement cultivé au Sri Lanka (ancien Ceylan) [15], mais se rencontre également aux îles Seychelles, à Madagascar et au Ghana [80].

Ses feuilles opposées et persistantes, de forme ovale, sont lisses et luisantes, d'un vert brillant sur le dessus, glauques (vert tirant sur le bleu) en dessous et ont un parfum caractéristique lorsqu'elles sont écrasées. Ses fleurs petites, blanches ou jaunes sont réunies en grappes terminales et dégagent une odeur désagréable. Ses fruits, de couleur violette foncée, sont des drupes (à pulpe) charnues et ressemblent par leur forme, au gland du chêne [64, 80]. Les écorces de la cannelle dite de Ceylan sont inscrites à la 3<sup>ème</sup> édition de la pharmacopée européenne qui précise: "écorce desséchée, privée du liège externe et du parenchyme sous-jacent, des rejets développées sur les souches taillées de *C.zeylanicum* Nees" [15].

La première récolte est possible au bout de cinq ans, ensuite elle se fait tous les deux ans à la saison des pluies lorsque l'écorce est gorgée de sève [80]. L'écorce est détachée des

jeunes pousses ou des branches, par incision, découpée en lanières de 30 cm de long, qui sont mis à sécher puis grattée pour en séparer le liège. Elle se présente sous forme de tuyaux emboîtés les uns dans les autres [64].

Sur le marché des épices, la cannelle peut se présenter en tuyaux entiers (épiderme gratté de l'écorce interne), en tuyaux brisés, en morceaux, en copeaux ou en poudre.

La pharmacopée donne la description de la drogue en tuyaux entiers: face externe lisse finement striée, face interne plus sombre, odeur aromatique, saveur chaude et très fine. Examinée au microscope, la coupe de l'écorce révèle, entre autres caractères, l'absence de suber (l'écorce est grattée) et la présence dans le parenchyme libérien de grandes cellules sécrétrices [15].

L'écorce de la cannelle, particulièrement celle de *C.verum* et ses huiles, est généralement considérée supérieure pour sa saveur caractéristique, que l'espèce *C.cassia* (cannelle de Chine, son écorce et ses huiles) [44].

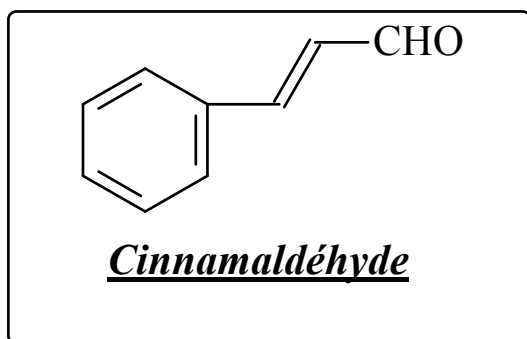
Les parties utilisées de la plante sont l'écorce interne séchée, feuilles et racines, ainsi que l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation.

Cette substance aromatique, connue en Orient depuis longtemps, apparaît en Europe au XII<sup>e</sup> siècle, sous le nom de "cana" qui devait se transformer par la suite d'abord en "canelle" et enfin en "Cannelle". Ce mot est considéré habituellement qu'il dérive, par l'ancien provençal "cana", du latin "canna" = roseau, tuyau (ou de son diminutif cannula), lui-même issu du grec kannā, d'origine orientale (l'hébreu caneh désignait tout végétal à tige creuse). Dans l'Antiquité, la cannelle (de Ceylan) était nommée kinamôn en Arabe; c'est aussi le nom hébreu de la plante dans la bible. La cannelle ne tarda pas à être connue des peuples européens, les grecs la nomment kinnamômôn (Hérodote, vers 450 av. J.C.) ou kinnamon (Nicandre, vers 150 av. J.C.), les latins *Cinnamomum* (Pline) ou *Cinnamum* (Sénèque) vers le début de l'ère chrétienne [32].



*Fig. n°13: Un petit cannellier et les tuyaux caractéristiques.*





*Fig. n°15: Structure du composé majeur de l'huile essentielle de la cannelle de ceylan.*

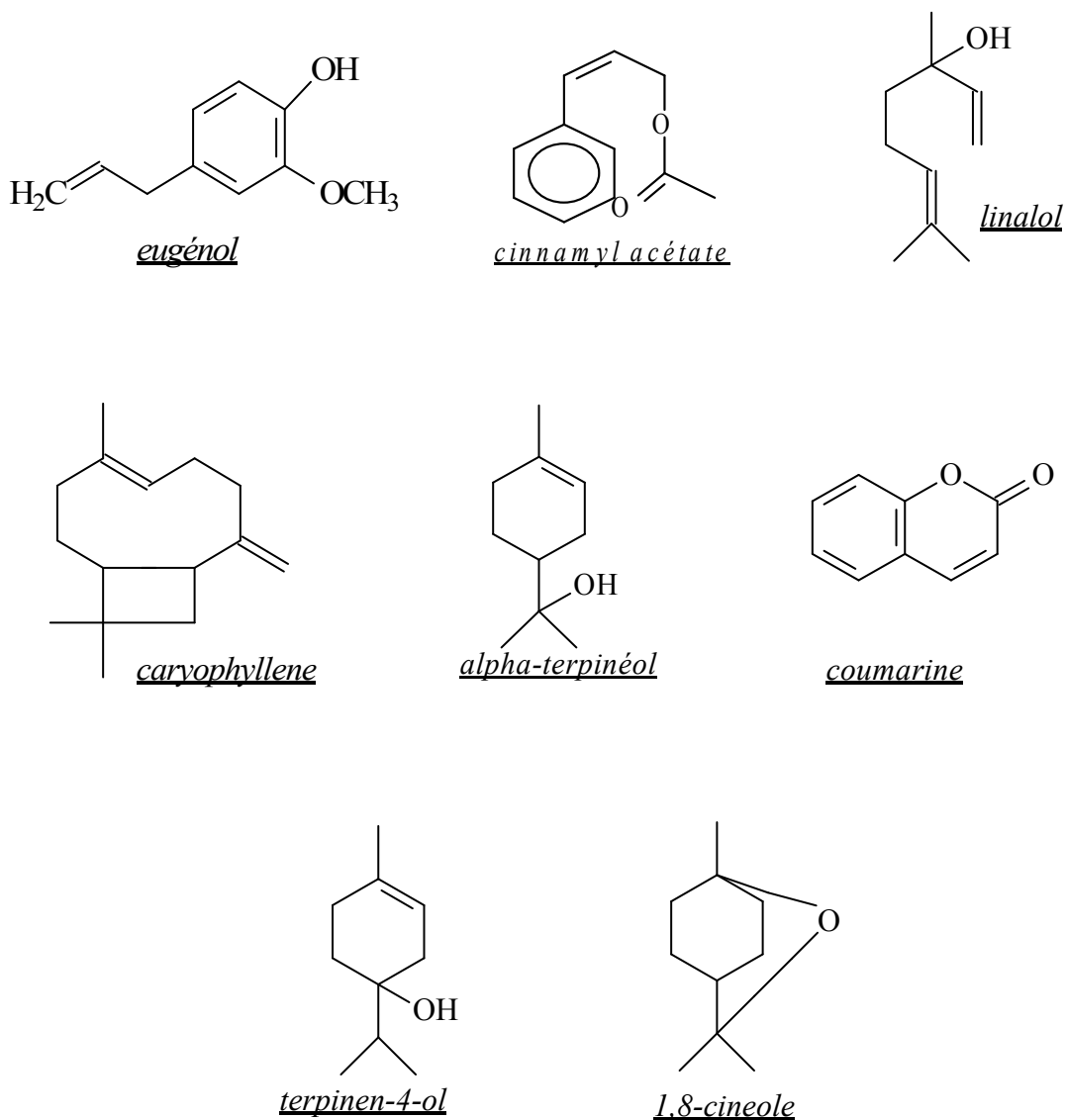
D'autres composés furent identifiés en 1892 et 1902 par les chimistes de la société Schimmel, en particulier, Walbaum et Hüthing, qui notent que la teneur en eugénol dans l'huile essentielle des feuilles est plus importante que celle de l'écorce [30], et ils mirent en évidence plusieurs composés par préparation de dérivés chimiques (réactions chimiques) [80].

L'huile essentielle de l'écorce est obtenue par hydrodistillation. C'est un liquide clair, jaune, graduellement devient rouge-marron avec le temps [14], d'une odeur d'épice caractéristique due au cinnamaldéhyde [16]. Son poids par millilitre: 1.000 à 1.040 grammes [14]. Elle est très majoritairement composée de dérivés phenylpropaniques: E-cinnamaldehyde (pas moins de 60 % et pas plus de 80 % w/w [14]), eugénol jusqu'à 10 %, acétate de cinnamyle. Elle renferme également de très nombreux mono et sesquiterpènes [15].

*Tableau n° (2): Composition chimique approximative de l'huile essentielle de l'écorce de cannelle [86].*

<b><u>Constituants</u></b>	<b><u>Pourcentages</u></b>
Cinnamaldéhyde (forme trans)	76
Eugénol	4
Cinnamyl acétate	5
l-linalol	2
β-caryophyllène	3
α-terpineol	0.7
Coumarine	0.7
1,8-cineole	0.6
Terpinene 4-ol	0.4





*Fig. n°16: quelques constituants de l'huile essentielle de la cannelle.*

L'huile des feuilles, qui renferme 70 à 95 % de phénols (eugénol), est utilisée pour isoler l'eugénol puis la fabrication de la vanilline utilisée en parfumerie et en aromatisation [15].

La méthode de distillation, les conditions des fragments, leur âge et la présence ou l'absence de l'écorce externe, sont d'une importance fondamentale, pas seulement sur le rendement de l'huile essentielle mais aussi sur sa qualité [30], ce qui explique les différences dans la composition chimique d'une référence à l'autre.

#### 4- Propriétés pharmacologiques et emplois:

En plus de son utilisation comme arôme, l'écorce de cannelle et son huile essentielle ont été utilisés il y a des milliers d'années pour traiter la diarrhée chronique, le rhumatisme, le froid, l'hypertension, souffrances abdominales et du cœur, troubles rénaux, ... etc. [44]. En France ainsi qu'en Allemagne, l'écorce ou l'huile essentielle, sont traditionnellement utilisées par voie orale: dans le traitement symptomatique de troubles digestifs tels que ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructation, flatulence; dans les asthénies fonctionnelles; et pour faciliter la prise de poids [15].

L'écorce possède plusieurs propriétés: carminative, astringente [44], sudorifique, antispasmodique, antiseptique, tonique, remède digestif chaud [55].

L'huile essentielle est aussi: carminative, de même qu'elle a une action antiseptique, antivirale, bactéricide et larvicide [17, 27, 35-37, 44, 73, 81]. Ses activités antibactérienne et antifongique ont été démontrées *in vitro*. Certains praticiens utilisent l'huile essentielle, *per os*, en cas d'infection urinaires, une activité bactériostatique urinaire ayant été démontrée [15].

Le cinnamaldéhyde, qui est le constituant majeur de l'huile, a fait l'objet de travaux expérimentaux: sédatif du SNC (système nerveux central) chez la souris, stimulant respiratoire et myocardique chez le chien, aussi il est antibactérien. Son action hypotensive (chien, cobaye) serait due à une vasodilatation périphérique. Il a une capacité à diminuer les mouvements gastriques et intestinaux (rongeurs). La plupart de ces activités ne sont en fait observées que pour des doses élevées administrées par voie parentérale [15]. Il possède aussi une activité antibactérienne vis-à-vis de plusieurs microorganismes [27, 29, 36, 37].

En plus de toutes ces propriétés, la cannelle est réputée d'avoir une forte activité lipolytique [44]. Il a été rapporté aussi [78, 79], que certains extraits de la cannelle (chloroforme, éther de pétrole et extraits aqueux) possèdent une activité mutagène, testée sur *Bacillus subtilis*. D'autres travaux ont montré que l'extrait éthanolique de l'écorce de cannelle possède une action inhibitrice d'endotoxine bactérienne [3, 4].

En parallèle de l'action pharmacologique voulue, l'huile essentielle et le cinnamaldéhyde peuvent être à l'origine de certaines manifestations allergiques, se traduisant par une urticaire, des œdèmes de la face et des lèvres,... [15].

## IV- *Eugenia caryophyllata*:

### 1- Classification:

Royaume :	Plante
Sous royaume :	Trachéophyte = plantes vasculaires
Embranchement :	Spermatophytes ou Phanérogames = plantes à graines
Sous embranchement :	Angiospermes = plantes à fleurs
Classe :	Dicotyledonae
Sous classe :	Rosidae
Ordre :	Myrtales
Famille :	Myrtaceae
Genre :	<i>Eugenia</i>
Espèce :	<i>E. caryophyllata</i> Thunb
Nom commun :	Giroflier
Nom en anglais :	Clove
Autres désignations botaniques: <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merril & Perry, <i>Eugenia caryophyllus</i> Bull. & Harr. [15, 62].	

### 2- Description:

Les Myrtaceae – 3800 espèces dont 500 *Syzygium* – sont caractérisées par la présence, dans leurs tissus, des poches sécrétrices d'huiles essentielles, qui leur confèrent assez souvent des propriétés antiseptiques qu'exploite l'industrie du médicament [15].

Le giroflier est un arbre de plus de 12 m de haut (peut atteindre 20 m [16]). A feuilles persistantes étroites elliptiques, rosâtres (jeunes) à vert-noir (à maturité) [44], glabres et luisantes qui rappellent celles du laurier; elles présentent de petites ponctuations à peine visibles à l'œil nu qui correspondent à des glandes riches en huile essentielle. Les fleurs d'un blanc rosé, sont groupées en petites cymes compactes et ramifiées [15]. Écorce lisse et grise [64].

L'arbre donne en Janvier/Février des boutons floraux, ou clous de girofle, pourpres cramoisis, groupés en cimes terminales. Ils sont cueillis en Juillet avant l'épanouissement de la corolle, quand ils commencent à prendre une teinte rosée [64], puis de nouvelles inflorescences apparaissent dès le mois d'Août et seront récoltées vers le début de l'année suivante [62]. Les

clous de girofle sont mis ensuite à sécher sur des claies au soleil ou à feu doux, pendant trois jours, avant de procéder à l'égriffage pour éliminer les pédicelles ou griffes [64]. Au cours du séchage, clous et griffes perdent entre 67 et 72 % d'eau [62]. Les fleurs non cueillies donnent un fruit, qui est une drupe communément appelée mère du giroflier ou anthofle [64].

Comme le nom de clou l'indique, le bouton floral comporte une partie quadrangulaire, l'hypanthe, longue de 10 à 12 mm pour un diamètre de 2 à 3 mm et une tête globuleuse d'un diamètre de 4 à 6 mm, entourée par les quatre lobes divergents des sépales et constituée des quatre pétales imbriqués qui enferment de très nombreuses étamines recourbées. La poudre des clous de girofle peut être caractérisée par des fragments de parenchyme renfermant de grandes poches sécrétrices, de nombreux grains de pollen triangulaires à 3 pores dans les angles [15].

La pharmacopée européenne (3<sup>me</sup> édition) précise que la drogue est constituée par " le bouton floral entier [...] séché jusqu'à ce qu'il présente une coloration brune-rouge. Il contient au minimum 150 ml / kg d'huile essentielle " [15]. Les clous de girofle sont très caractéristiques: odeur aromatique phénolée agréable, saveur brûlante, forte âcre et piquante, morphologie typique [15, 64].

Le giroflier est connu depuis fort longtemps des Chinois, ainsi que des Arabes en commerce avec ceux-ci [32]. Il est originaire des îles Moluques (Indonésie), maintenant cultivé en Asie tropicale, Afrique, Amérique tropicale etc. telle: Penang (en Malaisie), Zanzibar et Pemba (en Tanzanie), Madagascar... [16]. Il s'adapte particulièrement bien aux climats chauds et humides [62].

Ibn El-Baytar<sup>14</sup>, El Ghassani<sup>15</sup> et Abderrezaq El-Djazaïri<sup>16</sup> le désignent sous le nom de qaranfoul, qui est une transcription du grec Karuôphullon [5], car il est cité sous ce nom chez le médecin grec Galien et Caryophyllon chez le naturaliste Romain Pline<sup>17</sup>. Le nom botanique *Eugenia* du giroflier est dédié au prince Eugène de Savoie, protecteur de la botanique [32].

Les parties utilisées de la plante sont, les boutons floraux, les feuilles et les tiges, d'où l'huile respective est extraite, par hydrodistillation à partir des clous et feuilles, et par distillation à la vapeur pour les tiges [44].

---

<sup>14</sup> Naturaliste et auteur andalou vers 1248.

<sup>15</sup> Auteur maghrébin et médecin d'un sultan Saâdien 16<sup>e</sup> siècle 1578-1603.

<sup>16</sup> Médecin maghrébin, auteur d'un traité de matière médicinale arabe 18<sup>e</sup> siècle.

<sup>17</sup> Naturaliste romain, auteur de l'histoire naturelle, ouvrage en 37 vol, les 15<sup>e</sup> au 27<sup>e</sup> consacrés à la botanique.

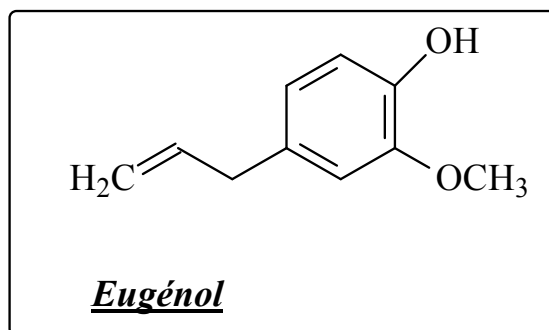


*Fig. n°17: le giroflier, des clous séchés et autres frais.*

### 3- Composition chimique:

Les clous de girofle contiennent entre 15 à 18 % d'huile volatile (pas moins de 15 % v/w d'huile [14]), les tiges entre 4 à 6 % et les feuilles ont un rendement de 2 à 3 % [44]. Ils renferment des hétérosides de chromones [15], glucosides des stérols (sitostérol, stigmastérol et campestérol), acide oléanolique, camphérol, 6 % protéines, 20 % lipides, 61 % carbohydrates, vitamines et autres [44].

L'huile essentielle des clous de girofle est obtenue par hydrodistillation, rarement par distillation à la vapeur [16]. Sa teneur est exceptionnelle: 150 à 180 ml / kg parfois 200ml / kg [15]. La distillation des griffes donne une huile avec un rendement de 4 à 6 %, et celle des feuilles entre 1 à 3 % [62]. Sa composition est caractérisée par la présence d'un propénylphénol largement prépondérant, "*l'Eugénol*". Majoritairement libre (pas moins de 85 % et pas plus de 95 % w/w [14]), et en partie sous forme d'acétate d'eugényle. L'eugénol est accompagné de plusieurs dizaines de composés terpéniques, aliphatiques, aromatiques et hétérocycliques. Particulièrement le  $\beta$ -caryophyllène jusqu'à 10 % [15].



*Fig. n°18: Composé majeur de l'huile essentielle des clous de girofle.*

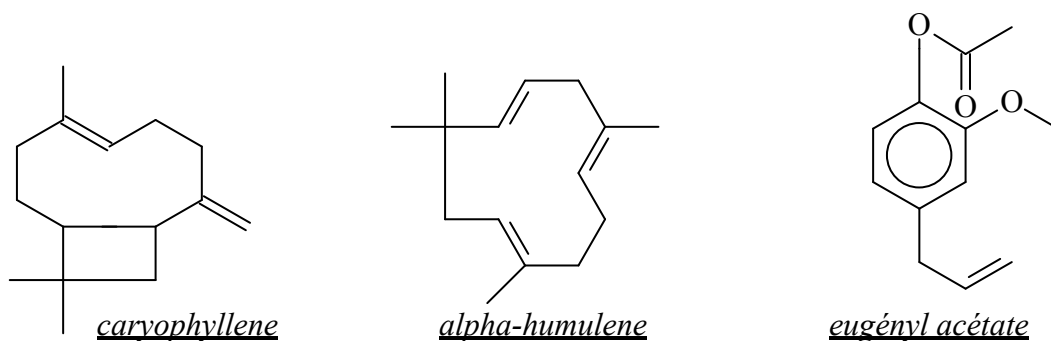
D'après la pharmacopée européenne 3<sup>e</sup> édition, l'huile essentielle des clous de girofle contient de 75 à 88 % d'eugénol, de 5 à 14 % de  $\beta$ -caryophyllène, et de 4 à 15 % d'acétate d'eugényle [15].

Quelques caractéristiques de l'huile essentielle: un liquide claire, jaune pâle (devient foncé avec le temps [16]), odeur et goût du girofle, saveur d'épice brûlante. Poids par millilitre: 1.041 à 1.054 g [14].

*Tableau n° (3): Composition chimique de l'huile essentielle des clous de girofle [20].*

<b><u>Constituants</u></b>	<b><u>Pourcentages (*)</u></b>
Eugénol	91.2
$\beta$ -caryophyllène	4.1
$\alpha$ -humulène	0.6
Eugényl acétate	2.9
$\beta$ -caryophyllène époxyde	0.5

(\*) Pourcentage d'identification est de: 99.3 %.



*Fig. n°19: Quelques composés de l'huile essentielle des clous de girofle.*

#### 4- Propriétés pharmacologiques et emplois:

Epice orientale chargée d'histoire, le clou de girofle est largement employé par l'art culinaire [15], la parfumerie, la cosmétologie et la savonnerie, considéré autrefois comme la panacée presque universelle par les médecins, continue à l'heure actuelle, à être utilisé pour ses diverses propriétés médicinales et autres [62].

Traditionnellement, le clou de girofle est utilisé comme carminatif, antiémétique (le thé issu des clous était pris contre les nausées) et pour le traitement des troubles digestifs. L'huile essentielle était aussi utilisée comme antiémétique, de même qu'elle soulage le mal de dents. En médecine chinoise, elle était donnée dans le cas de diarrhée, d'hernie, et de mauvaise haleine. En Allemagne, les préparations à base de girofle (ou d'huile essentielle), sont utilisées en bain de bouche en cas d'inflammation de la bouche ou de la gorge [15, 44].

Il a été démontré que les extraits des clous de girofle ainsi que l'huile essentielle, possèdent une forte activité antioxydante [20]. De plus les extraits aqueux des clous de girofle, de l'huile essentielle et de l'eugénol, augmentent l'activité de la trypsine [44]. En plus les clous de girofle sont antalgiques dentaires, antinévralgiques, antiseptiques, aromatiques, stimulants, stomachiques, ... [5].

L'huile essentielle est plus utilisée comme correcteur d'autres médicaments (U.S.P.)<sup>18</sup>. Elle est antihistaminique et spasmolytique (musculotropique), cette dernière propriété est due probablement à la présence d'eugényl acétate. Elle possède également une large activité antimicrobienne: contre les bactéries à gram positif et à gram négatif, les champignons, de même qu'elle est anthelminthique et larvicide [17, 19, 27, 33, 44, 73, 81]. Elle est employée comme antiseptique en stomatologie et dans le traitement des névralgies dentaires, aussi pour la préparation de médicaments, de pâtes dentifrices,... [5].

L'eugénol de l'huile essentielle des clous de girofle est un puissant inhibiteur de l'agrégation plaquettaire. Pendant longtemps, les chirurgiens dentistes l'ont employé en médication intracanaire, mais le fait qu'il puisse entraîner des lésions histologiques lorsqu'il est mis en contact direct avec les tissus vivants, a conduit certains à l'abandonner. Intéressant pour ses propriétés anesthésiques locales (il inhibe la conduction nerveuse), c'est aussi un anti-inflammatoire (inhibiteur de la synthèse des prostaglandines et du chimiotactisme des leucocytes). A faible concentration  $10^{-2}$  à  $10^{-3}$  mM / l, il est bactéricide. Il entre également dans la formulation de solutions pour bains de bouche et de pommades. L'eugénol n'est pas

---

<sup>18</sup> U.S.P. = United State Pharmacopoeia.

cancérogène mais il est caustique à l'égard de la peau et des muqueuses [15]. L'activité antibactérienne de l'eugénol a été aussi étudiée sur plusieurs souches [17, 19, 27, 29, 81].

Malgré ses effets bénéfiques, il est rapporté que l'huile cause des irritations de la peau et une sensibilité chez l'homme [44]. Par voie générale et à forte dose (0.5 ml / kg), l'huile est toxique, notamment pour le jeune enfant chez lequel elle provoque: dépression du S.N.C. (système nerveux central), nécrose hépatocellulaire, convulsions et/ou troubles majeurs de la coagulation [15].



# *L'EXPERIMENTATION*

*MATERIEL*

*ET*

*METHODES*



## 1- Matériel végétal:

Les plantes utilisées dans ce travail se trouvent sur le marché tout au long de l'année, pour leur importance majeure et leur usage quotidien dans la cuisine Algérienne. Elles ont été achetées sous forme fraîche, cas de l'oignon et de l'ail (bulbes); et sous forme séchée, cas de la cannelle et des clous de girofle (tuyaux et bouton floraux).

Les plantes employées dans les expériences doivent avoir quelques propriétés:

- 🌿 L'ail possédant une forte odeur lorsqu'il est coupé, pour sa richesse en constituants actifs.
- 🌿 L'oignon de couleur mauve, pour sa richesse en jus et principes actifs.
- 🌿 La cannelle en forme de tuyaux est mieux que celle en forme de débris de l'écorce, pour sa composition chimique différente et riche par rapport à l'autre.
- 🌿 Les boutons floraux entiers sans utiliser les pédicelles qui se trouvent généralement mélangées avec les clous de girofle.

## 2- Préparation des huiles infusées:

Les huiles infusées sont obtenues selon deux méthodes: à froid ou à chaud, en utilisant des plantes sèches, ou des plantes fraîches avec l'ail et l'oignon comme exception, qui ont des propriétés chimiques spéciales telles que l'instabilité de leurs constituants en contact de l'air et la dégradation facile du tissu végétal.





Elle consiste à mettre une quantité de plante à macérer dans un volume d'huile de base pendant une durée de temps limitée. La condition la plus importante sur le choix de l'huile de base, est qu'elle ne doit pas avoir une activité antibactérienne, pour ne pas fausser les résultats.

Après macération, ces huiles infusées sont prêtes pour les tests du pouvoir antibactérien. Mais leur insolubilité dans l'eau, et par conséquent ne peuvent pas diffuser dans le milieu de culture, doivent être dissoutes préalablement dans un solvant organique tel que l'éthanol, qui ne doit pas avoir un pouvoir antibactérien, et le degré utilisé est celui de 60°, qui a été testé sur des souches bactériennes et n'a pas donné de zones d'inhibition.

### a- Huiles à la cannelle et aux clous de girofle:

Cette technique s'applique aux plantes sous forme séchée, elle a été décrite dans plusieurs encyclopédies médicales [26, 55], et botaniques [5], et aussi dans d'autres livres de thérapeutique [8].





Les étapes de préparation de ces huiles sont:

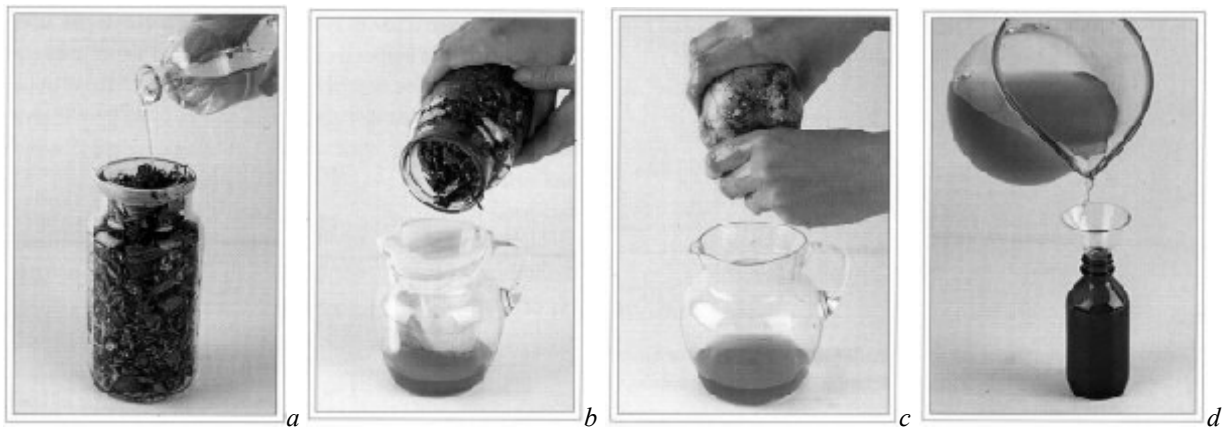
-  Peser 10 g de la plante sèche et moulue en poudre.
-  Prendre 20 ml d'huile de palme, et dans un récipient hermétique mélanger les deux ingrédients.
-  Laisser macérer à température ambiante (de la chambre), pendant au moins 3 semaines.  
Ou portée au bain marie (pour une huile infusée à chaud) quelques heures: 2 à 3 h.
-  Après la macération, le mélange huile – plante est filtré, puis conservé hermétiquement.

### 6- Huiles à l'ail et à l'oignon:

Celle-ci, a été aussi décrite dans plusieurs références [26, 55, 5, 8], elle concerne les plantes sous leur forme fraîche, mais qui ne précise pas la plante exactement. Alors elle a été modifiée selon les expériences faites (tests préliminaires) et selon la référence n° 87.

Les étapes de préparation de ces huiles sont:

-  Peser 15 g de la plante fraîche et hachée ou coupée en petits morceaux.
-  Prendre 20 ml d'huile de palme, pour la mélanger avec la plante dans un récipient hermétique.
-  Laisser macérer à température ambiante (température de la chambre), pendant une nuit à 24 h ou 48 h maximum.
-  Après la macération, le mélange huile – plante est filtré, puis conservé hermétiquement.



*Fig. n° 1: Etapes de préparation des huiles infusées à froid. a- mélange plante et d'huile. b- filtration après macération. c- pression si nécessaire. d- conservation hermétique et à l'abri de la lumière.*

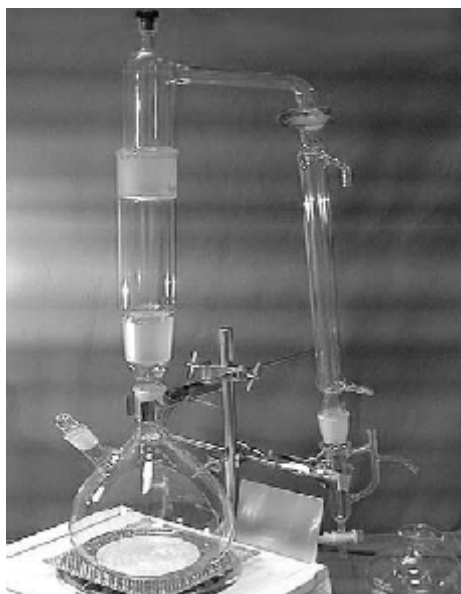
### 3- Extraction des huiles essentielles et des jus frais:

Tester l'activité antibactérienne des huiles essentielles et des jus, a pour but la comparaison avec les huiles infusées et l'évaluation de leur pouvoir vis-à-vis des bactéries.

#### a- Huiles essentielles de la cannelle et des clous de girofle:

L'extraction des huiles essentielles de la cannelle et des clous de girofle a été faite par la méthode de l'hydrodistillation classique au niveau du laboratoire du Pr. Kabouche Z.: Laboratoire de l'Obtention des Substances Thérapeutiques – Université de Constantine.

L'hydrodistillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter, intact ou broyé, dans un alambic rempli d'eau, qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité [15].





*Fig. n° 2: Montage de l'hydrodistillation.*

Tandis que les huiles essentielles de l'ail et de l'oignon ne sont pas facilement extractibles, et nécessitent une distillation sous vide, ce qui n'est pas disponible. En plus, ces deux plantes ne contiennent que très peu d'huiles essentielles.

#### b- Les jus frais de l'ail et de l'oignon:

Le jus ou eau métabolique d'une plante, représente toute la partie liquide extraite de la plante, en ne laissant comme résidus que les fibres cellulosiques [8].

Les plantes ne contiennent pas toutes une quantité égale de jus, ce qui est le cas de l'ail et l'oignon:



-  L'oignon est très juteux et l'obtention et la séparation de son jus est facile.
-  Par contre l'ail contient moins de jus, et par conséquent, les gousses hachées doivent être soumises à la pression.

Les jus sont préparés le jour même des expériences – au maximum une heure avant – à cause de leur instabilité, et ils sont conservés hermétiquement.

#### 4- Souches bactériennes et milieux de culture:



Les tests de l'activité antibactérienne ont été réalisés en deux étapes au niveau du Laboratoire des Biotechnologies –Université de Constantine– initialement pour les tests préliminaires, puis au niveau du Laboratoire de Bactériologie – CHU de Constantine.

Les bactéries utilisées dans ce travail sont:

-  Des souches de référence suivantes: *E. coli* ATCC 25922 – *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 – *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, fournies par l'Institut Pasteur d'Alger. (ATCC = American Type Culture Collection)
-  Des bactéries isolées à partir de prélèvements de malades ayant différentes infections, intoxications alimentaires, fièvre typhoïde, infections urinaires, abcès et pus: *Escherichia coli*, *Enterobacter sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella typhi*, différentes *Salmonella* mineures, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Citrobacter sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Serratia sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*.

Ces bactéries sont conservées et maintenues en vie par des repiquages continus, sur divers milieux de culture solides et liquides, selon les espèces.

Pour assurer la survie des bactéries et tester les huiles infusées, plusieurs milieux de culture ont été utilisés, des milieux d'isolement, sélectifs ou d'enrichissement pour chaque bactérie ou plus exactement pour chaque groupe de bactéries.

-  Gélose Hektoen, VRBG (gélose au vert brillant) ou BCP (bromo crésol pourpre), pour les Entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa*.
-  Gélose Chapman pour les *Staphylococcus aureus* et *S. albus*.

- 🌿 Gélose au sang cuit ou Gélose chocolat pour les espèces exigeantes telles les *Streptococcus sp.* et même les *Staphylococcus albus*.
- 🍷 Bouillon cœur cervelle, qui est un milieu d'enrichissement pour toutes les souches bactériennes.
- 🌿 Et enfin, Gélose Muller – Hinton, utilisée pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.

### 5- Tests de l'activité antibactérienne:

Ces procédés ont été réalisés suivant plusieurs références: 12, 60, 39, 6, et modifiées si nécessaire selon les moyens existants.

#### 5-1- Essais préliminaires:

L'évaluation de l'activité antibactérienne d'un extrait passe par l'étape des disques, qui est simple et pas coûteuse, et la plus utilisée en routine dans les laboratoires de bactériologie pour les tests de sensibilité aux antibiotiques.

Le but de ces expériences initiales est la recherche du pouvoir antibactérien des huiles infusées et trouver les doses exactes, par manque de références utilisant les mêmes techniques.

- \* tester les huiles infusées seules sans dilution.
- \* tester l'activité de l'éthanol à 60° et l'huile de palme, vis-à-vis des bactéries.
- \* utiliser des doses croissantes de l'éthanol pour solubiliser les huiles infusées: 1/1 – 1/2 – 1/3 – 1/4.

#### 5-2- L'Aromatogramme ou Méthode des Disques:

L'étude du pouvoir antibactérien par cette technique est identique à celui de l'antibiogramme, la seule différence c'est le remplacement des antibiotiques par des extraits aromatiques.

#### L'inoculum:

- 🌿 à partir d'une culture pure des bactéries à tester sur milieu d'isolement (ayant au maximum 24h), racler à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur scellée, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- 🍷 décharger l'anse ou la pipette pasteur dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %.
- 🌿 bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une DO de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm. Cet étalon se prépare en versant 0.5 ml

d'une solution de  $\text{BaCl}_2$  dihydraté à 1% dans une éprouvette, et compléter à 100 ml avec du  $\text{H}_2\text{SO}_4$  à 1%. Ainsi l'étalon doit présenter une DO de 0.08 à 0.1 lue à 625 nm.

- ✎ ajuster l'inoculum, soit en ajoutant de la culture s'il est trop faible ou l'eau physiologique stérile, s'il est trop fort.
- 🌱 l'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum.

#### L'ensemencement:

- ✎ le milieu de culture utilisé est Muller – Hinton, qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.
- 🌱 tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse).
- ✎ l'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- 🌱 frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- ✎ répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétri de  $60^\circ$  à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- 🌱 dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

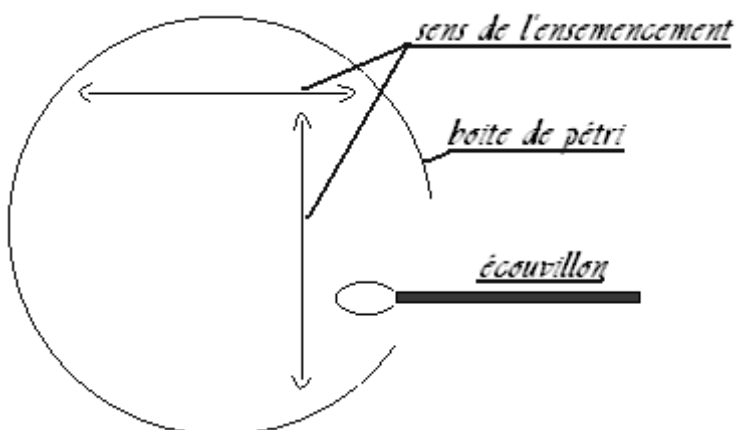


Fig. n° 3: Ensemencement par écouvillon.

#### Préparation des disques d'aromatogramme:

- ✨ les disques sont fabriqués à partir de papier Watman n°3 (ou autre type de papier buvard), avec un diamètre de 5.5 mm, suivant le diamètre de l'emporte-pièce.



- ✱ ensuite ils sont mis dans un tube à essai (ou plus si nécessaire), et stérilisés à l'autoclave.
- ✱ entre-temps, les agents antibactériens sont préparés avec les doses suivantes:
  - \* les huiles essentielles et les huiles infusées sont diluées dans l'éthanol à 1/4 : v/v d'huile dans l'alcool; ces doses sont établies selon les expériences préliminaires.
  - \* les jus sont utilisés sans dilution du fait de leur solubilité dans le milieu de culture.
- ✱ une fois les géloses Muller – Hinton sontensemencées, les disques imbibés de chaque extrait sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen.

Incubation et Lecture:

Pendant 18 à 24 heures à 37°C, pour toutes les boîtes, et à température ambiante (température de la chambre) pour les boîtes qui contiennent des disques imbibés de jus de l'ail ou de l'oignon.

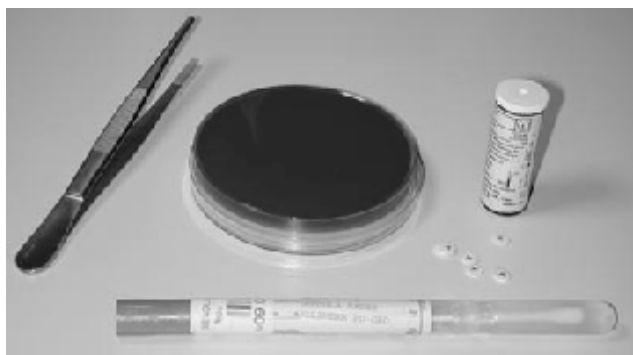
Les résultats sont observés le lendemain des expériences, en mesurant les diamètres des halos clairs tout autour des disques, ou zones d'inhibition.

Interprétation des résultats:

Les zones d'inhibition obtenues ne sont pas représentatives dans le cas des huiles infusées qui ne diffusent pas bien dans le milieu de culture, malgré leur dissolution dans un solvant organique, et par conséquent le calcul des diamètres d'inhibition sera erroné.

Pour cela, la recherche de l'activité antibactérienne avec cette méthode est insuffisante, il faut cependant utiliser la technique de l'incorporation de l'extrait dans le milieu gélosé coulé en boîtes, qui est la méthode de "*détermination de la concentration minimale inhibitrice*", pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles infusées.

Fig. n° 4: Matériel utilisé pour l'ensemencement par écouvillonnage pince, écouvillon, disques stériles, milieu de culture en boîtes de pétri.



5-3- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI):

Cette technique se pratique soit sur milieu solide ou en milieu liquide, mais la plus économique est celle sur milieu solide, qui permet de tester plusieurs souches bactériennes dans

la même boîte (il est possible d'ensemencer une trentaine de souches dans une seule boîte par la méthode de touches [6]).

Elle consiste à réaliser des dilutions d'extraits aromatiques (huiles ou jus), et les incorporer dans le milieu gélosé fondu et refroidi à 45°C, et à tester sur ces milieux les souches bactériennes à étudier. Ce test donne un intervalle de valeurs de la concentration minimale inhibitrice de chaque souche.

Cette méthode est utilisée comme un indicateur de l'activité antibactérienne, en plus de la recherche de la valeur réelle lorsque c'est possible.

Les concentrations des extraits aromatiques se préparent de la façon suivante (sachant que les huiles infusées sont plus faibles alors leurs concentrations seront plus élevées):

- 🌿 Peser: 0.1g de l'huile essentielle des clous de girofle, 0.098g de celle de la cannelle et 2g des huiles infusées de chaque plante puis les mettre dans 10 ml d'éthanol à 60°.
- 🌿 Peser 2 g des jus de l'ail et de l'oignon et les diluer dans 10 ml d'eau distillée stérile.
- 🌿 Préparer des doubles dilutions de chaque extrait: dose/2; dose/4; ...

Après la réalisation des différents extraits, ils sont mis avec le milieu de culture pour le calcul de la CMI:

- 🌿 Mettre 2 ml de chaque solution dans une boîte de Pétri en lui rajoutant 18 ml du milieu de culture Muller – Hinton fondu et ramené à 45°C.
- 🌿 Homogénéiser le mélange par mouvements rotatoires. Laisser prendre la gélose et si c'est possible la faire sécher plus longtemps pour éviter les gouttelettes d'eau qui se forment.
- 🌿 Ensemencer les boîtes de Pétri par le même inoculum préparé pour l'aromatogramme, à l'aide d'une anse de platine par stries. Les boîtes de Pétri sont partagées suivant le nombre de bactéries.
- 🌿 Ne pas oublier une boîte témoin ensemencée sans aucun extrait.
- 🌿 Enfin, incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.
- 🌿 La lecture et l'interprétation des résultats c'est le calcul de la CMI qui est la concentration de l'extrait où il n'y a pas de culture visible (inhibition totale).

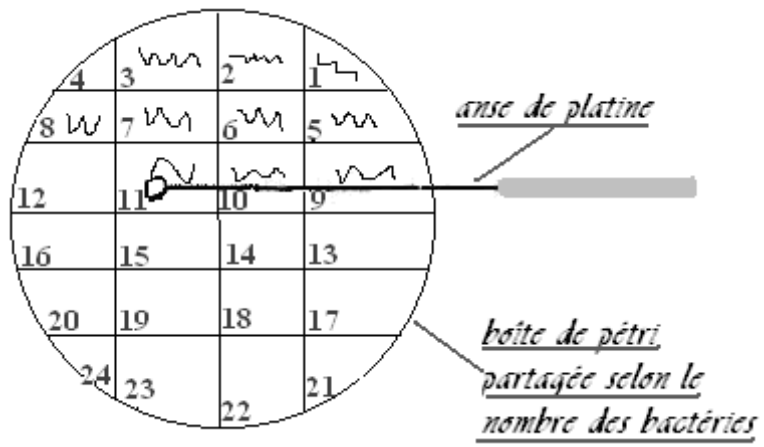


Fig. n° 5: Méthode d'ensemencement par stries.

*RESULTATS*

*ET*

*DISCUSSION*



## Tests Préliminaires

### 1- Tester les huiles infusées sans dilution:

*Tableau n°1: Diamètres (mm) des zones d'inhibition des huiles infusées sans dilution des quatre plantes, sur FDA.*

Les bactéries	HI d'oignon		HI de l'ail		HI de la cannelle		HI de girofle	
	S	D	S	D	S	D	S	D
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Shigella sp.</i>	-	10	10	10	11	15	9	11
<i>Staph. aureus</i>	7	7	7.5	8	8	9	7.5	8

*HI: huile infusée. S: dose simple. D: double dose. Le milieu de culture utilisé ici est le FDA (Food and Drug Administration Agar) [34].*

*Tableau n°2: Diamètres (mm) des zones d'inhibition des huiles infusées sans dilution des quatre plantes, sur MH.*

Les bactéries	HI d'oignon	HI de l'ail	HI de cannelle	HI de girofle
<i>Escherichia coli</i>	-	-	7	7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	7	15++
<i>Shigella sp.</i>	-	-	9	17*
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	8	6.5	15

*HI: huile infusée. (++) : Pousse à l'intérieur de la zone d'inhibition. (\*) : Zone de couleur foncée et pousse à l'intérieur. MH: Muller-Hinton.*

Les Tableaux n°1 et n°2 montrent des diamètres des zones d'inhibition trop faibles par rapport aux diamètres d'inhibition généralement trouvées avec les antibiotiques, quelque soit le milieu de culture utilisé, avec dose simple ou double dose, à cause de leur insolubilité dans le milieu de culture, quelque soit le milieu de culture utilisé.

Pour cela il fallait dissoudre les huiles infusées dans l'éthanol, afin de permettre aux constituants actifs de diffusés dans la gélose et exercer l'activité souhaitée, sans que ce solvant puisse avoir un effet sur les bactéries ou sur l'huile.

## 2- Tester l'activité antibactérienne de l'éthanol à 60°:

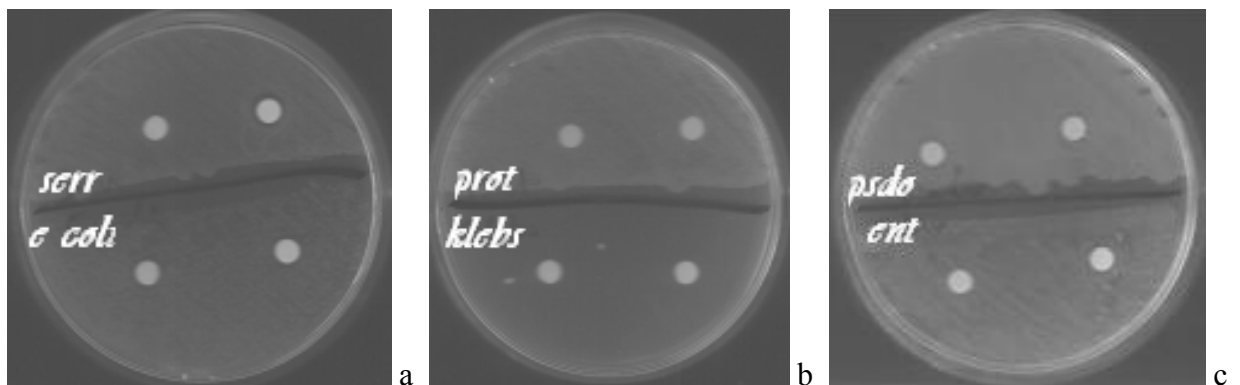
*Tableau n°3: Evaluation de l'activité antibactérienne de l'éthanol 60° par la méthode de l'incorporation directe dans le milieu de culture.*

Bact		<i>K.pn.</i>	<i>Ent.</i>	<i>S. ty</i>	<i>S. s</i>	<i>E. c</i>	<i>E c A</i>	<i>Ps</i>	<i>Ps A</i>	<i>Sta</i>	<i>Sta A</i>	<i>St B</i>
EtOH*	1°	-	+	-	+	++	-	-	-	+	+	+
	2°	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+

(\*): 2ml d'éthanol dans 18ml de milieu de culture. (-) absence de pousse. (+) présence de pousse. (++) bonne pousse. Les abréviations utilisées sont celles du tableau n°4 en dessous. 1° et 2°: deux tests.

Ce tableau montre que l'éthanol à 60° n'a pas un pouvoir antibactérien puissant malgré l'inhibition de quelques souches.

Avec la méthode de diffusion sur gélose ou méthode des disques, l'éthanol 60° n'a aucun effet significatif, c'est-à-dire pas de zone d'inhibition sauf très faibles zones avec: *Serratia sp.* et *E. coli*. Lorsque il est testé ultérieurement pour confirmation avec d'autres souches, aucune zone n'a été observée.



*Fig. n° 1: Zones d'inhibition de l'éthanol 60°.*

*a: Serratia sp, E. coli; b: Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae; c: Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter sp.*

### 3- Tester l'activité antibactérienne de l'huile de palme:

Tableau n°4: Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile de palme.

Les bactéries	Concentrations de l'huile de palme (mg/ml)			
	20	15	10	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-
<i>Enterobacter sp.</i>	+	+	+	-
<i>Salmonella typhi</i>	+	+	+	+
<i>Salmonella sendai</i>	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+
<i>E. coli ATCC 25922</i>	+	+	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	-
<i>P.aeruginosa ATCC 27853</i>	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+
<i>St aureus ATCC 25923</i>	+	+	+	+
<i>Staphylococcus albus</i>	+	+	+	+

(-) absence de pousse. (+) présence de pousse.

Les résultats obtenus avec cette expérience montrent que l'huile de palme n'a pas aussi un effet visible sur toutes les bactéries à cause de leur résistance, malgré l'inhibition de *Klebsiella pneumoniae*, qui est un cas spécial (avec les tests suivants).

En utilisant la méthode des disques, l'huile de palme n'a pas présenté de zones d'inhibition avec toutes les souches.

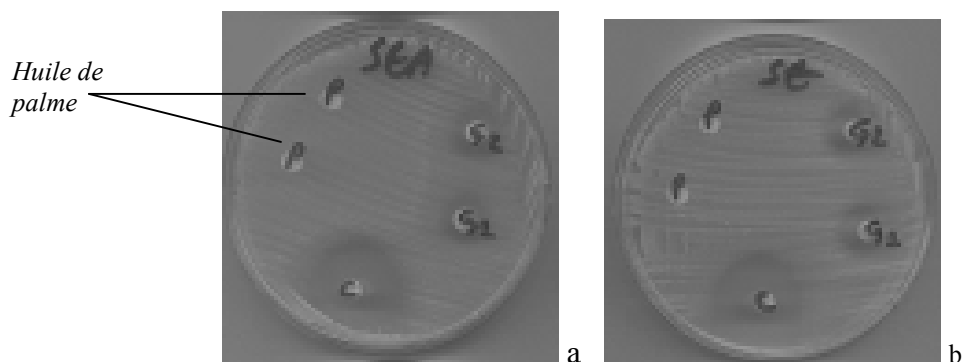


Fig. n° 2: Zones d'inhibition de l'huile de palme (P), testée avec d'autres extraits.

a: *Staphylococcus aureus ATCC 25923*. b: *Staphylococcus aureus*.

#### **4- Utiliser des doses croissantes de l'éthanol pour solubiliser les huiles infusées:**

*Tableau n°5: Tests de l'activité antibactérienne des huiles infusées dans différents volumes d'éthanol.*

Volume des HI dans l'éthanol		1/1		1/2		1/3	
Les doses simples et doubles des HI		S	D	S	D	S	D
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	A	-	7	-	-	-	7
	O	-	7	8	-	-	-
	G	-	-	8.5	10	7	7
	C	8	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	A	-	-	9	-	-	-
	O	-	-	-	-	-	9.5
	G	-	-	-	13	9	11
	C	-	7	10	7	-	8
<i>Proteus mirabilis</i>	A	7	8	-	-	-	-
	O	-	-	-	-	-	-
	G	8	-	-	-	7	7
	C	8.5	8.5	-	-	6.5	6.5
<i>Serratia sp.</i>	A	7	-	-	-	-	6.5
	O	-	6.5	-	7	7	-
	G	-	-	15*	8	8	7
	C	-	-	9	-	-	-
<i>Enterobacter sp.</i>	A	7	-	-	-	7	-
	O	-	8	-	-	-	8
	G	-	8	15	10	7.5	-
	C	7.5	8	7.5	9.5	9	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	A	7	7	Non Déterminé	9	6.5	-
	O	-	-		7.5	8	7
	G	-	-		9	10.5	13
	C	7	8		8	6.5	-

HI: huiles infusées. (\*): irrégulière 15mm sur 8mm. S: simple dose. D: double dose. (-) aucune zone.



Les zones d'inhibition obtenues sont faibles avec tous les extraits, à l'exception de celles des clous de girofle qui sont parfois importants. Mais un problème se pose avec ces dilutions où les phases huile/alcool se séparent facilement et ne sont pas bien homogénéisées. Il se trouve que la dilution 1/4 (v/v) convient mieux, sans trop d'éthanol pour ne pas influencer l'activité des huiles infusées, sachant que certains solvants peuvent inhiber l'activité antibactérienne de certains extraits [35].

### **5- Tester l'activité antibactérienne de l'huile d'olive:**

L'huile d'olive utilisée est une huile préparée d'une manière traditionnelle.

*Tableau n° 6: Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile d'olive.*

Les bactéries	Concentrations de l'huile d'olive (mg / ml)						
	20	15	10	5	2.5	1.25	0.625
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter sp.</i>	-	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella typhi</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella sendai</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	-	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus albus</i>	+	+	+	+	+	+	+

(-) absence de croissance. (+) présence de croissance.

Ce tableau présente la réponse des bactéries en présence de l'huile d'olive qui a une activité antibactérienne sur plusieurs souches, et les autres souches ce sont avérées résistantes.

# Ail et Oignon

## 1 – Mesure des zones d'inhibition:

### 1 – a – Les extraits frais (jus):

Tableau n°1: Diamètres (mm) des zones d'inhibition des jus de l'oignon et de l'ail.

Les bactéries	Jus de l'oignon	Jus de l'ail	
		Dilué ~ 1:1	Pur
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	14
<i>Enterobacter sp.</i>	7.5	-	35
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	24
<i>Proteus mirabilis</i>	-	9	13
<i>Escherichia coli</i>	7	-	15
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	7	38
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	-	13
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	15
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	--	40
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	9.5	42

Diamètre des disques est 5.5 mm. (-): aucune zone d'inhibition. (- -) absence de croissance.

L'incubation est faite à température ambiante pour éviter la volatilité des extraits. Selon les résultats obtenus, le jus d'oignon a une activité antibactérienne plus faible que celle de l'ail. Ce dernier dilué perd son efficacité mais pur il possède un pouvoir puissant vis-à-vis de toutes les souches, surtout les bactéries à gram positif avec des diamètres arrivant à 40 et 42mm pour les deux *Staphylococcus*. Par ailleurs d'autres espèces sont moins sensibles au jus de l'ail et ayant des diamètres d'inhibition entre 13 et 15 mm.

Ce pouvoir du jus de l'ail est dû à la présence de plusieurs substances possédant une activité antibactérienne comme l'allicine et d'autres dérivés hydrophiles, plus puissants que les constituants du jus d'oignon [11]. A l'exception de *E. coli* ATCC 25922 et *Enterobacter sp*, les autres souches à gram (-) sont moins sensibles que les bactéries à gram (+) à cause de la composition chimique de la paroi des bactéries à gram (-) qui présente des structures spéciales: les LPS (lypopolysaccharides), ne permettent pas la pénétration des molécules hydrophiles.

## 1 – b – Les huiles infusées:

Tableau n°2: Diamètres (mm) des zones d'inhibition des huiles infusées de l'ail et l'oignon.

Les bactéries	Huile infusée à l'ail			Huile infusée à l'oignon		
	1	2	M	1	2	M
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	6.5	6.5	7	-	7
<i>Enterobacter sp.</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella sendai</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	6.5	-	6.5	-	6.5	6.5
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	6.5	6.5	6.5
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	6.1	-	6.1
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	7++	7	-	-	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	7irr	7
<i>Staphylococcus albus</i>	-	-	-	-	-	-

Diamètre des disques 5.5mm. ++: Pousse à l'intérieur de la zone. irr: zone irrégulière. M: moyenne.  
Dilutions des huiles infusées: 1/4 (v/v) dans l'éthanol.

Les résultats obtenus des zones d'inhibition qui ne dépassent pas les 7mm de diamètre avec toutes les bactéries et les deux plantes, montrent le faible pouvoir de ces huiles par rapport aux extraits frais (jus); surtout celles de l'ail, avec un grand écart entre les zones d'inhibition du jus et l'huile infusée, par fois aucune zone visible.

Cette différence est due forcément au problème de diffusion dans le milieu de culture, puisque les jus sont hydrosolubles, alors que les huiles infusées malgré dissoutes dans l'éthanol mais n'ont pas pu bien diffusées.

Ces résultats se rapprochent de ceux obtenus avec les tests préliminaires. Cela mène à la recherche du pouvoir antibactérien avec une autre méthode, celle de dilution ou CMI.

## **2 – Calcul des Concentrations Minimales Inhibitrices:**

Cette méthode est utilisée, en plus de son caractère quantitatif (calcul des valeurs), pour signaler la présence de l'activité antibactérienne (caractère qualitatif).

Il est à noter que le témoin a poussé normalement pour toutes les expériences, sauf quelques exceptions du *Staphylococcus albus* qui pousse faiblement.

### **2 – a – Les jus:**

#### **2-a-1- l'ail:**

L'utilisation du jus pur n'a donné aucune croissance de toutes les bactéries testées, mais les doses standardisées (2ml/10ml) n'ont pas donnée de bons résultats: croissance dense de plusieurs souches surtout les deux *Pseudomonas*. A la première concentration: *Pseudomonas aeruginosa* et *P. aeruginosa ATCC 27853* seulement ont poussé et avec la seconde concentration trois souches seulement sont inhibées: *Salmonella typhi*, *E coli* et *Staphylococcus albus*.

#### **2-a-2- l'oignon:**

Avec le jus d'oignon pur, toutes les bactéries ont poussé normalement sauf *Staphylococcus aureus ATCC 25923* et *Staphylococcus albus* qui ont présenté une faible pousse, et de la même façon pour la première concentration où toutes les bactéries se sont vues résistantes.

La raison pour laquelle ces extraits n'ont pas présenté un effet antibactérien est due probablement à l'instabilité des constituants actifs de l'ail et de l'oignon. L'interaction de ces molécules avec le milieu de culture, peut affecter leur pouvoir antibactérien [43].

## 2 – b – Les huiles infusées:

### 2-b-1- l'ail:

Tableau n°5: Valeurs des CMI de l'huile infusée de l'ail.

Les bactéries	Concentrations de l'huile infusée de l'ail (mg/ml)						
	20	15	10	5	2.5	1.25	0.625
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter sp.</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella typhi</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella sendai</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. coli ATCC 25922</i>	+	+	+	+	+	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	- CMI	+	+	+	+
<i>P.aeruginosa ATCC 27853</i>	-	-	-	- CMI	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus ATCC 25923</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus albus</i>	+	+	+	+	+	+	+

(+) présence de croissance. (-) absence de croissance.

Les résultats obtenus montrent une présence de croissance faible par rapport au témoin -sauf *E. coli*- à n'importe quelle concentration de l'huile infusée chez toutes les bactéries et une exception de *Klebsiella pneumoniae* qui est sensible avec tous les extraits, *Pseudomonas aeruginosa* présente une CMI de 10 mg/ml et *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* présente une CMI de 5 mg/ml, alors que l'inhibition de *E. coli ATCC 25922* n'a pas une explication logique sauf si c'est l'effet alcool en présence de faibles quantités d'huile.

La faible croissance des bactéries est due à la vapeur d'ail qui s'est condensée à l'intérieur des boîtes de pétri, cette vapeur peut exercer un effet antibactérien faible [36].

La concentration de 20mg/ml de l'huile de l'ail, s'est montrée insuffisante pour inhiber la plupart des souches bactériennes *in vitro*, malgré son utilisation traditionnelle en cas d'infections du système respiratoire avec l'huile d'olive. Probablement il y a une synergie entre l'ail et l'huile d'olive, qui possède une activité antibactérienne [17].

Pour cela, une étude de l'activité antibactérienne de l'infusion de l'ail avec l'huile d'olive avec cette méthode est préférable.

Cet extrait (ail – huile d'olive) est préparé pendant 38h d'infusion. Le dosage est: 2ml d'HI/10 ml d'éthanol.

*Tableau n°6: Valeurs des CMI de l'huile infusée de l'ail avec l'huile d'olive.*

Les bactéries	Dilutions de l'huile infusée de l'ail dans l'huile d'olive (ml) <sup>a</sup>					
	2	1.5	1	0.5	0.25	0.125
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	VN
<i>Enterobacter sp.</i> *	+	-	+	-	-	VN
<i>Salmonella typhi</i>	+	+	+	+	+	VN
<i>Salmonella sendai</i>	+	+	+	+	+	VN
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	VN
<i>E. coli ATCC 25922</i>	+	+	+	+	+	VN
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	- CMI	+	+	+	VN
<i>P.aeruginosa ATCC 27853</i>	-	-	-	-	-	VN
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+	VN
<i>S. aureus ATCC 25923</i>	+	+	+	+	+	VN
<i>Staphylococcus albus</i>	+	+	+	+	+	VN

*a: volume de l'extrait dans le milieu de culture. VN: Visibilité nulle parce que la croissance des bactéries est trop faible. (\*): Perturbations.*

Les résultats obtenus ne sont pas meilleurs que les précédents à l'huile de palme, avec présence de perturbation d'*Enterobacter sp.*, cela est dû alors à l'interaction des constituants actifs de l'huile infusée dans les deux cas avec les ingrédients du milieu de culture, et par conséquent leur inactivation ou blocage [39, 43]. Sans oublier la qualité de l'huile d'olive qui joue un rôle important.

Ainsi, la dose de 20 mg/ml est insuffisante pour exercer un effet antibactérien *in vitro*. Et pour prouver le pouvoir antibactérien il faut une étude supplémentaire *in vivo*.

## 2-b-2- l'oignon:

Tableau n°7: Valeurs des CMI de l'huile infusée de l'oignon.

Les bactéries	Concentrations de l'huile infusée de l'oignon (mg/ml)						
	20	15	10	5	2.5	1.25	0.625
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	ND
<i>Enterobacter sp.</i>	+	+	+	+	+	+	ND
<i>Salmonella tiphy</i>	+	+	+	+	+	+	ND
<i>Salmonella sendai</i>	+	+	+	+	+	+	ND
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	ND
<i>E. coli</i> ATCC 25922	+	+	+	+	+	+	ND
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	-	-	-	+	+	ND
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	- CMI	+	+	+	ND
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+	+	ND
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	+	+	+	+	+	+	ND
<i>Staphylococcus albus</i>	+	+	+	+	+	+	ND

ND: non déterminé.

Ces résultats sont ressemblants à ceux de l'huile infusée de l'ail; la plupart des bactéries ont pu pousser sur un milieu contenant un extrait ayant un pouvoir antibactérien. L'exception est pour les souches: *Klebsiella pneumoniae* la souche la plus sensible parmi toutes les souches utilisée depuis le début des expériences. *Pseudomonas aeruginosa* qui est inhibée entre 15 et 5 mg/ml, c'est à dire entre la dose faible et forte, peut être due à une perturbation à cause de l'instabilité de l'extrait, et *P. aeruginosa* ATCC 27853 qui présente une CMI de 10mg/ml. Puisque l'oignon est connu pour un pouvoir plus faible que celui de l'ail [11], l'étude de l'infusion en présence de l'huile d'olive ne sera pas nécessaire.

En conséquence, la dose de 20 mg/ml d'huile infusée d'oignon est insuffisante pour inhiber les souches *in vitro*, et il faut donc une concentration plus élevée afin de trouver des résultats plus précis, en plus d'une étude supplémentaire *in vivo* pour prouver ces résultats.

Les résultats obtenus jusque là des huiles infusées de l'ail et de l'oignon, affirment que l'activité antibactérienne *in vitro*, se manifeste faiblement vis-à-vis des souches sensibles, malgré le pouvoir puissant *in vivo* (préparées traditionnellement).

# **Cannelle et Girofle**

## **1 – Mesure des zones d'inhibition:**

### **1 – a – Les huiles essentielles:**

*Tableau n°1: Diamètres (mm) des zones d'inhibition des huiles essentielles de la cannelle et des clous de girofle.*

Les bactéries	Huile Essentielle de cannelle				Huile Essentielle des clous de girofle			
	1	2	3	M	1	2	3	M
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	23	18	14	21.66	11	9	11	10.33
<i>Enterobacter sp.</i>	18	20	21	19.66	11	15	13	13
<i>Salmonella typhi</i>	14	18	18	16.66	7	11	12	10
<i>Proteus mirabilis</i>	21	21	17	19.66	14	13	12	13
<i>Escherichia coli</i>	16	17	16.5	16.5	11	14	15	13.33
<i>E. coli ATCC 25922</i>	ND	16	15.5	15.75	ND	13	13	13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16	12	10.5	12.83	10	-	9.5	9.75
<i>P. aeruginosa ATCC 27853</i>	ND	12	14	13	ND	15	7	11
<i>Staphylococcus aureus</i>	32	28	30	30	19	14	13	15.33
<i>S. aureus ATCC 25923</i>	30	34	28	30.66	16	11	17	14.66

*Diamètre des disques est 5.5 mm. M: moyenne. ND: non déterminé. 1, 2 et 3: nombres d'expériences. Dilutions des huiles essentielles: 1/4 (v/v) dans l'éthanol. (-) aucune zone.*

En comparant les résultats des deux extraits, il est clair que l'huile essentielle de la cannelle est plus puissante que l'huile des clous de girofle. En plus, les bactéries à gram positif ont des zones d'inhibition plus grandes que celles des bactéries à gram négatif pour les deux huiles essentielles, *S. aureus ATCC 25923* correspond au plus grand diamètre d'inhibition, alors que les deux *Pseudomonas* ont les plus faibles diamètres.

En se référant aux résultats obtenus, il sera facile de conclure que les bactéries à gram positif sont plus sensibles que les bactéries à gram négatif, mais d'autres tests sont toujours nécessaires: diverses bactéries supplémentaires présentées dans le *Tableau n°2*.



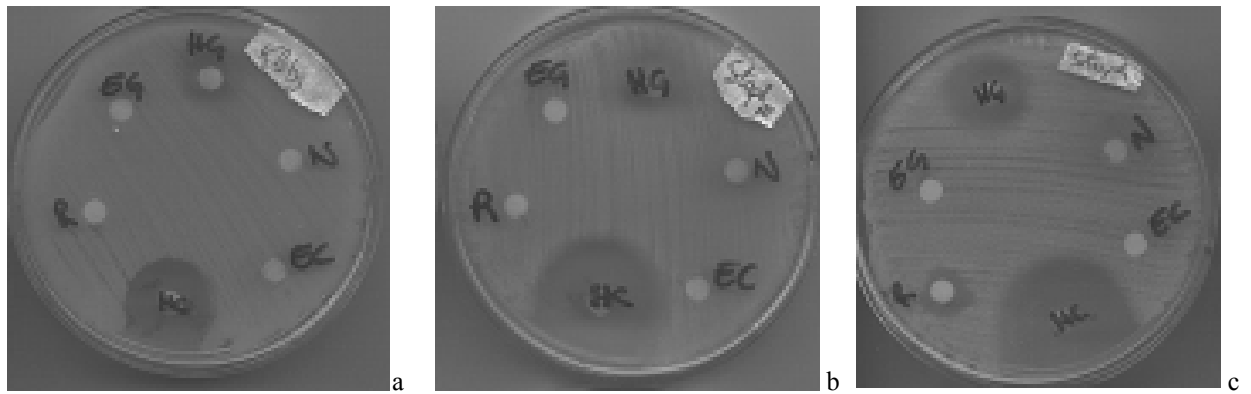


Fig. n° 1: Zones d'inhibition des huiles essentielles de la cannelle et du clou de girofle, avec les souches: a- *Klebsiella pneumoniae*. b- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. c- *S. aureus*.

Tableau n°2: Diamètres (mm) des zones d'inhibition des huiles essentielles de la cannelle et des clous de girofle (suite).

Les bactéries	Huile Essentielle de cannelle			Huile Essentielle des clous de girofle		
	1	2	M	1	2	M
1 <i>Salmonella typhi</i> 1	23	27	25	18	20	19
2 <i>Salmonella typhi</i> 2	22	24	23	13	14	13.5
3 <i>Salmonella</i> mineure 1	17	17	17	14	17	15.5
4 <i>Salmonella</i> mineure 2	19	18	18.5	16	12	14
5 <i>Enterobacter sp. 1</i>	28	25	26.5	19	18	18.5
6 <i>Enterobacter sp. 2</i>	19	21	20	13	14	13.5
7 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1	09	10	9.5	07	09	08
8 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 2	11	-	11	10	10	10
9 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 3	11	-	11	6.5	08	7.25
10 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 4	11	-	11	08	6.5	7.25
11 <i>Escherichia coli</i> 2	17	-	17	14	12	13
12 <i>Escherichia coli</i> 3	15	-	15	12	11	11.5
13 <i>Escherichia coli</i> 4	15	-	15	13	14	13.5
14 <i>Escherichia coli</i> 5 S	28	26	27	13	14	13.5
15 <i>Escherichia coli</i> 6	30	28	29	14	13	13.5
16 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 2	16	-	16	11	10	10.5
17 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 4	20	-	20	13	12	12.5

Les bactéries (suite)	Huile Essentielle de cannelle			Huile Essentielle des clous de girofle		
	1	2	M	1	2	M
18 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 5	18	-	18	12	10	11
19 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 3	14	15	14.5	11	13	12
20 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 6	20	-	20	12	10	11
21 <i>Citrobacter sp. 1</i>	19	18	18.5	10	10	10
22 <i>Serratia sp.1</i>	15	18	16.5	17	14	15.5
23 <i>Proteus mirabilis 1</i>	36	35	35.5	14	15	14.5
24 <i>Morganella morganii</i>	32	36	34	13	12	12.5
25 <i>Klebsiella oxytoca</i>	18	17	17.5	15	12	13.5
26 <i>Acinetobacter sp.</i>	29	35	32	22	22	22
27 <i>Staphylococcus aureus 1</i>	30	34	32	17	17	17
28 <i>Staphylococcus albus 2</i>	45	-	45	13	13	13
30 <i>Streptococcus sp. 1</i> <b>R</b>	13	13	13	11	10	10.5
32 <i>Staphylococcus aureus 2</i>	27	24	25.5	14	15	14.5
33 <i>Staphylococcus albus 3</i>	29	36	32.5	15	12	13.5
34 <i>Citrobacter sp. 2</i>	20	17	18.5	10	10	10
35 <i>Serratia sp. 2</i> <b>R</b>	17	18	17.5	15	15	15

*R*: résistant. *S*: sensible (aux antibiotiques). *M*: moyenne. (-): non déterminé. 1 et 2: nombres d'expériences. Dilutions des huiles essentielles: 1/4 (v/v) dans l'éthanol. Diamètre des disques: 5.5 mm.

Ce tableau donne les zones d'inhibition des mêmes huiles essentielles en utilisant d'autres souches variées pour mieux comparer. Alors que dans le *Tableau n°1* c'était les souches à gram positif qui avaient les plus grands diamètres, dans le *Tableau n°2* et avec l'huile essentielle de girofle quelques bactéries à gram négatif possèdent des zones d'inhibition plus étendues. Le plus grand diamètre 45mm est celui de *Staphylococcus albus 2* avec l'huile de la cannelle, mais d'autres souches à gram négatif présentent aussi des diamètres importants *Proteus mirabilis1*: 35.5mm; *Morganella morganii*: 34mm. Cependant les plus faibles diamètres se trouvent toujours chez les *Pseudomonas*.

Ainsi, l'observation précédente sur l'activité de l'huile de la cannelle qui est plus puissante que celle des clous de girofle n'est pas toujours vraie avec toutes les souches, du fait de la présence de quelques bactéries qui ont des zones d'inhibition des deux extraits très

rapprochées, cas de *Pseudomonas aeruginosa* 2: 11mm (HE de cannelle) et 10mm (HE de girofle); *Serratia sp.1*: 16.5mm (HE de cannelle) et 15.5mm (HE de girofle).

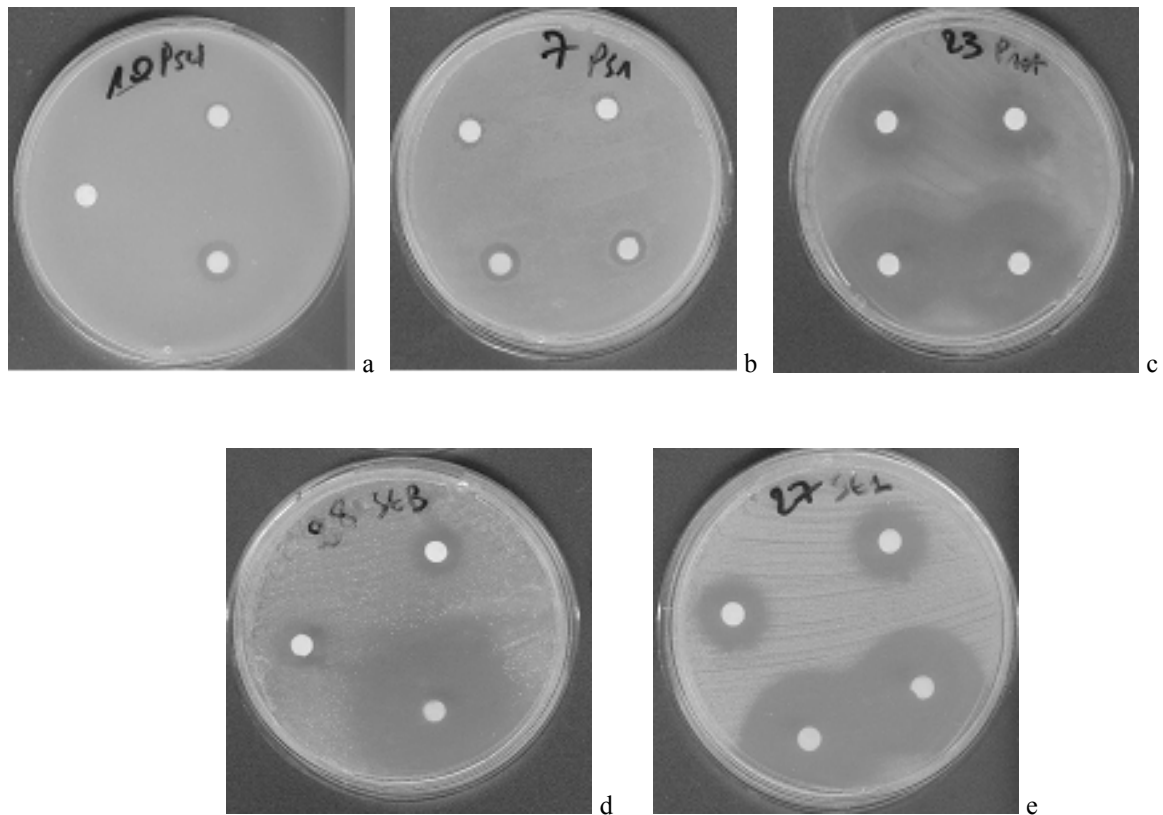


Fig. n° 2: Zones d'inhibition des huiles essentielles de la cannelle et du clou de girofle, des souches: a- *Pseudomonas aeruginosa* 4. b- *Ps. aeruginosa* 1. c- *Proteus mirabilis* 1. d- *S. albus* 2. e- *Staphylococcus aureus* 1.

Ainsi, et avec cette méthode il s'est avéré initialement que l'huile de cannelle est plus puissante que celle des clous de girofle contre la plupart des souches bactériennes, et que le pouvoir antibactérien de ces huiles n'a pas de rapport direct avec le gram des bactéries (composition chimique de la paroi), vue leur réponse rapprochée pour une même huile essentielle.

### ***1 – b – Les huiles infusées:***

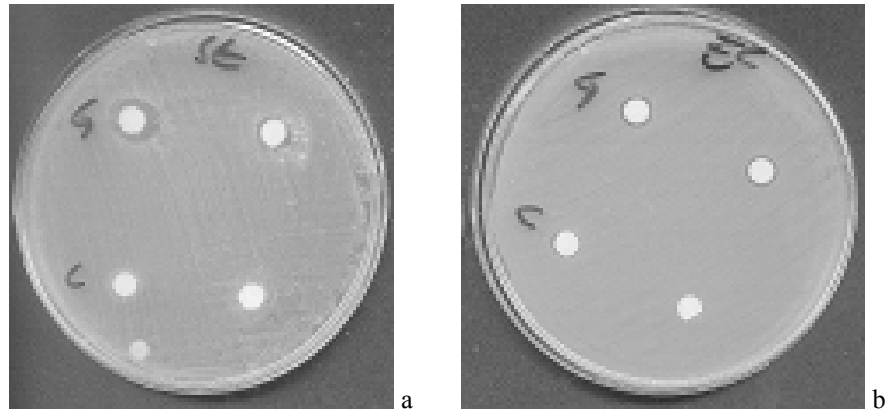
*Tableau n°3: Diamètres (mm) des zones d'inhibition des huiles infusées de la cannelle et des clous de girofle.*

Les bactéries	Huile Infusée de la cannelle			Huile Infusée des clous de girofle		
	1	2	M	1	2	M
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	6.1	6.1	08	6.1	7.05
<i>Enterobacter sp.</i>	6.1	6.5	6.3	08	07	7.5
<i>Salmonella typhi</i>	-	07	07	-	08	08
<i>Salmonella sendai</i>	-	-	-	07	-	07
<i>Escherichia coli</i>	07	-	07	08	7.5	7.75
<i>E. coli ATCC 25922</i>	-	-	-	07	6.5	6.75
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	6.1	6.1	6.1
<i>P.aeruginosa ATCC 27853</i>	-	-	-	6.1	07	6.55
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	12++	09++	10.5
<i>St aureus ATCC 25923</i>	-	-	-	7.5	6.5	07
<i>Staphylococcus albus</i>	-	-	-	6.5	07	6.75

*(-): aucune zone visible. (++) : pousse à l'intérieur de la zone d'inhibition. Dilutions des huiles infusées: 1/4 (v/v) dans l'éthanol. Diamètre des disques: 5.5mm. 1 et 2: nombres d'expériences. M: moyenne.*

Ce *Tableau n°3* représente des valeurs des zones d'inhibition très inférieures en comparant avec celles des huiles essentielles, parfois aucune zone d'inhibition n'est visible. Aussi, l'huile infusée de la cannelle est trop faible par rapport à celle des clous de girofle, qui n'est pas le cas des huiles essentielles des deux plantes.

Ce qui peut être expliqué par la composition lipidique des huiles infusées et leur difficulté de se dissoudre complètement dans l'éthanol, contrairement aux huiles essentielles qui se dissolvent totalement à une certaine proportion de l'éthanol, et par conséquent ces huiles infusées ne diffusent pas normalement dans le milieu de culture et n'exerce pas le pouvoir antibactérien voulu.



*Fig. n° 3: Zones d'inhibition des huiles infusées de la cannelle et du clou de girofle des souches:  
a- Staphylococcus aureus. b- E. coli.*

A cause des faibles zones obtenues, les expériences avec les autres souches complémentaires n'ont pas été faites, parce qu'elles n'auront aucune valeur significative.

La différence entre les résultats des huiles essentielles et les huiles infusées est due à la particularité de chaque extrait. Ces divergences ont amené à faire d'autres expériences pour approfondir et mieux analyser et interpréter ces résultats, par la méthode de dilution en milieu gélosé ou calcul de la CMI, qui est une technique additionnelle importante qualitative et quantitative.

## **2 – Calcul des Concentrations Minimales Inhibitrices:**

Avec toutes les expériences, le témoin a poussé normalement, sauf quelques bactéries à gram positif qui ont poussé faiblement.

### **2 – a – Les huiles essentielles:**

#### **2-a-1- clous de girofle:**

*Tableau n° 4: Valeurs des CMI de l'huile essentielle des clous de girofle.*

Les bactéries	Concentrations de l'huile essentielle des clous de girofle			
	1 mg / ml (1000 µg/ml)	0.5 mg / ml (500 µg/ml)	0.25 mg / ml (250 µg/ml)	0.125 mg / ml (125 µg/ml)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-
<i>Enterobacter sp.</i>	-	-CMI	+	+
<i>Salmonella typhi</i>	-	-CMI	+	+
<i>Salmonella sendai</i>	-	-CMI	+	+
<i>Escherichia coli</i>	-	-CMI	+	+
<i>E. coli ATCC 25922</i>	-	-CMI	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-CMI	+
<i>P. aeruginosa ATCC 27853</i>	-	-	-CMI	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-CMI	+	+
<i>S. aureus ATCC 25923</i>	-CMI	+	+	+
<i>Staphylococcus albus</i>	-CMI	+	+	+

(+) présence de croissance; (-) absence de croissance bactérienne.

Les concentrations minimales inhibitrices obtenus varient de 0.25 à 0.5 mg/ml pour les bactéries à gram négatif et entre 0.5 à 1 mg/ml pour les bactéries à gram positif. *Klebsiella pneumoniae* s'est avérée être sensible à toutes les concentrations utilisées, la CMI est évaluée inférieure à 0.125 mg/ml.

Ces résultats sont insuffisants pour donner une explication logique et finale du pouvoir antibactérien de l'huile essentielle des clous de girofle, et sont suivis par les tests supplémentaires suivants présentés dans le *Tableau n°5*.

Tableau n°5: Valeurs des CMI de l'huile essentielle des clous de girofle (suite).

Les bactéries	Concentrations de l'huile essentielle des clous de girofle (mg/ml)			
	1	0.5	0.25	0.125
3 <i>Salmonella</i> mineure 1	-	-CMI	+	+
4 <i>Salmonella</i> mineure 2	-	-CMI	+	+
6 <i>Enterobacter</i> sp. 2	-CMI	+	+	+
11 <i>Escherichia coli</i> 2	-CMI	+	+	+
12 <i>Escherichia coli</i> 3	-CMI	+	+	+
13 <i>Escherichia coli</i> 4	-CMI	+	+	+
20 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 6	-	-CMI	+	+
27 <i>Staphylococcus aureus</i> 1	-CMI	+	+	+
2 <i>Salmonella typhi</i> 2	-CMI	+	+	+
7 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1	-CMI	+	+	+
15 <i>Escherichia coli</i> 6	-CMI	+	+	+
17 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 4	-CMI	+	+	+
19 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 3	-CMI	+	+	+
28 <i>Staphylococcus albus</i> 2	-	-CMI	+	+
30 <i>Streptococcus</i> sp. 1 <b>R</b>	-	-	-	-
32 <i>Staphylococcus aureus</i> 2	-CMI	+	+	+
33 <i>Staphylococcus albus</i> 3	-	-	-CMI	+
34 <i>Citrobacter</i> sp. 2	-CMI	+	+	+
35 <i>Serratia</i> sp. 2 <b>R</b>	-	-	-CMI	+
16 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 2	-	-CMI	+	+
21 <i>Citrobacter</i> sp. 1	-CMI	+	+	+
25 <i>Klebsiella oxytoca</i>	-CMI	+	+	+
26 <i>Acinetobacter</i> sp.	-	-	-	-
22 <i>Serratia</i> sp.1	-	-CMI	+	+
24 <i>Morganella morganii</i>	-	-	-CMI	+

Le *Tableau n°5* pose un problème pour une explication rationnelle du pouvoir antibactérien des clous de girofle, puisque la plupart des souches à gram négatif ont des CMI entre 0.5 et 1 mg/ml, les souches à gram positif ont des CMI variables entre 0.25 et 1mg/ml, et

deux souches sensibles à toutes les concentrations: *Acinetobacter sp.* et *Streptococcus sp.1* qui était constatée résistante aux antibiotiques.

En se référant aux résultats précédents des *Tableaux n° 1, 2 et 4*, le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle des clous de girofle est variable selon la souche à tester, ni le gram ni la méthode peuvent indiquer son effet avant d'être testée.

## **2-a-2- cannelle:**

*Tableau n° 6: Valeurs des CMI de l'huile essentielle de la cannelle.*

Les bactéries	Concentrations de l'huile essentielle de la cannelle (mg/ml)					
	0.98 980µl/ml	0.49 490µl/ml	0.24 240µl/ml	0.12 120µl/ml	0.06 60µl/ml	0.03 30µl/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter sp.</i>	-	-	-	-	-CMI	+
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	-	-	-CMI	+
<i>Salmonella sendai</i>	-	-	-	-CMI	+	+
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-CMI	+	+
<i>E. coli ATCC 25922</i>	-	-	-	-	-CMI	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa ATCC 27853</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-CMI	+	+
<i>S. aureus ATCC 25923</i>	-	-	-	-CMI	+	+
<i>Staphylococcus albus</i>	-	-	-	-	-CMI	+

La première observation montre que toutes les bactéries testées sont sensibles à l'huile essentielle de la cannelle plus que celle des clous de girofle, au moins 4 fois.

Les concentrations minimales inhibitrices de la plupart des bactéries testées varient entre 0.06 et 0.12 mg/ml, mais il y a les cas de *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *P. aeruginosa ATCC 27853* où la CMI est estimée inférieure à 0.03 mg/ml. Ces souches sont considérées comme les plus sensibles en comparant avec les autres bactéries de cette même série.

La réponse des souches de gram différent est semblable, malgré la sensibilité des bactéries à gram positif avec la méthode des disques, plus que les bactéries à gram négatif.



Tableau n° 7: Valeurs des CMI de l'huile essentielle de la cannelle (suite).

Les bactéries	Concentrations de l'huile essentielle de cannelle (mg/ml)			
	0.24	0.12	0.06	0.03
3 <i>Salmonella</i> mineure 1	ND	-CMI	+	+
4 <i>Salmonella</i> mineure 2	ND	-CMI	+	+
6 <i>Enterobacter sp. 2</i>	ND	-CMI	+	+
11 <i>Escherichia coli 2</i>	-CMI	+	+	+
12 <i>Escherichia coli 3</i>	ND	-CMI	+	+
13 <i>Escherichia coli 4</i>	ND	-CMI	+	+
20 <i>Klebsiella pneumoniae6</i>	ND	-CMI	+	+
27 <i>Staphylococcus aureus1</i>	-CMI	+	+	+
2 <i>Salmonella typhi 2</i>	-CMI	+	+	+
7 <i>Pseudomonas aeruginosa1</i>	-CMI	+	+	+
15 <i>Escherichia coli 6</i>	ND	-CMI	+	+
17 <i>Klebsiella pneumoniae 4</i>	ND	-CMI	+	+
19 <i>Klebsiella pneumoniae 3</i>	-CMI	+	+	+
28 <i>Staphylococcus albus 2</i>	-CMI	+	+	+
30 <i>Streptococcus sp. 1 R</i>	ND	-CMI	+	+
32 <i>Staphylococcus aureus 2</i>	-CMI	+	+	+
33 <i>Staphylococcus albus 3</i>	ND	-CMI	+	+
34 <i>Citrobacter sp. 2</i>	-CMI	+	+	+
35 <i>Serratia sp. 2 R</i>	ND	-	-	-
16 <i>Klebsiella pneumoniae 2</i>	ND	-CMI	+	+
21 <i>Citrobacter sp. 1</i>	ND	-CMI	+	+
25 <i>Klebsiella oxytoca</i>	-CMI	+	+	+
26 <i>Acinetobacter sp.</i>	ND	-	-	-
22 <i>Serratia sp.1</i>	ND	-CMI	+	+
24 <i>Morganella morganii</i>	ND	-CMI	+	+

ND: non déterminé.

Les premières concentrations n'ont pas été testées, parce que cette huile essentielle est plus puissante. Mais les bactéries de cette série sont plus résistantes, et leurs CMI varient entre 0.12 et 0.24 mg/ml, avec la présence de souches sensibles à toutes les concentrations: *Serratia sp. 2* (déjà résistantes aux antibiotiques), et *Acinetobacter sp.*

Comme précédemment, l'huile essentielle de la cannelle n'agit pas sur les souches selon leur gram, et les méthodes utilisées pour ces tests sont insuffisantes pour confirmer le pouvoir antibactérien.

Les huiles essentielles de la cannelle et des clous de girofle sont utilisées pour être comparées avec les huiles infusées, mais leur pouvoir n'est pas stable vis-à-vis de toutes les souches testées et varie selon la méthode et les bactéries.

## **2 – b – Les huiles infusées:**

### **2-b-1- girofle:**

*Tableau n° 8: Valeurs des CMI de l'huile infusée des clous de girofle élaborée à froids.*

Les bactéries	Concentrations de l'huile infusée de girofle à froids (mg/ml)						
	20	15	10	5	2.5	1.25	0.625
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter sp.*</i>	-	-	-	-	+	-	-
<i>Salmonella typhi</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella sendai</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. coli ATCC 25922 *</i>	-	+	-	+	-	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa ATCC 27853</i>	-	-	-	-	-	-CMI	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-CMI	+	+	+	+	+
<i>S. aureus ATCC 25923</i>	-	-CMI	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus albus</i>	-	-	-CMI	+	+	+	+

(\*): Perturbation

Selon ce tableau, il y a quatre types de réponses: souches sensibles à toutes les concentrations, souches résistantes à toutes les concentrations, souches ayant une CMI déterminée et des souches instables où la présence et l'absence de croissance sont alternatives. Ces résultats diffèrent largement de ceux des huiles essentielles, vu les propriétés spécifiques de chaque extrait. Alors que l'huile infusée de girofle est seulement cinq fois plus faible que l'huile essentielle avec *P.aeruginosa ATCC 27853*, d'autres souches sont quinze fois plus résistantes à cette huile infusée qu'avec l'huile essentielle, cas de *S. aureus ATCC 25923*.

Tableau n° 9: Valeurs des CMI de l'huile infusée des clous de girofle élaborée à chaud.

Les bactéries	Concentrations de l'huile infusée du girofle à chaud <sup>a</sup>						
	2	1.5	1	0.5	0.25	0.125	0.0625
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter sp.*</i>	+	+	-	+	+	+	+
<i>Salmonella typhi</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella sendai</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. coli ATCC 25922</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-CMI	+	+
<i>P.aeruginosa ATCC 27853*</i>	-	+	-	-	-	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-CMI	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus ATCC 25923 *</i>	+	+	-	+	+	+	+
<i>Staphylococcus albus *</i>	-	+	-	+	+	+	+

Dose: 2ml d'HI /10ml d'éthanol. (a): ml/18ml de milieu de culture. (\*): Perturbation.

La préparation d'une huile infusée élaborée à chaud est due au besoin d'un extrait dans l'immédiat et la nécessité d'un traitement d'urgence dans certains cas, puisque l'huile infusée à froid prend beaucoup plus de temps. Mais cet extrait ne donne pas de bons résultats, du fait de la présence de trois souches sensibles seulement et les autres sont soit résistantes ou présentant une perturbation de croissance. Le rapport entre huile essentielle et infusée varie entre cinq à quarante fois plus.

L'huile de palme a été remplacée par l'huile d'olive qui possède une activité antibactérienne sur certaines souches d'après le *Tableau n°6* des Tests Préliminaires, pour pouvoir comparer. L'extrait des clous de girofle dans l'huile d'olive a été testé le lendemain de sa préparation. Les résultats aperçus montrent une absence totale de la croissance avec toutes les concentrations pour toutes les bactéries testées. Ce qui veut dire qu'il y a une synergie entre l'huile d'olive et les constituants des clous de girofle.

Après un temps de repos, moins de vingt jours, les extraits à chaud (à l'huile de palme et à l'huile d'olive) ont été testés sur d'autres souches et ont donné les résultats dans les *Tableaux n°10* et *n°11*. Il y a des bactéries sensibles avec toutes les concentrations, autres résistantes avec toutes les concentrations, d'autres ayant une croissance alternative, mais aussi un effet différent de l'huile à faible dose sur certaines souches seulement.

*Tableau n° 10: Valeurs des CMI de l'huile infusée des clous de girofle élaborée à chaud dans l'huile de palme.*

Les bactéries	Concentrations de l'huile infusée de girofle à chaud dans l'huile de palme (mg/ml)				
	20	10	5	2.5	1.25
1 <i>Salmonella typhi</i> 1	-	-	-	-	-
2 <i>Salmonella typhi</i> 2	+	+	+	+	+
3 <i>Salmonella</i> mineure 1	+	+	-	-	-
4 <i>Salmonella</i> mineure 2	+	+	-	-	-
5 <i>Enterobacter sp. 1</i>	-	-	-	-	-
6 <i>Enterobacter sp. 2</i>	+	+	-	-	-
7 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1	+	+	+	+	+
8 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 2	-	-	-	-	-
9 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 3	-	-	-	-	-
10 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 4	-	-	-	-	-
11 <i>Escherichia coli</i> 2	+	+	-	-	-
12 <i>Escherichia coli</i> 3	+	+	-	-	-
13 <i>Escherichia coli</i> 4 *	+	+	-	+	-
14 <i>Escherichia coli</i> 5 S	-	-	-	-	-
15 <i>Escherichia coli</i> 6	+	+	+	+	+
16 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 2	+	+	-	-	-
17 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 4 *	+	+	-	+	-
18 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 5	-	-	-	-	-
19 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 3	+	+	+	+	+
20 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 6	+	+	-	-	-
21 <i>Citrobacter sp. 1</i> *	-	+	-	-	-
22 <i>Serratia sp.1</i>	-	-	-	-	-
23 <i>Proteus mirabilis</i> 1	-	-	-	-	-
24 <i>Morganella morganii</i>	-	-	-	-	-
25 <i>Klebsiella oxytoca</i> *	-	+	-	-	-
26 <i>Acinetobacter sp.</i>	-	-	-	-	-
27 <i>Staphylococcus aureus</i> 1	-CMI	+	+	+	+
28 <i>Staphylococcus albus</i> 2	+	+	+	+	+

*Tableau n° 11: Valeurs des CMI de l'huile infusée des clous de girofle élaborée à chaud dans l'huile d'olive.*

Les bactéries	Concentrations de l'huile infusée de girofle à chaud dans l'huile d'olive (mg/ml)				
	10	5	2.5	1.25	0.625
1 <i>Salmonella typhi</i> 1	-	-	-	-	-
2 <i>Salmonella typhi</i> 2	+	+	+	+	+
3 <i>Salmonella</i> mineure 1	+	+	+	+	+
4 <i>Salmonella</i> mineure 2	+	+	+	+	+
5 <i>Enterobacter sp.</i> 1	-	-	-	-	-
6 <i>Enterobacter sp.</i> 2	+	+	+	+	+
7 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1	+	+	+	+	+
8 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 2	-	-	-	-	-
9 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 3	-	-	-	-	-
10 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 4	-	-	-	-	-
11 <i>Escherichia coli</i> 2	-CMI	+	+	+	+
12 <i>Escherichia coli</i> 3	+	+	+	+	+
13 <i>Escherichia coli</i> 4	+	+	+	+	+
14 <i>Escherichia coli</i> 5 S	-	-	-	-	-
15 <i>Escherichia coli</i> 6	+	+	+	+	+
16 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 2	+	+	+	-	-
17 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 4	+	+	+	+	+
18 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 5	-	-	-	-	-
19 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 3	+	+	+	+	+
20 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 6	+	+	+	+	-
21 <i>Citrobacter sp.</i> 1 *	-	+	+	+	-
22 <i>Serratia sp.</i> 1 *	-	-	+	-	-
23 <i>Proteus mirabilis</i> 1	-	-	-	-	-
24 <i>Morganella morganii</i>	-	-	-	-	-
25 <i>Klebsiella oxytoca</i> *	-	+	+	+	-
26 <i>Acinetobacter sp.</i>	-	-	-	-	-
27 <i>Staphylococcus aureus</i> 1	+	+	+	+	+
28 <i>Staphylococcus albus</i> 2	+	+	+	+	+

Les résultats des deux tableaux précédents n° 10 et 11, montrent que le temps de repos agit sur l'activité des extraits des clous de girofle élaborés à chaud; au moment où l'activité antibactérienne de l'extrait à l'huile de palme apparaît, le pouvoir puissant de l'extrait à l'huile d'olive diminue sans aucune synergie, cela est dû aux interactions des constituants chimiques.

Alors, l'activité antibactérienne des extraits des clous de girofle diffère selon l'huile utilisée et la méthode d'extraction. Pour cela, la préparation de l'infusion des clous de girofle avec l'huile de palme convient mieux à froid ou à chaud après repos, mais l'infusion avec l'huile d'olive convient plus à chaud (sans ignorer la qualité de l'huile d'olive).

### **2-b-2- cannelle:**

*Tableau n° 12: Valeurs des CMI de l'huile infusée de la cannelle élaborée à froids.*

Les bactéries	Concentrations de l'huile infusée de cannelle à froid (mg/ml)						
	20	15	10	5	2.5	1.25	0.625
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter sp. *</i>	-	+	-	+	+	+	+
<i>Salmonella typhi</i>	-CMI	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella sendai</i>	-CMI	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. coli ATCC 25922 *</i>	-	+	+	-	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa ATCC 27853</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-CMI	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus ATCC 25923</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus albus</i>	-	-	-CMI	+	+	+	+

(\*): Perturbations.

Ce tableau montre que les bactéries à gram négatif sont plus sensibles à l'huile infusée de la cannelle élaborée à froid que les bactéries à gram positif, avec présence de bactéries résistantes et d'autres qui présentent des perturbations de croissance. Mais les résultats sont plus faibles que ceux de l'huile essentielle, à un rapport entre 20 à 300 fois. Pourtant et avec ce faible pouvoir, les huiles infusées ont plusieurs avantages présentés dans le *Chapitre 2*.

Tableau n° 13: Valeurs des CMI de l'huile infusée de la cannelle élaborée à chaud.

Les bactéries	Concentrations de l'huile infusée de cannelle à chaud*						
	2	1.5	1	0.5	0.25	0.125	0.0625
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter sp.</i> *	+	+	+	+	-	+	+
<i>Salmonella typhi</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella sendai</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. coli ATCC 25922</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	+	-	-	+	+	-	+
<i>P.aeruginosa ATCC 27853</i> *	-	-	-	+	+	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus ATCC 25923</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus albus</i>	+	+	+	+	+	+	+

Dose: 2ml d'HI/10ml d'éthanol. (\*): ml/18ml de milieu de culture.

La préparation de l'huile infusée de la cannelle à chaud avec l'huile de palme perd toute son efficacité, en la comparant avec la même préparation élaborée à froid, puisqu'il n'y a qu'une seule souche sensible *Klebsiella pneumoniae*, et les autres sont résistantes ou présentant une perturbation de croissance alternative.

Comme précédemment, l'huile infusée de cannelle avec l'huile de palme a été remplacée par l'huile d'olive pour comparer, et a donné les résultats du *Tableau n°14*, qui montrent un pouvoir antibactérien puissant de la cannelle dans l'huile d'olive mais qui agit contrairement à l'extrait des clous de girofle, c'est-à-dire un effet à faible doses sur certaines souches et une inhibition totale pour les autres souches.

Tableau n°14: Valeurs des CMI<sub>s</sub> de l'huile infusée de la cannelle à chaud dans l'huile d'olive.

Les bactéries	Concentrations de l'huile infusée de la cannelle à chaud dans l'huile d'olive*					
	2	1.5	1	0.5	0.25	0.125
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter sp.</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Salmonella typhi</i>	+	+	-	-	-	-
<i>Salmonella sendai</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	+	+	-	-	-	-
<i>E. coli ATCC 25922</i>	+	+	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa ATCC 27853</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus ATCC 25923</i>	+	+	-	-	-	-
<i>Staphylococcus albus</i>	-	-	-	-	-	-

Dose: 2 ml d'H1 / 10 ml d'éthanol. (\*): ml de l'extrait / ml de milieu de culture.

Les deux extraits précédents ont été testés sur d'autres souches, après un temps de repos (~20 jours). Les résultats du *Tableau n°15* représentent plusieurs cas: l'extrait n'a pas d'effet c'est-à-dire résistance des souches; sensibilité totale des bactéries à toutes les concentrations; l'extrait n'a pas d'effet à forte dose mais agit à faibles doses seulement; et un effet limité de l'extrait entre les doses fortes et faibles remarqué avec plusieurs bactéries, qui représente les concentrations optimales et minimales de l'inhibition des bactéries ou l'intervalle de l'action de l'huile infusée. Il faut mentionner que cet extrait est plus stable que celui des clous de girofle parce qu'il n'y a pas de souches ayant une perturbation de croissance alternative, mais qui n'a pas un effet sur les bactéries à gram positif en comparant avec le *Tableau n°10*. Le *Tableau n°16* où la cannelle a été extraite avec l'huile d'olive, montre des résultats moins importants, avec une perturbation de croissance bactérienne de plusieurs souches sensibles à l'extrait de l'huile de palme à chaud, malgré le pouvoir antibactérien de l'huile d'olive.

Pour cela, et pour une éventuelle utilisation d'une huile infusée de la cannelle il est préférable d'employer une infusion à froid avec l'huile de palme, ou l'infusion à chaud avec l'huile d'olive préparée en moins d'une nuit mais à faible dose. Ces propositions ne font pas oublier des tests *in vivo* qui éclaircissent et précisent le pouvoir des huiles infusées, et d'autres analyses de leur composition chimique.



Tableau n° 15: Valeurs des CMI<sub>s</sub> de l'huile infusée de la cannelle élaborée à chaud dans l'huile de palme.

Les bactéries	Concentrations de l'huile infusée de cannelle à chaud dans l'huile de palme (mg/ml)				
	20	10	5	2.5	1.25
1 <i>Salmonella typhi</i> 1	-	-	-	-	-
2 <i>Salmonella typhi</i> 2	+	+	+	+	+
3 <i>Salmonella</i> mineure 1	+	-	-	+	+
4 <i>Salmonella</i> mineure 2	+	-	-	+	+
5 <i>Enterobacter sp. 1</i>	-	-	-	-	-
6 <i>Enterobacter sp. 2</i>	-	-	-CMI	+	+
7 <i>Pseudomonas aeruginosa 1</i>	+	+	+	+	+
8 <i>Pseudomonas aeruginosa 2</i>	-	-	-	-	-
9 <i>Pseudomonas aeruginosa 3</i>	-	-	-	-	-
10 <i>Pseudomonas aeruginosa 4</i>	-	-	-	-	-
11 <i>Escherichia coli</i> 2	+	-	-	-	+
12 <i>Escherichia coli</i> 3	+	-	-	-	-
13 <i>Escherichia coli</i> 4	+	-	-	+	+
14 <i>Escherichia coli</i> 5 S	-	-	-	-	-
15 <i>Escherichia coli</i> 6	+	+	+	+	+
16 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 2	+	-	-	-	-
17 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 4	+	+	+	+	+
18 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 5	-	-	-	-	-
19 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 3	+	+	+	+	+
20 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 6	+	+	-	-	+
21 <i>Citrobacter sp. 1</i>	+	+	-	-	+
22 <i>Serratia sp.1</i>	-	-	-	-	-
23 <i>Proteus mirabilis</i> 1	-	-	-	-	-
24 <i>Morganella morganii</i>	-	-	-	-	-
25 <i>Klebsiella oxytoca</i>	+	-	-	-	-
26 <i>Acinetobacter sp.</i>	-	-	-	-	-
27 <i>Staphylococcus aureus</i> 1	+	+	+	+	+
28 <i>Staphylococcus albus</i> 2	+	+	+	+	+

Tableau n° 16: Valeurs des CMI de l'huile infusée de la cannelle élaborée à chaud dans l'huile d'olive.

Les bactéries	Concentrations de l'huile infusée de cannelle à chaud dans l'olive (mg/ml)				
	10	5	2.5	1.25	0.625
1 <i>Salmonella typhi</i> 1	-	-	-	-	-
2 <i>Salmonella typhi</i> 2	+	+	+	+	+
3 <i>Salmonella</i> mineure 1 *	-	-	+	-	-
4 <i>Salmonella</i> mineure 2 *	-	+	+	-	+
5 <i>Enterobacter sp. 1</i>	-	-	-	-	-
6 <i>Enterobacter sp. 2</i>	-	-CMI	+	+	+
7 <i>Pseudomonas aeruginosa 1</i>	+	+	+	+	+
8 <i>Pseudomonas aeruginosa 2</i>	-	-	-	-	-
9 <i>Pseudomonas aeruginosa 3</i>	-	-	-	-	-
10 <i>Pseudomonas aeruginosa 4</i>	-	-	-	-	-
11 <i>Escherichia coli 2</i>	+	+	+	+	+
12 <i>Escherichia coli 3</i> *	+	-	+	+	+
13 <i>Escherichia coli 4</i>	-	-CMI	+	+	+
14 <i>Escherichia coli 5 S</i>	-	-	-	-	-
15 <i>Escherichia coli 6</i>	+	+	+	+	+
16 <i>Klebsiella pneumoniae 2*</i>	-	-	+	-	-
17 <i>Klebsiella pneumoniae 4</i>	+	+	+	+	+
18 <i>Klebsiella pneumoniae 5</i>	-	-	-	-	-
19 <i>Klebsiella pneumoniae 3</i>	+	+	+	+	+
20 <i>Klebsiella pneumoniae 6</i>	+	+	+	+	+
21 <i>Citrobacter sp. 1</i>	+	+	+	-	-
22 <i>Serratia sp.1</i>	-	-	-	-	-
23 <i>Proteus mirabilis 1</i>	-	-	-	-	-
24 <i>Morganella morganii</i>	-	-	-	-	-
25 <i>Klebsiella oxytoca</i> *	-	-	+	-	-
26 <i>Acinetobacter sp.</i>	-	-	-	-	-
27 <i>Staphylococcus aureus 1</i>	-	-CMI	+	+	+
28 <i>Staphylococcus albus 2</i>	-CMI	+	+	+	+

La méthode des dilutions ou calcul de la CMI donne plus de renseignements que la méthode de diffusion ou celle des disques. Cependant l'activité antibactérienne des huiles infusées des différentes plantes étudiées, à chaud ou à froid, en utilisant deux huiles de propriétés distinctes et selon les souches employées, diffère considérablement –d'après les résultats obtenus– et peut être influencée par plusieurs facteurs qui la favorisent ou l'inhibent:

- ❖ En premier, l'absence de relation entre les deux méthodes d'étude réside dans l'environnement où se trouvent ces extraits; si avec la méthode de diffusion certaines zones d'inhibition sont très larges c'est parce que les constituants actifs sont libres et n'ont pas de contact direct avec les constituants du milieu de culture; alors qu'avec la méthode de dilution les constituants actifs réagissent avec les ingrédients du milieu de culture et par conséquent peuvent être inhibés ou bloqués.
- ❖ Il faut souligner l'effet important exercé par les matières organiques lorsqu'elles sont présentes dans le milieu: elles sont susceptibles de réduire considérablement l'efficacité d'un agent antiseptique en se combinant avec lui pour former des composés inactifs, en l'adsorbant et diminuant sa concentration, ou en le précipitant et l'éliminant purement et simplement [43]. Ainsi, l'activité antibactérienne peut dépendre de la composition du milieu de culture [69], cas de l'huile de l'ail qui exerce un puissant pouvoir *in vivo* lorsqu'elle est utilisée traditionnellement contre les affections respiratoires.
- ❖ Le pouvoir antibactérien des huiles infusées est puissant sur plusieurs bactéries à gram négatif et intermédiaire sur les bactéries à gram positif, à cause de la différence de la composition chimique de la paroi de deux groupes bactériens. Les bactéries à gram négatif ont une paroi qui permet la pénétration des molécules lipophiles à cause de la présence des LPS (lipopolysaccharides), tandis que celles à gram positif ont une paroi constituée essentiellement de peptidoglycane qui laisse passer les molécules hydrophiles.
- ❖ La présence de faible croissance bactérienne alternative avec une inhibition, est due à des souches bactériennes résistantes qui ont pu se développer en présence de l'agent antibactérien et qui sont en conflit avec celui-ci, ou bien l'instabilité de l'extrait. Parce qu'il est connu que toutes les espèces ne sont pas également sensibles vis-à-vis d'une substance et dans une population bactérienne il peut exister des différences individuelles de sensibilité [43], ainsi, l'action antibactérienne est parfois partielle et après une diminution du nombre de bactéries, il est observé une reprise de la croissance bactérienne. Ce phénomène dit de rebond peut être dû à une instabilité de l'agent antibactérien *in vitro*, à une hétérogénéité de la population bactérienne qui peut comporter des bactéries

génotypiquement plus résistantes que l'ensemble de la population ou à une induction d'enzymes conférant une résistance des bactéries à l'extrait antibactérien [7].

- ❖ Le fait qu'il y a croissance bactérienne à fortes doses et une inhibition à faibles doses trouvée avec les extraits préparés à chaud de la cannelle et des clous de girofle, a été mentionnée par d'autres auteurs où le cinnamaldéhyde n'a pas d'effet antibactérien à forte dose et agit à doses plus faibles [29], mais n'ont donné aucune explication à ce phénomène. Cela pourrait être un problème de saturation des sites de fixation ou des canaux de passage de l'agent antibactérien. Pour cela, il faut approfondir les études concernant ce point.
- ❖ Enfin, le mode et le mécanisme d'action des huiles essentielles et leurs composés ne sont pas totalement compris et les recherches se poursuivent. Mais quelques auteurs ont donné plusieurs suppositions selon leurs observations: une action sur le métabolisme énergétique [29], interruption de la force proton motrice de la membrane cellulaire, dénaturation non spécifique du cytoplasme de la paroi et de la membrane cellulaire [49], dénaturation des protéines par les composés phénoliques [47]. D'autres auteurs mentionnent une relation entre la structure et l'activité antibactérienne des molécules qui constituent les huiles essentielles par la présence de certains groupes fonctionnels: les composés aldéhydiques et phénoliques sont très actifs dans certains essais bien déterminés [27], les structures phénoliques sont les plus actives sur d'autres microorganismes, par la présence du groupe hydroxyle et sa position, les aldéhydes ont aussi une activité antimicrobienne puissante, la présence de l'oxygène dans les cétones augmente les propriétés antimicrobienne des terpènes [19]. La présence des liaisons disulfures, est un facteur important dans l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'ail et des autres alliums, dans cet ordre: diallyl tetrasulfure > diallyl trisulfure > diallyl disulfure > diallyl monosulfure [77].

Les huiles infusées, malgré leur pouvoir faible *in vitro* par rapport aux huiles essentielles, ont servi autrefois pour lutter contre diverses maladies. Des tests plus approfondis concernant l'activité antibactérienne *in vivo*, et des études chimiques sont nécessaires, pour mieux comprendre ces extraits ou les utiliser en thérapeutique.



*CONCLUSION*

La recherche de nouvelles substances antimicrobiennes purement naturelles est la préoccupation capitale de la plupart des gens et des chercheurs, actuellement.

Pour cela une évaluation de l'activité antibactérienne des huiles infusées ou macérées de quatre plantes alimentaires et médicinales: l'oignon, l'ail, la cannelle et les clous de girofle, est faite avec deux méthodes n'ayant aucune relation linéaire. Cette particularité a été trouvée après les tests effectués, mais d'autres travaux mentionnent cela [39, 49].

La méthode des disques ou aromatoگرامme, employée souvent dans les examens de routine (pour les antibiotiques), mais qui a donné des résultats insuffisants avec les huiles infusées où les diamètres des zones d'inhibition sont trop faibles (jusqu'à ne rien obtenir) pour des extraits très puissants telle la cannelle. Cela est dû aux extraits huileux qui ont mal diffusés.

Celle des dilutions ou calcul de la CMI, utilisée dans ce travail pour prouver le pouvoir antibactérien des huiles infusées, qui n'ont pas donné de bons résultats avec la première méthode de diffusion. Cette technique montre un effet contraire des huiles infusées à celui des huiles essentielles, alors que ces dernières agissent à fortes doses, les huiles infusées agissent à faibles doses. Lorsque l'huile essentielle de la cannelle est plus puissante que celle des clous de girofle, l'huile infusée de girofle se trouve plus active que celle de la cannelle. En plus, l'utilisation de l'huile d'olive à chaud augmente l'activité antibactérienne des huiles infusées.

Dans ces tests, plusieurs facteurs interviennent: l'instabilité des constituants actifs des huiles infusées, leur propriété hydrophobe, l'interaction entre le milieu de culture et les composants des extraits, mais aussi les conditions de travail dans le laboratoire (changement des caractères des souches bactériennes, parfois aucune visibilité lorsqu'il y a mélange entre extrait et milieu de culture). Sachant que l'environnement microbien conditionne l'activité de l'agent antibactérien, qu'il s'agisse du milieu de culture dans lequel se développe l'expérience, du tissu au niveau duquel il agit, de l'objet ou du matériel qui doit être désinfecté [43].

Ainsi, les méthodes *in vitro* utilisées pour confirmer l'activité antibactérienne des différents extraits sont insuffisantes et nécessitent d'autres tests supplémentaires plus avancées *in vitro* mais aussi *in vivo*. De plus, il faut des études chimiques des huiles infusées pour pouvoir connaître leur composition chimique et comprendre leur mode d'action.

*Références*

*Et*

*Bibliographie*



## A

- 1- Amagase H, Petesch BL, Matsuura H, Kasuga S and Itakura Y. (2001) Intake of garlic and its bioactive components. *Journal of Nutrition*. 131, 955s-962s.
- 2- Atlas R M (Ed) (1997) Hand Book of microbiological media. CRC Press.
- 3- Azumi S, Tanimura A, Tanamoto K. (1997) A novel inhibitor of a bacterial endotoxin derived from Cinnamon bark. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 234, 506-510.
- 4- Azumi S, Tanamoto K (1999) Anti-endotoxin properties of a Cinnamon bark-derived compound and its effects on the endotoxin shock model. *Journal of Endotoxin Research*. 5, 109-117.

## B

- 5- Baba-Aissa F (2000) Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. EDAS Algérie.
- 6- Benjlali B, Tantaoui-Elaraki A, Ismaïl-Alaoui M et Ayadi A (1986) Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes médicinales et phytothérapie*. 20,155-167.
- 7- Berche P, Gaillard J-L, Simonet M (1989) Bactériologie: bactéries des infections humaines. Médecine-Sciences Flammarion.
- 8- Bernadet M (2000) Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles, Editions Dangles.
- 9- Bezanger-Beauquesne L, Pinkas M, Torck M et Troutin F (1990) Plantes médicinales des régions tempérées. Maloine édition.
- 10- Block E, Ahmed S, Jain MK, Crecely RW, Apitz-Castro R and Cruz MR (1984) (E,Z)-Ajoene: A potent antithrombotic agent from garlic. *Journal of the American Chemical Society*. 106, 8295-8296.
- 11- Block E (1992) The organosulfur chemistry of the genus *Allium*. Implications for the organic chemistry of sulphur. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 31 (9) 1135-1178.
- 12- Boulahbal F (1993) Microbiologie S<sub>1</sub> Clinique. Office des Publications Universitaires (OPU), Alger.
- 13- Bremness L (1998) Les plantes aromatiques et Médicinales. Bordas Editions.
- 14- British Pharmacopoeia (1993) Volumes I, II.



15- Bruneton J (1999) Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentations Lavoisier.

16- Burdock GA (Ed) (1995) Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients. Volume I, 3<sup>e</sup> Edition CRC Press.

## C

17- Cowan MM (1999) Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12, 564-582.

## D

18- Dorant E, Van Den Brandt PA, Goldbohm RA and Sturmans F (1996) Consumption of onions and a reduced risk of stomach carcinoma. *Gastroenterology*. 110, 12-20.

19- Dorman HJD and Deans SG (2000) Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88, 308-316.

20- Dorman HJD, Figueiredo AC, Barroso JG and Deans SG (2000) In vitro evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal*. 15, 12-16.

21- Duraffourd C et Lapraz J-C (1997) Les règles d'utilisation des huiles essentielles en thérapeutique. In La plante médicinale, de la tradition à la science, textes réunis par les docteurs Duraffourd C, Lapraz J-C et le Pr. Chemli R: 1<sup>er</sup> Congrès International - Tunis, De l'Usage Empirique à la Phytothérapie Clinique, Mai 97 à Monastir.

22- Dwivedi C, John LM, Schmidt DS and Engineer FN (1998) Effects of oil-soluble organosulfur compounds from garlic on doxorubicin-induced lipid peroxidation. *Anti-Cancer Drugs*. 9, 291-294.

## E

23- Egen-Schwind C, Eckard R, Jekat FW and Winterhoff H (1992) Pharmacokinetics of vinyldithiins, transformation products of allicin. *Planta Medica*. 58, 8-13.

24- Egen-Schwind C, Eckard R and Kemper FH (1992) Metabolism of garlic constituents in the isolated perfused rat liver. *Planta Medica*. 58, 301-305.

- 25- Elnima EI, Ahmed SA, Mekkawi AG and Mossa JS (1983) The antimicrobial activity of garlic and onion extracts. *Pharmazie*. 38 (11) 747-748.
- 26- Encyclopédie des plantes médicinales (2001) Larousse.

## *F*

- 27- Friedman M, Henika PR and Mendrell RE (2002) Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. *Journal of Food Protection*. 65 (10) 1545-1560.

## *G*

- 28- Garnier Delamare (1992) Dictionnaire des termes de médecine. Editions Maloine, Paris.
- 29- Gill AO and Holley RA (2004) Mechanisms of Bactericidal Action of Cinnamaldehyde against *Listeria monocytigenes* and of Eugenol against *L. monocytigenes* and *Lactobacillus Sakei*. *Applied and Environmental Microbiology*. 70 (10) 5750-55.
- 30- Guenther E (1975-1977) The essential oils Volumes II, IV and VI. Robert E Krieger Publishing.
- 31- Guerrato L (2004) Tous les parfums d'Arabie. Le Quotidien d'Oran, Jeudi 13 Mai, p 13.
- 32- Guyot L et Gibassier P (1966) Les noms des arbres. Que Sais – Je ? Presses Universitaires de France.

## *H*

- 33- Hammer KA, Carson CF and Riley TV (1999) Antimicrobial activity of essential oils and other plants extracts. *Journal of Applied Microbiology*. 86, 985-990.
- 34- Hamza T (1993) Introduction à la biologie moderne. Berti Editions.
- 35- Hili P, Evans CS and Veness RG (1997) Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. *Letters in Applied Microbiology*. 24, 269-275.

## *I*

**36-** Inouye S Takizawa T and Yamaguchi H (2001) Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 47, 565-573.

**37-** Inouye S, Yamaguchi H and Takizawa T (2001) Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on respiratory tract pathogens, using a modified dilution assay method. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 7, 251-254.

## J

**38-** Jansen H, Müller B and Knobloch K (1987) Allicin characterization and its determination by HPLC. *Planta Medica*. 53 (6) 559-562.

**39-** Janssen AM, Scheffer JJC and Baerhein Svendsen A (1987) Antimicrobial activity of essential oils: A 1976-1986 literature review. Aspects of the test methods. *Planta Medica*. 53, 395-398.

**40-** Johnson AW (2003) Invitation à la chimie organique. Editions De Boeck, Paris Bruxelles.

**41-** Jonkers D, Van Den Broek E, Van Dooren I, Thijs C, Dorant E, Hageman G and Stobberingh E. (1999) Antibacterial effect of garlic and omeprazole on *Helicobacter pylori*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 43, 837-839.

## K

**42-** Khiati M (1998) Guide des maladies infectieuses et parasitaires. OPU, Alger.

## L

**43-** Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M (1995) Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.

**44-** Leung Albert Y (1980) Encyclopedia of common natural ingredients used in food drugs and cosmetics. Wiley-Interscience Publication New York.

**45-** Loza-Tavera Herminia (1999) Monoterpenes in Essential oils: Biosynthesis and Properties. *Adv. Exp. Med. Biol.* 464, 49-62.

**46-** Luu C (2002) Les essences majeures anti-infectieuses, l'aromatogramme. *Votre diététique* N° 53.

## M

- 47- Madigan MT, Martinko JM, Parker J (1997) Brock Biology of Microorganisms. Prentice Hall International Editions.
- 48- Maire René (1958) Flore de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Tripolitaine, Cyrénaïque et Sahara). volume V: Monocotyledonae: Liliales, Liliaceae. Editions Paul Lechevalier Paris (VI<sup>e</sup>).
- 49- Manou I, Bouillard L, Devleeschouwer MJ and Barel AO (1998) Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under challenge test. *Journal of Applied Microbiology*. 84, 368-376.
- 50- Messadié G (1995) Les compacts: les grandes découvertes de la science. Casbah Editions Alger.
- 51- Mességué M (1975) Mon Herbar de Santé. Editions Robert Laffont.

## N

- 52- Naganawa R, Iwata N, Ishikawa K, Fukuda H, Fujino T and Suzuki A. (1996) Inhibition of microbial growth by ajoene, a sulfur-containing compound derived from garlic. *Applied and Environmental Microbiology*. 62, 4238-4242.
- 53- Nicholls C (1998) Aromatic medicine in the treatment of infections. *British Journal of Phytotherapy*. Vol. 5, n°1.
- 54- Nursten HE (1977) The important volatile flavour components of foods. In Birch GG, Brennan JG and Parker KJ (Editors) Sensory properties of foods. Applied science publishers London.

## O

- 55- Ody Penelope (1995) Les Plantes Médicinales, Encyclopédie pratique. Sélection Reader's Digest.
- 56- O'gara EA, Hill DJ and Maslin DJ (2000) Activities of garlic oil, garlic powder and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Applied and Environmental Microbiology*. 66, 2269-2273.

57- Ohta R, Yamada N, Kaneko H, Ishikawa K, Fukuda H, Fujino T and Suzuki A. (1999) *In vitro* inhibition of the growth of *Helicobacter pylori* by oil-macerated garlic constituents. *Antimicrobial Agents and chemotherapy*. 43, 1811-1812.

## P

58- Peyron L, Richard H (1992) L'extraction des épices et herbes aromatiques et les différents types d'extraits. In Richard H (coordonnateur) *Epice et Aromates*. Tec et Doc – Lavoisier, apria.

59- Pocidalo J-J (1989) Des infections d'origine microbiennes ou virale. In: Brisset C et Stoufflet J (Directeurs) *Santé et médecine, l'état des connaissances et des recherches*. Editions La Découverte / INSERM / ORSTOM.

## R

60- Rahal K, et un groupe de collaborateurs (2003) Standardisation de l'Antibiogramme en Médecine Humaine à l'Echelle Nationale Selon les recommandations de l'OMS, 3<sup>e</sup> Edition.

61- Rasooli I, Mirmostafa SA (2002) Antibacterial properties of *Thymus pubescens* and *Thymus serpyllum* essential oils. *Fitoterapia*. 73, 244 – 250.

62- Richard H (1974) Quelques épices et aromates et leurs huiles essentielles. In *Actualités scientifiques et techniques en industries agro-alimentaires*. Ialine Agorial – Normandie St-LÖ.

63- Richard H, Loo A (1992) Composition des extraits d'épices et herbes aromatiques. In Richard H (coordonnateur) *Epice et Aromates*. Tec et Doc – Lavoisier, apria.

64- Richard H, Loo A (1992) Nature, origine et propriétés des épices et aromates bruts. In Richard H (coordonnateur) *Epice et Aromates*. Tec et Doc - Lavoisier, apria.

65- Robinson T (1991) *The organic constituents of higher plants. The chemistry and interrelationships*. Cordus Press, MA, USA.

66- Ross ZM, O'gara EA, Hill DJ, Sleightholme HV and Maslin DJ (2001) Antimicrobial Properties of garlic oil against Human enteric bacteria: Evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic powder. *Applied and Environmental Microbiology*. 67, 475-480.

67- Roulier G (1999) *Les huiles essentielles pour votre santé*. Editions Dangles.

## S

- 68- Satiadev Seetohul (1998) L'ail condiment et médicament. *PROSI Magazine* – N° 351.
- 69- Sawyer IK, Berry MI and Ford JL (1997) Effect of medium composition, agitation and the presence of EDTA on the antimicrobial activity of cryptolepine. *Letters in Applied Microbiology*. 25, 207-211.
- 70- Sévenet T, Tortora C (1994) Plantes, molécules et médicaments. Nathan, CNRS Editions Paris.
- 71- Shaath NA, Flores FB, Osman M, Abd-El Aal M (1995) The essential oil of *Allium sativum* L., Liliaceae (Garlic). In Charalambous G (Ed.), Food Flavors: Generation, Analysis and Process influence. Elsevier Science.
- 72- Shankaranarayana ML, Raghavan B, Abraham KO and Natarajan CP (1982) Sulphur Compounds in Flavours. In Morton ID and Macleod AJ (Ed) Food Flavours, part A Introduction. Elsevier Scientific Publishing Company.
- 73- Smith-Palmer A, Stewart J and Fyfe L. (1998) Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Applied Microbiology*. 26,118-122.
- 74- Stanier RY, Doudoroff M, Adelberg ED A (1966) Microbiologie Générale. Masson et C<sup>ie</sup> Editeurs.

## T

- 75- Teisseire PJ (1991) Chimie des substances odorantes. Technique et Documentation Lavoisier.
- 76- Tsao SM and Yin MC (2001) In-vitro activity of garlic oil and four diallyl sulphides against antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 47, 667-670.
- 77- Tsao SM and Yin MC (2001) In-vitro antimicrobial activity of diallyl sulphides occurring naturally in garlic and Chinese leek oils. *J. Med. Microbiol*. 50(7) 646-649.

## U

- 78- Ungsurungsie M, Paovallo C and Noonai A (1984) Mutagenicity of extracts from Ceylon Cinnamon in the rec assay. *Food Chem. Toxicol*. 22 (2) 109-112.

79- Ungsurungsie M, Suthienkul O and Paovalo C (1982) Mutagenicity screening of popular Thai spices. *Food Chem. Toxicol.* 20 (5) 527-530.

## V

80- Vernon F, Richard H (1976) Quelques épices et aromates et leurs huiles essentielles Vol. 2. In Série synthèses bibliographiques N° 10 – Centre de documentation internationale des industries utilisatrices de produits agricoles. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.

81- Violon C, Leger D et Chaumont JP (1993) Activités antagonistes, *in vitro*, de certains composés volatils naturels vis-à-vis de germes de la flore vaginale. *Plantes Médicinales et Phytothérapie.* 26, 17-22.

## W

82- Weber ND, Andersen DO, North JA, Murray BK, Lawson LD and Hughes BG. (1992) *In vitro* virucidal effects of *Allium sativum* (garlic) extract and compounds. *Planta Medica.* 58, 417-423.

83- WHO Media centre (2002) Résistance aux Antimicrobiens. Aide-mémoire N°194. OMS/Genève.

84- WHO monographs on selected medicinal plants. Volume I. WHO Geneva 1999.

85- Winkler G, Iberl B and Knobloch K (1992) Reactivity of Allicin and its transformation products with sulfhydryl groups, disulfide groups and human blood. *Planta Medica.* 58 (Supplement Issue 1) A665.

86- Wright J (1995) Essential oils. In Ashurst PR (Ed) Food flavorings. Blackie Academic and Professional Edition.

## xyz

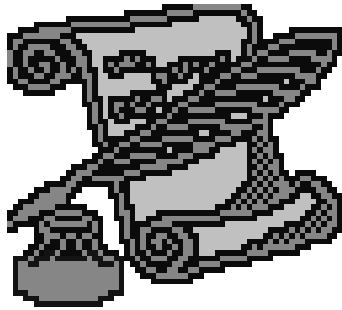
- 87-** Yoshida H, Iwata N, Katsuzaki H, Naganawa R, Ishikawa K, Fukuda H, Fujino T and Suzuki A (1998) Antimicrobial activity of a compound isolated from an oil-macerated garlic extract. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62(5) 1014-1017.
- 88-** Yoshida H, Katsuzaki H, Ohta R, Ishikawa K, Fukuda H, Fujino T and Suzuki A (1999) An organosulfur compound isolated from an oil-macerated garlic extract, and its antimicrobial effect. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 63(3) 588-590.
- 89-** Yoshida H, Katsuzaki H, Ohta R, Ishikawa K, Fukuda H, Fujino T and Suzuki A (1999) Antimicrobial activity of the thiosulfinates isolated from oil-macerated garlic extract. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 63(3) 591-594.
- 90-** Zohri AN, Abdel-Gawad K and Saber S (1995) Antibacterial, antidermatophytic and antitoxigenic activities of onion (*Allium cepa L*) oil. *Microbiol Research.* 150(2) 167-172.

## المراجع العربية

- 91-** توفيق الحاج يحي (2000) الطب البديل "الطب الطبيعي". دار الفكر دمشق سوريا.
- 92-** حسان قبيسي (1995) معجم الأعشاب و النباتات الطبية. دار الكتب العلمية بيروت لبنان.
- 93-** عبد العزيز زلماطي (1993) التداوي بالأعشاب و النباتات الطبية. دار الهدى عين مليلة الجزائر.



# DEFINITIONS



## *A*

Antalgique: qui combat la douleur.

Anthelminthique: ou vermifuge, médicament qui s'oppose aux vers parasitant l'homme (helminthe), en provoquant leur évacuation ou destruction.

Anthropologie: sociale et culturelle: étude des croyances et des institutions, des coutumes et des traditions des différentes sociétés humaines.

Antiémétique: un médicament qui a la propriété d'arrêter le vomissement.

Antinévralgique: contre les névralgies.

Antiseptique: ce qui détruit les microbes et évite l'infection.

Antispasmodique: qui sert contre les spasmes.

Antivenimeuse: qui sert à combattre les effets du venin.

Aromate: substance végétale odorifiante utilisée en médecine, en parfumerie ou en cuisine.

Aromathérapie: thérapeutique par les huiles essentielles végétales.

Astringent: qui exerce sur les tissus vivants un resserrement fibrillaire, dont les effets sont utilisés pour réduire les sécrétions d'une plaie ou de la muqueuse intestinale.

## *B*

Bractée : Petite feuille, différenciée, à la base du pédoncule floral.

## *C*

Carminatif: qui provoque l'expulsion des gaz intestinaux.

Cime: sommet d'une montagne, d'un arbre, etc.

Charnu: avec une chaire abondante.

Cholérétique: toute substance qui stimule la sécrétion de la bile.

Commensale: hôte, espèces vivant en association avec d'autres.

Congestion: accumulation de sang dans un organe.

Corolle: ensemble des pétales d'une fleur.

Cramoisi: couleur rouge foncé.

Cymes: mode d'inflorescence constitué par un axe principal à l'extrémité duquel se trouve une fleur, et qui porte également un ou plusieurs axes latéraux se ramifiant de la même manière.

## *D*

Drogue végétale: ou "drogue" dans ce texte. Substances issues de plantes fraîches ou desséchées, utilisées à des fins thérapeutiques. Elles sont parfois des plantes entières, le plus souvent des parties de plantes (racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, graines...), ou des sucs retirés par incision du végétal vivant (oléo-résines, gommés, latex...), et n'ayant encore subi aucune des préparations, auxquelles ils seront soumis en pharmacie.

Matière première des médicaments officinaux et magistraux, par extension, vulgairement, toute substance médicamenteuse.

Drupe: en latin drupa: pulpe. Fruit charnu, à noyau, tel que la cerise, l'abricot, etc.

## *E*

Etamine: organe mâle des végétaux.

Ethnologie: étude scientifique des ethnies (groupement humain).

## *F*

Florifère : Qui porte des fleurs.

## *G*

Glucoside: substances qui, décomposées par des enzymes spécifiques, donnent un sucre et un "aglycone" thérapeutiquement actif, souvent toxique.

Glycoside: acétal d'un glucide. Acétals sont des composés de formule générale:  $R_2C(OR')_2$  formé à partir d'un composé carbonylé ( $R_2C=O$ ) et d'un alcool ( $R'OH$ ) sous catalyse acide.

## *H*

Hâtif, ive: qui vient avant le temps, précoce.

Hématurie: présence de sang dans l'urine.

## *I*

Inflorescence : Mode de groupement des fleurs sur une plante, ou l'ensemble de ces fleurs. Les principaux types d'inflorescence : grappe, épi, ombelle, capitule, cyme.

## *L*

Larvicide: produit destiné à détruire les larves des insectes.

Luisante: qui luit, qui brille.

## *N*

Névralgie: douleur vive sur le trajet des nerfs.

Néphrite: inflammation du rein.

## *O*

Ombelle : Inflorescence dans laquelle les pédoncules partent tous d'un même point pour s'élever au même niveau.

Olfactif: qui a rapport à l'odorat.

## *P*

Périanthe: Ensemble des enveloppes florales (calice et corolle) qui entourent les étamines et le pistil.

Pétales: les parties dont est composée la corolle d'une fleur.

Piriforme: Enforme de poire.

## *R*

Réfuter: démontrer la fausseté, l'erreur.

Résines: produit solide ou semi-liquide, translucide et insoluble dans l'eau que sécrètent certains végétaux, notamment des conifères.

## *S*

Sédatif: qui apaise la douleur, qui calme.

Sédation: apaisement par les sédatifs.

Sépales: chacune des pièces, des folioles (petites feuilles formant une feuille composée) du calice (enveloppe extérieure) d'une fleur.

Spasme: contraction involontaire des muscles.

Spasmolytique: un médicament aux propriétés antispasmodiques.

Spath : Bractée entourant l'épi dans les spadices.

Stomachique: qui est bon pour l'estomac.

Suber: tissu des plantes vivaces qui élabore le liège.

Sudorifique: qui cause la sudation, la transpiration.

## *T*

Tonique: qui donne de la force, de l'énergie, qui stimule le corps.

## *V*

Vivace: qui vit plusieurs années et qui fructifie plusieurs fois dans son existence.



*Résumés*

# Titre: Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments.

## Résumé:

Le regain d'intérêt aux plantes médicinales pour extraire les principes actifs qui s'accroît d'un jour à l'autre, laisse le chercheur des traitements naturels puiser dans les recueils traditionnels et essayer de leur donner leur vraie image, différente de celle de la sorcellerie, de l'alchimie et du charlatanisme.

C'est ainsi qu'une étude de l'activité antibactérienne des huiles infusées, utilisées depuis des millénaires, de quatre plantes alimentaires et médicinales: l'oignon, l'ail, la cannelle et les clous de girofle, par rapport à d'autres extraits réputés d'avoir une activité visible contre les bactéries: huiles essentielles et jus frais, est faite avec deux techniques: celle des disques ou aromatogramme, employée généralement dans les examens de routine, et celle des dilutions utilisée dans ce travail pour prouver le pouvoir antibactérien des huiles infusées, n'ayant pas donné de bons résultats avec la première méthode de diffusion.

Les résultats obtenus à partir de ces travaux ont amené à comprendre l'effet antibactérien des huiles infusées de ces plantes par rapport à certaines souches. C'est alors que les huiles à l'ail et à l'oignon ont montré leur incapacité à exercer un pouvoir antibactérien sur la plupart des souches testées *in vitro*, à cause des interactions entre extraits et milieu de culture. Les huiles infusées à la cannelle et aux clous de girofle ont prouvé un effet antibactérien modéré dans certains cas mais contraire à celui des huiles essentielles de ces deux plantes, aussi ces huiles agissent à forte concentration par rapport aux huiles essentielles. Dans d'autres cas un pouvoir puissant des extraits préparés avec l'huile d'olive à chaud, grâce à une synergie probable entre les plantes et l'huile d'olive.

Les résultats trouvés positifs ou négatifs, sont intéressants pour une étude complémentaire plus approfondie et plus détaillée.

## Mots clés:

Huiles infusées – Oignon – Ail – Cannelle – Clous de girofle – Huiles essentielles – Jus frais – Aromathérapie – Activité antibactérienne –Aromatogramme – Concentration Minimale Inhibitrice.

دراسة الفحل المضاد للبكتيريا لزيوت منقوعة لأربع نباتات طبية معروفة كطعام

الملخص:

إن الرجوع للإستفادة من النباتات الطبية ، من أجل استخلاص المواد الفعالة ، الذي يتزايد من يوم لآخر ، سمح للباحث عن العلاجات الطبيعية الإقتباس من المصنفات التقليدية القديمة ، و محاولة إعطائها صورتها الحقيقية ، البعيدة عن السحر و التدجيل و الشعوذة.

و لهذا فقد تمت دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا لزيوت منقوعة ، استعملت منذ آلاف السنين ، للأربع نباتات غذائية و طبية و هي البصل، الثوم، القرفة و القرنفل، مقارنة مع الزيوت الأساسية و العصير، استعملت بطريقتين : طريقة الأقرص أو الانتشار التي تستعمل في الفحوص الإعتيادية، و طريقة التخفيف في محلول عضوي، المستعملة هنا من أجل إثبات فعالية هذه الزيوت ، التي لم تعط نتائج حسنة بالطريقة الأولى.

النتائج المتحصل عليها مكنت من فهم نسبي للفعالية المضادة للبكتيريا. ففي الوقت الذي تظهر الزيوت المنقوعة للبصل و الثوم عدم قدرتها على ممارسة فعل مضاد بكتيري قوي مع البكتيريا ، بسبب التأثيرات المتبادلة بين المستخلصات و وسط التغذية . أثبتت الزيوت المنقوعة للقرفة و القرنفل تأثير ضد بكتيري متوسط في بعض الأحيان ، لكنه عكس فعالية الزيوت الأساسية لهاتين النباتتين ، إضافة إلى أن هذه الزيوت المنقوعة تؤثر عند التراكيز العالية مقارنة مع الزيوت الأساسية. في حالات أخرى ظهر تأثير جيد للمستخلصات المحضرة بزيت الزيتون بوجود تعاون محتمل بين النباتات و زيت الزيتون.

هذه النتائج عليها كانت إيجابية أو سلبية مهمة من أجل دراسات تكميلية أكثر تعمقا ، تفصيلا.

الكلمات المفتاحية:

الزيوت المنقوعة - - - - الزيوت الأساسية - العصير - تأثير ضد بكتيري - التركيز الأصغر المثبط.



*Title: The antibacterial study of infused oils from four medicinal plants known as food*

*Abstract*

The renewal of interest to medicinal plants, in order to extract active principles which increase day after day, let the researcher of natural treatments explore traditional books and try to give them their true value, different from the one of sorcery, alchemy and the charlatanism.

Thus, a study of the evaluation of antibacterial activity of infused oils, used since millennium, from four nutritional and medicinal plants: onion, garlic, Ceylon cinnamon and cloves, in relation to other extract reputed to have a visible activity against bacteria: essential oils and fresh juices is made with two techniques, one of the disks or aromatogram, the other of dilutions which is used to prove the antibacterial effect of the infused oils because they didn't give any good results with the first method of diffusion.

The results gotten from these works brought to understand the antibacterial effect of infused oils of these plants in relation to some bacteria. The oils with garlic and onion showed their inability to exercise an antibacterial power on most tested bacteria *in vitro*, because of the interaction between extracts and cultural media. However, cinnamon and cloves infused oils proved moderate antibacterial effect in some cases but contrary to the one of the essential oils of these two plants, also these oils act to strong concentrations in relation to essential oils. In other case, there is a power activity of extracts prepared with olive oil, because of a probable synergism between plants and olive oil.

The positive or negative results found, are interesting for complementary studies, more deepened and more detailed.

*Key words:*

Infused oils – Onion – Garlic – Ceylon cinnamon – Cloves – Essential oils – Fresh juices – Aromatherapy – Antibacterial activity – Aromatogram – Minimal Inhibitory Concentration.