

الجمهورية الجزائرية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA DE BOUMERDES

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire de Fin D'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master II

EN BIOLOGIE

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Thème

Contribution à l'étude de l'effet des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Ruta graveolens* sur la croissance des quelques microorganismes pathogènes

Présenté par :

Mlle : Mecheri Fatiha et Mlle : Akdif Nardjesse

Devant le jury composé de :

Mme. LAOUFI R.	Maitre assistant (A)	Président
Mme. BEHIDJ N.	Professeur	Promoteur
Mme.DAHMANE T.	Doctorant (Université Blida 1)	Co-promoteur
Mme.BRAHMI F.	Docteur	Examineur

2016/2017

Remerciements

Nous remercions ALLAH, le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Nous remercions chaleureusement la promotrice M^{me} BEHIDJ Nassima Professeur à l'UMBB, pour sa disponibilité à toutes épreuves, pour sa gentillesse, sa patience, ses orientations et ces remarques fructueuses. Ce fut un grand plaisir de travailler avec elle, durant la préparation du ce travail. Tout notre respect et notre gratitude, merci.

Nos sincères remerciements vont aussi à notre co-promotrice M^{lle} DAHMANE Thoraya doctorante à l'Université de Blida 1, pour son suivie et son aide.

Nos remerciements aussi à M^{me} LAOUFI Razika maitre assistant (A) d'avoir accepté de présider ce jury ainsi qu'à M^{me} BRAHMI Fairouz docteur de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce modeste travail.

On n'oublie jamais l'aide fourni par Mme OUAGUENOUNI Nadia le technicien au Laboratoire de Biotechnologie Microbienne au niveau de la faculté des sciences qu'elle trouvera ici nos vifs remerciements.

Ainsi que le personnel de l'université de Boumerdès surtout les enseignants du département de biologie sont à remercier.

Nos remerciements les plus chaleureux vont à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces



Avant toute, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

Avec toute mon estime et mon amour, je vous dédie ce modeste travail

Aux deux plus chères personnes de ma vie que j'aime le plus au monde, mes parents.

A mon cher grand père : SADEK, d'avoir été toujours à mes cotés pour m'encourager, ton aide moral et affectif durant toutes les années de mes études, pour me voir atteindre ce but.

A mon chère maman : ZAHIA, pour ton amour, tes sacrifices illimités. J'espère un jour pouvoir t'apporter le bonheur que tu y as fait pour moi durant tout ma vie.

« Pour cela et pour ce qui ne peut être dit, mes affections sans limite »

A mon chère père BACHIR,

A ma grande mères KHDAOUDJ.

A mes très chères sœurs : KARIMA, RETADJ, AMEL, BIKA et KHALIDA.

A mes adorable frères : SALIM et NASER,

A mes ancles, mes cousins et cousines,

Et spécialement au cousin: AHMED et sa femme FATIMA, et a mes cousines HNIFA et

ZOLIKHA.

A mes chères amies: HAYET, WISSAM, HASSIBA, NINA, NABILA, ZAHO, ZAHRA

A ma binôme NARDJESS et sa famille.

*A Tous les membres de groupe de Biotechnologie Microbienne Que la paix d'ALLAH
soit avec tous.*

FATIHA

Dédicaces

Avant toute, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

Avec toute mon estime et mon amour, je vous dédie ce modeste travail

Aux trois plus chères personnes de ma vie que j'aime le plus au monde, mes parents.

*A mon cher père : **YOUSSEF** d'avoir été toujours à mes côtés pour m'encourager, ton aide moral et affectif durant toutes les années de mes études, pour me voir atteindre ce but.*

*A deux chères mes mères: **FATMA** et **CHERIFA**, pour votre amour, votre sacrifices illimités. J'espère un jour pouvoir vous apporter le bonheur que vous y êtes fait pour moi durent tout ma vie.*

« Pour cela et pour ce qui ne peut être dit, mes affections sans limite »

*A mes très chères sœurs : **CHAHINAZ**, **SOMIA** et **SABAH**.*

*A mes adorable frères : Abd **ELHEK**, **AMINE**, **OMAR**, **MOHAMED**.*

*Et spécialement au cousin de ma mère : Zahia , Houria et ces filles : **NABILA**, **Fouzia**
Siham, **Sakina**, **Samia** et ses filles **Ilham** et **Chorouk**,*

*A mes Amis: **NAWAL**, **LAMIS**, **HAYET**, **HASSIBA**, **NABILA**, **ZAHRA** , **IMEN** et sa
fille **INES** ,à Zineb et Abir*

*A mes chères petites sœurs : **HADIL**, **NADA**, **ANES**, **SONDOS***

*A mon fiancé **BILAL***

*A ma binôme **FATIHA** et sa famille.*

*A Tous les de groupe de **BTM**.*

*Que la paix d'**ALLAH** soit avec tous.*

NARDJESSE

SOMMAIRE

Introduction	01
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I .1.Historique.....	03
I .2. Les huiles essentielles.....	03
I .2.1. Définition.....	03
I .2.2. Localisation dans la plante.....	04
I .2.3.Composition chimique.....	04
I .2.3.1.Origine biogénique des huiles essentielles.....	04
I .2.3.1.1. Groupe de terpénoïdes.....	04
• Les monoterpènes.....	04
• Les sesquiterpènes.....	04
I .2.4.Propriétés des huiles essentielles.....	06
I .2.5.Rôle des huiles essentielles chez les plantes.....	06
I .2.6.Effet biologiques.....	06
I .2.7.Principaux domaines d'application.....	06
I .2.8.Procédés d'extraction des huiles essentielles.....	07
I .2.8.1.Hydro-distillation.....	07
I .2.8.2.Distillation.....	08
I .2.8.3. Extraction par CO2 super critique.....	09
I .2.8.4. Extraction par les solvants.....	09

I. 2.8.5. Extraction par micro-ondes.....	09
I. 3. <i>Rosmarinus officinalis</i>	10
I. 3.1. Généralités.....	10
I. 3.2. Classification botanique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	11
I. 3.3. Description botanique.....	11
I. 3.4. Répartition géographique.....	12
I. 3.5. Composition chimique.....	12
I. 3.5.1. Huile essentielle.....	12
I. 3.5.2. Les composés phénoliques.....	13
I. 3.5.2.1. Les acides phénoliques.....	13
I. 3.5.2.2. Flavonoïdes.....	13
I. 3.5.2.3. Diterpènes.....	14
I. 3.6. Propriétés biologiques et pharmacologiques.....	14
I. 3.7. Usage du Romarin.....	14
I. 3.7.1. Phytothérapie.....	14
I. 3.7.1.1. Voie externe.....	14
I. 3.7.1.2. Voie interne.....	14
I. 3.7.2. Parfumerie et cosmétique.....	15
I. 3.7.3. Industrie agro-alimentaire.....	15
I. 4. <i>Ruta graveolens</i>	15
I. 4.1. Généralités.....	15
I. 4.2. Classification.....	16
I. 4.3. Description.....	16

I. 4.4. Répartition géographique.....	17
I. 4.5. Composition chimique.....	17
I.4.5.1. Les huiles essentielles.....	17
I. 4.5.2. Les furanocoumarines.....	18
I. 4.5.3. Les dihydrofuranocoumarines.....	18
I. 4.5.4. Les coumarines.....	18
I. 4.5.5. Les pyranocoumarines.....	18
I. 4.5.6. Les flavonoïdes.....	18
I.4.5.7.Les alcaloïdes.....	18
I.4.6.Activités biologique.....	18
I. 4.7. Utilisation.....	19
I.4.7.1.Médecine naturelle.....	19
I. 4.7.2. La cuisine.....	19
Chapitre II : Matériels et méthodes.....	20
II.1. Matériel utilisé.....	20
II 1.1.Matériel biologique.....	20
II 1.1.1. Matériel végétal.....	20
II 1.1.2. Microorganismes testés.....	20
II 1.1.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	20
II 1.1.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> résistance à la méticilline(SARM).....	21
II. 1.1.2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
II. 1.1.2.4. <i>Escherichia coli</i>	21
II.1.1.2.5. <i>Bacillus subtilis</i>	21
II.1.1.2.6. <i>Candida albicans</i>	22
II. 1.2. Matériel non biologique.....	22

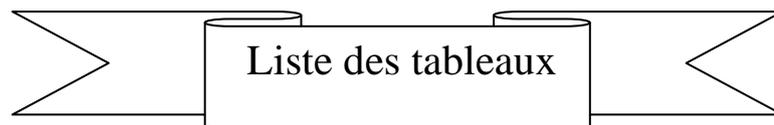
II. 2. Méthodologie	22
II. 2.1. Procédé d'extraction.....	22
II. 2.1.1. Principe de l'extraction des huiles essentielles	22
II. 2.1.2. Mode opératoire.....	23
II. 2.1.3. Décantation de l'huile essentielle.....	24
II. 2.1.4. Détermination du rendement d'extraction.....	24
II. 2.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne	24
II. 2.2.1. Principe.....	25
II. 2.2.2. Protocole expérimental.....	25
II. 2.2.2.1. Méthode de dilution.....	25
II. 2.2.2.2. Antibiogramme.....	26
• Revivification et repiquage des souches.....	26
• Préparation des milieux de culture.....	26
• Préparation de l'inoculum.....	26
• Ensemencement.....	26
• Préparation des disques.....	26
• Incubation.....	27
• Lecture des résultats.....	27
Chapitre III : Résultats	29
III. 1. Rendement des huiles essentielles	29
III.2. Résultats du test du pouvoir antimicrobien.....	29
III. 2.1. Activité antimicrobienne d'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	29
III. 2.1.1. L'activité antimicrobienne des dilutions de <i>Rosmarinus officinalis</i>	32
III. 2.2. Activité antimicrobienne d'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i>	36
III. 2.2.1. L'activité antimicrobienne des dilutions de <i>Ruta graveolens</i>	39
IV. Discussion.....	43

Conclusion.....46

Perspectives

Annexe

Références bibliographiques



Liste des tableaux

Tableau 01 : Composition de l'huile essentielle du <i>Romarin</i>	13
Tableau02 : Lecture des résultats de l'activité antimicrobienne.....	28
Tableau 03 : Rendement en % del'huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i> et de <i>Rutagraveolens</i>	29
Tableau 04 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de <i>Rosmarinusofficinalis</i>	30
Tableau05 :Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i>	36



Liste des figures

Figure01 : Structure chimique de quelques composés des huiles essentielles.....	05
Figure02 : Appareillage de l'hydrodistillation des huiles.....	08
Figure03 : Schéma de principe d'extraction par distillation.....	08
Figure04 : Montage d'une distillation par micro-ondes.....	10
Figure05 : <i>Rosmarinus officinales</i>	12
Figure06 : <i>Ruta graveolens</i>	17
Figure07 : Dispositif de l'hydrodistillation -Appareil Clevenger-.....	23
Figure08 : Protocole de dilution des huiles.....	25
Figure 09 : Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile du Romarin.....	31
Figure 10 :Histogramme représent le coefficient d'activité antimicrobienne d'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur les microorganisme testés.....	32
Figure11: Effet de l'huile du Romarinsur <i>Staphylococcus aureus</i> en fonction des dilutions.....	33
Figure12 : Effet de l'huile du Romarin sur <i>Staphylococcus aureus</i> résistance à la méticilline en fonction des dilutions.....	33
Figure13: Effet de l'huile du Romarin sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction des dilutions.....	34
Figure14 : Effet de l'huile du Romarin sur <i>Escherichia coli</i> en fonction des dilutions.....	34
Figure15 : Effet de l'huile du Romarin sur <i>Bacillus subtilis</i> en fonction des dilutions.....	35
Figure16: Effet de l'huile du Romarin sur <i>Candida albicans</i> en fonction des dilutions.....	35
Figure17 : Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile du <i>Ruta graveolens</i>	37
Figure18 :Histogramme représent le coefficient d'activité antimicrobienne d'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> sur les microorganismes testés.....	38

Figure19 : Effet de l'huile du <i>Ruta graveolens</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i> en fonction des dilutions.....	39
Figure20 : Effet de l'huile du <i>Ruta graveolens</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i> résistance à la méticilline en fonction des dilutions.....	39
Figure21 : Effet de l'huile du <i>Ruta graveolens</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en fonction des dilutions.....	40
Figure22 : Effet de l'huile du <i>Ruta graveolens</i> sur <i>Escherichia coli</i> en fonction des dilutions.....	40
Figure23 : Effet de l'huile du <i>Ruta graveolens</i> sur <i>Bacillus subtilis</i> en fonction des dilutions.....	41
Figure24 : Effet de l'huile du <i>Ruta graveolens</i> sur <i>Candida albicans</i> en fonction des dilutions.....	41

INTRODUCTION

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées dans l'alimentation et comme remède envers plusieurs maladies. Chacune d'elles doit avoir un ou plusieurs principes actifs. Ces derniers sont essentiellement des alcaloïdes et des hétérosides. Ces substances résultent du métabolisme. Mais on ignore s'il s'agit des déchets ou de substances de réserve. On les trouve en quantité maximale au moment de la floraison ou juste au début de celle-ci (Verdrager, 1978).

A l'heure actuelle, les plantes constituent le premier réservoir de nouveaux médicaments (Bahorum, 1997). En effet plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays développés dérivent des plantes (Newman et *al.*, 2000). Cependant, les plantes sont encore sous-exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale. Récemment, dans les pays développés les plantes médicinales sont plus en plus exploitées afin de pallier aux effets secondaires des médicaments de références. Parmi ces derniers, on peut citer les antibiotiques (Small et Catling, 2000).

Pibiri(2006) affirme que certaines espèces microbiennes pathogènes sont de moins en moins sensibles aux antibiotiques et développent des résistances multiples. Ceci fait recours aux plantes pour rechercher de nouvelles sources permanentes efficaces et moins agressives. La nécessité de trouver des huiles essentielles grâce à leur forte action antimicrobienne développée depuis plus d'une vingtaine d'année constitue un sérieux substitue au traitement par les antibiotiques dans les pathologies infectieuses.

Parmi les plantes médicinales, on a le romarin ou le *Rosmarinus officinalis*, plante si abondante et si commune dans la région méditerranéenne. Elle est considérée comme une espèce très importante de la flore algérienne pour son utilisation et son efficacité en médecine traditionnelle. Ces dernières sont assurées probablement grâce à la présence de plusieurs principes actifs responsables de son activité. On peut parler aussi du *Ruta graveolens* (Fidjel) est connue pour sa richesse en produits du métabolisme secondaire et particulièrement en furanocoumarines et en flavonoïdes. C'est une plante caractérisée par des propriétés pharmacologiques (Baba Aissa, 1999).

Par ailleurs, l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme antimicrobienne, demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation importante tels que de Romarin et de *Ruta graveolens*. Plusieurs travaux ayant comme objectif la recherche de nouvelles substances naturelles d'origine végétale possédant des

propriétés antimicrobiennes ont été réalisés à partir de *Ruta graveolens*. A cet effet on peut citer celui de Alzoreky et Nakahara (2003). Par ailleurs, on peut mentionner ceux de Dafefera et *al.*,(2003), Sacchetti et *al.*, (2005), et Lopez et *al.*, (2005) ayant touché à l'étude de la caractérisation, et à l'activité biologique des extraits végétaux du romarin.

En Algérie, des études ont été faites sur l'effet antimicrobien des extraits végétaux de *Ruta graveolens*, et de *Rosmarinus officinales*, on peut citer le travail de Majour (2013) pour le romarin et l'étude de Attou (2010) pour *Ruta graveolens*.

Dans le but de compléter les informations sur l'effet de *Rosmarinus officinalis* et *Ruta graveolens* sur les microorganismes, on a jugé nécessaire et utile de tester leurs huiles essentielles sur quelques microorganismes pathogènes.

Le présent travail est réparti en quatre chapitres. Le premier chapitre est consacré à la synthèse bibliographique notamment sur les huiles de *Rosmarinus officinalis* et de *Ruta graveolens*. Dans le deuxième chapitre, on a détaillé les matériels et méthodes utilisés pour réaliser cette étude. Le troisième chapitre présente en détail les résultats obtenus. La discussion des résultats est donnée au niveau du quatrième chapitre. Enfin, une conclusion dans laquelle on a regroupé l'essentiel des résultats clôturera cette étude.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. 1. Historique

L'utilisation des traces d'huiles essentielles destinées à rééquilibrer physiquement et psychiquement l'individu remonte à plus de 3000 ans. Toutefois, vers les débuts du 15^{ème} siècle, l'utilisation des huiles essentielles a subi une chute remarquable suite à la découverte de la pénicilline (Pierre de Larochequet, 1999).

Dans les années 50, l'esthéticienne, biochimiste française Marguerite Maury a introduit le concept des huiles essentielles en massage en créant les premiers services d'aromathérapie en Europe. Ainsi, apparaît une nouvelle exigence relative aux choix des végétaux, aux modalités de cueillette et aux techniques d'extraction et de conservation (Lesley Bremness, 1996). Finalement, la médecine aromatique est introduite par les auteurs Penel et Franschomme (Pierre de Larochequet, 1999). Il n'y a pas aussi longtemps, ces mêmes ont étudié au laboratoire, les caractéristiques des huiles essentielles issues d'un nombre important de végétaux. Ainsi, ils ont dressé un tableau assez précis qui sert actuellement de référence très importante pour les chercheurs. Selon Pierre de Larochequet (1999), de nos jours, l'aromathérapie s'impose comme l'une des thérapies complémentaires la plus performante non seulement en matière de santé mais également en matière de beauté et d'esthétique par les soins naturels qu'elle peut apporter à la peau et au corps.

I.2 .Les huiles essentielles

I.2 .1. Définition

Les huiles essentielles (H. E.) sont des complexes naturels de molécules volatiles et odorantes, synthétisées par les cellules sécrétrices des plantes aromatiques. Celles-ci les conservent dans des poches au niveau de certains organes (Duquenois, 1968). La composition des huiles essentielles est très complexe, elles peuvent renfermer jusqu'à plusieurs centaines de molécules chimiques différentes. Les plus fréquemment rencontrés sont les alcools (phénols et ses quiterphénols), les cétones, les aldéhydes terpéniques, les esters, les éthers, les terpènes et les oxydes (Meynadier et Raison, 1997).

I. 2. 2. Localisation dans la plante

Selon Deysson (1979) et Mann (1987), les huiles essentielles sont produites dans le protoplasme cellulaire des plantes aromatiques et représentent les produits du métabolisme cellulaire dit "secondaire". La synthèse et l'accumulation de ces métabolites dans un organe sont associées à la présence de structures histologiques spécialisées qui selon l'espèce botanique peuvent être des cellules sécrétrices, des poches sécrétrices, des poils sécréteurs ou des canaux sécréteurs.

I. 2. 3. Composition chimique des huiles essentielles

I. 2. 3. 1. Origine biogénique des huiles essentielles

Comme toutes les plantes sont classées en familles, les produits naturels sont aussi classés en deux familles. Les majeures parties des composés des huiles essentielles sont le groupe des terpénoïdes d'une part, et le groupe des composés aromatiques dérivés du phényle propane d'autre part. (Benziet *al.*, 1996).

I. 2. 3. 1. 1. Groupe des terpénoïdes (Pinchuk et *al.*, 2012)

C'est le groupe le plus important. Il comprend des monoterpènes avec 10 atomes de carbone, des sesquiterpènes soit 20 atomes de carbone, et des diterpènes (30 atomes de carbone).

Les terpènes sont des molécules organiques constituées par un multiple de 5 atomes de carbone de formule générale $[C_5H_8]_n$.

- **Les monoterpènes**

Ce sont des hydrocarbures aliphatique, saturés ou insaturés. Ils peuvent être acycliques comme le myrcènes, ou cycliques comme le pinène, camphène, et même aromatiques comme le p-cymène. Aussi, ils peuvent contenir des atomes d'oxygènes.

- **Les sesquiterpènes**

Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédent carbures, alcools, cétones étant les plus fréquents. On trouvera ci-dessous quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles (Figure 1).

Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres constituants.

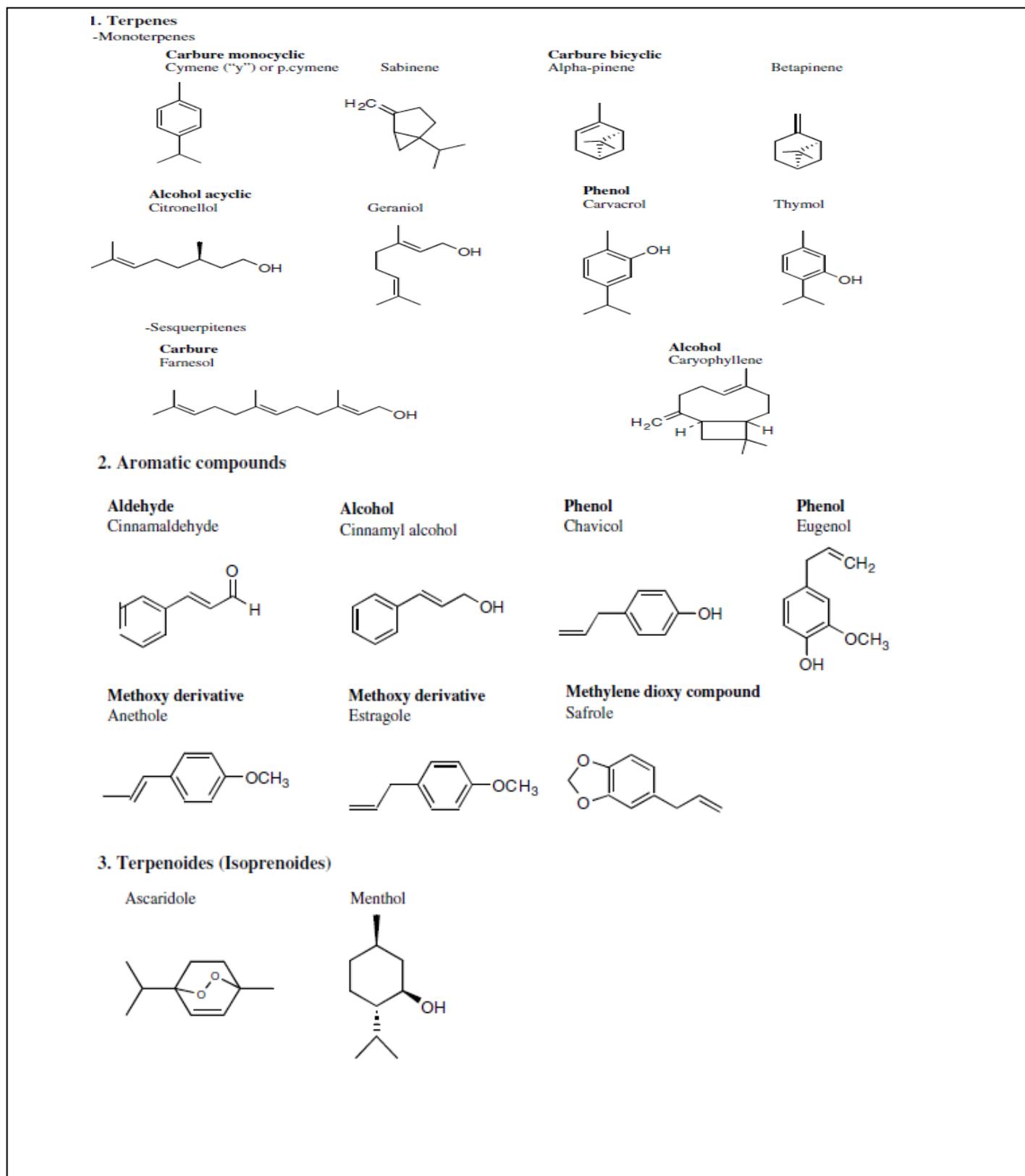


Fig.1:Structure chimique de quelques composés des huiles essentielles (Bakkali et al., 2008).

I. 2. 4. Propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (Degryse et *al.*, 2008). Elles sont très inflammables et très odorantes. Elles sont sous la forme liquide à température ambiante. Exposées à l'air, les huiles essentielles se volatilisent. Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau sauf pour les huiles essentielles des plantes suivantes le sassafras, le girofle et la cannelle. Elles ont un indice de réfraction élevé (Bruneton,2009).Les huiles essentielles ne sont pas solubles dans l'eau, entraînables à la vapeur d'eau. Elles se retrouvent dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable qui tend à se collecter en gouttelettes de grosse taille (Rhayour, 2002).Par contre, elles sont solubles dans les solvants organiques usuels (Bruneton, 1999).

I .2.5. Rôle des huiles essentielles chez les plantes

D'après Fouché et *al.*, (2008),les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leurs environnements et assurent leurs ultimes défenses. Elles jouent plusieurs rôles écologiques. On peut citer l'interaction plante-plante qui se traduit par l'inhibition de la germination et de la croissance. Ainsi, il est à noter l'interaction plante animale, qui s'exprime par leurs protections contre les prédateurs.

I.2.6. Effets biologiques

Les terpénoïdes ont des effets contre les bactéries, les mycètes, les virus et les protozoaires. En 1977, il a été signalé que 60% des dérivés des huiles essentielles examinés jusqu'au 1999 sont inhibiteurs de mycètes tandis que 30% de ces produits inhibent les bactéries. Le triterpénoïde, l'acide botulinique de plusieurs terpenoïdes ont montré une action inhibitrice envers le HIV. Le mécanisme de l'action des terpènes n'est pas entièrement compris. Mais on pense qu'il s'agit de la rupture de la membrane par les composés lipophiles (Cowan, 1999).

I .2.7. Principaux domaines d'application

Les huiles essentielles sont employées pour leur saveur et odeur en industrie des produits naturels et en industrie des parfums (Anonyme, 2001). Ainsi, elles connaissent un vaste usage d'application dans divers domaines. Dans le domaine agroalimentaire, on trouve les aromes à base d'huile tels que la vanille, et le citron. Notamment en confiserie, on signale l'utilisation

de bergamote dans la fabrication des bonbons (Julie, 1998). Par ailleurs, le pouvoir antioxydant des huiles essentielles permet la conservation des aliments.

En pharmacie, les huiles essentielles trouvent leurs emplois dans la formule d'un très grand nombre de spécialités; sirop, gouttes, gélules. A titre d'exemple, il a été formulé une pommade antirhumatismale à base d'essence de Romarin (Nabiev, 2006), Leurs propriétés aromatisant sont également employées pour masquer l'odeur désagréable des médicaments. Les huiles essentielles sont également utilisées en parfumerie et cosmétique comme les shampooings, les dentifrices, les crèmes solaires, les parfums, et les crèmes de soins (Julie, 1998).

Selon Julie (1998), les essences peuvent être administrées par plusieurs voies et sous différentes formes en usage interne ou externe. On peut citer la voie orale sous forme de tisane; décoction, infusion, macération, sous forme d'huile essentielle pure déposée sur les aliments. La voie rectale sous forme de suppositoires à base d'huile essentielle est à signaler. Ainsi, la voie cutanée est à mentionner à travers des huiles de corps, des baumes, et des huiles de bain ou l'essence est appliquée sur la peau et diffuse dans tout l'organisme.

I.2.8. Procédés d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont obtenues par diverses manières. Le choix de la technique dépend de la localisation histologique de l'huile dans le végétal et de son utilisation.

I.2.8.1. Hydro-distillation

C'est la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité (Figure 2). L'huile essentielle étant plus légère que l'eau; sauf quelques rares exceptions, elle surnage au-dessus de l'hydrolat (Lucchesim, 2005).

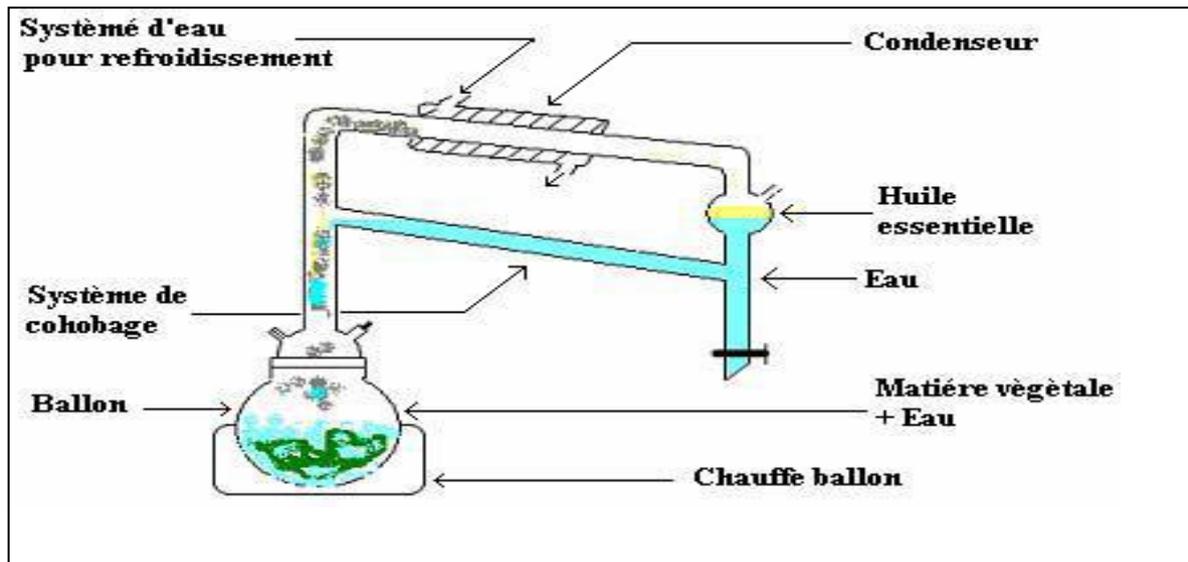


Fig.2: Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile (Hernandez Ochoa, 2005).

I. 2. 8. 2. Distillation

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par distillation et entraînement à la vapeur d'eau, à l'exception des huiles essentielles d'hespéridés (citron, orange) et l'huile de cade. On admet que la vapeur pénètre dans les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles (Figure 3). Ceci se traduit par isolement des essences de la plante démontrant donc uniquement une quantité suffisante de vapeur (Franchomme et *al.*, 1990).

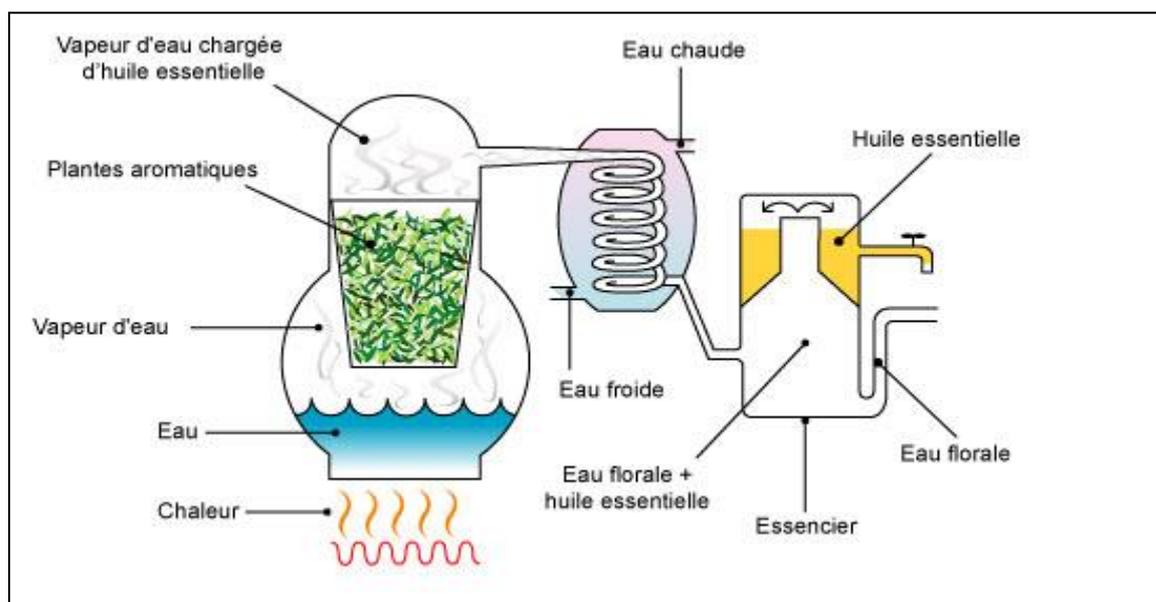


Fig.3: Schéma de principe d'extraction par distillation.

I.2.8. 3. Extraction par CO₂ super critique

La technique se base sur la solubilité des constituants dans le CO₂ et de son état physique. Grâce à cette propriété, il permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux. Ainsi, le CO₂ est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Ensuite, il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal. Après le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (Keville et Green, 1995).

I. 2. 8. 4. Extraction par les solvants

L'extraction par les solvants consiste à la mise en contact de la matière végétale avec un solvant qui dissout et extrait les constituants solubles contenus dans la plante. Aussi le choix des solvants obéit à des paramètres techniques et économiques. Une sélectivité, une stabilité, une inertie chimique, et une température d'ébullition pas trop élevée permettent son élimination totale pour éviter les pertes (Bekhechi *et al.*, 2008). Les solvants les plus utilisés sont des carbures aliphatiques; éther de pétrole, et hexane, et les halogènes qui sont les dérivés chlorés et fluorés. Tandis que les carbures aromatiques par exemple le benzène qui est un bon solvant mais sa toxicité limite de plus en plus son utilisation (Paris, 1981).

Ce mode d'obtention présente l'avantage de contourner les dégradations probables induites par la présence d'eau et par les pH acides. En revanche, il manifeste un majeur inconvénient qui est le manque sélectivité des solvants. Mais le problème de toxicité reste le majeur inconvénient (Bekhechi *et al.*, 2008).

I. 2. 8. 5. Extraction par micro-ondes

C'est une technique récente développée dans le but d'extraire des produits naturels comparables aux huiles essentielles et aux extraits aromatiques. Dans cette méthode, la plante est chauffée par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle. Les molécules volatiles sont entraînées dans le mélange azéotropique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée (Menge *et al.*, 1993). Ce chauffage, en vaporisant l'eau contenue dans les glandes oléifères, crée à l'intérieur de ces dernières une pression qui brise les parois végétales et se libère ainsi en huile (Figure 4).

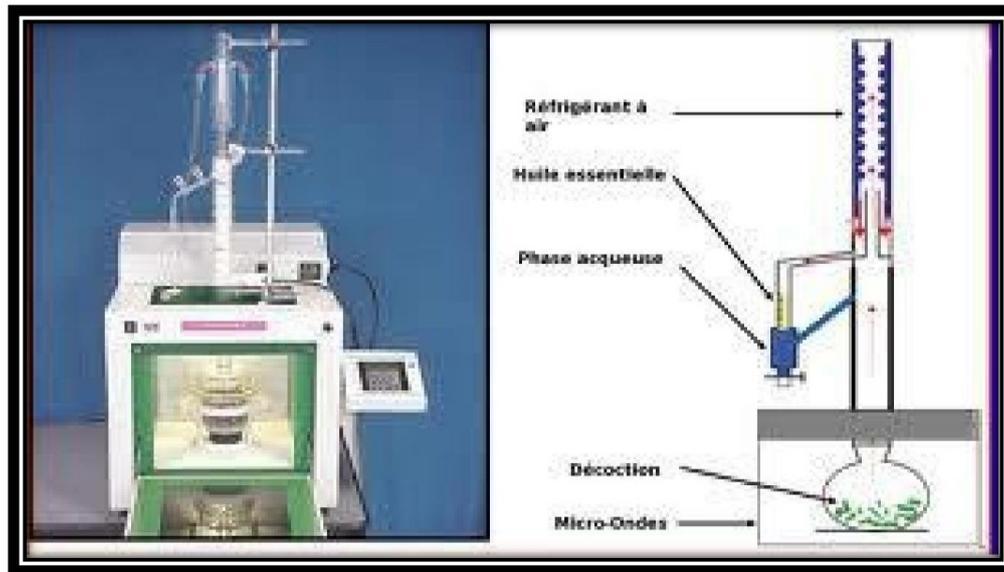


Fig.4: Montage d'une distillation par micro-ondes.

I. 3. *Rosmarinus officinalis*

I. 3.1. Généralités

Le romarin du latin *Rosmarinus officinalis* (rose de mer) est une plante condimentaire et médicinale. Elle est originaire des régions méditerranéennes. Ainsi, on la considère parmi les plantes les plus répandues en Algérie. Elle préfère les lieux secs et arides, exposés au soleil. Cette plante est un sous-arbrisseau aromatique, appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, et antimicrobiennes. Le romarin est largement utilisé dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle (Boudjada, 1996).

Le mot Romarin (*Rosmarinus*) dérive du latin; « *Ros* »: rosée, et « *Marinus* »: marin ou de marin (Athamena, 2009).

I.3. 2. Classification botanique de *Rosmarinus officinalis* L.

Selon Cronquist (1988), *Rosmarinus officinalis* est classée comme suit:

Règne	: Plantae
Sous-règne	: Tracheobionta
Embranchement	: Magnoliophyta
Classe	: Magnoliopsida
Ordre	: Lamiales
Famille	: Lamiaceae
Genre	: <i>Rosmarinus</i>
Espèce	: <i>Rosmarinus officinalis</i> L.

I. 3.3. Description botanique

D'après Coste (1937), le Romarin est une plante commune à l'état sauvage, est l'une des plantes les plus populaires en Algérie. C'est un arbrisseau toujours vert, de 50 cm à 2 m, très aromatique et très rameux. La tige ligneuse est couverte d'une écorce grisâtre et se divise en de nombreux rameaux opposés. Les feuilles sont sessiles, linéaires, opposées, persistantes et coriaces, enroulées sur les bords. Les feuilles de *Rosmarinus officinalis* sont de couleur verte sombre luisante à la face supérieure et blanchâtre en dessous. (Rameau et Dumé, 2008). Zermane (2010), note que la floraison commence dès les mois de janvier- février et se poursuit jusqu'en avril – mai.

Les fleurs sont réunies au sommet des rameaux, de couleurs bleues pâles à blanchâtre, pratiquement sessiles, disposées en petites grappes axillaires et terminales. Elles sont bractées tomenteuses lancéolées. Le fruit ovoïde est entouré par un calice persistant, sec est constitué de quatre akènes (tétrakène). Il attire les insectes entomophiles pour assurer la pollinisation (Figure 5).



Fig.5: *Rosmarinus officinalis* (Rhayour, 2002).

I.3.5.Répartition géographique

L'aire géographique du Romarin est spécifiquement méditerranéenne. Ainsi, il est répandu dans les pays européens à savoir la France, l'Espagne, et le Portugal. De l'autre côté du Gibraltar, on le retrouve au Maroc en Algérie, en Tunisie et en Libye. On le trouve sur les sols calcaires (Halal, 2010).

I. 3.6. Composition chimique des extraits végétaux du Romarin

I. 3.6. 1 Huile essentielle

Elle représente 1 à 2% de la plante. Sa composition ainsi que sa concentration en ces composés dépendent fortement des chémotypes (Bousbia ,2011).

La composition de l'huile essentielle du Romarin est mentionnée dans le tableau 1.

Tableau 1: Composition de l'huile essentielle du Romarin

Monoterpènes	Acycliques	Myrcène Linalol
	Monocycliques	Terpinéol-4 α -terpinéol Cinéole Limonène
	Aromatiques	P-cymène
	Bicycliques	α -pinène Camphène Verbénone Camphre Bornéole Acétate de bomyle
Sesquiterpènes		Caryophyllène Humulène

I. 3.6.2. Les composés phénoliques

I. 3.6.2.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques présents dans le romarin et à des teneurs importantes sont l'acide rosmarinique, l'acide caféique et l'acide vanéllique (Zoubeidi, 2004).

I. 3.6.2.2. Flavonoïdes

Plus de dix flavonoïdes sont isolés et identifiés dans le romarin. La plupart d'entre eux sont des dérivés de flavones dont l'apéginine, le genkwanine, le 6-méthoxy genkwanine etc (Zaghad, 2009).

I. 3.6.2.3. Diterpènes

Actuellement, plus de douze diterpènes sont isolés et identifiés dans le romarin, comme le carnosol et le rosmanol.

I. 3.7. Propriétés biologiques et pharmacologiques

Rosmarinus officinalis a fait l'objet de plusieurs études validant ses effets hépatoprotecteurs (Sotelo-Félix et al., 2002), antibactériens (Gachkar et al., 2007), anti thrombotique (Yamamoto et al., 2005), antiulcéreux (Dias et al., 2000), diurétique (Haloui et al., 2007), antioxydant (Bakiral et al., 2008), anti nociceptique (González-Trujano et al., 2007) et anti-inflammatoire (Alvinier et al., 2007). Les extraits du *Rosmarinus officinalis* L. sont utilisés également pour traiter quelques désordres psychologiques comme la dépression (Heinrich et al., 2006). Il est également insecticide (Pavela, 2006), et anti parasitaire (Moon et al., 2000).

L'administration de l'huile essentielle du romarin par voie orale et inhalation stimule l'activité respiratoire et locomotrice du système nerveux central chez la souris, suggérant une action directe d'un ou plusieurs de ses constituants.

I. 3.8. Usage du romarin

Selon Bousbia (2011), les extraits végétaux du Romarin ont plusieurs usages.

I. 3.8.1. Phytothérapie

On peut citer son usage par voie interne et par voie externe.

I. 3.8.1.1. Voie externe

Pour les traitements externes tels que les entorses, les foulures, les contusions, et les torticolis, on emploie les sommités infusées dans de l'alcool. L'extrait alcoolique lui-même agit sur les ulcères, les plaies, et les dermatoses parasitaires. L'huile essentielle du Romarin soulage les troubles rhumatismaux et de la circulation sanguine. Ainsi, elle soigne les blessures, soulage les maux de tête, améliore la mémoire et la concentration, fortifie les convalescents, combat les effets du stress et de la fatigue, et traite l'inflammation des voies respiratoires.

I. 3.8.1.2. Voie interne

Le romarin est un stimulant, antispasmodique et cholagogue. On l'indique pour ses qualités

stimulantes dans les dyspepsies atoniques, les fermentations intestinales, les asthénies, le surmenage, et les états adynamiques des fièvres typhoïdes, et de la grippe. En sa qualité d'antispasmodique, il est bénéfique dans le catarrhe chronique des bronches, la coqueluche, et les vomissements nerveux. C'est un bon cholagogue utilisé dans les cholécystites chroniques, certaines ascites et cirrhoses, les ictères. Aussi, il est considéré comme un emménagogue (aménorrhée dysménorrhée), un diurétique (hydropisies), un anti-VIH, et anti-cancer.

I. 3.8.2. Parfumerie et cosmétique :

Selon Martini (2011), le romarin entre dans la composition de parfums surtout les parfums masculins, les eaux de Cologne, ainsi que dans la formulation des pommades dermiques. Grâce à la capacité de stimulation des terminaisons nerveuses cutanées, le romarin est employé comme tonique dans des bains moussants, et comme liniment pour muscles fatigués à une dose de 1 à 2%. Il a des propriétés dermo-purifiantes qui permettent son utilisation dans la préparation de déodorants, et en lotion et shampoing.

I. 3.8.3. Industrie agro-alimentaire :

Les extraits végétaux du romarin présentent un pouvoir antioxydant important et peuvent être appliqués à la conservation des aliments et des huiles lipidiques. Ces propriétés sont dues aux acides polyphénoliques (rosmarinique, caféique) (Zoubeidi, 2004).

I. 4. *Ruta graveolens* :

I. 4.1. Généralités

Ruta graveolens L. est une plante vivace ornementale, d'origine méditerranéenne. Elle est présente dans les lieux secs et rocailloux. Elle est utilisée depuis longtemps pour des usages thérapeutiques et culinaires; en tant qu'épice (Pline, 1999). Mioulane, (2004) mentionne qu'il s'agit d'un sous-arbrisseau très ramifié. Les fleurs et le feuillage aromatiques sont le principal attrait de cette plante.

Ruta graveolens; graveolens vient du latin «gravis» qui signifie fort et du verbe «olere» qui veut dire sentir, donc odeur forte et désagréable (Doerper, 2008). Appelée aussi rue-officinale, rue-puante, rue fétide, rue des jardins, et également péganion (Le moine, 2001). Ainsi, cette espèce est appelée vulgairement Fidjen (Abdulbasset et al, 2008).

I. 4.2. Classification

Selon Bonnier (1999) et Wiart (2006), *Ruta graveolens* est classé comme suit:

Règne	: Plantae
Sous règne	: Tracheobionta
Super division	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Classe	: Magnoliopsida
Sous classe	: Rosidae
Ordre	: Sapindales
Famille	: Rutaceae
Genre	: Ruta
Espèce	: <i>Ruta graveolens</i> L.

I. 4.3. Description

Selon Bernardet (2007) et Zhila et *al.*, (2008), *Ruta graveolens* ou Rue fétide est une plante de la famille des Rutacées, qui exhale une forte odeur et un goût âcre et amer, dus à son huile volatile .C'est un sous- arbrisseau de 0,5 à 1 m de haut, très ramifié et ligneux à la base. Satige est dure, ferme, rameuse et verdâtre. Elle porte des feuilles découpées en segments oblongs, pétiolées, alternées et persistantes, de couleur vert glauque. Les fleurs sont terminales petites, de couleur jaune. Elles sont distribuées en cymes avec la fleur terminale pentamère et les autres fleurs tétramères, qui apparaissent entre la période s'étalant entre mai et aout .Les fruits sont des follicules à graines noires (Figure, 6).



Fig.6:*Ruta graveolens*(Duke et al,2008).

I. 4.4. Répartition géographique

La rue fétide est une espèce méditerranéenne, relativement commune dans toute l'Algérie septentrionale, au nord-est de l'Afrique, au sud de l'Europe et au sud-ouest de l'Asie (Baba aissa, 1999). Selon Mioulane (2004), cette plante fréquente les lieux stériles des provinces méridionales, les endroits secs et ensoleillés, les pentes rocheuses, et les prairies sèches. Elle est aussi cultivée dans les jardins.

I. 4.5. Composition chimique des extraits végétaux de *Ruta graveolens*

I. 4.5.1. Les Huiles essentielles

Elles sont constituées de 0,4 à 1,2% des composants chimiques de *Ruta graveolens*. Les principaux constituants sont la nonan-2-one (méthylheptylcétone) ou la undécan-2-one. Les autres constituants sont l'acétate de 2-nonyl et l'acétate de 2-undécyl accompagnés de décan-2-one, de propionate de 2-undécyl, d'isobutyrate de 2-nonyl, du 2-méthylbutyrate de 2-nonyl, de prégeiérène, d'acide hexadécanique et de curcuphénol (Lièvre et al., 2005).

I. 4.5.2. Les furanocoumarines

On peut noter le bergaptène, le psoralène, la xanthotoxine accompagnés de dérivés prénylés comme la chalepensine et le 5-géranyloxypsoralène.

I. 4.5.3. Les dihydrofuranocoumarines

On note principalement la rutarine et son glucoside.

I. 4.5.4. Les coumarines

On a les dérivés hydroxycoumarine comme la coumarine, la gravelliférone, la rutacultine, l'ombelliférone, la 8-méthoxygravelliférone, accompagnés également d'hydroxycoumarine dimère comme la daphnorétine et son glucoside.

I. 4.5.5. Les pyranocoumarines

On a le xanthylétine.

I. 4.5.6. Les flavonoïdes

Parmi ces composés on a la rutine.

I. 4.5.7. Les alcaloïdes

A ce niveau, on parle de fagarine, et d'arborine (Eberhard *et al.*, 2005).

I. 4.6. Activité biologique

La Rue fétide est une ancienne plante médicinale connue pour ses propriétés emménagogues, alexitère, carminative, sudorifique et anti-hystérique, anthelminthique et insecticide (Guettez-Pajares *et al.*, 2003). Des études ont montré que le composant de *Ruta graveolens* (flavonoïdes: rutine) a une action inhibitrice sur le PAF (Platelet Activating Factor), agent ulcérogène potentiel. Il peut influencer la réduction des dommages gastro-intestinaux. Ainsi, les furanocoumarines sont utilisées contre les maladies de peau telles que le psoriasis et le vitiligo et les désordres cutanés dus aux lymphocytes T (Pathak *et Fitzpatrick*, 1992).

I. 4.7. Utilisation

Plante ornementale des jardins, la rue est considérée comme mellifère. Sa présence éloigne les vipères et repousse les insectes (Le Moine, 2001).

La rue est plante ornementale des jardins, et considérée comme mellifère et sa présence éloigne les vipères. Elle repousse les insectes (Le Moine, 2001), et utilisée en :

I. 4.7.1. Médecine naturelle

Elle est utilisée contre les coliques, les troubles rhumatismaux et les troubles menstruels. Elle peut apporter un soulagement rapide en cas d'inflammation des yeux, de maux d'oreilles, d'affectations cutanées et de rhumatismes (Bernardet, 2007).

I. 4.7. 2. La cuisine

On utilise dans des sauces et pour aromatiser le gibier ou le fromage blanc, mais en petite quantité. C'est un condiment prisé des Anglo-Saxons. Elle entre dans la préparation d'un beurre aux herbes et la fabrication du vinaigre de rue. Elle aromatise aussi certaines boissons alcoolisées (Bilderbach, 2007).

**MATERIELS ET
METHODES**

II. Matériel et méthodes

Ce présent travail a pour but d'étudier l'effet des l'huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Ruta graveolens* sur la croissants des microorganismes.

La présent étude s'est étalé sur deux mois, du mois d'Avril jusqu'à la fin du moi de mai. La partie expérimentale est réalisée au niveau du laboratoire de Biotechnologie Microbienne(BTM) du département de Biologie de la Faculté des Sciences.

II.1. Matériel utilisé

II.1.1. Matériel biologique

II.1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles sèches et broyées de *Rosmarinus officinalis* récoltées dans la région de Blida (Maktaa Lazrek) et des sommitées fleuries de *Ruta graveolens* (El hamdania) durant le moins d'Avril 2016.

II.1.1.2. Microorganismes testés

II.1.1.2.1. *Staphylococcus aureus* :

Les staphylocoques sont des cocci à gram positif qui tendent à grouper en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (Dworkinet *al.*,2006). *Staphylococcus aureus* est un germe aérobic - anaérobic facultatif (Hennekineet *al.*,2003), d'où son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies. Il tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales. Ainsi, il possède une coagulasse, ce qui le distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques. La bactérie est très répandue chez l'Homme et dans de nombreuses espèces animales. Chez l'Homme, environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui ont la bactérie au niveau des muqueuses et des zones cutanées humides. Il développe rapidement des résistances aux antibiotiques et les souches hospitalières ne sont souvent sensibles qu'aux glyco-peptides (Dworkin et *al.*, 2006).

II.1.1.2.2. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM)

Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM) communautaires sont principalement responsables d'infections cutané-muqueuses (surinfections de plaies, abcès, furoncles) et touchent des personnes jeunes en bonne santé.

II.1.1.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Le genre *Pseudomonas* est un bacille à Gram négative, aérobic strict, mobiles. Il appartient à la famille des *Pseudomonadaceae*. *Pseudomonas aeruginosa* ou bacille pyocyannique se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ses colonies (Nauciel, 2000). C'est une bactérie ubiquiste qui vit normalement à l'état de saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux. Cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'Homme et des divers animaux. Considéré comme une bactérie pathogène opportuniste c'est le germe-type des infections hospitalières (Avril *et al.*, 2000).

II.1.1.2.4. *Escherichia coli*

Escherichia coli appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont des bacilles à Gram négative, aéro-anaérobies facultatifs qui peuvent fermenter les nitrates. Ces bactéries sont catalase positives et ne possèdent pas d'oxydase (Le Minor *et al.*, 1990). Elles font parties de la flore commensale de l'Homme et des animaux à sang chaud (Euzéby, 2011). *Escherichia coli* a la particularité de coloniser le tractus gastro-intestinal dans les premières heures de la vie et il représente près de 80% de la microflore aérobie (Ghebru, 1988; Nataro et Kaper, 1998; Vernozy-Rozand et Montet, 2001).

II.1.1.2.5. *Bacillus subtilis*

La bactérie *Bacillus subtilis* est « l'espèce type » du genre et la bactérie Gram-positif la plus étudiée (Kunst *et Ogasawara*, 1997). En réponse à des conditions défavorables, ces bactéries ont donc la capacité de former par enkystement des endospores métaboliquement inactives et qui peuvent survivre sous cette forme plusieurs millions d'années (Nicholson *et al.*, 2000). Les spores résistent efficacement à de nombreuses perturbations environnementales comme des traitements thermiques à plus de 140°C, et à un manque de nutriments. Elles sont en outre capables de germer même après de longues périodes de dormance (Nicholson *et al.*, 2000).

Ces spores représentent une préoccupation majeure des industries alimentaires, car elles sont responsables de détérioration d'aliments et de toxi-infections alimentaires en raison de leurs hautes résistances aux procédés de conservation des aliments.

II.1.1.2.6. *Candida albicans*

Candida albicans est une levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes (Ezekowit et al., 1991). Ainsi, elle se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (Kabha et al., 1995), tout en formant des colonies blanches crémeuses. *Candida albicans* appartient à la flore commensale des individus sains. Chez l'Homme, cette levure constitue un sérieux problème de santé, notamment chez des patients immunodéprimés et ceux sous thérapies immunosuppressives (Stahl et Ezekowitz, 1998).

II.1.2. Matériel non biologique

Pour effectuer cette étude, on a utilisé les verreries, et les appareillages, et aussi un ensemble des réactifs et des produits chimiques nous en servit. Ce matériel est donné au niveau de l'annexe 1.

II.2. Méthodologie

II.2.1. Procédé d'extraction

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par la méthode d'hydrodistillation.

II.2.1.1. Principe de l'extraction des huiles essentielles (M.O.C. SN. 001)

L'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* et *Ruta graveolens* a été extraite au niveau du laboratoire des substances naturelles au Centre de Recherche et de Développement du Groupe SAIDAL à l'échelle laboratoire par le procédé de l'hydrodistillation. Cette technique est basée sur l'immersion d'un échantillon solide (végétal) dans l'eau portée à ébullition, la vapeur saturée d'huiles essentielles traverse un serpentin ou elle se condense pour donner le distillat qui est composé de l'eau florale et de l'huile essentielle (Figure, 7).



Fig.7: Dispositif de l'hydrodistillation à l'échelle du laboratoire - Appareil Clevenger- (SAIDAL, 2016).

II.2.1.2.Mode opératoire

Dans un ballon d'une capacité de 2 litres, on introduit 100 g de matière végétale découpée. Puis, on ajoute un volume d'eau qui correspond à 2/3 de la capacité du ballon. Ensuite, on adapte le ballon à l'appareil de condensation et on alimente le réfrigérant en eau. Ainsi, le ballon et son contenu sont mis sur un chauffe-ballon.

Les huiles essentielles entraînées par les vapeurs d'eau générées dans le ballon sont dirigées vers le col de cygne (le coude) qui relie le ballon au réfrigérant. Enfin le distillat est récupéré dans un erlenmeyer recouvert d'un papier aluminium pour le protéger de la lumière. On le conserve au réfrigérateur. L'extraction des huiles essentielles dure plus de 2 heures.

II.2.1.3. Décantation de l'huile essentielle (M.O.C. SN. 005)

Le distillat récupéré comporte deux phases, une phase majoritaire qui contient les constituants hydrosolubles, sur laquelle surnagent quelques gouttes d'huile essentielle représentant la deuxième phase.

L'huile essentielle est séparée de l'eau par une série d'extraction liquide-liquide, avec le solvant organique (Ether diéthylique).

L'opération de décantation a été effectuée à l'aide d'une ampoule à décanter, dans laquelle on verse le mélange des deux phases. Par la suite, on laisse le mélange hétérogène décanter jusqu'à l'obtention de deux phases distinctes ; la phase supérieure dite organique comporte l'huile essentielle et la phase inférieure qui correspond à la phase aqueuse.

A la fin, on filtre la phase organique à l'aide d'un papier filtre qui contient le sel de sulfate de sodium anhydre, et ce afin de piéger les molécules d'eau restante.

La phase organique est récupérée dans un tube, qu'on laisse à l'air libre pendant 24 à 48 h pour l'évaporation complète du solvant.

L'huile essentielle est conservée dans des flacons bruns hermétiquement fermés.

II.2.1.4. Détermination du rendement d'extraction

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle (R_{HE}) est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après l'extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M).

Le rendement est exprimé en pourcentage, il est donné par la formule suivante :

$$R_{HE} (\%) = M'/M \times 100$$

R_{HE} : Rendement en huile essentielle en %.

M' : Masse d'huile essentielle en gramme.

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

II.2.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de la *Rosmaeinus officinalis* et de la *Ruta graveolens*, on a utilisé la méthode de diffusion sur milieu gélosé (Muller Hinton).

II.2.2.1.Principe

Selon Fauchère et Avril(2002), l'aromatogramme est une méthode qui se réalise in vitro. Elle est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale appelée antibiogramme ou méthode de disque ou méthode par diffusion en milieu gélosé. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotique testés ,de s'appliquer à un très grand nombre d'espèce bactérienne, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale.

II.2.2.2.Protocol expérimental

On a opté pour le protocole suivant:

II.2.2.2.1.Méthode de dilution

Une quantité convenable de l'huile a été diluée dans le Dimethyl sulfoxyde (DMSO), selon le protocole de dilution suivant :

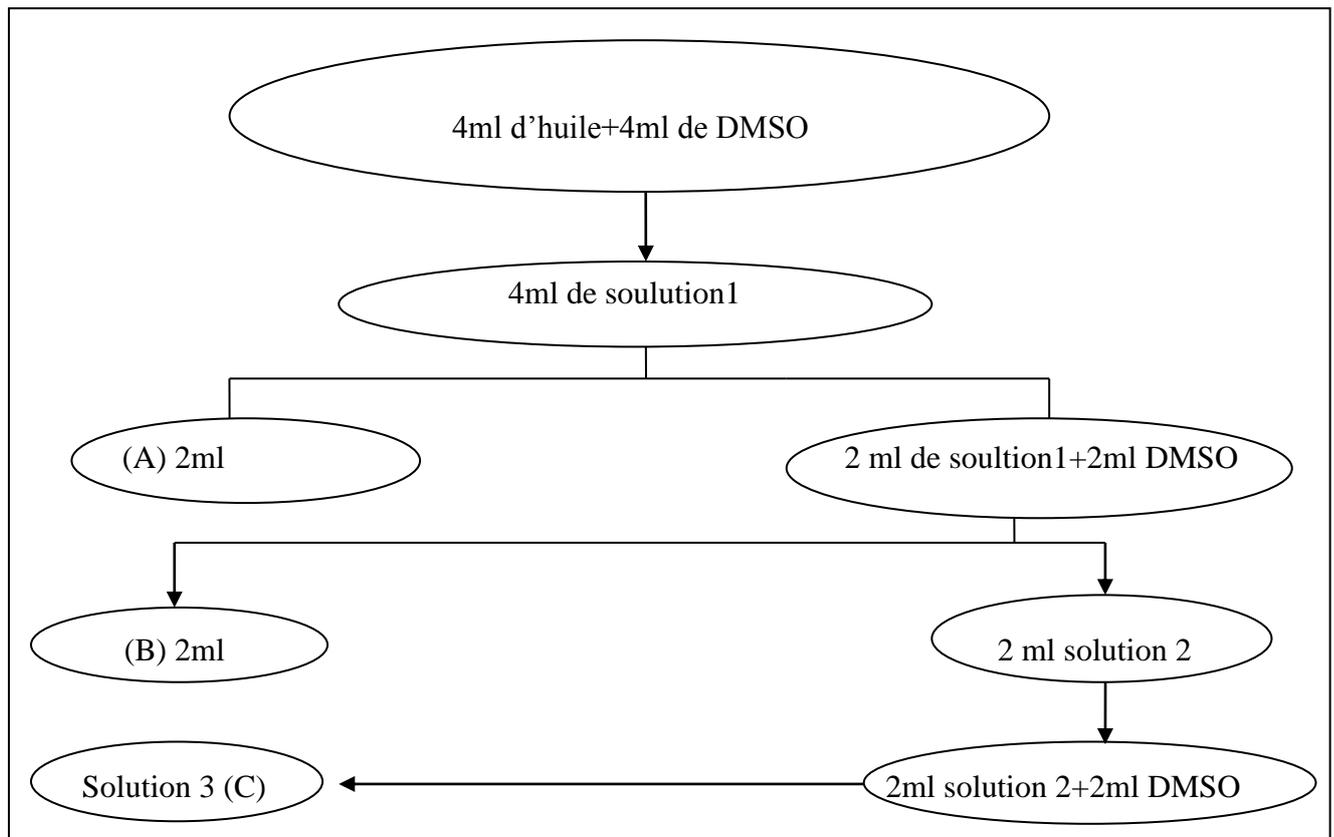


Fig. 8: Protocole de dilution des huiles de *Rosmarinus officinalis* et de *Ruta graveolens*

II.2.2.2.2. AntibioGramme

- **Revivification et repiquage des souches**

La revivification des souches microbiennes est réalisée par la méthode des stries. Ces derniers sont alors revivifiés à partir des tubes de conservation sur milieu gélose nutritive pour les bactéries et sur milieu Sabouraud pour les levures. Les cultures sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 30°C pendant 48h pour les levures. Puis les bactéries étudiées sont repiquées dans les mêmes conditions.

- **Préparation de l'inoculum**

On prépare l'inoculum à partir d'une culture jeune de 24 h pour les bactéries et 24 à 48 h pour les levures. Pour cela, on réalise des suspensions microbiennes en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées, qu'on dépose dans 10 ml d'eau physiologique à 0,9% de NaCl. Puis, on assure une bonne agitation. On réalise une première lecture de la suspension à l'aide d'un spectrophotomètre en estimant l'absorbance à une longueur d'onde de 625 nm. L'absorbance doit être comprise entre 0,08 et 0,1 pour ces microorganismes.

- **Préparation des milieux de culture**

Cette étape consiste à liquéfier les milieux gélosés; Muller Hulton et Sabouraud. On coule aseptiquement les milieux dans des boîtes de Pétri. L'épaisseur des milieux est de 2 mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi.

- **Ensemencement**

Les boîtes de Pétri stériles préalablement coulées. Elles sont ensemencées par écouvillonnage à l'aide d'un écouvillon stérile en tournant la boîte d'environ 60°, de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries sur les milieux. A fin de mieux apprécier la lecture des zones d'inhibition trois essais sont effectués pour chaque huile.

- **Préparation des disques**

Une fois le milieu est solidifié, il sera déposé à l'aide d'une pince stérile à la surface du milieu ensemencé par la souche à tester dans les boîtes de Pétri par des disques de papier Wattman de dont le diamètre est de 6 mm. Ces disques sont ensuite imbibés de 20µl de l'huile pour

chaque dilution (A, B, C). Ainsi, un disque témoin stérile est déposé sur les boîtes ensemencées tout en ajoutant 20 µl de DMSO. Pour la dilution (A), il s'agit de 1/2. Tandis que pour la dilution (B), on a la dilution 1/4. Alors que pour la dilution C, il s'agit de 1/8.

- **Incubation**

Les boîtes sont mises à températures de laboratoire pendant 30mn à 1 heure pour assurer la diffusion des huiles testées dans le milieu ensemencé. Puis, on incube les souches bactériennes à l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 30°C pendant 24 à 48 heures pour les levures. Les substances diffusent dans le milieu à partir des disques selon un gradient de concentration jusqu'à une limite où sa concentration est la plus faible, déterminant ainsi des zones d'inhibition.

- **Lecture des résultats**

Selon Djenane et *al.*, (2012), La lecture des résultats se fait après le temps d'incubation par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse ou une règle graduée en millimètre. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible à l'huile essentielle. La valeur du diamètre de la zone d'inhibition retient la moyenne des trois essais. La moyenne arithmétique (\bar{X}). Ainsi, l'écart-type (S), l'erreur standard de la moyenne ($E.S.M$), la surface d'inhibition (a) et le coefficient d'activité (A) sont calculées par les formules suivantes:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} X_i}{n}$$

$$S = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^{i=n} (X_i - \bar{X})^2}}{n-1}$$

$$E.S.M = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

$$a = \pi \frac{d^2}{4}$$

$$A = \frac{a}{q}$$

Tel que

X_i : Valeur du diamètre calculé.

n : Effectif (nombre d'essai).

d : diamètre de zone d'inhibition (mm).

q : la quantité de huile (μl)

Pour interpréter les résultats, on a utilisé l'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne qui est donnée dans le tableau suivant (Tableau, 2).

Tableau 2: lecture des résultats de l'activité antimicrobienne (Djenane et *al.*, 2012) .

Diamètre (mm)	Sensibilité des souches
d < 7	Non sensible ou résistance (-)
8 < d < 14	Sensible(+)
15 < d < 19	Très sensible (++)
d > 20	Extrêmement sensible (+++)

RESULTATS

III Résultats

III.1. Rendement des huiles essentielles

Pour une seule extraction, le rendement en huile obtenue à partir des feuilles de la plante est représenté dans le tableau 3.

Tableau 3: rendement en % de huile essentielle *Rosmarinus officinalis* et de *Ruta graveolens*

La plante	Masse de La matière végétale(g)	Masse de H.E extraite(g)	Rendement %	Référence %
<i>Rosmarinus officinalis</i>	100	0,75	0,75	0,5-2
<i>Ruta graveolens</i>	100	0,68	0,68	0,5-2

III. 2. Résultats du test du pouvoir antimicrobien

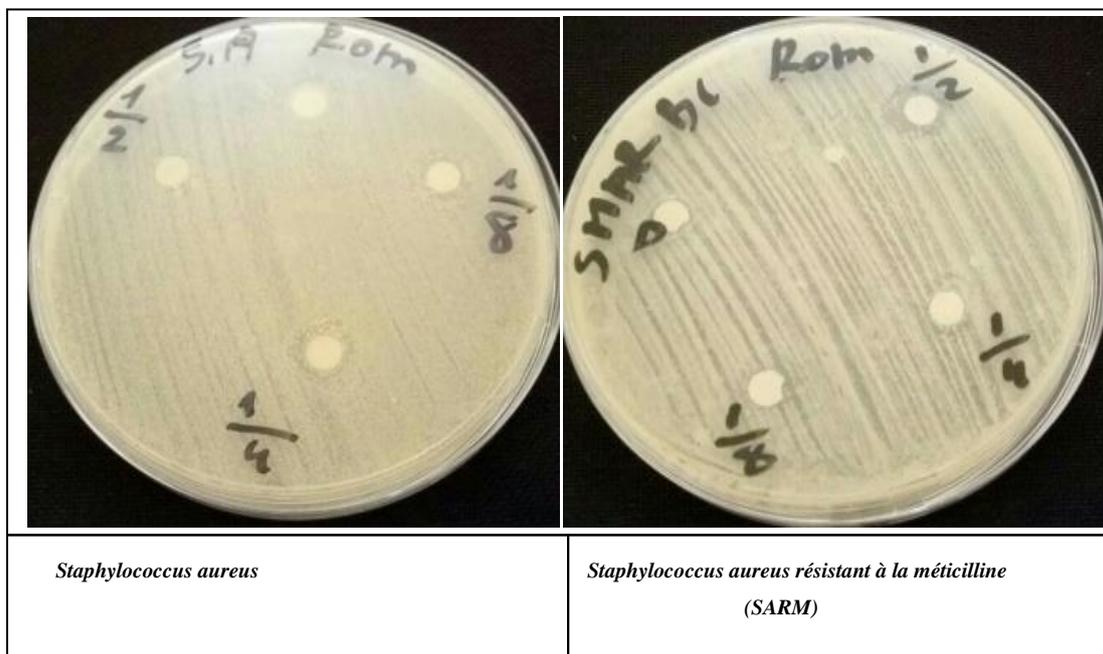
On a étudié in vitro le pouvoir antibactérien des huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis*, et de *Ruta graveolens* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle est estimée en terme de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les produits à tester vis-à-vis de six germes pathogènes à savoir *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29312), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Candida albicans* (ATCC 10231), *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) (43300ATCC) après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C.

III. 2.1. Activité antimicrobienne d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

Les résultats de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* sur les souches microbiennes sont présentés dans les tableaux suivants:

Tableau4: Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

Microorganismes	Nombre d'essai	Témoïn DMSO	Moyennes			Surface d'inhibition (cm ²)			Coefficient d'activité(A)(cm ²)/μl		
			A	B	C						
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	-	11±0,1	10±0,02	8,9±0,02	9,4	7,8	6,2	0,47	0,39	0,31
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline (SARM)	3	-	10±0	9±0,20	7±0	7,8	6,3	3,8	0,39	0,31	0,19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	-	11,6±0,02	10,3±0,0	8,8±0,42	10,5	8,3	6	0,52	0,41	0,3
<i>Escherichia coli</i>	3	-	10,6±0,02	9,5±0,02	8,1±0,01	8,8	7	5,1	0,44	0,35	0,25
<i>Bacillus Subtilis</i>	3	-	12±0	10±0,04	8,5±0,04	11,3	7,8	5,6	0,56	0,39	0,28
<i>Candida albicans</i>	3	-	14,6±0,02	12,8±0,01	10,3±0,02	16,7	12,8	8,3	0,83	0,64	0,41



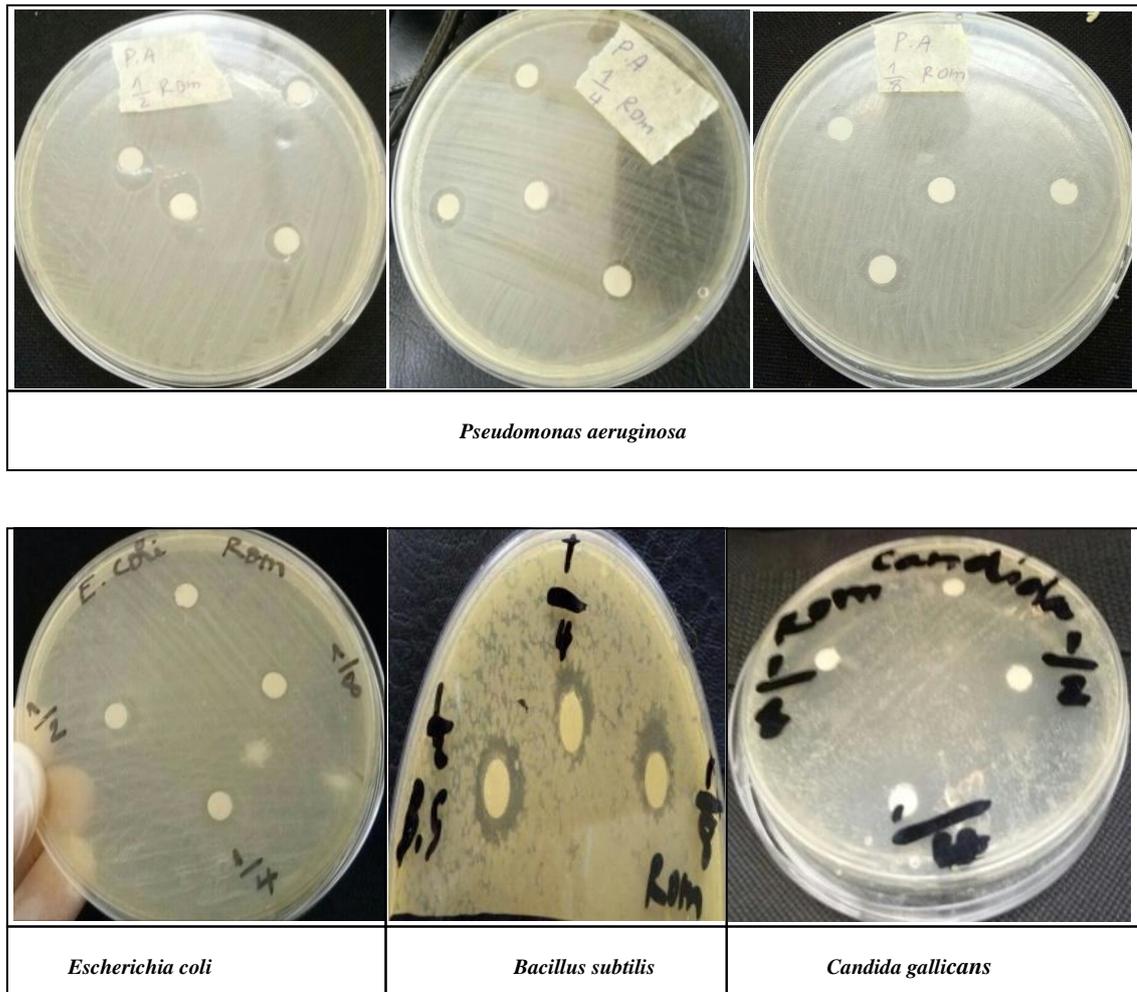


Fig.9 : les résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du Romarin

Selon les résultats de l'effet de l'huile essentielle du romarin sur la croissance des microorganismes testés, on constate que le diamètre de la zone d'inhibition est de $14,6 \pm 0,02$ pour *Candida albicans*, de $12 \pm 0,00$ pour *Bacillus subtilis*, de $11,6 \pm 0,02$ pour *Pseudomonas aeruginosa*, de $11 \pm 0,1$ pour *Staphylococcus aureus*, de $10,6 \pm 0,02$ pour *Escherichia coli*, et de $10 \pm 0,00$ pour *Staphylococcus aureus* résistant à la métiline(SARM). Ces souches sont sensibles à l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

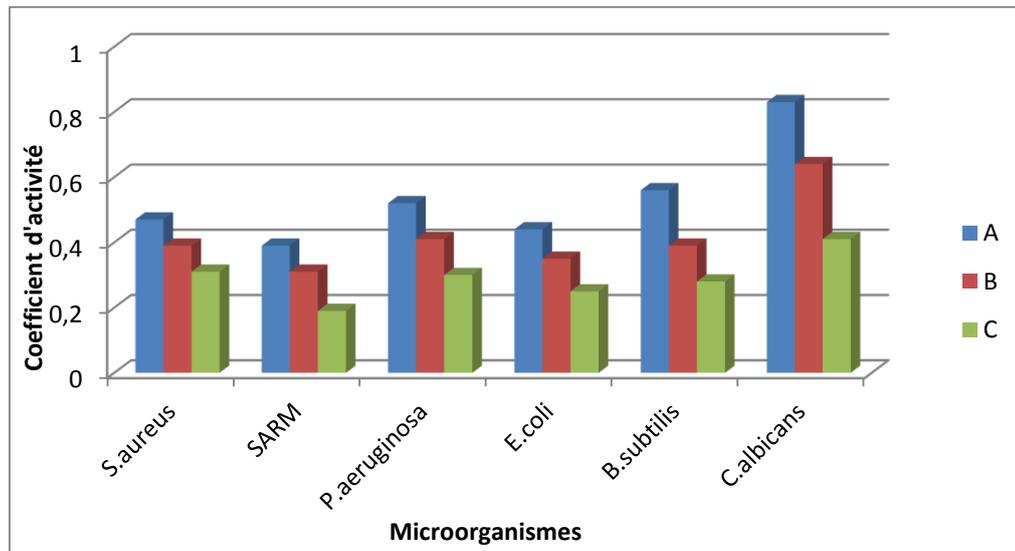


Fig.10 : Histogramme représente le coefficient d'activité d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* sur les microorganismes testés.

D'après les résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, la plus grande valeur du coefficient d'activité est observée chez la levure *Candida albicans*, soit $0,83 \text{ cm}^2/\mu\text{l}$. Elle est de $0,56 \text{ cm}^2/\mu\text{l}$ pour le *Bacillus subtilis*, de $0,52 \text{ cm}^2/\mu\text{l}$ pour *Pseudomonas aeruginosa*, de $0,47 \text{ cm}^2/\mu\text{l}$ pour *Staphylococcus aureus*, de $0,44 \text{ cm}^2/\mu\text{l}$ pour *Escherichia coli*. Tandis que la valeur de la souche *Staphylococcus aureus* résistant à la mêticilline présente que $0,39 \text{ cm}^2/\mu\text{l}$.

III. 2 .1.1. L'activité antimicrobienne des dilutions de *Rosmarinus officinalis*

Les résultats portant sur l'effet de l'huile du romarin sur les différentes souches microbiennes en fonction des dilutions sont donnés dans les figures 11, 12, 13, 14, 15, 16.

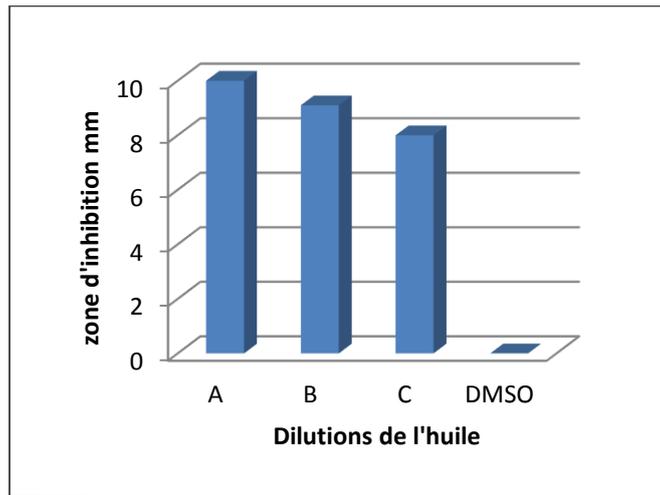


Fig. 11 : Effet de l'huile du romarin sur *Staphylococcus aureus* en fonction des dilutions

Staphylococcus aureus donne un diamètre de zone d'inhibition de 11 mm avec la dilution 1/2 et 10 mm avec la dilution 1/4, et 8,9 mm avec la dilution 1/8. Donc *Staphylococcus aureus* est sensible pour toutes les dilutions de l'huile de *Romarin*.

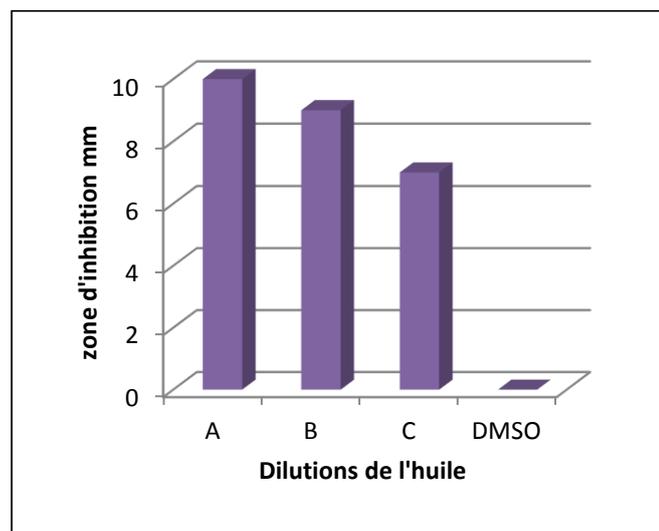


Fig. 12 : Effet de l'huile du romarin sur *Staphylococcus aureus* résistance à la méticilline en fonction des dilutions

Staphylococcus aureus résistance à la méticilline donne un diamètre de zone d'inhibition de 10 mm avec la dilution 1/2, 9 mm avec la dilution 1/4, et 7 mm avec la dilution 1/8. Donc, *Staphylococcus aureus* résistance à la méticilline est sensible pour les dilutions 1/2, 1/4. Alors qu'elle est résistante pour le dilution 1/8 de l'huile du Romarin.

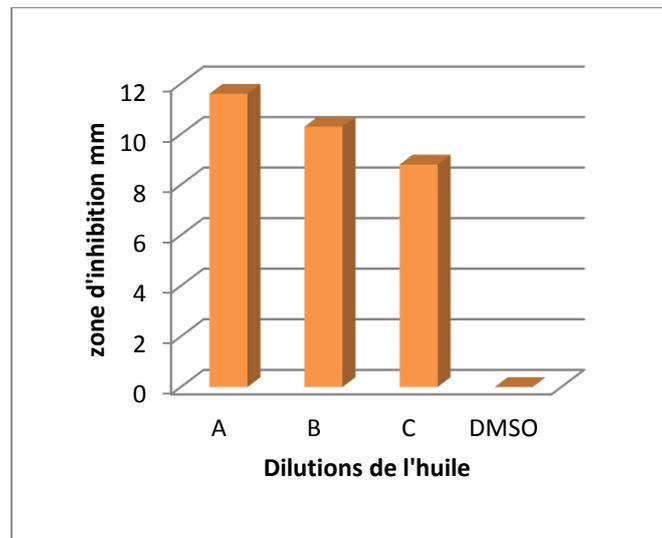


Fig. 13: Effet de l'huile du romarin sur *Pseudomonas aeruginosa* en fonction des dilutions

Pseudomonas aeruginosa donne un diamètre de zone d'inhibition de 11,6 mm avec la dilution 1/2, 10,3 mm avec la dilution 1/4, et 8,8 mm avec la dilution 1/8. Donc *Pseudomonas aeruginosa* est sensible pour toutes les dilutions de l'huile du Romarin.

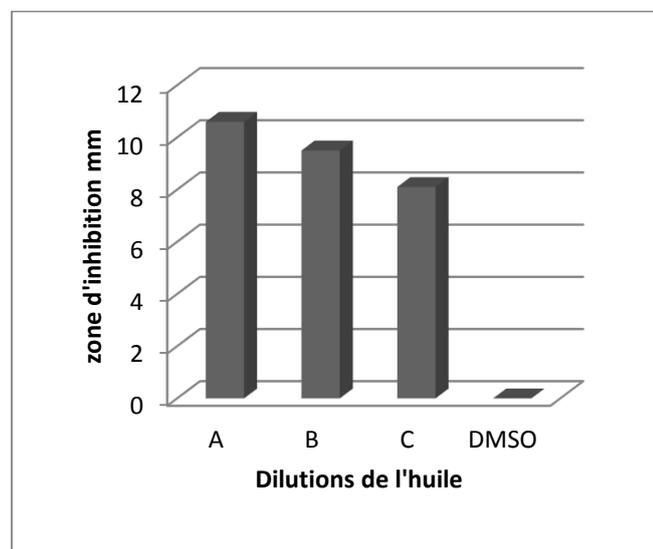


Fig.14 : Effet de l'huile du romarin sur *Escherichia coli* en fonction des dilutions

Escherichia coli donne un diamètre de zone d'inhibition de 10,6 mm avec la dilution 1/2, 9,5 mm avec la dilution 1/4, et 8,1 mm avec la dilution 1/8. Donc *Escherichia coli* est sensible pour toutes les dilutions de l'huile du Romarin.

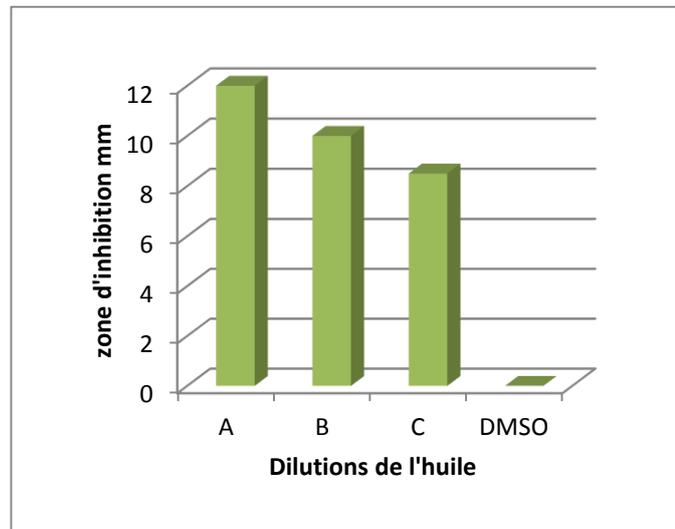


Fig. 15 : Effet de l'huile du romarin sur *Bacillus subtilis* en fonction des dilutions

Bacillus subtilis présente un diamètre de zone d'inhibition de 12 mm avec la dilution 1/2, et 10 mm avec la dilution 1/4, et 8,5 mm avec la dilution 1/8. De ce fait, *Bacillus subtilis* est sensible pour toutes les dilutions de l'huile du Romarin.

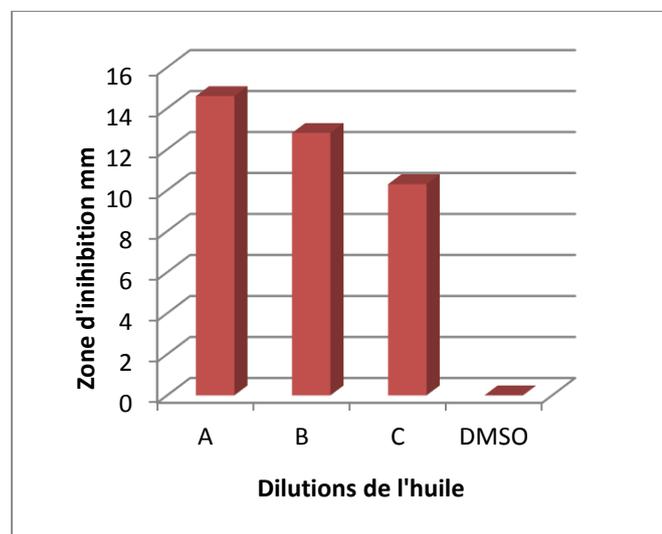


Fig. 16: Effet de l'huile du romarin sur *Candida albicans* en fonction des dilutions

Candida albicans donne un diamètre de zone d'inhibition de 14,6 mm avec la dilution 1/2, 12,8 mm avec la dilution 1/4, et 10,3 mm avec la dilution 1/8. Donc *Candida albicans* est la plus sensible pour toutes les dilutions de l'huile de Romarin .

III. 2 .2. Activité antimicrobienne d'huile essentielle de *Ruta graveleons*

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Ruta graveleon* sur les souches microbiennes sont présentés dans les tableaux suivants:

Tableau5: Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Ruta graveleons*

Microorganismes	Nombre d'essai	Témoin DMSO	Moyennes			Surface D'inhibition (cm ²)			Coefficient d'activité(A) (cm ²)/µl		
			A	B	C						
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	-	9,6±0,02	8,1±0,01	7,6±0,04	7,2	5,1	4,5	0,36	0,25	0,22
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline (SARM)	3	-	10,5±0,02	9±0	7,8±0,01	8,6	6,3	4,7	0,43	0,31	0,23
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	-	10,8±0,02	10±0,01	9,8±0,01	9,1	7,8	7,5	0,45	0,39	0,37
<i>Escherichia coli</i>	3	-	10±0,01	9,6±0,01	8,1±0,01	7,8	7,5	5,1	0,39	0,37	0,25
<i>Bacillus subtilis</i>	3	-	11,1±0,01	9,8±0,03	9±0	9,6	7,5	6,3	0,48	0,37	0,31
<i>Candida albicans</i>	3	-	13±0	11,8±0,02	11±0	12,3	10,9	9,4	0,61	0,54	0,47



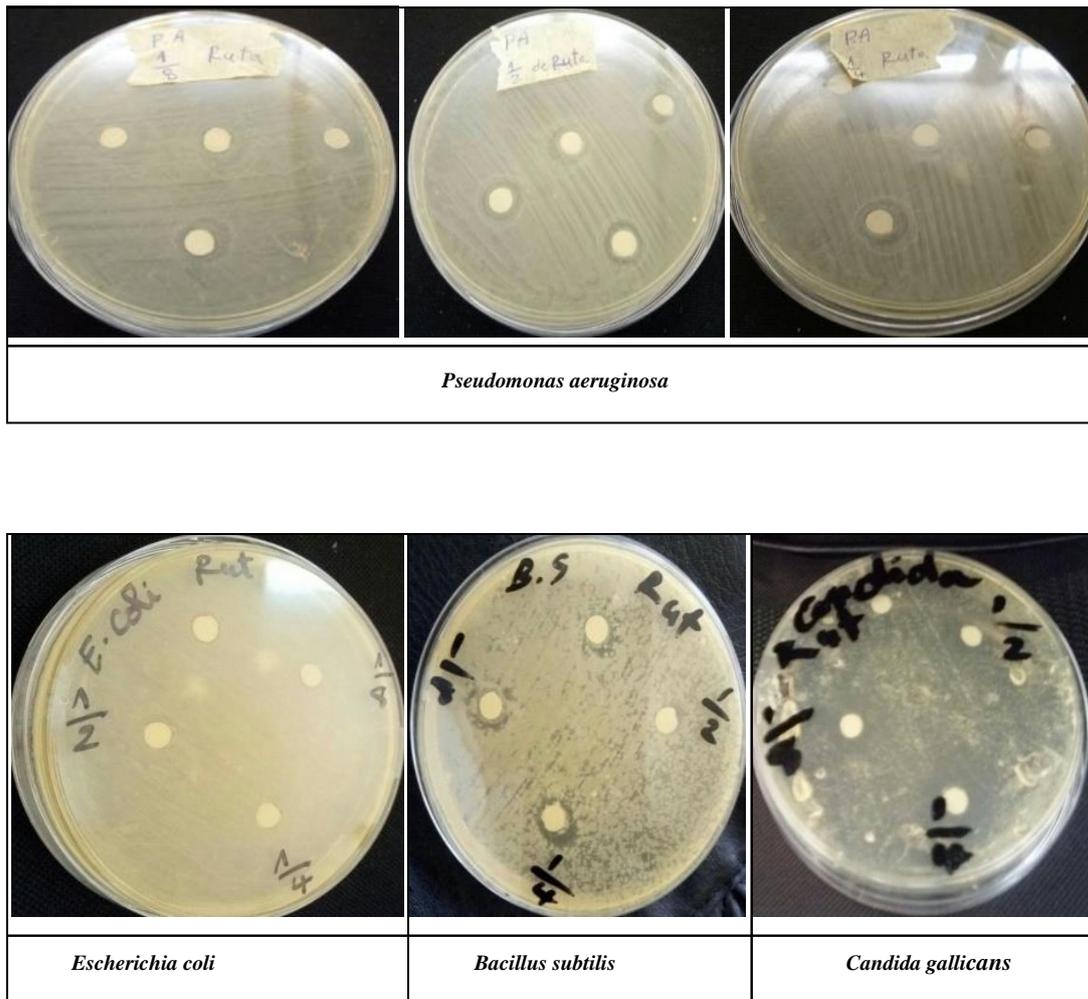


Fig.17 : les résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du Romarin

Selon les résultats sur l'effet de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* sur la croissance des microorganismes testés, on constate que le diamètre de la zone d'inhibition est de $13 \pm 0,0$ pour *Candida albicans*, de $11,1 \pm 0,01$ pour *Bacillus subtilis*, de $10,8 \pm 0,02$ pour *Pseudomonas aeruginosa*, de $10,5 \pm 0,02$ pour *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), de $10 \pm 0,01$ pour *Escherichia coli*, et de $9,6 \pm 0,023$ *Staphylococcus aureus*. De ce fait, ces microorganismes sont sensibles à l'huile essentielle de la *Ruta graveolens*.

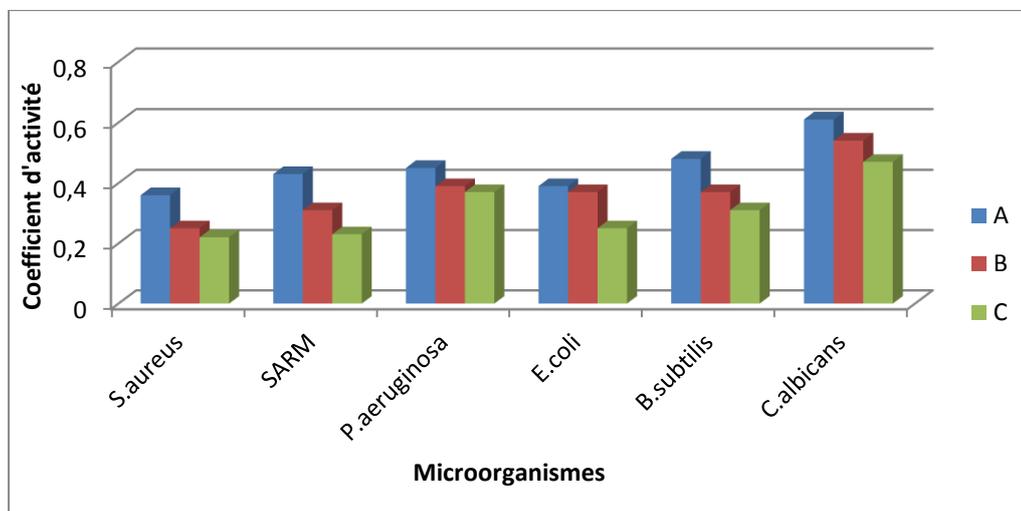


Fig. 18: Histogramme représente le coefficient d'activité antimicrobienne d'huile essentielle de *Ruta graveleons* sur les microorganismes testés.

Selon les résultats obtenue, la plus grand valeur du coefficient d'activité est observé chez *Candida albicans* à de $0,61\text{cm}^2/\mu\text{l}$, de $0,48\text{cm}^2/\mu\text{l}$ pour *Bacillus subtilis*, de $0,45\text{cm}^2/\mu\text{l}$ pour *Pseudomonas aeruginosa*, de $0,41\text{cm}^2/\mu\text{l}$ pour *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline, de $0,39\text{cm}^2/\mu\text{l}$ pour *Escherichia coli*. Tandis que *Staphylococcus aureus* présente une valeur de $0,36\text{cm}^2/\mu\text{l}$.

III. 2 .1.2. L'activité antimicrobienne des dilutions de *Ruta graveleons*

Les résultats portant sur l'effet de l'huile du *Ruta graveolens* sur les différentes souches microbiennes sont donnés dans les figures 19, 20, 21, 22, 23, 24.

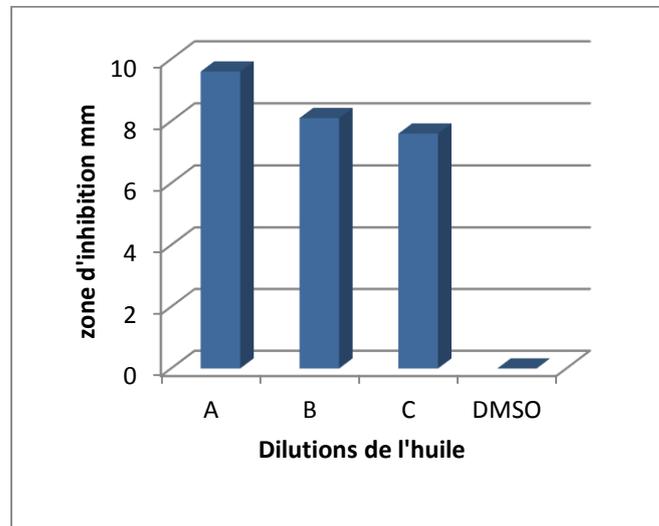
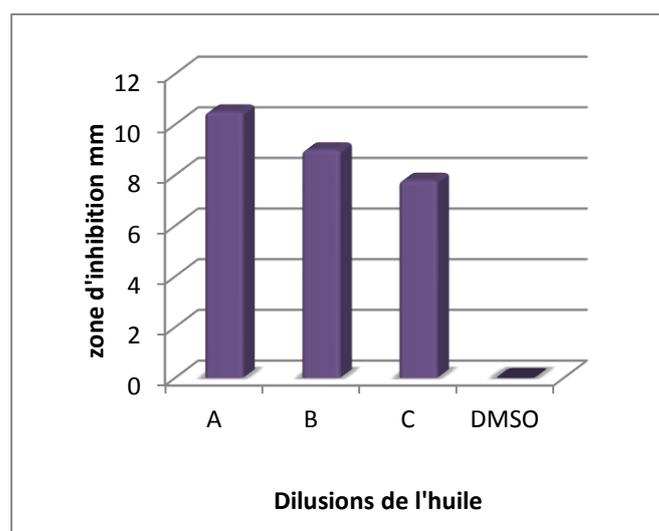


Fig.19 : Effet de l'huile du *Ruta graveolens* sur *Staphylococcus aureus* en fonction des dilutions.

Staphylococcus aureus donne un diamètre de zone d'inhibition de 9,6 mm avec la dilution 1/2, 8,1 mm avec la dilution 1/4, et 7,6 mm avec la dilution 1/8. Donc *Staphylococcus aureus* est sensible pour les dilutions 1/2, et 1/4, et moins sensible pour la dilution 1/8 de l'huile essentielle de *Ruta graveolens*.



20: Effet de l'huile du *Ruta graveolens* sur *Staphylococcus aureus* résistance à la méticilline (SARM) en fonction des dilutions.

Staphylococcus aureus résistance à la méticilline donne un diamètre de zone d'inhibition de 10,5 mm avec la dilution 1/2, 9 mm avec la dilution 1/4, et 7,8 mm avec la dilution 1/8. Donc *Staphylococcus aureus* résistance à la méticilline est sensible pour toutes les dilutions de l'huile de *Ruta graveolens*.

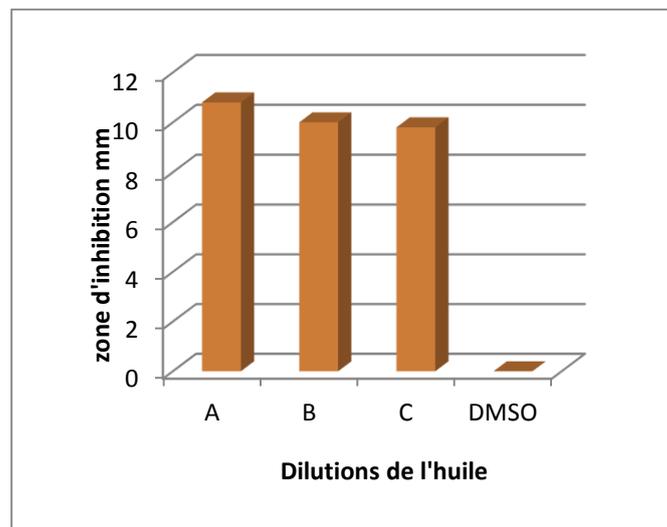


Fig.21: Effet de l'huile du *Ruta graveolens* sur *Pseudomonas aeruginosa* en fonction des dilutions.

Pseudomonas aeruginosa présente un diamètre de zone d'inhibition de 10,8 mm avec la dilution 1/2, 10 mm avec la dilution 1/4, et 9,8 mm avec la dilution 1/8. De ce fait *Pseudomonas aeruginosa* est sensible pour toutes les dilutions de l'huile de *Ruta graveolens*.

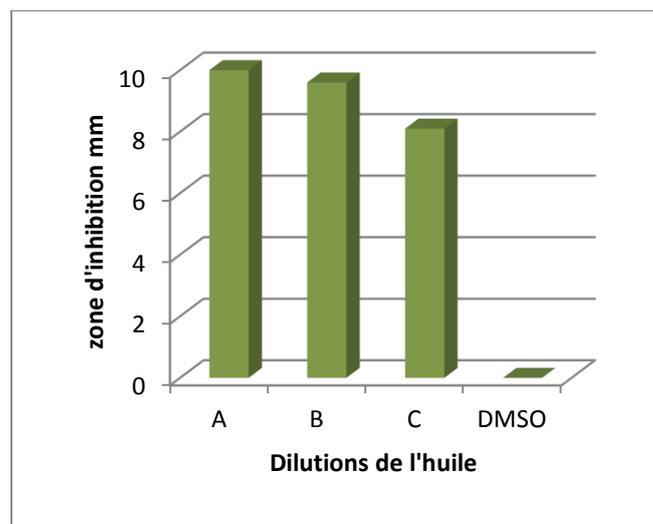


Fig.22: Effet de du *Ruta graveolens* sur *Escherichia coli* en fonction des dilutions.

Escherichia coli donne un diamètre de zone d'inhibition de 10 mm avec la dilution 1/2, 9,6 mm avec la dilution 1/4, et 8,1 mm avec la dilution 1/8. Donc *Escherichia coli* est sensible pour toutes les dilutions de l'huile de *Ruta graveolens*.

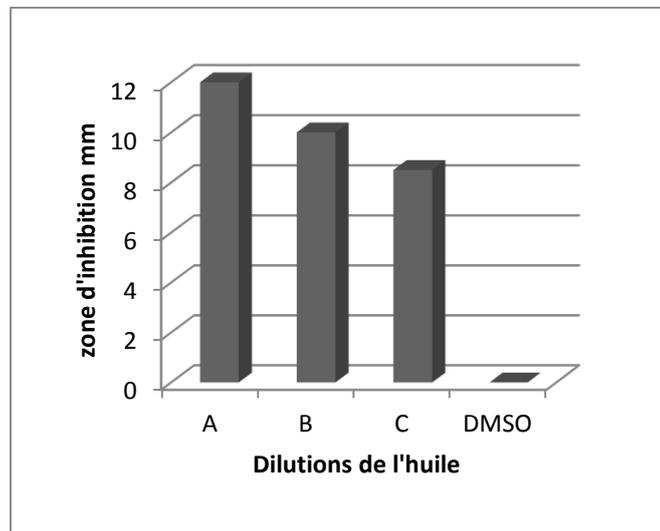


Fig.23: Effet de l'huile du *Ruta graveolens* sur *Bacillus subtilis* en fonction des dilutions.

Bacillus subtilis donne un diamètre de zone d'inhibition de 11,1 mm avec la dilution 1/2, 9,8 mm avec la dilution 1/4, et 9 mm avec la dilution 1/8. Donc *Bacillus subtilis* est sensible pour toutes les dilutions de l'huile de *Ruta graveolens*.

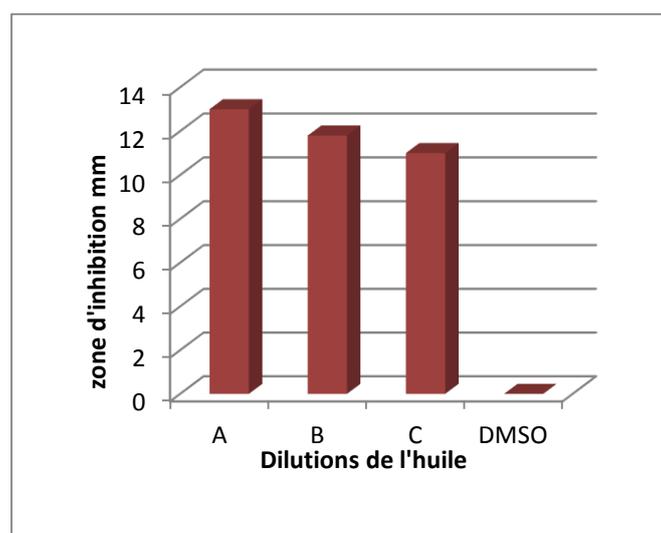


Fig.24: Effet de l'huile du *Ruta graveolens* sur *Candida albicans* en fonction des dilutions.

Candida albicans présente un diamètre de zone d'inhibition de 13 mm avec la dilution 1/2, 11,8 mm avec la dilution 1/4, et 11 mm avec la dilution 1/8. Donc *Candida albicans* est la plus sensible pour toutes les dilutions de l'huile de *Ruta graveolens*.

DISCUSSION

IV. Discussion

IV.1. Rendement de deux huiles essentielles

On a obtenu un rendement en huiles essentielles de 0,75% pour le romarin et 0,68% pour *Ruta graveolens*. Ces valeurs sont conformes aux normes AFNOR (0,5-2). Cela peut être due aux différents facteurs qui rentrent en jeu, parmi eux on cite la nature du sol, la période de la récolte, la durée de séchage, le mode d'extraction. (zabeirou et Hachimou , 2005).

IV .2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'analyse et l'interprétation des résultats de l'effet des l'huiles essentielles sur la croissance des différentes souches microbiennes testées, montrent que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* et de *Ruta graveolens* possèdent une activité antimicrobienne contre les bactéries Gram+ et Gram- et contre la levure.

Skocibusic et al. (2006) et Sharififar et al. (2007), affirment que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est due à la présence des alcools à longues chaînes et des composés phénols qui inhibent la croissance des bactéries.

D'après les résultats, on remarque que l'huile essentielle du romarin possède une activité antibactérienne et antifongique, dont la souche la plus sensible est *Candida albicans*. Alors que la souche la moins sensible est *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline.

Selon Griffin et al (1999), Davidson et Naidu (2000), les terpénoides et les phénylpropanoides développent leur action contre les bactéries grâce à l'interaction avec la membrane cellulaire.

Selon plusieurs travaux notamment ceux de Bouguerra et Zeghou(2009) Derwich et al.,(2010) et Bari et al.,(2010),on remarque une grande sensibilité des bactéries Gram(+) rapport aux Gram(-) pour les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*.

Selon Ayadi et al.,(2011), l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* possèdent un effet antibactérien surtout sur les souches bactériennes à Gram positif. Ces auteurs ont confirmé la grande résistante des bactéries Gram(-) par rapport aux bactéries Gram(+).Ce constat peut être du à l'action de certains composés volatiles de l'huile essentielle étudiée d'une part, et à la présence d'une couche de lipopolysaccharide (LPS)chez les bactéries Gram(-) qui pourrait fonctionner comme barrière efficace.

Selon Conner et Beuchat(2000), l'action des huiles essentielles contre les levures peut vraisemblablement être le résultat de l'affaiblissement des processus enzymatique impliqués dans la production énergétique et la synthèse des ses composants structuraux.

Ainsi, ce qui confirme la forte sensibilité de *Candida albicans* envers l'huile essentielle du Romarin lors de cette étude se traduit par l'apparition d'une grande zone d'inhibition. De même, Lopez et al.(2005) rapportent que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a une activité inhibitrice vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Candida albicans*, ce qui ne fait que confirmer les résultats de la présente étude.

D'après les résultats, on remarque que l'huile essentielle de *Ruta graveolens* possède une activité antibactérienne et antifongique, dont la souche la plus sensible est *Candida albicans* et la moins sensible est *Staphylococcus aureus*.

Selon Bayoud et al., (2007), les huiles essentielles de *Ruta graveolens* ont une bonne activité antimicrobienne contre les bactéries Gram(+), et les bactéries Gram(-)

Selon Nogueira et al., (2008), les souches de *Candida albicans* sont inhibées par l'huile essentielle de *Ruta graveolens*. Ce qui confirme la forte sensibilité de *Candida albicans* envers l'huile essentielle de *Ruta graveolens* lors de ce travail. Ceci se traduit par l'apparition d'une grande zone d'inhibition.

Le *Pseudomonas aeruginosa* s'avère plus sensible à l'huile essentielle de *Ruta graveolens*, malgré quelle est Gram négatif. Il est postulé que les différents composants des huiles essentielles montrent différente degré d'activité des bactéries Gram+ et des bactéries Gram- (Dorman et Deans, 2000). Ainsi, la composition chimique des huiles essentielles peut varier selon plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques (Lahlou, 2004).

Selon Pibiri (2006), le coefficient d'activité est défini par la surface d'inhibition par rapport à la quantité d'huile testé. Donc, ce coefficient est lié relativement avec le diamètre de zone d'inhibition. Plus que la surface d'inhibition est très importante, plus le coefficient d'activité est grande.

Pour l'huile essentielle du romarin, la souche *Candida albicans* à un surface d'inhibition très important égal à 16,7 cm², et une valeur de coefficient d'activité égal 0,83 cm²/μl. Tandis que pour la souche *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, la surface d'inhibition est très petite soit 7,8 cm², et la valeur du coefficient d'activité égal à 0,39 cm²/μl. Cependant pour l'huile essentielle de *Ruta graveolens*, la souche *Candida albicans* à un surface d'inhibition importante avec 12,3 cm², et une valeur de coefficient d'activité égal à 0,61 cm²/μl. Alors que pour la souche *Staphylococcus aureus* la surface d'inhibition est très petite soit 7,2 cm². Ainsi, la valeur du coefficient d'activité est de 0,36 cm²/μl. De ce fait, il y a une relation proportionnelle entre la surface d'inhibition et le coefficient d'activité.

A la lumière des résultats obtenus on peut dire que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, et l'huile essentielle de *Ruta graveolens* présentent un effet antimicrobien considérable vis-à-vis des souches microbiennes testées.

CONCLUSION

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Dans ce travail, on a entrepris une étude sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* récoltée à El maktaa lazrek (Blida), et de *Ruta graveolens* récupérée à El hamdania (Blida).

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par hydrodistillation. La valeur du rendement en huile essentielle de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* est de 0,75%, et de *Ruta graveolens* est de 0,68.

L'étude de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion des disques pour les deux substances a montré des résultats intéressants vis-à-vis de microorganismes testés.

Les résultats recueillis sur cinq souches bactériennes, et une levure lors de l'étude quantitative et qualitative de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du Romarin, et l'huile essentielle de *Ruta graveolens* ont montré que ces huiles possèdent une bonne activité antimicrobienne surtout sur *Candida albicans*, et le *Bacillus Subtilis* avec un degré de sensibilité variables.

Il est à mentionner que pour toutes les souches testées à la dilution 1/2, et à la dilution 1/4 de l'huile essentielle du Romarin et de *Ruta graveolens*, on remarque une sensibilité intéressante. Alors que pour la dilution 1/8, on a une certaine résistance.

Pour le Romarin, la plus grande valeur de diamètre de la zone d'inhibition est enregistrée chez *Candida albicans* soit $14,6 \pm 0,02$ mm. Tandis que le plus faible diamètre de la zone d'inhibition est celui de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) avec 10 ± 0 mm.

Pour les dilutions 1/2, 1/4, et 1/8 de l'huile essentielle du Romarin la bactérie la plus sensible est *Bacillus Subtilis*. Cependant la bactérie la moins sensible est *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM).

Pour *Ruta graveolens*, la plus grande valeur du diamètre de la zone d'inhibition est remarquée chez *Candida albicans* soit 13 ± 0 mm. Tandis que le plus faible diamètre de la zone d'inhibition est celui de *Staphylococcus aureus* qui est de $9,6 \pm 0,02$ mm.

Pour les dilutions 1/2, 1/4, et 1/8 de l'huile essentielle de *Ruta graveolens*, la bactérie la plus sensible est *Bacillus Subtilis*. Alors que la bactérie la moins sensible est *Staphylococcus aureus*.

Enfin, les résultats obtenus sur l'activité antimicrobienne a permis de justifier l'utilisation traditionnelle de extraits végétaux de deux plantes choisies.

PERSPECTIVE

Perspectives

- Explorer d'autres activités biologiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* et *Ruta graveolens*.
- Elargir de la gamme des micro-organismes et d'étudier leur comportement vis-à-vis de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* et *Ruta graveolens*.
- L'étude in vivo est souhaitable, pour affirmer l'efficacité de l'huile essentielle de ces deux plantes aromatiques et médicinales.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Les références bibliographiques

1. Abdel basset M.E. et Abdel tawab A.H., 2008- Médicinal Herba Guide. Ed. Alfa – Publishing : 428 -429.
2. AFNOR Association Francaise de Normalisation, 1986, Recueil de norme française « Huiles essentielles » paris, AFNOR NF T 75 – 006.
3. Alvinier G., Sosa S., Aquino R.P., Mancheron T., Loggia R.D. et Tubaro A., 2007- Caractérisation of tropical anti-inflammatoire compounds in *Romarins officinales* L. J. Agaric. Food Che, (55): 23–171.
4. Alzoreky N.S. et Nakahara K., 2003- International Journal of Food Microbiology, (80): 223-230.
5. Alzoreky N.S. et Nakahara K., 2003- International Journal of Food Microbiology, (80) : 223-230.
6. Anonym II: Small field., 2001- Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. Crop and Food Research. Number 45, 4p.
7. Athamena S., 2009 - Etude quantitative des flavonoïdes des graines de Cuminum et les feuilles de Romarins officinales et l'évaluation de l'activité biologique. Mémoire de magistère, université d'Elhaj Lakhdar de Batna, p. 30.
8. Attou A., 2011- L'étude photochimique et activités biologiques des extraits de la plante du genre Ruta. Mémoire de magister en Science de la Nature et de la Vie, UABBT., Tlemcen : 3-25.
9. Avril J.L., Dabernat H., Denis F. et Monteil H., 2000 - Bactériologie clinique. 3ème Edition. Ellipses, Paris, 602 p.
10. Ayadi S ., Jerribi . et Abderrabba M., 2011- Extraction et études des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* cueillie dans trois régions différents de la Tunisie .Unité de recherche physico-chimique moléculaire .IPFST boite postale , la marsa Tunisie , p.51.
11. Baba Aissa F., 1999- Encyclopédie des Plantes Utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb. Ed. Librairie Moderne., Rouïba: 243 -244.
12. Bahorum T., 1997- Substances naturelles actives : La flore Mauricienne, Une Source D'approvisionnement Potentielle, AMAS. Food and Agricultural Research Council Scientific Correspondence.

13. Bakirel T.U., Keles O.U., Ulgen S.G. et Yardibi H.,2008-*In vivo* sassement of antidiabetic and antioxydant activities of Rosemary (*Romarinus officinales*) in allouant-diabétique rabbis. J. Ethnopharmacologie, (116) : 64 –73.
14. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. et Idaomar M., 2008 – Biological effects of essential oils .A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2) : 446-475.
15. Bari M.A., Islam W., Khan A.R. and Mandal A., 2010- Antibacteriel and antifungal activity of *Solanum torvum* (Solanaceae). *Int. J. Agric. Biol.*, (12): 386-390.
16. Bayoud B., Djilani S.E., Legseir B., Ouahrani M.R.et Djilani A., 2007 - Antibacterial Activity of Ethanol Extracts and Total Alkaloids of *Datura stramonium* and *Ruta graveolens*. J. Life Sci , 1 (1) :78-81.
17. Bekhechi C ., Atik-Bekkara F .et Abdelouahi D.E., 2008 – Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'origanum glandulosom d'Algérie – Phytothérapie.Vol 6 :153-159.
18. Benzie I.F.et Strain J.J., 1996 - The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, (239): 70-76.
19. Bernard M., 2007-Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles.Ed. Angles, 449.p.
20. Bilderback L., 2007 - Spices and Herbs. Ed. Alpha Books: 177-178.
21. Bonnier G., 1999 - La Grande Flore en Couleur. Ed. Belin et Tome, (3): 205 -206.
22. Boudjda S., 1996 – Connaissance avec le Romarin. La foret algérienne, n°1, 37p.
23. Bouguerra A et Zeghou K ., 2009 - Etude des activités antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle extrais des fleurs sèches de *lavandula officinalis* . Mémoire d'ingénieur .INATAA, Université Mentouri Constantine, 46p.
24. Bousbia N., 2011- Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. Thèse de doctorat , université d'Avignon et des Pays de Vaucluse et Ecole Nationale Supérieure Agronomique ,181. p.
25. Bruneton J., 1999 - Pharmacognosie. Phytochimie des plantes médicinales. Technique et documentation 2^{ème} édition .Lavoisier(France) ,915 p.
26. Bruneton J., 2009 – Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales 4^{ème} ed., revue et augmentée, Paris France : Tec & Doc, Editions médicinales internationales, 1288p.

27. Conner D.E. et Beuchat L.R., 2000- Effect of essential oil from plants of food spoilage yeast. *J. Food Sci.*, (49): 429-434.
28. Coste H., 1937 - Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes. Second Tirage, Paris – Librairie des Sciences et des Arts. 807 p.
29. Cowan M.M.,1999 - Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinicalbiology Reviews* . *Creek Rush Growers Catalog* 2010,12(4): 564-582.
30. Cronquist A., 1988 – The Evolution and Classification of Flowering Plants. Ed. The New York Botanical Garden, New York, 123 p.
31. Dafferera D.J., Ziogaz B. et Polissiou M., 2003- The effectiveness of plant essential oil on the growth of *Botrytis cineria*, *Fusarium sp* and *Clavibacter michiganesis*. *J. Crop et Prot*,(2) :39- 40.
32. Davidson P.M . et Naidu A.S., 2000- Phyto-phenols, Natural Food Antimicrobial Systems.Ed.CRC,Press: 265-293.
33. Degryse A.C., Delpla I .et Voinier M.A., 2008 – Risques et bénéfices possible des huiles essentielles. *Atelier santé environnement –IGS- EHESP* , 87p.
34. Derwich E., Benziane Z. et Boukir A., 2010 - GC/MS Analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* grown in Morocco . *Res.J .Agric . Biol. Sci* , 6 (3):191-198.
35. Deysson G., 1979 -*Organisation et classification des plantes vasculaires. Tomes II, (en deux parties), Soc. d'édi. et d'Ens. Sup., Paris*, 385-540 p.
36. Dias P.C., Folio M.A., Posent A .et Carvalho J.E.,2000- Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extracts of *Romarinus officinales* L.J. *Ethnopharmacologie*,(69): 57– 62.
37. Djenane D., Yanguela J., Derviche F., Bouras L. et Roncales P., 2012- Utilisation des composés des feuilles d'olivier comme agents antimicrobienne : application pour la conservation de viande fraîche de dinde, *Revue 'Nature et technologie*,(7) :53 - 61.
38. Doerper S., 2008- Modification de la synthèse des furo-Coumarines chez *Ruta graveolens* L. par une approche de génie métabolique. Thèse de Nancy, Université INRA : 12 -34.
39. Dorman H.J.et Deans S.G., 2000 - Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J.Appl. Microbial* , (88) : 308-316.

40. Duke A.J., Duke P.A.K. et Duceille J.L., 2008 - Duke's Handbook of Medicinal Plants of the Bible. Ed. CRC Press, p: 394 – 397.
41. Duquenois P., 1968 – L'utilisation des huiles essentielles en pharmacie, leur normalisation et l'europe du médicament. Part.Cosm. Sov , (11) : 414-418.
42. Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schkeufer K.H .and Stackebrandt E ., 2006 - The Prokaryotes: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. 3eme éd. ;Springer, New-York.Vol 4, Chap.1.2.1. The genera Staphylococcus and Micrococcus: 4-75.
43. Eberhard T., Robert A. et Annelise L., 2005 - Plantes aromatiques, Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Doc et Tec., Paris, 522.p.
44. Euzéby J. P., (2011). Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire.
45. Ezekowitz R.A., Williams H., Koziel M. Y.,Armstrong A.,Warner F.F. and Richards ., 1991 - Uptake of Pneumocystis carinii mediated by the macrophage mannose receptor. *Nature* ,(351): 155-158.
46. Fauchère J.L. et Avril J.L., 2002 - Bactériologie générale et médicale. Ed. Ellipses Paris, 365.p.
47. Fouché J.G ., Marquet A .et Hambuckers., 2008 – Les plantes médicinales de la plante au médicament: Conception et réalisation.
48. Franchomme et Penoel ., 1990 – Aromatherapy for health professionals Hormonal *essential oils* A few *essential oils* which are hormonal but not neurotoxic .journal of essential oil research.vol 13: 102-112
49. Gachkar L., Yadegari D., Bagher M.R., Taghizadeh M., Staneh S.A. et Rasooli I., 2007-Chemical and biological characteristic of *Cuminum* and *Romarinsofficinales* essential oils. *Food Che*, (102): 898 -904.
50. Ghebru H., 1988 - Contribution à l'étude du pouvoir pathogène des *Escherichia coli*.*Mémoire de maîtrise et Sciences Vétérinaires en Microbiologie Immunologie*. Nantes.
51. González-Trujano M.E., Peña E., Martinez A., Moreno J., Guevara-Fefer P.et Déciga-Campos M.,2007- Evaluation of the antinociceptive effect of *Romarinsofficinales* L. Using three différent expérimental modèles in rodents. *J. Ethnopharmacologie.*, 111: 476–82.

52. Griffin S., Wyllie S., Markham J. L. et Leach D.N - 1999- The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour Fragr.J*, (14): 322-332.
53. Gutierrez –Pajare L. J., Zuniga L. et Pino J., 2003- *Ruta graveolens* aqueous extract retards mouse preimplantation embryo development, *Reproductive Toxicology* 17. Ed. Elsevier: 667 –672.
54. Haloui M., Louedec L., Michel J B. et Lyoussi B., 2007- Expérimentale diuretic effects of *Romarin officinales* and *Centuriums erythraea*. *J.Ethnopharmacol*, (71): 465-72.
55. Heinrich M., Barnes J., Gibbons S. et Williamson E.M., 2006 - *Fundamentals of Pharmacognosy et Phytotherapy*. Ed. inburgh: Churchill Livingstone, p.85.
56. Halal Y., 2010 - Etude et biomasse du Romarin (*Romarin officinales* L.) dans le massif des Béni-Imloul-Aures-Algérie, université de la foresterie, p.71.
57. Hennekine J.A ., Kerouanton A ., Brisabois A.et Buyser M.L., 2003 - Discrimination of *Staphylococcus aureus* biotypes by pulsed-field gel electrophoresis of DNA macro-restriction fragments. *J Appl Microbiol*, (94):321-329.
58. Hernandez-Ochoa L.R ., 2005 – Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combinaison . D'origine végétale. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse. France , p.46 .
59. Julie, C., 1998 -*la belle histoire de bergamote*. Magasine steps.
60. Kabha K.L., Nissimov A., Athamna Y., Keisari H .,Parolis L.A., Parolis R.M., Grue J., Ezekowitz D.E. and Ohman .,1995 - Relationships among capsular structure, phagocytosis, and mouse virulence in *Klebsiella pneumoniae*. *Infectionand immunity* ,(63): 847-852.
61. Keville K. et Green M., 1995 - *Aromatherapy: A complete guide to healing art*, Ed 1: the crossing press; p: 120-140.et la reunion ; p: 14-23.
62. Kunst F.N. et Ogasawara .,1997 - The complete genome sequence of the grampositive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature* ,390(6657): 249-56.
63. Lahlou , 2004- Methods to study photochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research* ,(18) : 435-448 .
64. Le Minor L., Popoff M.Y. et Bockemühl J.,1990 - Supplement 1989 (n. 33) to the Kauffmann-White scheme. *Res Microbiol* , (141) :1173–1177.

65. Le Moine E., 2001 - Les Plantes Aromatiques et Médicinales. Ed. Moliere, Paris, 262 p.
66. Lesley Bremness .,1996- Les plantes aromatiques et médicinales, collection l'œil nature, édition Bordas. Paris, p.67.
67. Lièvre K., Hehn Athi L.M.T., Gravot A., Thomasset B., Bourgaud F. et Goutier E., 2005-Genetic transformation of the medicinal plant *Ruta graveolens* L. by an *Agrobacterium tumefaciens*-mediated, *Plant Science*,168 :883-888.
68. Lopez P., Sanchez C. et Neri C., 2005- Solid and vapor-phase antimicrobial activity of Six essential oils : susceptibilty of selected foodbotne bacterial and fungal strains. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 53, (17): 6963- 6964.
69. Lucchesim E .,2005 - Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-Ondes: Conception et Application à l'Extraction des Huiles Essentielles ; Thèse de Doctorat en Science ; Université d'analyse neveau ,p.82.
70. Madjour S., 2013-Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne d'une labiée *rosmarinus officinales*.Thèse du mémoire, université des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la vie., Biskra, 64 p.
71. Mannj., 1987 -*Secondary metabolism.second édition, Clarendon press, Oxford, 374 p.*
72. Martini M.C., 2011- Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie. Ed. Lavoisier, p.358.
73. Mengel P., Beh D., Bellido G.M .et Monpon B., 1993-VHMD: extraction d'huile essentielle par micro-onde. *Parfums Cosmétique Aromes*, 114 :66-67.
74. Meynadier J.M. et Raison-Peyron N., 1997 – Allergie aux parfums. *Re. Fr. Allergol.*, 37(5): 641-650.
75. Mioulane P., 2004 - Encyclopédie Universelle des 15000 plantes et fleurs de jardins, Larousse. Ed. Protea: 7-50.
76. Moon T., Wilkinson J. et Cavanagh H.M., 2000- Anti parasitic activity of two lavandula essential oils against *Giardia doudenalis*, *Trichomonas vaginalis*, and *Hixamita inflota*. *Parasitol. Res.*, (99): 722 - 8.
77. Nabiev, M., 2006 - *Extraction et analyse de l'huile essentielle de Romarin et formulation d'une pommade antirhumatismale*.II^{eme} Symposium International sur les Plantes Aromatique et Médicinales, Marrakech ,(11) :1231-28.

78. Nataro J. P. et Kaper J. B., 1998 - Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* , (11) :142–201.
79. Nauciel C., 2000 - Bactériologie médicale. Masson .Ed. Paris, 276p.
80. Newman D.J., Cragg G.M .et Snader K.M.,2003 – Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *J. Nat Prod*, 66(7): 1022-1037.
81. Nicholson W.L. et MunakataN.,2000 - Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiology and Molecular BiologyReviews*,64(3): 548-572.
82. Nogueira J. C., Melodiniz M. F.et Lima E. O., 2008 - *In vitro* antimicrobial activity of plants in Acute Otitis Externa. *Bras. Otorinolaringol* , 74 (1) : 118-124.
83. Paris M ., 1981 - Abrégé de matière médicale, pharmacogenosie .,Tom I. Masson.Paris, p.339.
84. Pavela R., 2006- Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Pharmacol*, (76): 699-673.
85. Pibiri M.C., 2006-Assainissement microbiologique de l'air et des système de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat, Institut des infrastructures, des ressources et de l'environnement section d'architecture. Ecole poly technique fédérale de Lausanne, 177p.
86. Pierre de Laroche piquet ., 1999 - La Nature au service de la vie, les essences végétales naturelles , Paris, 2ème édition. Paris ,p.16.
87. Pinchuk I., Shoval H., Dotan Y.et Lichtenberg D., 2012 - Evaluation of antioxidants: Scope,limitations and relevance of assays. *Chemistry and Physics of Lipids* , (165): 638– 647.
88. Pline., 1999 – Lavertue des plantes(Histoire Naturelle, livre XX), Paris.
89. Rachad A., Katim A.L, El Houcine B., Abdelaziz B.E, .Yahia C., 2011 - Toxicity and Psychotropic Activity of Essentials Oils of *Romarinus officinales* and *Lavandula officinales* from Morocco. *Journal of Biological Active Products from Nature*, Vol. 1 (4): 262 -272.
90. Rameau J.C et Dumé G., 2008 - Flore forestière française: Région méditerranéenne. Ed. Forêt privée française, p. 897.
91. Rhayour K., 2002 – Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles. Thèse de doctorat . Université Sidi Mohamed Ben Abdelleh. Fés, Maroc, 170p.

92. Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scagliant M. et Bruni R., 2005- Comparative evaluation of 11 essential oil of different origin as fonctionnel antioxydants, antiradical and antimicrobial in food. *Food chemistry*, (91), p 621- 632.
93. Sharififar ., Moska M .H .,Mansouri S. H., Khodashenas M .et Khoshnoodi M .,2007-*Food control* ,(18) :800-805.
94. Skocibusic M., Bezic N.,Dunkic V.,2006 - *Food Chem* , (96) : 20-28.
95. Small E.et Catling P.M.,2000 – Les cultures médicinales canadiennes. Presses scientifiques du CNRC, Ottawa(Ontario), Canada ,p. 281.
96. Sotelo-Félix J.I., Martinez-Fong D., Muriel P., Santillán R.L., Castillo D. et Yahuaca P., 2002- Evaluation of the effectiveness of *Romarins officinales(Lamiaceae)* in the illuviation of carbone tétrachlorure-indue Acute hepatotoxicity in the rat. *J. Ethnopharmacologie*, (81): 145–154.
97. Stahl, P. D. and Ezekowitz R. A., 1998 -The mannose receptor is a pattern recognition receptor involved in host defense. *Current opinion in immunology*,(10): 50-55.
98. Verdrager J., 1978 - Les médicaments qui nous viennent des plantes médicinales modernes. Ed.Maloine, Paris, 233p.
99. Vernozy-Rozand C. et Montet M.P., 2001- *Escherichia coli* O157:H7. Librairie Lavoisier, TEC & DOC. Paris, France.
100. Wiart C., 2006 - Medicinal Plants of the Asia Pacific: Drugs for the future. Ed. World Scientific: 401- 416.
101. Yamamoto J., Yamada K., Nomura., Yamashita T. et Aria R., 2005 Testing various herbs for antithrombotic effect. *Nutri*, (21): 580-587.
102. Zabeirou et Hachimou ., 2005 - Étude comparative entre les Huiles essentielles dela Menthe Verte (*Mentha Spicata* L) et de la Poivree (*Mentha Piperita* L) dans la région d’Ouargla .Mémoire de DES Biochimie –Université de Kasdi Merbbah.,Ouargla, p.16.
103. Zeghad N., 2009- Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d’intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Romarins officinales*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Thèse de magistère, université de Mentouri., Constantine, 110p.

104. Zermane A., 2010 - Etude de l'extraction supercritique Application aux systèmes agroalimentaires. Thèse de doctorat, université de Mentouri., Constantine, 120 p.
105. Zhila N., Sadeghi M., Sadeghipour H., Kamalinejad H. et Eshraghian M., 2008- Immobilization effect of *Ruta graveolens* L. on human sperm : A new hope for male contraception, Journal of Ethnopharmacology, 115 p.
106. Zoubeidi C., 2004 - Etude des antioxydants dans le Romarins officinales .Labiatea .Thèse de magistère, université d'Ouargla,p.65.

ANNEXES

Annexe 1 : Matériels non biologique utilisée dans le laboratoire

Verreries et petite matériels	Appareillage et dispositifs	Réactifs et milieux des cultures
Tubes à essais Béchers Fioles Pipettes pasteur Micropipette Boîtes de pétri Anse de platine Papiers filtre Pince Pissette Cuvette de spectrophotomètre Portoir Ciseau Erlenmeyer Coton-tige	Réfrigérant Bain marie Bec benzène Balance Agitateur magnétique Autoclave Spectrophotomètre Etuve	L'eau physiologique L'eau distillée Muller-Hinton(M.H) Sabouraud Gélose nutritive(G.N) PDA L'eau javel Agar Agar Glucose NACL DMSO

Annexe 2: Préparation des solutions

L'eau physiologique

9g NACL.

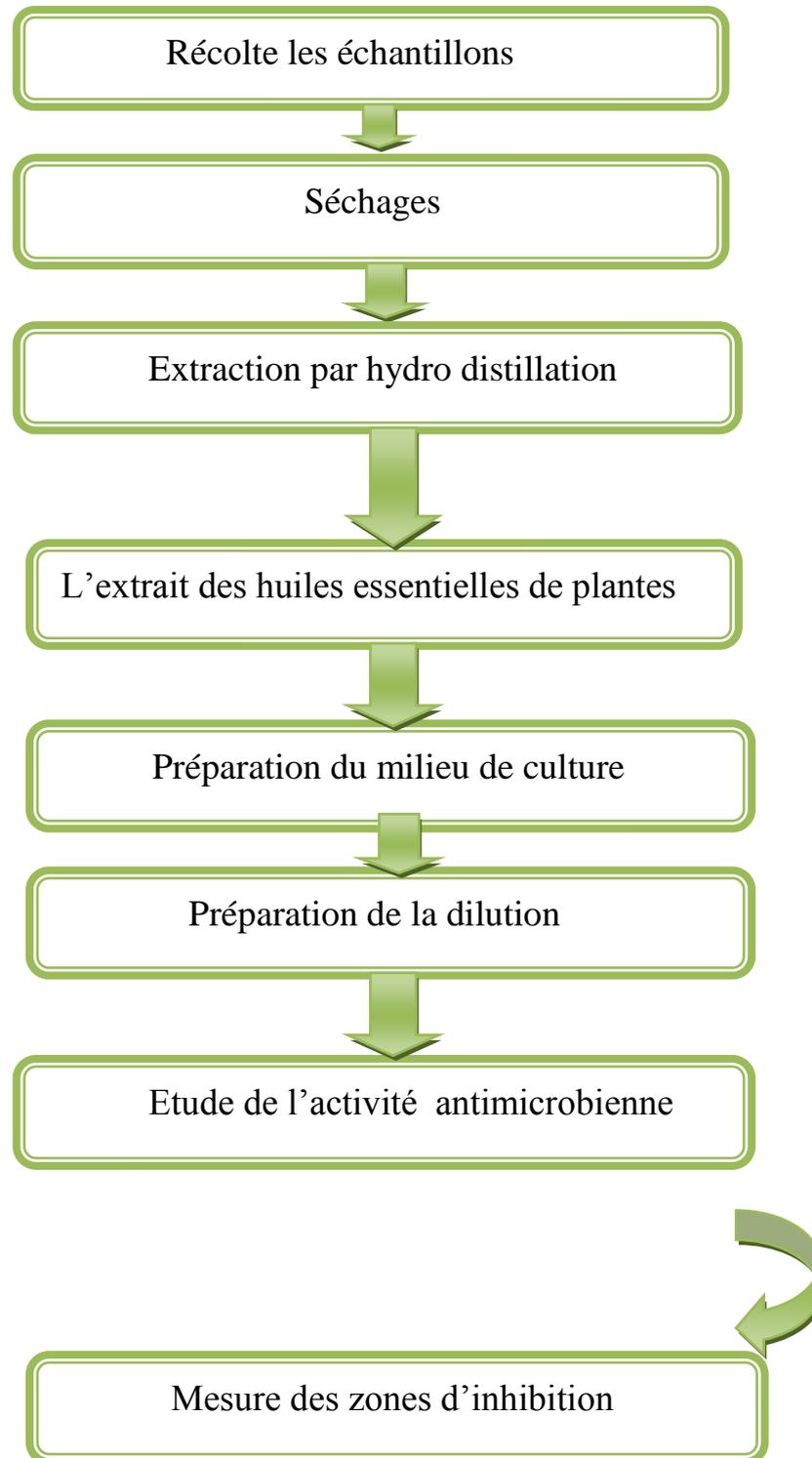
100 ml d'eau distillée

Témoin

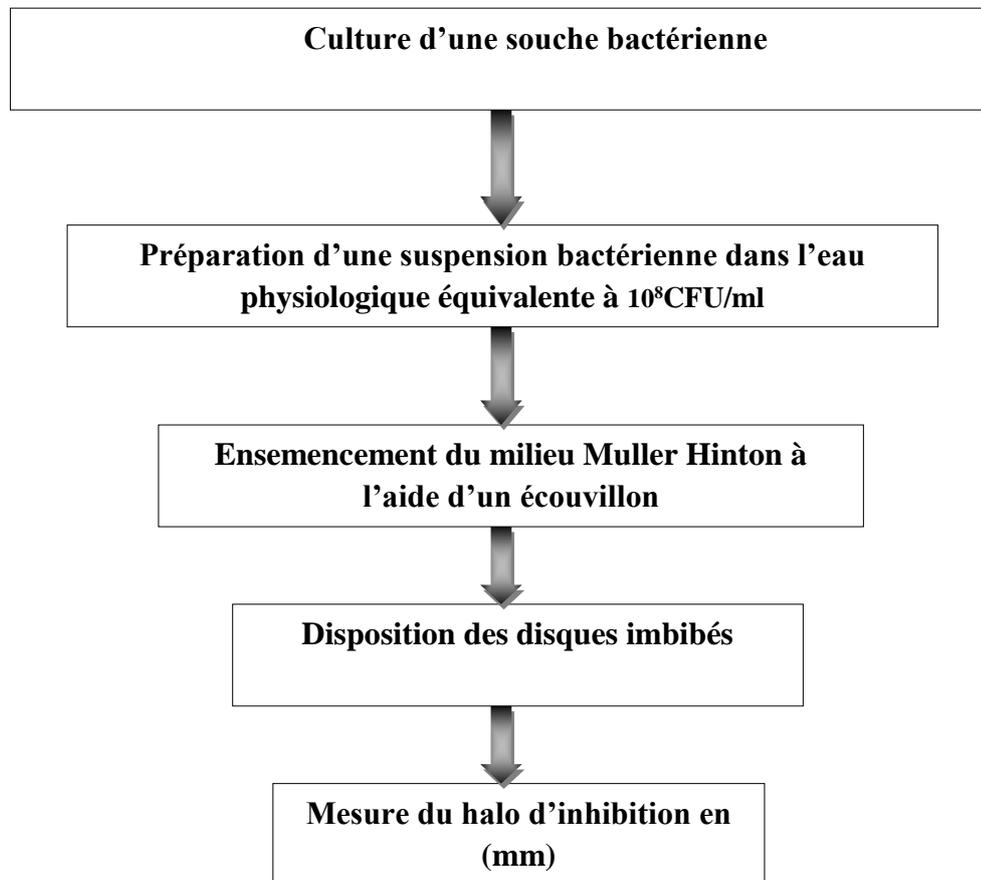
Dimethyl sulfoxyde (DMSO)

Plan d'expérimentale

Le protocole général de notre travail est comme suite :

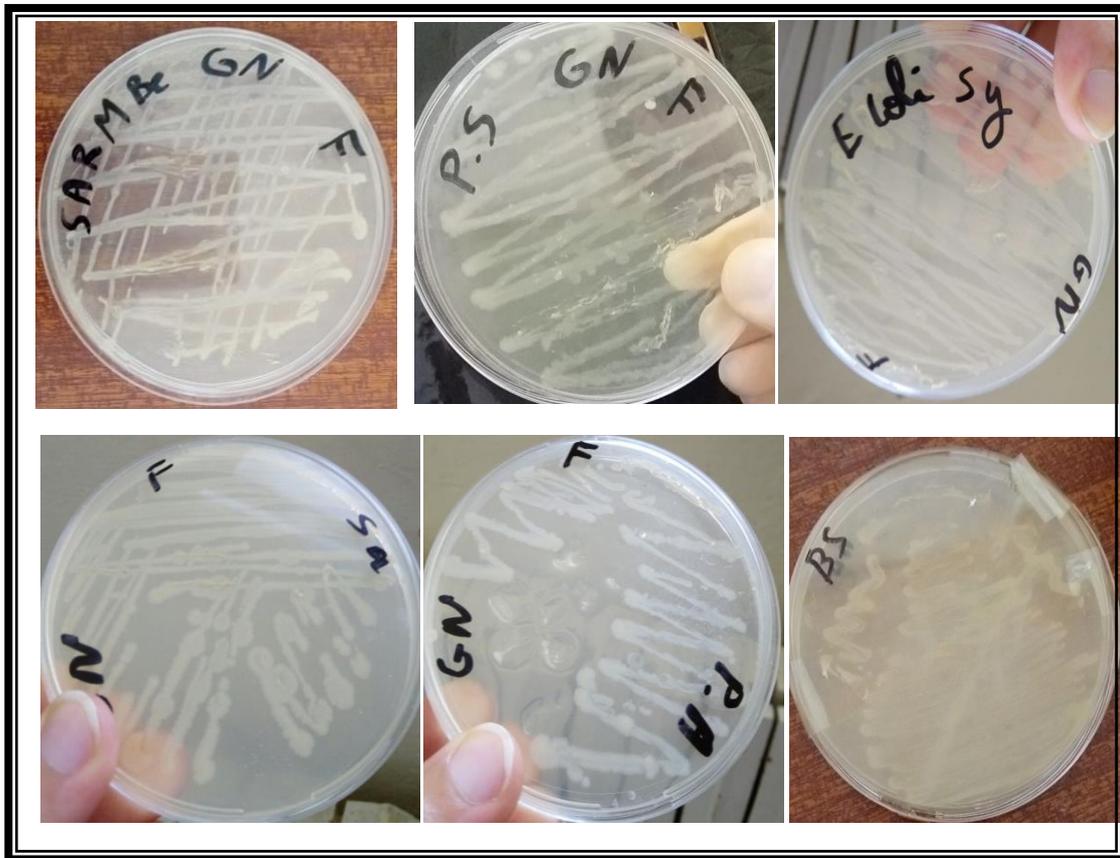


Annexe 3:Schéma représente le Plan expérimental



Annexe 4: Etape de réalisation du test de l'activité antibactérienne.

Annexe 5: Culture des souches testées





Annexe 6 : Méthode de l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

الملخص:

في إطار العمل الذي نقوم به حول دراسة الزيوت الأساسية لنوعين من النباتات الطبية إكليل الجبل المستخرج من منطقة البويرة (المقطع الأزرق) والفجل المأخوذ من الحمداية البويرة . حيث قمنا بتقييم تأثير هذه الزيوت المستخلصة عن طريق التقطير بالبخار على خمسة عينات من البكتيريا وخميرة وهذا باستعمال تقنية انتشار الأفراس على الوسط الصلب .

حسب نتائج الدراسة نلاحظ ان المردود المتحصل عليه من خلال استخلاص زيت إكليل الجبل والفجل يقدر ب68,0 و0,75 على التوالي و التي تعتبر نتائج مطابقة للمعايير الدولية .

ومنه نتائج دراسة النشاط البيولوجي تبين ان هذه الزيوت لها فعالية قوية ضد المكروبات المدروسة خاصة ضد المبيضات البيض حيث تقدر ب14,6 ملم والعصوية الرقيقة المقدرة ب 12ملم بالنسبة لزيت إكليل الجبل في حين انها تقدر ب 13ملم و 1,1 ملم من اجل الفجل .

الكلمات المفتاحية : إكليل الجبل, الفجل, الزيوت الأساسية, النشاط البيولوجي, الاستخلاص.

Résumé

Dans le cadre de ce travail, on s'est intéressé à l'étude des huiles essentielles de deux plantes médicinales. Il s'agit de *Rosmarinus officinalis* récolté dans la région de Blida (Maktaa Lazrek), et de *Ruta graveolens* récupéré à El hamdania (Blida). L'extraction de ces huiles a été réalisée par hydrodistillation. Aussi, l'effet antimicrobien des huiles essentielles extraites est effectué sur cinq souches bactériennes et une levure par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé.

D'après les résultats obtenus, on remarque que le rendement des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Ruta graveolens* est respectivement de l'ordre de 0,75% et de 0,68% qui sont conforme aux standards international.

L'étude de l'activité antimicrobienne a montré que ces huiles possèdent une bonne activité antimicrobienne surtout sur *Candida albicans* soit une valeur de diamètre de la zone d'inhibition de 14,6mm. Pour le *Bacillus subtilis*, on a une valeur de diamètre de la zone d'inhibition de 12 mm pour l'huile de *Rosmarinus officinalis*. Alors que la valeur du diamètre de la zone d'inhibition est de 13 mm pour *Candida albicans*, et de 11,1 mm pour *Bacillus subtilis* concernant l'huile de *Ruta graveolens*, avec un degré de sensibilité variable pour les autres souches testées.

Mots clés: *Rosmarinus officinalis* L., *Ruta graveolens* L., huile essentielle, activité antimicrobienne, extraction.

Abstract

In this work, we studied the essential oils of two medicinal plants. These are *Rosmarinus officinalis* harvested in the Blida (Maktaa lazrek) region, and *Ruta graveolens* recovered in El hamdania (Blida). The extraction of these oils was carried out by hydrodistillation. The antimicrobial effect of the extracted essential oils is thus carried out on five bacterial strains and one yeast by the diffusion method of the disks on agar medium.

From the results obtained, it is noted that the yield of *Rosmarinus officinalis* and *Ruta graveolens* essential oils is 0,75 and 0,68 respectively, which comply with international standards.

The study of the antimicrobial activity showed that these oils possess a good antimicrobial activity, especially on *Candida albicans*, is a diameter value of the inhibition zone of 14,6mm for *Bacillus subtilis*, diameter value of the inhibition zone of 12mm for *Rosmarinus officinalis* oil. While the diameter of the inhibition zone is 13mm for *Candida albicans* and 11,1 mm for *Bacillus* for *Ruta graveolens* oil, with a variable degree of sensitivity for the other strains tested.

Keywords : *Rosmarinus officinalis* L. *Ruta graveolens* L., essential oil, activity microbial, extraction