



HAL
open science

Étude de l'espèce *Origanum vulgare* L.

Nora Mahfouf

► **To cite this version:**

Nora Mahfouf. Étude de l'espèce *Origanum vulgare* L.. Botanique. Université Chadli Benjedid - El Tarf (Algérie), 2018. Français. NNT: . tel-01894678

HAL Id: tel-01894678

<https://hal.science/tel-01894678v1>

Submitted on 12 Oct 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة الشادلي بن جديد- الطارف-

UNIVERSITÉ CHADLI BENJEDID – EL TARF

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

THÈSE EN VUE DE L'OBTENTION D'UN DIPLÔME DE DOCTORAT (LMD)

Spécialité: Écotoxicologie, Environnement et Santé

Intitulé

« Étude de l'espèce *Origanum vulgare* L.»

Présentée par: M^{lle}. MAHFOUF Nora

19 Juillet 2018

<u>Membres de Jury:</u>	<u>Grade</u>	<u>Université</u>
Président : M ^r . BENAKHLA Ahmed	Professeur	Chadli Benjedid, El Tarf.
Examineur : M ^r . BOUMENDJEL Mahieddine	Maître de conférences (A)	Chadli Benjedid, El Tarf.
Examineur : M ^r . HADEF Youcef	Professeur	Badji Mokhtar, Annaba.
Examineur : M ^r . CHEFROUR Azzedine	Professeur	Chérif Messaadia, Souk Ahras.
Directeur de thèse : M ^r . NASRI Hichem	Professeur	Chadli Benjedid, El Tarf.
Co- Directeur de thèse : M ^{me} . BENNADJA Salima	Professeur	Badji Mokhtar, Annaba.

Année universitaire: 2017 – 2018

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة الشاذلي بن جديد- الطارف-

UNIVERSITÉ CHADLI BENJEDID – EL TARF

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

THÈSE EN VUE DE L'OBTENTION D'UN DIPLÔME DE DOCTORAT (LMD)

Spécialité: Écotoxicologie, Environnement et Santé

Intitulé

« Étude de l'espèce *Origanum vulgare* L.»

Présentée par: M^{lle}. MAHFOUF Nora

<u>Membres de Jury:</u>	Grade	Université
Président : M ^r . BENAKHLA Ahmed	Professeur	Chadli Benjedid, El Tarf.
Examineur : M ^r . BOUMENDJEL Mahieddine	Maître de conférences (A)	Chadli Benjedid, El Tarf.
Examineur : M ^r . HADEF Youcef	Professeur	Badji Mokhtar, Annaba.
Examineur : M ^r . CHEFROUR Azzedine	Professeur	Chérif Messaadia, Souk Ahras.
Directeur de thèse : M ^r . NASRI Hichem	Professeur	Chadli Benjedid, El Tarf.
Co- Directeur de thèse : M ^{me} . BENNADJA Salima	Professeur	Badji Mokhtar, Annaba.

Année universitaire: 2017 – 2018

Remerciements

Louanges à Dieu le tout puissant et le miséricordieux qui a guidé mes pas vers cette issue.

J'ai eu la chance et le plaisir d'effectuer ce travail de recherche entre la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Chadli Benjedid (El Tarf) et la faculté de médecine de l'université Badji Mokhtar (Annaba). Je tiens donc à remercier :

Monsieur le Professeur NASRI Hichem, Professeur de biologie à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Chadli Benjedid, d'avoir accepté de diriger mes travaux de thèse, durant ces cinq années, en me faisant bénéficier de votre expérience, vos conseils et vos encouragements. Soyez assuré de ma profonde gratitude.

Madame le Professeur BENNADJA Salima, Professeur de biologie végétale à la faculté de médecine de l'université Badji Mokhtar, vous êtes le professeur qui a réussi à m'inspirer, à me donner confiance en moi et en l'avenir mais aussi qui a réussi à me donner l'envie d'apprendre, j'espère par ces quelques lignes vous faire ressentir l'immense respect que j'ai pour vous. Merci infiniment.

Monsieur le Professeur BENAKHLA Ahmed, Professeur au département des sciences vétérinaires, faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Chadli Benjedid, El Tarf pour avoir honoré ce travail en l'évaluant et en acceptant de présider le jury.

Monsieur le Docteur BOUMENDJEL Mahieddine, Maître de conférences (A) au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Chadli Benjedid, El Tarf pour m'avoir fait l'honneur de faire partie de mon jury de thèse.

Monsieur le Professeur HADEF Youcef, Professeur au département de pharmacie, faculté de médecine d'Annaba, pour avoir accepté de consacrer du temps à examiner et évaluer ma thèse.

Monsieur le Professeur CHEFROUR Azzedine, Professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Chérif Messadia, Souk Ahras pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de participer à mon jury de thèse.

J'adresse mes vifs remerciements par ailleurs à :

Monsieur le Professeur DJAHOUDI Abd El Ghani, Professeur de microbiologie à la faculté de médecine de l'université Badji Mokhtar, je vous remercie particulièrement pour la confiance que vous m'avez accordée au laboratoire mais également pour vos nombreux conseils toujours les bienvenus. Soyez assuré de ma profonde gratitude.

Madame le Docteur TAIBI Feiza, Maitre de conférences de biologie animale à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Chadli Benjedid, malgré vos occupations diverses, vous avez été toujours disponible pour partager avec moi votre expérience, vos conseils, vos encouragements. Que grandissent la volonté et le pouvoir d'aider avec rigueur dans l'honnêteté dont vous faites preuve. Merci pour votre patience et pour votre contribution à ce travail.

Mes enseignants à la faculté des sciences de la nature et de la vie : *Dr SAIDI Hacina, Dr BOUMENDJEL Mahieddine, Dr RIZI Hadia, Dr LAAZLI Amel, Dr HANOUNI Nacira*, les plus grandes leçons ne sont pas tirées d'un livre mais des enseignants tels que vous, vous avez contribué à me donner une excellente formation. Veuillez recevoir mes sincères remerciements pour vos conseils et encouragement.

Hommage à la mémoire du Professeur *AIT-KAKI Yasmina*. Pour notre plus grand regret elle nous a quittés, un immense vide s'est installé chez nous, elle restera à jamais gravée dans nos mémoires.

Remerciement spécial

J'ai eu la chance d'effectuer un stage de trois mois à l'Organisation Mondiale de la Santé, Département de Sécurité des Aliments et Zoonoses (Genève, Suisse). Je tiens à remercier :

Dr Kazuaki MIYAGISHIMA, Directeur du Département de Sécurité Sanitaire des Aliments et Zoonoses. Je vous remercie pour votre accueil, j'ai énormément appris de ce stage.

Dr Awa AIDARA-KANE, Coordinatrice du groupe de surveillance de résistance antimicrobienne (AGISAR) à l'organisation mondiale de la santé. Je vous remercie beaucoup de m'avoir donné l'opportunité d'effectuer un stage à l'OMS. Je suis convaincue que, grâce à vous, j'ai pu acquérir un excellent bagage professionnel non négligeable à mon avenir.

Dr Amina BENYAHIA, Responsable de stage, je vous remercie profondément de l'accueil chaleureux que vous m'avez réservé, de votre préoccupation constante et pour votre soutien.

Mr Jorge Raul Mathieu ALVAREZ, je vous remercie vivement pour vos nombreux conseils. Soyez assuré de ma profonde gratitude.

Je tiens à remercier très chaleureusement monsieur ***le Professeur Antoine ANDREMONT***, Professeur à la faculté de médecine de l'université Paris-Diderot, qui m'a permis de bénéficier de son encadrement durant ma période de stage à l'OMS.

J'adresse mes remerciements à M^{me}. MINATO Yuki, Dr. TRITSCHER Angelika Maria, M^{me}. FONTANNAZ-OUJOULAT Françoise, M^{me}. DAFARA Chrystelle Stella, M^{me}. YUNIS Noha, M^{me}. GROSS Liane, M^{me}. MOHAMMADSHADII Afsaneh, Mr. KANOUTE Youssouf, pour les bons moments que nous avons passés ensemble.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes très chers parents Atika et Aomar, je leur exprime ma profonde gratitude pour leur soutien moral et financier ainsi que pour leurs encouragements durant tout mon parcours vers un avenir meilleur.

Mes chers : Maurad et Sawsan et leurs enfants Rami et Roufeida ; Yacine et Mounira et leurs enfants Achraf, Yasser et Serine ; Soraya et Hocine et leur fille Tania.

Mes chers cousines et cousins : Mon oncle Ammar et son épouse Houria, mes tantes Ouassila et Rachida, les anges Safa, Khawla et Nouha et leur maman Nadia ; Leila et ses chers Kahina et Zizou ; Nabila et ses adorables enfants ; Louiza et Sofia.

À la mémoire de ma tante Kelthoum et mon oncle Ali

Mes collègues docteurs et doctorants : AMRANI Amina, BENAMARA Marwa, ABDESSELAM Amira, BOUHADDADA Ratiba, KERKOUB Neila, AMOURA Zehour, DJABRI Amina, BORDJ Riad, RAHAL Lynda, ZAIDI Hadjer, MANSOURI Djalel « La reconnaissance est la plus belle fleur qui jaillit de l'âme ». C'est de tout mon cœur que je vous remercie.

Les maîtres assistants : MECHERI Rym, OUNAÏSSIA Karima, BELLELI Mehdi.

Mes très chers amis : GUENNOUCHE Ghizlene, OUIBRAHIM Amira, KOUCH Mina, HENI Sonia, BOUAICHA Marwa, ATAOUA Afaf, CHOUAL Nour El Houda, ZOUEIDYA Amina, AIT BRAHIM Rosa, BRINIS Atef, BENKIRAT Razika, MEBARKI Mona, AISSAOUI Safwa. Veuillez recevoir mes sincères remerciements pour votre présence et vos encouragements pendant les moments les plus difficiles.

Mes amis étrangers : Ma chère amie syrienne Lina El BABA, même à des milliers de kilomètres (Syrie, Egypte, Liban, Turquie, Arabie Saoudite) tu as été une aide précieuse tout au long de ces années d'amitié. Dieu merci de t'avoir eu dans ma vie. À mon ami brésilien José Mariah SUZA, mon ami égyptien Karim EL FAWWAL et mon amie américaine Garance UPHAM, un énorme merci pour des personnes tout simplement géniales ! Merci de m'avoir aidé lorsque j'avais besoin d'aide. Vous avez toujours été un cadeau dans ma vie.

Enfin, je dis merci à quiconque, qui de près ou de loin, a contribué à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Résumés

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

Liste des abréviations

Introduction générale 1

Aperçu bibliographique

Chapitre I : Description de l'espèce *Origanum vulgare* L.

1. Caractères botaniques et répartition du genre <i>Origanum</i>	3
1.1. Position systématique	3
1.2. Caractères généraux des Lamiaceae	3
1.3. Caractères botaniques du genre <i>Origanum</i>	4
1.4. Répartition	5
2. Le genre <i>Origanum</i> en Algérie	8
2.1. L'espèce <i>Origanum floribundum</i> Mumby.....	8
2.2. L'espèce <i>O.vulgare</i> L.	9

Chapitre II : La phytothérapie

1. Généralités	11
2. Variation des produits et parties utilisées	12
3. Formes utilisables	13
4. Principes actifs	14
5. Toxicité	15
6. Généralités sur les HEs	15
6.1. Définitions	15
6.2. Composition chimique.....	16
6.3. Répartition botanique.....	17
6.4. Propriétés physico-chimiques des HEs.....	17

Sommaire

6.5. L'HE d' <i>O.vulgare</i>	17
6.5.1. Utilisations.....	18
6.5.2. Composition.....	18
6.5.3. Mode d'action et spectre d'activité.....	19
6.5.4. Toxicité.....	20

Chapitre III : Activités biologiques de l'HE d'*O.vulgare*

1. Activité antioxydante	21
1.1. Définition de l'activité antioxydante	22
1.2. Le stress oxydatif.....	22
1.2.1. Les radicaux libres	22
1.2.2. Définition du stress oxydatif.....	22
1.2.3. Mécanisme de production et d'élimination des ROS dans l'organisme	23
1.2.4. Les antioxydants	24
2. Activité antibactérienne	24
2.1. Les entérobactéries	25
2.1.1. <i>Escherichia coli</i>	28
2.1.2. Le genre <i>Salmonella</i>	29
2.1.3. Le genre <i>Enterobacter</i>	30
2.1.4. Le genre <i>Klebsiella</i>	32
2.1.5. Le genre <i>Serratia</i>	34
2.1.6. Le genre <i>Citrobacter</i>	36
2.1.7. Le genre <i>Shigella</i>	38
2.1.8. Le genre <i>Hafnia</i>	40
2.2. Les bacilles a Gram négatif non fermentaires	41
2.2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	42
2.2.2. Le genre <i>Acinetobacter</i>	44
2.3. Bactéries à Gram positif	47
2.3.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	47
2.3.2. <i>Bacillus sphaericus</i>	49
3. Activité insecticide.....	51
3.1. Présentation de l'insecte <i>Ephestia kuehniella</i>	51
3.2. Différents stades de développement et dimorphisme sexuel	52

Partie expérimentale

Chapitre IV: Matériels et méthodes

1. Zone d'étude	55
1.1. Situation géographique	55
1.2. Microclimats de la ville	56
1.3. Variables climatiques.....	56
1.4. Le sol	57
2. Étude morpho-anatomique.....	57
2.1. Étude morphologique.....	57
2.2. Étude anatomique	58
3. Étude ethnobotanique.....	58
3.1. Présentation des régions d'étude	59
3.2. Méthodologie	59
4. Extraction et analyse chimique de l'HE d' <i>O.vulgare</i>	62
4.1. Extraction de l'HE par entraînement à la vapeur d'eau.....	62
4.2. Analyse des constituants chimiques de l'HE par CPG/MS	63
5. Evaluation de l'activité antioxydante de l'HE par l'effet scavenger du radical DPPH	65
6. Activité antibactérienne	67
6.1. Souches bactériennes	67
6.2. Étude de l'activité antibactérienne de l'HE	69
6.2.1. Evaluation qualitative de l'activité antibactérienne (aromatogramme):	69
6.2. 2. Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne (calcul des CMI).....	70
7. Activité insecticide.....	72
7.1. Elevage	72
7.2. L'effet bio-insecticide de l'HE	73
7.2.1. La période du développement nymphal.....	73
7.2.2. La période de pré-oviposition	73
7.2.2. La période d'oviposition	73
7.2.4. La fécondité des femelles.....	73
7.2.5. Estimation de l'effet de l'HE sur la longévité des adultes	73
7.2.6. Test de répulsivité.....	73

Sommaire

Chapitre V: Résultats et discussions

1. Identification botanique de l'espèce <i>O.vulgare</i>	76
2. Caractéristiques physico-chimiques du sol abritant l'origan	77
3. Étude morpho-anatomique.....	77
3.1. Étude macroscopique.....	77
3.2. Étude anatomique	81
4. Étude ethnobotanique.....	88
5. Extraction et analyse chimique de l'HE d' <i>O.vulgare</i>	96
5.1. Extraction et calcul de rendement.....	96
5.2. Composition chimique.....	97
6. Activité antioxydante	103
7. Activité antibactérienne	105
8. Activité insecticide	117
Conclusion	127
Références bibliographiques	129
Annexes	150

Résumé

L'Algérie est un pays riche en plantes aromatiques dont plusieurs sont endémiques. Parmi ces plantes figure l'origan (famille des Lamiacées). Les huiles essentielles et les extraits d'espèces d'origan sont largement utilisés dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et à la préservation de plusieurs produits alimentaires.

Le présent travail, consiste à l'étude de l'espèce *Origanum vulgare* L. poussant à l'état spontané dans la région de Guelma (Est algérien).

L'enquête ethnobotanique a permis de décrire les différentes utilisations de la plante, notamment son utilisation comme remède contre plusieurs maladies dont le syndrome grippal qui occupe la première place.

L'étude morpho-anatomique a permis de confirmer l'identité botanique de l'espèce ; et de dégager les caractères distinctifs de l'anatomie d'origan.

L'extraction de l'huile essentielle et son analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/ SM) a révélé la prédominance du thymol (32.85%).

L'étude de l'activité anti-radicalaire par le test du DPPH a montré que l'huile essentielle possède une activité antioxydante modérée ($IC_{50} = 1,28 \pm 0,07$ mg / ml).

L'huile essentielle a été testée sur la reproduction et la mortalité de la mite de farine *Ephesia kuehniella*. Elle provoque le prolongement de la période de pré-oviposition et la réduction de la période de dépôt des œufs et la fécondité.

Les souches bactériennes testées se sont avérées sensibles à l'huile essentielle étudiée qui a généré une activité antibactérienne dont les zones d'inhibition ont été comprises entre 9,8 mm et 37,7mm et des concentrations minimales inhibitrices (CMI) allant de 0,314 à 5,025 mg/ml.

Mots clés : *Origanum vulgare* L. – Anatomie – Huile essentielle – CPG/ SM – Activité antioxydante – Activité antibactérienne – Activité insecticide – Région de Guelma.

Abstract

Algeria is a country that produces hundreds of species of aromatic plants that are endemic. Among these plants is the oregano (Lamiaceae family). Oregano species extracts and essential oils are widely used in the pharmaceutical, cosmetic and in the preservation of several food products.

This work aims to study the species *Origanum vulgare* L. growing spontaneously in the region of Guelma (East Algeria).

The ethnobotanical study allowed us to describe the different uses of the plant, in particular its use as a remedy for several diseases, including influenza syndrome, which occupies the first place.

The morpho-anatomical study allowed us to confirm the botanical identity of the species; and to distinguish the distinctive features of the oregano anatomy.

The extraction of the essential oil and its analysis by gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) revealed the predominance of thymol (32.85%).

The study of the free radical scavenging activity by the DPPH test showed that the essential oil has antioxidant properties ($IC_{50} = 1.28 \pm 0.07$ mg / ml).

The essential oil was tested on the reproduction and mortality of *Ephestia kuehniella* flour moth. When administered to nymphs, by inhalation, the essential oil affects their nymphal development. In addition, it disturbs the reproduction of adult mature animals by extending the pre-oviposition period and reducing the egg deposition period and fertility.

The bacterial strains tested were found to be sensitive to the essential oil studied and showed a very effective antibacterial activity with zones of maximum inhibition of the order of 9.8 to 37.7 mm and minimum inhibitory concentrations (MICs) ranging from 0.314 to 5.025 mg / ml.

Key words: *Origanum vulgare* L. – Anatomy – Essential oil – GC/MS – Antioxidant activity – Antibacterial activity – Insecticidal activity – Region of Guelma.

تزرع الجزائر بمئات الأنواع من النباتات العطرية المتوطنة. من بين هذه النباتات نبتة الزعتر (يتبع الفصيلة الشفوية Lamiaceae). الزيوت العطرية ومختلف المستخلصات المستخرجة من أنواع الزعتر تستخدم على نطاق واسع في الصناعات الصيدلانية ومستحضرات التجميل والمواد الحافظة للعديد من المنتجات الغذائية.

يهدف عملنا هذا لدراسة الجنس النباتي للزعتر *Origanum vulgare L.* الذي ينمو في منطقة قالمة (شرق الجزائر). وقد سمح لنا التحقيق الميداني بالتعرف على طرق استعمال هذه النبتة وقد توضح لنا أنها تستخدم كعلاج للعديد من الأمراض ولاسيما متلازمة الأنفلونزا التي تحتل المرتبة الأولى بين الأمراض المعالجة بالزعتر.

أكدت الدراسة التشريحية: الهوية المورفولوجية لنوع النبتة كما سمحت لنا بتمييز السمات التشريحية المميزة للزعتر.

استخلص الزيت العطري وتحليله بطريقة الدمج بين كروماتوغرافيا الغازية والمطيافية للكتلة (CPG/SM) بين لنا أن Thymol هو المركب الغالب (32.85%).

أظهرت دراسة النشاط المضاد للأوكسدة بطريقة DPPH أن الزيت العطري لنبتة الزعتر يملك نشاط مضاد للأوكسدة معتبر ($IC_{50} = 1.28 \pm 0.07$ مغ / مل).

اختبر الزيت العطري للزعتر على تكاثر و معدل وفيات عثة الدقيق *Ephestia kuehniella* عن طريق نشر الزيت وإشباع محيط الحشرة به. اثر استنشاق الزيت من طرف الحوريات (Nymphes) على النمو الحوري لديها. إضافة إلى تذبذب التكاثر لدى الحشرات البالغة عن طريق تمديد مرحلة ما قبل وضع البيض وتقليص فترة وضع البيض وكذلك تأثيره على الخصوبة.

النشاطية ضد بكتيرية للزيت تمت باستعمال طريقة التماس المباشر وطريقة التخفيف على سلالات ممرضة للإنسان، أظهرت النتائج أن للزيت نشاطية ضد بكتيرية مهمة مع قطر التثبيط الذي يتراوح ما بين 9.8 و 7.37 ملم، والحد الأدنى من تركيز المثبطة (CMI) الذي يتراوح ما بين 0.314 و 5.025 ملغ / مل.

الكلمات المفتاحية: *Origanum vulgare L.* – CPG/SM – البنية النسيجية – الزيوت العطرية – النشاط المضاد للأوكسدة – النشاطية ضد بكتيرية – نشاط إبادة الحشرات – ناحية قالمة.

Liste des tableaux

Liste des tableaux

N°		Page
01	Classification du genre <i>Origanum</i> selon Ietswaart (1980)	7
02	Répartition géographique des deux espèces d'origan en Algérie	8
03	Principaux constituants volatiles de l'HE d'origan	18
04	Classification des espèces d'Entérobactéries les plus fréquents en clinique humaine	27
05	Les genres Bacilles à Gram négatif non fermentaires	42
06	Souches bactériennes tests	68
07	Pourcentage de répulsion selon Mc Donald <i>et al.</i> (1970)	75
08	Informations liées au site et à la date de récolte	96
09	Caractéristiques organoleptiques d' <i>O.vulgare</i>	96
10	Résultats quantitatifs de l'extraction de l'HE d' <i>O.vulgare</i>	97
11	Composition chimique de l'HE d' <i>O.vulgare</i>	99
12	Comparaison entre les composants majoritaires de l'HE d' <i>O.vulgare</i> provenant de différentes régions d'Algérie	102
13	L'activité sacavenger du radical DPPH par l'HE d' <i>O.vulgare</i> , l'acide ascorbique et le BHT	104
14	Effet insecticide de l'HE d' <i>O.vulgare</i> , administrée par inhalation, sur la période du développement nymphal (jours) chez <i>E.kuehniella</i>	117
15	Effet insecticide de l'HE d' <i>O.vulgare</i> , administrée par inhalation, sur la période de préoviposition (jours), chez <i>E.kuehniella</i>	118
16	Effet insecticide de l'HE d' <i>O.vulgare</i> , administrée par inhalation, sur la période d'oviposition (jours), chez <i>E. kuehniella</i>	119
17	Effet insecticide de l'HE d' <i>O.vulgare</i> , administrée par inhalation, sur la fécondité (nombre d'œufs déposés) des femelles d' <i>E. kuehniella</i>	120
18	Effet insecticide del'HE d' <i>O.vulgare</i> , administrée par inhalation, sur le taux de mortalité (%) des adultes d' <i>E. kuehniella</i>	121
19	Répulsivité moyenne de l'HE d' <i>O.vulgare</i> sur les adultes et les larves d' <i>E.kuehniella</i>	122

Liste des figures

Liste des figures

N°		Page
01	Dessin d' <i>O. vulgare</i> ssp <i>vulgare</i> d'après Ietswaart (1980)	5
02	Aire de distribution du genre <i>Origanum</i> (Ietswaart, 1980)	6
03	Planche d' <i>O.vulgare</i> L.	10
04	Modèle d'équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants	23
05	Réaction du DPPH avec une molécule donneuse de proton	24
06	Observation microscopique d' <i>Escherichia coli</i>	28
07	Observation microscopique de <i>Salmonella spp.</i>	30
08	Observation microscopique d' <i>Enterobacter cloacae</i>	32
09	Observation microscopique de <i>Klebsiella spp.</i>	33
10	Observation microscopique de <i>Serratia marcescens</i>	35
11	Observation microscopique de <i>Citrobacter Freundii</i>	37
12	Observation microscopique de <i>Shigella spp.</i>	38
13	Observation microscopique de <i>Hafnia alvei</i>	40
14	Observation microscopique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
15	Observation microscopique d' <i>Acinetobacter spp.</i>	46
16	Observation microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i>	48
17	Observation microscopique de <i>Bacillus sphaericus</i>	50
18	La pyrale de la farine	52
19	Les différents stades de développement chez <i>E.kuehniella</i>	54
20	Le dimorphisme sexuel chez <i>E. kuehniella</i>	54
21	Situation géographique du site d'étude	55
22	Diagramme climatique de Nechmaya	56
23	Courbe de température de Nechmaya	56
24	Carte des régions où a été effectuée l'enquête ethnobotanique	59
25	Fiche d'enquête	61
26	Les différents modules de la chromatographie en phase gazeuse	64
27	La structure du radical DPPH et sa réduction par un antioxydant (AO-H)	66
28	Détermination de la CMI sur milieu solide	71
29	Herbier d' <i>Origanum vulgare</i> L. subsp. <i>glandulosum</i> (Desf.) Ietswaart	76
30	Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inférieure de la feuille d' <i>O. vulgare</i>	85

Liste des figures

(Microscope électronique)	
31 Répartition des enquêtés selon le sexe	88
32 Répartition des enquêtés selon l'âge	89
33 Répartition des enquêtés selon la connaissance de l'origan	89
34 Répartition des enquêtés selon la source d'information	90
35 Répartition des enquêtés selon l'utilisation de l'origan	91
36 Répartition des enquêtés selon la provenance de la plante	91
37 Répartition des enquêtés selon la partie utilisée	92
38 Répartition des enquêtés selon le mode de préparation	93
39 Répartition des enquêtés selon les maladies traitées	94
40 Chromatogramme analytique de l'HE d' <i>O.vulgare</i>	98
41 Principaux composés (en %) de l'HE d' <i>O. vulgare</i>	98
42 Structures chimiques 2 D et 3D des principaux composés de l'HE d' <i>O. vulgare</i>	100
43 Répartition des principales familles de composés de l'HE d' <i>O. vulgare</i>	101
44 Activité antiradicalaire de l'HE d' <i>O.vulgare</i> , d'acide ascorbique et du BHT	103
45 Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'HE d' <i>O.vulgare</i> testée sur des souches du groupe E.S.S.C	106
46 Résultats des CMI de l'HE d' <i>O.vulgare</i> testée sur des souches du groupe E.S.S.C	106
47 Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'HE d' <i>O.vulgare</i> testée sur des souches du groupe K.E.S.H	107
48 Résultats des CMI de l'HE d' <i>O.vulgare</i> testée sur des souches du groupe K.E.S.H	108
49 Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'HE d' <i>O.vulgare</i> testée sur des souches d' <i>Acinetobacter</i> et de <i>Pseudomonas</i>	110
50 Résultats des CMI de l'HE d' <i>O.vulgare</i> testée sur des souches d' <i>Acinetobacter</i> et de <i>Pseudomonas</i>	111
51 Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'HE d' <i>O.vulgare</i> testée sur des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Bacillus sphaericus</i>	113
52 Résultats des CMI de l'HE d' <i>O.vulgare</i> testée sur des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Bacillus sphaericus</i>	113
53 Classification des souches sur la base des diamètres d'inhibition	114
54 Classification de l'HE d' <i>O.vulgare</i> sur la base des résultats de la CMI	114

Liste des figures

- 55 Effet insecticide de l'**HE** d'*O.vulgare*, administrée par inhalation, sur la période 117
du développement nymphal (jours) chez *E.kuehniella*
- 56 Effet insecticide de l'**HE** d'*O.vulgare*, administrée par inhalation, sur la période 118
d'oviposition (jours), chez *E.kuehniella*
- 57 Effet insecticide de l'**HE** d'*O.vulgare*, administrée par inhalation, sur la période 119
de préoviposition (jours), chez *E. kuehniella*
- 58 Effet insecticide de l'**HE** d'*O.vulgare*, administrée par application topique, sur 120
la fécondité (nb d'œufs) chez *E.kuehniella*
- 59 Effet insecticide de l'**HE** d'*O.vulgare*, administrée par inhalation, sur la 122
mortalité des adultes d'*E. kuehniella*

Liste des photos

Liste des photos

N°		Page
01	<i>O. floribundum</i> Mumby	08
02	Prélèvement d'un échantillon de terre	57
03	Montage d'extraction de type Clevenger	63
04	Appareil de la CG / SM	64
05	Élevage de masse des insectes au laboratoire	72
06	Estimation de l'effet répulsif sur les adultes et les larves	74
07	Inflorescence de l'espèce <i>O. vulgare</i>	77
08	La fleur d' <i>O. vulgare</i> vue sous binoculaire	78
09	Appareil reproducteur de la fleur d' <i>O. vulgare</i> vue sous binoculaire	78
10	Aspect de la face supérieure d'une feuille d' <i>O. vulgare</i> vue sous binoculaire	79
11	Aspect de la face inférieure d'une feuille d' <i>O. vulgare</i> vue sous binoculaire	79
12	Les poils glandulaires et non glandulaires de l'espèce <i>O. vulgare</i> vue sous binoculaire	79
13	Aspect de la tige d' <i>O. vulgare</i> vue sous binoculaire	80
14	Racine d' <i>O. vulgare</i>	80
15	Coupe transversale de la feuille d' <i>O. vulgare</i> vue sous microscope optique (M.O: G x 40)	82
16	Détail des stomates sur la face supérieure d'une feuille d' <i>O. vulgare</i> (M.O: Gx40)	83
17	Détail des poils non glandulaires sur la feuille (M.O: Gx40)	83
18	Glandes capitées sur des feuilles d' <i>O. vulgare</i> (M.O: Gx40)	84
19	Détail des cellules sécrétrices d'une glande peltée sur la feuille d' <i>O. vulgare</i> (M.O: Gx40)	85
20	Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inférieure de la feuille d' <i>O. vulgare</i> (M.O: Gx40)	85
21	Coupe transversale de d'une tige jeune d' <i>O. vulgare</i> , vue à la loupe	86
22	Coupe transversale de d'une tige âgée d' <i>O. vulgare</i> , vue à la loupe	86
23	Coupe transversale de la tige, vue au microscope optique (M.O :Gx40)	87
24	Structure secondaire d'une racine jeune d' <i>O. vulgare</i> (M.O :Gx40)	87
25	L'HE d' <i>O. vulgare</i>	96
26	Effet répulsif de l'HE d' <i>O. vulgare</i> sur les larves d' <i>E. kuehniella</i>	123
27	Effet répulsif de l'HE d' <i>O. vulgare</i> sur les adultes d' <i>E. kuehniella</i>	123

Liste des abréviations

Liste des abréviations

2D	2 Dimensions
3D	3 Dimensions
AAR	Activité Anti-Radicalaire
AFNOR	Association française de normalisation
ALS	Sclérose Latérale Amyotrophique
ARDS	Syndrome de Détresse Respiratoire Aigue
ATB	Antibiotique
BHT	Butylated hydroxytoluene
C.R.D. Alphyte	L'entreprise publique économique : l'algérienne des phytosanitaires
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CG / SM	Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DO	Densité Optique
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
eV	électron-Volt
FSAI	Food Safety Authority of Ireland
Gr	Grossissement
HE	Huile Essentielle
IRC	Insuffisance rénale chronique
RNS	Reactive Nitrogen Species (espèces réactives azotées)
ROS	Reactive Oxygen Species (espèces réactives oxygénées)
SIDA	Syndrome d'Immuno Déficience Acquise
UFC	Unité Formant Colonie
USI	Unité de Soins Intensifs
µm	Micro mètre

Introduction

Introduction générale

Aujourd'hui, les traitements à base de plante reviennent au premier plan car les substances naturelles connaissent un intérêt croissant pour des applications dans de nombreux produits de consommation. En effet, leur utilisation est encouragée car les produits équivalents issus de synthèses chimiques ont, à tort ou à raison, mauvaise presse parmi le grand public. Les plantes représentent une source de principes actifs inépuisable et renouvelable, dont l'usage traditionnel et médical est connu depuis bien longtemps. Il existe donc un besoin de production de substances bioactives isolées, concentrées et purifiées, pour une utilisation dans un large champ d'application (cosmétiques, pharmaceutiques, additifs nutritionnels).

Entre 20 000 et 25 000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée humaine. 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale (**Anthoula, 2003**). La revalorisation de l'herboristerie traditionnelle pourrait aboutir à l'homologation de nouveaux médicaments à base de plantes. La possibilité de concilier le meilleur de chaque discipline, traditionnelle et allopathique, est un grand progrès.

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, Saharienne et une flore paléo tropical, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botanique dont 15% sont endémiques (**Quezel & Santa, 1963**). Ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique, plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles.

Parmi cette végétation, on trouve les plantes aromatiques utilisées pour l'aromatization des aliments, les arts culinaires et les vertus médicinales. Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne on s'est intéressé à une espèce de la famille des lamiacées. La plante sur laquelle a porté notre choix est une espèce d'origan "***Origanum vulgare L.***" provenant de la région de Nechmaya à Guelma.

Ce travail a pour but, l'étude de cette plante, tant d'un point de vue ethnobotanique anatomique que chimique et biologique de l'**HE** extraite de ses feuilles.

Introduction générale

Notre travail s'articulera sur deux parties distinctes: une partie bibliographique qui comporte trois chapitres qui porteront respectivement sur l'étude botanique d'*O.vulgare*, les **Huiles essentielles** et les activités biologiques.

Et une partie expérimentale comportant deux chapitres le premier traitera les matériels utilisés et les méthodes adoptées dans les différentes études ; le deuxième chapitre traitera les résultats et les discussions.

Les aspects qui seront abordés sont :

- Une enquête ethnobotanique.
- Une étude pédo-climatique du milieu dans lequel se développe l'espèce.
- Une étude morpho-anatomique.
- L'extraction de l'**HE** par hydrodistillation et la détermination de la composition chimique de l'**HE** par CG/SM.
- Étude des activités biologiques de l'**HE** d'*O.vulgare*.
 1. Activité antioxydante par le test de piégeage du radical DPPH.
 2. Activité antibactérienne de l'HE vis-à-vis de 45 souches.
 3. Activité insecticide de l'**HE** sur une espèce de coléoptère ravageur des denrées alimentaires stockées : *Ephestia kuehniella*.

Les résultats obtenus feront l'objet d'une interprétation et d'une confrontation avec ceux des travaux précédemment publiés, aboutissant à une conclusion générale avec proposition de quelques perspectives.

Partie bibliographique

1. Caractères botaniques et répartition du genre *Origanum*

1.1. Position systématique

Classification d'après **Deysson (1967)** :

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Gamopétales

Série : Superovariées tétracycliques

Super ordre : Tubiflorales

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Sous-famille : Népétoïdées

Genre : *Origanum*

La famille des Lamiaceae comprend 187 genres et 3 000 espèces. Elle est la plus homogène de la sous classe des Gamopétales, et la plupart des Genres sont riches en huiles essentielles (**Atlan, 1987**). L'ancien nom des Lamiaceae : Labiées dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles.

1.2. Caractères généraux des Lamiaceae

- Les tiges sont quadrangulaires, au moins dans leur jeune âge, et sont à rameaux opposés,
- les feuilles opposées sont simples, parfois amplexicaules, toujours sans stipule et à limbe penninerve,
- les inflorescences formées par de faux verticilles axillaires ou glomérules proviennent de la réunion de 2 cymes bipares,
- les fleurs hermaphrodites ou unisexuées sont accompagnées de bractéoles et ont évolué vers l'adaptation à la pollinisation par les insectes (entomophilie),
- le calice est gamosépale persistant à 5 sépales soudés,
- la corolle est gamopétale et zygomorphe. Elle comprend un tube plus ou moins long, droit ou incurvé, souvent poilu. Le limbe est bilabié, partagé en 5 lobes (2 pour la lèvre supérieure, 3 pour la lèvre inférieure) - les étamines sont au nombre de 4 : 2 grandes et 2 petites (sauf pour le genre *Mentha* qui en compte 5),

Chapitre I : Description de l'espèce *Origanum vulgare* L.

- le gynécée est formé de 2 carpelles formant un ovaire biloculaire reposant sur un disque glanduleux et possédant 2 ovules par loge. Chaque loge se subdivise par une fausse cloison en 2 logettes uniovulées. Les ovules sont anatropes ascendants à raphé interne,
- le fruit est un tétrakène formé de 4 nucules secs enveloppés par le calice (**Moyse, 1971 ; Chadeffaud & Emberger, 1960**).

1.3. Caractères botaniques du genre *Origanum*

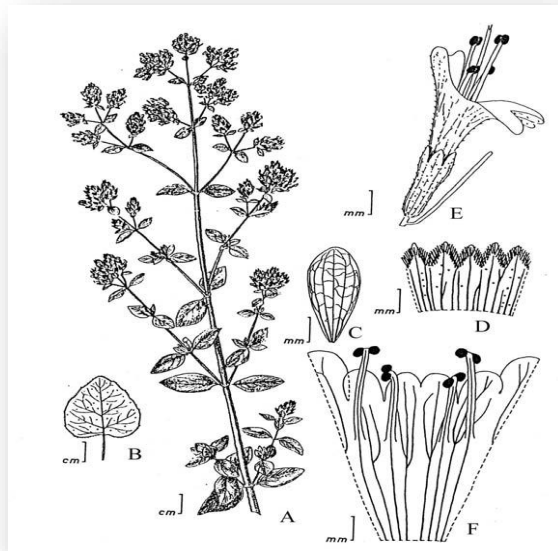
Origanum vient de 2 mots grecs, "*oros*" qui veut dire montagne et "*ganos*" qui signifie éclat ; ce mot signifierait "ornement des montagnes".

Les caractères distinctifs du genre *Origanum* sont d'après **Ietswaart, (1980)**:

- les tiges : les portions les plus basses sont en général ligneuses et persistantes. On trouve plusieurs tiges dressées ou ascendantes portant des branches latérales, sur le quart ou la moitié supérieure, de longueur très variable de 10 à 60 cm ; la plupart des tiges portent des poils, au moins à la base dans toutes les espèces ; les poils sont simples, sauf pour *O. dictamnus* (poils ramifiés),
- les feuilles sont sessiles, subsessiles ou pétiolées surtout au niveau des nœuds inférieurs ; le pétiole atteint le quart ou la moitié de la dimension du limbe, les poils portés par les feuilles et les tiges sont identiques. Les feuilles peuvent être aussi plus ou moins glabres, dans ce cas elles sont presque toujours glauques car recouvertes par une fine couche de cire. Les feuilles portent des poches sécrétrices sessiles ou pédonculées. Ces glandes sécrétrices sont aussi présentes sur tiges, bractées, calices et corolles,
- les inflorescences sont portées par chacune des tiges et chacune des branches ; l'aspect en panicule sera fonction du nombre de branches, les bractées sont arrondies, ovales ou lancéolées ; les plus petites ressemblent à des feuilles, les plus grandes sont fines et membraneuses, souvent pourpres ou de couleur jaune-vert. De nombreuses variations sont possibles dans la taille des inflorescences et/ou des bractées ; ce sont ces variations qui permettent entre autres de différencier les sections,
- le calice est la partie la plus variable, dans le genre *Origanum* il possède 5 dents plus ou moins soudées ou il est formé par une ou 2 lèvres plus ou moins dentées. La classification en différentes sections fait également intervenir les caractères distinctifs du calice (**Figure 01**),
- généralement la corolle en forme de tube est dressée avec 2 lèvres de 3 à 14 mm, sa couleur est blanche, rose ou pourpre,
- les étamines peuvent être de forme et de taille très différente et sont adaptées à la pollinisation par les insectes,

- les fruits sont des akènes ovoïdes, bruns, mesurant 1 à 5 mm de long et 0,5 mm de large.

Les caractères fondamentaux du genre *Origanum* résumés ci-dessus présentent le plus souvent des variations caractéristiques de chaque section.



B : feuille

C : bractée

D : calice coupé par la lèvre inférieure

E : fleur avec bractée avec vue de côté

F : corolle coupée par la lèvre inférieure

Figure 01. Dessin d'*O. vulgare* ssp *vulgare* d'après **Ietswaart (1980)**

Les parties utilisées pour obtenir l'huile essentielle sont les sommités fleuries récoltées en période estivale. Cette huile est peu utilisée en médecine traditionnelle, toutefois l'origan possède diverses propriétés thérapeutiques. Ainsi, en usage externe, il pourra être utilisé comme bactéricide et antiseptique, stimulant et antispasmodique des voies respiratoires comme l'a démontré Baratta (**Baratta et al., 1998**).

1.4. Répartition

Le genre *Origanum* a été particulièrement étudié par **Ietswaart** en **1980**. Il reconnaît 3 groupes, 10 sections, 38 espèces, 6 sous-espèces, 3 variétés et 16 hybrides (**Tableau 01**). Le genre *Origanum* est largement présent des îles Canaries et des Açores, à l'Europe du Nord et jusqu'à l'est de l'Asie. On peut le rencontrer aussi en culture à Cuba ou dans l'île de Réunion, mais la région méditerranéenne représente son aire de distribution la plus importante (**Figure 02**).



- Limite de distribution

Figure 02. Aire de distribution du genre *Origanum* (Ietswaart, 1980).

Certaines espèces sont endémiques à un pays. Par exemple *O. saccatum*, *O. boissieri*, *O. hypericifolium*, *O. sipyleum*, *O. acutidens*, *O. haussknechtii*, *O. brevidens*, etc... sont particulières à la Turquie, pays qui est considéré comme le centre génique du genre *Origanum* puisqu'il en possède 16 espèces (Baser, 1995). De plus la Turquie est aussi un important centre génique de la famille des Lamiaceae ; cette famille est représentée par 45 genres, 546 espèces et 730 taxons. Les espèces endémiques représentent 44,2 % (Baser, 1993). La Grèce compte 11 espèces tandis que la Crète en compte 5 (Greuter, 1986).

Il faut souligner que la distinction entre marjolaine et origan n'est pas toujours très claire dans la littérature et dans la pratique commerciale ; de nombreuses dénominations sont utilisées pour désigner les huiles essentielles d'origan et il y a souvent confusion entre genre et espèce.

Chapitre I : Description de l'espèce *Origanum vulgare* L.

Tableau 01. Classification du genre *Origanum* selon Ietswaart (1980)

Groupe A	Groupe B	Groupe C	Hybrides
I Section Amaracus	V Section Chilocalyx	VII Section Campanulaticalyx	<i>O. x adonidis</i>
<i>O. boissieri</i>	<i>O. micranthum</i>	<i>O. dayi</i>	<i>O. x applii</i>
<i>O. calcaratum</i>	<i>O. bilgeri</i>	<i>O. isthmicum</i>	<i>O. x barbarae</i>
<i>O. cordifolium</i>	<i>O. microphyllum</i>	<i>O. ramonense</i>	<i>O. x hybridinum</i>
<i>O. dictamnus</i>	<i>O. minutiflorum</i>	VIII Section	<i>O. x intercedens</i>
<i>O. saccatum</i>	VI Section	Elongatispica	<i>O. x intermedium</i>
<i>O. solymicum</i>	Majorana	<i>O. elongatum</i>	<i>O. x lirium</i>
II Section Anatolicon	<i>O. majorana</i>	<i>O. floribundum</i>	<i>O. x majoricum</i>
<i>O. akhdarensis</i>	<i>O. onites</i>	<i>O. grosii</i>	<i>O. x minoanum</i>
<i>O. cyrenaicum</i>	<i>O. syriacum</i>	IX Section	<i>O. x pabotii</i>
<i>O. hypericifolium</i>	<i>O. syriacum</i> var. <i>syriacum</i>	Origanum.	<i>O. x symeonis</i>
<i>O. libanoticum</i>	<i>O. syriacum</i> var. <i>bevanii</i>	<i>O. vulgare</i>	<i>O. amanum x dictamnus</i>
<i>O. scabrum</i>	<i>O. syriacum</i> var. <i>sinaicum</i>	<i>O. vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	<i>O. calcaratum x dictamnus</i>
<i>O. sipyleum</i>		<i>O. vulgare</i> ssp. <i>glandulosum</i>	<i>O. amanum x dictamnus</i>
<i>O. vetteri</i>		<i>O. vulgare</i> ssp. <i>gracile</i>	<i>O. sipyleum x vulgare</i>
<i>O. pampaninii</i>		<i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	ssp. <i>hirtum</i>
III Section Brevifilamentum		<i>O. vulgare</i> ssp. <i>virens</i>	
<i>O. acutidens</i>		<i>O. vulgare</i> ssp. <i>viride</i>	
<i>O. bargyli</i>		X Section	
<i>O. brevidens</i>		Prolaticorolla	
<i>O. haussknechtii</i>			
<i>O. leptocladum</i>			
<i>O. rotundifolium</i>		<i>O. compactum</i>	
IV Section Longitubus		<i>O. ehrenbergii</i>	
<i>O. amanum</i>		<i>O. laevigatum</i>	

2. Le genre *Origanum* en Algérie

L'origan est une plante très répandue en Algérie, elle est représentée par deux espèces: *Origanum vulgare* ssp *glandulosum* et *Origanum floribundum*. Cette dernière est d'ailleurs une espèce endémique algérienne (Quezel & santa, 1963). Le tableau 02 indique la localisation des deux espèces.

Tableau 02. Répartition géographique des deux espèces d'origan en Algérie

Espèces	Localisation et caractéristiques
<i>Origanum floribundum</i> Mumby	Pousse en pâturage et surtout en montagne. Espèce rare dans le sous secteur du littoral et le secteur de Kabylie. Endémique d'Algérie
<i>Origanum vulgare</i> L. subsp. <i>glandulosum</i> (Desf.) Ietswaart	Commune dans tout le Tell. Endémique Algéro-Tunisienne. Pousse dans les garrigues et broussailles.

2.1. L'espèce *Origanum floribundum* Mumby

Du point de vue phylogénétique, cette espèce appartient au clade des Euagiospermes triaperturées, clade des Eudicotylédones, clade des Astéridées, l'ordre des Lamiales et la famille des Lamiaceae (APG III, 2009).

Caractères botaniques

Les caractères morphologiques végétatifs de l'*Origanum floribundum* Mumby se particularisent par une tige, prostrée à la base, les jeunes sont décombantes (Quezel & Santa, 1963), quadrangulaires et de courts rameaux ou semi persistantes sont de couleurs verdâtres et pubescentes (Photo 01).



Photo 01. *O. floribundum* Mumby (Daoudi & Dahmani, 2013)

*Chapitre I : Description de l'espèce *Origanum vulgare* L.*

La racine est un rhizome (tige souterraine) ligneux avec des rejets filamenteux (racine adventives) : ceci lui configurant une bonne accroche (d'où son abondance dans les zones de hautes altitudes (**Daoudi & Dahmani, 2013**)).

En ce qui concerne son appareil reproducteur, les fleurs sont hermaphrodites ; elles s'organisent en épis lâches (inflorescence indéfinie), disjointes après la floraison. Le calice à 5 dents courtes, la corolle est à lèvres sensiblement égales (**Quezel & Santa, 1963**). Le fruit est un tetrakène, ovoïde et lisse de couleur noirâtre (**Daoudi & Dahmani, 2013**).

2.2. L'espèce *O.vulgare* L.

2.2.1. Histoire

Issu d'Europe, l'origan s'est très bien exporté au Moyen-Orient. Connue et reconnue par les peuples de l'Antiquité pour son goût prononcé et ses vertus médicinales. Les Algériens connaissent bien près Tipaza le Tombeau de la Chrétienne, sorte de pyramide qui abriterait les restes de la famille royale de Numidie. Une légende raconte que le tombeau recèle un trésor qui ne sera accessible qu'à celui qui aura d'abord chassé tous les voleurs d'origan qui viennent faire leur récolte en ce lieu, car la plante y pousse en abondance.

2.2.2. Description de l'espèce *Origanum vulgare* L.

L'origan vulgaire est une herbacée vivace de la classe des dicotylédones qui mesure de 30 à 80 cm de haut, au feuillage et aux fleurs odorantes quand on les froisse. Elle est ainsi reconnaissable à son odeur et à sa saveur phénolée, épicée et chaude (**Dubois et al., 2006**).

Elle pousse depuis le niveau de la mer jusqu'à 4000 m d'altitude, principalement sur les substrats calcaires et, fleurit de mai à octobre. C'est une plante hémicryptophyte. Les plantes hémicryptophytes sont des plantes vivaces dont les bourgeons de renouvellement sont situés au niveau du sol. En effet, les parties aériennes meurent pendant la mauvaise saison, et la plante peut donc repartir à partir des bourgeons de renouvellement (**Caillaud, 2013**).

C'est une plante souvent peu rougeâtre violacée et qui est couverte de poils. Faisant partie de la famille des *Lamiaceae*, elle possède donc de nombreuses tiges dressées à la section carrée et ramifiées. Ces tiges peuvent persister l'hiver à l'état sec.

L'origan est une plante à tiges dressées, généralement poilues, quelques fois glabres. Elles portent les feuilles à bord entier ou denté (jusqu'à 30 paires par tige), généralement ovales et à pointe émoussée (**Figure 03**); elles sont poilues ou glabres et portent des glandes sécrétrices sessiles non apparentes (jusqu'à 800 par cm²).

Chapitre I : Description de l'espèce *Origanum vulgare* L.

Les fleurs sont groupées en inflorescences ou épis. Chaque fleur est située à l'aisselle d'une bractée ovale, légèrement membraneuse glabre ou quelques fois pubescente, de couleur rouge-violacé ou parfois glauque. La bractée est plus longue que le calice de la fleur. À l'intérieur du calice de 2 à 4 mm de longueur, se trouve la corolle (4 à 10 mm de longueur) de couleur rose ou violette. (Caillaud, 2013 ; Dubois *et al.*, 2006).



Figure 03. Planche d'*O.vulgare* L. (www.biolib.de)

a) Constituants

Huile essentielle, sucs amers, caféine, tanins (8%), acides phénoléniques et flavonoïdes. 4 substances anti-asthmatiques, 6 substances expectorantes, 6 substances hypotensives, 19 substances bactéricides (jusqu'à 8,8 % du poids sec) (Dubois *et al.*, 2006).

b) Propriétés et indications en phytothérapie

- Antioxydant puissant, antibactérien, hypotenseur.

Chapitre I : Description de l'espèce *Origanum vulgare* L.

- Antitussif et anti-asthmatique, dans affections respiratoires (toux, angine, bronchite) et asthme (en tant qu'adjuvant)
- Stomachique et stimulant digestif, combat les flatulences et stimule la sécrétion biliaire.
- Infusion ou décoction : 20 g / litre d'eau (**Dubois et al., 2006**).

c) Usage médicinal de l'origan

L'origan est employé depuis l'Antiquité. Les Grecs, par exemple, en faisaient un grand usage. Au XVIII^e siècle, le Dictionnaire de Trévoux (1704-1771) décrivait l'Origan comme une plante appropriée pour soigner les « obstructions du poumon, la rate, la toux et l'ictère (jaunisse) ». L'Origan est encore largement prescrit de nos jours par les phytothérapeutes. On récolte l'Origan à sa floraison, en été.

d) Habitat et culture

L'origan se multiplie par division de touffe au printemps ou éventuellement par semis. Les plants doivent être espacés de 30 cm. Il nécessite un sol léger et aéré. Il pousse de préférence sur les sols calcaires et chauds. On le récolte à la floraison, en été. Les parties utilisées sont les fleurs, les tiges et les feuilles (**Dubois et al., 2006**).

e) *Origanum vulgare* L. subsp. *glandulosum* (Desf.) Ietswaart

Origanum vulgare L. subsp. *glandulosum* (Desf.) Ietswaart est une plante herbacées ou sous ligneuses a la base. Inflorescences en épis en inflorescences composée (**Quezel & Santa 1963**). Elle se distingue principalement par les points glanduleux, très-nombreux, d'un jaune doré, qui recouvrent les bractées, le calice et la corolle (blanche ou rosé). Ses tiges font droites, rameuses, hautes d'un ou de deux pieds, hérissées de poils blancs ; les feuilles médiocrement pétiolées, hérissées, ovales, obtuses, entières ou légèrement dentées, nerveuses en dessous, glanduleuses et ponctuées ; les bractées petites, ovales, obtuses, non colorées, plus courtes que le calice ; celui-ci cylindrique, strié, un peu élargi à la partie supérieure, à cinq dents très-petites ; son orifice fermé par des poils blancs (**Lamarck & De Monet, 1992**).

1. Généralités

La phytothérapie a une action sur le corps qui est, dans la grande majorité des cas, douce et agissant de façon progressive (**Labre, 2012**). Elle sera surtout utilisée dans la prévention des maladies (plutôt que le traitement) ou encore dans le soutien des fonctions vitales. On comprend bien par là que l'on ne peut utiliser la phytothérapie seule dans le cas d'un traitement curatif pour une maladie aiguë. Par contre, elle pourrait apporter une aide non négligeable en tant que complément d'un traitement allopathique.

2. Variation des produits et parties utilisées

Contrairement aux médicaments allopathiques, les plantes médicinales ne sont pas des produits standardisés. La composition de ces plantes et de leurs extraits dépend de la variété, de leur zone de provenance géographique, du stade de récolte, etc... De plus, d'autres points font varier la composition. Il s'agit de la forme utilisée (teinture mère, poudre, tisane, etc...). En conclusion, l'activité de la plante (et donc son champ d'action et son efficacité) est très variable d'une préparation à l'autre (**Labre, 2012**).

En ce qui concerne les parties des plantes utilisées, on prend celles qui sont connues pour avoir les principes actifs en quantités suffisantes. On peut utiliser une ou plusieurs parties voire même la plante dans son intégralité. Dans une préparation, la partie de la plante utilisée doit être indiquée car, pour certaines d'entre elles, leurs différents organes végétaux possèdent des propriétés différentes.

Les principales parties utilisées sont (**Labre, 2012 ; Baudry et al., 2004**) :

- *Les feuilles et/ou les parties aériennes* : elles sont très souvent utilisées car elles fournissent beaucoup de substances actives. La feuille est un lieu où est réalisée la synthèse de composés chimiques. Exemple : la menthe, le niaouli, le tea tree et l'eucalyptus,
- *Les fleurs ou les sommités fleuries*: la lavande, le romarin, le thym, l'origan, la sarriette des montagnes,
- *Les graines*: La Moutarde,
- *Les fruits*: Le fenouil et la myrtille,
- *Les Bois*: Le cèdre,
- *Les écorces*: La cannelle de Chine ou la cannelle de Ceylan,

- *Les racines et les rhizomes*: le ginseng.

3. Formes utilisables

On utilise les parties de plantes sous forme de plantes sèches, d'extraits liquides, de tisanes et d'huiles essentielles. Ces dernières seront abordées dans la partie correspondante.

Les présentations sont :

- **Les plantes sèches** : La partie utilisée est simplement séchée. Elle est la présentation la moins coûteuse et la plus simple (**Labre, 2012**).
- **Les poudres de plantes** : Les parties une fois séchées sont broyées et pulvérisées. Cette présentation est intéressante lorsque l'on veut la mélanger à d'autres poudres, l'incorporer avec d'autres excipients car on l'utilise peu comme telle. Elle ne se conserve pas bien car elle possède une très mauvaise stabilité dans le temps (due à l'éclatement des cellules végétales, l'augmentation des surfaces de contact qui facilite les réactions d'oxydoréductions, etc...) (**Morel, 2008**).
- **Les préparations pour tisanes** : Elles sont de deux types (**Labre, 2012**) :
 - **Les infusions** : Adaptées pour les parties qui sont fragiles (fleurs, feuilles...). On verse de l'eau bouillante directement sur les parties à infuser puis on récupère le liquide en filtrant.
 - **Les décoctions** : Le principe est similaire à l'infusion mais on utilise les parties de plantes qui sont dures (écorce, racines, fruits, graines...). Après les avoir écrasées ou hachées, on les laisse dans de l'eau bouillante ou froide.
- **Les macérations** : Il faut laisser pendant un temps (de quelques heures à des semaines) des plantes sèches ou bien fraîches dans un liquide d'extraction (alcool, huile végétale, vin, eau...). Il existe différents types de macérations (**Labre, 2012**) :
 - **La teinture mère** : Elle correspond à une macération alcoolique avec 1/10 (de poids) de plantes par rapport au solvant. Le titre de l'alcool varie entre 60 à 90°. Au final, le titre en alcool de la teinture mère est d'environ 60-75°. On peut les utiliser comme telles et elles servent de base pour fabriquer des médicaments homéopathiques.
 - **Les teintures** : Ce sont des macérations de plantes préparées au 1/5 du poids de la plante. Le titre de l'alcool utilisé à la base peut être variable.
 - **Les extraits hydro-alcooliques-glycérinés** : Même principe que la teinture mère, avec des parties de plantes fraîches pour un taux alcoolique assez faible (environ 20°).

- **Les extraits fluides** : La base est une macération de plantes sèches (entières ou en poudres) dans un solvant (alcool), puis on passe le mélange à la presse, avec passage à plusieurs reprises. Le liquide ainsi obtenu est concentré en substances actives (plus concentré que la teinture mère) (**Morel, 2008 ; Labre, 2012**).
- **Les extraits secs pulvérisés** : A ne pas confondre avec les poudres. On extrait les principes actifs par macération dans de l'eau ou de l'alcool. On filtre et on concentre le produit liquide à basse pression et basse température. Puis on élimine le solvant par séchage. La forme galénique principale est la gélule mais les comprimés existent. L'inconvénient est que le produit n'est pas stable dans le temps (**Morel, 2008**).
- **Les suspensions de plantes fraîches** : On utilise l'azote liquide pour refroidir des plantes puis on les met en suspension dans de l'alcool à faible titre (environ 30°) après les avoir broyées. Cette technique est difficile d'emploi et coûteuse (**Morel, 2008**).

4. Principes actifs

De nombreuses substances actives sont présentes dans les plantes, les principales décrites sont (**Morel, 2008 ; Labre, 2012**) :

- Les sucres, glucides et polysaccharides.
- Les graisses, les lipides, les huiles, les acides gras et autres.
- Les acides aminés et les protéines.
- **Les alcaloïdes** : Ce sont des molécules basiques (alcalines) et azotées. Il s'agit par exemple de la morphine et de la cocaïne. Ces substances sont toxiques à des faibles doses.
- **Les mucilages** : Ce sont des polysaccharides, protecteurs des surfaces (muqueuses). Un exemple est la guimauve.
- **Les saponosides** : Substances qui modifient la tension superficielle de l'eau et la font mousser (comme le savon) ce qui permet la pénétration de substance à travers la peau. Elles seraient aussi vasoconstrictrices et anti-inflammatoires.
- **Les anthocyanes et les flavonoïdes** : Ce sont les pigments (bleu, violet, jaune, orange, rouge...) qui donnent leurs couleurs aux pétales de fleurs.
- **Les coumarines** : Dérivés phénoliques à noyau benzo-alpha-pyrone. Elles agiraient dans la protection des vaisseaux.
- **Les lactones sesquiterpéniques** : Elles auraient une activité antibactérienne.
- **Les vitamines**.

- **Les minéraux.**
- **Les HEs :** On les trouve dans les plantes dites aromatiques.

5. Toxicité

En règle générale, les plantes utilisées en phytothérapie de manière traditionnelle ont une toxicité faible. Il faut toutefois bien respecter les règles d'utilisation (fréquence, quantité, forme utilisée, durée du traitement), et les contre-indications si elles existent (**Labre, 2012**).

6. Généralités sur les HEs

Selon l'organisation mondiale de la santé, près de 80 % des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire (**O.M.S, 2002**).

Les **HEs** étant la protection de la plante, elles sont polyvalentes et permettent de faire face à toutes les agressions, de soutenir le processus de guérison et de stimuler les défenses de la plante mais aussi de la soulager. Et ce pouvoir n'est pas seulement réservé aux plantes, mais également pour tout être sur cette terre.

Les **HEs** ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments (**Muthu et al., 2006**). Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (**Paster et al., 1990 ; Caccioni et al., 1994 ; Cowan, 1999 ; Nielsen et al., 2000 ; Lamiri et al., 2001 ; Cimanga et al., 2002**).

6.1. Définitions

✚ **L'aromathérapie** est l'utilisation médicale des extraits aromatiques de plantes. Ce mot vient du latin « aroma » signifiant odeur et du grec « therapeia » signifiant traitement. Il s'agit donc de soigner à l'aide de principes odorifères.

✚ **L'aromatologie** ou *l'aromathérapie scientifique* est une science mettant en relation la biochimie aromatique et les activités thérapeutiques des huiles essentielles.

✚ **Huile essentielle (HE)**

Une **HE** selon la pharmacopée est un produit de composition complexe renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux. Selon l'**AFNOR**, elle désigne un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés

Chapitre II : La phytothérapie

mécaniques à partir de l'épicarpe des plantes contenant des citrals, soit par distillation sèche. Une **HE** contient en moyenne soixante-quinze molécules actives.

✚ Essence :

L'essence se différencie de l'**HE**, il s'agit d'une substance aromatique naturelle que secrète la plante dans ses organes producteurs. Ce terme ne peut être employé que pour certaines plantes comme celles contenant des citrals (orange, citron, mandarine...) avec des principes trop lourds pour être entraînés par la vapeur d'eau utilisée pour la distillation des huiles essentielles. L'**HE** est donc une « essence distillée ».

✚ L'hydrolat

L'hydrolat est la vapeur d'eau condensée que l'on sépare de l'**HE** à la sortie de l'alambic. L'hydrolat est chargé en molécules aromatiques hydrosolubles du végétal et contient une très faible quantité d'huile essentielle (0,05 et 0,1%) (**Baudoux et al., 2006 ; Festy, 2008**).

✚ H.E.C.T. :

Les H.E.C.T. correspondent aux **HEs** ChemoTypées qui sont une forme de classification chimique, botanique et biologique de la molécule présente en majorité dans une **HE**. Par exemple, l'H.E.C.T. de *Thymus vulgaris* à carvacrol est connue pour son activité antiseptique majoritairement alors que l'H.E.C.T. de *Thymus vulgaris* à thymol a des propriétés anti-infectieuses majeures. Il est donc préférable de choisir une H.E.C.T. lorsqu'on utilise les **HEs** en thérapeutique (**Wegrzyn & Lamendinh, 2005**).

6.2. Composition chimique

Les **HEs** ont une composition assez complexe (**Azevedo et al., 2001**). On y trouve généralement de nombreux constituants appartenant principalement à deux grandes familles chimiques : les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Les composés terpéniques sont formés d'unités isopréniques (en C5) et comprennent les monoterpènes en (C10), les sesquiterpènes (C15), les diterpènes (C20) et les triterpènes en (C30). Ils ont la même origine métabolique. Ces terpènes peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques.

En général, une **HE** est un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. Parmi ces composés oxygénés, on peut noter la présence d'alcools, d'esters, d'aldéhydes, de cétones, d'ether-oxydes et de carbures. A l'intérieur d'une même espèce végétale, on observe des variations chimiques (qualitatives et quantitatives) importantes ayant conduit à admettre l'existence de races chimiques (exemple : *Thymus* à

Chapitre II : La phytothérapie

thymol, à geraniol, à carvacrol, à linalol) (Cosentino *et al.*, 1999), et parmi les nombreux constituants d'une HE, l'un domine généralement ; On l'appelle composé majoritaire. La composition chimique des HEs varie encore de façon appréciable avec le milieu et la période de la végétation. Elle peut aussi être modifiée au cours de l'extraction ou durant la conservation (Jou *et al.*, 1997 ; Mundina *et al.*, 2001 ; Demetzos *et al.*, 1999).

6.3. Répartition botanique

Les HEs sont largement réparties dans le règne végétal. Certaines familles en sont particulièrement riches : Conifères, Myrtacées, Umbellifères, Labiées, Composées (Boulos, 1983 ; Sauvage, 1974). Elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux : sommités fleuries, écorce, racines, rhizomes, fruit, bois,...etc. Dans une même plante, elles peuvent être présentes dans différents organes. La composition des HEs peut alors varier d'un organe à l'autre (Paris & Hurabielle, 1981).

6.4. Propriétés physico-chimiques des HEs

On trouve généralement les HEs incolores ou jaune pâle à l'état liquide à température ordinaire. Toutes les HE sont volatiles, odorantes et inflammables. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Seules trois HE officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les HEs de cannelle, de girofle et de saffras. Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques. Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation (Jacques & Paltz, 1997).

6.5. L'HE d'*O.vulgare*

L'origan a été toujours utilisé comme un remède traditionnel pour traiter diverses affections comme la coqueluche et la toux convulsives, les troubles digestifs et les problèmes menstruels (Khosravi, 2011). Les HEs et les extraits d'espèces d'origan sont largement utilisés dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et pour aromatiser et préserver plusieurs produits alimentaires. Plusieurs études ont été publiées sur les propriétés biologiques de l'HE d'*Origanum spp.* Des propriétés antioxydantes, antibactériennes et aussi un pouvoir antifongique (Şahin *et al.*, 2004 ; Mezzouga, 2007), des effets anti-inflammatoires et anticholinestérasiques, antimutagènes (Loizzo *et al.*, 2009).

Chapitre II : La phytothérapie

6.5.1. Utilisations

Les médecins de l'antiquité auraient utilisé cette herbe contre les empoisonnements, comme désinfectant et comme moyen de conservation (Germann & Germann, 2014). Elle pourrait être utilisée dans toutes pathologies infectieuses : infections respiratoires, diarrhées du nouveau-né et de l'adulte, infections urinaires et génitales (métrites et endométrites), infections cutanées (abcès), etc... Elle est souvent administrée par voie orale et locale (cutanée) (Labre, 2012). Cependant, la voie orale ne serait pas recommandée en usage humain (Germann & Germann, 2014).

6.5.2. Composition

Les principaux composants actifs de l'HE d'origan sont deux phénols et un monoterpène : le carvacrol (composé majoritaire), le thymol et le ρ -cymène. Le 4ème composant est le γ -terpinène, un autre monoterpène (Silva *et al.*, 2008).

Suivant la variété d'origan, son HE aurait une proportion différente en ses composants. L'HE d'origan doit avoir une teneur en carvacrol et thymol au minimum de 60% (Pharmacopée européenne, 6e édition) (Bruneton, 2009).

Concernant les HEs commerciales d'origan, certaines peuvent ne pas être "typiques" dans le sens où elles peuvent être composées de 0.5% de carvacrol et 32% de thymol (le constituant majoritaire est alors le ρ -cymène à 40%) (Sivropoulou *et al.*, 1996).

La composition de l'HE d'origan varie sensiblement selon les espèces et leur provenance. Les principaux constituants volatiles identifiés dans les HE d'origan sont présentés dans le (Tableau 03).

Tableau 03. Principaux constituants volatiles de l'HE d'origan (Benjilali *et al.*, 1986).

Elément biochimique	Composés volatils
Hydrocarbures monoterpéniques	Camphène, δ -3-carène, ρ -cymène, Limonène, Myrcène, cis-ocimène, trans-ocimène, α et β -phellandrène, α et β pinène, Sabinène, α et δ terpinène, Terpinolène, α -thujène.
Hydrocarbures sesquiterpéniques	Alloaromadendrène, Aromadendrène, trans α -bergamotène, β -bisabolène, cis γ -bisabolène, bicyclogermacrène, β -bourbonène, δ et γ -cadinène, Calaménène, β -caryophyllène, iso-caryophyllène, Germacrène-D, α -copaène, α -cadinol, β -élémente, α -farnesène, α -humulène, α -muurolène, γ -

Chapitre II : La phytothérapie

	muurolène.
Ethers	Carvacrylméthyléther, cinéole-1,8, Epoxy-4,5-p-menthène-1,Thymylméthyléther.
Alcools	Bornéol, <i>p</i> -cymèol-8, Géraniol, Hexèn-3-ol-1, Linalol, Octanol-3, Octèn-1-ol-3, Terpinèn-1-ol-4, α -terpinéol, cis-thujanol-4, trans-thujanol-4.
Phénols	Carvacrol, Thymol.
Aldéhydes	Cuminaldéhyde, trans-héxèn-2-al, Géranial, iso-géranial, Néral.
Cétones	Camphre, Carvone, cis-dihydrocarbone,trans-dihydrocarbone ,Fenchone, Octanone-3, α -thujone, Undécane-2.
Esters	Acétate de bornyle, Acétate de carvavryle, Acétate de géranyle, acétate de linalyle, Acétate d' α -terpényle, acétate de β -terpényle.

6.5.3. Mode d'action et spectre d'activité

La propriété antibactérienne est due en partie à la propriété hydrophobique de l'**HE**. Celle-ci a accès à la membrane cytoplasmique des bactéries (contrairement à beaucoup d'antibiotiques) (**Helander et al., 1998**).

Les **HES** d'origan ont un grand pouvoir antibactérien (**Sivropoulou et al., 1996, Friedman, 2002, Tepe et al. 2004, Germann & Germann , 2014, Hammer et al., 1999 , Burt & Reinders, 2003**) et un spectre large démontré contre:

- Les colibacilles : *Escherichia coli*, dont une activité bactéricide contre *E. coli* O157:H7,
- Les staphylocoques : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus*,
- Les salmonelles : *Salmonella typhimurium*,
- Les streptocoques : *Streptococcus pneumoniae*,
- *Klebsiella pneumoniae*,
- *Listeria monocytogenes*.
- L'activité antibactérienne sur *Pseudomonas aeruginosa* n'est pas la même entre les études. Certaines études tentent à montrer qu'elle semble résistante à l'**HE** d'origan et d'autres études ont tendance à montrer le contraire (**Manohar et al., 2001, Rusenova & Parvanov, 2009**).

Chapitre II : La phytothérapie

La plus grande activité est observée contre les levures (*Candida albicans*). Cette inhibition est dose-dépendante et concerne la formation des tubes germinatifs par les blastopores (**Manohar et al., 2001**). Elle peut aussi être fongicide pour cette même levure (**Pozzetti et al., 2010**).

6.5.4. Toxicité

Il ne faut pas l'utiliser pure car le carvacrol et le thymol sont (comme tous les phénols) irritants pour la peau et les muqueuses. Un surdosage pourrait entraîner des convulsions (**Labre, 2012**). En usage humain, il est recommandé de ne pas dépasser 1% dans les mélanges (**Hammer et al., 1999**). Sur des souris, une administration par voie orale de 650 mg/kg de poids vif d'HE d'origan est létale. Par contre, des doses plus petites (environ 100-200 mg/kg) administrées quotidiennement et mélangées avec de l'huile d'olive sont très bien tolérées (**Manohar et al., 2001**).

L'objectif de ce chapitre est de mettre en évidence l'activité biologique de l'HE d'*O.vulgare* par l'étude des activités suivantes : L'activité antioxydante, l'activité antibactérienne et l'activité insecticide.

1. Activité antioxydante

Les espèces réactives oxygénées et azotées ROS / RNS sont produites en continu dans le corps humain et elles sont contrôlées par les enzymes endogènes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, la catalase). Quand il y'a une surproduction de ces espèces, suite à une exposition à des substances oxydantes externes ou un déséquilibre dans les mécanismes de défense, les dommages aux biomolécules majeures (ADN, acides aminés, lipides, protéines) peuvent survenir, ce qui donne lieu au stress oxydatif qui est impliqué dans de très nombreux mécanismes pathologiques, notamment ceux dus au vieillissement, tels que l'athérosclérose, le cancer, le diabète, les maladies auto-immunes ou encore les maladies de Parkinson et d'Alzheimer (Aruoma, 1998 ; Salvi *et al.*, 2002).

La peroxydation des lipides au cours des processus de fabrication et de stockage des aliments sous l'action des radicaux libres conduit à la perte de la qualité et de la sécurité des aliments.

Actuellement, plusieurs questions sont soulevées concernant la sécurité des produits chimiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire. L'utilisation des antioxydants de synthèse dans les domaines agroalimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques a été largement décriée. En effet, les antioxydants synthétiques sont suspectés à long terme d'effets tétragènes, mutagènes et cancérigènes (Chavéron, 1999), les antioxydants de synthèse, généralement utilisés en industrie alimentaire pour retarder l'oxydation des lipides, sont suspectés d'avoir des effets néfastes sur la santé du consommateur (Ames, 1983 ; Wang *et al.*, 2008).

De nombreuses recherches sont effectuées à travers le monde pour trouver des antioxydants nouveaux et sûrs afin de prévenir les réactions oxydantes de détérioration des aliments gras, et de minimiser les dommages causés par ces réactions oxydantes sur les membranes des cellules vivantes.

Dans ce but, l'utilisation des plantes représente un potentiel inestimable pour la recherche de nouvelles substances à pouvoir antioxydant. Ainsi les HEs et les extraits organiques, suscitent un intérêt croissant comme source potentielle de molécules naturelles

bioactives pouvant être employées comme alternatives à certaines substances synthétiques (Bruneton, 1993).

1.1. Définition de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH) et superoxydes (O₂) (Rice-Evans *et al.*, 1995 ; Bartosz, 2003).

1.2. Le stress oxydatif

1.2.1 Les radicaux libres

Les radicaux libres sont omniprésents dans notre corps et sont générés par des processus physiologiques normaux y compris le métabolisme aérobie et de réponses inflammatoires, pour éliminer les microorganismes pathogènes envahisseurs. Les radicaux libres sont des espèces très réactives compte tenu de l'existence d'au moins un électron libre sur leur orbitale électronique externe (Govindarajan *et al.*, 2005). Parce que les radicaux libres peuvent également causer des dommages cellulaires, plusieurs moyens de défense ont évolué pour protéger nos cellules contre les radicaux et pour réparer les dommages de l'ADN (Hussain *et al.*, 2003).

1.2.2. Définition du stress oxydatif

Le déséquilibre entre la production de radicaux libres et de métabolites réactifs, que l'on appelle des oxydants ou des espèces réactives de l'oxygène (ROS), et leur élimination par des mécanismes de protection, dénommés antioxydants est appelé stress oxydatif (Reuter *et al.*, 2010). La balance oxydative définit donc l'équilibre entre les espèces réactives de l'oxygène et les espèces antioxydantes. En médecine la balance oxydative est un concept pour maintenir l'organisme en bonne santé (Davies, 2000; Finkel & Holbrook, 2000). Son déséquilibre est sujet de nombreux problèmes comme les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Heim *et al.*, 2002; Noguchi, 2002). Cette balance est dynamique et est maintenue dans son bon équilibre par des mécanismes enzymatiques ou par des apports extérieurs de molécules très actives (Noguchi, 2002).

Dans les conditions normales, les antioxydants doivent être plus importants que les prooxydants, mais en conditions d'oxydation, les pro-oxydants emportent sur les antioxydants, qui peuvent conduire à de nombreuses maladies inflammatoires (Reuter *et al.*, 2010) (Figure 04, Annexe 04).

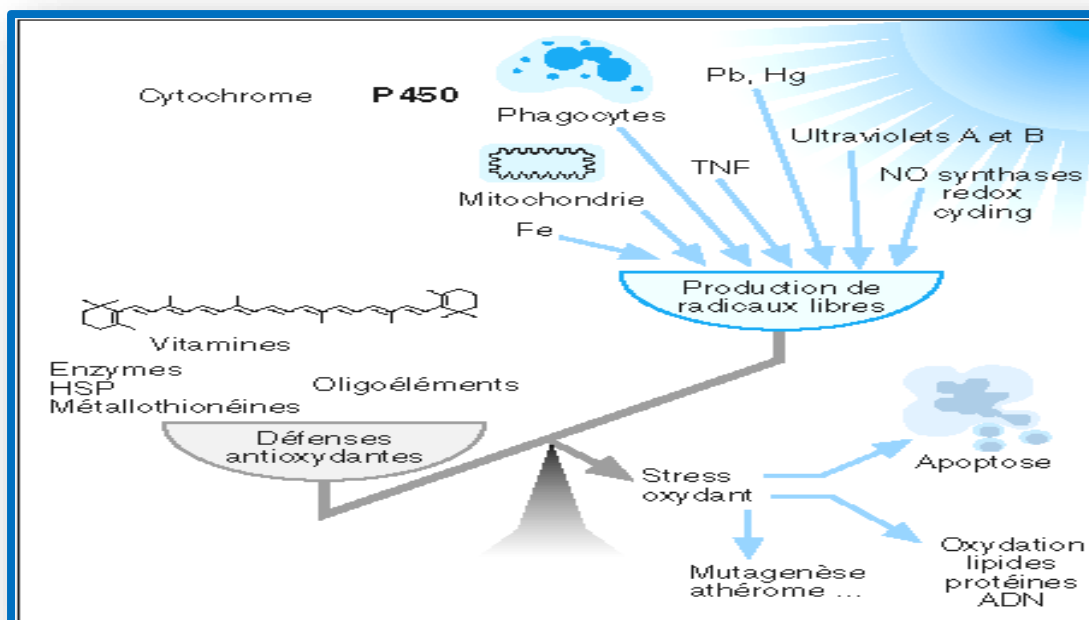


Figure 04. Modèle d'équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants (www.jle.com.fr)

1.2.3. Mécanisme de production et d'élimination des ROS dans l'organisme

Les espèces réactives de l'oxygène à l'origine de la perturbation de l'homéostasie cellulaire peuvent être produites à la fois par des sources endogènes à travers le cytochrome P450 des mitochondries, les peroxysomes et les cellules inflammatoires, et par des sources exogènes tel que le rayonnement, l'ozone, l'hyperoxie et les xénobiotiques.

Les mécanismes de défense contre la toxicité des espèces réactives de l'oxygène sont nombreux (Govindarajan *et al.*, 2005) et proviennent de diverses sources également. La première source est endogène et est composée de protéines enzymatiques.

Nous avons le complexe enzymatique superoxyde dismutase (EC 1.15.1.1), la catalase (EC 1.11.1.6) et le glutathion peroxydase qui jouent un rôle indispensable dans cette défense (Matés & Sánchez-Jiménez, 1999). La seconde source, très importante, est l'alimentation et la médecine à travers lesquelles des petites molécules sont consommées. Ce sont les vitamines, les caroténoïdes, les flavonoïdes, les acides phénols, les coumarines, les quinones, les alcaloïdes. Les parties les plus actives de ces molécules sont les hydroxyles libres, les

noyaux aromatiques, les doubles liaisons éthyléniques souvent conjuguées, qui permettent de donner des électrons et de rester stables par mémorisation (Heim *et al.*, 2002).

1.1. Les antioxydants

Un antioxydant peut être défini comme étant toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (Berger, 2006). En d'autres termes, un antioxydant est une substance qui, en faible concentration comparativement à la quantité des substances oxydables telles les espèces oxygénées réactives (ROS), retarde significativement ou prévient l'oxydation des substrats comme les lipides, les protéines et les carbohydrates.

La production excessive des espèces réactives de l'oxygène est responsable de dégâts cellulaires importants notamment l'induction de ruptures et de mutations de l'ADN, la modification de structures protéiques, la peroxydation des lipides, l'inactivation de diverses enzymes et l'oxydation des sucres (Defraigne & Pincemail, 2008).

In vitro, les méthodes antiradicalaires décrites par par Re *et al.*, en 1999 sont les plus souvent utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des molécules. Ainsi, par exemple, l'équation de la réaction du DPPH avec une molécule RH peut s'écrire:

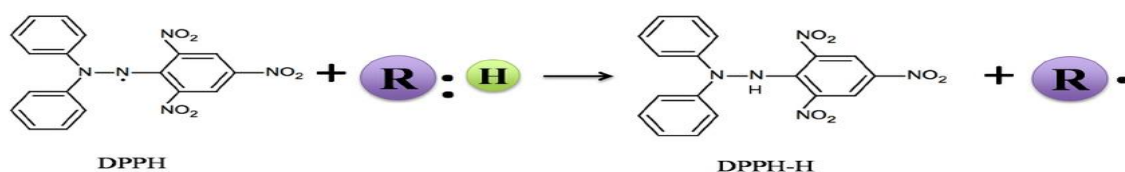


Figure 05. Réaction du DPPH avec une molécule donneuse de proton

2. Activité antibactérienne

Depuis leur découverte au début du XX^{ème} siècle, les antibiotiques ont permis de grandes avancées en thérapeutique et contribué à l'essor de la médecine moderne. L'introduction et l'utilisation en clinique des premières classes d'antibiotiques ont considérablement réduit la mortalité imputable à des maladies autrefois incurables. L'efficacité de l'antibiothérapie dans le contrôle et la limitation de la dissémination des agents pathogènes a ainsi fait naître l'espoir de pouvoir éradiquer l'ensemble des maladies infectieuses. Malheureusement, l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques a mis un terme à cette vague d'optimisme.

La montée des résistances contre les principales classes d'antibiotiques, combinée au nombre limité d'agents en cours de développement, a conduit à l'avènement de l'ère post-antibiotique.

Face à la perte d'efficacité de l'antibiothérapie, mise en péril par l'émergence de germes multi-résistants, la découverte de nouvelles molécules est devenue une nécessité absolue. Les champs d'investigation sont vastes.

Depuis quelques années, les substances naturelles, qui avaient été délaissées au profit des molécules de synthèse, connaissent un regain d'intérêt. Les ressources naturelles sont donc à nouveau exploitées pour mener à terme de telles recherches. Actuellement, l'accent est mis sur l'exploration de nouveaux réservoirs naturels, comme les peptides antimicrobiens, qui montrent déjà des résultats prometteurs. Les ressources plus anciennes, comme les bactériophages ou les plantes, suscitent également un regain d'intérêt.

❖ Souches bactériennes tests

2.1. Les entérobactéries

a) Définition

La famille des Enterobacteriaceae comprend de nombreux genres bactériens répondant à la définition suivante :

- bacilles à Gram négatif ;
- immobiles ou mobiles grâce à une ciliature péritriche ;
- aérobies anaérobies facultatifs ;
- se développant aisément sur milieu ordinaire ;
- fermentant le glucose ;
- ne possédant pas d'oxydase ;
- possédant une catalase à l'exception de *Shigella dysenteriae* ;
- réduisant les nitrates en nitrites (quelques exceptions parmi *Erwinia*). (**Denis et al., 1998, Farmer, 1985, Le minor et al., 1989**).

Le contenu en G + C p.100 de leur ADN est échelonné de 39 à 59 moles p.100, ce qui permet de les différencier des Pseudomonas et des Vibrionaceae (**Farmer, 1999, Le minor et al., 1989**).

b) Taxonomie

La naissance de la famille des Enterobacteriaceae se situe entre 1937 lorsqu'Otto RAHN proposa le genre Enterobacter pour regrouper les microorganismes présentant des propriétés biochimiques et morphologiques communes et parmi lesquels on trouvait déjà des noms tels qu'Escherichia, Salmonella, Klebsiella, Proteus, Serratia ou Shigella. Deux années après cette description qui concernait 112 espèces, ce nombre fut ramené à 67. Les travaux des équipes de DON BRENNER et de Patrick A.D. GRIMONT ont permis une véritable explosion de cette famille avec un très grand nombre de nouveaux genres et espèces décrits depuis une vingtaine d'années (**Edwards et al., 1977**).

En 1972, EDWARDS et EWING rapportaient 11 genres et 26 espèces dans la famille des Enterobacteriaceae (**Farmer, 1999**).

En 1973, 31 genres et 139 espèces étaient caractérisés. En 1985, FARMER et COLL décrivaient 22 genres comprenant 69 espèces et 29 groupes entériques (**Niang, 2003**).

c) Habitat

Le nom d'entérobactéries a été donné parce que ces bactéries sont en général des hôtes normaux ou pathologiques, suivant les espèces microbiennes, du tube digestif de l'homme et des animaux (**Almeida et al., 1995**).

Mais ce caractère écologique n'est pas exclusif des entérobactéries pouvant proliférer en abondance dans l'environnement (sols et eaux) et participer aux grands cycles de dégradation des matières organiques (**Drame, 2001**).

d) Classification

La famille des Enterobacteriaceae comprend actuellement 100 espèces répertoriées. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent à 12 genres : Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Hafnia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Providencia, Salmonella, Serratia, Shigella, Yersinia. On peut les classer dans le tableau suivant (**Tableau 04**):

Chapitre III : Activités biologiques de l'HE d'O.vulgare

Tableau 04. Classification des espèces d'Entérobactéries les plus fréquents en clinique humaine (Pilet *et al.*, 1979).

Groupe	Famille	Genre	Espèces
GROUPE I	EDWARDSIELLEAE	Edwardsiella	
	SALMONNELLEAE	Salmonella	<i>Salmonella typhi</i> <i>Salmonella paratyphi</i> <i>Salmonella enteritidis</i>
GROUPE II	ESCHERICHIEAE	Escherichia	<i>Escherichia coli</i>
		Shigella	<i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella boydii</i> <i>Shigella sonnei</i>
	LEVINEAE	Levinea	
GROUPE III	KLEBSIELLEAE	Klebsiella	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i>
		Enterobacter	<i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Enterobacter cloacae</i>
		Serratia	<i>Serratia marcescens</i>
		Erwinia	
GROUPE IV	PROTEAE	Proteus	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus rettgerii</i>
		Providencia	
GROUPE V	YERSINIEAE	Yersinia	<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>

2.1.1. *Escherichia coli*

a) Généralités

Escherichia coli est l'espèce type des Enterobacteriaceae. Ce sont des bacilles Gram négatif à respiration aérobie-anaérobie, 70% d'entre eux possèdent un flagelle, ils peuvent donc être mobiles ou immobiles. Cette espèce représente un hôte commun de la microflore commensale intestinale de l'Homme et des animaux à sang chaud, son établissement dans le tractus s'effectue durant les premières heures ou journées qui suivent la naissance (Avril, 1992 ; Prescott, 2012).

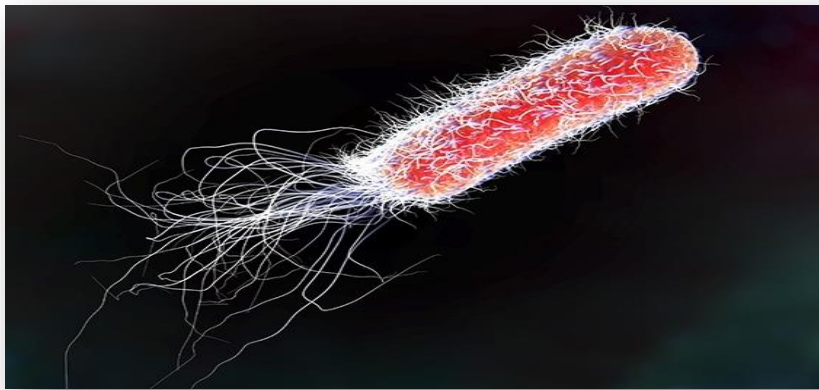


Figure 06. Observation microscopique d'*Escherichia coli* (www.cdc.gov)

b) Habitat

E. coli a été découvert en 1885 par Théodore Escherich dans les selles de nourrissons, il représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne anaérobie de l'intestin de l'Homme. Ce germe se rencontre aussi au niveau de diverses muqueuses. Sa présence dans le milieu environnant est un signe de contamination fécale (Fauchère, 2002).

c) Pouvoir pathogène

E. coli peut être un banal commensal ou un redoutable agent pathogène qui provoque des pathologies divers de type intestinal ou extra-intestinal. On reconnaît au moins 5 types de souches responsables d'infections intestinales, ces souches produisent des enterotoxines de deux types ; des enterotoxines thermolabiles (LT) et les enterotoxines thermostables (ST), engendrant des gastro-entérites infantiles, des diarrhées aiguës avec déshydratation, des colites hémorragiques et des dysenteries. Dans des localisations extra-intestinales, *E. coli* peut

être responsable d'infections urinaires, hépatobiliaires, prostatiques et génitales (Avril, 1992 ; Fauchère, 2002 ; Tortora, 2012).

d) Résistance aux antibiotiques

Les souches d'*E. coli* sont généralement sensibles à la plupart des antibiotiques actifs sur les Gram négatif, elles ont néanmoins développé des résistances engendrées par des antibiothérapies abusives, de ce fait 40% des souches sont devenues résistantes aux amino-pénicillines, aux carboxy-pénicillines et à l'association amoxicilline-acide clavulanique par production de pénicillinases. Ce type de souches est non seulement pathogène mais peut aussi être un vecteur de transmission de gènes de résistance à d'autres bactéries (Talon, 2004 ; Fred, 2006 ; Paterson, 2005).

2.1.2. Le genre *Salmonella*

Salmonella, présente dans le tube digestif des animaux et de l'Homme et pouvant être alors à l'origine de toxi-infections alimentaires très graves, est détruite par la cuisson.

Cependant, les nombreuses espèces de *Salmonella* diffèrent entre elles, quant à leur pouvoir pathogène. Bien que la plupart des espèces puissent se retrouver dans les aliments, il est essentiel de prendre en considération celles qui sont à l'origine de toxi-infections plutôt que celles qui sont à l'origine des maladies infectieuses graves (fièvres typhoïdes et paratyphoïdes) (Fosse *et al.*, 2004).

a) Caractères morphologiques

Les bactéries du genre *Salmonella* regroupe de petits bacilles, Gram négatif habituellement mobiles par des cils péritriches. Ces bactéries mesurent 0,7 à 1,5 µm de diamètre, pour 2 à 5 µm de longueur et sont aéro-anaérobies facultatives, oxydase négatives et nitrate réductase positives. Elles sont mésophiles, capables de se développer à des températures comprises entre 5,2 °C et 47 °C et de manière optimale entre 35 et 37 °C, et des pH compris entre 4,5 et 9 (Fosse *et al.*, 2004).



Figure 07. Observation microscopique de *Salmonella* spp. (www.cdc.gov)

b) Habitat et pouvoir pathogène

Au sein de la sous espèce *Salmonella enterica*, il existe plus de 2400 sérotypes différents parmi lesquels certains sont potentiellement pathogènes pour l'homme. Il s'agit de sérotypes ubiquistes qui peuvent être hébergés dans le tube digestif de l'homme, des animaux domestiques et sauvages, des animaux de compagnie et plus particulièrement des volailles pour *S. enteritidis*. En ce qui concerne la viande bovine, *S. dublin* est également souvent incriminée. Cette dernière peut être hébergée dans le tube digestif des bovins et de l'homme.

Les intoxications à salmonelles dues aux viandes sont sérieuses tant par le nombre de malades que par la gravité des symptômes. L'ingestion de 10¹ à 10¹¹ cellules de *Salmonella* peut déclencher une infection se manifestant par une fièvre à 39°C – 40°C, des douleurs abdominales, des nausées, des vomissements et un syndrome diarrhéique caractérisé par des selles liquides et fétides (AFSSA, 2002).

Tous les sérotypes peuvent être impliqués; ils varient avec les pays et les époques. *Salmonella* non typhoïdiennes provoquent des abcès dans différents tissus, voire une septicémie. Ces germes résistent au pH acide de l'estomac, entrent en compétition avec la flore normale de l'intestin grêle et franchissent la barrière épithéliale pour proliférer dans les plaques de Peyer et envahir les ganglions mésentérique (Hanes, 2003).

2.1.3. Le genre *Enterobacter*

a) Synonyme ou renvoi

Les espèces comprennent les suivantes: *E. cloacae*, *E. aerogenes* (anciennement *Klebsiella mobilis*), *E. agglomerans* (reclassifiée sous le nom *Pantoea agglomerans*), *E. gergoviae*, *E. sakazakii* (aussi *Cronobacter sakazakii*), *E. cowanii*, *E. hormaechei*, *E. taylorae*, *E. asburiae*, *E. intermedius*, *E.*

Chapitre III : Activités biologiques de l'HE d'O.vulgare

amnigenus, *E. dissolvens*, *E. kobei*, *E. pyrinus*, *E. nimpressuralis* (Hart, 2006) et *E. cancerogenus* (Abbott, 2007).

a) Caractéristiques

Les espèces du genre *Enterobacter* font partie de la famille des *Enterobacteriaceae* (Hart, 2006). Les espèces du genre *Enterobacter* sont des bacilles Gram négatif anaérobies facultatifs mesurant 0,6 à 1 µm de diamètre et 1,2 à 3 µm de longueur; ils se déplacent grâce à un flagelle péritriche et sont dotés de pilus de classe 1 (Hart, 2006 ; Paterson *et al.*, 2005).

Ils produisent un acide à partir de la fermentation du glucose, donnent une réaction négative à l'épreuve au rouge de méthyle et une réaction positive au test de Voges-Proskauer; leur température optimale de croissance est de 30 °C (Hart, 2006). Quatre-vingts pour cent des bacilles sont encapsulés (Hart, 2006).

b) Pathogénicité et toxicité

Les espèces du genre *Enterobacter*, en particulier *E. aerogenes* et *E. cloacae*, ont été associées à des épidémies nosocomiales et sont considérées comme des pathogènes opportunistes (Hart, 2006). Les espèces du genre *Enterobacter* peuvent causer de nombreux types d'infections, y compris abcès cérébraux, pneumonie, méningite, septicémie et infection de plaies, infection des voies urinaires (en particulier des IVU liées à l'emploi d'un cathéter) et des infections de la cavité abdominale ou des intestins.

De plus, des espèces du genre *Enterobacter* ont été observées dans des infections liées à des appareils intravasculaires et des infections au point de chirurgie (surtout des infections postopératoires ou liées à des dispositifs comme des prothèses biliaires (Russo *et al.*, 2008). De nombreuses espèces peuvent causer des infections extra-intestinales (Farmer *et al.*, 2007); par exemple, *Enterobacter sakazakii* a été associée à des abcès cérébraux chez les nourrissons et à des cas de méningite^(3,7). Les taux de mortalité de la méningite bactérienne se situent entre 40 et 80 % (Paterson *et al.*, 2005 ; Pagotto *et al.*, 2003).

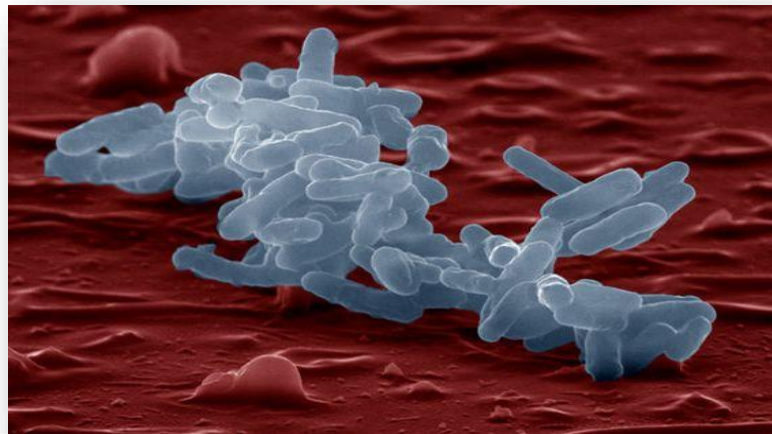


Figure 08. Observation microscopique d' *Enterobacter cloacae* (www.sciencephoto.com)

c) Sensibilité aux médicaments

La majorité des espèces du genre *Enterobacter* sont sensibles au céfépime (Russo *et al.*, 2008), aux aminoglycosides, aux fluoroquinolones et au triméthoprim-sulfaméthoxazole (Boyce *et al.*, 2004). La tigécycline s'est également révélée efficace in vitro.

d) Résistance aux médicaments

Les espèces du genre *Enterobacter* sont résistantes à l'ampicilline, aux céphalosporines de première et de deuxième génération (Russo *et al.*, 2008) et à la céphalothine (Paterson *et al.*, 2005).

2.1.4. Le genre *Klebsiella*

a) Synonyme ou renvoi

Les organismes qui sont pathogènes chez l'humain englobent les suivants : *K.pneumoniae ssp. pneumoniae*, *ozaenae* et *rhinoscleromatis* ; *K.oxytoca* ; *K.granulomatis* ; *K.variicola* ; et *K.singaporensis*. *K.planticola*, *K.terrigena* et *K.orintholytica* font maintenant partie du genre *Raoultella* (Euzéby, 2010). *K.pneumoniae* était auparavant appelée bacille de Friedlander. *K.granulomatis* était auparavant appelée *Calymmatobacterium granulomatis*.

L'appellation *K.trevisanii*, attribuée en 1983, n'est plus reconnue, car elle est considérée comme un synonyme hétérotypique de *R.plnaticola*. *K.mobilis* (auparavant *K.aerogenes*), qui était anciennement appelée *Enterobacter aerogenes*, n'est plus considérée comme faisant partie du genre *Klebsiella*, car son appartenance à ce genre n'a pas été confirmée (Euzéby, 2010).



Figure 09. Observation microscopique de *Klebsiella* spp. (www.sciencephoto.com)

b) Caractéristiques

Les espèces du genre *Klebsiella* produisent de la lysine-décarboxylase, mais pas d'ornithine-décarboxylase, et donnent en général un résultat positif au test de Voges-Proskauer. Les membres de la famille des Enterobacteriaceae sont habituellement des anaérobies facultatifs, et leur taille varie de 0,3 à 1,0 μm de largeur et de 0,6 à 6,0 μm de longueur (Abbott, 2007). Les espèces du genre *Klebsiella* forment souvent des colonies mucoïdes (Abbott, 2007). Le genre comprend 77 antigènes capsulaires (antigènes K) donnant naissance à différents sérogroupes.

c) Pathogénicité et toxicité

Les espèces du genre *Klebsiella* sont d'importants pathogènes communs, à l'origine de pneumonies nosocomiales (7 à 14 % de tous les cas), de septicémies (4 à 15 %), d'infections urinaires (6 à 17 %), d'infections de plaies (2 à 4 %), d'infections survenant dans les unités de soins intensifs (USI) (4 à 17 %) et de septicémies néonatales (3 à 20 %) (Janda & Abbott, 2006).

Elles peuvent également causer des bactériémies et des infections hépatiques et ont été isolées dans un grand nombre d'infections inhabituelles, notamment des cas d'endocardite, d'abcès médiastinal primaire gazeux, de péritonite, de cholécystite aiguë, de myonécrose crépitante, de pyomyosite, de fasciite nécrosante, d'abcès du psoas, d'infection de l'espace fascial au niveau de la tête et du cou, et d'arthrite septique (Janda & Abbott, 2006). Ce sont également des pathogènes opportunistes importants, en particulier chez les personnes immunodéprimées.

Les facteurs de pathogénicité des espèces du genre *Klebsiella* comprennent des adhésines, des sidérophores, des polysaccharides capsulaires, des lipopolysaccharides de surface cellulaire (LSP) et des toxines, qui jouent chacun un rôle particulier dans la pathogénèse associée à ces espèces. Selon le

type d'infection et le mode d'infectivité, les bactéries du genre *Klebsiella* peuvent, en vue de les attaquer, adhérer aux cellules épithéliales des voies respiratoires supérieures, aux cellules du tractus gastro-intestinal, aux cellules endothéliales ou aux cellules uroépithéliales, avant de coloniser les muqueuses. Les affections sous-jacentes sont souvent l'alcoolisme, le diabète sucré, l'atteinte chronique du foie (cirrhose), l'insuffisance rénale chronique, le cancer, les greffes, les brûlures et l'utilisation de cathéters (**Janda & Abbott, 2006**).

d) Sensibilité aux médicaments

On sait que les organismes du genre *Klebsiella* présentent une résistance aux pénicillines, en particulier l'ampicilline et la carbénicilline (**Janda & Abbott, 2006**). Compte tenu du fait qu'un nombre croissant de souches du genre *Klebsiella* semblent produire des céphalosporinases, des carbapénémases et des bêta-lactamases à spectre étendu, la résistance de *Klebsiella* aux antibiotiques actuels semble s'accroître (**Podschun & Ullmann, 1998**).

D'après les résultats de certaines études effectuées en Europe et aux États-Unis, les plages de sensibilité sont les suivantes: ceftazidime (92-95 %), ceftriaxone (96-98 %), céfotaxime (96 %), pipéracilline-tazobactam (90-97 %), imipéném (98-100 %), gentamicine (95-96 %), amikacine (98-99 %), triméthoprimsulfaméthoxazole (SXT) (88-90 %). La résistance tend à être plus élevée dans le cas des souches isolées chez les patients hospitalisés dans une USI que dans celui des patients hospitalisés dans une autre unité. On a caractérisé des isolats pan-résistants dans le sous-continent indien (**Kumarasamy et al., 2010**).

2.1.5. Le genre *Serratia*

a) Synonyme ou renvoi

Serratia, *S. marcescens* (*Serratia* biogroupe A, *Serratia* biotype 1), *S. liquefaciens*, *S. entomophila*, *S. ficaria*, *S. fonticola*, *S. glossinae*, *S. grimesii*, *S. marcescens* (*S. marcescens* ssp. *marcescens* et *S. marcescens* ssp. *sakuensis*) *S. nematodiphila*, *S. odorifera*, *S. plymuthica*, *S. proteamaculans* (*S. proteamaculans* ssp. *proteamaculans*, *S. proteamaculans* ssp. *quinovora*), *S. rubidaea*, *S. ureilytica* (**Van Houdt et al., 2007**).



Figure 10. Observation microscopique de *Serratia marcescens*

a) *Caractéristiques*

Les espèces du genre *Serratia* sont des bactéries anaérobies facultatives, chimio-organotrophiques, ayant de faibles besoins nutritionnels. (Grimont & Grimont, 1992). Ce sont des bâtonnets Gram négatif qui mesurent 0,9 à 2 μm de longueur et 0,5 à 0,8 μm de diamètre (Van Houdt *et al.*, 2007). Elles possèdent un flagelle péritriche qui leur permet de nager et de se déplacer en faisceau en forme d'hélice (avec différenciation) et elles sont omniprésentes dans le sol, l'eau et à la surface des plantes.

De nombreuses espèces produisent un pigment rouge à rose, appelé prodigiosine, qui est plus facile à observer dans un milieu dépourvu de phosphate incubé à 30 °C plutôt qu'à 37 °C (Grimont & Grimont, 1992). On soupçonne que ce pigment possède des propriétés antibiotiques, des propriétés immunosuppressives, proapoptotiques et anticancéreuses puissantes, mais on ignore encore son rôle dans le cas de *Serratia spp.* (Van Houdt *et al.*, 2007). *S. marcescens* produit un biofilm ayant des caractéristiques cellulaires et structurales distinctes de celles des biofilms standard produits par *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. Cette dernière bactérie produit des biofilms qui consistent uniquement en microcolonies de cellules non différenciées.

Les espèces du genre *Serratia* produisent également des β -lactamases. Tous ces processus métaboliques sont contrôlés par « quorum sensing ». *S. marcescens ssp. sakuensis* est capable de produire des endospores, alors que d'autres membres du genre ne le sont pas (Ajithkumar *et al.*, 2003).

b) Pathogénicité et toxicité

Les espèces de *Serratia* sont des agents pathogènes opportunistes (Biedenbach *et al.*, 2004). Elles sont à l'origine d'une multitude d'infections, dont la bactériémie, la pneumonie, les infections liées aux cathéters intraveineux, l'ostéomyélite, l'endocardite et, rarement, l'endophtalmie endogène et exogène (Van Houdt *et al.*, 2007 ; Marinella *et al.*, 1998). Les symptômes d'endophtalmie apparaissent rapidement après l'infection et peuvent comprendre une fièvre, un érythème, une douleur oculaire, un œdème périorbitaire et un hypopyon (pus dans les yeux). Le taux de mortalité par bactériémie due à *Serratia spp.* 6 mois après l'infection s'élève à 37 % (Engel *et al.*, 2009).

Les infections à *Serratia* chez le nouveau-né sont fréquentes (11-15 % dans l'unité de soins intensifs néonataux) et variées : infection sanguine (42 %), conjonctivite (26 %), pneumonie (13 %), infection urinaire (8 %), méningite (7 %) et infections des plaies opératoires (Dessi *et al.*, 2009). D'autres infections ont été documentées chez les nourrissons (otite externe, entérocolite et omphalite, gastro-entérite, arthrite septique et infection/abcès intrapéritonéaux), mais elles sont rares. Au nombre des facteurs de risque figurent le poids de naissance, l'usage d'un ventilateur mécanique et l'âge gestationnel (les bébés dont l'âge gestationnel est inférieur à 37 semaines courent un plus grand risque). Le taux de mortalité chez les nouveau-nés est de 44 %.

c) Sensibilité aux médicaments

Les espèces de *Serratia* sont habituellement sensibles aux aminosides, aux fluoroquinolones et au co-trimazole (Engel *et al.*, 2009).

d) Résistance aux médicaments

De nombreux isolats de *Serratia spp.* (39-73 %) sont résistants à la gentamicine (Engel *et al.*, 2009). Ils sont tous résistants aux pénicillines et à la céphalosporine.

2.1.6. Le genre *Citrobacter*

a) Synonyme ou renvoi

Citrobacter amalonaticus, *Citrobacter braakii*, *Citrobacter farmeri*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter sedlakii*, *Citrobacter werkmanii*, *Citrobacter Youngae*, groupe *Ballerup*, groupe *Bethesda*, groupe *Bethesda-Ballerup* (Holmes & Aucken, 1998 ; Knirel *et al.*, 2002).

b) Caractéristiques

Les bactéries du genre *Citrobacter* font partie de la famille des Enterobacteriaceae; il s'agit de bacilles ou de coccobacilles Gram négatif et facultativement anaérobiques de 0,3 à 1 µm de diamètre et de 0,6 à 6 µm de long (Abbott, 2007). dont la mobilité est assurée par des flagelles (Holmes &

Aucken, 1998 ; Knirel et al., 2002). Les bactéries du genre *Citrobacter* fermentent le mannitol et produisent du H₂S gazeux; elles sont aussi capables d'utiliser le citrate de sodium comme unique source de carbone (**Knirel et al., 2002**). Le genre peut être divisé en 43 sérogroupes O selon l'antigène O du lipopolysaccharide (LPS) et en 20 groupes selon la composition en sucres du LPS.



Figure 11. Observation microscopique de *Citrobacter Freundii* (www.sciencephoto.com)

c) Pathogénicité et toxicité

Les bactéries du genre *Citrobacter* sont des agents pathogènes nosocomiaux opportunistes rares qui entraînent normalement des infections des voies urinaires, des bactériémies, des sepsis abdominaux et des abcès cérébraux ainsi que des pneumonies et d'autres infections néonatales (**Pepperell et al., 2002**). comme la méningite, le sepsis néonatal, l'infection articulaire et la bactériémie (**Knirel et al., 2002**).

Les infections du système nerveux central (SNC) sont plus courantes chez les nourrissons de moins de 2 mois que chez les enfants plus âgés et les adultes immunodéprimés; cependant, certains cas rares ont été signalés. *C. koseri* et *C. ferundii* causent des méningites néonatales pouvant évoluer vers l'abcès cérébral (**Holmes & Aucken, 1998 ; Ryan, 2004**). Chez l'ensemble des patients, les infections à *Citrobacter* comportent un risque de mortalité de 33 à 48 % et, chez les nouveau-nés, ce risque s'élève à 30 % (**Pepperell et al., 2002 ; Doran, 1999**).

Les nourrissons ayant réussi à combattre l'infection pourront présenter des séquelles neurologiques importantes touchant le SNC; un retard mental profond, une hémiparésie et des convulsions sont entre autres possibles.

d) Sensibilité aux médicaments

Les bactéries du genre *Citrobacter* sont sensibles aux aminosides, au chloramphénicol, à l'association imipénem/cilastatine, au triméthoprim et à l'association sulfaméthoxazole/triméthoprim (**Doran, 1999**).

e) Résistance aux médicaments

Une résistance aux céphalosporines, à la ceftazidime, à l'association pipéracilline/tazobactam, aux pénicillines anti-pseudomonas (**Lavigne et al., 2007**), à l'ampicilline (**Doran, 1999**), à la céfalotine (**Abbott, 2007**) et à la carbenicilline a été observée.

Une résistance aux céphalosporines, à la ceftazidime, à l'association pipéracilline/tazobactam, aux pénicillines anti-pseudomonas (**Lavigne et al., 2007**), à l'ampicilline (**Doran, 1999**), à la céfalotine (**Abbott, 2007**) et à la carbenicilline a été observée.

2.1.7. Le genre *Shigella*

a) Synonyme ou renvoi

Sérogroupe A : *S. dysenteriae*; sérogroupe B : *S. flexneri*; sérogroupe C : *S. boydii*;
sérogroupe D : *S. sonnei*, shigellose et dysenterie bacillaire.



Figure 12. Observation microscopique de *Shigella spp.* (www.sciencephoto.com)

b) *Caractéristiques*

Shigella, est un bacille pathogène Gram négatif (**Schroeder & Hilbi , 2008**). Il s'agit d'une bactérie anaérobie facultative non mobile et non encapsulée, qui ne fermente pas le lactose ou le fermente lentement. On peut différencier différents sérogroupes, qui sont considérés comme des espèces, selon leurs propriétés biochimiques et leur sensibilité aux phages ou à la colicine, et des antisérums polyvalents peuvent détecter des antigènes polysaccharidiques spécifiques (**Downes et al., 2001**). *S. dysenteriae* est considérée comme la plus virulente; elle peut produire une cytotoxine puissante connue sous le nom de toxine de Shiga (**Erqou et al., 2007**).

c) *Pathogénicité et toxicité*

Les pathogènes ingérés peuvent survivre malgré l'acidité gastrique et causer la maladie en infectant la muqueuse du côlon, en se multipliant dans les cellules épithéliales du côlon et en se propageant latéralement aux cellules adjacentes (**Formal et al., 1989**). L'infection peut être bénigne et asymptomatique, mais elle est le plus souvent caractérisée par une infection intestinale aiguë suivant l'ingestion, qui entraîne des symptômes allant d'une légère diarrhée aqueuse à une grave shigellose ou dysenterie bacillaire ou inflammatoire se manifestant par de violentes crampes abdominales, des nausées et des vomissements, de la fièvre, un ténesme, une anorexie et des selles contenant du sang et du mucus (**Trevejo et al., 1999**).

Les autres complications comprennent le syndrome Reiter, qui a été associé à *S. flexneri* (**Good et al., 1977**), une grave déshydratation, une perforation intestinale, un mégacôlon toxique, une bactériémie, une toxémie (**Ovsyshcher et al., 1987**), une septicémie, des crises épileptiques, une encéphalopathie toxique accompagnée de maux de tête et d'une altération de l'état de conscience, un choc septique et des convulsions (très rare) (**Erqou et al., 2007**), ainsi qu'un syndrome urémique hémolytique, lesquels ont été associés à la toxine de Shiga (une cytotoxine puissante produite par *S. dysenteriae*, qui peut également causer d'autres effets neurotoxiques). La virulence de *Shigella* dépend de la température; en effet, cet organisme est capable d'envahir les cellules HeLa à 37 °C, mais est incapable de le faire in vitro à 30 °C (**Yao et al., 1991**).

Les infections sont en général spontanément résolutive, mais elles peuvent représenter un danger de mort chez les patients immunodéprimés ou dans les cas où elles ne sont pas traitées adéquatement. La gravité de l'infection dépend de l'hôte, de la dose et du sérotype (**Downes & Ito, 2001**) *S. dysenteriae*, l'espèce la plus pathogène, est associée à un taux de mortalité atteignant les 20 %, tandis que *S. sonnei* cause généralement des formes bénignes de shigellose.

d) Sensibilité aux médicaments

Sensible à l'ampicilline, au triméthoprime, au sulfaméthoxazole, à l'acide nalidixique, à l'ofloxacine, au chloramphénicol, aux fluoroquinolones et à la ciprofloxacine (Du Pont *et al.*, 1992).

e) Résistance aux médicaments

On note l'apparition de souches multirésistantes aux médicaments, notamment des souches résistantes au triméthoprime-sulfaméthoxazole (TMP-SMX), à l'ampicilline et au chloramphénicol (Arman *et al.*, 1994 ; Griffin *et al.*, 1989).

2.1.8. Le genre *Hafnia*

a) Synonyme ou renvoi

Autre dénomination : *Hafnia alvei* : "*Enterobacter alvei*", "*Enterobacter aerogenes* subsp. *hafniae*", "*Enterobacter hafniae*".

b) Caractéristiques

Le genre *Hafnia* présente tous les caractères des Enterobacteriaceae. Les activités physiologiques, métaboliques et enzymatiques de *Hafnia alvei* varient en fonction de la température d'incubation et elles sont plus intenses à 22 °C qu'à 37 °C. Plus de 96 p. cent des souches de *Hafnia alvei* sont lysées par un bactériophage (le phage *Hafnia* 1672, couramment désigné sous le nom de phage *Hafnia*) isolé de l'eau en 1968 par Guinée et Valkenburg.

Ce phage est spécifique de *Hafnia alvei* et il est commercialisé et utilisé pour le diagnostic de cette espèce (Richard & Alonso., 1976).



Figure 13. Observation microscopique de *Hafnia alvei* (www.microbe-canvas.com)

c) Habitat

L'habitat normal de *Hafnia alvei* est le sol et l'eau.

- coprocultures
- plus rarement prélèvements effectués au niveau du rhino-pharynx, pus, expectorations, hémocultures, urines, prélèvements de bile, liquides gastriques de prélèvements d'origine animale (bovins, moutons, porcs, chevaux, lièvres, chats, rongeurs, singes, diverses espèces d'oiseaux, diverses espèces de poissons)
- d'aliments (fromages, laits, miels, saucisses, jambons, œufs, sardines).

Hafnia alvei est parfois responsable de l'altération (production de gaz) des viandes emballées sous une atmosphère pauvre en oxygène (**Richard & Alonso, 1976**).

d) Pouvoir pathogène chez l'homme

Hafnia alvei peut se comporter comme une bactérie pathogène opportuniste. Elle est rarement isolée seule. Le plus souvent en milieu hospitalier et en association avec d'autres bactéries, lors de septicémies, de gastro-entérites, de pneumonies, d'abcès, d'infections urinaires et de plaies infectées (**Farmer, 1999**).

e) Sensibilité aux antibiotiques

Les données publiées sont peu nombreuses mais, comme pour la plupart des entérobactéries, la sensibilité aux antibiotiques varie selon les souches. La grande majorité des souches est sensible à la nétilmicine, à la gentamicine, à l'amikacine, à la tobramycine, à la ciprofloxacine et à l'imipénème mais résistante à l'ampicilline, à l'association amoxicilline-acide clavulanique et à la céfalotine (**Farmer, 1999**).

2.2. Les bacilles à Gram négatif non fermentaires

a) Définition

Les bacilles à Gram négatif non fermentaires sont des bactéries aérobies strictes qui se développent habituellement sur milieu ordinaire et qui sont caractérisées par un mode de production énergétique ne faisant pas intervenir la fermentation (**Richard et al., 1995**).

b) Habitat

Environ 15 % de tous les bacilles Gram négatif se développant en aérobiose, isolés dans les laboratoires de bactériologie médicale, sont des non fermentaires. Deux espèces :

Chapitre III : Activités biologiques de l'HE d'O.vulgare

Pseudomonas aeruginosa et *Acinetobacter spp* représentent jusqu'à 75 % de ces isolements. Ces germes sont pour la plupart des pathogènes opportunistes dont l'habitat naturel est le milieu extérieur (Gassama *et al.*, 1999).

c) Classification

Les bacilles à Gram négatif non fermentaires sont à l'heure actuelle mieux classées grâce à de nombreuses études génétiques ADN-ADN ou ARN-ADN (Richard *et al.*, 1995). Nous pouvons distinguer un certain nombre de genres (Schuster, 2001) :

Tableau 05. Les genres Bacilles à Gram négatif non fermentaires.

1	<i>Pseudomonas</i>	7	<i>Stenotrophomonas</i>	13	<i>Flavobacterium</i>
2	<i>Burkholderia</i>	8	<i>Chryseomonas</i>	14	<i>Weeksella</i>
3	<i>Ralstonia</i>	9	<i>Flavimonas</i>	15	<i>Alcaligenes</i>
4	<i>Comamonas</i>	10	<i>Shewanella</i>	16	<i>Sphingobacterium</i>
5	<i>Brevundimonas</i>	11	<i>Acinetobacter</i>	17	<i>Agrobacterium</i>
6	<i>Sphingomonas</i>	12	<i>Chryseobacterium</i>	18	<i>Ochrobactrum</i>

2.2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

a) Généralités

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* autrement connues sous le nom de bacilles pyocyaniques ont été isolées pour la première fois en 1882 par Gessard. Ce sont des bâtonnets à Gram négatif aérobie stricte. Ils sont fins, droits et très mobiles grâce à une ciliature polaire monotriche ou multitriche. Ces souches sont dépourvues de spores et de capsules et apparaissent la plupart du temps isolées ou sous forme de diplobacilles (Schachter, 1999 ; Singleton, 1999).

b) Classification

Règne : Bacteria

Division : Proteobacteria

Classe : Gamma proteobacteria

Ordre : Pseudomonadales

Famille : Pseudomonaceae

Genre : *Pseudomonas*

Espèce : *aeruginosa*

c) Habitat

P. aeruginosa est un germe ubiquitaire, vivant dans les sols et en milieux humides (robinets, bouchons, éviers, surfaces des thermomètres buccaux...). Cette espèce peut vivre en commensale chez l'Homme au niveau de la peau, de l'appareil respiratoire supérieur et du tube digestif, elle est également retrouvée chez les bovins et les volailles. *P. aeruginosa* est fréquent en milieu hospitalier entraînant l'apparition de véritables souches d'hôpital, qui se développent même dans l'eau distillée ou salée, et nuisent aux personnes affaiblies et immunodéprimées. L'exploration instrumentale lors d'exams médicaux (cathéter veineux, sondes, endoscopies) favorise la pénétration de ce germe dans l'organisme. (**Fauchère, 2002 ; Prescott, 2012**).

d) Pouvoir pathogène

Les infections par *P. aeruginosa* sont typiquement de type nosocomial. Cette espèce est porteuse de plusieurs plasmides et élabore différentes sortes d'enzymes et de toxines (exotoxines, endotoxines, protéases, hémolysines...etc). Les formes pathologiques qu'elle engendre sont divers (**Verhoff & Schmitz, 2000 ; Tortora, 2012**) :

- Infections pulmonaires
- Infections uro-génitales
- Infections ostéo-articulaires
- Infections oculaires
- Infections ORL
- Infections cutanées (cause majeure de mortalité chez les grands brûlés).
- Infections méningées

- Endocardites
- Entérites à bactéries pyocyaniques
- Septicémies.



Figure 14. Observation microscopique de *Pseudomonas aeruginosa* (www.cdc.gov)

e) Résistance aux antibiotiques

P. aeruginosa est un germe très résistant aux antibiotiques, il produit naturellement une céphalosporinase qui malgré sa synthèse à faible échelle, lui confère une résistance naturelle aux céphalosporines. Ces souches s'adaptent rapidement aux attaques médicamenteuses, grâce aux caractéristiques de leurs porines qui régularisent le passage des molécules à travers la paroi cellulaire, c'est ainsi que les antibiotiques seraient pompés à l'extérieur de la bactérie avant même d'agir, elles sont aussi capable d'acquérir des gènes codant pour différentes sortes d'enzymes. Outre leur résistance aux β -lactamines, ces souches se montrent insensibles à l'action des fluoroquinolones et des aminosides (Kal *et al.*, 2005; Tortora, 2012).

2.2.2. Le genre Acinetobacter

a) Identification et position taxonomique

Le genre Acinetobacter est actuellement défini comme appartenant à la famille des Moraxellaceae au sein de l'ordre Pseudomonadales et qui regroupe les genres Moraxella, Acinetobacter et Psychrobacter (Jans *et al.*, 2004).

b) Classification d'*Acinetobacter*

Règne : Bacteria

Embranchement : Proteobacteria

Classe : Gammaproteobacteria

Ordre : Pseudomonadales

Famille : Moraxellaceae

Genre : *Acinetobacter*

c) Morphologie, métabolisme et habitat

Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont des gamma-protéobactéries, bacilles ou coccobacilles à Gram négatif, aérobies strictes, oxydase négative, catalase positive, immobiles et non-fermentants (**Jans et al., 2004**). Elles ne produisent pas de spores et apparaissent au microscope sous la forme de courts bacilles ou de cocci (en phase stationnaire). Leur contenu ADN en G+C est compris entre 39 et 47% (**Peleg et al., 2008**). Les bactéries appartenant au genre *Acinetobacter* sont souvent considérées comme des microorganismes ubiquitaires et peuvent être isolées à partir du sol et des eaux (**Zahoun et al., 2010**).

Dans une enquête épidémiologique réalisée pour étudier la colonisation de la peau humaine et des muqueuses, jusqu'à 43% d'individus non hospitalisés ont été trouvés colonisés par *Acinetobacter spp.* avec *A. lwoffii* (58%), *A. johnsonii* (20%), *A. junii* (10%) et *Acinetobacter* espèce génomique 3 (6%). Chez les patients hospitalisés, le taux de portage cutané de ces espèces atteint 75% (**Seifert et al., 1997**). *A.baumannii*, l'espèce responsable d'infections nosocomiales au sein du genre *Acinetobacter*, n'a été isolée que très rarement sur la peau avec 0.5% et 3% (**Berlau et al., 1999**) et dans les selles humaines avec 0,8% (**Dijkshoorn et al., 2005**). Elles font aussi partie de la flore cutanée de l'homme, de la salive, ainsi que du tractus respiratoire (**Fournier et al., 2006**).



Figure 15. Observation microscopique d'*Acinetobacter spp.*(www.cdc.gov)

d) Virulence et pouvoir pathogène d'*Acinetobacter spp.*

Bien qu'un certain nombre des membres du genre *Acinetobacter*, tels que *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii*, *A. lwoffii*, *A. radioresistens* et *A. parvus sp. nov.* ait été isolé à partir de spécimens cliniques (Nemec *et al.*, 2003), seul *Acinetobacter baumannii* est un agent pathogène (Joly-Guillou, 2005).

Les souches d'*A. Baumannii* sont, de plus, fréquemment retrouvées dans les hôpitaux essentiellement dans les services de soins intensifs, certaines caractéristiques peuvent accroître la virulence des souches impliquées dans les infections:

- L'hydrophobicité de surface confère aux souches d'*Acinetobacter* des propriétés d'adhérence, les protégeant ainsi de la phagocytose (Braun, 2008).
- La présence d'une capsule de polysaccharide rendent les souches plus virulentes que les autres comparées par les travaux de Joly-Guillou *et al.*, (2006), Kempf *et al.*, (2012) et celui de Anna de De Breij *et al.*, (2012) dans un modèle de pneumopathie expérimentale.

e) Résistance aux antibiotiques

Les souches d'*Acinetobacter spp.* expriment plusieurs mécanismes de résistances aux ATB notamment l'inactivation enzymatique qui leur confère une résistance aux β -lactamines et aux céphalosporines mais aussi l'expression de systèmes d'efflux et la capacité de modifier la cible de l'ATB, leur permettant d'acquérir des résistantes aux

aminosides (gentamicine, tobramicine et amikacine) et aux quinolones (péfloxacine, ofloxacine et ciprofloxacine) (Guery, 2009).

2.3. Bactéries à Gram positif

2.3.1. *Staphylococcus aureus*

a) Généralités

Le staphylocoque doré est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*, ce sont des bactéries Gram positif aéro-anaérobies facultatifs, ces cellules bactériennes ont la forme de coques regroupées en amas, ayant la forme d'une grappe de raisin, elles sont immobiles et non sporulées (Avril, 1992 ; Prescott, 2010).

b) Classification

Règne : Bacteria

Division : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : Staphylococcaceae

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus aureus*

c) Habitat

L'espèce en question est ubiquitaire, et très répandue dans la nature. Elle peut être saprophyte ; retrouvée dans le sol, l'air, l'eau, mais aussi commensale de l'Homme, retrouvée sur la peau, les muqueuses, les cavités buccales et nasales, les plis cutanés, le périnée et le colon (50% des individus sont porteur de *S. aureus* dans la partie antérieure du nez et parfois du périnée). Cette souche se révèle être pathogène et opportuniste dans certains emplacements ou dans certaines circonstances, notamment chez des sujets immunodéprimés ou des personnes ayant subis des actes chirurgicaux.

Les souches de *S. aureus* se rencontrent également sur les aliments, ou elles peuvent élaborer des enterotoxines, leur offrant une résistance remarquable à de nombreux agents

physiques et chimiques. Les traitements thermiques tels que la pasteurisation ou la stérilisation détruisent souvent le germe sans altérer les propriétés biologiques de ses protéines, c'est ce qui le rend parfaitement redoutable (Larpent, 1997 ; Fauchère, 2002).



Figure 16. Observation microscopique de *Staphylococcus aureus* (Institut Pasteur, 2012)

d) Pouvoir pathogène

Les Staphylocoques dorés possèdent des pouvoirs pathogènes invasifs et toxiques, ces souches ont également la capacité de donner des mutants résistants aux antibiotiques de part leur habilité à s'approprier des éléments génétiques d'autres bactéries, ces éléments génétiques mobiles codent d'une part pour la résistance aux ATB et d'autre part pour des protéines qui augmentent la virulence bactérienne (coagulases). Les souches de *S. aureus* élaborent différentes sortes de toxines solubles dans l'eau qui ont la capacité de se fixer à la surface des cellules pour former des canaux hydrophiles laissant passer librement l'eau les ions et les petites molécules (Prescott, 2010).

Le Staphylocoque doré est responsable de lésions suppuratives et nécrotiques s'accompagnant de lésions veineuses (Schachter, 1999 ; Fauchère, 2002). Ces lésions apparaissent sous différents aspects cliniques :

- Infections cutanées suppuratives (furoncles, abcès, panaris, et anthrax qui évoluent entraînant des septicémies).
- Infections de la sphère ORL
- Infection des différents viscères
- Infection urinaires et génitales

- Infections respiratoires et pulmonaires
- Endocardites
- Intoxications alimentaires dues à l'ingestion de l'entérotoxine préformée dans les aliments (certains aliments contiennent une quantité négligeable de ce germe mais une mauvaise conservation favorise leur multiplication).
- Infection bucco-dentaires.
- Infections généralisés ; septicémies et méningites.

e) Résistance aux antibiotiques

S. aureus représente un problème majeur de santé de par sa multi-résistance. Habituellement résistant aux β -lactamines, ce germe produit des pénicillinases qui ouvrent le cycle β -lactame et inactivent l'antibiotique. Les aminosides peuvent aussi subir des modifications par divers enzymes staphylococciques conférant à cette espèce une résistance à de nombreux antibiotiques comme la gentamycine, l'amikacine ou encore la kanamycine (Prescott, 2012).

2.3.2. *Bacillus sphaericus*

a) Généralités

Le genre *Bacillus* appartient à la famille des Bacillaceae (Bradley & Galil, 1977). Les bactéries de cette famille sont de grands bacilles en forme de bâtonnets à Gram positif, groupées en chaînettes, aérobie à anaérobie facultatif, formant des spores et mobiles sauf *Bacillus anthracis* (Claus & Berkeley, 1986). Les *Bacillus* présentent plusieurs intérêts d'ordre médical, agronomique, pharmaceutique et industriel (Carr, 1983; Gordon *et al.*, 1973 ; Parry *et al.*, 1983).

La plupart sont des saprophytes du sol, de l'eau, de l'air et des plantes: ce sont des microorganismes ubiquitaires. Le genre *Bacillus* apparaît extrêmement hétérogène tant sur le plan génétique que phénotypique notamment au niveau respiratoire, métabolisme, ainsi que dans sa distribution dans l'environnement (Claus & Berkeley, 1986).

Certaines souches des Bacillaceae sont non pathogènes pour l'homme, d'autres provoquent des infections et peuvent parfois causer la mort (Parry *et al.*, 1983). *Bacillus cereus*, par exemple, peut se multiplier dans les aliments et y produire une entérotoxine qui provoque des diarrhées par un mécanisme similaire à celui de l'entérotoxine d'*E. coli*

(Drobniewski, 1993; Jackson *et al.*, 1995). *Bacillus anthracis* est, sans doute, le pathogène le plus virulent du genre *Bacillus* (Turnbull *et al.*, 2002). D'autres souches de ce genre ne sont pas pathogènes pour le genre humain, mais le sont pour certaines catégories d'insectes ou de parasites: elles sont utilisées par le secteur agronomique dans la lutte biologique (Krieg *et al.*, 1981).

b) Classification

Règne : Bacteria

Division : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : Bacillaceae

Genre : *Bacillus*

Espèce : *Bacillus sphaericus*



Figure 17. Observation microscopique de *Bacillus sphaericus* (www.researchgate.net)

c) Habitat

B.sphaericus est une bactérie naturellement présente dans les environnements telluriques et aquatiques du monde entier (Claus & Berkeley, 1986; Gordon *et al.*, 1973).

d) Pouvoir pathogène

Bacillus sphaericus est une Bacillaceae commercialisée sous forme de biopesticide (Lacey, 2007). La première souche pathogène vis-à-vis des moustiques fut découverte en 1965 mais démontra un faible pouvoir de contrôle; de nombreuses autres souches bien plus intéressantes furent découvertes par la suite, parmi lesquelles les souches 1593 (Wickremesinghe & Mendis, 1980) et 2362 appartenant au sérotype flagellaire H5a5b.

3. Activité insecticide

Les infestations d'insectes et d'acariens sont l'une des principales causes de la détérioration et de la baisse de la valeur marchande des denrées entreposées. Malgré les progrès réalisés au niveau des méthodes de gestion appliquées durant l'entreposage et la diversité des produits chimiques (fumigatoires, produits de contact, etc.), les ravageurs animaux continuent à provoquer d'importants dégâts au niveau des stocks.

Les problèmes de la résistance et de la nocivité des insecticides synthétiques ont abouti à la nécessité de trouver des alternatives plus efficaces et plus saines. Ainsi, les huiles essentielles sont les produits les plus testés actuellement (**Park et al., 2003 ; Andréa et al., 2011**). Ces insecticides naturels, dits insecticides de plantes, présentent plusieurs avantages par rapport aux composés synthétiques à cause de leur biodégradation rapide et la réduction des risques de l'environnement.

Les **HEs** représentent une piste d'avenir et les recherches sur ce sujet sont nombreuses. Toutefois, la grande majorité de ces études portaient sur les insectes, que ce soit sur l'effet répulsif des huiles essentielles ou sur leur effet larvicide (**Traboulsi et al., 2002 ; Bekele & Hassanali, 2001; Isman, 2000; Delimi et al., 2013**).

La mise en évidence du potentiel insecticide des **HEs** est un moyen non seulement pour comprendre l'utilisation traditionnelle des plantes pour la protection des denrées, mais aussi pour offrir des possibilités nouvelles par la mise en œuvre d'extraits de plantes vue la faible toxicité des **HEs**. Ces travaux révèlent que l'effet des huiles sur les insectes n'est pas systématique car on observe des réponses différentes suivant l'espèce d'insecte et d'**HE** (**Shaaya et al., 1997**).

Les **HEs** ont des effets anti-appétent, affectant ainsi la croissance, la mue, la fécondité et le développement des insectes. (**Keane & Ryan, 1999**). Ce dernier est également freiné par la toxicité inhalatrice des huiles sur les adultes (**Sékou et al., 2001**).

3.1. Présentation de l'insecte

L'espèce étudiée est la Pyrale de la farine « *Ephestia kuehniella* » (**Figure 18**). C'est une mite des denrées stockées. Les larves de cette pyrale s'attaquent essentiellement à la farine ou

Chapitre III : Activités biologiques de l'HE d'O.vulgare

à la semoule, aux grains de céréale (blé, maïs et riz), et plus exceptionnellement aux fruits desséchés (raisins, figes, abricots) (Doumandji-Mitichi, 1997).

La Position systématique de l'insecte:

Règne : Animalia

Sous règne : Metazoa

Embranchement : Arthropoda

Sous embranchement : Hexapoda

Classe : Insecta

Sous classe : Pterygota

Super classe : Endoptera

Ordre : Lepidoptera

Famille : Pyralidae

Genre : *Ephestia*

Nom binominale : *Ephestia kuehniella*

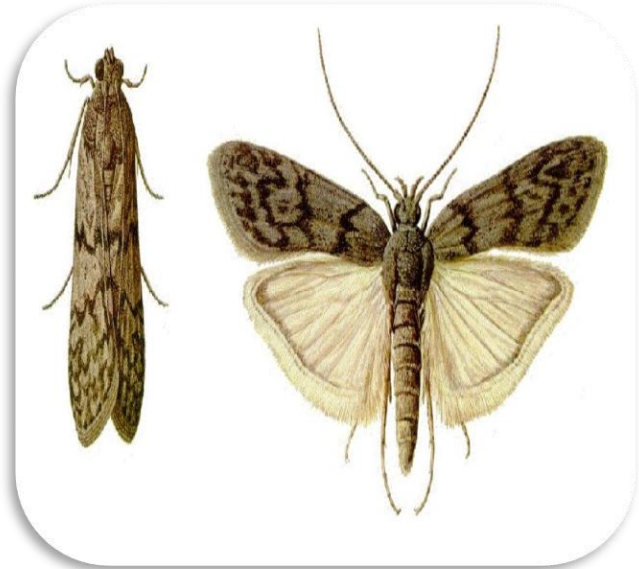


Figure 18. La pyrale de la farine : *E. kuehniella*
(www.almerja.net)

3.2. Différents stades de développement et dimorphisme sexuel

Leur cycle de développement est holométabole. Il passe donc par les stades successifs: œuf, larve, nymphe et adulte (**Figure 19**).

a) L'œuf: est petit, de couleur gris blanchâtre et de forme elliptique. Sa durée d'incubation varie de 3 à 4 jours (Balachowsky, 1972). L'œuf mesure environ 460 μm et environ 660 μm de largeur (Taibi, 2007).

b) La larve ou chenille: elle passe par six stades larvaires. La larve du premier stade mesure de 1 à 1,5 mm de long, elle peut atteindre jusqu'à 15 à 20 mm au stade final. Dès son exuviation, la larve se nourrit directement de la farine, elle est de couleur blanche virant légèrement vers le rose.

Le mâle se différencie de la femelle par la présence de deux taches noires à la face dorsale de l'abdomen (**Figure 20**), qui correspondent aux testicules (Hami, 2004; Taibi, 2007).

- c) **La chrysalide ou nymphe:** la larve du dernier stade subit une mue nymphale et devient chrysalide. De profonds remaniements se manifestent, ça consiste en la destruction des organes larvaires et à l'édification de ceux de l'adulte, notamment la maturation sexuelle (**Cassier, 1996**). La nymphe est de couleur blanchâtre et devient de plus en plus foncée avec l'âge. Entourée d'un cocon de soie blanche contenant des substances nutritives, la chrysalide aboutit à un adulte après une durée du développement nymphale variant de 8 à 12 jours (**Hami, 2004**).
- d) **L'adulte ou imago:** la chrysalide subit une mue imaginale apportant les dernières modifications en réalisant l'insecte parfait qui est un papillon de 20 à 25 mm d'envergure. Il possède une petite tête globuleuse, des ailes antérieures grisâtres et satinées avec des points noirs en plus des ailes postérieures finement frangées qui sont blanchâtres. Chez la femelle, la ponte débute juste après l'accouplement. Une femelle peut mettre de 200 à 300 œufs blancs en amas au fond et sur les parois des sacs de farine (**Balachowsky, 1972**).

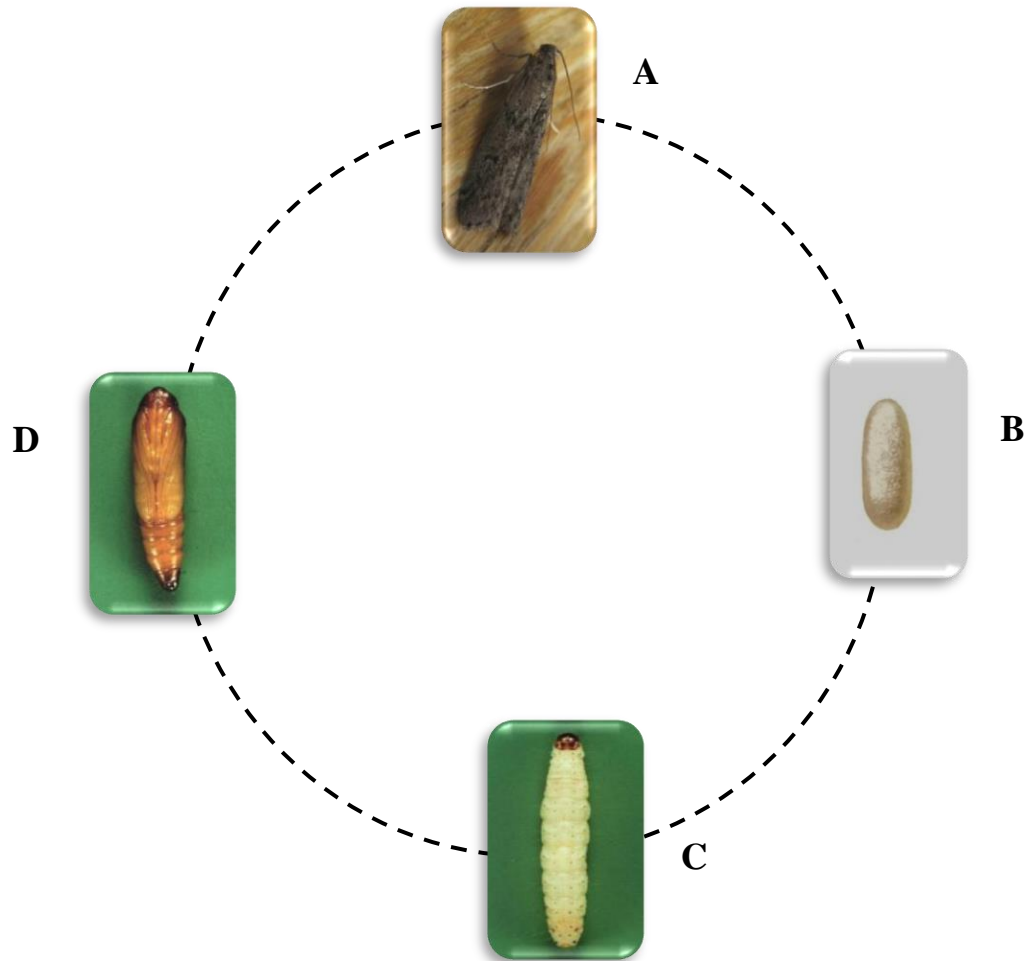


Figure 19. Les différents stades de développement chez *E.kuehniella*. (A): Adulte, (B): Œuf, (C): Larve et (D): Nympe (www.bru.gmprc.ksu.edu)

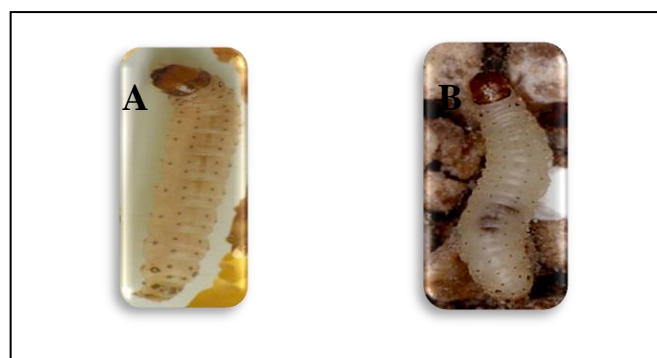


Figure 20. Le dimorphisme sexuel chez *E. kuehniella*. (A) : la femelle et (B) : le mâle (www.biogroei.eu, www.skadedyrene.dk)

Partie expérimentale

1. Zone d'étude

La plante *O. vulgare* a été récoltée dans la région de Guelma qui se caractérise par ce qui suit :

1.1. Situation géographique

La wilaya de Guelma ($36^{\circ} 46' N 7^{\circ} 28' E$) est située au Nord-est de l'Algérie à 60 km environ de la Méditerranée, où elle est élevée à 279 mètres par rapport au niveau de la mer (Urbaco, 2010). Le site d'étude est à proximité du village de Gigba, dans la commune Nechmaya (Figure 21).

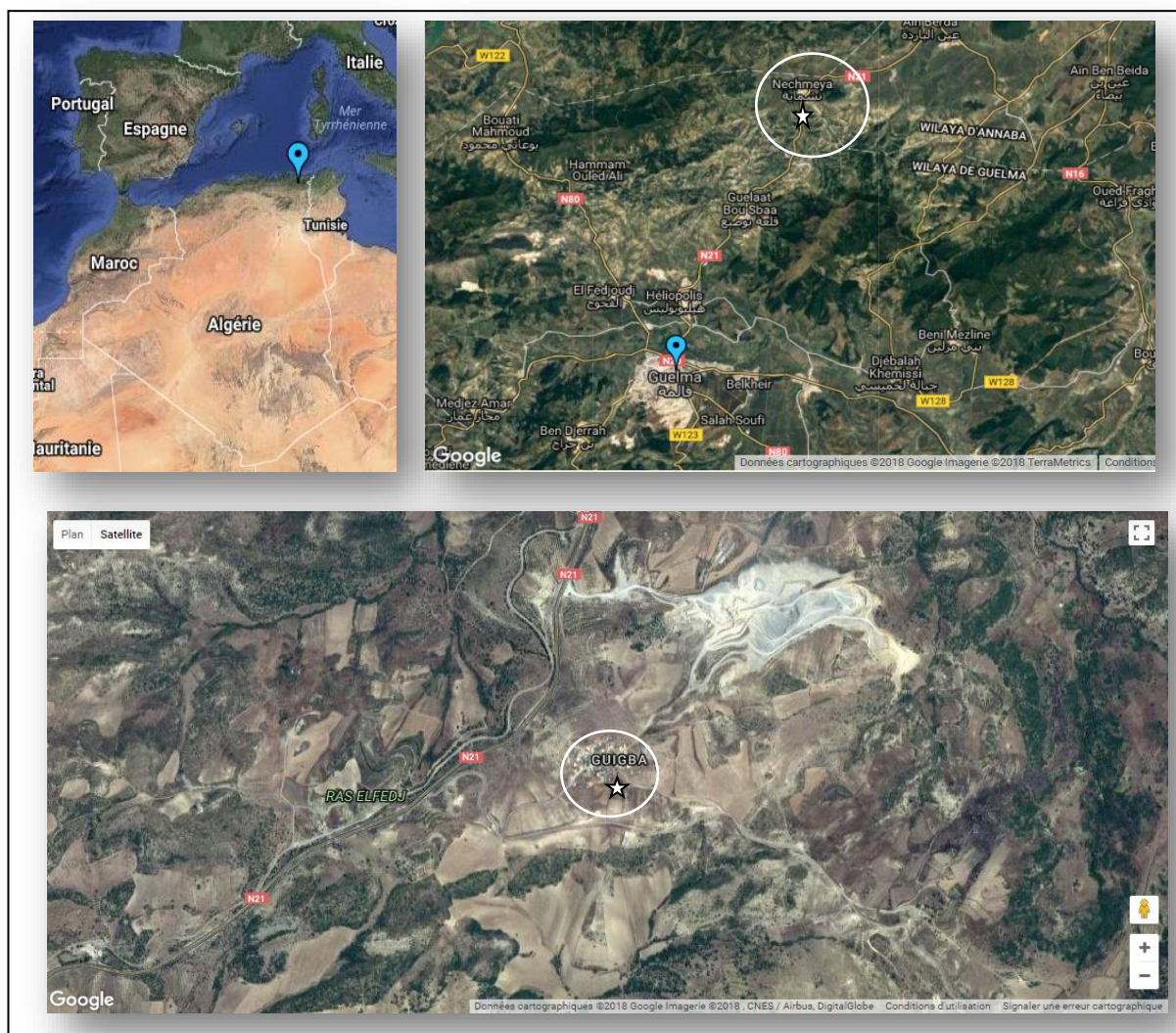


Figure 21. Situation géographique du site d'étude (www.maplandia.com)

1.2. Microclimats de la ville

Le territoire Guelmois se caractérise par un microclimat sub-humide au centre et au nord, et semi aride vers le sud. La diversité des microclimats est due à l'influence de plusieurs paramètres qui participent simultanément. Surtout à l'élévation du taux d'humidité comme son rapprochement par rapport à la mer (60Km), la présence de oued Seybouse, le massif forestier intense, les sources thermales et les barrages (**Medjelekh, 2006**).

1.3. Variables climatiques

1.3.1. Précipitations

Les précipitations à Nechemaya (zone d'étude) sont plus importantes en hiver qu'en été. La carte climatique de **Köppen-Geiger** y classe le climat comme étant de type Csa (climat tempéré chaud avec été sec (méditerranéen)). Les précipitations annuelles moyennes sont de 647 mm (**Figure 22**).

1.3.2. Température

Dans la région de Guelma et à l'échelle mensuelle, la température moyenne est élevée pendant la période sèche (**Gueroui, 2015**) allant de juin à septembre avec un maximum de l'ordre de 29,63°C enregistré au mois de juillet par contre, la période hivernale (décembre à février) est caractérisée par des valeurs plus basses variant de 9 à 10 °C avec un minimum pouvant atteindre 8,88 °C, observé durant le mois de janvier (**Figure 23**).

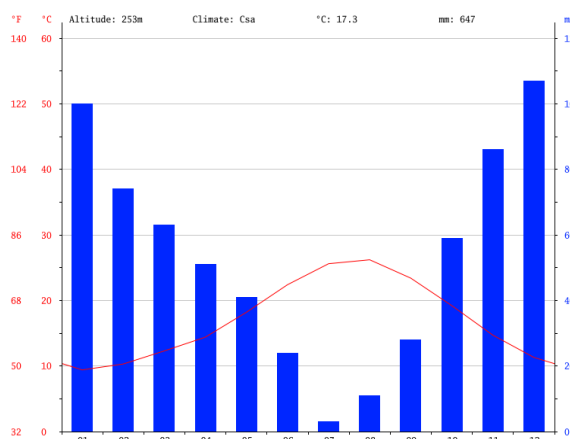


Figure 22. Diagramme climatique de Nechemaya (fr.climate-data.org)

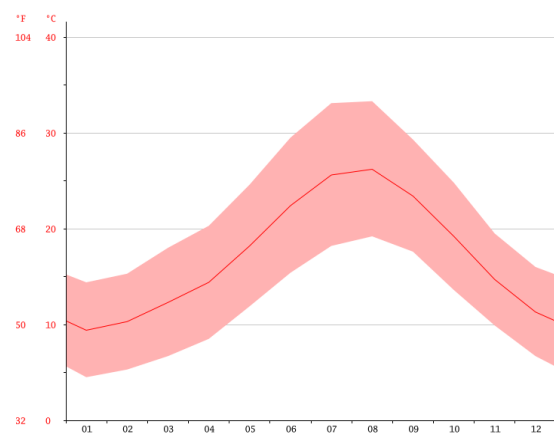


Figure 23. Courbe de température de Nechemaya (fr.climate-data.org)

1.4. Le sol

➤ Caractéristiques pédologiques

Pour connaître les caractéristiques physico-chimiques du sol qui a abrité *O. vulgare*, nous avons prélevé un échantillon de sol pour le faire analyser par le laboratoire d'analyse des sols et des eaux (Laboratoire Horizon, Annaba).

Le prélèvement constitue une opération très importante, car l'échantillon doit être représentatif de la composition et de la richesse du sol.

A l'aide d'un plantoir à bulbe bien nettoyé, on a prélevé un peu de sol sur une profondeur de 15 à 30cm. La terre recueillie a été ensuite déposée dans un contenant propre, en évitant de toucher la terre avec les mains, on enlève les cailloux et les débris végétaux (**Photo 02**).

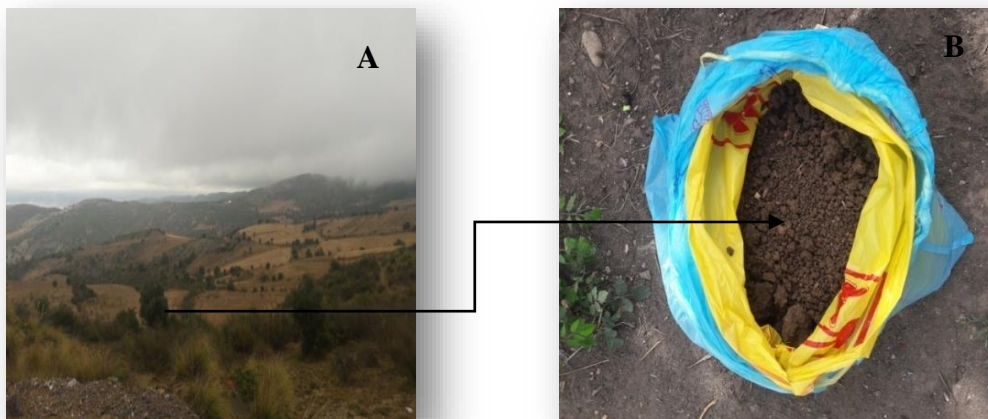


Photo 02. Prélèvement d'un échantillon de terre. (A) : site d'étude, (B) : la terre recueillie (Mahfouf, 2014)

2. Étude morpho-anatomique

L'étude anatomique permet de mettre en évidence un certain nombre de tissus et de structures de grande importance dans l'identification des espèces et qui permet de corréler l'anatomie de l'organe avec les conditions environnementales qui caractérisent leurs biotopes.

2.1. Étude morphologique

Les différents organes d'*O. vulgare* ont été décrits et illustrés en photos numériques, certains détails ont pu être observés par le binoculaire.

2.2. Étude anatomique

Elle a été effectuée selon les étapes suivantes (**Langeron, 1934**):

✚ Réalisation des coupes de l'organe à étudier :

A l'aide d'une lame, on a coupé l'organe de façon à obtenir des coupes fines et perpendiculaires à l'axe de l'organe. Puis elles ont été immédiatement recueillies dans l'eau pour éviter leur dessèchement

✚ Coloration des parois : les coupes ont été immergées dans quatre bains successifs :

1. Bain dans l'eau de javel pendant 30 minutes, le but étant de vider les cellules de leur contenu cytoplasmique, il ne reste que les parois squelettiques.
2. Bain dans l'acide acétique (fixateur) pendant 02 minutes, le but étant d'augmenter l'affinité des différentes membranes et parois cellulaires aux deux colorants.
3. Bain dans le vert de méthyle pendant 03 minutes, il colore les structures lignifiées et sclérifiées en vert.
4. Bain dans le rouge Congo pendant 03 minutes, il colore les structures celluloses en rose.

➤ Matériels d'observation

- Microscope optique (Optika).
- Binoculaire (Zeiss).

3. Étude ethnobotanique

L'ethnobotanique, contraction d'ethnologie et de botanique, est la science qui étudie l'interaction des groupes humains avec des plantes

Afin de d'évaluer l'état de connaissances d'un échantillon de populations appartenant aux wilayas de Guelma, Khenchela et Tébessa sur l'utilisation de l'origan, nous avons effectué une enquête ethnobotanique, selon un échantillonnage aléatoire qualitatif.

3.1. Présentation des régions d'étude

L'enquête a été réalisée dans trois régions de l'Est algérien à savoir les wilayas de Guelma, Tébessa et khenchela (**Figure 24**).



Figure 24. Carte des régions où a été effectuée l'enquête ethnobotanique (www.apiservices.biz)

3.2. Méthodologie

Le questionnaire peut comporter différents types de questions. Selon l'information désirée, le chargé d'étude va privilégier une catégorie de question plutôt qu'une autre. On distingue deux grandes catégories de questions : les questions fermées et les questions ouvertes. La première catégorie consiste à proposer au répondant un choix de réponses préalablement définies par l'enquêteur. La seconde catégorie vise à laisser l'interviewé répondre librement à la question. Egalement Selon les réponses attendues de questionné on peut opter pour les questions qualitatives à réponses uniques ou les questions qualitatives à réponses multiples.

L'étude ethnobotanique de la plante médicinale *O. vulgare* a été effectuée selon un est échantillonnage aléatoire auprès de 221 personnes vivant dans les trois wilayas en question à l'aide d'un questionnaire du type qualitatif, les réponses ont été illustrées par des graphiques (Cammembert et histogrammes) pour peuvent améliorer la présentation des résultats

3.3. Le questionnaire

L'étude ethnobotanique a été menée par une série de questions de type qualitatif. On en a utilisé deux sortes : la question qualitative dichotomique qui accepte comme seule et unique réponse entre deux propositions. Ces propositions pour ce type de questions sont généralement des affirmations ou négations comme « oui » et « non », comme pour la question n°4 : « connaissez-vous l'origan ? ». D'autres questions sont signalétiques comme, la question n°1 (région), la question n°2 (sexe) et la question n°3 (âge).

Les questions qualitatives à réponses multiples qui permettent une richesse de collecte et une certaine liberté pour le questionné: c'est le cas des questions n° 5 « Quelle est la source de votre information ? », la question n°6 « Utilisez-vous l'origan ? », la question 7 « Quelle est la provenance de cette plante ? », la question 8 « Quelle est la partie utilisée ? » et la question 9 « Quel est le mode de préparation ? ».

Deux questions ont été formulées selon le type qualitatif ouvert pour les questions 10 et 11 et qui sont respectivement : « Quelles sont les maladies traitées par l'origan » et « recettes » (**Figure 25**).

Université Chadli Benjdide (El Tarf)

FICHE D'ENQUETE

Origanum vulgare L. (Origan, Zaatar, زعتر) :

1. Région:

2. Sexe: M F

3. Age : <20 [20-40[ans [40-60[ans >60 ans

4. Connaissez-vous l'origan ? Oui Non

5. Quelle est la source de votre information ?

Famille Étude Média Autre

6. Utilisez-vous l'origan ? Oui Non

7. Quelle est la provenance de cette plante ?

Herboriste Cueillette Culture Autre

8. Quelle est la partie utilisée?

Feuille Tige Racine Plante entière Autre

9. Quel est le mode de préparation? Décocté Infusion Macération

10. Quelles sont les maladies traitées par l'origan ?/ Les indications thérapeutiques.

11. Recettes.....
.....

Figure 25. Fiche d'enquête

4. Extraction et analyse chimique de l'HE d'*O.vulgare*

Les feuilles d'*O. vulgare* ont été récoltées au stade de la floraison en mi-juin 2014.

4.1. Extraction de l'HE par hydro distillation

- **Principe**

Il s'agit de l'un des procédés d'extraction ou de séparation de certaines substances organiques les plus anciens, apporté par les Arabes au IX^e siècle. Cette opération s'accomplit dans un distillateur ou « alambic ». Le matériel végétal est supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat (Belaiche, 1979). Les parties insolubles sont séparées de l'eau par décantation pour donner l'HE (Garnero, 1991 ; Belaiche, 1979).

- **Protocole**

L'HE a été extraite par l'entraînement à la vapeur (Photo 03) pendant 3 heures en utilisant un appareil de type Clevenger, au niveau du laboratoire de Biologie végétale du département de Pharmacie, (Faculté de Médecine, Université Badji Mokhtar, Annaba).

Pour cela, 100 g de feuilles préalablement séchées à l'ombre ont été émiettées puis mises dans un ballon avec une quantité d'eau distillée, le ballon a été par la suite porté à ébullition sur un chauffe ballon.

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la quantité d'HE récupérée et la quantité de la matière végétale sèche traitée (Akrouf, 2001), il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

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

Sachant que

- R : rendement de l'huile essentielle
- P_b : poids de l'huile essentielle récupérée en gramme
- P_a : poids de la matière végétale sèche en gramme



Photo 03. Montage d'extraction de type Clevenger (Mahfouf, 2014)

4.2. Analyse des constituants chimiques de l'HE par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CPG/MS

a) La Chromatographie en phase gazeuse

- **Principe**

La CPG est l'une des techniques les plus utilisées en analyse quantitative et qualitative. Elle s'est répandue de part son coût relativement modéré ou encore ses possibilités d'automatisation. Son principe est basé sur la séparation de composés gazeux selon leur affinité pour la phase stationnaire (colonne). L'appareil est un assemblage de plusieurs éléments (**Figure 27**) :

- le gaz vecteur ;
- le four ;
- l'injecteur ;
- la colonne ;
- le détecteur.

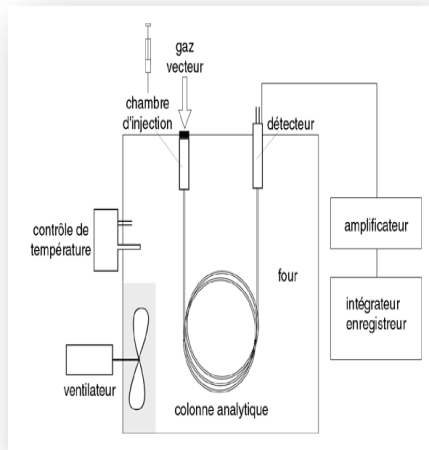


Figure 26. Les différents modules de la chromatographie en phase gazeuse (Fernandez & Chemat, 2012)



Photo 04 : Appareil de la CG / SM (C.R.D. Alphyte. Spa. Alger) (Mahfouf, 2015)

b) Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CPG/MS

Le couplage CPG/MS permet une approche plus précise de nombreuses applications de secteur de l'agroalimentaire et la technique de référence dans le domaine des HEs. Il permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse de différents constituants d'un mélange complexe.

✚ CPG /MS en mode impact électronique CPG/MS-IE

En mode impact électronique, le bombardement de substance par un faisceau d'électrons de l'ordre de 70 eV provoque leur ionisation et leur fragmentation. Les fragments ioniques positifs forment alors le spectre de masse caractéristique du composé. Les spectres de masse ainsi obtenus sont comparés avec ceux des produits de références contenus dans la banque de données (Longevialle, 1981 ; Constantin, 1996).

- **Protocole :**

L'analyse quantitative de l'HE d'*O.vulgare* a été effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse **Hewlett Packard Agilent 6890N**, piloté par **Chemstation (NIST002)**, d'une **Colonne capillaire HP5MS**, de 30 m de longueur, 0,25 mm de diamètre interne et 0,25 μm d'épaisseur de film (**Photo 04**). La température de la colonne est programmée de 60 °C pendant 2min ; à raison de 4 °C/min jusqu'à 100 °C pendant 0min,

puis à raison de 6 °C/min jusqu'à 220 °C pendant 10 min. La température de l'injecteur est de 250°C.

Le chromatographe en phase gazeuse est couplé à un spectromètre de masse **Agilent 5973**. Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 1 ml/min. L'HE est injectée automatiquement à un volume de 0.5 µl géré en mode Split 1/100. Le débit du gaz vecteur est fixé à 1 ml/min.

Les conditions opératoires sont les suivants :

- Températures : interface (280°C), source (230°C), quadripôle (150°C).
- L'énergie d'ionisation est de 70 eV.

5. Evaluation de l'activité antioxydante de l'HE par la méthode de piégeage du radical libre DPPH

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* de l'HE d'*O.vulgare* est réalisée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

➤ La méthode de piégeage du radical libre DPPH.

La méthode de DPPH a d'abord été décrite par **Blois en (1958)**, et a ensuite été largement modifiée par de nombreux chercheurs (**Pereira Nunes *et al.*, 2012**). Le DPPH (1,1-diphényl -2- picrylhydrazyle) (C₁₈H₁₂N₅O₆ ; M= 394,33g/mole) est un radical libre stable, de couleur violette qui réagit avec des composés qui peuvent donner un atome d'hydrogène, mais il est sensible à la lumière, à l'oxygène, au pH et à la nature du solvant utilisé (**Schever & Godoy, 2009**).

➤ Principe

A température ambiante, le radical DPPH présent, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons (**Figure 28**). Cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm (**Moon & Shibamoto, 2009**).

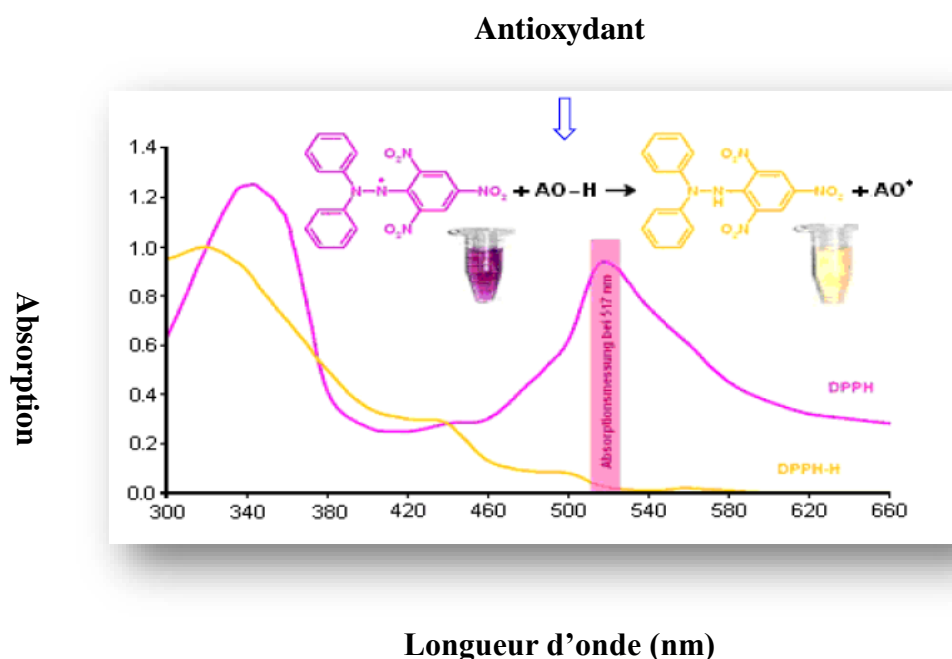


Figure 27. La structure du radical DPPH et sa réduction par un antioxydant (AO-H) (Boligon, 2014)

➤ Mode opératoire

La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol (elle ne se conserve pas plus de 4-5 jours à l'obscurité).

Un volume de 100 µl d'huile essentielle (à différentes concentrations) a été ajouté à 2 ml de la solution de DPPH. Le mélange réactionnel a été agité vigoureusement puis incubé pendant 30 min à l'obscurité. Les absorbances ont été mesurées à 517 nm contre le blanc (DPPH/méthanol).

L'inhibition du radical libre DPPH par des antioxydants synthétiques de référence (BHT, acide ascorbique) a également été réalisée dans les mêmes conditions.

NB : IL est nécessaire d'effectuer 3 répétitions pour chaque concentration de l'huile essentielle.

➤ Expression des résultats

L'activité antiradicalaire exprime la capacité de l'antioxydant à piéger le radical libre, elle a été estimée en pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le méthanol.

L'absorbance lue est ensuite transformée en pourcentage d'inhibition par rapport à l'absorbance de la solution témoin (Connan, 2004). Le pourcentage d'activité antioxydante a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

Sachant que **Abs** contrôle représente l'absorbance du blanc (DPPH/méthanol).

L'IC50 (inhibitory concentration 50% ; concentration inhibitrice à 50 %) permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % des radicaux DPPH. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées (Bentabet, 2014).

6. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'HE *d'O. vulgare* a été évaluée par deux méthodes :

- La méthode de diffusion en milieu solide.
- La méthode de dilution en milieu solide (incorporation). Qui permet la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) à partir d'une gamme de concentration de l'huile étudiée dans le milieu de culture.

Cette étude a été accomplie au niveau du laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Médecine d'Annaba.

6.1. Souches bactériennes

Les tests ont été effectués sur un total de 45 souches (Tableau 06), incluant des souches d'origine clinique, alimentaire ainsi qu'une souche de référence. Ces souches nous

Chapitre IV : Matériels et méthodes

ont été fournies par le laboratoire de microbiologie médicale du département de pharmacie (Faculté de Médecine, Université Badji Mokhtar, Annaba).

Tableau 06. Souches bactériennes tests

Gram	Famille	Genre	Espèce	Nombre de souches
Gram-	Enterobacteriaceae	Citrobacter	<i>Citrobacter spp.</i>	2
			<i>Citrobacter freundii</i>	1
		Enterobacter	<i>Enterobacter intermedius</i>	1
			<i>Enterobacter cloacae</i>	1
		Escherichia	<i>Escherichia coli</i>	12
		Hafnia	<i>Hafnia alvei</i>	1
		Klebsiella	<i>Klebsiella terrigena</i>	2
		Salmonella	<i>Salmonella spp.</i>	4
		Serratia	<i>Serratia marcescens</i>	1
			<i>Serratia spp.</i>	1
	Shigella	<i>Shigella spp.</i>	1	
	Pseudomonaceae	Pseudomonas	<i>Pseudomonas spp.</i>	4
	Moraxellaeae	Acinetobacter	<i>Acinetobacter spp.</i>	4
Gram+	Bacillaceae	Bacillus	<i>Bacillus sphaericus</i>	1
	Micrococcaceae	Staphylococcus	<i>Staphylococcus aureus</i>	9
Total	5 familles	12 genres	15 espèces	45 souches

➤ Milieux de culture :

Selon les méthodes employées, nous avons utilisé les milieux de cultures suivants:

- Gélose Nutritive : Milieu d'isolement et de conservation non sélectif.
- Gélose Mueller Hinton : Milieu de croissance microbiologique qui est couramment utilisé pour les tests de sensibilité aux antibiotiques.

➤ Conservation des souches

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

6.2. Étude de l'activité antibactérienne de l'HE

6 2. 1. Evaluation qualitative de l'activité antibactérienne (aromatogramme):

➤ Principe

Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques, préalablement sélectionnées et reconnues.

L'aromatogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode de disques est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis d'une substance réputée antibactérienne. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des **HEs** à l'intérieur d'une boîte de Pétri, dans un milieu nutritif solide (Mueller Hinton).

Le protocole de base des aromatogrammes qu'on a adopté est celui qui a été proposé par **Duraffourd (1990)**, auquel quelques modifications ont été apportées.

➤ Réactivation des souches bactériennes

Pour préparer des suspensions bactériennes selon les normes du CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute). Les souches bactériennes sont réactivées par repiquage à partir du milieu de conservation sur milieu de culture solide, (gélose nutritive) préalablement fondu, coulé dans des boîtes de Petri sur 4 mm d'épaisseur (les boîtes doivent être refroidies et séchées avant d'êtreensemencés).

Après 24 h d'incubation à l'étuve (37°C), les boîtes sont retirées et les cultures pures et jeunes serviront à la préparation des suspensions bactériennes.

➤ Préparation des suspensions bactériennes

La méthode de préparation de l'inoculation est celle préconisée par la CLSI qui consiste à préparer, à partir d'une culture de 18 à 24h de la bactérie étudiée sur le milieu gélosé, une suspension en solution saline (0.9%NaCl) équivalente au standard McFarland 0.5 (10⁶CFU/ml). Cette suspension peut être obtenue par la mesure de la densité optique (DO) allant de 0.08 à 0.1 lue à 625nm.

➤ Ensemencement

- Couler les milieux de culture, gélose de Muller-Hinton pour toutes les souches bactériennes choisies dans les boîtes de Petri à une épaisseur de 4mm à proximité du bec Benzène et laisser le milieu se solidifier.
- Les boîtes séchées sontensemencées à partir des suspensions bactériennes à l'aide des écouvillons stériles.

Chapitre IV : Matériels et méthodes

- L'écouvillon est imbibé de la suspension bactérienne, essoré contre la paroi interne du tube à essai.
- L'ensemencement se fait par des stries serrées, de haut en bas.
- L'opération est répétée deux à trois fois, en tournant la boîte 60 ° à chaque fois.
- L'écouvillon doit être passé sur la périphérie de la gélose.

➤ Distribution des disques

- Les disques stériles de papier buvard de 6 millimètres de diamètre, sont saisis à la pince stérile et imprégnés de 10 µl d'huile essentielle.
- Les disques sont appliqués à la surface des milieux de cultures précédemment ensemencés.
- Incubation à l'étuve (37 c) pendant 18 à 24 heures.

➤ Lecture

Après incubation de 24 h, l'absence de croissance bactérienne exprimant une activité antimicrobienne se traduit par un halo translucide autour du disque, de même couleur que la gélose stérile et dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (exprimé en mm). Il est important de noter que la quantité d'HE déposée sur le disque varie selon les auteurs, excluant toute comparaison des valeurs des diamètres mesurés (Pibiri, 2006).

6. 2. 2. Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne (calcul des CMI)

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration en extrait pour laquelle, aucune croissance visible à l'œil nu n'est observée (Skandamis & Nycha, 2001), elle a été déterminée par la méthode de dilution en milieu solide ; décrite par Benjilali *et al.* (1986) et rapporté par Billerbeck *et al.* (2002), et qui consiste à disperser l'extrait à des concentrations variables dans le milieu gélosé avant sa solidification, donc une gamme de concentration de l'HE diluée dans le DMSO a été préparée, chaque dilution d'HE (500µl) a été incorporée à 19,5ml de MH maintenu en surfusion. Aussitôt, le mélange a été réparti dans des boîtes de Pétri.

Après solidification du milieu, l'ensemencement a été exécuté par des spots à l'aide d'une pipette Pasteur. L'ensemble a été incubé 24h à 37C°. Un témoin de croissance a été réalisé (Figure 28).

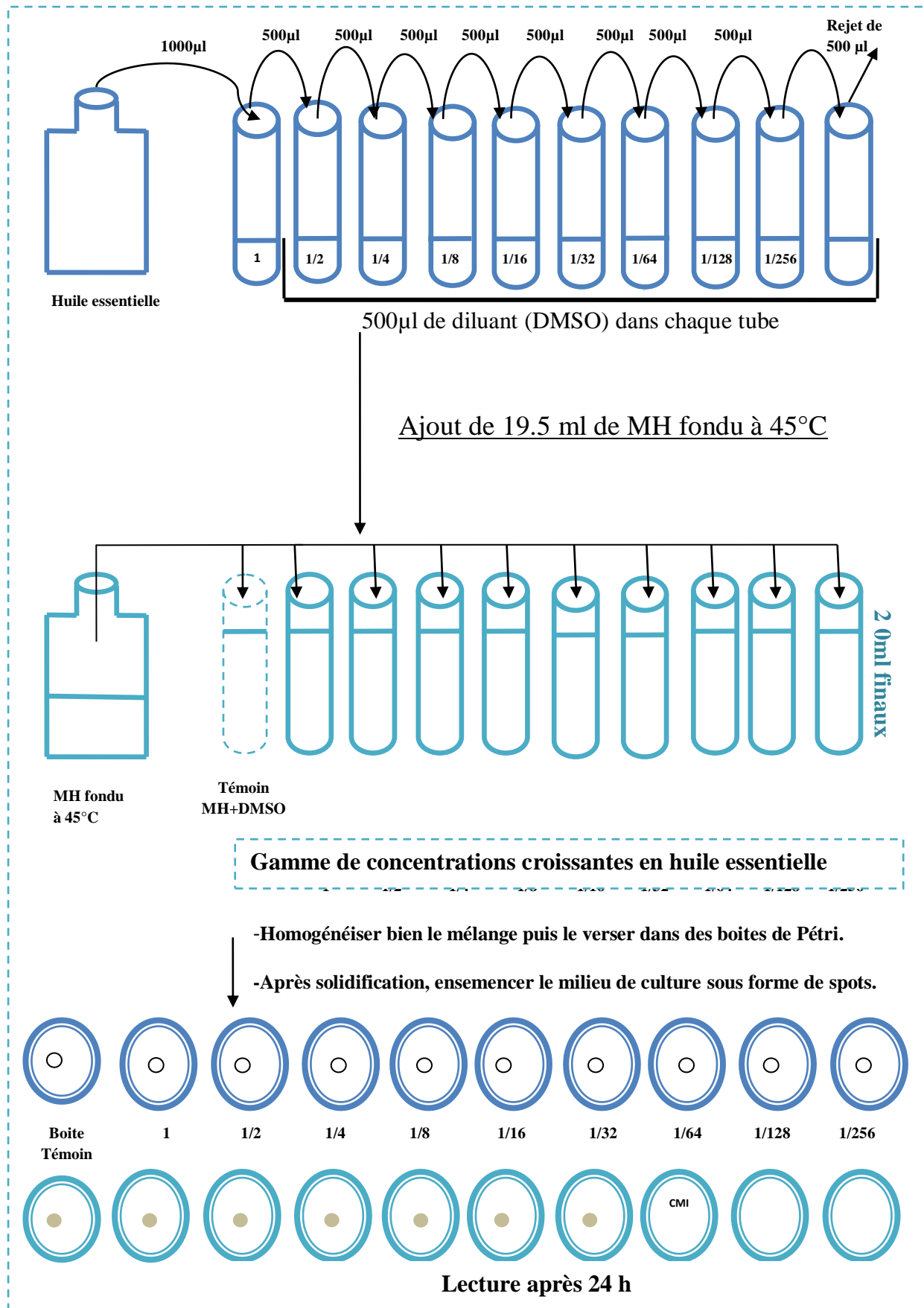


Figure 28. Détermination de la CMI sur milieu solide (Mahfouf, 2017)

7. Activité insecticide

Pour tester l'activité insecticide de l'HE d'origan, nous avons travaillé sur un insecte qui est la Pyrale de la farine « *Ephestia kuehniella* » (**Figure 19**), obtenue à partir des moulins Seybousse d'Annaba. C'est une mite des denrées stockées. Les larves de cette pyrale s'attaquent essentiellement à la farine ou à la semoule, aux grains de céréale (blé, maïs et riz), et plus exceptionnellement aux fruits desséchés (raisins, figues, abricots) (**Doumandji-Mitichi, 1997**).

7.1. Elevage

L'élevage est conduit au laboratoire dans une étuve sous des conditions optimales de développement, caractérisées par une température de 27°C, une humidité relative voisine à 70% et à l'obscurité. Les insectes sont déposés dans des jarres en verre recouvertes d'un morceau de tulle maintenu par un élastique. Un suivi quotidien de l'élevage permet de prélever des larves mâles ou femelles dans des boîtes contenant de la farine et du papier plissé, permettant aux larves de se nymphoser (**Photo 05**).

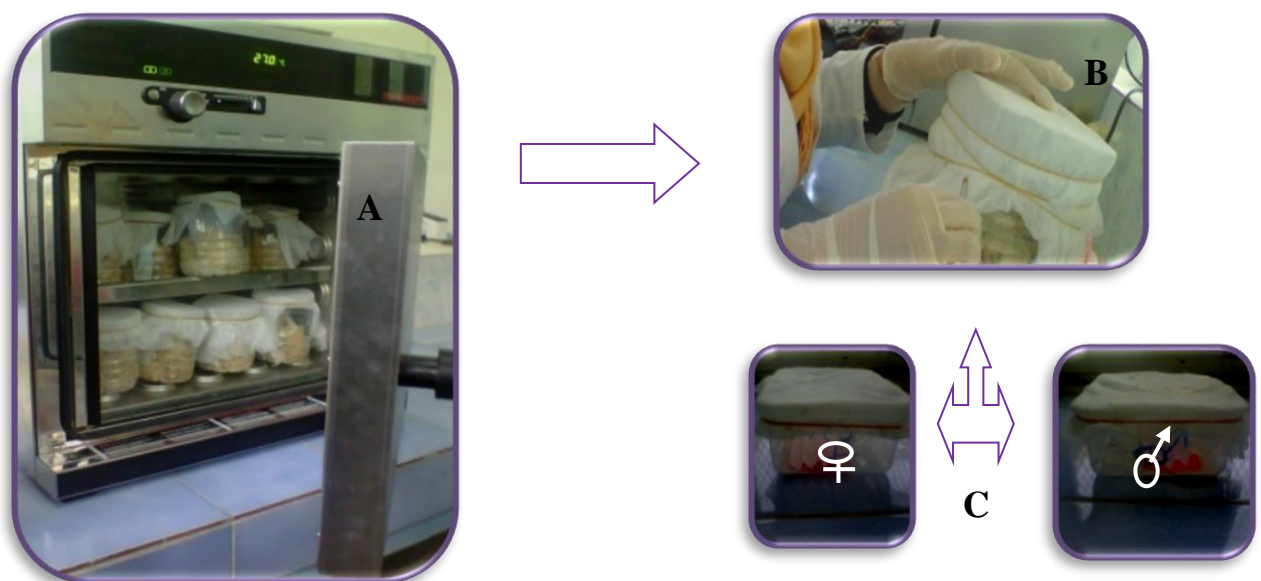


Photo 05. Élevage de masse des insectes au laboratoire (A): élevage de masse dans l'étuve; (B): prélèvement des larves; (C): séparation des sexes (**Mahfouf, 2016**)

7.2. L'effet bio-insecticide de l'HE

Pour évaluer l'effet bio insecticide de l'HE brute, cette dernière a été administrée aux insectes par saturation de leur environnement (par inhalation).

7.2.1. Période du développement nymphal

C'est la durée en jours qui sépare l'exuviation nymphale et l'exuviation adulte. Afin d'estimer l'effet du bio pesticide sur cette période, l'HE d'origan (**500 µl**) a été pulvérisées sur un papier plissé, sur lequel on dépose des nymphes nouvellement exuvées. Le papier plissé des témoins ne subit aucun traitement. La datation des nymphes se fait en jour après l'exuviation nymphale.

Dès leur exuviation adulte, un couple est déposé dans un tube contenant 30g de farine avec un papier plissé afin d'estimer la durée des périodes de pré-oviposition et d'oviposition.

7.2.2. Estimation de l'effet de l'HE sur la période de pré-oviposition : est la détermination de jours séparant l'émergence adulte et le début de ponte.

7.2.3. Estimation de l'effet de l'HE sur la période d'oviposition : déterminée par le nombre de jours de ponte.

7.2.4. Estimation de l'effet de l'HE sur la fécondité des femelles : est le nombre d'œufs déposés par une femelle durant toute sa période d'oviposition.

7.2.5. Estimation de l'effet de l'HE sur la longévité des adultes

Pour estimer l'effet bio pesticide de l'HE, cette dernière a été administrée aux insectes par saturation de leur environnement (par inhalation). Ainsi, la dose de l'HE a été pulvérisée sur un papier plissé déposé dans un tube contenant 30g de farine et infestés par 10 adultes (mâles et femelles) nouvellement exuvies.

Le taux de mortalité est estimé par le pourcentage d'adultes morts après la saturation de leur milieu avec l'HE durant 12 jours successifs. Sept répétitions sont nécessaires pour le traitement statistique, les témoins ne reçoivent aucun traitement.

7.2.6. Test de répulsivité

Ce teste consiste à étudier l'effet répulsif de l'HE d'origan, sur le ravageur *E. kuehniella*. Pour cela, nous avons suivi le protocole suivant:

- Découpage de deux parties égales d'un papier consone avec une longueur équivalente à la longueur de la boite.

Chapitre IV : Matériels et méthodes

- Pulvériser une partie du papier avec la dose d'**HE** choisie (**500 µl**) et garder l'autre partie du papier sans traitement.
- Après évaporation du solvant, les deux parties du papier sont rassemblées par un ruban adhésif.
- 10 larves et adultes du même âge (dès leur exuviation) seront déposés au milieu de la boîte
- Au bout d'une demi-heure, on dénombre les insectes retrouvés sur chaque côté du papier (**Photo 06**).

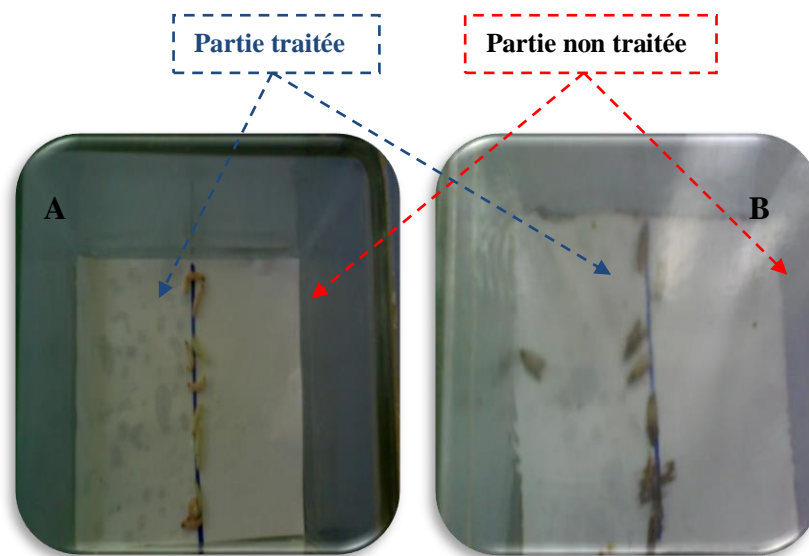


Photo 06. Estimation de l'effet répulsif sur les adultes et les larves. (A) : temps 0, (B) : après 30 minutes

Le pourcentage de répulsion (PR) est calculé comme suit :

$$PR = [(NC-NT) / (NC+NT)] * 100$$

NC : le nombre d'insectes présents sur la partie du papier non traitée

NT : le nombre d'insectes présents sur la partie du papier traitée avec une dose d'**HE** brute.

Le pourcentage de répulsion moyen pour chaque dose est calculé et l'huile sera attribuée à l'une des différentes classes répulsives selon le classement de **Mc Donald et al. (1970)** (**Tableau 07**).

Chapitre IV : Matériels et méthodes

Tableau 07. Pourcentage de répulsion selon Mc Donald *et al.* (1970)

Classe	Intervalle de répulsion	Propriété de la substance testée
0	PR<0,1%	Non répulsive
1	10-20 %	Très faiblement répulsive
2	20-40 %	Faiblement répulsive
3	40-60 %	Modérément répulsive
4	60-80 %	Répulsive
5	80-100%	Très répulsive

1. Identification botanique de l'espèce *O.vulgare*

La flore de l'Algérie est loin d'être suffisamment connue. L'identification nécessite un travail de recherche méticuleux, les herbiers sont parmi les outils essentiels. Récemment, grâce à une tendance mondiale de numérisation des herbiers, il est devenu plus ou moins facile d'identifier et classer une plante.

On a identifié l'espèce de la plante étudiée dans ce travail de recherche à partir de la description botanique faite sur le terrain et aussi à l'aide de l'herbier de l'Université Montpellier II (Institut de Botanique) (**Figure 29**). L'identification a été confirmée par le professeur Chefrour Azzeddine de l'université Cherif Messaadia (Souk Ahras). Il s'agit d'*Origanum vulgare* ssp. *glandulosum*.



Figure 29. Herbarium d'*Origanum vulgare* L. subsp. *glandulosum* (Desf.) Ietswaart
(Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris. <http://www.mnhn.fr>)

2. Caractéristiques physico-chimiques du sol abritant l'origan

Les résultats de l'analyse physico-chimique nous montrent que le sol de notre site d'étude est un sol limoneux demi-fins, très riche en matière organique, alcalin, non salé et calcaire (voir Annexe 03).

Les données bibliographiques sur le climat de Guelma (voir Annexe 03) et l'interprétation des résultats d'analyse des sols sont en accord avec les résultats de recherche sur l'origan, publiés par Caillaud, (2013). L'origan est une plante appréciant particulièrement les sols secs, calcaires et ensoleillés.

3. Étude morpho-anatomique

3.1. Étude macroscopique de l'espèce *O.vulgare*

Les fleurs sont rassemblées en inflorescences denses. (Photo 07).



Photo 07. Inflorescence de l'espèce *O.vulgare* (Mahfouf, 2014)

- ✚ Les fleurs sont zygomorphes à 5 pétales de couleurs roses. Elles sont hétéroclamides, le calice persistant, est formée de 5 gamosépales soudés à leur base, tandis que la corolle possède aussi 5 gamopétales avec un tube d'environ la moitié de la taille d'un pétale, les deux pétales supérieurs sont soudés entièrement entre eux, formant une lèvre supérieure, et les 3 autres pétales forment la lèvre inférieure trilobée (Photo 08).

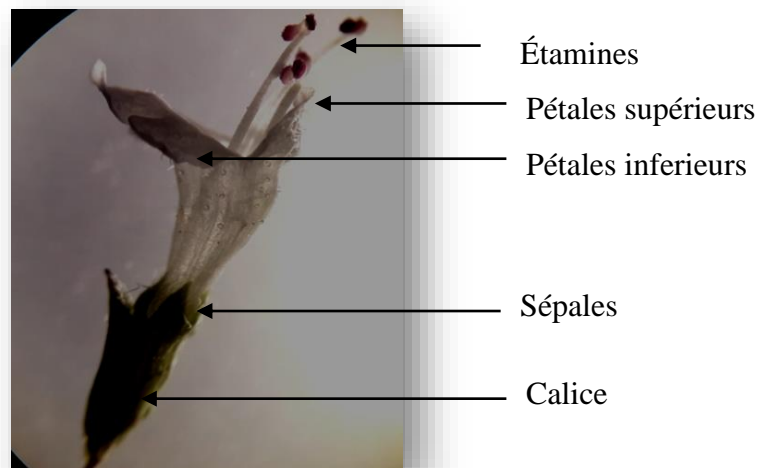


Photo 08. La fleur d'*O. vulgare* vue sous binoculaire (Mahfouf, 2014)

- ✚ Les 4 étamines sont droites, divergentes, de longueurs différentes : deux longues et deux courtes. Le style à stigmate bifide et les étamines dépassent du tube de la corolle et des 2 lèvres. (Photo 09), Ovaire formé de 2 carpelles biovulés.

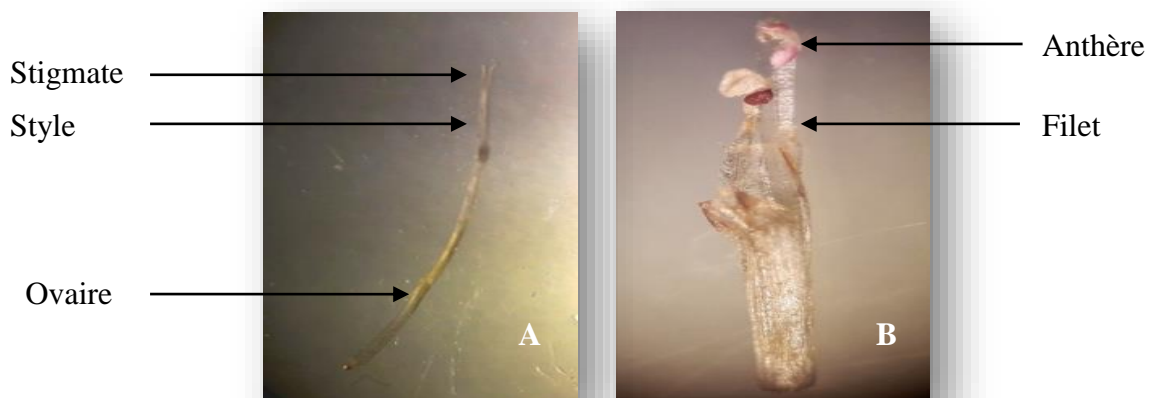


Photo 09. Appareil reproducteur de la fleur d'*O. vulgare*. (A) : Pistil, (B) : étamines vue sous binoculaire (Mahfouf, 2014)

Chapitre V : Résultats et discussions

- ✚ Les feuilles le long de la tige sont opposées (2 à 2). Elles sont pétiolées de forme lancéolée et de couleur vert brillant. La longueur du pétiole va de 3 à 6 mm. La taille de la feuille est de 15-28 mm de largeur pour une longueur de 25-40 mm.

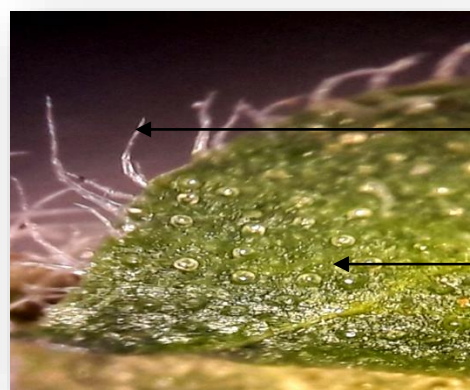
La feuille est recouverte par des poils non glandulaires (**Photos 10 et 11**). La distribution des poils est uniforme sur la surface de la feuille, il n'existe pas une accumulation particulière dans certains endroits. La feuille contient aussi des poils glandulaires (**Photo 12**) qui apparaissent transparentes et plus petits que les poils non glandulaires.



Photo 10. Aspect de la face supérieure d'une feuille d'*O.vulgare* vue sous binoculaire (**Mahfouf, 2014**)



Photo 11. Aspect de la face inférieure d'une feuille d'*O.vulgare* vue sous binoculaire (**Mahfouf, 2014**)



Poil non glandulaire (tecteur)

Poil glandulaire (sécréteur)

Photo 12. Les poils glandulaires et non glandulaires de l'espèce *O.vulgare* vue sous binoculaire (**Mahfouf, 2014**)

Chapitre V : Résultats et discussions

- ✚ La tige est dressée, donc orthotrope, elle est à quatre angles, possède une pubescence. Elle est recouverte par des poils non glandulaires (**Photo 13**).

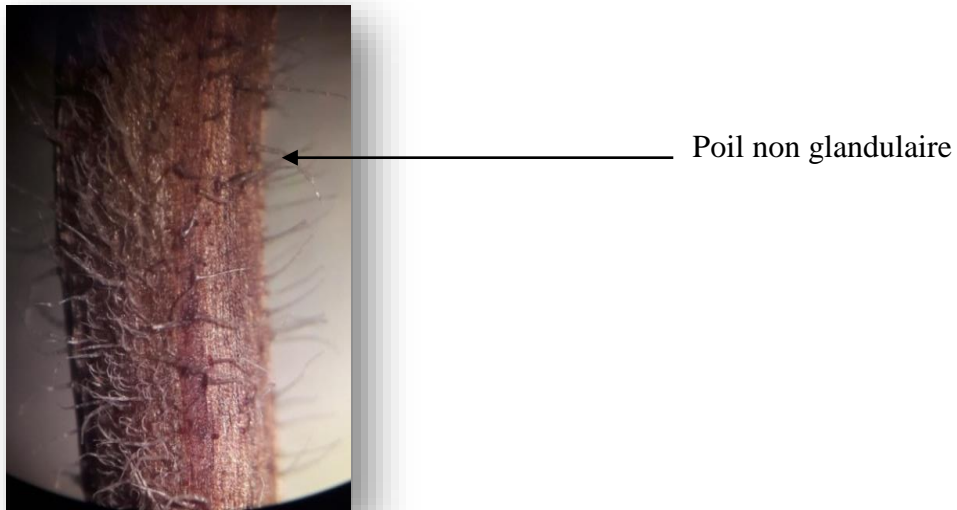


Photo 13. Aspect de la tige d'*O.vulgare* vue sous binoculaire (**Mahfouf, 2014**)

- ✚ Le rhizome (tige souterraine) est ligneux avec des rejets filamenteux traçant obliquement en terre, ceci confère à la plante un bon ancrage (**Photo 14**).

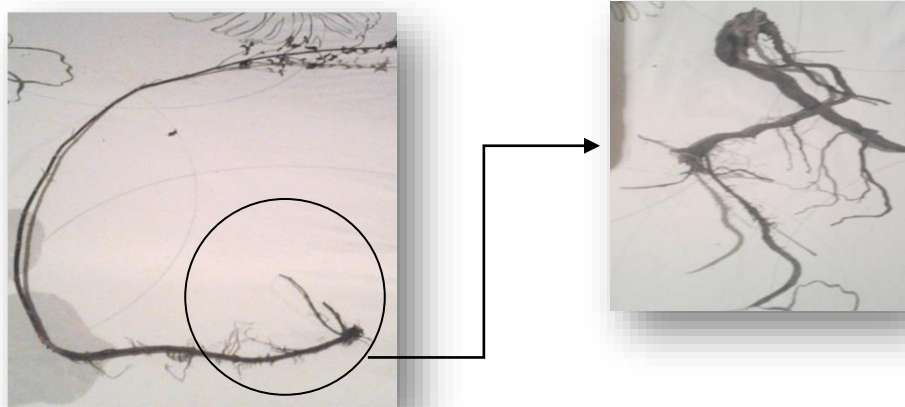


Photo 14. Racine d'*O.vulgare* (**Mahfouf, 2014**)

3.2. Étude anatomique

La feuille

L'observation microscopique de coupes transversales de la feuille d'*O. vulgare* a mis en évidence la structure bifaciale typique des Dicotylédones, elle présente une face supérieure avec un épiderme supérieur monostrate recouvert d'une cuticule et parsemé de poils tecteurs, de poils sécréteurs capités et peltés et de stomates ; la face inférieure présente un épiderme inférieur qui diffère de l'épiderme supérieur par une paroi faiblement cutinisée. Le mésophylle est hétérogène et comprend le parenchyme palissadique sous l'épiderme supérieur et le parenchyme lacuneux sous l'épiderme inférieur. La nervure principale comprend un faisceau libéro-ligneux avec le phloème du côté inférieur et le xylème du côté supérieur. **La Photo 15** nous a permis de constater que les cellules de l'épiderme inférieur apparaissent plus petites que celles de l'épiderme supérieur. D'après **Kintzios (2002)** les cellules épidermiques d'*O.vulgare* sont couvertes par une couche cubculaire relativement épaisse, adapté aux conditions sèches et réduisant ainsi les pertes en eau (**Photo 13**).

Kofidis et al. (2003) expliquent les variations de l'anatomie des feuilles d'origan selon le niveau d'altitude ou la saison, par le fait qu'une altitude plus élevée donne des feuilles au limbe plus grand et plus épais. Cette différence est due à une augmentation de la taille de cellules épidermiques et du mésophylle.

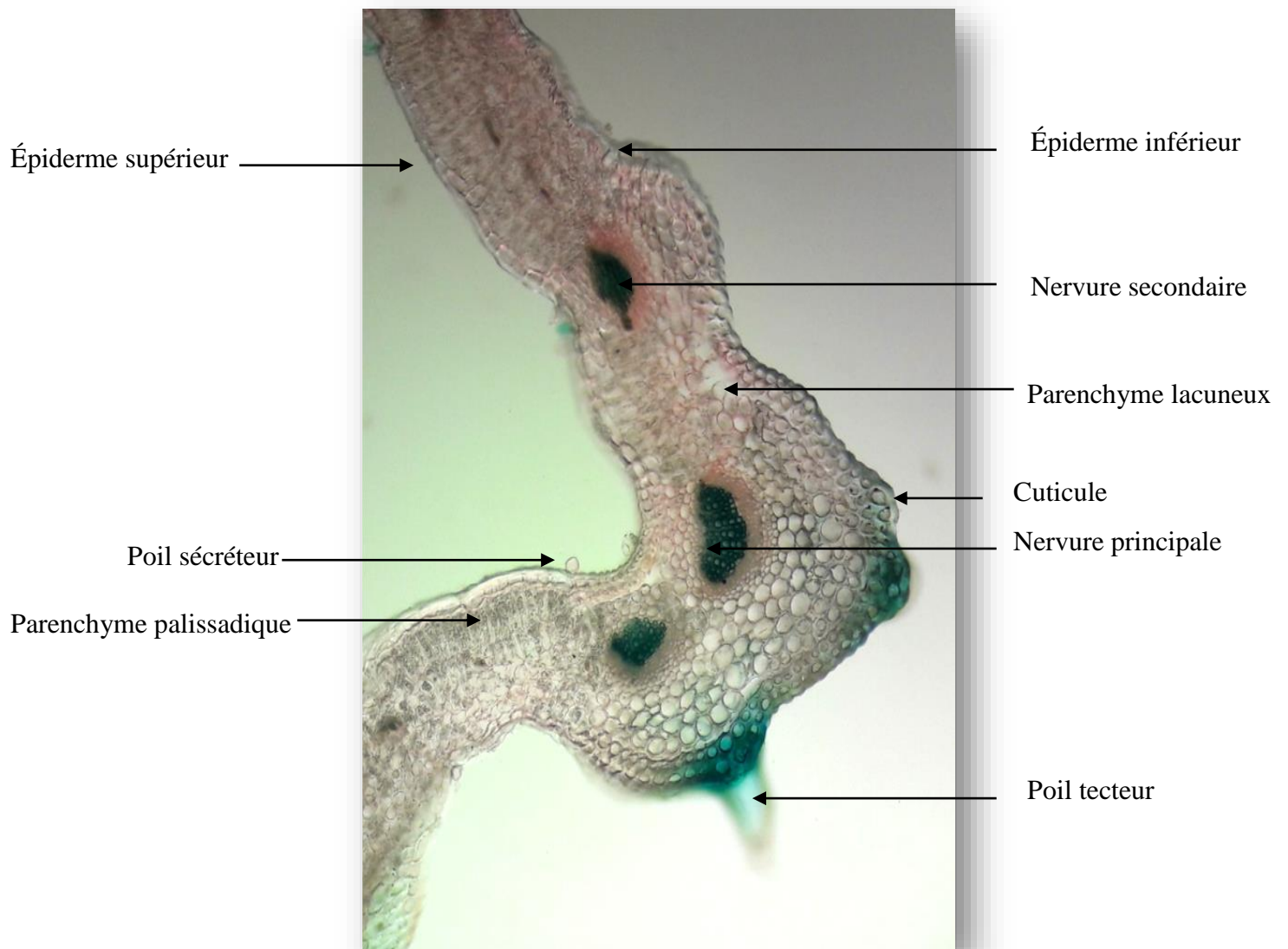


Photo 15. Coupe transversale de la feuille d'*O.vulgare* vue sous microscope optique (G x 40)

(Mahfouf, 2014)

On trouve des stomates sur les deux faces, mais leur nombre est plus important au niveau de l'épiderme inférieur (**Photo 16**).

Les stomates retrouvés chez les *Lamiacea* sont généralement de type diacytique, (c'est-à-dire que les cellules de garde du stomate sont entourées par deux cellules annexes, perpendiculaires aux cellules de garde) (**Caillaud, 2013**).



Photo 16. Détail des stomates sur la face supérieure d'une feuille d'*O.vulgare* (M.O : Gx40)
(Mahfouf, 2014)

La feuille est couverte de poils glandulaires et de poils non glandulaires. En ce qui concerne les rôles fonctionnels et écologiques de la pubescence végétale, les poils non glandulaires (**Photo 17, Annexe 01**) ont longtemps été considérés comme ayant une contribution significative à l'obstruction de la libre circulation des vapeurs d'eau à partir des stomates (transpiration), ainsi qu'à la réduction de la surchauffe des feuilles. Ils ont également été considérés comme créant des difficultés dans le mouvement, l'alimentation et l'oviposition des acariens et les pucerons sur la surface des feuilles (**Kintzios, 2002**).

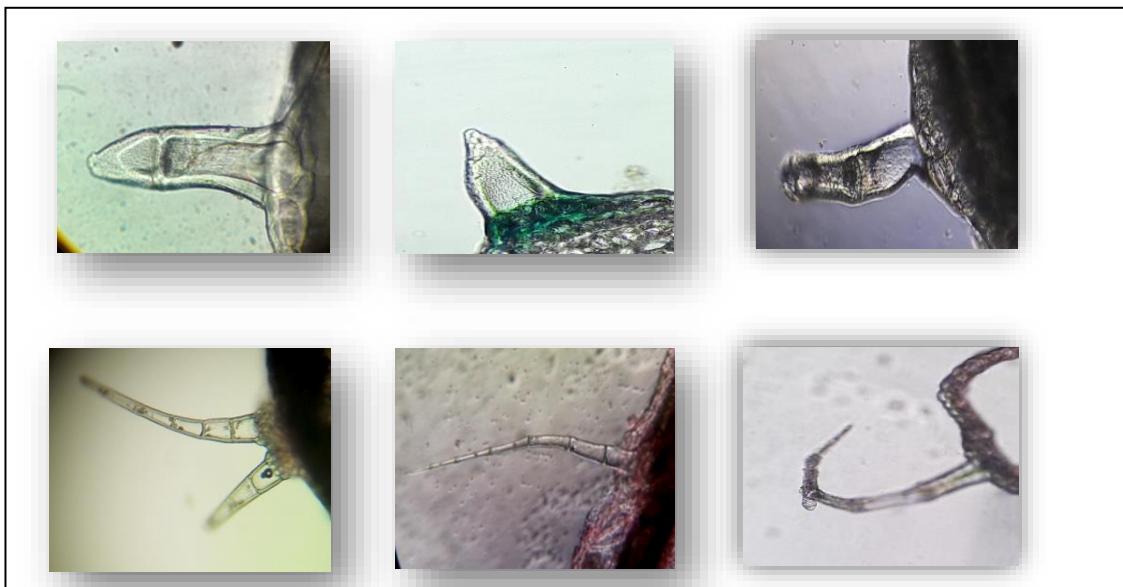


Photo 17. Détail des poils non glandulaires sur la feuille (M.O : Gx40)
(Mahfouf, 2014)

Chapitre V : Résultats et discussions

Les poils glandulaires sont présents sur tous les organes aériens de la plante (**Figure 18,**), ils semblent fonctionner de manière différente de celle des poils non glandulaires. Leurs sécrétions (monoterpènes, sesquiterpènes, phénoliques, esters de saccharose, etc.) semblent avoir un caractère répulsif sur les insectes nuisibles (**Levin, 1973**), rendent les feuilles toxiques pour les herbivores (**Klingauf et al., 1983; Bestmann et al., 1987**), et inhibent l'éclosion des œufs des insectes (**Konstantopoulou et al., 1992**) et fonctionnent comme collant piège (**Kowalski et al., 1988**). Les produits des poils glandulaires peuvent non seulement avoir un caractère répulsif pour les insectes (sécrétion des huiles essentielles), mais aussi attractifs, comme dans le cas des nectars, où ils jouent un rôle décisif dans le processus de pollinisation (**Fahn, 1979; Sawidis et al., 1989**). Chez les Lamiacées aromatiques on trouve deux types de glandes sécrétrices : les glandes capitées et les glandes peltées (**Perrin & Colson 1986**).

Chez l'espèce *O. vulgare*, on trouve des poils glandulaires capités de type I (**Photo 18**). Ils sont courts et constitués de trois cellules : une cellule basale, une pour la tige et une arrondie ou en forme de poire pour la tête. La tige et la tête ne sont pas orientées perpendiculairement à l'épiderme, mais penchent. Ceux de type II sont plus longs et constitués d'une cellule basale, d'une à trois cellules pour la tige et d'une cellule en forme de doigt ou de pilon pour la tête. Contrairement au type I, le type II est toujours orienté verticalement (**Kintzios, 2002**).

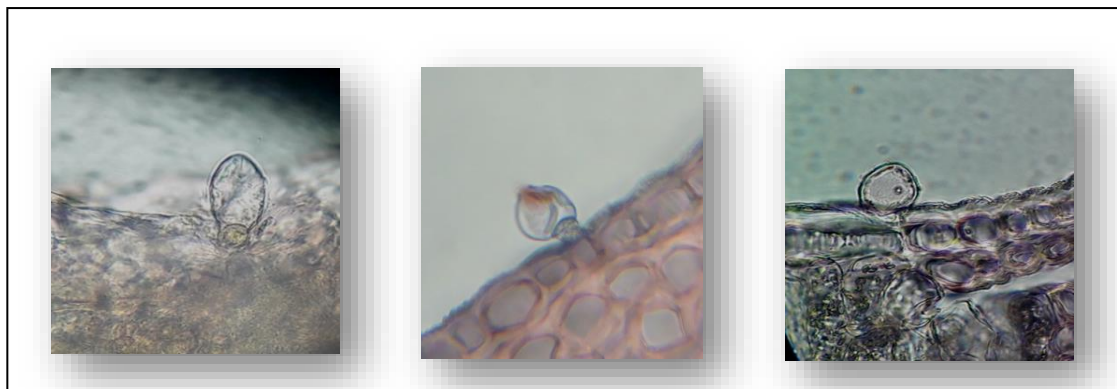


Photo 18. Glandes capitées sur des feuilles d'*O. vulgare* (M.O : Gx40)

(**Mahfouf, 2014**)

Chapitre V : Résultats et discussions

Les poils glandulaires de type pelté (**Photo 19**) sont courts, volumineux et composés d'une large cellule basale, d'une cellule aplatie pour la tige et d'une tête multicellulaire, ordinairement composée de douze à dix huit cellules. Seules les cellules de la tête sont capables de sécréter des huiles essentielles (**Caillaud, 2013 ; Gaspare et al., 2004**).

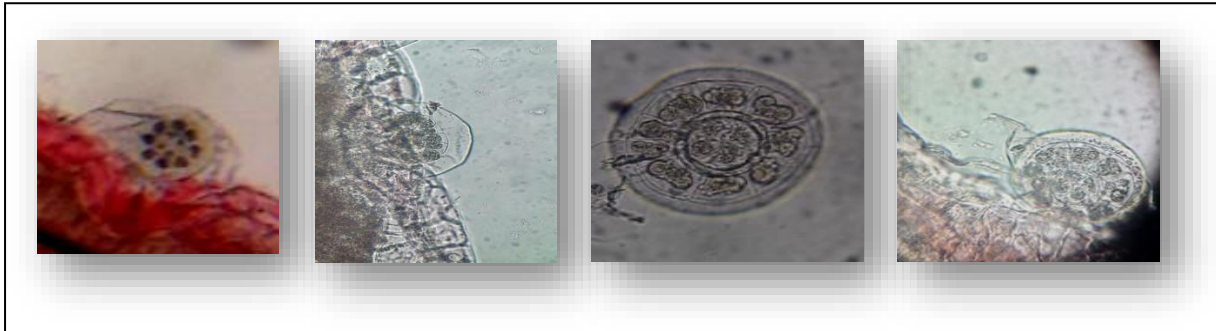


Photo 19. Détail des cellules sécrétrices d'une glande peltée sur la feuille d'*O. vulgare*
(M.O : Gx40) (**Mahfouf, 2014**)

La tête pluricellulaire de la glande sécrétrice est recouverte d'une "peau" appelée cuticule. Au fur et à mesure que les cellules sécrétrices vont produire l'huile essentielle, celle-ci va être accumulée sous la cuticule qui se soulève petit à petit et laisse échapper l'HE (**Photo 20, Figure 30**).

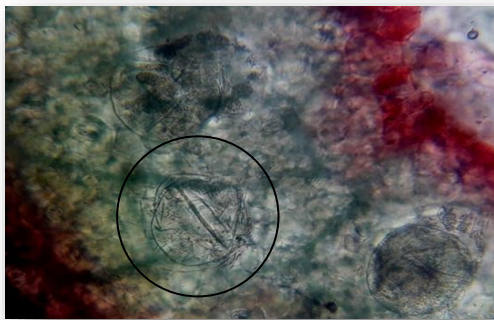


Photo 20. Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inférieure de la feuille d'*O. vulgare* (M.O : Gx40) (**Mahfouf, 2014**)



Figure 30: Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inférieure de la feuille d'*O. vulgare* (Microscope électronique) (**Svoboda et al., 2000**)

La tige

L'observation microscopique de coupes transversales de la tige, effectuées au niveau des entre-nœuds de jeunes tiges, a mis en évidence les caractéristiques d'une structure secondaire.

Chapitre V : Résultats et discussions

Comme vu précédemment, en tant que plantes appartenant à la famille des Lamiaceae, *O. vulgare* présente une tige carrée en coupe transversale. (**Photos 22**).

La partie externe des coupes est limitée par l'épiderme, suivi du parenchyme cortical et plus à l'intérieur du cylindre central. La surface de l'épiderme monostrate, recouverte par la cuticule, présente de nombreux poils tecteurs et sécréteurs (**Photo 21**). La partie externe du parenchyme cortical est occupée par du collenchyme monostrate; vers l'intérieur se trouve le parenchyme cortical pluristrate. Le cylindre central occupe la majeure partie des coupes ; il est formé par le péricycle accompagné par les groupes de fibres scléreuses, le liber, le cambium, le xylème et les rayons médullaires (**Photo 23**).

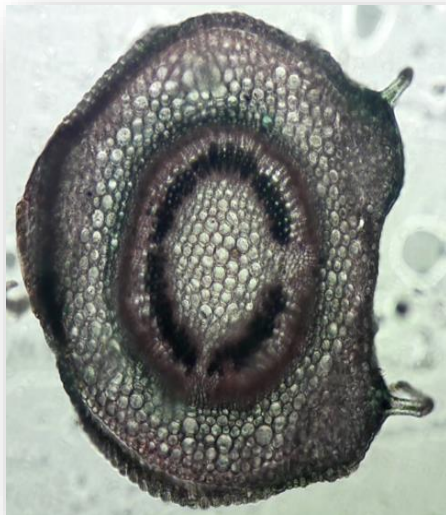


Photo 21. Coupe transversale de d'une tige jeune d'*O.vulgare* , vue à la loupe (**Mahfouf, 2014**)



Photo 22. Coupe transversale de d'une tige agée d'*O.vulgare* , vue à la loupe (**Mahfouf, 2014**)

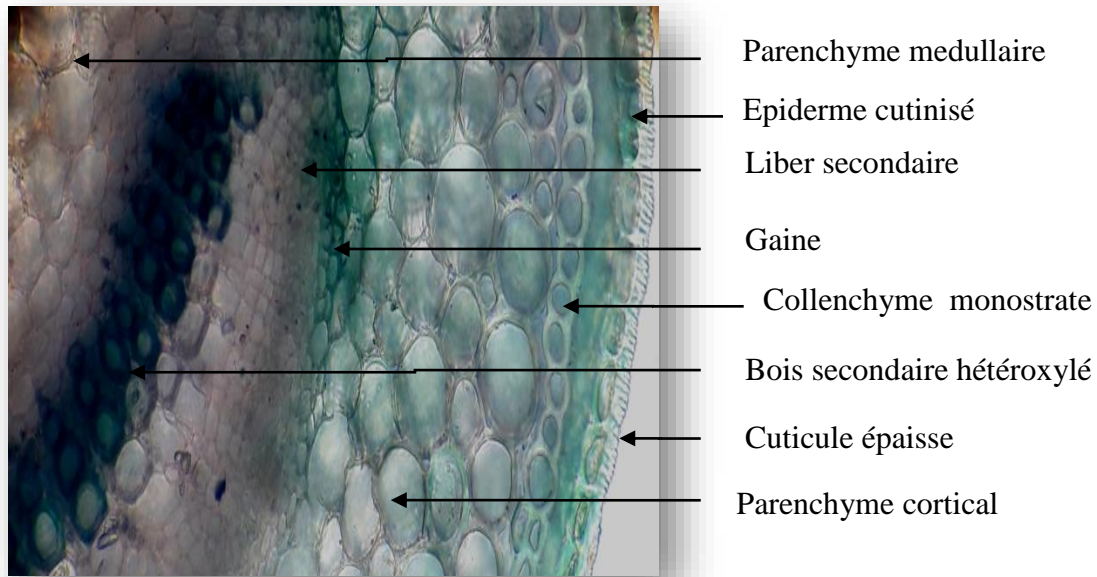


Photo 23. Coupe transversale de la tige, vue au microscope optique (Gr x 40) (Mahfouf, 2014)

✚ La racine

La coupe histologique au niveau d'une racine jeune a montré la structure suivante : le tissu le plus externe est l'assise subéreuse (**Photo 24**). La plus grande partie de la racine est composée du cylindre central qui occupe une position centrale. Son péricycle est constitué de petites cellules parenchymateuses arrangées en une seule strate.

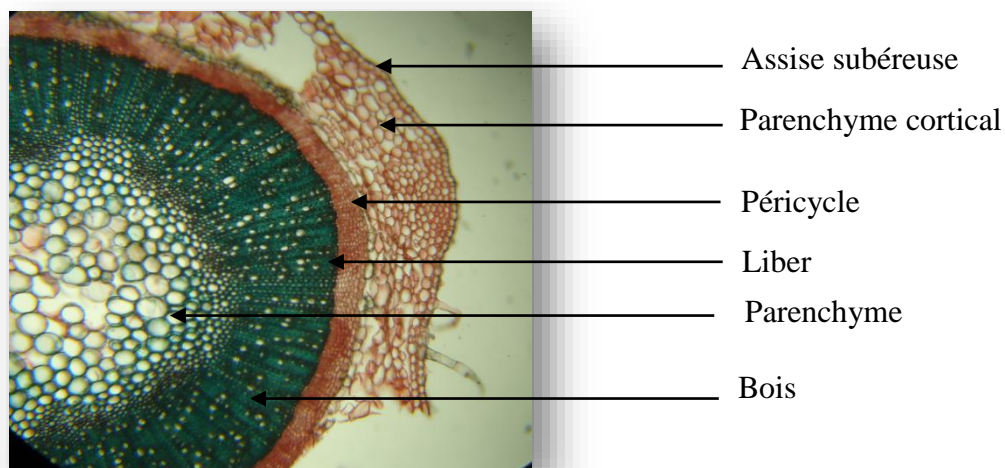


Photo 24. Structure secondaire d'une racine jeune d'*O.vulgare* (Gx40) (Mahfouf, 2014)

4. Étude ethnobotanique

4.1. Répartition selon le sexe

Dans un premier temps, nous pouvons constater que le questionnaire a, en majorité, été rempli par des femmes (62%) (**Figure 31**). Ceci peut être expliqué par l'utilisation des plantes médicinales par les femmes dans d'autres domaines que la thérapie et par leur responsabilité en tant que mères, ce sont elles qui donnent les premiers soins en particulier pour leurs enfants. En plus, ces dernières sont plus attentives à la santé des membres de leurs familles.

Ces résultats confirment les résultats d'autres travaux ethnobotaniques publiés, qui ont montré que les femmes sont plus détentrices du savoir phytothérapeutique traditionnel (**Salhi et al., 2010 ; Hélène, 2012**).

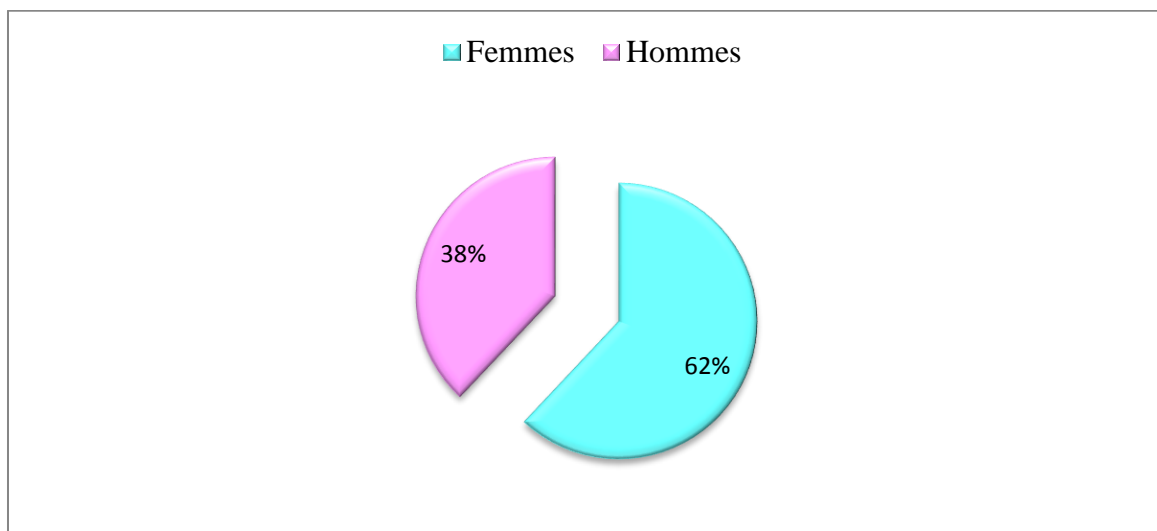


Figure 31. Répartition des enquêtés selon le sexe

4.2. Répartition selon l'âge

Dans cette enquête, 66,51% des personnes interrogées ont l'âge compris entre 20 et 40 ans, 15,83% de ces personnes ont moins de 20 ans, 11,31 % ont l'âge compris entre 40 et 60 ans et 6,33 % font partie de la tranche d'âge, 60 ans et plus (**Figure 32**).

Le groupe des plus de 60 ans est très peu représenté, peut être parce que le questionnaire était écrit et non verbal. De ce fait quelques personnes âgées intéressées par ce sujet ont répondu oralement.

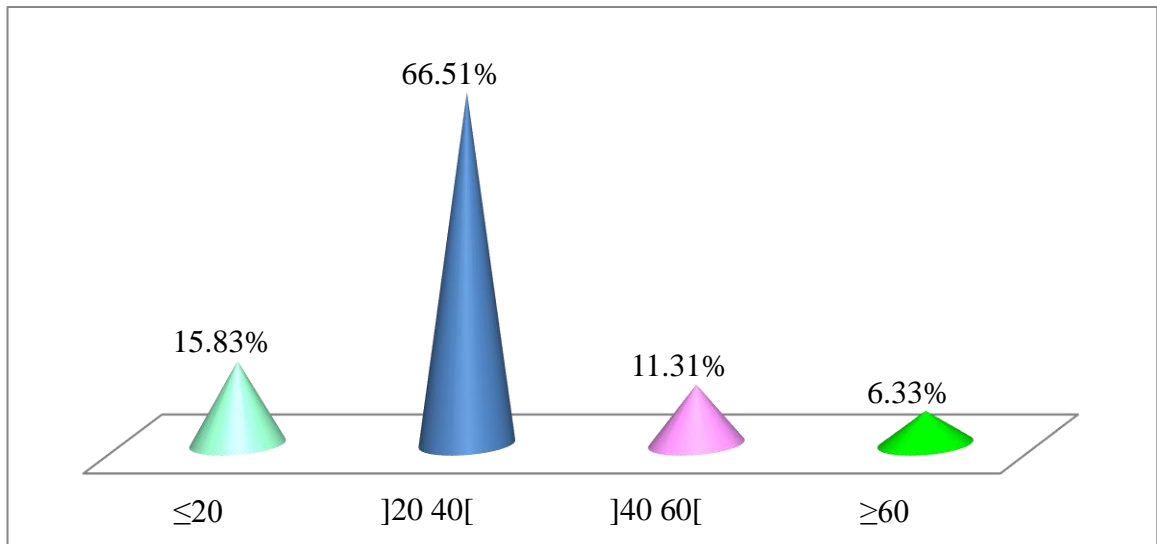


Figure 32. Répartition des enquêtés selon l'âge

4.3. Répartition selon la connaissance

98,64% des interrogés des trois régions connaissent l'origan contre 1,3% des enquêtés qui ne le connaissent pas (**Figure 33**). Ce qui montre l'importance que détient l'origan dans la phytothérapie locale.

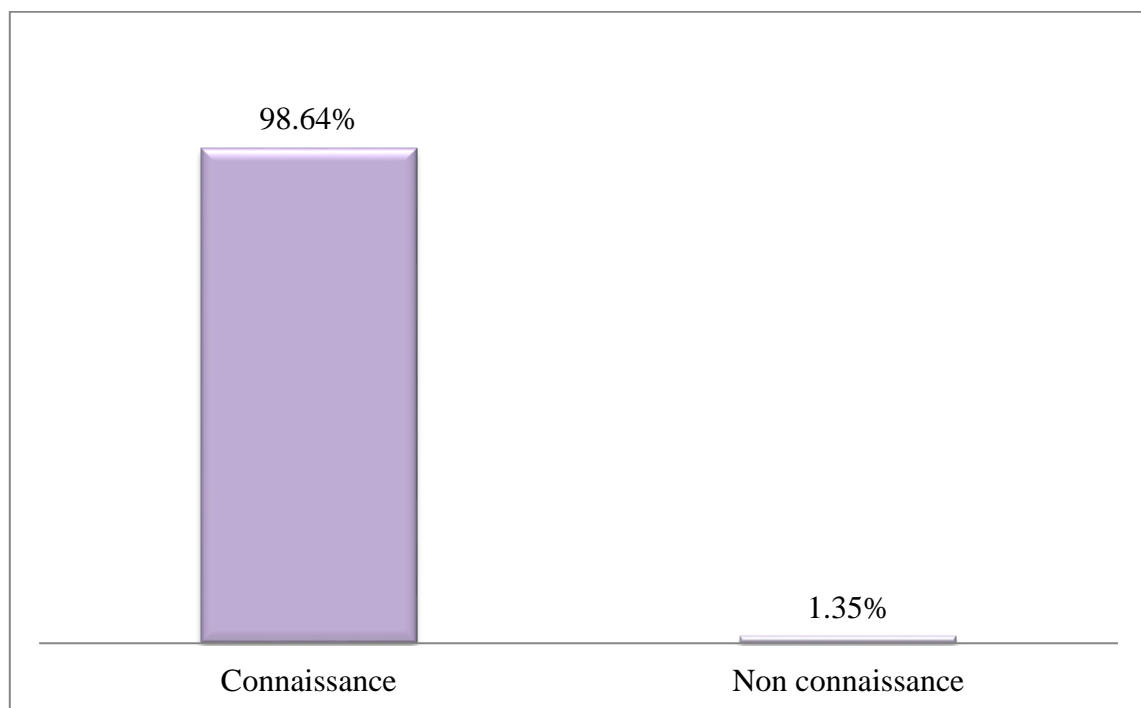


Figure 33. Répartition des enquêtés selon la connaissance de l'origan

Chapitre V : Résultats et discussions

Il faut noter, cependant que les gens ne font pas la différence entre les différentes espèces d'origan.

4.4. Répartition selon la source d'information

Vu le statut endémique de l'origan et ses vertus thérapeutiques confirmées depuis longtemps d'où leurs précieuses indications empiriques transmises de génération en génération; la principale source d'information des enquêtés reste toujours les connaissances héritées de leurs ascendants familiaux avec un pourcentage dominant de 71,49 %, ceci reflète l'importance de la transmission des pratiques traditionnelles d'une génération à l'autre (**Figure 34**). Les autres personnes recueillent leurs informations soit par les médias avec un taux de 13,57%, soit à travers des études et des ouvrages spécialisés avec un taux de 12,21 %. Enfin, 11,76% des enquêtés se réfèrent à d'autres sources telles que les herboristes ou bien en cueillant eux-mêmes la plante lorsqu'elle se trouve à proximité.

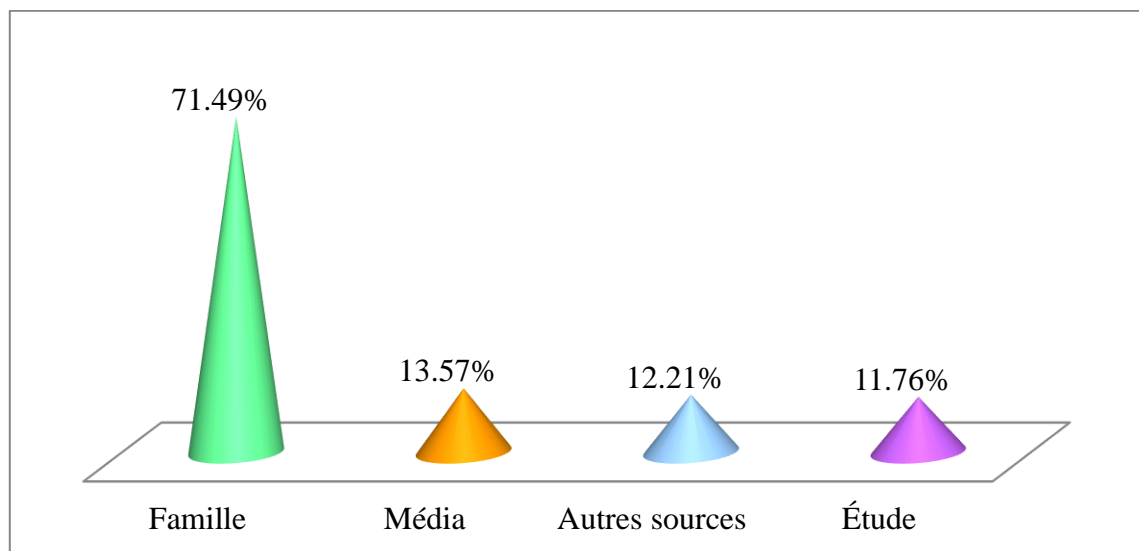


Figure 34. Répartition des enquêtés selon la source d'information

4.5. Répartition selon l'utilisation

Dans cet échantillon de 221 personnes, 77% utilisent fréquemment les plantes majoritairement sous forme de tisanes. Cet usage se fait en général pour les petits maux du quotidien (syndrome grippal, maux de ventre) (**Figure 35**).

Grâce à cette étude, on peut noter que pour la plupart des personnes interrogées, les plantes médicinales sont reconnues comme étant efficaces dans le traitement des pathologies et ont une véritable place au sein de leur prise en charge thérapeutique. Il s'agit d'une médecine

Chapitre V : Résultats et discussions

douce relativement bien tolérée lorsqu'elle est utilisée avec connaissance et précaution. Elle peut d'ailleurs être préconisée en première intention puisqu'elle permet de limiter la prescription et les abus de médicaments synthétiques.

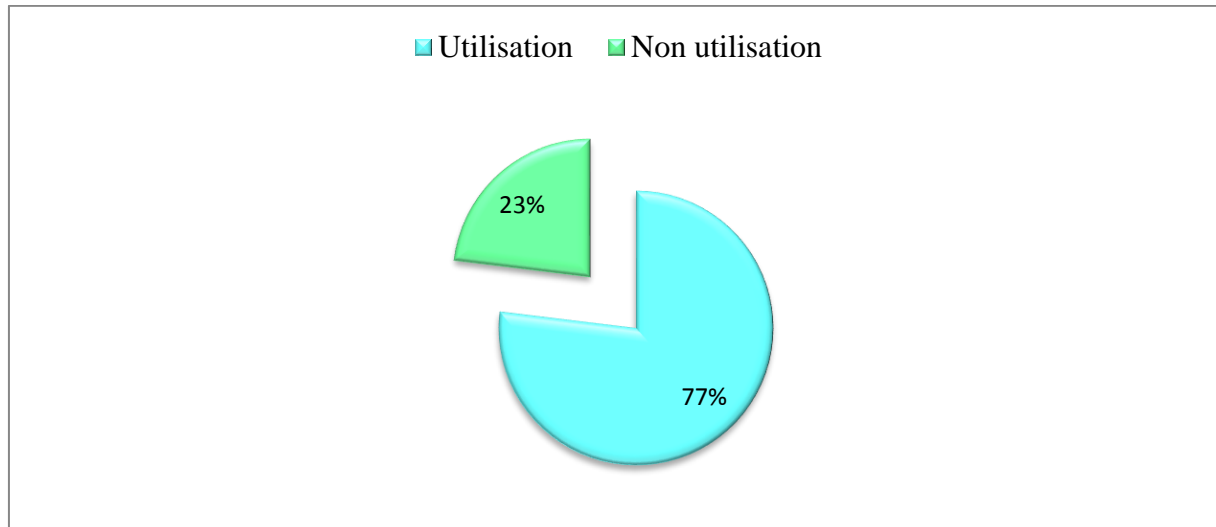


Figure 35. Répartition des enquêtés selon l'utilisation de l'origan

4.6. Répartition selon la provenance de la plante

Parmi les 221 personnes enquêtées, 66% achètent l'origan de chez l'herboriste, ce taux élevé est expliqué par leur mode de vie, la plus part d'entre eux sont citadins. 25% des enquêtés récoltent l'origan de son biotope naturel, cela est dû peut être à la gratuité et la proximité des plantes médicinales locales aux personnes qui habitent les zones rurales et 5% de ces personnes le cultivent (**Figure 36**).

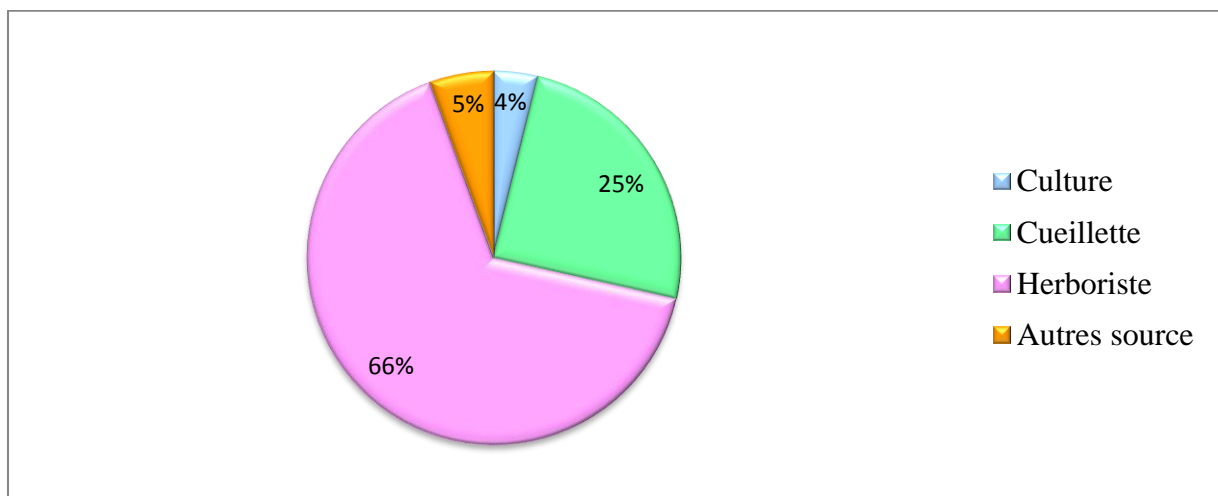


Figure 36. Répartition des enquêtés selon la provenance de la plante

4.7. Répartition selon la partie utilisée

Les parties de plantes qui sont le plus souvent utilisées en médecine traditionnelle sont : les graines, les racines, l'écorce, la plante entière, la partie aérienne, les feuilles, les sommités fleuries, la tige, les fleurs et les fruits.

Dans notre enquête, le pourcentage d'utilisation de différentes parties montre que la feuille est la plus utilisée (68%) (**Figure 37**), la tige occupe la deuxième place avec un pourcentage de 16 %, la racine occupe une place moyenne avec 13 % alors que 3 % des enquêtés affirment utiliser la plante toute entière.

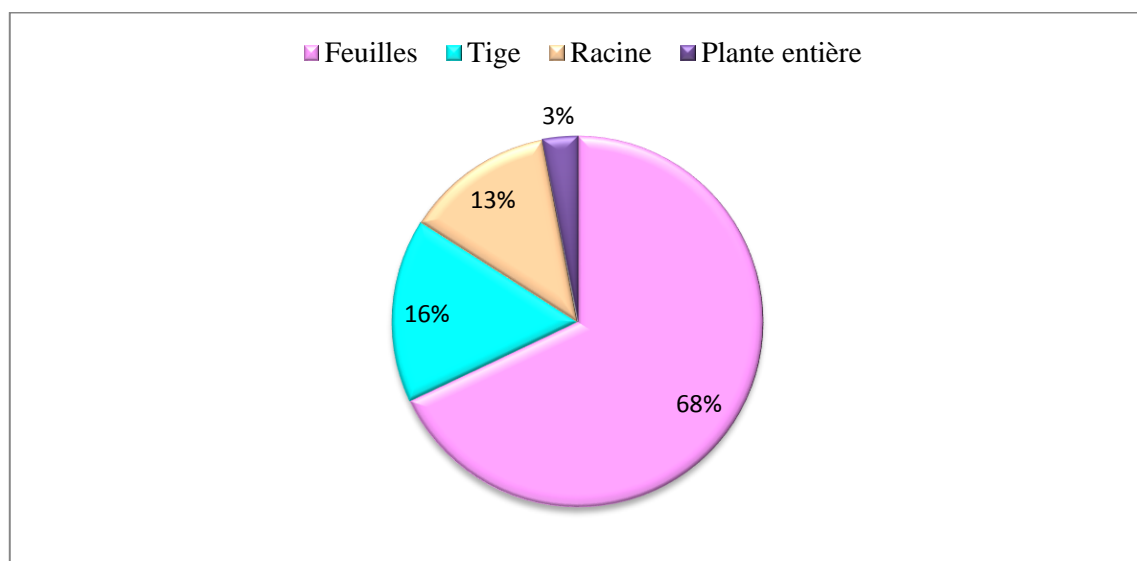


Figure 37. Répartition des enquêtés selon la partie utilisée

La fréquence d'utilisation élevée de feuilles peut être expliquée par l'aisance et la rapidité de la récolte (**Bitsindou, 1986**) mais aussi par le fait qu'elles soient le siège de la photosynthèse et parfois du stockage des métabolites secondaires responsables des propriétés biologiques de la plante (**Bigendako-Polygenis & Lejoly, 1990**).

4.8. Répartition selon le mode de préparation

Afin de faciliter l'utilisation de la drogue, plusieurs modes de préparation sont employés à savoir la décoction, l'infusion et la macération. Les utilisateurs cherchent toujours la méthode la plus simple pour préparer les phyto-médicaments.

La décoction (61%), l'infusion (37%) et la macération (2%) sont les modes de préparation les plus utilisés (**Figure 38**). Pour certaines indications où les molécules bioactives responsables de

Chapitre V : Résultats et discussions

l'effet thérapeutique sont les HE ou les flavonoïdes, ce mode de préparation s'avère non indiqué car l'effet prolongé de la chaleur va les dénaturer. Donc, le mode de préparation est fonction du principe actif recherché et de la nature de la drogue (partie riche en principes actifs) utilisée. Si la drogue est tendre l'infusion est préconisée, si elle est dure la décoction est plus adaptée à la libération des principes actifs.

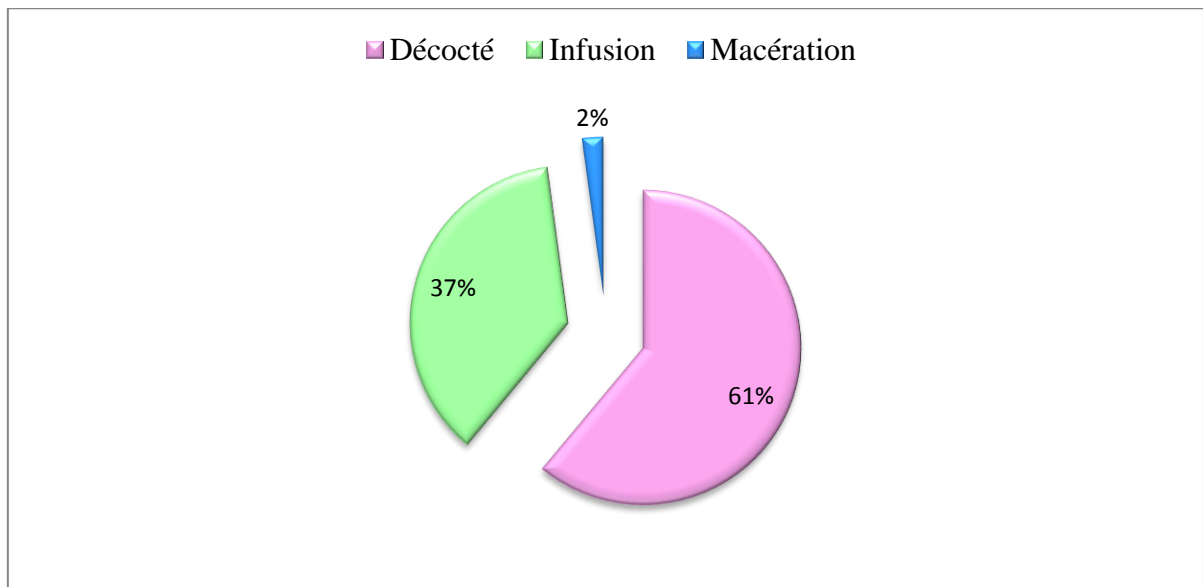


Figure 38. Répartition des enquêtés selon le mode de préparation

4.9. Répartition selon les maladies traitées

Ce travail, qui voudrait contribuer à une meilleure connaissance des soins traditionnels pratiqués dans les villes de l'Est algérien, nous a permis de répertorier un certain nombre de maladies traitées par l'origan. Les résultats obtenus montrent que la plante intervient dans le traitement du syndrome grippal (fièvre, grippe, rhume) (45,49%), des douleurs abdominales (25,92 %), et les affections digestives (11,11%) (**Figure 39**).

En Algérie, l'origan jouit d'une grande ferveur populaire (**Baba Aissa, 1990**). Cette plante est utilisée comme tisane par la population locale pour guérir plusieurs maladies telles que : la toux, le rhume, les rhumatismes et les troubles digestifs (**Mahmoudi, 1990 ; Erdogan & Belhattab, 2010**). Il est aussi un puissant antispasmodique : il est utilisé dans les règles douloureuses, les coliques, les spasmes gastriques et œsophagiens.

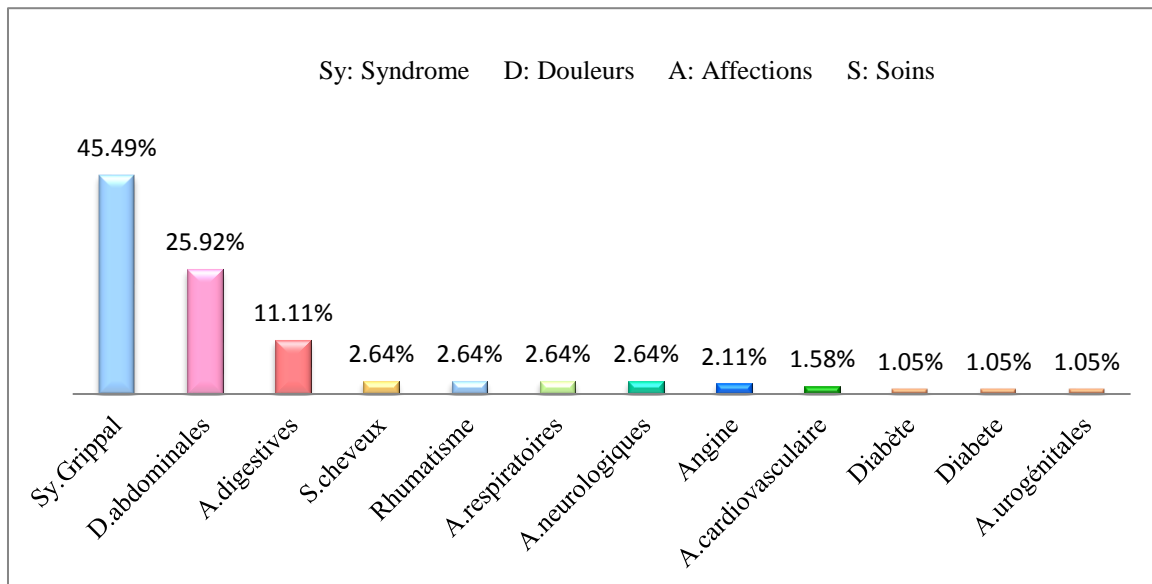


Figure 39. Répartition des enquêtés selon les maladies traitées

❖ Principales Indications recueillies

Par usage local ou oral, l'origan peut prévenir et soigner:

✚ *Rhumes et grippes*

- Combat les infections virales et bactériennes des voies respiratoires.
- Augmente la puissance du système immunitaire.
- Allège la congestion des poumons, des sinus et soulage la toux.
- Aide à soigner la bronchite, sinusite, pneumonie.

✚ *Problèmes de peau*

- Réduit l'acné et débloque les pores.
- Protège la peau sèche et soigne les infections, piqûres d'insectes.
- Traite le psoriasis et l'eczéma, soulage les coups de soleil.
- Combat les champignons sous les ongles des pieds et des mains.

✚ *Conditions digestives*

- Soulage l'indigestion, les nausées, les diarrhées et les gaz.

Chapitre V : Résultats et discussions

- Détend le système digestif et diminue les douleurs et les malaises.

Infections,

L'origan traite :

- infections parasitaires : *Candida albicans*,
- Infections urinaires, efficace contre le bouton de fièvre (herpès labial).
- Traite la douleur et l'infection des dents et des gencives, abcès.
- Nettoie les dents (poudre d'origan) et rafraîchit l'haleine.

❖ **Recettes**

- Une infusion d'origan après le repas stimule la digestion. Il stimule l'appétit et a une action bienfaisante sur le foie.
- Un décocté d'origan encourage la venue des règles. Son action antispasmodique calme également les douleurs menstruelles.
- Sa lotion stimulerait la repousse des cheveux.
- En tisane, il agit aussi contre le rhume, la grippe.
- En usage externe, il calme les démangeaisons et les piqûres d'insectes. La coutume était de chauffer à la poêle ses sommités et de les appliquer en cataplasme épais sur la zone douloureuse.

5. Extraction et analyse chimique de l'HE d'*O.vulgare*

5.1. Extraction et calcul de rendement

Notre investigation a été portée sur l'HE d'*O.vulgare* poussant sur le territoire de la wilaya de Guelma, le **tableau 08** regroupe les informations liées au site et à la date de récolte.

Tableau 08. Informations liées au site et à la date de récolte

Site de récolte			
Latitude	Longitude	Température moyenne	Date de récolte
36 ° 36' 41"	7 ° 30 '48'	21°C	14/06/2014

La distillation a été conduite pendant 3 h sur les feuilles d'origan séchées, à l'aide d'un hydrodistillateur de type « Clevenger », dont les conditions opératoires ont été décrites dans le chapitre IV.

L'HE obtenue par hydrodistillation est de couleur jaune (**Photo 25**), elle a une saveur fortement piquante et une odeur forte caractéristique des plantes aromatiques (**Tableau 09**). Elle a été conservée à basse température « $t < 6^{\circ}\text{C}$ » dans des flacons hermétiques.

Le **tableau 10** regroupe les rendements calculés pour l'HE étudiée dans ce travail ainsi que ceux de la même espèce poussant en Algérie, au Maroc et en Tunisie.

Tableau 09. Caractéristiques organoleptiques d'*O.vulgare*

Aspect	Liquide
Couleur	Jaune
Saveur	Piquante Épicée
Odeur	Thymolé



Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 10. Résultats quantitatifs de l'extraction de l'HE d'*O.vulgare*

Espèce \ Origine	Rendement %			
	Ce travail	Algérie (Guelma)	Maroc	Tunisie
<i>O.vulgare</i> L.	1,15	2,52	1,15	0,1-0,7

Nous pouvons déjà observer une différence entre les rendements d'extraction, de l'espèce étudiée dans ce travail (**Tableau 10**).

L'*O.vulgare* étudié dans ce travail possède un rendement relativement moyen de (1,15%), égal à celui trouvé par **Derwich et al. (2010)** avec l'origan du Maroc.

Les espèces d'*O.vulgare* de la Tunisie (**Mechergui et al., 2010**) ont fourni les plus faibles rendements (0,1-0,7%) .

Le rendement le plus élevé a été obtenu par **Bouhaddouda et al. (2016)** qui a travaillé sur la même sous espèce (*O.vulgare glandulosum*) poussant dans le même biotope (Nechmaya, Guelma) avec une valeur de 2,52%. La différence existante entre les rendements d'extraction obtenus est probablement liée aux facteurs suivants :

- Le temps de l'hydrodistillation ;
- La durée de séchage ;
- Le rapport Eau/Matière végétale ;
- La température de chauffage (**Fadil et al., 2014**).

Elle peut être liée, également aux facteurs climatiques (chaleur, froid, stress hydrique), facteurs géographiques (altitude, nature du sol, taux d'exposition au soleil) et génétiques (croisements naturels) (**Veres et al., 2003**).

5.2. Composition chimique

L'analyse des constituants chimiques de l'HE d'*O.vulgare* a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse, les résultats obtenus sont représentés dans la **figure 40** et le **tableau 11**.

Chapitre V : Résultats et discussions

Cinquante huit constituants volatils ont été identifiés dans cette HE, représentant **98,8%** de la composition totale. Le composant le plus abondant était le Thymol (32,58%). D'autres composants ont été identifiés comme γ -Terpinène (18,76%), Durenol (17,92 %), 1,2,3,4-Tetramethylfulvene (11,40 %), (+)-4-Carene (2,79 %), β -Myrcene (1,94%), Caryophyllène (1,80%), β - Sesquiphellandrene (1,43%) et Linalool (1,22%) (**Figures 41, 42**).

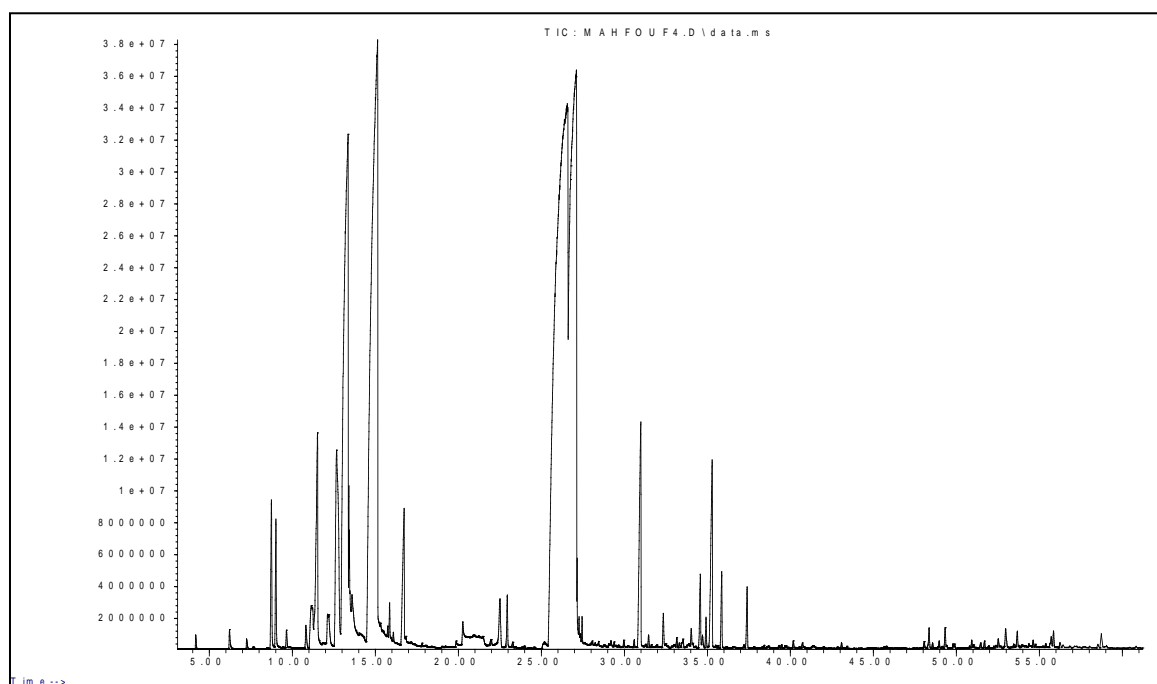


Figure 40. Chromatogramme analytique de l'HE d'*O. vulgare*

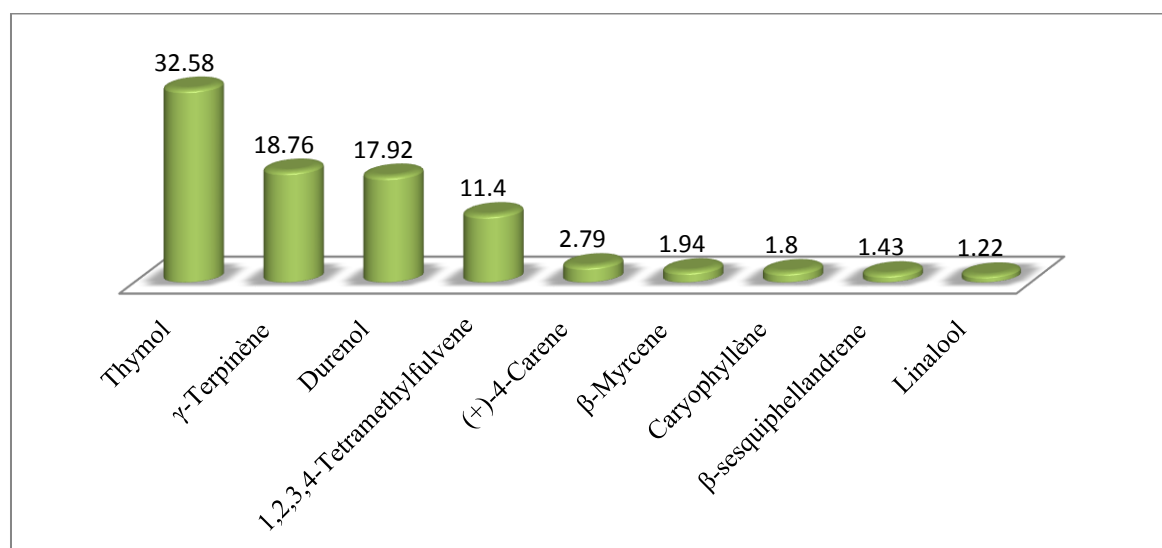


Figure 41. Principaux composés (en %) de l'HE d'*O. vulgare*

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 11. Composition chimique de l'HE d'*O.vulgare*

N°	Composants	TR	%	N°	Composants	TR	%
01	Butanoic acid	4,190	0,05	30	<i>p</i> -Thymol	28,067	0,11
02	2-Hexenal	6,221	0,10	31	3-tert-Butylphenol	28,447	0,07
03	3-Heptanone	7,261	0,05	32	3,5-Di- <i>t</i> -butylcatechol	29,201	0,09
04	α -Thujene	8,739	0,71	33	β -Bourbonene	29,391	0,06
05	α -Pinene	9,007	0,58	34	Jasmone	29,973	0,06
06	Camphene	9,654	0,10	35	4-Ethyl-5-propyl-4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carbaldehyde	30,597	0,05
07	β -Pinene	10,824	0,13	36	Caryophyllene	30,971	1,80
08	Vinylamylcarbinol	11,157	0,58	37	Trans-Alpha-Bergamotene	31,458	0,06
09	β-Myrcene	11,501	1,94	38	α -Cedrene	33,317	0,03
10	α -Phellandrene	12,179	0,53	39	β -Farnésène	33,531	0,07
11	(+)-4-Carene	12,672	2,79	40	γ -Cadinene	33,882	0,06
12	1,2,3,4-Tetramethylfulvene	13,331	11,40	41	Zingiberene	34,030	0,12
13	M-Xylene, 5-ethyl	13,604	0,83	42	β -Bisabolene	34,571	0,37
14	γ-Terpinen	15,113	18,76	43	α -Amorphene	34,707	0,08
15	1-Methyl-4-methylidenecyclohexane	15,861	0,37	44	δ -Cadinene	34,921	0,14
16	<i>p</i> -Cymenene	16,087	0,15	45	β-Sesquiphellandrene	35,272	1,43
17	Linalool	16,716	1,22	46	α -Caryophyllene	35,860	0,36
18	4,4,6,6-Tetramethylbicyclo[3.1.0]hex-2-ene	17,821	0,01	47	Caryophyllene oxide	37,392	0,30
19	Borneol	19,882	0,06	48	Alloisolongifolene	40,178	0,04
20	L-4-terpineneol	20,274	0,79	49	1-Formyl-2,2-dimethyl-3-cis-(2-methyl-but-2-enyl)-6-methylidene-cyclohexane	43,088	0,03
21	Terpinen-4-ol	21,213	0,32	50	1,2,3-Triphenyl-3-methyl-cyclopropene	48,564	0,03
22	<i>p</i> -Cymen-8-ol	21,97	0,1	51	3-Benzylsulfonyl-2,6,6-trimethylbicyclo(3.1.1)heptane	48,962	0,04
23	α -Terpineol	22,507	0,47	52	Carbamic acid	49,806	0,04
24	Isothymolmethylether	22,947	0,25	53	Methane, phenylbis(phenylthio)-	50,928	0,06
25	Dihydrocarvone	23,274	0,03	54	Biosol	51,695	0,04
26	2,5-Diethylphenol	25,192	0,10	55	Terephthalic acid	52,972	0,13
27	Thymol	26,558	32,58	56	Pyrimido[1,2- <i>a</i>]indole, 4-isopropyl-5-methyl-2-phenyl-	53,453	0,02
28	Durenol	27,087	17,92	57	α -Cetone	54,373	0,03
29	Sorbic Acid	27,455	0,14	58	O-Cymen-5-ol	54,623	0,03

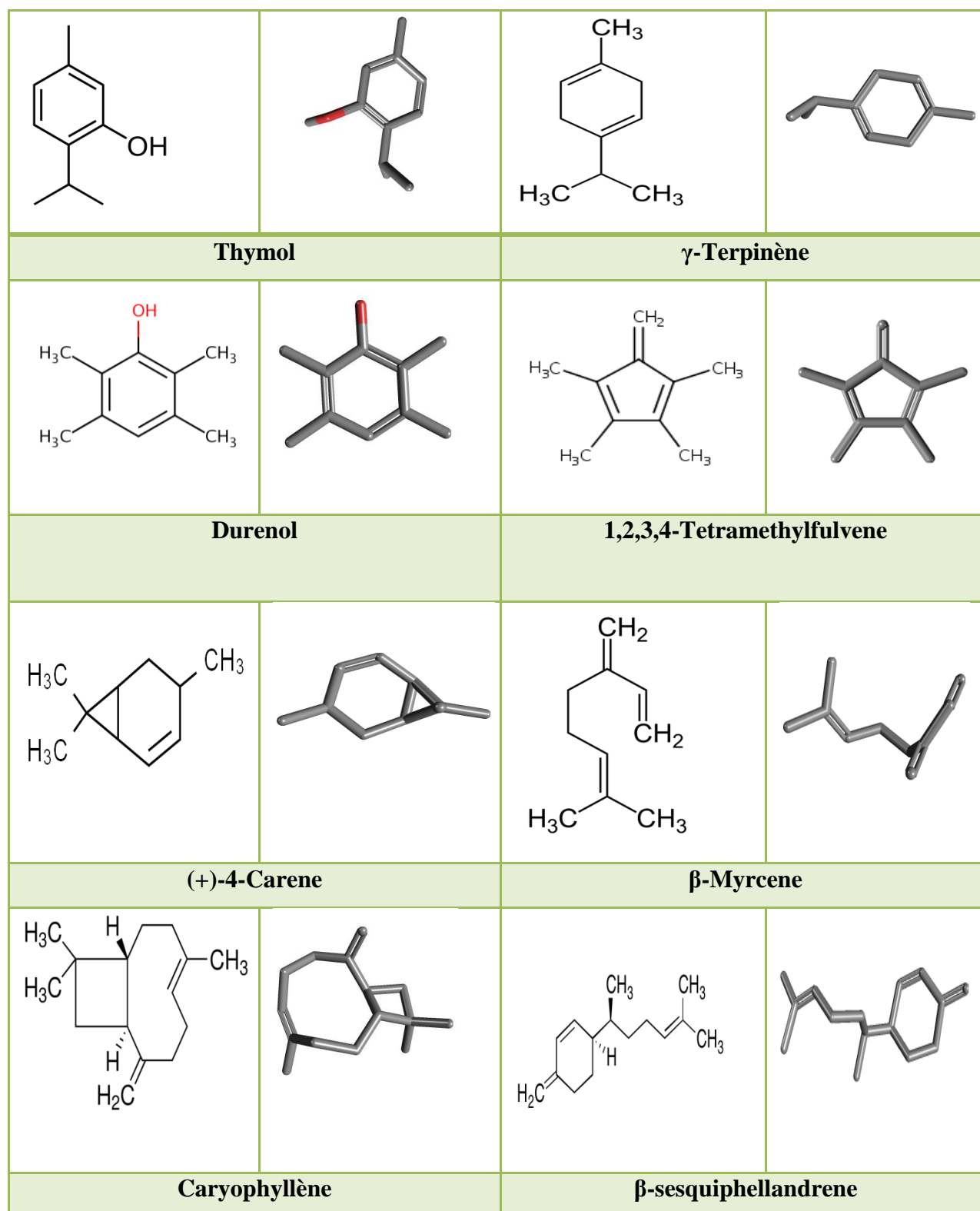


Figure 42. Structures chimiques 2 D et 3D des principaux composés de l'HE d'*O. vulgare*

Les composants chimiques de l'HE de l'espèce *O.vulgare* se répartissent sur sept classes biochimiques fondamentales. Les phénols (50, 91%), les monoterpènes hydrocarbonés (38, 54%), les monoterpènes oxygénés (3, 51%), les sesquiterpènes hydrocarbonés (2,82%), les sesquiterpènes oxygénés (2,16%), les acides (0, 36 %) et les cétones (0, 17%) (Figure 43, Annexe 02).

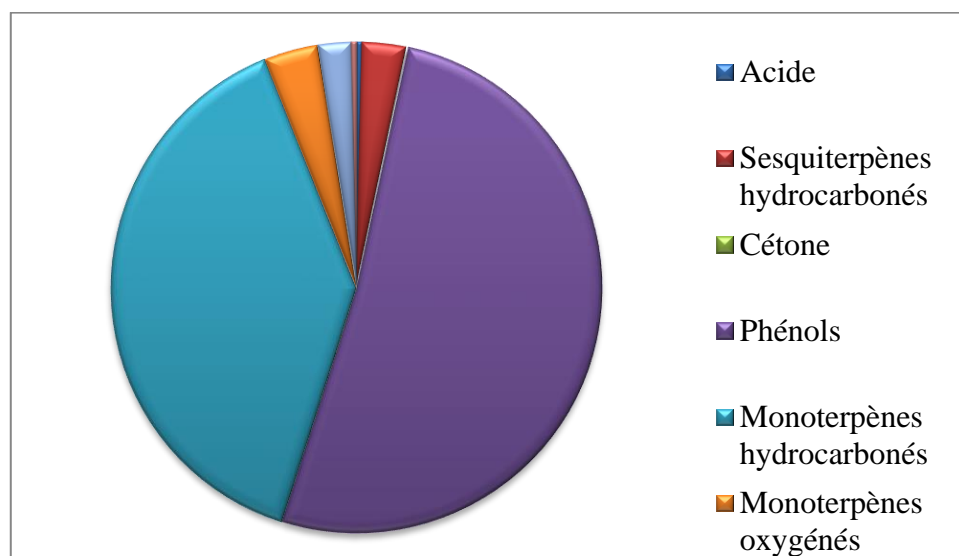


Figure 43. Répartition des principales familles de composés de l'HE d'*O. vulgare*

Les phénols constituent la classe chimique majeure. Il s'agit du thymol (32,58%), constituant majoritaire, le durenol (17,92%), *p*-thymol, 3-tert-butylphenol, 2,5-diethylphenol, 3,5-di-*t*-butylcatechol et le biosol minoritaire (0,04%).

Les monoterpènes hydrocarbonés sont surtout formés par des structures α -thujene, α -pinene, camphene, β -pinene, β -myrcene, α -phellandrene. Par ailleurs, les principaux composants des **Monoterpènes oxygénés** sont : linalool, α -terpineol et le terpinen-4-ol.

Quant aux **Sesquiterpènes hydrocarbonés** sont formés par des structures : β -bisabolene, α -amorphene, β -farnésène et γ -cadinene. Par contre dans le groupe des **sesquiterpènes oxygénés**, le bornéol et le caryophyllene, sont les plus abondants.

Enfin la classe des **acides** est représentée par l'acide carbamique, l'acide sorbique, le téréphtalique acide et l'acide butanoïque. La classe des **cétones** est constituée par l' α -cétone, le jasmone, le dihydrocarvone et le 3-heptanone.

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 12. Comparaison entre les composants majoritaires de l'HE d'*O. vulgare* provenant de différentes régions d'Algérie

Composants	Pourcentage						
	Guelma (1)	Guelma (2)	Guelma (3)	Sétif (4)	Alger (5)	Tlemcen (6)	Tlemcen (7)
Thymol	32,58	23.129	23,64	6,6	55,6	41.6–81.1	41,0-51,3
γ -Terpinène	18,76	16.612	12,03	/	/	27.0–3.1	/
<i>p</i> -Cymene	0, 15	25.615	20,85	/	/		/
Carvacrol	/	20.321	33,85	47	2,70	2.2–4.4	2,9- 3,6

1 : Ce travail, **2** : Bouhaddouda et al., (2016) , **3** : Amrouni et al., (2014), **4** :Belhattab et al., (2005), **5** :Houmani et al., (2002), **6** :Bendahou et al.,(2008) , **7** :Bekhechi , (2009).

La composition d'origan dépend du climat, de l'altitude, la période de cueillette et le stade de croissance. *O. vulgare* cultivé dans le climat méditerranéen ou continental contient une grande quantité de phénols (Arcila-Lozano, 2004) ou des alcools terpéniques, respectivement. Le carvacrol avec le thymol, *p*-cymene et le c-terpinène sont fréquemment rapportés comme les principales composantes des HEs de l'espèce *O. vulgare* (Arnold, 2000).

Les espèces du genre *Origanum* sont décrites dans différents travaux pour leur grand polymorphisme chimique. Ainsi, selon la composition chimique de leurs HEs, les différentes espèces de ce genre sont réparties en trois groupes chimiques: Linalol/ terpinène-4-ol/hydrate de sabinène; Carvacrol et/ou thymol et le groupe des sesquiterpènes (Kokkini, 1996).

Plusieurs travaux ont mis en évidence l'existence de multiples chémotypes d'HE d'*O. vulgare* dans différentes régions d'Algérie (Tableau 12). D'après les résultats obtenus, la notre s'avère être du type **thymol** car cette molécule est majoritaire dans l'HE.

L'analyse chimique de l'HE d'*O. vulgare* . récolté en 2012 dans la même région que la notre (Nechmaya, Guelma), effectuée par Bouhaddouda et al., (2016), leur a permis d'obtenir des teneurs élevées en para-cymene (25,615%), thymol (23,129%) et carvacrol (20,321%) . Amrouni et al., (2014), ont également identifié le carvacrol comme composant principal avec un taux de 33,85% suivi de thymol (23,64%), et de para-cymene (20,85%) lors d'une étude sur l'HE d'origan issu aussi de Guelma (Djebel Houara).

✚ Nos résultats concordent avec plusieurs investigations qui dénotent la forte teneur de cette **HE** en thymol.

6. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'**HE** d'*O.vulgare* évaluée par le test de piégeage du radical DPPH a donné des valeurs qui nous ont permis de tracer des courbes du pourcentage d'activité antiradicalaire pour l'**HE** d'*O.vulgare*, l'acide ascorbique et le BHT. D'après les résultats représentés dans la **figure 44**, on peut constater que l'activité antiradicalaire est dose dépendante car elle est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos échantillons.

La cinétique du pourcentage d'activité antiradicalaire nous a permis de déterminer l'IC50, qui correspond à la concentration d'**HE**, d'acide ascorbique ou du BHT nécessaire à l'inhibition de 50% du DPPH présent dans le milieu. Notons que plus l'IC50 est faible plus l'activité antioxydante du composé est importante. Les résultats sont exprimés sous la forme de valeurs d'IC50 (**Figure 44**).

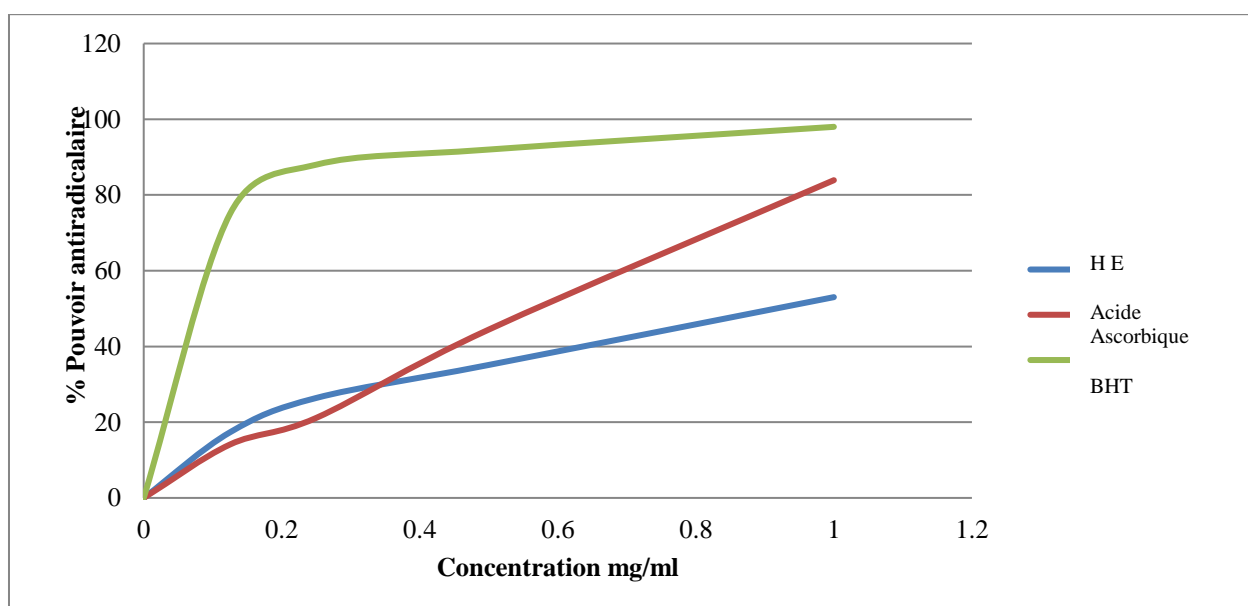


Figure 44. Activité antiradicalaire de l'**HE** d'*O.vulgare*, d'acide ascorbique et du BHT
(Chaque valeur représente la moyenne de trois essais)

On remarque que l'activité antiradicalaire de l'**HE** (1.28 ± 0.07 mg/ml) est inférieure à celle du BHT (0.17 ± 0.02 mg/ml) et de l'acide ascorbique (0.361 ± 0.040 mg/ml) (**Tableau 13**).

Chapitre V : Résultats et discussions

Tableau 13. L'activité sacavenger du radical DPPH par l'HE d'*O.vulgare* L., l'acide ascorbique et le BHT

Antioxydant	IC 50 mg/ml
Huile essentielle d' <i>O.vulgare</i> L.	1.28 ± 0.07
Acide Ascorbique	0.361 ± 0.040
BHT	0.17 ± 0.02

Ce résultat témoigne d'une capacité réductrice modeste comparée à celle de la littérature. Une étude menée par **Sari *et al.*, (2006)** sur différentes populations d'origan de différentes zones algériennes (Sétif, Bejaia, Biskra, M'sila et Bordj Bou Arreridj) a révélé la bonne capacité antiradicalaire des **HEs** qui ont donné des IC50 variant de 16.2 à 26.7 µg/ml. Le travail publié par **Mechergui *et al.* (2010)** montre que l'**HE** d'origan de deux régions tunisiennes possède une bonne activité antioxydante avec des IC50 de 105.29 mg/L et 142.86 mg/L. Cependant une autre étude faite aussi sur l'**HE** de la même espèce poussant en Tunisie a enregistré un IC50 de 625 µg/ml (**Béjaoui *et al.*, 2013**). L'**HE** extraite d'*O.vulgare* L. du Maroc a montré une forte activité antiradicalaire (IC50 60.1 ± 3.3 mg/L) avec la méthode de DPPH (**El Babili *et al.*, 2011**). Il est établi dans plusieurs études que l'activité d'une **HE** est en rapport avec les composés majoritaires et les possibles effets synergiques entre les constituants (**Oussou *et al.*, 2010 ; Saint Laumer, 2003 ; Kalemba & Kunicka, 2003**). Ainsi les travaux de **Tepe *et al.* (2004)**, ont démontré une grande activité antioxydante des **HEs** contenant des monoterpènes et / ou des sesquiterpènes oxygénés. **Miladi *et al.*(2013)** ont prouvé qu'une corrélation existe entre l'activité antioxydante d'une **HE** et la teneur en monoterpènes oxygénés. En contradiction avec les travaux de **Gachkar *et al.* (2007)** où ils ont démontré que les huiles avec une prédominance monoterpénique ont une activité assez modeste.

7. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'**HE** a été évaluée sur un total de 45 souches bactériennes, sur lesquelles une étude a été réalisée comprenant : la détermination des diamètres des zones d'inhibition et la détermination des CMI.

Afin d'interpréter nos résultats, nous nous sommes basés sur l'échelle d'interprétation de **Duraffourd (1990)**. Selon ce dernier, une souche bactérienne est considérée comme résistante

(-) à un extrait végétal si son diamètre d'inhibition est égal à 6 mm ou inférieur à 8 mm, elle serait de sensibilité limitée (+) si son diamètre d'inhibition est compris entre 8 et 14 mm, de sensibilité moyenne (++) si son diamètre d'inhibition est compris entre 14 mm et 20 mm et enfin très sensible (+++) si son diamètre d'inhibition est supérieur à 20 mm.

Pour l'interprétation des valeurs des CMI, nous avons adopté l'échelle de classification de **Aliannis et ses collaborateurs (2001)**. Selon eux, un extrait posséderait une forte inhibition si sa CMI est inférieure à 0,5 mg/ml, elle serait modérée si elle est comprise entre 0,6 et 1,5 mg/ml et enfin faible si elle est supérieure à 1,6 mg/ml.

7.1. Bactéries à Gram négatif

7.1.1. Les entérobactéries

➤ Groupe E.S.S.C

L'**HE** de *O.vulgare* a montré une excellente activité sur la majorité des souches bactériennes testées avec des diamètres des zones d'inhibitions allant de 20,6-32,6mm pour *E.coli*, 24-26,7mm pour les Salmonelles, 23.5-31,2mm pour les Citrobacter et enfin 37,7 mm pour Shigella (**Figure 45**).

Les valeurs des CMI moyennes des souches d'*E.coli* se situent dans un large intervalle de 0,314 à 5,025 mg/ml. Par ailleurs, les espèces du genre Citrobacter, Selmonella et Shigella sont sensibles à l'huile essentielle testée avec des CMI moyennes comprises entre 0,68 et 1,25 mg/ml (**Figure 46**).

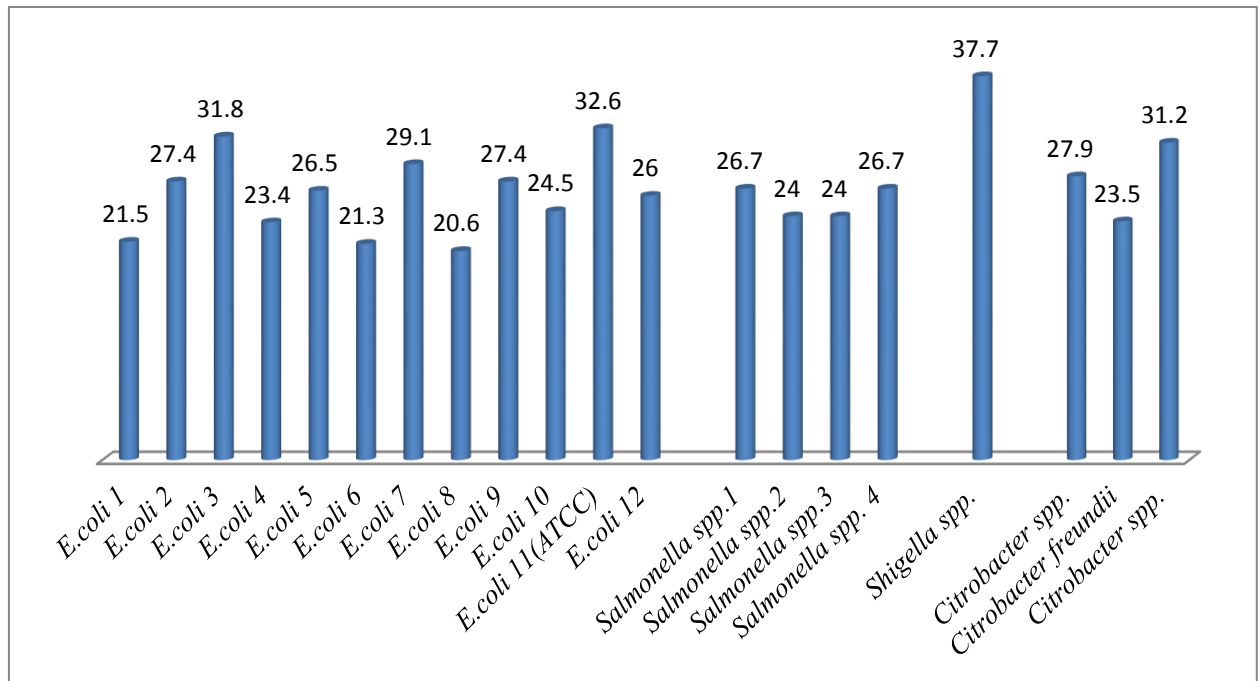


Figure 45. Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'HE d'*O. vulgare* testée sur des souches du groupe E.S.S.C

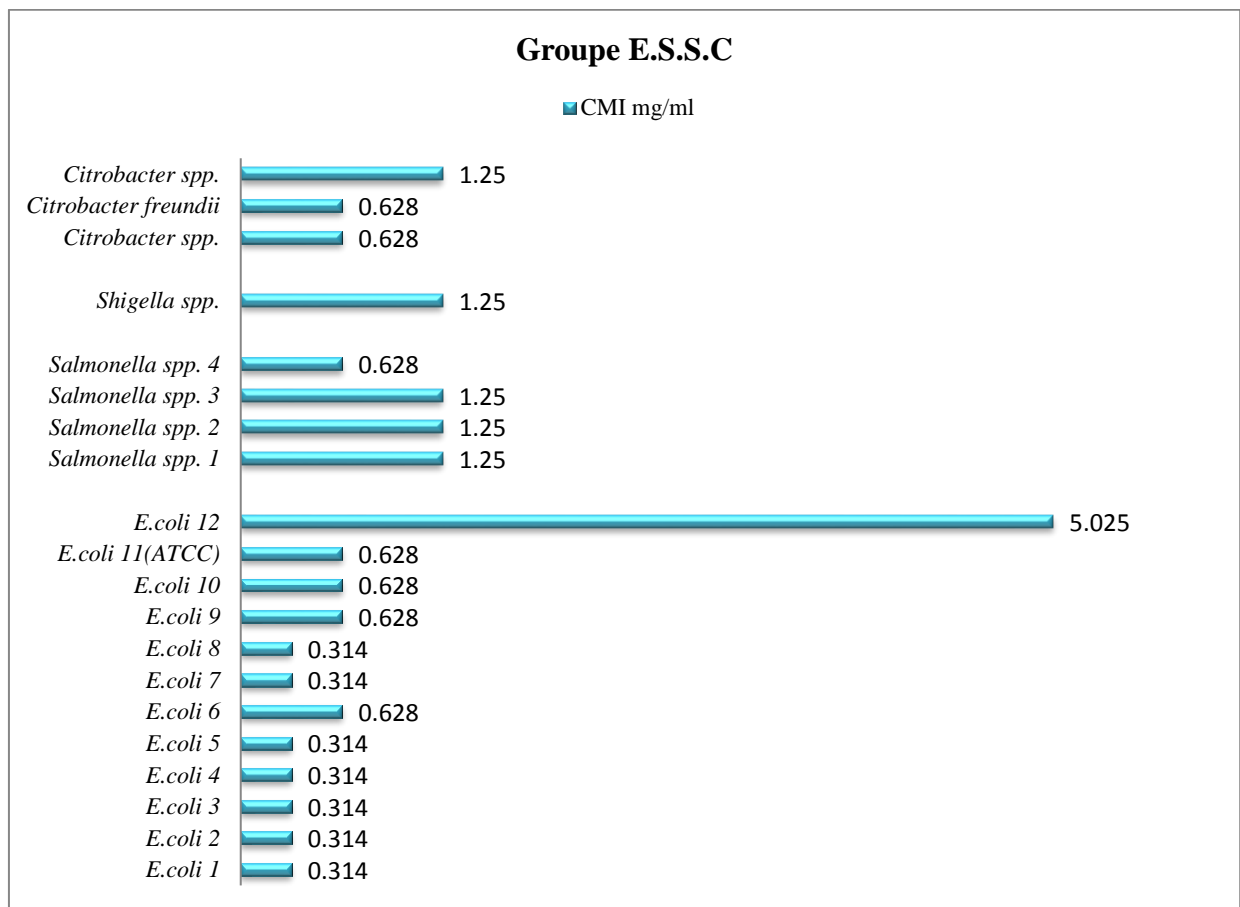


Figure 46. Résultats des CMI de l'HE d'*O. vulgare* testée sur des souches du groupe E.S.S.C

Chapitre V : Résultats et discussions

➤ Groupe K.E.S.H

Au sein des espèces qui forment ce groupe, le diamètre moyen s'est situé dans un intervalle étroit [20,4mm à 29,6mm], reflétant une meilleure spécificité d'action de l'HE d'origan sur ces bactéries. (Figure 47).

Les souches de *Klebsiella terrigena*, se montraient sensibles vis-à-vis de l'HE d'*O.vulgare* avec une CMI moyenne de 0,628mg/ml par ailleurs, les souches de *Klebsiella sp*, *Enterobacter intermedius*, *Serratia marcescens* et *Hafnia alvei* se sont montrées peu sensibles vis-à-vis de l'HE avec une CMI beaucoup plus élevée (1,25mg/mg) (Figure 48).

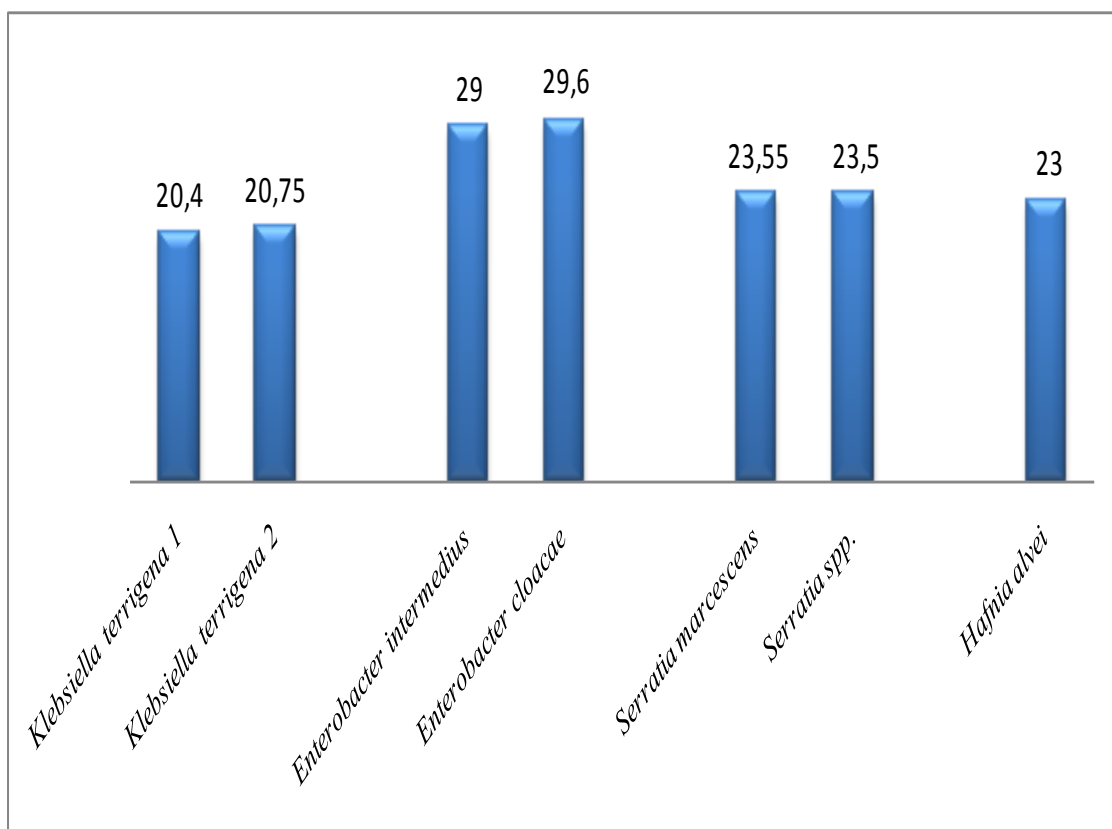


Figure 47. Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'HE d'*O.vulgare* testée sur des souches du groupe K.E.S.H

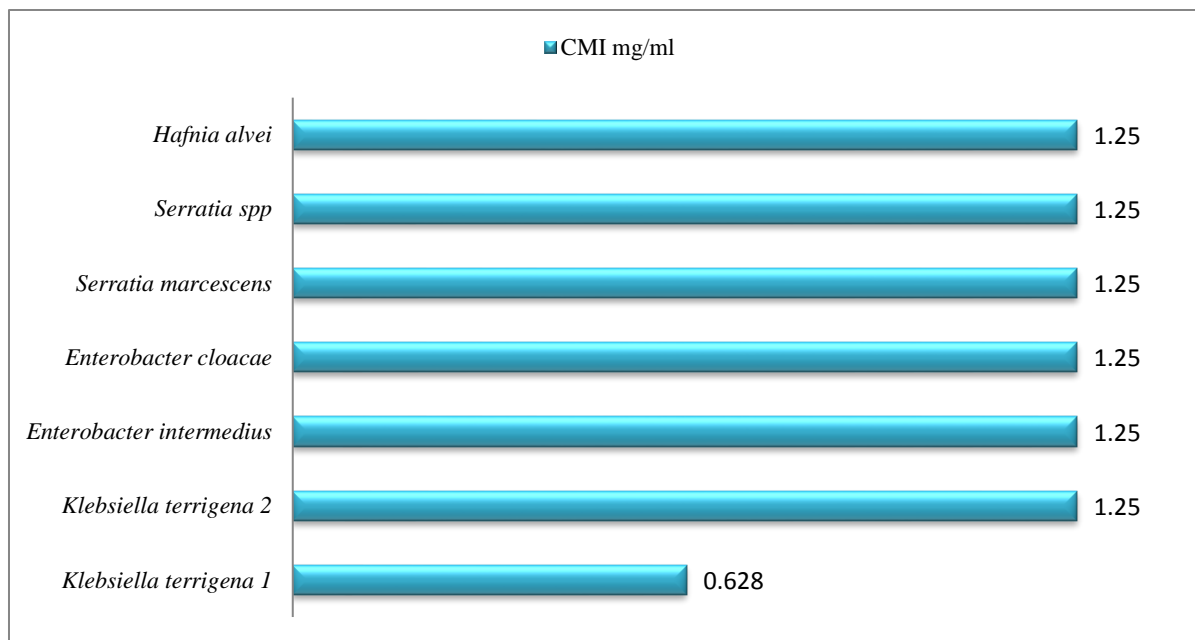


Figure 48. Résultats des CMI de l'HE d'*O. vulgare* testée sur des souches du groupe K.E.S.H

Bekhechi (2009) a déterminé le pouvoir antimicrobien de l'HE d'*O. vulgare* subsp. glandulosum. de la région de Tlemcen riche en Thymol (51,3 %), sur plusieurs souches notamment *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Citobacter freundii* et *Enterobacter cloacae* et *Salmonella typhi*. Nous avons obtenus les mêmes résultats pour le genre *Salmonella* (27mm) par contre, il a enregistré une faible activité pour *K. pneumoniae* (17,4 mm), *Ci. freundii* (19,0 mm), *E. coli* (17,8-23,0 mm), *Enterobacter cloacae* (20 mm), par rapport à nos résultats. Ceci est dû peut être au fait que leurs souches sont plus résistantes que les nôtres.

Dans les travaux d'**Afef et al. (2013)** sur l'HE d'*O. vulgare* subsp. glandulosum du nord-est de la Tunisie, l'activité la plus élevée a été observée contre *E. coli* avec des zones d'inhibition allant de 18, 22 à 23 mm, bien inférieurs à nos résultats.

Une autre étude d'**Elhoussine et al., (2010)** sur l'activité antibactérienne de l'HE d'*O. vulgare* recueillie au Maroc a démontré un fort pouvoir inhibiteur contre plusieurs micro-organismes pathogènes. Les résultats obtenus ont indiqué que pour *E. coli* le diamètre de la zone d'inhibition est de 22 mm et la CMI est égale à 1,58 mg/ml alors que pour l'espèce *Salmonella typhimurium*, le diamètre de la zone d'inhibition est de 11 mm et la CMI est de 3,12 mg/ml.

Chapitre V : Résultats et discussions

7.1.2. Les bacilles Gram négatif non fermentaires

Les bacilles à Gram négatif sont des microorganismes responsables de pathologies variées, fréquentes et parfois redoutables. Ce caractère redoutable des infections est dû en grande partie au pouvoir toxique de ces agents infectieux et à leur grande capacité de résistance aux antibiotiques (**Richard et al., 1995**).

➤ *Pseudomonas*

Les souches de *Pseudomonas*, *Ps.spp.1* et *Ps.spp.3* se sont montrées très sensibles à l'HE d'*O.vulgare* avec un diamètre moyen des zones d'inhibition de 28,2 mm et 36,2 mm respectivement et une CMI de 1,25 mg/ml (**Figures 48 et 49**). Les autres souches de *Pseudomonas aeruginosa* se sont montrées totalement résistantes à l'HE d'*O.vulgare* testée.

Nos résultats concordent avec ceux de **Bouhdid et al., (2012)**. Une étude préliminaire leur a permis de conclure que les souches de *Ps.aeruginosa* ont exprimé une certaine résistance à l'HE d'*O. compactum* étant donné les concentrations assez élevées requises pour inhiber leurs croissances.

P. aeruginosa est un pathogène opportuniste associé à un grand nombre d'infections nosocomiales et communautaires. La pathogénicité de cette bactérie est due à la production de plusieurs facteurs de virulence intra et extracellulaires (**Rumbaugh et al., 1999**). Par ailleurs, plusieurs auteurs rapportent la faible voire l'absence d'activité des HEs de divers espèces d'origan vis-à-vis des souches de *Ps.aeruginosa* (**Janssen et al., 1986; Blondi et al., 1993; Ruberto & Baratta, 2000; Karaman et al., 2001; Pintore et al., 2002; Wilkinson et al., 2003; Hersch-Martinez et al., 2005**). En outre, **Walsh et al. (2003)** rapportent que le thymol n'est pas actif sur *P. aeruginosa*.

L'espèce *P.aeruginosa* connue pour sa résistance intrinsèque aux agents antimicrobiens notamment les antibiotiques d'une part, et la structure de leurs membranes externes, particulièrement imperméables aux molécules hydrophobes (**Abi-Ayad et al., 2011**). La résistance des souches de *P.aeruginosa* est peut être aussi due à leur capacité à former un bio-film (**Abi-Ayad et al., 2011**), qui est une organisation complexe composée de différentes strates dans lesquelles les bactéries se retrouvent en conditions physiologiques spécifiques à leur situation.

Chapitre V : Résultats et discussions

➤ Acinetobacter

Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont marquées par une évolution impressionnante de la résistance aux antibiotiques en termes de rapidité et de diversité des mécanismes et de matériels génétiques mis en jeu. Les carbapénèmes ont été longtemps considérées comme le traitement de choix des infections à *Acinetobacter*, et aujourd'hui l'utilité clinique de cette classe est menacé par l'émergence de résistance favorisée par son utilisation de plus en plus importante (Delbos, 2012).

Les diamètres des zones d'inhibition des cultures d'*Acinetobacter* sont très importants pour l'**HE** testée, allant de 27,2 mm à 36,6mm et une CMI de 1,25 mg/ml sauf pour la souche *Acinetobacter spp.1* qui a une CMI importante égale à 5, 025 mg/ml (Figures 49 et 50).

Une recherche faite par Saggi *et al.*, (2015) a montré que les diamètres des zones d'inhibition de l'**HE** d'*O. vulgare* contre cinq souches d'*A. baumannii* (isolats résistants à tous les antibiotiques) étaient respectivement de 7, 8, 10, 15, 12 et 15 mm.

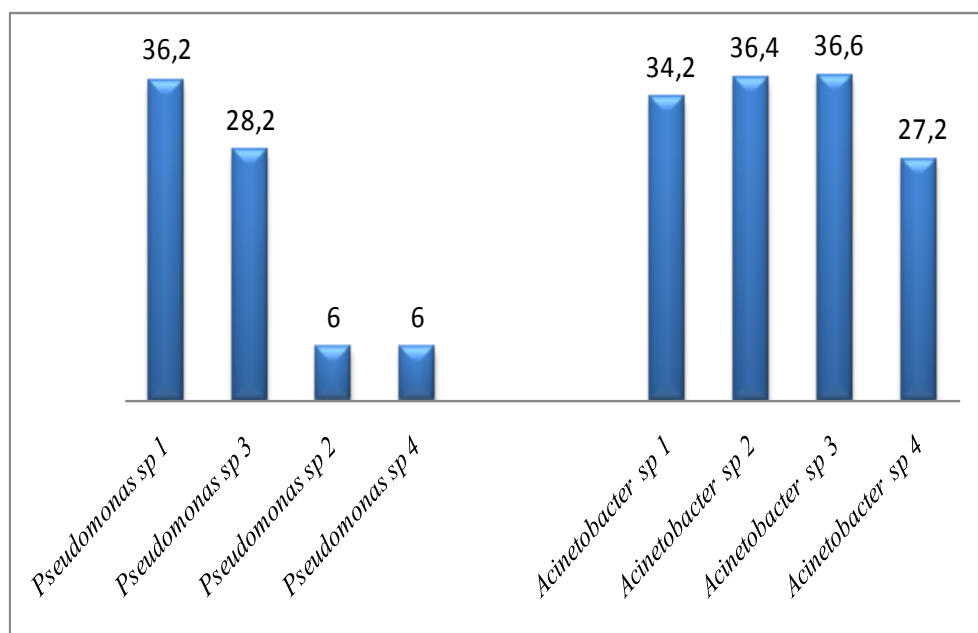


Figure 49. Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'**HE** d'*O.vulgare* testée sur des souches d'*Acinetobacter* et de *Pseudomonas*

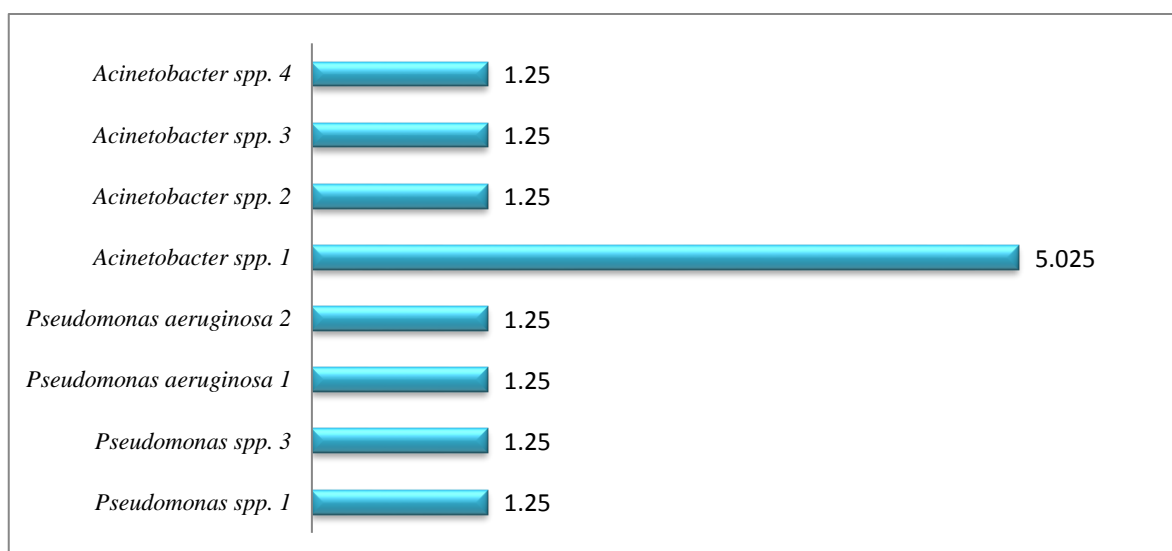


Figure 50. Résultats des CMI de l'HE d'*O.vulgare* testée sur des souches d'*Acinetobacter* et de *Pseudomonas*

6.2. Bactéries à Gram positif

L'essai des Gram positifs a permis de constater une totale sensibilité de *Staphylococcus aureus* (MRSA) et *Bacillus sphaericus* à l'HE d'*O.vulgare*, avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 9.8 mm à 31.9 mm respectivement (**Tableau 27, Figures 104 et 105**).

➤ *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM)

S. aureus résistantes à la méticilline (SARM) représentent un défi majeur de santé publique dans de nombreux établissements de soins à travers le monde. Ce germe cause des infections difficiles à traiter et plusieurs études l'ont associé à une morbidité et mortalité élevées.

Sur les 9 souches de MRSA testées, 6 souches (67%) se sont montrées très sensibles à l'HE testée avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 25,1 mm à 31,9 mm, une souche d'une sensibilité moyenne avec un diamètre de 19.3 mm et deux souches avec une sensibilité limitée dont les diamètres des zones d'inhibition ont été compris entre 9,8mm et 9,9mm. La CMI quant à elle a été relativement faible allant de 0,314 mg/ml à 0.628 mg/ml (**Figures 51, 52**).

Chapitre V : Résultats et discussions

➤ *B.spahericus*

D'après le rapport publié en 2011 par **FSAI**, en Europe, 124 (2.2%) des cas d'intoxication dus à l'ingestion de *Bacillus sp.* ont été reporté pour 11 pays membres de l'union Européenne en 2009.

La sensibilité de la souche de *B.spahericus* est limitée vis-à-vis de l'huile testée avec un diamètre de zone d'inhibition de 10mm, et une CMI de 1.25mm (**Figures 50, 51**).

Les travaux de **Khadir et al., (2013)** ont montré que l'évaluation de l'activité anti-MRSA de l'**HE** d'*O.vulgare* a montré un effet inhibiteur remarquable sur *Staphylococcus auerus* avec des zones d'inhibition allant de 23 mm à 55 mm.

Dans les résultats de recherche d'**Elhoussine et al., 2010**, l'**HE** d'*O.vulgare* a affiché des diamètres des zones d'inhibition plus importantes (43 mm pour *S.aureus* et 38 mm pour *B.subtilis*) et des concentrations minimales inhibitrices nettement inférieures aux CMI enregistrées dans notre recherche (0.10 mg/ml pour *S.aureus* et 0.15 mg/ml pour *B.subtilis*).

Le mode d'action de l'**HE** d'origan compact a été étudié sur des souches de *S.aureus*, l'**HE** agit en augmentant la perméabilité membranaire conduisant à une perte de la viabilité cellulaire (**Bouhdid et al., 2012**).

Ultee et al., (2002) ont étudié le mode d'action du carvacrol sur *B.cereus* et ils ont trouvé que ce terpène pénètre dans la bicouche lipidique et se positionne entre les chaînes d'acides gras, ainsi la structure cellulaire déformée augment la fluidité membranaire, induisant une modification de la perméabilité passive.

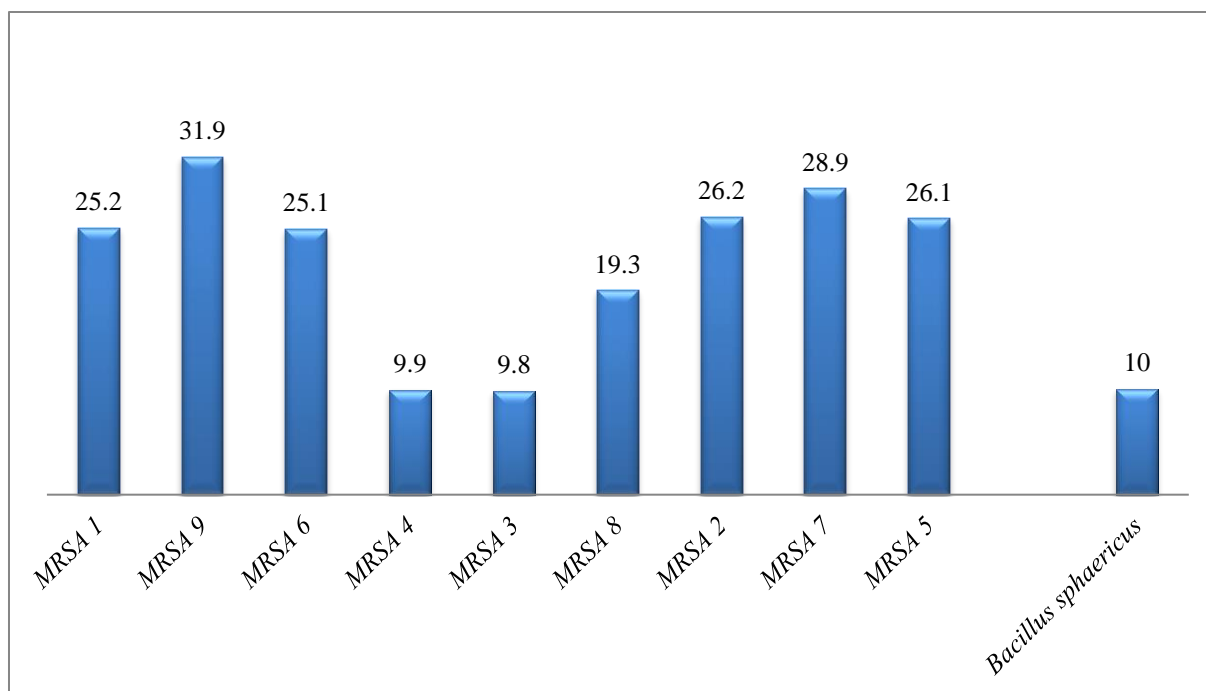


Figure 51. Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'HE d'*O. vulgare* testée sur des souches de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus sphaericus*

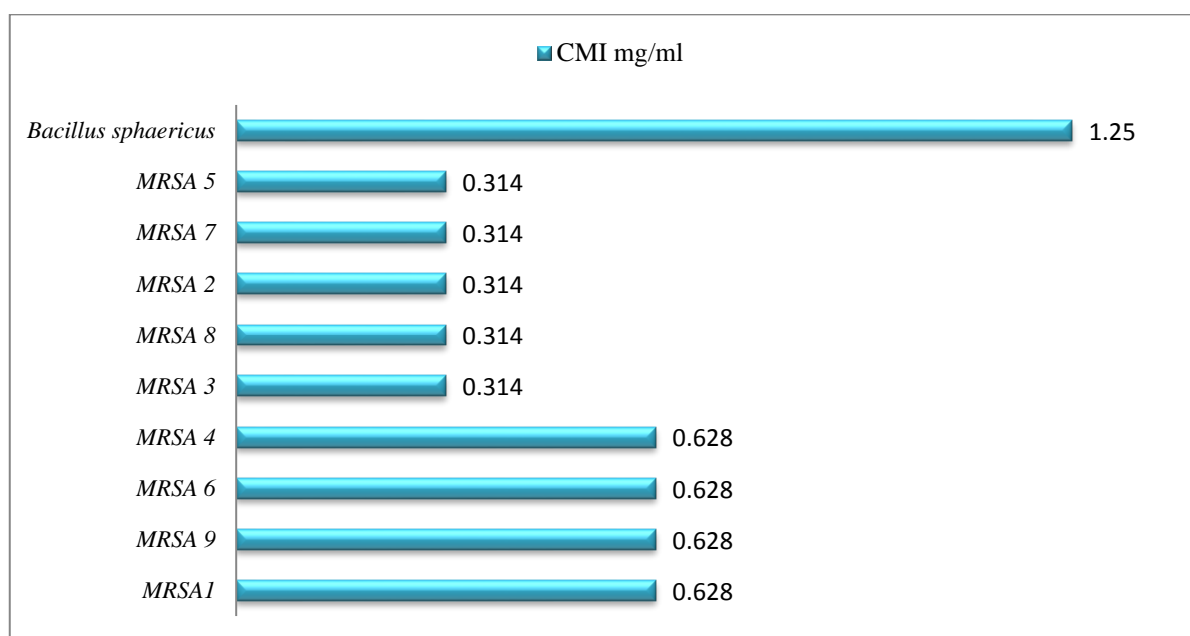


Figure 52. Résultats des CMI de l'HE d'*O. vulgare* testée sur des souches de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus sphaericus*

Chapitre V : Résultats et discussions

Nos résultats se résument comme suit :

Le diamètre moyen des zones d'inhibitions de l'HE d'*O.vulgare* varie de [9,8 mm à 37,7mm] ce qui permet de qualifier 89 % des souches étudiées de très sensibles, 7% d'une sensibilité moyenne et 4% sont résistantes (**Figure 53, Annexe 05**).

A l'intérieur des espèces étudiées les CMI's moyennes allant de 0,314 mg/ml à 5,025 mg/ml ce qui permet de qualifier le pouvoir inhibiteur de l'HE étudiée de fort sur 25 %, modéré sur 71% et faible sur 4% des souches test (**Figure 54, Annexe 05**).

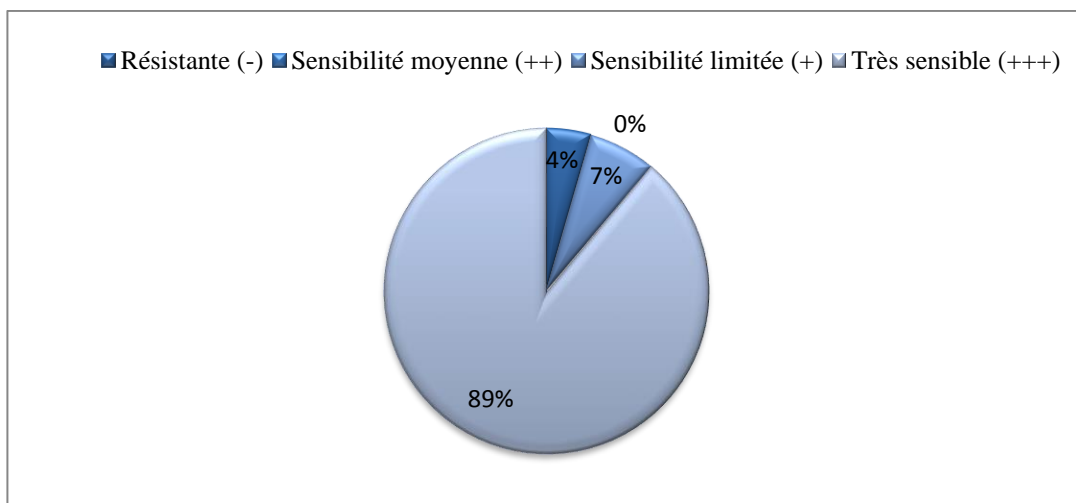


Figure 53. Classification des souches sur la base des diamètres d'inhibition

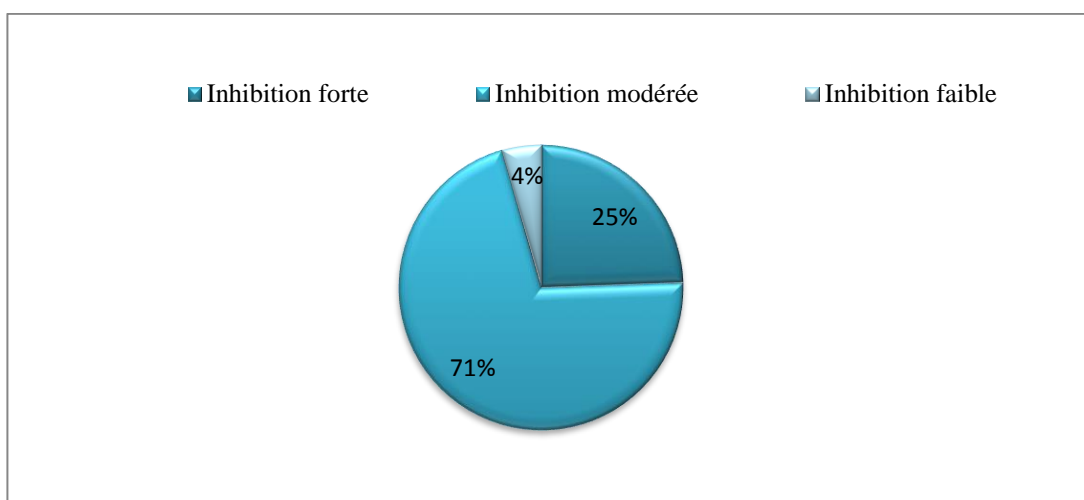


Figure 54. Classification de l'HE d'*O.vulgare* sur la base des résultats de la CMI

Chapitre V : Résultats et discussions

Les mécanismes par lesquels les **HEs** exercent leur activité antibactérienne sont incomplètement compris (**Holley & Patel, 2005**). **Smith-Palmer et al., (2001)** rapportent que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'effet des **HEs** que les bactéries à Gram négatif. La membrane externe des bactéries à Gram négatif est une membrane très riche en lipopolysaccharides et est hydrophile (imperméable), ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer (**Cristiani et al., 2007**).

L'action des **HEs** sur le développement des micro-organismes peut être expliquée par l'altération de la perméabilité membranaire des bactéries en perturbant les systèmes de transport ionique, le transport des électrons et la production d'énergie (**Sikkema et al., 1995 ; Chami, 2005 ; Oussalah et al., 2006 ; Souza et al., 2006**).

L'activité antibactérienne des **HEs**, a été expliqués principalement par la présence des terpènes qui possèdent des cycles aromatiques et des groupes capables de former des liaisons hydrogène avec les sites actifs des enzymes.

Les monoterpènes hydrocarbonés représentent l'activité antibactérienne la plus faible, ils ont tendance à être relativement inactif indépendamment de leur type de construction, et cette inactivité est liée à la capacité limitée de l'hydrogène lié et la solubilité dans l'eau.

Tandis que les composés oxygénés possèdent un potentiel plus élevé, il est prouvé que les monoterpènes oxygénés, présentent une forte activité antimicrobienne, particulièrement prononcée sur les cellules entières (**Griffin et al., 2000 ; Soković et al., 2002 ; Couladis et al., 2004 ; Soković et al., 2005**), en particulier les composés de type phénol comme le thymol et le carvacrol (**Knobloch et al., 1986**). L' α -terpinène assure aussi, l'inhibition de plusieurs espèces bactériennes (**Dorman & Deans, 2000**). La grande solubilité dans l'eau du bornéol lui confère une excellente activité bactéricide car il peut traverser les membranes des cellules bactériennes facilement (**Tabanca et al., 2001 ; Knobloch et al., 1989**).

Les alcools, les aldéhydes, les cétones et les esters peuvent contribuer à l'ensemble de l'effet antimicrobien des **HEs**, il sont actifs, mais avec une spécificité associée au groupe fonctionnel présent (**Belletti et al., 2004**).

Chapitre V : Résultats et discussions

L'**HE** d'origan est un mélange complexe contenant des mono terpènes hydrophobes, dont le thymol et le carvacrol, qui sont soupçonnés être responsables de ses propriétés antibactériennes (**Souza et al ., 2006**).

Les **HEs** riches en composés phénoliques, sont largement rapportés à posséder des niveaux élevés d'activité antimicrobienne (**Aligiannis et al., 2001 ; Baydar et al., 2004 ; Botelho et al., 2007**). La structure du thymol est similaire à celle de carvacrol ; Toutefois, ils sont différents quant à l'emplacement du groupe hydroxyle sur le noyau phénolique. Ils semblent capables d'augmenter la perméabilité membranaire (**Lambert et al., 2001**). Leur structure désintègre la membrane externe des bactéries Gram-négatives, en libérant les lipopolysaccharides (LPS) et en augmentant la perméabilité de la membrane cytoplasmique de l'ATP (**Helander et al., 1998 ; Ultee et al., 2002**).

Trombetta et al., 2005 ont étudié l'action du thymol sur des membranes artificielles. Lorsque le thymol pénètre dans la membrane plasmique, il altère sa perméabilité et entraîne une perte du matériel intracellulaire. Aussi, après avoir traversé la membrane, il peut interagir avec des sites intracellulaires (**Rasooli et al., 2006**).

L'effet bactéricide d'une **HE** est influencé par la structure chimique des composants aromatiques, leurs proportions ainsi que par leurs actions combinées à plusieurs niveaux de la structure bactérienne (**Dorman et al., 2000 ; Delaquis et al., 2002 ; Tantaoui-Elaraki et al., 1993**).

8. Activité insecticide

8.1. Effet de l'HE d'*O.vulgare*, sur la période de développement nymphal

Les résultats obtenus sont mentionnés sur le **tableau 14**. Notre travail montre que l'application de l'HE sur les chrysalides dès l'exuviation, prolonge leur durée de développement nymphal par rapport aux témoins.

D'après la **figure 55**, on observe que, chez les témoins, le développement nymphal dure environ $11,00 \pm 0,00$ jours. Cette durée se prolonge en introduisant l'huile essentielle, pour atteindre une moyenne de jours $16,25 \pm 0,95$.

Effectivement, le test "t" de Student révèle une différence significative par rapport aux témoins.

Tableau 14. Effet insecticide de l'HE d'*O.vulgare* L. , administrée par inhalation, sur la période du développement nymphal (jours) chez *E.kuehniella* (m±s, n= 5 répétitions).

	Témoins	Traités
Développement nymphal (jours)	11,00 ± 0,00	16,25 ± 0,95*

*: différence significative ($p \leq 0,05$)

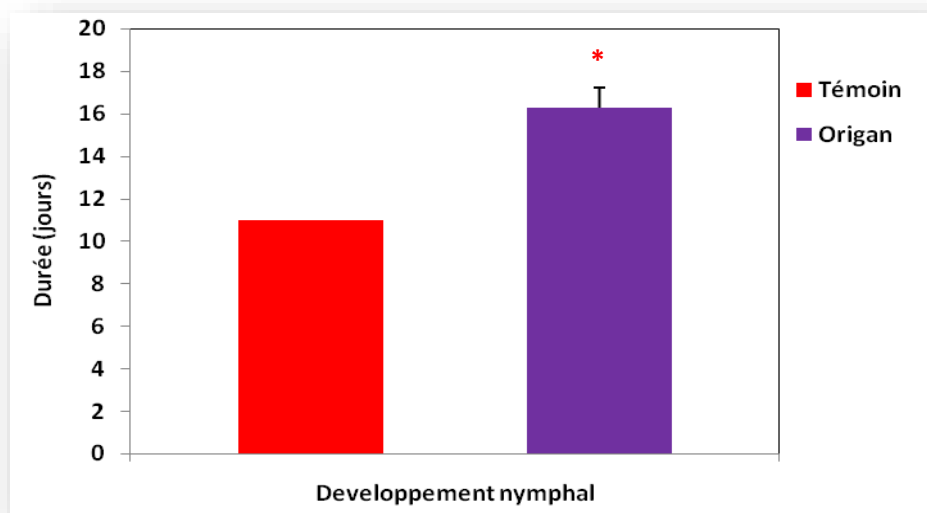


Figure 55. Effet insecticide de l'HE d'*O.vulgare* L., administrée par inhalation, sur la période du développement nymphal (jours) chez *E.kuehniella*

8.2. Effet de l'HE d'*O.vulgare* sur la période de préoviposition

Les résultats obtenus, après l'administration par inhalation de l'HE sur les chrysalides femelles à 0 jours, montrent que la période de pré-oviposition des femelles adultes est presque la même par rapport aux témoins (**Tableau 15, Figure 56**). Le test de Student révèle une différence significative

Tableau 15. Effet insecticide de l'HE d'*O.vulgare*, administrée par inhalation, sur la période de préoviposition (jours), chez *E.kuehniella* ($m \pm s$, $n= 5$ répétitions).

	Témoins	Traités
P. Préoviposion (jours)	1,25 \pm 0,5	2,50 \pm 0,50*

*: différence significative ($p \leq 0,05$)

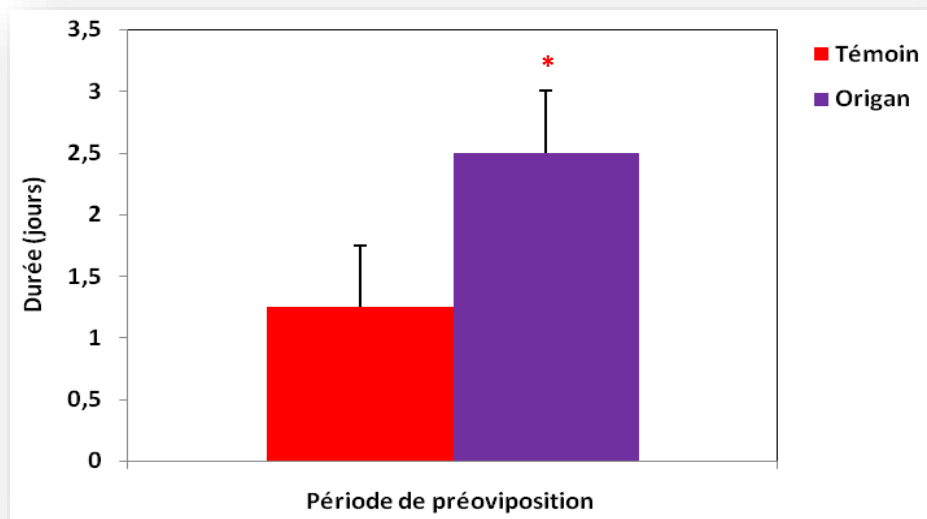


Figure 56. Effet insecticide de l'HE d'*O.vulgare* administrée par inhalation, sur la période d'oviposition (jours), chez *E.kuehniella*

8.3. Effet de l'HE d'*O.vulgare* sur la période d'oviposition

Chez les femelles d'*E. kuehniella* témoins, la ponte dure environ $4,25 \pm 0,50$ jours. Alors qu'en traitant les chrysalides avec l'HE, la période d'oviposition passe à $2,75 \pm 0,50$ jours. Le test de Student a révélé une différence significative entre les résultats (**Tableau 16, Figure 57**).

Tableau 16. Effet insecticide de l'HE d'*O.vulgare*, administrée par inhalation, sur la période d'oviposition (jours), chez *E. kuehniella* (m ± s, n= 5 répétitions).

	Témoins	Traités
P.Oviposition (jours)	4,25 ± 0,50	2,75 ± 0,50*

*: différence significative ($p \leq 0,05$).

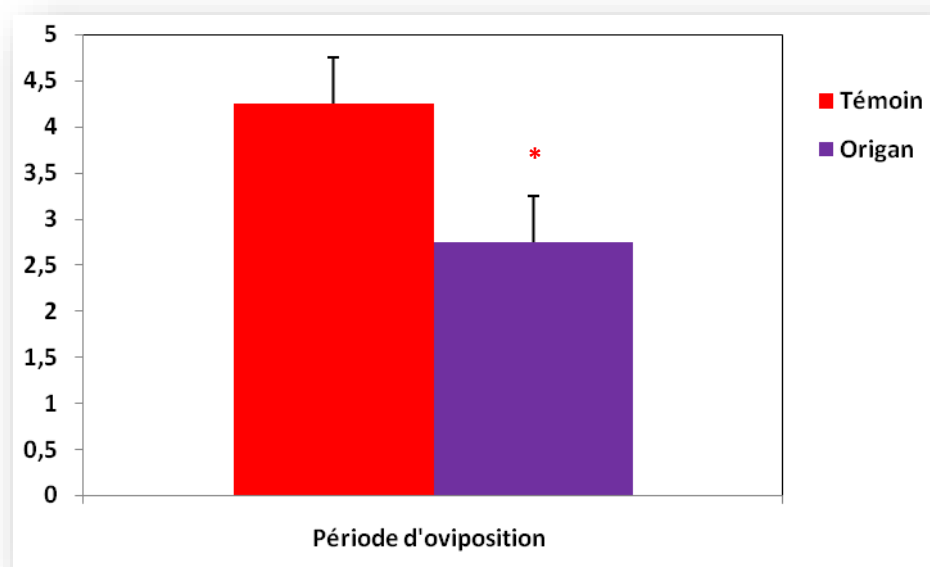


Figure 57. Effet insecticide de l'HE d'*O.vulgare*, administrée par inhalation, sur la période de préoviposition (jours), chez *E. kuehniella*

8.4. Effet de l'HE d'*O.vulgare*, sur la fécondité des femelles

Un jour après l'accouplement, la femelle commence immédiatement à mettre ses œufs pendant toute la période d'oviposition. Une femelle témoin met en moyenne $125,8 \pm 27,1$ œufs, alors que l'administration de l'HE réduit d'une façon hautement significative ce nombre qui atteint $43,25 \pm 5,44$ œufs (**Tableau 17, Figure 58**).

Tableau 17. Effet insecticide de l'HE d'*O.vulgare*, administrée par inhalation, sur la fécondité (nombre d'œufs déposés) des femelles d'*E. kuehniella* ($m \pm s$, n= 5 répétitions).

	Témoins	Traités
Fécondité des femelles (nb d'œufs)	125,8 \pm 27,1	43,25 \pm 5,44 **

** : différence hautement significative ($p \leq 0,001$).

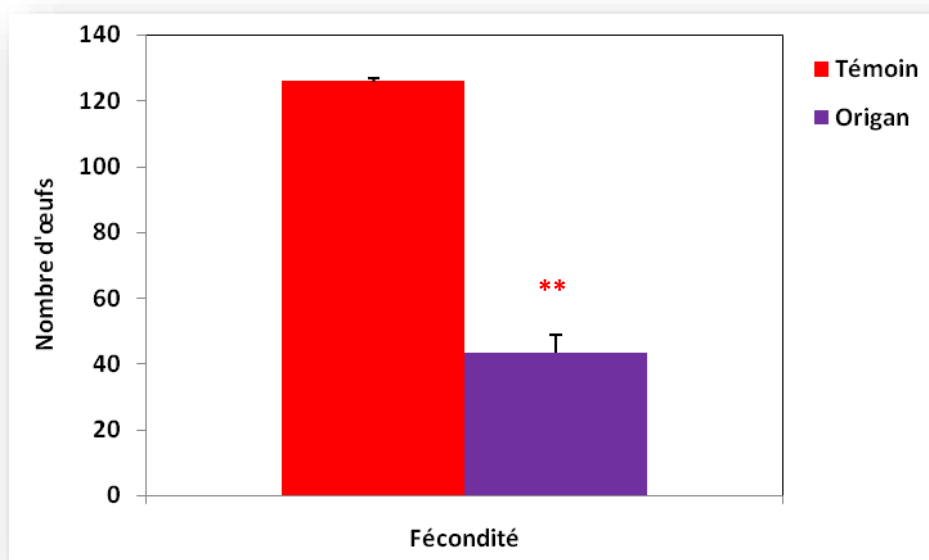


Figure 58. Effet insecticide de l'HE d'*O.vulgare*, administrée par application topique, sur la fécondité (nb d'œufs) chez *E.kuehniella*

8.5. Effet de l'HE d'*O.vulgare*, sur la mortalité des adultes

Les résultats montrent que le traitement administré par inhalation est efficace à l'égard des insectes adultes. Chez les témoins, 100% de mortalité n'est obtenu qu'au 14^{ème} jour, alors que l'application de l'HE commence à tuer les insectes dès le 2^{ème} jour et 100% de mortalité est obtenue dès le 10^{ème} jour (**Tableau 18, Figure 59**).

Tableau 18. Effet insecticide de l'HE d'*O. vulgare* L., administrée par inhalation, sur le taux de mortalité (%) des adultes d'*E. kuehniella* (m± s, n= 5 répétitions, 10 insectes/répétition).

	Témoin	Traités
1	0,00 ± 0,00	0,00±0,00
2	0,00 ± 0,00	7,00 ± 1,73***
3	0,00 ± 0,00	7,66 ± 1,52***
4	0,00 ± 0,00	9,33 ± 1,15***
5	0,00 ± 0,00	9,66 ± 0,57***
6	2,00 ± 1,00	10,00 ± 0,00***
7	3,00 ± 1,00	10,00 ± 0,00***
8	3,66 ± 0,57	10,00 ± 0,00***
9	6,33 ± 0,58	10,00 ± 0,00**
10	6,66 ± 0,58	10,00 ± 0,00*
11	8,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00
12	8,33 ± 0,57	10,00 ± 0,00
13	9,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00
14	10,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00

*: différence significative ($p \leq 0,05$)

**: différence hautement significative ($p \leq 0,001$)

*** : différence très hautement significatif ($P < 0.0001$)

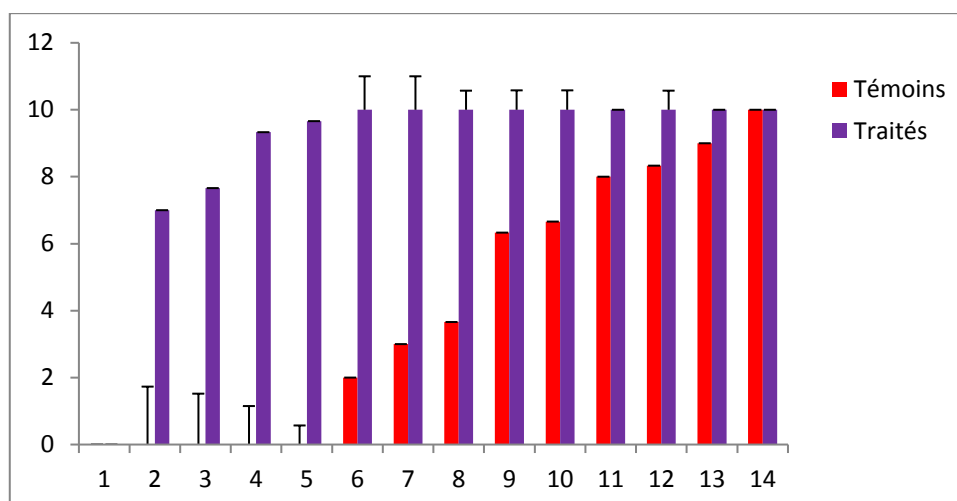


Figure 59. Effet insecticide de l'HE d'*O.vulgare*, administrée par inhalation, sur la mortalité des adultes d'*E. kuehniella*

8.6. Effet répulsif de l'HE d'*O.vulgare*

Les photos 26 et 27, nous montrent clairement le comportement des insectes soumis au test répulsif. Le taux de répulsivité à l'égard des adultes et larves sont mentionnés sur le tableau 19.

Tableau 19. Répulsivité moyenne de l'HE d'*O.vulgare* sur les adultes et les larves d'*E.kuehniella* (n= 3 répétitions).

	Pourcentage de répulsivité PR (%)
Adultes	60 %
Larves	40 %

Notre travail nous permet de classer l'HE de l'origan qu'on a utilisé, selon le pourcentage de répulsivité (PR).

Selon Mc Donald *et al.* (1970), l'HE d'*O.vulgare* est classée dans la catégorie IV comme « huile modérément répulsive »

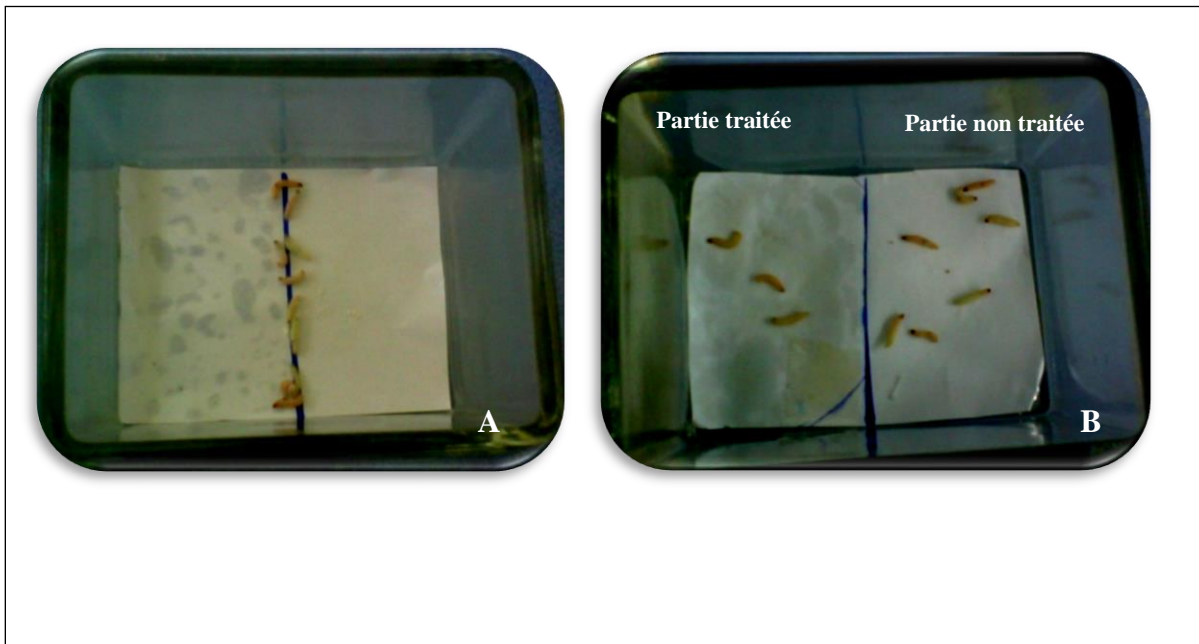


Photo 26. Effet répulsif de l'HE d'*O. vulgare* sur les larves d'*E. kuehniella*.

(A) : t₀, (B) : Après 02 heures : NC= 07 ; NT= 03 (Mahfouf, 2016)

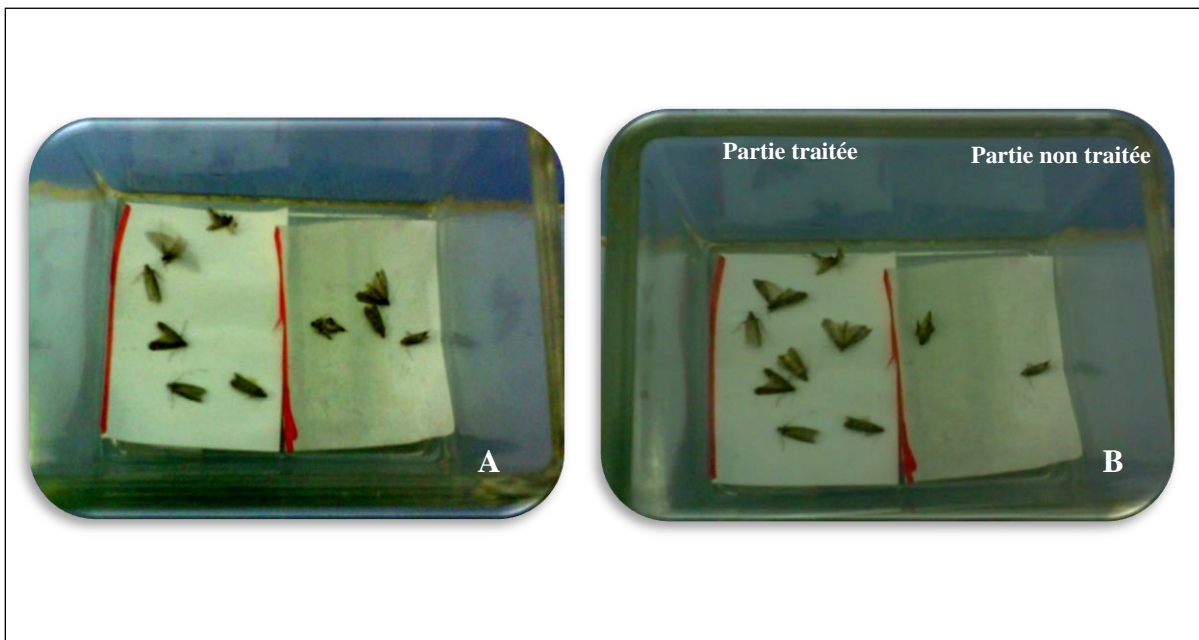


Photo 27. Effet répulsif de l'HE d'*O. vulgare* sur les adultes d'*E. kuehniella*

(A) : t₀, (B) : Après 02 heures : NC= 08 ; NT= 02 (Mahfouf, 2016)

✚ Effet de l'HE d'*O.vulgare* sur la reproduction d'*E.kuehniella*

Cette étude nous a permis de mettre en évidence l'activité insecticide de l'HE extraite de l'espèce *O. vulgare*, sur un insecte ravageur des denrées stockées en Algérie.

Les résultats obtenus à partir de notre expérimentation montrent clairement la perturbation de la reproduction des insectes en prolongeant leur développement nymphal et la période de préoviposition et en réduisant la période d'oviposition et la fécondité des femelles.

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par de nombreux auteurs qui ont mis en évidence l'efficacité de nombreuses HES appliquées comme bio-insecticide. C'est ainsi qu'**Aïboud (2012)**, a mis en évidence une activité insecticide très intéressante à l'égard de la fertilité des femelles de *Callosobruchus maculatus*. En effet, le chercheur a noté une réduction importante du nombre d'œufs pondus sur les grains de niébé par les femelles traitées.

Delimi et al. (2013), ont rapporté que l'HE extraite de l'Armoise blanche *Artemisia herba alba*, est considérée comme un insecticide perturbateur de la reproduction, après son application topique sur les chrysalides dès leur exuviation nymphale. Ces chercheurs montrent que l'effet toxique varie selon la dose utilisée, en prolongeant la durée de préoviposition et la durée du développement nymphal et en réduisant la période d'oviposition.

Cependant, d'après les études faites par **Regnault et Hamraoui (1997)**, les HES extraites de différentes plantes aromatiques ne provoquent pas toutes une inhibition de la fécondité d'*Acouthoscelides Obtectus*. Par contre, les HES de *Romarinus officinalis* et de *Thymus vulgaris* perturbent la reproduction d'*Acoscelides obtectus* et de *Teneola bisselliella*, en inhibant totalement la fécondité (**Bouchikhi et al., 2008**).

Ainsi, la bibliographie consultée, confirme les effets des HES sur la fécondité des ravageurs des denrées stockées et appuie nos résultats obtenus sur la teigne de la farine, *E. kuehniella*. Même si la femelle arrive à s'accoupler, la fécondité (le nombre d'œufs déposé) sera réduite suite à la réduction de la période d'oviposition.

4.2. Effet de l'HE d'*O. vulgare* sur la mortalité des adultes

Les HES des plantes font partie, ces dernières années, des voies les plus explorées dans la régulation des ravageurs. Leurs applications dans la protection des stocks a fait l'objet de nombreux travaux. Leur toxicité s'exprime de différentes manières: activité ovicide, larvicide, anti-nutritionnelle et inhalatrice (**Kaita et al., 2000**).

Chapitre V : Résultats et discussions

Les résultats obtenus montrent que la dose d'**HE**, a révélé un effet significatif sur la longévité des adultes d'*E. kuehniella*. Nos résultats sont en accord avec les travaux de plusieurs auteurs, qui ont mis en évidence l'action des **HEs** sur la longévité des ravageurs des denrées stockées. D'autre part, de nombreux travaux scientifiques relatifs à l'activité insecticide de l'origan, du thym et du romarin sont actuellement connus (**Clemente et al., 2003; Hamoudi, 2000; Keita et al., 2001**). Ainsi, l'**HE** de *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia* (**Saibi, 2009**) de même que celle de *Mentha spicata* (**Yahyaoui, 2005**) et celle de *Syzygium aromaticum* (**Kellouche & Soltani, 2004**) provoquent une forte toxicité à l'égard des insectes des stocks.

✚ Effet répulsif de l'**HE** d'*O.vulgare* .

L'effet répulsif de certaines huiles végétales a été constaté par de nombreuses études. C'est ainsi que notre test sur l'effet de l'**HE** de l'origan vient confirmer un effet répulsif sur les larves et les adultes du lépidoptère *E.kuehniella* suite à leur exposition durant une demi-heure au bio pesticide testé.

Selon **Khalfi., (sd)**, la bioactivité des **HEs** de trois plantes (*O.vulgare ssp. glandulosum*, *Rosmarinus officinalis* et *Thymus fontanaseei*) sur un insecte ravageur des céréales stockées révèlent des résultats économiquement importants en Algérie. Les résultats obtenus pour le test de repulsivité des **HEs** avec des concentrations sublétales mettent en évidence l'effet répulsif de ces trois plantes. Les pourcentages de répulsion varient de 45 à 66 % pour le thym, de 80 à 89 % pour l'origan et de 55 à 71% pour le romarin. Le chercheur a constaté pour les trois **HEs** que la repulsivité augmente avec le temps pour atteindre son maximum au bout de trois heures, Ceci peut s'expliquer par la forte volatilité des **HEs**. Selon le classement de **Mc Donald et al. (1970)**, l'**HE** de l'origan possède des propriétés répulsives plus élevées que celle du romarin et du thym.

Agarwal et al. (2001), ont démontré la toxicité et l'effet répulsif du composé 1,8-cinéol qui contient l'eucalyptus, contre *C. maculatus*, *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera : Bostrychidea) et *Sarocladium oryzae*. Ce chimiotypes s'est révélé répulsif avec un taux de repulsivité variant de 65 à 74%, vis-à-vis de ces trois insectes ravageurs, à la dose 4µl/ml après 01 heure d'exposition.

Les effets toxiques et répulsifs de cette **HE** pourraient dépendre de sa composition chimique et du niveau de sensibilité des insectes (**Casida, 1990**). L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles d'*O.vulgare* montre la présence des composants connus pour leurs propriétés insecticides, c'est le cas de thymol, *p*-cymène, γ -Terpinène, α -pinène, linalol et carvacrol.

Chapitre V : Résultats et discussions

L'HE utilisée dans ce travail de recherche est une huile de *chéomtype thymol*. Plusieurs travaux ont démontré la toxicité du thymol, ce composant phénolique est toxique pour *Varroa* à tous les stades de son développement : les œufs, les larves les nymphes et les adultes (**Daemon et al., 2009**). **Pandey et ses collaborateurs (2009)** ont aussi noté une toxicité chez l'anophèle : que ce soit au stade œuf, larve ou adulte. Le thymol exerce une action sur la contraction musculaire, ce qui a conduit à une baisse de fréquence des battements d'ailes (effets sublétaux) chez *Phaenicia sericata* adulte (**Waliwitiya et al., 2010**).

L'activité insecticide du thymol a été aussi étudiée sur les abeilles, après le traitement des ruches dans le laboratoire, une mortalité des jeunes larves est observée avec dans le même temps un changement de comportement des adultes (**Imdorf et al., 1995 ; Mattila et al., 2000**).

L'activité insecticide de plusieurs composants des HEs a été testée. Selon les travaux de **Prates et al., (1998)**, et aussi d'**Ojmelukwe & Adler (1999)**, le α -terpinéol, le cinéole, le limonène et l' α -pinène possèdent un effet toxique sur le charançon brun de la farine *Tribolium confusum*.

Cependant, il serait difficile de penser que l'activité insecticide de cette huile se limite uniquement à certains de ses constituants majoritaires; elle pourrait aussi être due à certains constituants minoritaires ou à un effet synergique de plusieurs constituants.

Conclusion

Conclusion

La flore algérienne est l'une des plus riches au monde et renferme de nombreuses espèces endémiques. L'Est algérien en abrite plusieurs et la plupart d'entre elles sont à usage médicinal.

Notre but a été de valoriser une plante aromatique, endémique algéro-tunisienne poussant à l'état spontané dans la région de Guelma et qui est très utilisée en médecine traditionnelle par la population locale: *Origanum vulgare* ssp *glandulosum*. Notre étude a porté sur les aspects écologique, ethnobotanique, morpho-anatomique de la plante et la composition chimique et les activités biologiques de l'huile essentielle extraite des feuilles.

Cette étude a été riche en résultats et qui sont les suivants:

O. vulgare pousse dans la région de Guelma qui est caractérisée par un climat tempéré chaud avec été sec (méditerranéen) le sol qui l'abrite est du type limoneux demi-fins, très riche en matière organique, alcalin, non salé et calcaire.

L'enquête ethnobotanique effectuée sur un échantillon de 221 personnes de l'est algérien a révélé que la majorité des enquêtés connaissent l'origan (98,64%) et que 77% d'entre eux l'utilisent. Le feuillage constitue la partie la plus utilisée (68%).

La décoction aqueuse (61%), l'infusion (37%) sont les modes de préparation les plus utilisés dans le traitement de la grippe (28,57 %), les douleurs abdominales (25,92 %), et les affections digestives (11,11%).

L'étude anatomique au niveau des trois organes (racine, tige, feuille) d'*O. vulgare* a permis de dégager les caractères anatomiques suivants :

- La présence des poils non glandulaires et glandulaires sur toute la partie aérienne.
- Un épiderme cutinisé de la tige et de la feuille.
- L'aspect quadrangulaire de la tige, caractère typique de la famille des Lamiaceae.
- La racine est du type dicotylédone

L'extraction de l'huile essentielle des feuilles d'*O.vulgare* a donné un rendement de 1,5%. Les composants identifiés appartiennent à sept classes biochimiques fondamentales: phénols (50, 91%), monoterpènes hydrocarbonés (38, 54%), monoterpènes oxygénés (3,

Conclusion

51%), sesquiterpènes hydrocarbonés (2,82%) sesquiterpènes oxygénés (2,16%), acides (0, 36 %) et cétones (0, 17%). Le thymol est le constituant majoritaire (32,58%).

L'activité antioxydante de l'HE d'*O.vulgare* L. évaluée par le test de piégeage du radical DPPH a donné un IC50 égal à 1.28 ± 0.07 mg/ml. Ce résultat témoigne d'une capacité réductrice modeste, comparée à celle du BHT (0.17 ± 0.02 mg/ml) et de l'acide ascorbique (0.361 ± 0.040 mg/ml).

L'activité antibactérienne de cette HE réalisée sur 45 souches, a été très efficace sur la majorité des souches bactériennes, ainsi les diamètres des zones d'inhibitions chez les entérobactéries ont oscillé entre 37,7 mm chez *Shigella sp* et 20,6 chez *E.coli*. Chez les bacilles à Gram négatif non fermentaires, les zones d'inhibition ont été comprises entre 36,6 mm chez *Acinetobacter sp* et 6 mm (résistance) chez *Pseudomonas aeruginosa*. Concernant les Gram positif, la plus grande zone d'inhibition (31,9 mm) et la plus petite (9,8 mm) ont été enregistrées chez les souches de *Staphylococcus aureus* (MRSA).

L'évaluation de l'activité insecticide de l'HE d'*O.vulgare* sur un insecte ravageur des denrées stockées en Algérie (*Ephestia kuehniella*) a révélé que L'HE perturbe la reproduction des insectes en prolongeant leur développement nymphal et la période de pré-oviposition et en réduisant la période d'oviposition et la fécondité des femelles.

L'HE a montré un effet significatif sur la longévité des adultes d'*E. kuehniella* et un effet répulsif sur les larves et les adultes d'*E. kuehniella*

Ces résultats apportent des éléments nouveaux dans la connaissance de cette espèce et confirment certaines de ses propriétés médicinales, il serait fort intéressant d'approfondir les aspects étudiés dans ce travail, également l'exploration d'autres facettes des propriétés biologiques de cette plante aromatique. Ainsi un certain nombre de perspectives peuvent être envisagées:

- Multiplier les études écologiques de l'espèce pour cerner au mieux ses exigences écologiques pour la cultiver et la sauvegarder.
- Fractionner et isoler les différents constituants des huiles essentielles, afin de connaître la ou les molécules à l'origine des effets antioxydant, antibactérien et insecticide et l'éventuelle synergie entre elles.
- Elargir l'étude biologique

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

1. **Abbott, S. L. (2007).** Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. A. Pfaller & M. L. Landry (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9 th ed., pp. 698-715). Washington, DC: ASM press.
2. **Abi-Ayad, M., Abi-Ayad, F.Z., Lazzouni, H.A. and Rebiahi, S.A. (2011).** Antibacterial activity of *Pinus halepensis* essential oil from Algeria (Tlemcen). *J. Nat. Prod. Plant Resour.* 1 (1): pp. 33-36.
3. **Afef, Béjaoui., Hédia, C., Maroua, J., Abdennacer, B., Mohamed, B. (2013).** Essential Oil Composition and Antibacterial Activity of *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* Desf. at Different Phenological Stages. *J Med Food.* 2013 Dec :16(12): 1115–1120.
4. **AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments). (2002).** Fiche de description de dangers transmissibles par les aliments : Salmonella spp. AFSSA. P6.
5. **Agarwal, M., Walia, S., Dhindra, S. and Khambaj, B.P.S. (2001).** Insect growth inhibition, antife edant and antifungal activity against *Spitosomaabligha* and *Rhizoctoniasolani*. *Pest Manag. Sci.* p.43.
6. **Aïboud, K. (2012).** Etude de l'efficacité de quelques huiles essentielles à l'égard de la bruche de niébé *Callosobruchusmaculatus* (Coléoptera : Bruchidea) et impact de traitement sur la germination des graines de *Vignaunguiculata* (L.) Walp. Mémoire de Magistère en biologie. Université de Tizi-Ouzou. P.41.43.
7. **Ajithkumar, B., Ajithkumar, V. P., Iriye, R., Doi, Y. and Sakai, T. (2003).** Spore-forming *Serratia marcescens* subsp. *sakuensis* subsp. nov., isolated from a domestic wastewater treatment tank. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, .53(1), 253.
8. **Akrout, A., Chemli, R., Chreif, I., Hammami, M. (2001).** Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *Flavour and Fragrance Journal* 16: 337-339.
9. **Aligiannis, N., Kalpotzakis, E., Mitaku, S., Chinou, I.B. (2001).** Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *J. Agric. Food Chem.* 40: 4168-4170.
10. **Almeida, J., Reis, A., Carrondo, M. (1995).** Competition between nitrate and nitrite reduction in denitrification by *Pseudomonas fluorescens*. *Biotechnol. Bioenz.*, 1995 ; 46 : 476-484.
11. **Ames, B.M. (1983).** Dietary carcinogens and anticarcinogens: Oxygen radical and degenerative disease. *Science*, 221, 1256–1263.

Références bibliographiques

12. **Amrouni, S., Touati, M., Hedef, Y. (2014).** Djahoudi, A. Effet de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* et de Thymus ciliates sur *Pseudomonas aeruginosa* VIM-2 carbapénèmase. *Phytothérapie*. 2014; 12: 309-313.
13. **Andréa, Roveré Franz., Neiva, Knaak and Lidia, Mariana Fiuza. (2011).** *Rev. Bras. Entomol.* 55 (1): 116-120.
14. **Anthoula, A. (2003).** Projet "Assistance au Recensement Agricole". FAO. Ministère de l'Agriculture. Direction des Etudes et de La Coordination. Filiere "Plantes Aromatiques & Médicinales". Liban. P40.
15. **APG III. (2009).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105–121.
16. **Arcila-Lozano, C. C., Loarca-Pina, G., Lecona-Urbe, S., Gonzalez de Mejia, E., (2004).** Oregano: propiedades, composicion y actividad biologica. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*.54, 100–111.
17. **Arman, D., Willke, A. and Tural, D. (1994).** In vitro activity of eight antibiotics against Salmonella and Shigella species. *European Journal of Epidemiology*.10(3) : 345-347.
18. **Arnold, N., Bellomaria, B., Valentini, G. (2000).** Composition of the essential oil of three different species of *Origanum* in the eastern Mediterranean. *Journal of Essential Oil Research*. 12, 192–196.
19. **Aruoma, IO. (1998).** Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 75, 199–212.
20. **Atlan, M. (1987).** Les labiées : études botaniques, économiques, chimiques et pharmacologiques. Doctorat en Pharmacie. Université de Bordeaux II.
21. **Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H. (1992).** Bactériologie clinique, 2ème édition, Ed., Marketing. Pp -268-276.
22. **Azevedo, N.R., Campos, I.F., Ferreira, H.D., Prtes, T.A., Santos, S.C., Seraphin, J.C., Paula, J.R. and Ferri P.H. (2001).** Chemical variability in the essential oil of *Hyptis Suaveolens*. *Phytochemistry*; 2001, 57(5) : 733-736.

B

23. **Baba Aissa, F. (1991).** Les plantes médicinales d'Algérie: identification, description, principes actifs, propriétés et usage traditionnel des plantes communes en Algérie. Ed. Bouchène et Ad.
24. **Balachaousky, A.S. (1972).** Blood sucking tick (Ixodaidea) vector of diseases of man and animals. *Mix .ubl.Entr.Soc.Arn* 8(161-376).p.17.
25. **Baratta, M.T., Dorman, H.J.D., Deans, S.G., Biondi, D.M. and Ruberto, G. (1998).** Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. *J. Essent. Oil Res.*, 10, 618-627.
26. **Bartosz, G. (2003).** Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology* .9: 5-21.
27. **Baser, K.H.C. (1993).** Essentials oils of Anatolian Labiateae: A profile. *Acta Horticulture*, 333, pp. 217-238.

Références bibliographiques

28. **Baser, K.H.C. (1995).** Essential oils from aromatic plants which are used as herbal tea in Turkey. Actes de la 13ème Conférence internationale sur les saveurs, les parfums et les huiles essentielles tenue à Istanbul, Turquie, 15- 19 octobre 1995, pp. 200-201.
29. **Baudoux, D., Blanchard, JM., Malotiaux, AF. (2006).** Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française. Inspir S.A.
30. **Baudry, F., Debauche, P. and Baudoux, D. (2004).** Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française - volume 3 : Arts vétérinaire - section 1 : Bovins. éd. Inspir SA Paris, 314 p.
31. **Baydar, H., Osman, S., Ozkan, G. and Karadoan, T. (2004).** Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*. 15:169-172.
32. **Béjaoui, A., Boulila, A. and Boussaid, M. (2013).** Chemical composition and biological activities of essential oils and solvent extracts of *Origanum vulgare subsp. glandulosum* Desf. from Tunisia. *J. Med. Plants Res.* 7: 2429-2435.
33. **Bekele, J. and Hassanali, A. (2001).** Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiatae) on two post-harvest insect pests. *Phytochemistry*, 57 .p.9.
34. **Bekhechi Chahrazed. (2009).** Thèse. Analyse (les huiles essentielles de quelques espèces aromatiques de la région de Tlemcen par (CPG, CPG-SM et RMN 13 C) et étude de leur pouvoir antibactérien). Faculté des Sciences .Université Abou Bakr Belkaïd. Tlemcen. Algérie.
35. **Belaiche, P. (1979).** Traitement du Zona in annales de médecines de Terrain. 1^{er} semestre 1979 .p.11.
36. **Belleti, N., Dafihimana, M.N., Sisto, M., Guerzoni, R., Lanciotti, R. and Gardini, F. (2004).** Evaluation of the antimicrobial Activity of Citrus Essences on *Saccharomyces cerevisiae*, *J.Agric.Food Chem.* 52: 6932-6938.
37. **Benjilali, B. (1986).** Etude de trois plantes aromatiques et médicinales du Maroc: armoises, thym et origan. Chimie de leurs huiles essentielles, chimiotaxonomie et propriétés antimicrobiennes. Doctorat ès-Sciences Agronomiques IAV Hassan II. Rabat - Maroc.
38. **Benjilali, B., Tantaoui-Elarki, A., Ismaili-Alaoui, M. (1986).** Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélose. *Plant MédPhytothér.* 20: 155-167.
39. **Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K. (2014).** Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie* .Springer-Verlag .France 2014. DOI 10.1007/s10298-014-0834-x.
40. **Berger, M.M. (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutr. Clin. Métabolisme.* 20:48–53.
41. **Berlau, J.H.M., Aucken, E., Houang and Pitt, T.L. (1999).** Isolation of *Acinetobacter* spp. including *A. baumannii* from vegetables: implications for hospital-acquired infections. *J Hosp Infect* .42: 201-4.
42. **Bestmann, H.J., Classen, B., Kobold, U., Vostrowsky, O. and Klingauf, F. (1987).** Botanical insecticides. IV. The insecticidal effect of the essential oil from the costmary

Références bibliographiques

- chrysanthemum *Chrysanthemum balsamita* L. *Anz. Schädl. Pflanz. Umweltsch.* 60, 31–34.
43. **Biedenbach, D. J., Moet, G. J. and Jones, R.N. (2004).** Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparisons among bloodstream infection isolates from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2002). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 50(1) : 59-69.
 44. **Bigendako-Polygenis, M.J. and Lejoly, J. (1990).** La pharmacopée traditionnelle au Burundi. Pesticides et médicaments en sante animale. Pres. Univ. Namur. Pp. 425-442.
 45. **Billerbeck, VG., Roques, C., Vanière, P., Marquier, P. (2002).** Activité antibactérienne et antifongique des produits à base d'huiles essentielles. *Hygiènes X* . 3:248-251.
 46. **Bitsindou, M. (1986).** Enquête sur la phytothérapie traditionnelle a Kindamba et Odzala (Congo) et analyse de convergence d'usage des plantes médicinale en Afrique centrale Mem. Doc (ined.). Univ. Libre de Bruxelles. 482 pp.
 47. **Blois, M.S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181: 1199- 1200.
 48. **Blondi, D., Cianci, P., Geraci, C., Ruberto, G. (1993).** Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. *Flavour and Fragrance J.* 8: 331 -337.
 49. **Boligon, AA., Machado, MM., Athayde, ML. (2014).** Technical Evaluation of Antioxidant Activity. *Med chem* 4:517-522.
 50. **Botelho, M.N.A., Nogueira, G.M., Bastos, S.G., Fonseca, T.L., Lemos and Matos F.J. (2007).** Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* ,40 (3):349-356.p.44.
 51. **Bouchikhi, T.Z., Hassani, F. and Khelil .M.A. (2008).** Bioefficacy of essential oils extrated from the leaves of *Rosmarinus officinalis* et *Artemisia herba alba* towards the bruche bean *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of pure and applied microbiology*. 2(1) pp 165-170 , P.41.
 52. **Bouhaddouda, N., Aouadi, S., Labiod, R. (2016).** Evaluation of Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oil and Methanolic Extract of *Origanum vulgare* L. ssp. *glandulosum* (Desf.) Ietswaart from Algeria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*.2016: 104-112.
 53. **Bouhdid, S., Abrini, J., Baudoux, D., Manresa, A., Zhiri, A. (2012).** Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan : pouvoir antibactérien et mécanisme d'action. *J Pharm Clin.* 31 (3) : 141-8
 54. **Boulos, L. (1983).** Medicinal plants of north Africa, Ed. Reference Publication Inc., Michigan. 1983.
 55. **Boyce, T.G., Gruber, W.C. and Fisher, R.G. (2004).** Enterobacter. In R. D. Feigin, Cherry, Demmler & Kaplan (Eds.), *Textbook of pediatric infectious diseases* (5th ed., pp. 1427- 1431). PA, USA: Saunders.
 56. **Bradley, J. C., Galil, B. (1977).** The taxonomie arragement of the Phasmatodea with keys to the subfamilies and tribes. *Proc. Entomol. Soc. Washington De.* 2: 176 - 208.

Références bibliographiques

57. **Braun, G. (2008).** Virulence mechanisms of Acinetobacter. *Acinetobacter biology and pathogenesis. Paris Springer:* 145-154.
58. **Bruneton, J. (2009).** *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales, 4e éd.* Tech et Doc Paris, 1269 p.
59. **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. Edition. Technique et documentaire, 3eme édition. p.2
60. **Burt, S. A. (2003).** Antibacterial activity of select plant essential oils against Escherichia Coli O 157: 47. *Lett. Appl. Microbial.* 36: 162-167.

C

61. **Caccioni, D.R.L. and Guizardi, M. (1994).** Inhibition of germination of fruit and postharvest pathogenic fungi by essential oil components. *J. Essent. Oil Res.*, 6, 173-179.
62. **Caillaud, M. (2013).** Etude de l'espèce *Origanum vulgare* L. Thèse de doctorat. Spécialité : Pharmacie. UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Université de Nantes.
63. **Carr, J. G. (1983).** Microbes I have known: a study of those associated with fermented products.1. *Appl. Bacteriol.* 55: 383 - 402.
64. **Casida, J.H. (1990).** Pesticide mode of action, evidence for implications of a finite number of biochemical targets. In: Casida J.E. (ed.). *Pesticides and alternatives. Innovative chemical and Biological Approaches to Pest Control.* Amsterdam: Elsevier, pp. 11-22.
65. **Cassier, P. (1996).** L'exploitation de deux milieux. Le passage de la vie imaginaire chez les insectes. Le contrôle endocronien. *Bull.Soc.Zoll* .p.17.
66. **Chadefaud, M., et Emberger, L. (1960).** Traité de botanique systématique, Les végétaux vasculaires, Tome II, Ed. Masson et Cie pp. 832-833.
67. **Chami, F. (2005).** Evaluation in vitro de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires in vivo application dans la prophylaxie et le traitement de la Candidose Vaginale sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés. Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 266 p.
68. **Chavéron, H. (1999).** Molécules toxiques. Dans « Introduction à la toxicologie nutritionnelle », TEC & DOC, Lavoisier, Paris, 98 pp.
69. **Cimanga, K. et al. (2002).** Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharmacology*, 79, 213-220.
70. **Claus, D. and Berkeley, R.C.W. (1986).** Genus Bacillus Cohn 1872. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Edited by P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe & J. G. Holt. *Baltimore: Williams & Wilkins.* Vol 2: 1105 - 1139.
71. **Clemente, S., Mareggiani, G., Brousalis, A., Mallino, V. and Ferraro, G. (2003).** Insecticidal effect of Lamiaceae species against stored products insects. P.42.
72. **Connan, S. (2004).** Etude de la diversité spécifique des macroalgues de la pointe de Bretagne et analyse des composés phénoliques des Phéophycées dominantes. Thèse de

Références bibliographiques

- Doctorat de l'Université de Bretagne Occidentale, Spécialité Océanologie Biologique, Brest.
73. **Constantin, E. (1996).** Spectrométrie de masse, Lavoisier Tec & Doc, Paris, 1996, 1-14.
74. **Cosentino, S., Tuberoso, C.I., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E. and Palmas, F. (1999).** In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. *Lett Appl Microbiol.* 1999, 29(2): 103-105.
75. **Couladis, M., Tzakou, O., Kujundzić, S., Soković, M., Mimica-Dukić, N. (2004).** Chemical analysis and antifungal activity of *Thymus striatus*. *Phytotherapy Research.* 18: 40-42.
76. **Cowan, M.M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, 12, 564-582.
77. **Cristiani, M., D'Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M.G. et Micieli, D. (2007).** Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 55: 6300-6308.
- D**
78. **Daemon, E., De Oliveira Monteiro, C.M., Dos Santos Rosa, L., Aparecido Clemente, M., Arcoverde, A. (2009).** Evaluation of the acaricide activity of thymol on engorged and unengorged larvae of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). *Parasitology research* 105, 495–7.
79. **Daoudi-Merbah, F. and Dahmani-Megrerouche, M. (2013).** Contribution à la caractérisation de la niche écologique d'espece menacée : Elément pour sa conservation et sa valorisation. USTHB-FBS-4th International Congress of the Populations & Animal Communities "Dynamics & Biodiversity of the terrestrial & aquatic Ecosystems" CIPCA4 TAGHIT (Bechar) – ALGERIA.
80. **Davies, K.J. (2000).** Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life* 50: 279–289.
81. **De Breij, A., Eveillard, M., Dijkshoorn, L., Van den Broek, P.J., Nibbering, PH et al. (2012).** Differences in *Acinetobacter baumannii* Strains and Host Innate Immune Response Determine Morbidity and Mortality in Experimental Pneumonia. *Plos ONE*; 7: E30673.
82. **Defraigne, J.O., Pincemail, J. (2008).** Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *RMLG Rev. Médicale Liège* .63, 10–19.
83. **Delaquis, P.J., Stanich, K., Girard, B., et al. (2002).** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int J Food Microbiol.* 2002 : 74 : 101-9.
84. **Delbos, V. (2012).** Manifestations cliniques et traitement des infections à *Acinetobacter baumannii*. *Revue francophone des laboratoires* Vol 42, N° 441, pp. 59-65.
85. **Delimi, A., Taibi, F., Fissah, A., Gherib, S., Bouhkari, M. and Cheffrou, A. (2013).** Bio-activité des huiles essentielles de l'Armoise blanche *Artemisia herba alba* : effet sur la reproduction et la mortalité des adultes d'un ravageur des denrées stockées *Ephesiakuehniella* (Lepidoptera).p.9-41.

Références bibliographiques

86. Demetzos, C., Stahl, B., Anastassaki, T., Gazouli, M., Tzouveleakis, L.S. and Rallis M. (1999). Chemical analysis and antimicrobial activity of the resin Ladano, of its essential oil and of the isolated compounds. *Planta Med.* 1999. 65(1): 76-78.
87. Denis, F., Dabernath, Monteil, H., Avril, J. L. (1998). *Bactériologie clinique* Edition marketing, Paris. 1998: 144-145.
88. Derwich, E., Benzyane, Z., Mnar, A., Boukir, A., Taouil, R. (2010). Phytochemical analysis and in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* from Morocco. *American Eurasian Journal of Scientific Research* .5(2), 120-129.
89. Dessi, A., Puddu, M., Testa, M., Marcialis, M. A., Pintus, M. C. and Fanos, V. (2009). *Serratia marcescens* infections and outbreaks in neonatal intensive care units. *Journal of Chemotherapy (Florence, Italy)*. 21(5): 493-499.
90. Deysson, G., (1965). *Eléments d'anatomie des plantes vasculaires*. Société d'Édition d'Enseignement Supérieur (SEDES), Paris, 266p.
91. Dijkshoorn, L., Aken, E van., Shunburne, L., Reijden, T J van der., Bernards, A T., Nemeč, A. and Towner, K J. (2005). Prevalence of *Acinetobacter baumannii* and other *Acinetobacter* spp. in faecal samples from non-hospitalised individuals. *Clin Microbiol Infect* .11: 329-32.
92. Doran, T.I. (1999). The role of *Citrobacter* in clinical disease of children: Review. *Clinical Infectious Diseases*, 28(2), 384-394.p.26.
93. Dorman, H., Deans, S. (2000). Antimicrobial agents from plants :antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88,308-16.
94. Dorman, H.J.D. and Deans, S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88: 308–316.
95. Doumandji-Mitiche, B. (1997). Etude d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella*. Am El Hrrache .p.15.
96. Downes, F. P. and Ito, K. (2001). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (4th ed.). Washington, DC, USA: American Public Health Association.
97. Drame, B. (2001). Micro méthode d'identification et d'étude de la sensibilité des entérobactéries : Intérêts thérapeutiques. Thèse Pharm., Dakar, n° 86.
98. Droboiewski, F. A. (1993). *Bacillus cereus* and related species. *Clin. Microbiol. Rev.* 6: 324 - 338.
99. Dubois, J., Mitterand, H., Dauzat, A. 2006. *Dictionnaire étymologique et historique du français*, Éditions Larousse.
100. Du Pont, H.L., Ericsson, C.D., Mathewson, J.J. and DuPont, M.W. (1992). Five versus three days of ofloxacin therapy for traveler's diarrhea: a placebo-controlled study. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 36(1) : 87-91.
101. Duraffourd, C., D'Hervicourt, L., Lapraz, J.C. (1990). *Cahier de phytothérapie clinique*. Examen de laboratoire galénique. *Éléments Thérapeutiques Synergiques*. 2ème édition, Ed., Masson (Paris), 87 p.

E

102. Edwards, P.R., Ewing, W.H. (1997). *Identification of the Enterobacteriaceae*. Ed Burgess, Minneapolis, 3rd ed, 1977.

Références bibliographiques

103. El Babili, F., Bouajila, J., Souchard, J P., Bertrand, C., Bellvert, F., Fouraste, I., Moulis, M. and Valentin, A. (2011). Oregano: Chemical Analysis and Evaluation of Its Antimalarial, Antioxidant, and Cytotoxic Activities. *Journal of Food Science*. 2011 Apr;76(3):C512-8.
104. Elhoussine, D., Zineb, B., Abdellatif, M., Abdellatif, B., Rachid, T. (2010). Phytochemical analysis and in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* from Morocco. *American Eurasian Journal of Scientific Research* 5(2): 120-129.
105. Engel, H.J., Collignon, P.J., Whiting, P.T. and Kennedy, K.J. (2009). Serratia sp. bacteremia in Canberra, Australia: a population-based study over 10 years. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 28(7), 821-824.
106. Erdogan, O.I., Belhattab, R. (2010). Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. herba-alba*, *A. fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M. astranicum*, *Origanum vulgare subsp. glandulosum* and essential oil analysis of two *Artemisia* species. *Ind. Crop. Prod.* 32: 566–71.
107. Erqou, S. A., Teferra, E., Mulu, A. and Kassu, A. 2007. A case of shigellosis with intractable septic shock and convulsions. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 60(5), 314-316.
108. Euzéby, J.P. (2010). List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47.

F

109. Fadil, M., Farah A., Ihssane, B., Haloui, T., Rachiq, S. (2014). *Int. J. Innov. Appl. Stud.*, 8 (2014) 372.
110. Fahh, A. (1979). Ultrastructure of nectaries in relation to nectar secretion. *Amer. J. Bot.* 66, 977–985.
111. Farmer, J.J. (1985). Biochemical identification of new species and biogroup of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. *J. clin. Microbiol.* 21: 46-76.
112. Farmer, J.J. III. (1999). Enterobacteriaceae: introduction and identification. In Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Tenover (Editors), *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ED., American Society for Microbiology, Washington D.C. pp.442-458.
113. Farmer, J.J., Boatwright, K.D. and Janda, J.M. (2007). Enterobacteriaceae: Introduction and identification. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical microbiology* (9th ed., pp. 649-669). Washington, DC, USA: ASM press.
114. Fauchère, J.L., Avril, J.L. (2002). Bactériologie générale et médicale. *Ed., Ellipse*. Pp: 213-281.
115. Festy, D. (2008). Ma Bible Des Huiles Essentielles. *Quotidien Malin*. 2008.
116. Finkel, T., Holbrook, N.J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* .408: 239–247.
117. Formal, S.B., Hale, T.L., and Kapfer, C. (1989). Shigella vaccines. *Reviews of Infectious Diseases*, 11 Suppl 3, S547-51.
118. Fosse, J., Margas, C. (2004). Dangers Biologiques et Consommation des Viandes. *Ed Lavoisier*: Paris. P 220.

Références bibliographiques

119. Fournier, P.E., Vallenet, D., Barbe, V., Audic, S., Ogata, H., Poirel, L. (2006). Comparative Genomics of Multidrug Resistance in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS Genet* 2(1): e7. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0020007> Corriere MD, Decker CF. MRSA: an evolving pathogen. *Diseasea-Month* 2008 ; 54 : 751-5.
120. Fred, C., Tenorer, P. (2006). Mecanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Assouciation*. 119:3-10.
121. Friedman, M., Henika, PR. and Mandrell, RE. (2002). Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *J. Food Prot.*, 65(10), pp. 1545-1560.

G

122. Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, MB., Taghizadeh, M., Astaneh, SA., Rasooli, I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*. 102: 898-904.
123. Garnerro, J. (1991). **Phytothérapie-aromathérapie.1991**. *Encycl. Méd. Nat* 1991, p : 20.
124. Gaspar, F. and Jeeke, G. (2004). Essential oil from *Origanum vulgare* L. ssp. *virens* (HOFFM. and LINK) IETSWAART: Content, Composition and Distribution Within the Bracts., *J. Essent. Oil Res.*, 16, pp. 82-84.
125. Gassama, A., Boye, C.S., Ndir, I., Kaire, O., Coly, I., Sow, A.I., Macondo, E., Diop-Diop, M., Mboup S. (1999). Microméthodes d'identification des Entérobactéries. *Dakar Médical*. 44, 1 : 69-75.
126. Germann, G. and Germann, P. (2014). *Plantes d'aromathérapie*. éd. Delachaux et Niestlé Paris, 208 p.
127. Good, A. E. and Schultz, J. S. (1977). Reiter's syndrome following *Shigella flexneri* 2a: a sequel to traveler's diarrhea. Report of a case with hepatitis. *Arthritis and Rheumatism*, 20(1): 100-104.
128. Gordon, R.E., Hayens, W.C and Pang, C.H.N. (1973). The genus *Bacillus*. In *Bacillus* Edited by Colin R. Harwood. New - York & London: Plenum Press. p: 293 - 320.
129. Govindarajan, R., Vijayakumar, M., Pushpangadan, P. (2005). Antioxidant approach to disease management and the role of "Rasayana" herbs of Ayurveda. *J. Ethnopharmacol*. 99, 165–178.
130. Greuter, W., Burdet, H. M. and Long, G. (1986). Med Checklist. In *Editions du Conservatoire de Jardin Botaniques de la ville de Genève*, (Vol 3).
131. Griffin, GS., Markham, LJ., Leach, ND. (2000). An agar dilution method for the determination of the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of Essential Oil Research*. 12:149-255.
132. Griffin, P.M., Tauxe, R.V., Redd, S.C., Puh, N.D., Hargrett-Bean, N., and Blake, P.A. (1989). Emergence of highly trimethoprim-sulfamethoxazole-resistant *Shigella* in a native American population: an epidemiologic study. *American Journal of Epidemiology*. 129(5): 1042-1051.

Références bibliographiques

133. Grimont, F. and Grimont, P.A.D. (1992). The genus *Serratia*. *The Prokaryotes*. 3: 2822–2848.
134. Gueroui, Y. (2015). *Caractérisation Hydrochimique et Bactériologique des eaux Souterraines de L'aquifère Superficiel de la Plaine de Tamlouka (Nord-Est Algérien)*. Thèse de doctorat. Univ Guelma. 162p.
135. Guery, B. (2009). Antibiothérapie des infections à *Acinetobacter* et *Pseudomonas*. CHRU Lille, DESC Maladies Infectieuses, St Antoine. EA7366.

H

136. Hami, M. (2004). Effet de quelques régulateurs de croissance mimétiques de l'hormone de mue en application topique, sur le développement et la reproduction d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella* (zeller). Thèse de Magister en Physiologie Animale. Université d'Annaba. p.16.17.
137. Hammer, K., Carson, C. and Riley, T. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.*, **86**(6), pp. 985-990.
138. Hanes, D. (2003). Nontyphoid Salmonella (137- 149). In International Handbook of Food-borne Pathogens, Miliotis MD, Bier JW (eds). Marcel Dekker: New York. P 688.
139. Hart, C.A. (2006). *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* and *Serratia* spp. In S. H. Gillespie, & P. M. Hawkey (Eds.), *Principles and practice of Clinical Bacteriology* (2nd ed., pp. 377- 386). England, UK: John Wiley and Sons Ltd.
140. Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* 13, 572–584.
141. Helander, IM., Alakomi ,HL., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm ,T., Pol, I., Smid, EJ., et al. (1998). Characterization of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria. *Agric Food Chem.* 46(9):3590-5
142. Hélène, L. (2012). Intérêts, limites et toxicité des huiles essentielles en infectiologie ORL. Enquête sur la place qu'elles occupent au sein des médecines actuelles. Thèse de doctorat en pharmacie .Université de Lille 2. 2011/2012.
143. Hersch-Martinez, P., Leanos-Miranda, B.E., Santos, S. (2005). Antibacterial effects of commercial essential oils over locally prevalent pathogenic strains in Mexico. *Fitoterapia.* 76: 453-457.
144. Holley, R.A., Patel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiol.* 22(4): 273–292
145. Holmes, B. and Aucken, H.M. (1998). *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* and other members of the Enterobacteriaceae. In L. Collier, A. Balows & M. Sussman (Eds.), *Microbiology and Microbial infections: Systematic Bacteriology* (9th ed., pp. 999-1033). London: Arnold.
146. Hussain, S.P., Hofseth, L.J., Harris, C.C. (2003). Radical causes of cancer. *Nat. Rev. Cancer* 3, 276–285.

I

147. **Ietswaart, J.H.A. (1980).** Taxonomic Revision of the genus *Origanum* (Labiatae), Leiden Botanical Series, Vol 4, Leiden University Press, The Hague, Netherlands.
148. **Imdorf, A., Bogdanov, S., Kilchenmann, V., Maquelin, C. (1995).** Apilife Var: A new Varroacide with thymol as the main ingredient. *Bee World* 76, 77–83.
149. **Isman. (2000).** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19.p.9.

J

150. **Jackson, S. G., Goodbrand, RB., Ahmed, Ret Kasatiya, S. (1995).** *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* isolated in a gastroenteritis outbreak investigation. *Let. App. Microbiol.* 21: 103 - 105.
151. **Jacques, G. Paltz, S.A. (1997).** Le fascinant pouvoir des huiles essentielles. Fascicule du laboratoire “Jacque Paltz”. p.9.
152. **Janda, J.M. and Abbott, S.L. (2006).** The Genera *Klebsiella* and *Raoultella*. *The Enterobacteria* (2nd ed., pp. 115-129). Washington, USA: ASM Press.p.25.
153. **Jans, B., Glupezynski., Y, Suetens., C. and Van Cleemput, Els. (2004).** Enquête épidémiologique relative à *Acinetobacter baumannii* producteur de BLSE (type VEB-1 en Belgique.
154. **Janssen, A.M., Chin, N.L. J., Scheffer, J. J. C., Baerheim Svendsen, A. (1986).** Screening for antimicrobial activity of some essential oil by the agar overlay technique. *Parmaceutisch WeekbladScientflcEd.* 8:289-292.
155. **Joly-Guillou, ML. (2005).** Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clin Microbiol Infect.* 11:868-73.
156. **Joly-Guillou, ML. (2006).** *Acinetobacter*, AntibioGramme. Paris 2-7475-0907-5.
157. **Jou, N.T., Yoshimori, R.B., Mason, G.R., J.S. and Liebling, M.R. (1997).** Single – tube. Nested, reverse transcriptase PCR for detection of viable *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Clin. Microbiol.*, 1997, 35 : 1161-1165.

K

158. **Kaita, S.M., Vincent, C.S., Ramaswamy, J.P, and Belanger, A. (2000).** Effect of variones essential oil on *callosobruchus maculatus* (F) (Coleoptera : Brichidae). *J.Stored prod .Res*, Vol 36:p.42.
159. **Kal, S., Achour, W., Abdelhamid, A., Benjaoui, M., Ben Hassen, A. (2005).** *Pseudomonas aeruginosa* isolées de patients immunodéprimés: résistance aux antibiotiques, sérotypage et typage moléculaire, Médecine et maladies infectieuses. 35 : 530-535.
160. **Kalemba, D. and Kunicka, A. (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry.* 10: 813-829.
161. **Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U., Ilcim, A. (2001).** Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. *J. of Ethnopharmacology.* 76: 183 - 186.
162. **Keane, S. and Ryan, MF. (1999).** Purification, characterisation, and inhibition by monoterpenes of acetylcholinesterase from the waxmoth, *Galleria mellonella* (L.). *Insect biochemistry and molecular biology* Vol29(12) N , p.10

Références bibliographiques

163. **Kéita, S.M., Vincent, C., Schmit, J.P., Arnason, J.T and Bélanger, A. (2001).** Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Product research*, p.42.
164. **Kellouch, A. and Soltani, N. 2004.** Activité biologique des poudres de cinq plantes des huiles essentielles, d'une d'entre elle sur *Callosobruchus maculatus* (F). *International Journal Tropical Insect Sciences* 24 (2): 184-191.p.42.
165. **Kempf, M., Eveillard, M., Deshayes, C., Ghamrawi, S., Lefrançois, C., Georgeault, S., Bastiat, G., Seifert, H., Joly-Guillou, ML. (2012).** Cell surface properties of two differently virulent strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from a patient. *Canadian Journal of Microbiology*. 58: 311-317.
166. **Khadir, A., Bendahou, M., Benbelaid, F., Bellahcene, C., Abdelouahid, D. E., Museili, A., Paollini, J., Desjobert, J., Costa, J. (2013).** Evaluation of the MRSA Sensitivity to Essential Oils Obtained from four Algerian Medicinal Plants. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 3: 018-024.
167. **Khalfi-Habes, O., Boutekedjiret, C. and Sellami, S. (sd).** Activité biologique de trois huiles essentielles extraites de plantes algériennes sur *Rhyzopertha dominica* (F.) (Colcoptera: Bostrychidae). Département de zoologie agricole et forestière, Institut National Agronomique EI-Harrach -16200- Algérie.p.42.
168. **Khosravi, AR., Shokri, H., Kermani, S., Dakhili, M., Madani, M., Parsa, S. (2011).** Antifungal properties of *Artemisia sieberi* and *Origanum vulgare* essential oils against *Candida glabrata* isolates obtained from patients with *vulvovaginal candidiasis*. *J. Mycol. Med.*, 21: 93-99.
169. **Kintzios Spiridon, E. (2002).** Oregano :The genera *Origanum* and *Lippia* (Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles) –Taylor &Francis.p.10
170. **Klingauf, F., Bestmann, H.J., Vostrowsky, O. and Michaelis, K. (1983).** The effect of essential oils on insect pests. *Mitt. Deutsch. Ges. Allg. Angew. Entomol.* 4, 123–126.
171. **Knirel, Y.A., Kocharova, N.A., Bystrova, O.V., Katzenellenbogen, E. and Gamian, A. (2002).** Structures and serology of the O-specific polysaccharides of bacteria of the genus *Citrobacter*. *Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis*.50: 379-391.
172. **Knobloch, K., Paulis, A., Iberl, B., Weignaud, H. and Weis, N. (1989).** Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *J. Ess. Oil Res.* 1: 118 – 119.
173. **Knobloch, K., Weigand, H., Weis, N., Schwarm, H.M., Vogenschow, H. (1986).** Action of terpenoids on energy metabolism. In: Brunke EJ (Ed) *Progress in Essential Oil Research*, Walter de Gruyter, Berlin. 429-445
174. **Kofidis, G, Bosabalidis, A.M., Moustakas, M. (2003).** Contemporary seasonal and altitudinal variation of leaf structural features in oregano (*Origanum vulgare* L.). *Annals of Botany* 92 (2003) 635-645.
175. **Kokkini, S. (1996).** Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum* species. Proceeding of the IPGRI International Workshop on Oregano. 8-12 May 1996. CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy. Ed.: S.Padulosi. pp. 2-12.
176. **Konstantonopoulou, I., Vassilopoulou, L., Mavragani-Tsipidou, P. and Scouras, Z.G. (1992).** Insecticidal effects of essential oils. A study of the effects of essential oils

Références bibliographiques

- extracted from eleven Greek aromatic plants on *Drosophila auraria*. *Experientia* 48, 616–619.
177. **Kowalski, S.P., Eanneta, N.T. and Steffens, J.C. (1988)**. Insect resistance in potato: purification and characterization of a polyphenol oxidase in glandular trichomes of wild potato. *Plant Physiol.* 86, 107.
178. **Krieg, A. (1981)**. In The genus *Bacillus*: insect pathogen in the prokaryotes, a handbook on habitats, isolation, and identification of bacteria. Starr, M.P., Stolp, H., Trüper, H.G., Balows, A. and Schlegel, H.G. New York: *Springer-Verlag*. 2: 1743 - 1755.
179. **Kumarasamy, K.K., Toleman, M.A., Walsh, T.R., Bagaria, J., Butt, F., Balakrishnan, R., Chaudhary, U., Doumith, M., Giske, C. G. et al. (2010)**. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *The Lancet Infectious Diseases*. 10(9): 597-602.

L

180. **Labre, P. (2012)**. Phytothérapie et aromathérapie chez les ruminants et le cheval - Tome 2., éd. Femenvet Thônes, 352 p.
181. Lacey, LA. (2007). *Bacillus thuringiensis* serovariety israelensis and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. *J Am Mosq Control Assoc.* 2007: 23(2 Suppl):133-63.
182. **Lamarck, Jean-Baptiste De Monet. (1992)**. Encyclopédie Méthodique : botanique. Aberville : Ed. Amarca, Paris.
183. **Lambert, PA. (2005)**. Bacterial resistance to antibiotics: modified target sites. *Adv. Drug Deliv.Rev.* 57: 1471-1485
184. **Lamiri, A., Lhaloui, S., Benjilali, B. and Berrada, M. (2001)**. Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola Destructor* (Say). *Field Crops Res.*, 71, 9-15.
185. **Langeron, M., (1934)**. Précis de microscopie. Collect. Précis médicaux. Masson & Cie, Paris. 1205 p.
186. **Larpent, J.P. (1997)**. Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire. Les levures. Tec et Doc. *Lavoisier*: 464-472.
187. **Lavigne, J.P., Defez, C., Bouziges, N., Mahamat, S. and Sotto, A. (2007)**. Clinical and molecular epidemiology of multidrug-resistant *Citrobacter* spp. infections in a French university hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 26 : 439-441.
188. **Le Minor, L., Veron, N. (1989)**. Bactériologie Médicale Flam Med. Science, Paris, 1989 : 333-318 ; 773-823.
189. **Levin, D.A. (1973)**. The role of trichomes in plant defense. *Q. Rev. Biol.* 48, 3–15.
190. **Loizzo, MR., Menichini, F., Conforti, F., Tundis, R., Bonesi, M., Saab, AM., Statti, GA., Cindio, B., Houghton, PJ., Menichini, F., Frega, NG. (2009)**. Chemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory and anticholinesterase activities of *Origanum ehrenbergii* Boiss and *Origanum syriacum* L. essential oils. *Food Chem.* 117:174-180.
191. **Longevialle, P. (1981)**. Spectrométrie de masse des substances organiques, Masson, Paris, 1981.

M

192. **Mahmoudi, Y. (1990).** La thérapeutique par les plantes communes en Algérie. Ed. Palais du livre, Blida. 150 p.
193. **Manohar, V et al. (2001).** Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. *Mol. Cell. Biochem.* 228 (1-2), pp. 117-117.
194. **Marinella, M.A. and Warwar, R. (1998).** Endogenous endophthalmitis due to *Serratia marcescens*. *Southern Medical Journal.* 91(4): 388.
195. **Matés, J.M., Sánchez-Jiménez, F. (1999).** Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front. Biosci. J. Virtual Libr.* 4D: 339–345.
196. **Mattila, H.R., Otis, G.W., Daley, J., Schulz, T. (2000).** Trials of apiguard, a thymol-based miticide part 2. Non-target effects on honey bees. *American Bee Journal* 140, 68–70.
197. **Mc Donald, L.L., Gyr, H. and Speire, R.D. (1970).** Preliminary evaluation of new condiolate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product in sects. Marketing Research Report n^o882. Washington: Agricultural Research Service United State Department of Agriculture, Washington, 183 p.2-42-45.
198. **Mechergui, K., Coelho, JA., Serra, MC., Lamine, SB., Boukhchina, S., Khouja, ML. (2010).** Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *Glandulosum* (Desf.) Ietswaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. *J. Sci. Food Agric.* 90:1745-1749.
199. **Medjelekh, D. (2006).** Impact de l'inertie thermique sur le confort hygrothermique et la consommation énergétique du bâtiment cas de l'habitation de l'époque coloniale à guelma. Mémoire magister .option : Architecture Bioclimatique. Université Mentouri de Constantine.
200. **Mezzouga, N., Elhadri, A., Dallouh, A., Amkiss, S., Skali, NS., Abrini, J., Zhiri, A., Baudouxb, D., Diallo, B., El- Jaziri, M., Idaomar, M. (2007).** Investigation of the mutagenic and antimutagenic effects of *Origanum compactum* essential oil and some of its constituents. *Mutat. Res.*, 629:100-110.
201. **Miladi, H., Ben Slama, R., Mili D., Zouari, S., Bakhrouf, A., Ammar, E. (2013).** Essential oil of *Thymus vulgaris* L. and *Rosmarinus officinalis* L.: Gas chromatography-mass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties and antibacterial activities against foodborne pathogens. *Natural Science.* 5(6): 729-739.
202. **Moon, J. K. and Shibamoto, T. (2009).** Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *Journal of Agricultural Food Chemistry.* 57: 1655–1666.
203. **Morel, J.M. (2008).** Traité de phytothérapie. éd. Grancher Paris, 618 p.
204. **Moyse, H. (1971).** Matière médicale, Tome III, Ed. Masson et Cie, pp. 255-256.
205. **Mundina, M., Vila, R., Tomi, F., Tomas, X., Ciccio, J.F., Adzet, T., Casanova, S., Canigual, S. (2001).** Composition and Chemical polymorphism of the essential oils from Pippier lanceaefolium. *Biochem. Syst. Ecol.* 2001, 29(7): 739-748.
206. **Muthu, C., Ayyanar, M. Raja, N., Ignacimuthu, S. (2006).** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2:43 doi: 10.1186/1746-4269-2-43.

N

207. Nemeč, A., Dijkshoorn, L., Cleenwerck, I., De Baere, T., Janssens, D., Van Der Reijden, T.J., Jezek, P. and Vanechoutte, M. (2003). *Acinetobacter parvus* sp. nov., a small colony-forming species isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol.* 53:1563-7.
208. Niang, O. (2003). Validation d'une microméthode d'identification des bacilles à Gram négatif non fermentaires. Thèse Pharm., Dakar, N° 60.
209. Nielsen, P.V., Rios, R. (2000). Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *Int. J. Food Microbiol.* 60: 219-229.
210. Noguchi, N. (2002). Novel insights into the molecular mechanisms of the antiatherosclerotic properties of antioxidants: the alternatives to radical scavenging. *Free Radic. Biol. Med.* 33:1480–1489.

O

211. O.M.S. (2002). Organisation Mondiale de la santé (OMS) Rapport sur la médecine traditionnelle : Besoins et potentiel. N° 4. 6 p.
212. Ojimekwe, P. C. and Adler, C. (1999). Potential of Zimtadehyde, 4-allyl-anisol, linalool, terpineol and other phytochemicals for the control of confused Flour Beetle (*Tribolium confusum* J. D. V.) (Col: Tenebrionidae). *Journal of Pest Science*, 72: 81-86.
213. Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, M. (2006). Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection.* 69 (5): 1046-1055
214. Oussou, K.R., Youlou, S., Kanko, C., Tue, Bi. B., Kanko C., Boti, J.B., Ahibo C. and Casanova, J. (2010). Etude Chimique Bio-Guidée de L'huile Essentielle de *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae). *European Journal of Scientific Research.* 1: 50-59.
215. Ovsyshcher, I., Rudnik, L., Alkan, M. and Ilia, R. (1987). Atrio-ventricular block associated with *Shigella flexneri* infection. *European Journal of Clinical Microbiology.* 6(4): 504.

P

216. Pagotto, F.J., Nazarowec-White, M., Bidawid, S. and Farber, J.M. (2003). *Enterobacter sakazakii*: infectivity and enterotoxin production in vitro and in vivo. *Journal of Food Protection.* 174. 66 (3): 370-375.
217. Pandey, S.K., Upadhyay, S., Tripathi, A.K. (2009). Insecticidal and repellent activities of thymol from the essential oil of *Trachyspermum ammi* (Linn) Sprague seeds against *Anopheles stephensi*. *Parasitology research* 105, 507–12.
218. Paris, M., Hurabielle. (1981). Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Masson. Paris. France.
219. Park, I. K., Lee, S. G., Choi, D. H., Park, J. D., Ahn, Y.J., J. (2003). *Stored Prod. Res.* 39 (2003) 375-384.
220. Parry J.M., Turnbull, P.C.B. and Gibson, J.R. (1983). A Color atlas of Bacteria species. Wolfe Medical Atlases, 19. London: Wolfe Medical Publications Paterson YL.,

Références bibliographiques

- Pittsburgh MD., 2006. Resistance in Gram negative bacteria: *Enterobacteriaceae*. *Association for professionals in infections control and epidemiology*. 48: 20-28.
221. **Paster, N. et al. (1990)**. Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on molds and foodborne bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.*, 11, 33-37.
222. **Paterson, D.L., Rossi, F., Baquero, F., Hsueh, P.R., Woods, G.L., Satishchandran, V., Snyder, T.A., Harvey, C.M., Tepler, H. and DiNubile, M.J. (2005)**. In vitro susceptibilities of aerobic and facultative Gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections worldwide: the 2003 Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 55 (6): 965.
223. **Peleg, A.Y., Seifert, H., and Paterson, D.L. (2008)**. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* 21:538-82.
224. **Pepperell, C., Kus, J.V., Gardam, M.A., Humar, A. and Burrows, L.L. (2002)**. Low-Virulence *Citrobacter* Species Encode Resistance to Multiple Antimicrobials. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46(11): 3555-3560.
225. **Pereira, N X., Souza, F., Alneida, J.R.G. et al. (2012)**. Biological Oxidations and Antioxidant Activity of Natural Products. Chapter1. In “phytochemicals as Nutraceuticals Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health”. 1ère edition Venketeshwer Rao. Pp 1-20.
226. **Perrin, A. and Colson, M. (1986)**. "L'appareil sécréteur des lavandes et des lavandins." *Parfums, cosmétiques, arômes*: 61-63.
227. **Pibiri, M.C. (2006)**. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doctorat, EPFL Lausanne, p.161.
228. **Pilet, C., Bourdon, J.L., Toma, B., Marchal, N., Balbastre, C. (1979)**. Les entérobactéries. *Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne* Doins, Paris, 2e ed 1979: 109-187.
229. **Pintore, G., Usai, M., Bradesi, P., Juliano, C., Boatto, G., Tomi, F., Chessa, M., Cerri, R., Casanova, J. (2002)**. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. *Flavour and Fragrance. J.* 17: 15 - 19.
230. **Podschun, R., & Ullmann, U. (1998)**. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinical Microbiology Reviews.* 11(4): 589-603.
231. **Pozzatti, P et al. (2010)**. Comparison of the susceptibilities of clinical isolates of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to essential oils. *Mycoses*, 53(1), pp. 12-15.
232. **Prates, H. T., Santos, J. P., Waquil, J. M., Fabris, J. D., Oliveira, A. B. and Foster, J. (1998)**. Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F) and *Tribolium castaneum* (H). *The Journal of Stored Products Research*, 34: 243-249.
233. **Prescott, L., Harley, J., Klein, D. (2010)**. *Microbiologie* 3ème Ed., De Boeck. P: 520-582.
- Q**
234. **Quezel, P., Santa, S. (1963)**. Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS (Ed.), Paris. Tome 2.

R

235. **Rasooli, I., Rezaei, MB., Allameh, A. (2006).** Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Infect. Dis.* **10**: 236-241
236. **Regnault–Roger, C. and Hamraoui, A. (1997).** Lutte contre les insectes phytophages par les plantes aromatiques et leurs molécules allélochimiques. *Ed Acta Bot .Gallica*
237. **Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M., Aggarwal, B.B. (2010).** Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic. Biol. Med.* **49**: 1603– 1616.
238. **Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M., Pridham, J.B. (1995).** The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research.* **22**: 375-383.
239. **Richard, C. and Alonso, J. M. (1976).** Une entérobactérie méconnue. *Bull. Inst. Pasteur.* **74** : 339-352.
240. **Richard, C., Keredjian, M. (1995).** Méthodes de Laboratoire pour l'identification des bacilles à Gram négatif aérobies stricts : *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Brucella*, *Bordetella*. *Inst. Pasteur*, 2e édition. **2** : 22-26.
241. **Ruberto, G., Baratta, M. T. (2000).** Aftioxidant activity of selected essential oil components in two lipids model systems. *Food Chmistry.* **69**: 167 - 174.
242. **Rumbaugh, K.P., Griswoldt, R.T., Hamood, N. (1999).** *Pseudomonas aeruginosa* strains obtained from patterns with tracheal uJiny tract andinfection variation in virulence factors and virulence. *J of Hôspital Infection.* **43**: 211 -218.
243. **Rusenova, N. and Parvanov, P. (2009).** Antimicrobial activities of twelve essential oils against microorganisms of veterinary importance. *Trakia J. Sci.*, **7**(1), pp. 37-43.
244. **Russo, T.A. and Johnson, J.R. (2008).** Diseases Caused by Gram-Negative Enteric Bacilli. In A. S. Fauci, & A. Fauci (Eds.), *Harrison's principles of internal medicine* (17th ed.,). New York: McGraw-Hill Medical Pub.
245. **Ryan, K.J. (2004).** Enterobacteriaceae. In K. J. Ryan, & C. G. Ray (Eds.), *Sherris Medical Microbiology : An Introduction to Infectious diseases* (4th ed., pp. 343-371). USA : McGraw-Hill.

S

246. **Saghi, H., Bahador, A., Khaledi, A., Kachoei Ramazanali, A., Amiri Dastjerdi, F., Davoud, E. (2015).** Antibacterial Effects of *Origanum vulgare* Essence against Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolated from Selected Hospitals of Tehran, Iran. *Avicenna J Clin Microb Infec.* *Avicenna J Clin Microb Infec.* **2**(1):e22982.
247. **Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., Agar, G., Özer, H. (2004).** Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare ssp. vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control* **15**:549-557.
248. **Saint Laumer, D.J.Y., Frérot, E. and Herrmann, A. (2003).** Controlled release of perfumery alcohols by neighboring-group participation. Comparison of the rate constants for the alkaline hydrolysis of 2-acyl-, 2-(hydroxymethyl)-, and 2-carbamoylbenzoates; *Helvetica Chimica Acta.* **86**: 2871-2899.

Références bibliographiques

249. Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., Douira, A. (2010). Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa* 31: 133-146 (2010).
250. Salvi, S., Tuberosa, R., Chiapparino, E., Maccaferri, M., Veillet, S., Van Beuningen, L., Isaac, P., Edwards, K., Phillips, RL. (2002). Toward positional cloning of *Vgt1*, a QTL controlling the transition from the vegetative to the reproductive phase in maize. *Plant Molecular Biology*. 48: 601–61.
251. Sari, M., Biondi, D M., Kaâbeche, M., Mandalari, G., D'Arrigo, M., Bisignano, G., Saija, A., Daquino, C., Ruberto, G. (2006). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour and Fragrance Journal*. 10: 1002-1738.
252. Sauvage, C. (1974). L'état actuel de nos connaissances sur la flore du Maroc. Colloque du CNRS n° 235, la flore du bassin méditerranéen, Paris.
253. Sawidis, T., Eleftheriou, E.P. and Tsekos, I. (1989). The floral nectaries of *Hibiscus rosa-sinensis*. III. A morphometric and ultrastructural approach. *Nord. J. Bot.* 9, 63–71.
254. Schachter., Medoff., Eisenstein. (1999). Microbiologie et pathologie infectieuse. Ed: De Boeck et Larcier. P: 81-181.
255. Scherver, R., Godoy, H.T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picryl hydrazyl method. *Food Chemistry* 112: 654-658.
256. Schroeder, G. N. and Hilbi, H. (2008). Molecular pathogenesis of *Shigella* spp.: controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(1), 134-156. doi:10.1128/CMR.00032-07.
257. Schuster, C. (2001). *Pseudomonas* et apparentés. *Syst. Microbiol.* 2001 : 1-6.
258. Seifert, H., Dijkshoorn, L., Gerner-Smidt, P., Pelzer, N., Tjernberg, I., and Vaneechoutte, M. (1997). Distribution of *Acinetobacter* species on human skin: comparison of phenotypic and genotypic identification methods. *J Clin Microbiol.* 35:2819-25.
259. Sékou Moussa, K., Sidibe, L., Figueredo, G. and Chalchat J.C. (2001). Chemical composition of the essential oil of *Xylopiya aethiopica* (Dunal) A. Ch. From Mali. *Journal of Essential Oil Research*, 15 (4): p.10.
260. Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J. and Sukprakarn C. (1997). Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Product Research*, 33 (1) .P.10.
261. Sikkema, J., De Bont, J.A.M., Poolman, B. (1995). Mechanism of membrane toxicity of hydrocarbon s. *Microbiol. Rev.*,59, pp. 201–22
262. Silva, C., Guterres, S., Weisheimer, V. and Schapoval, E. (2008). Antifungal activity of the lemongrass oil and citral against *Candida* spp. *Braz. Infect. Dis.*, 12(1), pp. 63-66.
263. Singleton, P. (1999). Bactériologie. 4ème édition, Ed., Dunod. P: 153-156.
264. Sivropoulou, A. et al. (1996). Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *J. Agric. Food Chem.*, 44(5), pp. 1202-1205.
265. Skandamis, P.N. and Nychas, G.J.E. (2001). Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *J. Applied Microbiol.* 91: 1011-1022.

Références bibliographiques

266. **Smith-Palmer, A., Stewart, J., Fyfe, L. (2001).** The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiol.*18(4): 463–70
267. **Soković, M., Grubišić, D., Ristić, M. (2005).** Chemical composition and antifungal activity of the essential oils from leaves, calyx and corolla of *Salvia brachyodon* Vandas. *Journal of Essential Oil Research* .17: 227-229.
268. **Souza, E.L., Guerr, N.B., Stamford, T.L.M. and Lima, E.O. (2006).** Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. *Rev. Bras. Farm.* 87 (1), pp. 22-25.
269. **Svoboda, K. P. and Hampson, J. B. (1999).** Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. <http://www.csl.gov.uv/ienica/seminars>

T

270. **Tabanca, N., Kirimer, N., Demirci, F. and Baser, K.H. (2001).** Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeria cristana* subsp. *Phrygia* and the enantiomeric distribution of borneol. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4300 – 4303.
271. **Taibi, F. 2007.** Etude comparée du développement et de la reproduction chez deux ravageurs des denrées stockées *Ephestia kuehniella* et *Tenebrio molitor*. Aspect endocrinien en rapport avec l'impact d'un mimétique de l'hormone de mue, le RH-0345. Thèse de Doctorat. Université d'Annaba .Algérie .p.16.
272. **Talon, D., Lallemand De Conto, S., Thouverez, M., Bertrand, X. (2004).** *Escherichia coli*: résistance aux quinolones et aux bêta-lactamines des souches cliniques isolées en Franche Coté. Ed: Elsevier, France. 52 (2): 76-81.
273. **Tantaoui-Elaraki, A., Ferhout, H and Errifi, A. (1993).** Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus broussonettii*, *T.zygis* and *T.satureioides*. *J. Essent. Oil. Res. a*, 5 : 45-53.
274. **Tepe, B. et al. (2004).** The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and various extracts of *Origanum syriacum* L var *bevanii*. *J. Sci. Food Agric.*, 84(11), pp. 1389-1396.
275. **Tortora, G.J., Funke, B.R., Case, C.L. (2012).** Introduction à la microbiologie 2ème édition, Ed., *ERPI Science*. Pp : 141-145.
276. **Traboulsi, AF. (2002).** Insecticidal properties of essential plant oils against the Mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Manag Sci.* 2002 May;58(5),p.9.
277. **Trevejo, R.T., Abbott, S.L., Wolfe, M.I., Meshulam, J., Yong, D. and Flores, G.R. (1999).** An untypeable *Shigella flexneri* strain associated with an outbreak in California. *Journal of Clinical Microbiology.* 37(7): 2352-2353.
278. **Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M.G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., Saija, A., Mazzanti, G., Bisignano, G. (2005).** Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49: 2474-2478
279. **Turnbull, P. C. B. (2002).** Introduction: anthrax history, disease and ecology. *Anthrax* 271: 1- 19.

U

Références bibliographiques

280. **Ultee, A., Bennik, M.H. and Moezelaar, R. (2002).** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the foodborne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied Environmental Microbiology.*, 68 :1561-1568.
281. **Urbaco. (2010).** Plan d'aménagement du territoire de la Wilaya de Guelma, direction de programmation et de suivi budgétaire de la Wilaya de Guelma, 187p.

V

282. **Van Houdt, R., Givskov, M. and Michiels, C.W. (2007).** Quorum sensing in *Serratia*. *FEMS Microbiology Reviews*, 31(4), 407-424. doi : 10.1111/j.1574-6976.2007.00071.x
283. **Veres, K., Varga, E., Dobos, A., Hajdu, Zs., Mathe, I., Nemeth, E., Szabo. (2003).** Investigation of the composition and stability of the essential oils of *Origanum vulgare* ssp., *vulgare* L., and *O.vulgare* ssp.*Hitus* (Link) Ietswaart. *Chromatographia*. 57 (12), 95-98.
284. **Verhoff, J., Schmitz, F.J. (2000).** Antimicrobial resistance in European isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *European journal of clinical infectious diseases*. 19: 370-374.

W

285. **Waliwitiya, R., Belton, P., Nicholson, R.A., Lowenberger, C.A. (2010).** Effects of the essential oil constituent thymol and other neuroactive chemicals on flight motor activity and wing beat frequency in the blowfly *Phaenicia sericata*. *Pest management science* 66, 277–89.
286. **Wang, W., Wu, N., Zu Y.G. & Fu, Y.J. (2008).** Antioxydative activity of *Rosemarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food chem*. 108: 1019-1022.
287. **Wegrzyn, R., Lamendinh, H. (2005).** Huiles essentielles et aromathérapie bucco-dentaire. *Chir.Dent. Fr* 2005; 1225 :62-66.
288. **Wilkinson, J.M., Hipwell, M., Ryan, T., Cavanagh, H.M.A. (2003).** Bioactivity of *Backhousia citriodora*: antibacteriai and antifungal activity. *J of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 76- 8 1.

Y

289. **Yahyaoui, N. (2005).** Extraction. analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de *Menlhaspicata* L sur *Rhyzoperthadominica* (F.) (Coleoptera, Bostrychidae) et *Triboliumconfusm* (Duv.) (Coleoptera, Tenebrionidae). Thèse de Magister en sciences.p.42.
290. **Yao, R.J., Palmer, K.C., Leon, M.A. and Palchaudhuri, S. (1991).** *Shigella dysenteriae* 60R strain adheres to and invades tissue culture cells in the absence of virulence plasmid. *FEMS Microbiology Letters*. 67(3): 323-328.

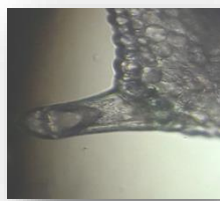
Z

291. **Zahoun, A., Dao, I., Karfo, R., Essayagh, T., Sekhsokh, Y., Bousta, M., Elhamzaoui, S. (2010).** Méningite nosocomiale postopératoire à *Acinetobacter baumannii* multirésistant en neurochirurgie : à propos d'un cas nosocomial. *Pathologie Biologie*. 29-31.

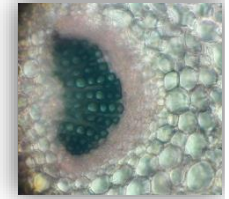
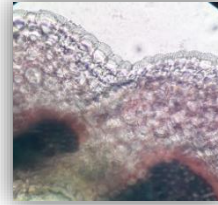
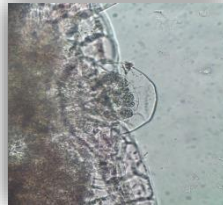
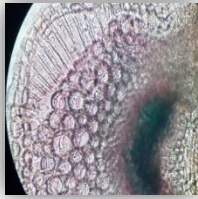
Webographie

1. www.biolib.de
2. <http://www.mnhn.fr>
3. www2.ac-lyon.fr
4. fr.climate-data.org
5. www.jle.com.fr
6. www.cdc.gov
7. www.sciencephoto.com
8. www.fineartamerica.com
9. www.microbe-canvas.com
10. www.researchgate.net
11. www.almerja.net
12. www.bru.gmpcr.ksu.edu
13. www.biogroei.eu
14. www.skadedyrene.dk

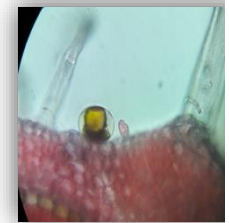
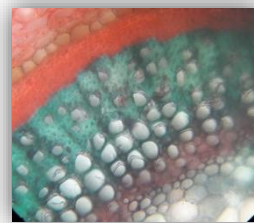
Annexes



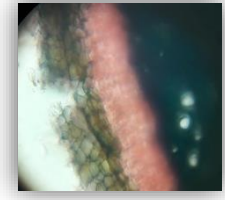
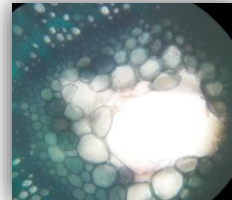
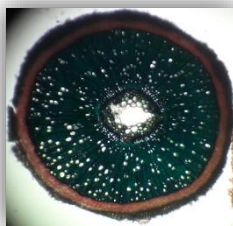
Poils tecteurs



Histologie de la feuille d'*O.vulgare*



Histologie de la tige d'*O.vulgare*



Histologie de la racine d'*O.vulgare*



Fleur d'*O.vulgare*

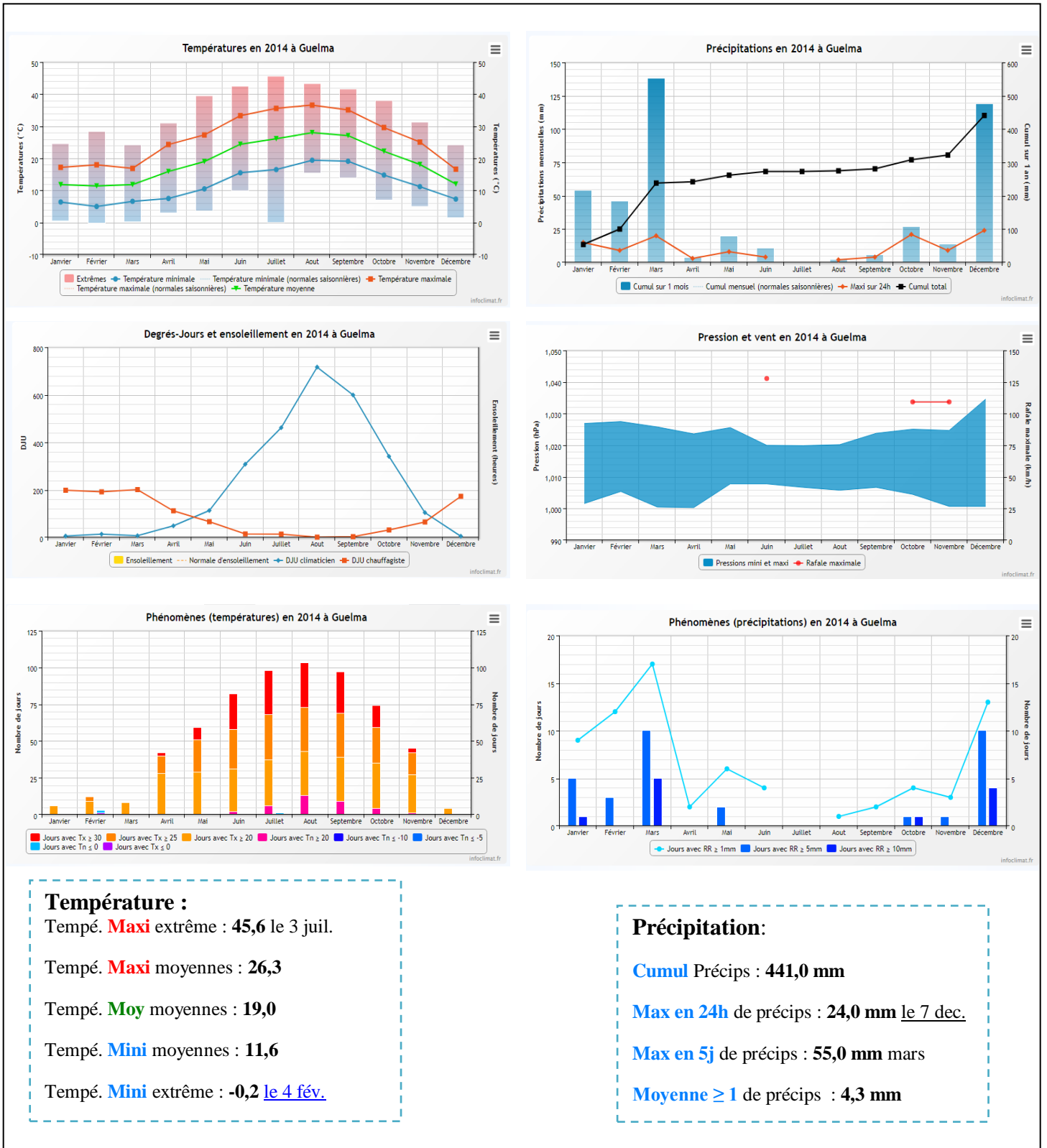
Annexe 01. Photos de l'étude morpho-anatomique de l'espèce *O.vulgare* (Mahfouf, 2014)

Annexe 02. Classification des composants de l'HE selon les classes biochimiques

Phénols (50,91%)	Monoterpènes oxygénés (3, 51%)
Durenol	Vinylamylcarbinol
<i>p</i> -Thymol	L-4-terpineneol
Thymol	Terpinen-4-ol
Biosol	α -Terpineol
3-tert-Butylphenol	<i>p</i> -Cymen-8-ol
2,5-Diethylphenol	Linalool
3,5-Di- <i>t</i> -butylcatechol	<i>o</i> -Cymen-5-ol
Monoterpènes hydrocarbonés (38, 54%)	Sesquiterpènes hydrocarbonés (2, 82 %)
α -Thujene	β -Bisabolene
α -Pinene	α -Amorphene
Camphene	β -Farnésène
β -Pinene	γ -Cadinene
β -Myrcene	δ -Cadinene
α -Phellandrene	β -Sesquiphellandrene
(+)-4-Carene	β -Farnésène
1,2,3,4-Tetramethylfulvene	α -Caryophyllene
M-Xylene, 5-ethyl	β -Bourbonene
γ -Terpinen	α -Cedrene
1-Methyl-4-methylidencyclohexane	Trans- α -Bergamotene
<i>p</i> -Cymenene	Zingiberene
Isothymolmethylether	Alloisolongifolene
Sesquiterpènes oxygénés (2,16 %)	
Borneol	Caryophyllene
Caryophyllene oxide	
Cétone (0, 17%)	Acide (0, 36 %)
Alpha-Cetone	Carbamic acid
Jasmone	Sorbic Acid
Dihydrocarvone	Terephthalic acid
3-Heptanone	Butanoic acid
Autres (0, 34 %)	
2-Hexenal	1,2,3-Triphenyl-3-methyl-cyclopropene
4,4,6,6-Tetramethylbicyclo[3.1.0]hex-2-ene	3-Benzylsulfonyl-2,6,6-trimethylbicyclo(3.1.1)heptane
4-Ethyl-5-propyl-4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carbaldehyde	Methane, phenylbis(phenylthio)-
1-Formyl-2,2-dimethyl-3-cis-(2-methyl-but-2-enyl)-6-methylidene-cyclohexane	Pyrimido[1,2-a]indole, 4-isopropyl-5-methyl-2-phenyl-

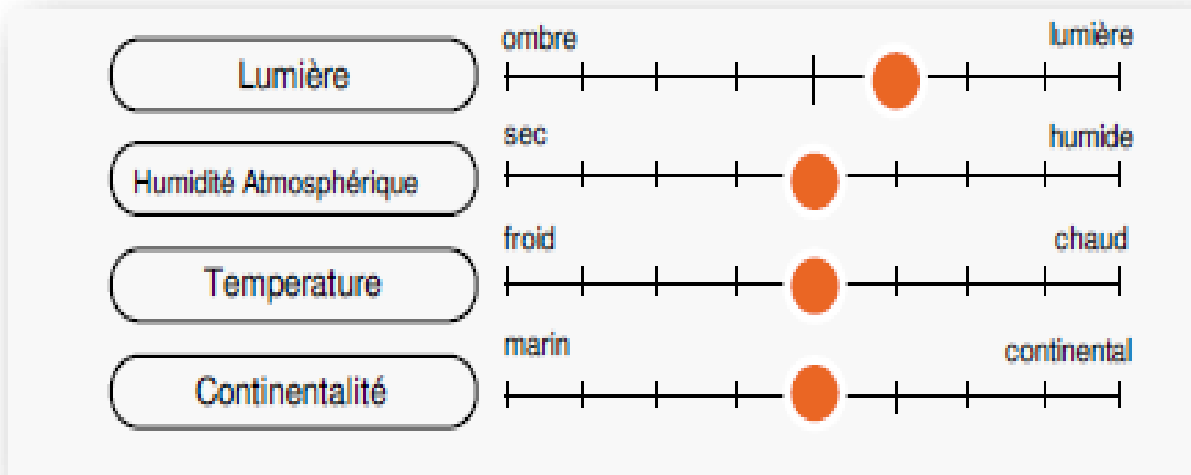
Annexe 3.1. Récapitulatif des données physico-chimiques du sol étudié

Paramètres		Résultats	Normes des méthodes
ANALYSE PHYSIQUE : GRANULOMETRIE			
Sable	%	45	
Limon	%	40	Test de Pression
Argile	%	15	
ANALYSE CHIMIQUE			
Matière Organique	%	6.50	Méthode Walkley NF ISO 10694.
PH	à 25 °C	8.16	AFNOR : X31-103
Salinité			
CE	us /cm à 20°C	164.0	ISO : 11265
Salinité	mg/l à 20°C	77.5	ISO : 11265
Teneur en minéraux			
Les cations			
Ca ⁺²	mg/Kg (Ca CO ₃ -)	2144	Volumétrie NFT 90-005
Mg ⁺²	mg/Kg (Ca CO ₃ -)	780	Volumétrie NFT 90-005
Potassium (K ⁺)	mg/Kg K ⁺	350	Photométrie à flamme
Sodium (Na ⁺)	mg/Kg NA ⁺	900	Photométrie à flamme
Les anions			
Chlorure (Cl ⁻)	mg/Kg CL ⁻	1950	Spectrophotométrie DIN EN ISO 15682-D31
Sulfate (SO ₄ ⁻²)	mg/Kg SO ₄ ⁻	4150	Spectrophotométrie DIN 38405-D5-2
Nitrate (NO ₃ ⁻)	mg/Kg	600	Spectrophotométrie DIN 38405 D9-2
Phosphate (PO ₄ ⁻)	mg/Kg	74	Spectrophotométrie DIN EN ISO 6878-D11

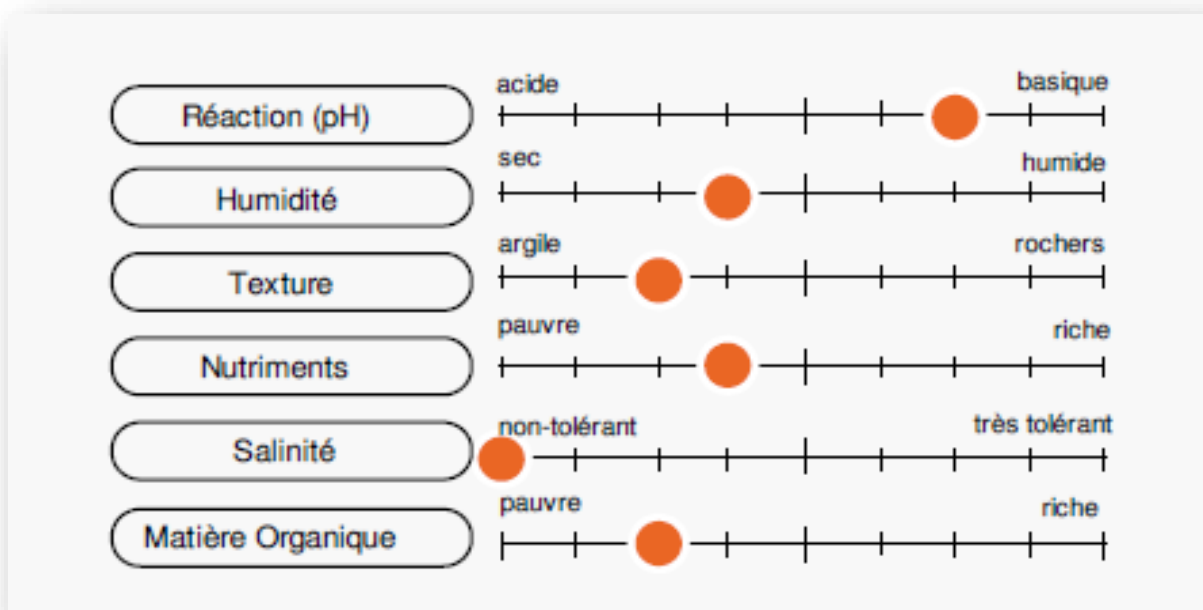


Annexe 3.2. Interprétation des données météorologiques de Guelma: Année 2014 (Année de la récolte de l'espèce *O.vulgare*) (Source: <http://www.infoclimat.fr/>, réadapté par auteur)

Caractéristiques climatiques

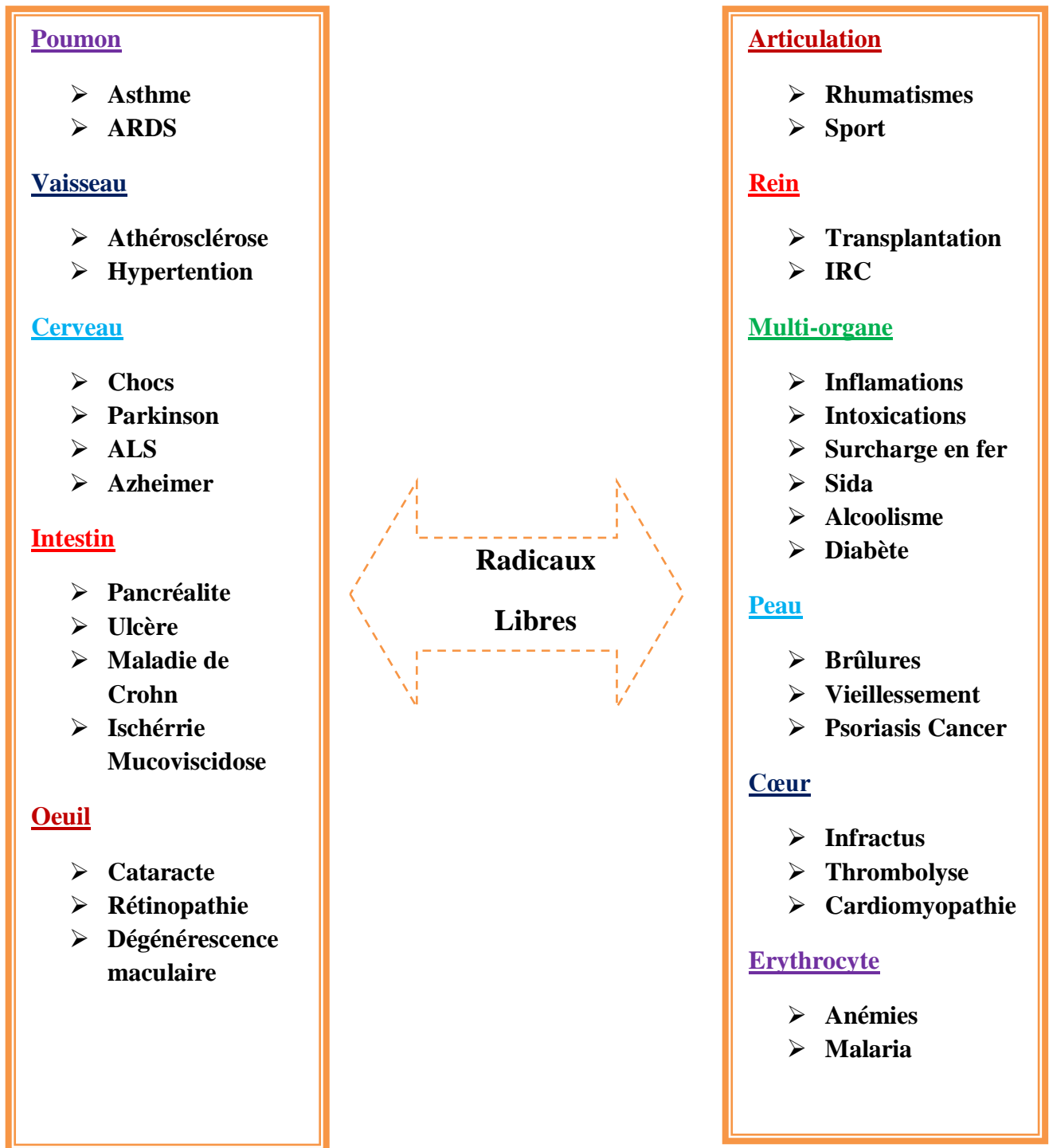


Caractéristiques du sol



● Valence optimale du taxon

Annexe 3.3. Optimum écologique d'*O.vulgare* (www.tela-botanica.org)



Annexe 04. Principales circonstances pathologiques accompagnant d'un stress oxydant primitif ou secondaire (<https://www.slideshare.net>)

Annexe 5.1. Activité antibactérienne de l'HE d'*O.vulgare* vis-à-vis des souches d'entérobactéries (E.S.S.C).

N°	Souches	Sensibilité à l'HE	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI mg/ml
Escherichia				
01	<i>E.coli 1</i>	(+++)	21,5	0,314
02	<i>E.coli 2</i>	(+++)	27,4	0,314
03	<i>E.coli 3</i>	(+++)	31,8	0,314
04	<i>E.coli 4</i>	(+++)	23,4	0,314
05	<i>E.coli 5</i>	(+++)	26,5	0,314
06	<i>E.coli 6</i>	(+++)	21,3	0,628
07	<i>E.coli 7</i>	(+++)	29,1	0,314
08	<i>E.coli 8</i>	(+++)	20,6	0,314
09	<i>E.coli 9</i>	(+++)	27,4	0,628
10	<i>E.coli 10</i>	(+++)	24,5	0,628
11	<i>E.coli 11(ATCC)</i>	(+++)	32,6	0,628
12	<i>E.coli 12</i>	(+++)	26	5,025
Salmonella				
01	<i>Salmonella spp. 1</i>	(+++)	26,7	1,25
02	<i>Salmonella spp. 2</i>	(+++)	24	1,25
03	<i>Salmonella spp. 3</i>	(+++)	24	1,25
04	<i>Salmonella spp. 4</i>	(+++)	26,7	0,628
Shigella				
01	<i>Shigella spp.</i>	(+++)	37,7	1,25

Citrobacter				
01	<i>Citrobacter spp.</i>	(+++)	27,9	0,628
02	<i>Citrobacter freundii</i>	(+++)	23,5	0,628
03	<i>Citrobacter spp.</i>	(+++)	31,2	1,25

Annexe 5.2. Activité antibactérienne de l'HE d'*O.vulgare* vis-à-vis des souches d'entérobactéries (K.E.S.H).

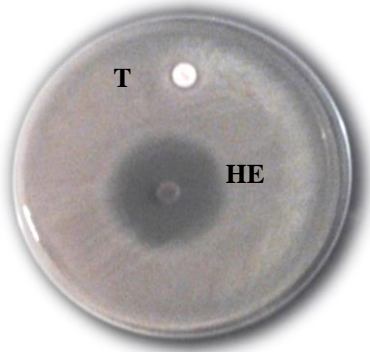
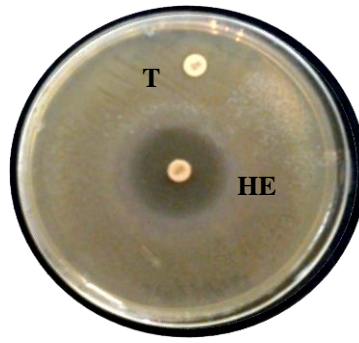
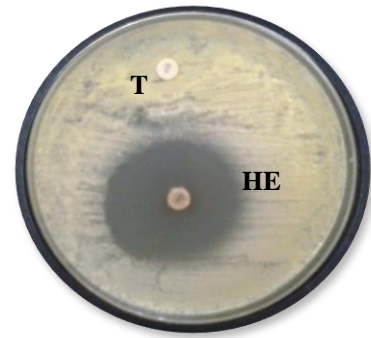
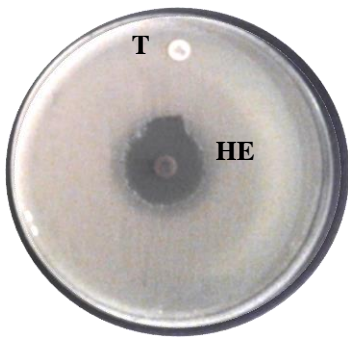
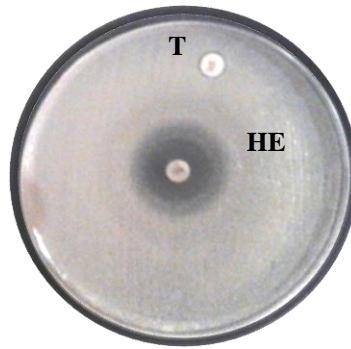
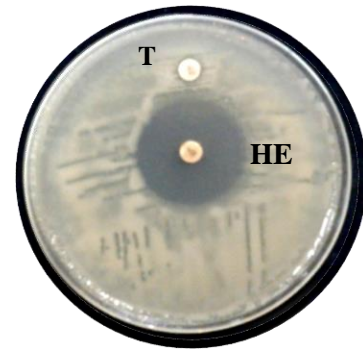
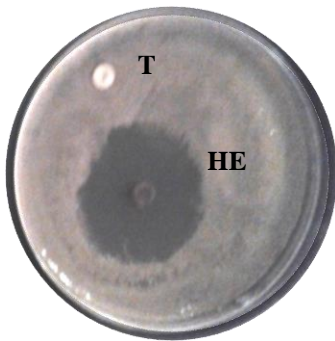
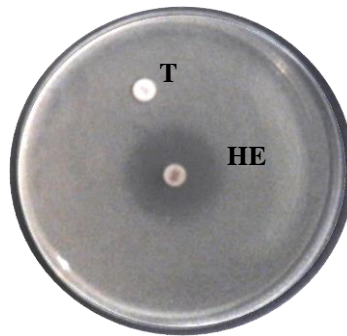
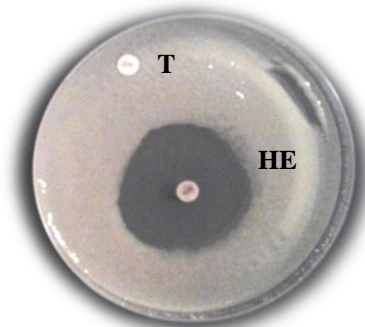
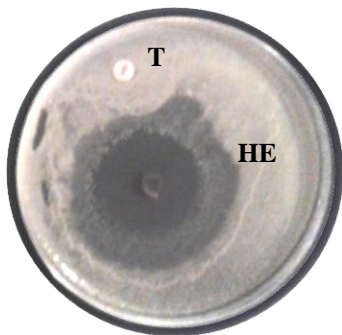
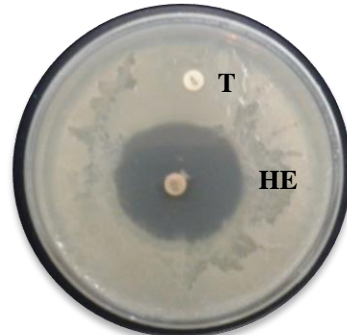
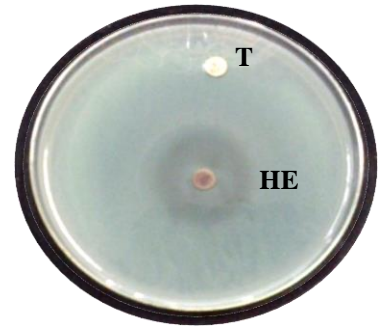
	Souches	Sensibilité à l'HE	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI mg/ml
Klebsiella				
01	<i>Klebsiella terrigena 1</i>	(+++)	20,4	0,628
02	<i>Klebsiella terrigena 2</i>	(+++)	20,75	1,25
Enterobacter				
01	<i>Enterobacter intermedius</i>	(+++)	29	1,25
02	<i>Enterobacter cloacae</i>	(+++)	29,6	1,25
Serratia				
01	<i>Serratia marcescens</i>	(+++)	23,55	1,25
02	<i>Serratia spp.</i>	(+++)	23,50	1,25
Hafnia				
01	<i>Hafnia alvei</i>	(+++)	23	1,25

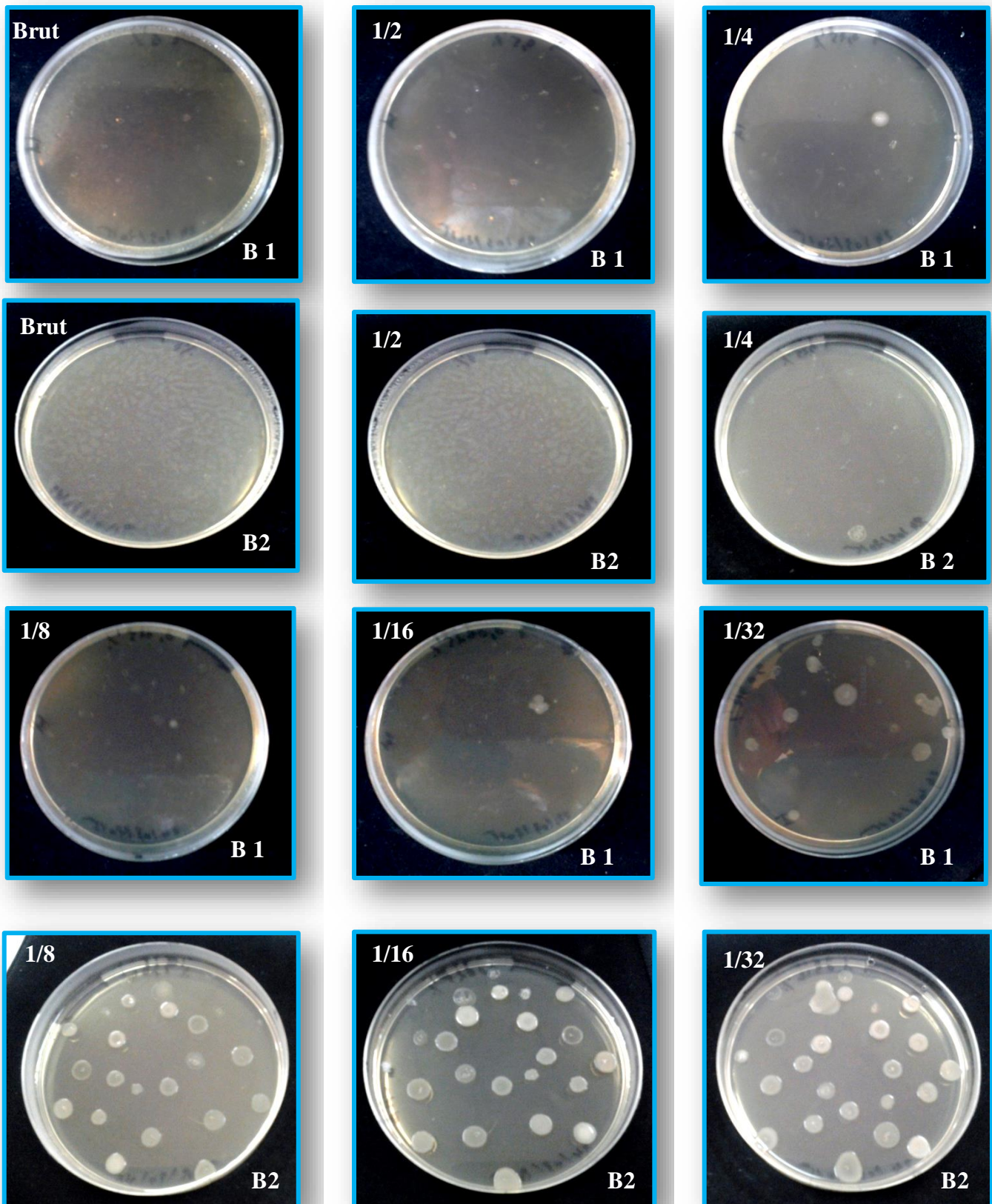
Annexe 5.3. Activité antibactérienne de l'HE d'*O.vulgare* vis-à-vis des souches sur des souches d'*Acinetobacter* et de *Pseudomonas* .

N°	Souches	Sensibilité à l'HE	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI mg/ml
Pseudomonas				
01	<i>Pseudomonas spp. 1</i>	(+++)	36,2	1,25
02	<i>Pseudomonas spp. 2</i>	(+++)	28,2	1,25
03	<i>Pseudomonas aeruginosa 1</i>	(-)	≤6	
04	<i>Pseudomonas aeruginosa 2</i>	(-)	≤6	
Acinetobacter				
01	<i>Acinetobacter spp. 1</i>	(+++)	34,2	5,025
02	<i>Acinetobacter spp. 2</i>	(+++)	36,4	1,25
03	<i>Acinetobacter spp. 3</i>	(+++)	36,6	1,25
04	<i>Acinetobacter spp. 4</i>	(+++)	27,2	1,25

Annexe 5.4. Activité antibactérienne de l'HE d'*O.vulgare* vis-à-vis à des souches de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus sphaericus*.

N°	Souches	Sensibilité à l'HE	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI mg/ml
Staphylococcus				
01	MRSA 1	(+++)	25,2	0,628
02	MRSA 9	(+++)	31,9	
03	MRSA 6	(+++)	25,1	
04	MRSA 4	(+)	9,9	
05	MRSA 3	(+)	9,8	
06	MRSA 8	(++)	19,3	0,314
07	MRSA 2	(+++)	26,2	
08	MRSA 7	(+++)	28,9	
09	MRSA 5	(+++)	26,1	
Bacillus				
01	<i>Bacillus sphaericus</i>	(+)	10	1,25

*E.coli**Salmonella spp.**Shigella spp.**Citrobacter spp.**Klebsiella terigena**Enterobacter cloacae**Serratia maricensis**Hafnia alvei**Acinetobacter spp.**Staphylococcus aureus**Pseudomonas spp.**Pseudomonas aeruginosa***Annexe 5.5. Résultats de l'antibiogramme (Mahfouf, 2015)**



Annexe 5.6. Résultats de la CMI (B : Boite de Pétri) (Mahfouf, 2015)

ARTICLES

1. **Nora Mahfouf , Salima Bennadja , Hichem Nasri , Abdelghani Djahoudi , Sonia Heni . 2017.** Antioxdant and Antibacterial Activities of the Essential Oil of *Origanum vulgare* L. against *Escherichia coli* Strains. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 0976-5026.
2. **Nora MAHFOUF. 2017.** Alternatives to antibiotics research in essential oils: The case of oregano. AMR CONTROL. P.123. <http://resistancecontrol.info/2017-contents-preview/>.

PROCEEDINGS INTERNATIONAUX

1. **2017:** Antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* L. against strains of *Acinetobacter spp.* 18th Global Summit on Food & Beverages. Nora Mahfouf, J Food Process Technol 2017, 8:8 (Suppl) DOI: 10.4172/2157-7110-C1-066. **Chicago, USA.**
2. **2015:** Antistaphylococcal activity of oregano .2015. Agribalkan Balkan agricultural congres, **Edirne, Turkey.** 368. <http://agribalkan.org/>.

RENCONTRES SCIENTIFIQUES

1. **Mars 2018 :** Participation au 1er Séminaire National sur L'Eau, l'Environnement et Santé, El Tarf, Algérie.
Nora Mahfouf, Salima Benaadja, Hichem Nasri, Abdelghani Djahoudi, Sonia Heni, Rym Mechri. **Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* L. sur la croissance in-vitro des souches de *Staphylococcus aureus* (SARM).**
2. **Janvier 2018:** Participation au Séminaire International sur les Plantes Médicinales, Oued Souf, Algérie.
Nora Mahfouf, Salima Benaadja, Hichem Nasri, Abdelghani Djahoudi, Sonia Heni, Rym Mechri. **Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* sur la croissance in-vitro des souches de *Salmonella*.**
3. **Mai 2016 :** Participation aux Journées Urologiques Nationales d'Annaba 2016.
Nora Mahfouf, Salima Benaadja, Hichem Nasri, Amira Ouibrahim ,Sonia Heni. **Étude de l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'Origan (*O. vulgare* L.)**
4. **Décembre 2015 :** Participation aux troisièmes Journées Internationales de Chimie Organique d'Annaba.
Nora Mahfouf, Salima Benaadja, Hichem Nasri, Amira Ouibrahim , Sonia Heni. **Étude de l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*.**

Production scientifiques

5. **Jun 2015** : Participation aux Journées Urologiques Nationales d'Annaba.
Nora MAHFOUF, Salima BENNADJA, Sonia HENI, Amira OUIBRAHIM, Abd El-Ghani DJAHOUDI , Hichem NASRI. **Evaluation de l'activité bactéricide et bactériostatique de l'huile essentielle d'Origan vis à-vis des souches d'origine clinique résistantes aux antibiotiques.**

6. **Septembre 2014** : Participation aux congrès Balkan Agricultural, Edirne, Turquie.
Nora Mahfouf, Samir Gueldasni. **Antistaphylococcal activity of oregano.**

PROJETS DE RECHERCHE

Membre du projet de recherche CNEPRU. Intitulé : " *L'aromathérapie comme alternative à l'antibiothérapie*". Agréé sous le numéro : Code : F01120140153. Période 2014/2016. Porteur du projet : Pr. Bennadja Salima.



Antioxidant and Antibacterial Activities of the Essential Oil of *Origanum vulgare* L. Against *Escherichia coli* Strains

Nora Mahfouf, Salima Bennadja, Hichem Nasri, Abdelghani Djahoudi & Sonia Heni

To cite this article: Nora Mahfouf, Salima Bennadja, Hichem Nasri, Abdelghani Djahoudi & Sonia Heni (2017) Antioxidant and Antibacterial Activities of the Essential Oil of *Origanum vulgare* L. Against *Escherichia coli* Strains, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20:5, 1391-1399, DOI: [10.1080/0972060X.2017.1404497](https://doi.org/10.1080/0972060X.2017.1404497)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2017.1404497>



Published online: 20 Dec 2017.



Submit your article to this journal [↗](#)



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Antioxidant and Antibacterial Activities of the Essential Oil of *Origanum vulgare* L. Against *Escherichia coli* Strains

Nora Mahfouf ^{1*}, Salima Bennadja ², Hichem Nasri ¹,
 Abdelghani Djahoudi ³, Sonia Heni ³

¹Laboratory of Biodiversity and Pollution of Ecosystems, Faculty of Science of Nature and Life, University Chadli Bendjedid, El-Tarf, Algeria

²Laboratory of Plant Biology, Faculty of Medicine, University Badji Mokhtar, Annaba, Algeria

³Laboratory of Microbiology, Faculty of Medicine, University Badji Mokhtar, Annaba, Algeria

Received 27 November 2016; accepted in revised form 18 August 2017

Abstract: The aim of this study is to investigate the antioxidant activity and the antibacterial efficiency of the essential oil extracted by hydrodistillation from leaves of *Origanum vulgare* against ten (10) clinical strains of *Escherichia coli* and a reference strain *E. coli* ATCC provided by the laboratory of microbiology, faculty of medicine, University of Badji Mokhtar (Annaba, Algeria). The chemical composition of the essential oil was characterized by gas chromatography-Mass spectroscopy (GC-MS). Antioxidant activity was evaluated by radical scavenging ability (DPPH method). The antibacterial activity was detected by using disc-diffusion method and the agar dilution method which used for microbial growth inhibition at various concentrations of oil (calculating the minimum inhibitory concentration). The yield of essential oil of *O. vulgare* was 1.15 % and the major compounds were thymol (32.58 %), γ -terpinen (18.76 %), durenol (17.92 %) and durenol (11.40 %). The essential oil showed an antioxidant activity ($IC_{50} = 1.28 \pm 0.07$ mg/ml) which was lower than the standard antioxidants (ascorbic acid and BHT). It showed a very effective bactericidal activity towards all tested bacterial strains with maximal inhibition zones in the range of 21.3-32.6 mm and a minimum inhibitory concentration (MIC) ranging from 0.314 to 0.628 mg/ml.

Key words: *Origanum vulgare* L. *Escherichia coli*, essential oil, antibacterial activity, antioxidant activity.

Introduction

Microorganisms are an integral part of nature and live in different parts of the human body such as the oral cavity, the nasal cavity, the intestinal tract and in the skin. In the intestinal microbiota, some Gram-negative bacilli (GNB) behave as normal commensals or pathogens in most animals and humans ²¹.

Escherichia coli bacteria are normal constituents of intestinal flora of humans and animals, where they promote gastric processes but when

present in excess or in virulent form, some *E. coli* strains become pathogenic. Virulent strains of *E. coli* can cause gastroenteritis, neonatal meningitis, urinary tract infections, etc ³².

From years, the excessive use of drugs has led to the resistance of some microorganisms to antibiotics. This situation induces inefficiency of some conventional treatments, which forces us to look for other antibacterial bioactive molecules.

In literature there are many articles concerned with the antimicrobial activity of essential oils

*Corresponding author (Nora Mahfouf)
 E-mail: <noramahfouf99@gmail.com >

against a wide range of microorganisms³⁰. The treatment with the natural products does not cause antibiotic resistance as with the use of synthetic antibiotics³⁸.

Algeria is a country which produces hundreds of species of aromatic plants which are endemic, among them oregano¹⁸. The genus *Origanum* is a member of the Lamiaceae family which is widely distributed in Mediterranean areas and North Africa²⁸. It comprises about 38 species, 6 subspecies and 17 hybrids²³.

The essential oils of several species of oregano have been shown in recent studies to possess biological activities as antibacterial, antioxidant, and antifungal^{33,37}. It has also been used as a veritable cure for many health concerns as respiratory tract disorders, gastrointestinal disorders and menstrual cramps²⁵.

Oregano is a Mediterranean Lamiaceae which extracts are largely used in many domains, including medicine, food preservation, flavouring, cosmetics. Essential oils extracted from oregano species are rich sources of phenols as carvacrol, which have a high antibacterial, antifungal, antioxidant and anti-inflammatory activities⁷.

The objectives of this study were to determine the chemical composition of oregano hydrodistilled essential oil by GC-MS and to investigate its antimicrobial and antioxidant activities.

Materials and methods

Plant material

Leaves of *O. vulgare* were harvested at flowering stage in June 2014 from wild grown plants at Guelma (East of Algeria) situated at latitude: 36° 36' 41', longitude: 7° 30' 48' where the climate is mild and rainy in winter and hot in summer with an annual average temperature of 17.3°C. The leaves were then isolated from the other specimen and conserved for extraction. Botanical identification of this species was carried out by Prof A. Chefrour, Biologist (University of Souk Ahras, Algeria).

Extraction of volatile oil

Dried leaves of *O. vulgare* were subjected to hydrodistillation for 3 h using a Clevenger-type apparatus, according to the method recommended

by the European Pharmacopeia⁹. The obtained essential oil was stored in sterilized dark glass at 4°C for further experiments. This experiment was repeated three times.

Gas chromatography-Mass spectrometry

The quantitative analysis was performed with a chromatographer in gas phase (Hewlett Packard Agilent 6890N driven by Chemstation NIST002) equipped with flame ionization detector (FID), Varian capillary column (HP5MS; 30 m length, 0.25 mm of diameter and film thickness 0.25 µm). The column temperature was programmed from 60°C for 2 min (4°C/min), 100°C for 0 min (6°C/min) to 220°C for 10 min. The column temperatures of injector and detector were set at 250°C. Helium was used as the carrier, in a flow rate of 1.0 ml/min. The volume of injection was 1.5 µl. The percentage of each constituent in the oil was determined by area peaks.

The GC-MS analysis was carried out using gas phase chromatography (Hewlett Packard Agilent 6890N driven by Chemstation NIST002) coupled with mass spectrometry (Agilent 5973) equipped with ionization energy of 70 eV. The column temperature was programmed at: interface (280°C), source (230°C), and quadruple (150°C).

Identification of the essential oil components was accomplished based on comparison of retention times with those of authentic standards or those of literature data.

Evaluation of antioxidant activity

Determination of antioxidant activity with 2,2;-di-phenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method

Free radical scavenging ability of the essential oil of oregano was tested by DPPH radical scavenging assay as described in with minor modifications⁸.

Based on a pre-examination, four concentrations of 0.125, 0.25, 0.5, and 1 mg/ml of the essential oil were prepared in methanol. The DPPH solution was prepared by solubilizing 2.4 mg of DPPH in 100 ml of methanol.

100 µl of the essential oil of oregano was added to 2 mL of DPPH solution. The mixture was shaken vigorously for 1 min by vortexing and left to stand at room temperature in the dark for 30

min. Absorbances were measured at 517 nm against a blank (DPPH / methanol). Vitamin C (ascorbic acid) and butylated hydroxytoluene (BHT) were used for comparison as standard antioxidants. Inhibition of free radical DPPH as percentage [I (%)] was calculated as follows:

$$I (%) = 100 \times (A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank}$$

Where A blank is the absorbance of the control and A sample is the absorbance of the test compound. IC₅₀ value ($\mu\text{g} / \text{mL}$) is the concentration at which DPPH radicals are scavenged by 50 %. This was obtained by interpolation and using linear regression analysis.

Antibacterial tests

Bacterial strains

Bacterial strains of *E. coli* used were clinically isolated from specimens of different infectious diseases obtained from Hakim Okbi hospital in Guelma city. The reference strain *E. coli* ATCC was provided by laboratory of microbiology, faculty of medicine, university of Badji Mokhtar, Annaba. The isolates were identified on the basis of Gram's staining, mobility, cultural characterization and biochemical screening routine methods were used.

Disc diffusion assay

An overnight culture of each strain was diluted with sterile physiological saline solution to obtain initial inoculum of 10⁶ conlonity-forming-unit (CFU)/ml according to the recommendations of the Clinical Laboratory Standards Institute¹⁰. 25 ml of Mueller- Hinton agar was poured into each Petri plate. Once the agar solidified, 5 ml portion of the inoculum was inoculated on the surface of the plates. Agar plates were allowed to dry for 20 min at room temperature. Filter paper discs with 6 mm diameters soaked with 20 μl of oregano essential oil were laid on top of agar Muller-Hinton culture. Sterile paper disc was used as negative control. The inhibition zone sizes were read after incubation at 37°C for 24 h¹.

Agar dilution method

Determination of MIC

The purpose of determining the MICs was to

identify the concentrations of the essential oil of oregano that inhibit the growth of *E. coli*. The minimum inhibitory concentration (MIC) is defined as the lowest concentration of essential oil inhibiting any visible growth to the naked eye after 16 to 20 hours incubation at 37°C. Microorganisms, however, remain viable. The MIC values were evaluated according to published procedures³⁵. The MICs were determined only with micro-organisms that displayed inhibitory zones.

Various concentrations of the essential oil of oregano were prepared by separately dissolving in 0.5 ml Dimethylsulfoxid (DMSO) then mixing it with 19.5 ml of Muller Hinton agar which has been melted and cooled to not more than 60°C. The whole was homogenized with vortex before pouring into Petri dishes. After the plates have set they should be dried at the temperature of 37°C for 20 to 30 minutes. They are then inoculated with Pasteur pipette in the form of spots spread over a small area; the culture should be diluted to contain 10⁵-10⁶ conlonity-forming-unit (CFU)/ ml. The weakest concentrations without observable growth were defined as the inhibiting minimal concentration (CMI).

Results and discussion

Chemical composition of the essential oil of O. vulgare

The yield of the essential oil obtained from the hydro-distillation of the leaves of *O. vulgare* was 1.15 %. The chemical composition of essential oil, and the retention time of the components of *O. vulgare* are presented in (Table 1).

Fifty two volatile constituents were identified in this essential oil, representing 98.03 % of the total composition (Table 1). The most abundant component was thymol (32.58 %). Other components were identified as γ -terpinene (18.76 %), durenol (17.92 %), durenene (11.40 %), 2-carene (2.79 %), β -thujene (1.94 %), caryophyllene (1.80 %), β -sesquiphellandrene (1.43 %) and linalool (1.22 %).

O. vulgare growing in a Mediterranean climate or a continental characterized for high amount of phenolic compounds³ which are believed to be responsible for their antimicrobial property. Carvacrol together with thymol, p -Cymene and γ -terpinene are commonly reported as the main

Table 1. Chemical composition of essential oil of *O. vulgare*

No.	Constituents	RI	RT	Area %
1	Methyl isovalerate	761	4.190	0.05
2	2-Hexenal	804	6.221	0.10
3	3-Heptanone	884	7.261	0.05
4	α -Thujene	1110	8.739	0.71
5	α -Pinene	932	9.007	0.58
6	Camphene	954	9.654	0.10
7	β -Pinene	970	10.824	0.13
8	Vinylamylcarbinol	959	11.157	0.58
9	β -Thujene	968	11.501	1.94
10	α -Phellandrene	997	12.179	0.53
11	2-Carene. (-)-	1002	12.672	2.79
12	Durene	1109	13.331	11.40
13	m-Xylene	849	13.604	0.83
14	γ -Terpinen	1047	15.113	18.76
15	Terpinolene	1078	15.861	0.37
16	ρ -Cymenene	1011	16.087	0.15
17	Linalool	1095	16.716	1.22
18	Isoterpinolene	1064	17.821	0.01
19	Borneol	1165	19.882	0.06
20	L-4-terpineneol	1161	20.274	0.34
21	4-Terpineol	1160	21.213	0.18
22	α -Terpineol	1189	22.507	0.47
23	Isothymolmethylether	1244	22.947	0.25
24	Carvone	1239	23.274	0.03
25	2.5-Diethylphenol	1125	25.192	0.10
26	Thymol	1293	26.558	32.58
27	Durenol	1287	27.087	17.92
28	SorbicAcid	1056	27.455	0.14
29	3.4-Xylenol	1165	28.067	0.11
30	3-tert-Butylphenol	1267	28.447	0.07
31	Thymol-TMS	1312	29.201	0.09
32	β -Bourbonene	1400	29.391	0.06
33	Jasmone	1359	29.973	0.06
34	Caryophyllene	1504	30.971	1.80
35	α -Bergamotene	1433	31.458	0.06
36	α -Caryophyllene	1456	32.349	0.22
37	γ -Cadinene	1514	33.157	0.05
38	Himachalol	1614	33.317	0.03
39	β -Farnésène	1452	33.531	0.07
40	α -Cadinene	1532	33.882	0.06
41	Zingiberene	1493	34.030	0.12
42	Cyclohexene	667	34.571	0.37
43	β -Cadinene.	1491	34.707	0.08
44	Cadina-1(10).4-diene	1525	34.921	0.14

table 1. (continued).

No.	Constituents	RI	RT	Area %
45	β -Sesquiphellandrene	1537	35.272	1.43
46	α -Humulene	1455	35.860	0.36
47	Epoxy Caryophyllene	1580	37.392	0.30
48	Pinane	1002	48.962	0.04
49	Carbamult	1674	49.806	0.04
50	Carvacrol	1299	51.695	0.04
51	α -Cetone	1471	54.373	0.03
52	Carbamic acid	867	54.623	0.03

RI: Retention index

RT: Retention time

components of *Origanum* essential oils⁴.

Intensive research in France on the chemical characteristics analysis of essential oils from oregano showed that phenols are present in almost all of the studied species, carvacrol being the most represented, making up more than 40 % of the essential oil in 22 species, while the thymol content reaches more than 40 % in the essential oil of 8 species¹⁷. The essential oil components of *O. vulgare* gathered from Italy were carvacrol, β -caryophyllene, germacrene D and α -humulene¹⁵, the most abundant component found in the essential oil leaves of *O. vulgare* study in Morocco was carvacrol (18.06 %) ¹³.

The essential oils are influenced by diverse factors, several of them have been studied such as the geographical and the climatic conditions as well as the conditions used for culture, drying and storage^{14,29}. Variations in soil sodicity, salinity, and texture also affect oil composition².

Antibacterial activity

The antimicrobial activity of the essential oil of *O. vulgare* assayed against 11 strains of *E. coli* in the present study was qualitatively and quantitatively assessed by evaluating the presence of inhibition zone diameter, and MIC values respectively. The results are given in (Table 2).

The maximal inhibition zones and MIC values of the essential oil of *O. vulgare* for bacterial strains were in the range of 21.3-32.6 mm and 0.314-0.628 mg/ml respectively (Table 2).

The results of present study are in accordance

with the reports on oregano oil against *E. coli*. Several studies showed that strains of *E. coli* are sensitive to the effect of the essential oil of oregano^{13,39}.

The mechanisms by which essential oils exert their antibacterial activity are incompletely understood, but there are a number of proposed mechanisms²². The action of essential oils on the development of microorganisms can be explained by the alteration of the membrane permeability of germs by disrupting ion transport systems, electron transport and energy production^{36,40,41}.

The antibacterial activity of essential oils, in general, has been explained mainly by the presence of terpenes which possess aromatic rings and groups capable of forming hydrogen bonds with the active sites of the enzymes. Alcohols, aldehydes and esters can contribute to the overall antimicrobial effect of essential oils⁵.

The oxygenated monoterpenes have been shown to have a strong antimicrobial activity, particularly pronounced on whole cells¹⁹, in particular phenol compounds such as thymol and carvacrol²⁷. Carvacrol and thymol appear to be able to increase membrane permeability³¹ by destroying the outer membrane of Gram-negative bacteria, they would increase the permeability of the plasma membrane to cellular metabolites²⁰.

The antibacterial activity of an essential oil appears to be influenced by the chemical structure of aromatic molecules, their proportions as well as their combined actions at several levels of the bacterial structure¹².

Table 2. Antibacterial activity of *O. vulgare* essential oil against the bacterial strains tested based on MIC and disc diffusion method

Micro-organisms	Disc diffusion assay (inhibition zone mm)	MIC (mg/ml)
<i>E. coli</i> 1	21.5	0.314
<i>E. coli</i> 2	27.4	0.314
<i>E. coli</i> 3	31.8	0.314
<i>E. coli</i> 4	23.4	0.314
<i>E. coli</i> 5	26.5	0.314
<i>E. coli</i> 6	21.3	0.628
<i>E. coli</i> 7	29.1	0.314
<i>E. coli</i> 8	20.6	0.314
<i>E. coli</i> 9	27.4	0.628
<i>E. coli</i> 10	24.5	0.628
<i>E. coli</i> 11 (ATCC)	32.6	0.628

MIC: Minimal Inhibitory Concentration, concentration range :0.314-0.628 mg/ml disc diameter 6 mm average of three consecutive trials

Free radical-scavenging assay

The most commonly, easy and simple used antioxidant assay method is DPPH. This method is characterized by excellent reproducibility under certain assay conditions³⁴.

DPPH is a stable, synthetic radical that does not disintegrate in water, methanol, or ethanol with a dark purple color that when reduced to its non radical form by antioxidants becomes colorless. The DPPH radical (DDPH) scavenging capacity assay is based on the color change of DPPH solution from purple to yellow as the radical is quenched by the antioxidant²⁴. The color change can be measured quantitatively by spectrophotometer absorbance at 517 nm.

The method was used to evaluate the antioxidant properties of the oregano essential oil in comparison with those of known antioxidants, ascorbic acid and BHT (Table. 3). DPPH radical scav-

enging method has been widely used in the determination of the antioxidant activity of different plant extracts. We used it to evaluate the free radical scavenging capacity of Oregano essential oil compared to that of ascorbic acid and BHT (Table 3). Essential oil extracted from the oregano leaves showed, at IC₅₀ an antioxidant activity of 1.28±0.07 mg/ml, which is less than that of BHT (0.17±0.02 mg/ml) and acid ascorbic (0.361±0.040 mg/ml) taken as standards. It was described that radical scavenging abilities of some compounds can be influenced by their different kinetic behaviour⁶.

Phenolics are compounds that have a hydroxyl group associated with an aromatic ring structure. Several antioxidant phenolic compounds have been isolated from oregano (glucosides, phenolic acids and terpene derivatives)²⁶. Phenolic antioxidants function as scavengers of free radicals by dona-

Table 3. Radical scavenging of *O. vulgare* essential oil, BHT and ascorbic acid with DPPH

Antioxidant	IC 50 mg/ml
Essential oil	1.28±0.07
BHT	0.17±0.02
Ascorbic acid	0.361±0.040

tion of a hydrogen atom to free radicals, yielding low energy stable radicals and prevent autoxidation of the antioxidant radical into additional free radicals ¹¹, they enhance activity of antioxidative enzymes and adverse effect of free radicals ¹⁶.

Conclusion

Origanum vulgare (Lamiaceae) has culinary, fragrant, and medicinal properties. The aim of this study is to investigate the antioxidant activity and the antibacterial efficiency of the essential oil extracted from leaves of *O. vulgare* against strains of *Escherichia coli*. The yield of essential oil of *O. vulgare* was 1.15 % and the major compounds in leaves was thymol (32.58 %) followed by γ -terpinen (18.76 %), durenol (17.92 %), durenol

(11.40 %) and 2-carene, (-) - (2.79 %).

The essential oil showed an antioxidant activity ($IC_{50}=1.28\pm 0.07$ mg/ml), which was lower than the standard antioxidants (ascorbic acid and BHT). The bacterial strains tested were found to be sensitive to essential oil studied and showed a very effective bactericidal activity with maximal inhibition zones in the range of 21.3-32.6 mm and minimum inhibitory concentration (MIC) ranging from 0.314 to 0.628 mg/ml.

The results of this study revealed evidence that the essential oil of *O. vulgare* possesses a good antioxidant effect, and confirm the antimicrobial activity of some essential oils, as well as their potential application in the treatment and prevention diseases caused by *E. coli*.

References

1. **Ahmad, V.U., Jassbi, A.R., Pannahi, M.S.C. (1999).** Analysis of the essential oil of *Echinophora sibthorpiana* Guss by means of GC, GC/MS and ¹³C-NMR techniques. *J. Essent. Oil Research.* 11: 107-108.
2. **Amzallag, G., Larkov, O., Hur, M.B., Dudai, N. (2005).** Soil microvariation as a source of variability in the wild: the case of secondary metabolism in *Origanum dayi* Post. *J. Chem. Ecol.* 31(6): 1235-1254.
3. **Arcila-Lozano, C.C., Loarca-Pina, G., Lecona-Urbe, S., Gonzalez de Mejia, E. (2004).** Oregano: propiedades, composicion y actividad biologica. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion.* 54: 100-111.
4. **Arnold, N., Bellomaria, B. and Valentini, G. (2000).** Composition of the essential oil of three different species of *Origanum* in the eastern Mediterranean. *J. Essent.Oil Research.* 12 :192-196.
5. **Belleti, N., Dafihimana, M.N., Sisto, M., Guerzoni, R., Lanciotti, R., Gardini, F. (2004).** Evaluation of the antimicrobial Activity of Citrus Essences on *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Agric. Food Chem.* 52:6932-6938.
6. **Bondet, V., Brand-Williams, W. and Berset, C. (1997).** Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Lebensm. Wiss. Technology.* 28: 609-615.
7. **Braga, P.C., Dal Sasso, M., Culici, M., Bianchi, T., Bordoni, L., Marabini, L. (2006).** Anti-Inflammatory Activity of Thymol: Inhibitory Effect on the Release of Human Neutrophil Elastase. *Pharmacology.* 77: 130-136.
8. **Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995).** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebens- Wiss Technol.* 28: 25-30.
9. **Burt, S.A. and Reinders, R.D. (2003).** Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H. *Letters in Applied Microbiology.* 36: 162-167.
10. **CLSI (2009).** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard 02-A10, 10th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, PA.
11. **Cuppert, S.L., Schnepf, M., and Hall III, C. (1997).** Natural antioxidants: are they a reality? In *Natural antioxidants, Chemistry, Health effects, and Applications.* Ed. Shahidi, F. AOCS Press, Champaign, IL. pp. 12-24.
12. **Delaquis, P.J., Stanich, K., Girard, B., et al. (2002).** Antimicrobial activity of individual and

- mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int. J. Food Microbiol.* 74: 101-9.
13. **Derwich, E., Benzyane, Z., Mnar, A., Boukir, A. and Taouil, R. (2010).** Phytochemical analysis and in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* from Morocco. *American Eurasian Journal of Scientific Research.* 5(2): 120-129.
 14. **Dorman, H.J. and Deans, S.G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology.* 88: 308-316.
 15. **Enrica, D.F., Emilia, M., Graziana, R., Enrico, M. (2013).** Chemical Composition and Biological Activity of Essential Oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare* L. under Different Growth Conditions. *Molecules.* 18: 14948-14960.
 16. **Evans, R.J. (1996).** Optimizing lipid stability with natural inhibitors. In: SHAHIDI, F. (Ed) *Natural antioxidants-Chemistry, health effects and applications.* Champaign: AOCS Press. 13: 225-244.
 17. **Gilles, F. (2007).** Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivées issues de graines d'origine méditerranéenne. *Organic chemistry.* Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II. French. <NNT: 2007CLF21732 >.
 18. **Gonzalez-Tejero, M.R., Casares-Porcel, M., Sanchez-Rojas, C.P., Ramiro-Gutierrez, J.M., Molero-Mesa, J., Pieroni, A., Giusti, M.E., Sensorii, E., De Pasquale, C., Della, A., Paraskeva-Hadjichambi, D., Hadjichambis, A., Houmanie, Z., El-Demerdash, M., El-Zayat, M., Hmamouchi, M., Eljohrig, S. (2008).** Medicinal plants in the Mediterranean area: Synthesis of the results of the project Rubia. *J. Ethnopharmacol.* 116(2): 341-57.
 19. **Griffin, G.S., Markham, L.J., Leach, N.D. (2000).** An agar dilution method for the determination of the minimum inhibitory concentration of essential oils. *J. Essent. Oil Research.* 12: 149-255.
 20. **Helander, I.M., Alakomi, H.L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E.J., et al. (1998).** Characterization of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria. *Agric. Food Chem.* 46(9): 3590-5.
 21. **Herbert, S., Halvorsen, D.S., Leong, T., Franklin, C., Harrington, G. and Spelman, D. (2007).** Large outbreak of infection and colonization with Gram negative pathogens carrying the Metallo- β -Lactamase gene blaIMP-4 at a 320-Bed Tertiary hospital in Australia. *Infect Control Hosp. Epidemiol.* 28(1): 98-101.
 22. **Holley, R.A., Patel, D. (2005).** Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiol.* 22(4): 273-292.
 23. **Ietswaart, J.H. (1980).** A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae). *Leiden Botanical Series*, vol. 4. Leiden Univ. Press, The Hague.
 24. **Karagözler, A.A., Erdag, B., Emek, Y.C., Uygum, D.A. (2008).** Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. *Food Chem.* 111: 400-407.
 25. **Khosravi, A.R., Shokri, H., Kermani, S., Dakhili, M., Madani, M., Parsa, S. (2011).** Anti-fungal properties of *Artemisia sieberi* and *Origanum vulgare* essential oils against *Candida glabrata* isolates obtained from patients with vulvovaginal candidiasis. *J. Mycol. Med.* 21: 93-99.
 26. **Kikuzani, H. and Nakatani, N. (1989).** Structure of a new antioxidative phenolic acid from oregano (*Origanum vulgare* L.). *Agricultural and Biological Chemistry.* 53(2): 519-524.
 27. **Knobloch, K., Weigand, H., Weis, N., Schwarm, H.M., Vigenchow, H. (1986).** Action of terpenoids on energy metabolism. In: Brunke EJ (Ed) *Progress in Essential Oil Research*, Walter de Gruyter, Berlin. 429-445.
 28. **Kokkini, S. (1996).** Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum* species. In S. Padulosi (Ed.) *Oregano* (pp.2-12). Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano CIHEAM: Valenzano (Bari), Italy.
 29. **Kokkini, S., Karousou, R. and Vokou, D. (1994).** Pattern of geographic variation of *Origanum vulgare* trichomes and essential oil content in Greece. *Bioch System Ecol.* 22: 517-528.

30. **Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M. and Mete, E. (2008).** Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresour Technol*: 99: 8788-95.
31. **Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P., Nychas, G.J.E. (2001).** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J Appl Microbiol*. 91(3): 453-62.
32. **Mead, P. S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L. F., Bresee, J. S., Shapiro, C., Tauxe, R. V. (1999).** Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*. 5(5): 607-625.
33. **Mezzouga, N., Elhadri, A., Dallouh, A., Amkiss, S., Skali, N.S., Abrini, J., Zhiri, A., Baudouxb, D., Diallo, B., El- Jaziri, M., Idaomar, M. (2007).** Investigation of the mutagenic and antimutagenic effects of *Origanum compactum* essential oil and some of its constituents. *Mutat Res*. 629:100-110.
34. **Nanjo, F., Goto, K., Seto, R., Suzuki, M., Sakai, M., Hara, Y. (1996).** Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical *Free Radic. Biol. Med*. 21: 895-902.
35. **National Committee for Clinical Laboratory Standards, (2000).** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Tenth informational supplement M100-S10. Wayne, PA:NCCLS.
36. **Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, M. (2006).** Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*. 69: 1046-1055.
37. **Sahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., Agar, G. Özer, H. (2004).** Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*. 15:549-557.
38. **Seydim, A.C. And Sarikus, G. (2006).** Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Res Int*. 39: 639-44.
39. **Si, H., Hu, J., Liu, Z. and Zeng, Z.I. (2008).** Antibacterial effect of oregano essential oil alone and in combination with antibiotics against extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli*. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 53: 190-194.
40. **Sikkema, J., De Bont, J.A.M., Poolman, B. (1995).** Mechanism of membrane toxicity of hydrocarbon s. *Microbiol. Rev*. 59: 201-22.
41. **Souza, E.L., Guerr, N.B., Stamford, T.L.M. and Lima, E.O. (2006).** Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. *Rev. Bras. Farm*. 87(1): 22-25.

RESEARCH IN ESSENTIAL OILS: THE CASE OF OREGANO

ASSISTANT PROFESSOR NORA MAHFOUF, FACULTY OF SCIENCE, UNIVERSITY OF CHADLY BEN DJEDID, ALGERIA



Of the 250,000 species of flowering plants in the world, more than 20,000 – nearly 10% of the total – are classified as herbs. Herbs picked by people from the wild have been an essential factor in healthcare all over the world throughout the ages and in all cultures. Nowadays, some 80% of the world's people rely on traditional, plant-based medicines for their primary healthcare (1). Actually, there exists a tendency to use natural products for the treatment of several illnesses. With use of medicinal plants, investigations have been performed all over the world in order to find more productive and economical medicines (2). Medications used to cure disorders require continuous changing to improve their effectiveness. However, few of the many claims of therapeutic efficacy have been validated adequately by clinical trials. Even though these claims have been substantiated scientifically, complementary medicines are unlikely to secure a place in conventional healthcare (3).

Research in essential (volatile) oils has attracted increased attention from both academic and commercial circles due to a growing interest in green consumerism, worldwide reduction in the composition of salt in food (health reasons), and the need for alternative techniques to assure quality and safety of perishable foods (4, 5). The essential oils of aromatic and medicinal plants present a great potential for application as antimicrobial agents and their use as remedies has been recognized for a long time (6).

An essential oil is defined internationally as the product obtained by hydrodistillation, steam distillation or dry distillation, or by a suitable mechanical process without heating (for citrus fruits) of a plant or some parts of it (7). They are aromatic oily liquids, volatile, characterized by a strong odour, rarely coloured and generally with a lower density than that of water. They can be synthesized by all plant organs (flowers, buds, seeds, leaves, twigs, bark, herbs, wood, fruits and root) and therefore extracted from these parts, where they are stored in secretory cells, cavities, canals, epidermic cells or glandular trichomes (8, 9). Essential oils only represent a small fraction of a plant's composition; nevertheless they confer the characteristics by which aromatic plants are used in the food, cosmetic and pharmaceutical industries (10).

Mediterranean countries are the biggest producers of native aromatic plants (11) due to the favorable climatic conditions, oil composition, and geographical morphology. Algeria is also one country which produces hundreds of species of aromatic plants which are native (12). Among them oregano.

The genus *Origanum* (oregano) is one of over 200 genera in the *Lamiaceae* family and includes annual and perennial herbs

growing on stony slopes at a wide range of altitudes (13, 14). It comprises about 38 species, six subspecies and 17 hybrids, most of them indigenous to the Mediterranean region (15, 16).

The *Origanum* composition depends on the climate, altitude, time of recollection and the stage of growth (14). *O. vulgare* growing in a Mediterranean climate contains a higher amount of phenols (15) or terpenic alcohols, respectively. In general, essential oil yields peak under hot summer conditions with species producing oil containing 60–75% phenols, mostly carvacrol (16). This compound, together with thymol, p-cymene and c-terpinene are commonly reported as the main components of *Origanum Eos* (17, 18, 19).

The structure of thymol is similar to that of carvacrol; however, they differ as to the location of the hydroxyl group in the phenolic ring. Both substances seem to make the membrane permeable (20). Their structure disintegrates the external membrane of the Gram-negative bacteria, releasing lipopolysaccharides (LPS) and increasing the permeability of the cytoplasmic membrane to ATP (21).

Figure 1: Carvacrol (1) and Thymol (2)

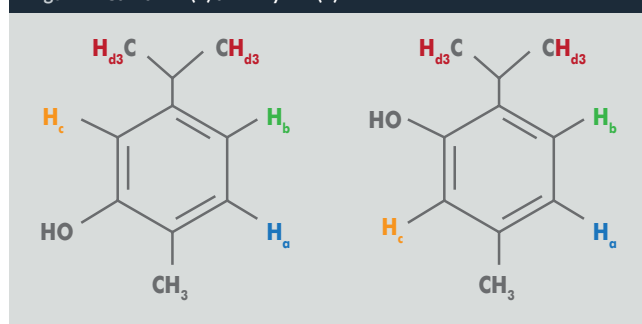


Figure 2: Aromatograms : qualitative effects of the essential oil of oregano observed on the strains of *E.coli* , *Acinetobacter.spp* and *Citrobacter.spp* , by diffusion from impregnated discs on agar medium



Our results of research on the antibacterial activity of oregano essential oil

Our results suggest the possible exploitation of oregano in the management of the infectious diseases. Further purification of the extract may yield a novel antibacterial drug. The plant can also be used as a natural source of antioxidants to prevent oxidative degradation of foods and to minimize oxidative damage to living cells.

The bacterial strains tested were found to be sensitive to essential oil studied and showed a very effective bactericidal activity with maximal inhibition zones in the range of 21.3–32.6 mm. ■

Assistant Professor Nora Mahfouf works in the Department of Pharmacy at Badji Mokhtar University (Algeria). She received her Diploma of Higher Studies in Microbiology, University of Badji Mokhtar, working with Professor Boutefnouchet Nafissa on topics in nosocomial infections and the resistance to antibiotics of the species *Pseudomonas aeruginosa*. She then moved to Chadli Ben Djedid University where she received a Biology Master's diploma in Ecotoxicology. She worked on the antibacterial activity of rosemary essential oil on strains of Gram-positive and Gram-negative antibiotic-resistant bacteria. At present, she is preparing a PhD thesis on the study of the *Origanum vulgare* species. She works with Professor Hichem Nasri and Professor Bennadja Salima on the bactericidal activity of the essential oil of oregano.

References

- Cosge B, Turker A, Ipek I et al. Chemical compositions and antibacterial activities of the essential oils from aerial parts and corollas of *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) Ietswaart, an endemic species to Turkey. *Molecules* 2009;14:1702-1712
- Goze I, Cetin A, Goze A. Investigation of effects of essential oils of *Origanum minutiflorum* O Schwarz PH Davis and *Cyclotrichium niveum* (Labiatae) plants on angiogenesis in shell-less Chick embryo culture. *African Journal of Biotechnology*. 2010; 9(14): 2156-2160
- Hammer KA, Carson CF, Ri1ley TV. In-vitro activity of essential oils in particular *Melaleuca allemlifolia* (tea tree) oil and tea tree oil products, against *Candida* spp. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1998;42: 591-595.
- Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *Int. J. Food Microbiol.* 2004; 94, 223-253.
- Holley RA, Patel D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiol.* 2005;22, 273-292.
- Kim J, Marshll MR, Wei C. Antibacterial Activity of Some Essential Oil Components against Five Foodborne Pathogens. *J. Agric. Food Chem.* 1995;43, 2839-2845.
- Rubiolo P, Sgorbini B, Liberto E, C Cordero, Bicchi C. Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis. *Flavour Fragr. J.* 2010;25, 282-290.
- Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *Int. J. Food Microbiol.* 2004;94, 223-253.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar MM. Biological effects of essential oils - a review. *Food Chem. Toxicol.* 2008;46, 446-475.
- Pourmortazavi SM, Hajimirsadeghi SS. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *J. Chromatogr. A* 2007;1163, 2-24.
- Rojas-Grau MA, Avena-Bustillos RJ, Olsen C, Friedman M, Henika PR, Martin-Belloso O et al. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple purees edible films. *J Food Eng.* 2007;81: 634-41.
- González-Tejero MR, Casares-Porcel M, Sánchez-Rojas CP, Ramiro-Gutiérrez, JM, Molero-Mesa J, Pieroni A et al. Medicinal plants in the Mediterranean area: synthesis of the results of the project Rubia. *J Ethnopharmacol.* 2008 ;116: 341-57.
- Aliyiannis N, Kalpoutzakis E Mitaku S, Chinou IB. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001;49: 4168-4170.
- Craker L. Herbs, spices, and medicinal plants gain in scientific and commercial importance. *Diversity*. 1989; 5 (2-3): 47.
- Ietswaart JH. A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae): (Labiatae). 1980. Springer, Netherlands.
- Vokou D, Kokkini S, Bessiere JM. Geographic variation of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) essential oils. *Biochemical Systematics and Ecology*. 1993;21: 287-295.
- Kirimer N, Baser KH, Tumen G. Carvacrol rich plants in Turkey. *Chem. Nature Comp.*, 1995;31:41.
- Sahin F, Güllüce M, Daferera D, Sökmen A, Sökmen M, Polissiou M, Agar G, Özer H. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control* 2004;15:549-557.
- Loizzo MR, Menichini F, Conforti F, Tundis R, Bonesi M., Saab, AM, Statti GA, Cindio B, Houghton PJ, Menichini F, Frega NG. Chemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory and anticholinesterase activities of *Origanum ehrenbergii* Boiss and *Origanum syriacum* L. essential oils. *Food Chem.* 2009;117:174-180.
- Lambert RJW, Skandamis PN, Coote P, Nychas GJE. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J Appl Microbiol.* 2001;91(3):453-62.
- Helander IM, Alakomi HL., Latva-Kala K, Mattila-Sandholm T, Pol, I, Smid EJ et al. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Agric Food Chem.* 1998;46(9):3590-5

18th Global Summit on

FOOD & BEVERAGES

October 02-04, 2017 Chicago, USA

Antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* L. against strains of *Acinetobacter* spp.

Nora Mahfouf

University Chadli Ben Djedid, Algeria

Oregano oil and its major phenolic components, are known for their wide spectrum of antimicrobial activity, which has been the subject of several investigations in vitro and in vivo. In this context, the aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity in vitro of the essential oil of oregano against *Acinetobacter* spp. and to carry out the molecular characterization of this oil. Gas Chromatography(GC) and Gas Chromatography/MassSpectrometry(GC/MS) analysis examined the chemical composition of the oil. The yield of EO of *O.vulgare* was 1.15% and the major compounds were thymol (32.58%), γ -terpinen (18.76%), phenol (17.92%) and 1, 2, 3, 4-tetramethylfulvene (11.40%). The EO showed a very effective bactericidal activity towards the tested bacterial strains with maximal inhibition zones in the range of 27,2 - 36,6 mm and a minimum inhibitory concentration (MIC) ranging from 0,314 to 2,51 mg/ ml. The results obtained at the end of this study demonstrate the antibacterial activity of the EO of *O.vulgare* L. against *Acinetobacter* bacteria. These results suggest that OEO may be a useful alternative to antibiotics for the control of the infections caused by *Acinetobacter* spp.

Biography

Nora Mahfouf is an assistant professor in the Departement of Pharmacy at Badji Mokhtar University (Algeria). She received her Diploma of Higher Studies in Microbiology, University of Badji Mokhtar, working with Pr. BOUTEFNOUCHET Nafissa on topics in nosocomial infections and the resistance to antibiotics of the species *Pseudomonas aeruginosa*. She then moved to Chadli Ben Djedid University where she received Biology Master's diploma in Ecotoxicology, she worked on the antibacterial activity of rosemary essential oil on strains of Gram positive and Gram negative antibiotic resistant bacteria. At present, she is preparing a PhD thesis on the study of the *Origanum vulgare* species. She works with Prof. Hichem NASRI and Prof. BENNADJA Salima on the bactericidal activity of the essential oil of oregano.

noramahfouf@yahoo.fr

Notes: