

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique & Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur & de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE DJILLALI LIABES. SIDI BEL-ABBES

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE & DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Pour L'obtention Du Diplôme de MASTER en Biologie

Domaine : Sciences de la Nature & de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Immunologie

Thème

**Activité antibactérienne des huiles essentielles
de *Chinopodium nepeta* (L.) vis-à-vis de quelques
souches pathogènes**

Présenté par : M^{lle} Bireche Chaimâa

Soutenu le : 08.07.2021

Devant le jury d'évaluation composé de :

Président:

Mr ML. BENINE

Maître de Conférences "A" (Faculté S.N.V, Université de Sidi Bel Abbès)

Examineurs :

Mr Z.HAZEM

Maître de Conférences "B"(Faculté S.N.V, Université de Sidi Bel-Abbès)

Rapporteur :

Mr M. MISSOURI

Maître de Conférences "A"(Faculté S.N.V, Université de Sidi Bel-Abbès)

DEDICACE

C'est avec profonde gratitude et sincères mots, que je dédie ce modeste travail de
fin d'étude :

A l'homme, mon précieux offre du dieu qui doit ma vie, ma réussite, mon bonheur,
ma joie. Tout mon respect à mon cher papa.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir qui n'a jamais dit non à mes
exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse mon adorable mère.

A mes chères sœurs : Aicha, Sabrina, Amel, Farah, Riheb

A mes chers frères : Mohamed, Jed, Abdessamed.

A tous mes neveux et nièces

A mes chers tantes et cousines : Noor el Houda, Mokhtaria

A mon fiancé Habibo qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir
tout au long de mes études, que Dieu le protège et l'offre de la chance et le bonheur.

A ma chère belle-sœur Ilhem, et a toutes ma belle-famille.

REMERCIEMENTS

Avant tout, je tiens à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Au terme de la rédaction de ce mémoire, c'est un devoir agréable d'exprimer en quelques lignes la reconnaissance que je dois à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à l'élaboration de ce travail.

Je tiens à remercier tout d'abord à Mr. Missouri.M mon premier directeur de thèse, pour son encadrement fructueux, pour sa disponibilité et son aide précieuse, et je lui souhaite la santé et le bonheur.

Par la même volonté et la même chaleur, je remercie Mr. Hazem.Z., pour le soutien et leur aide que ce soit dans la partie expérimentale ou bien la théorique je lui souhaite la bonne santé avec une vie pleine de réussite et bonne continuation.

Au Maître de conférences à M. BENINE, qui nous fait le grand honneur de bien vouloir membre ce jury.

A Professeure M.Harir.N, chef de ma spécialité Biochimie Immunologie.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs et enseignants du département de science biologie qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études. Nous adressons également nos vifs remerciements au M. Oghilasse, pour leur aide dans la partie pratique et aux les ingénieurs de labo.

Nous remercions enfin tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire dans les meilleures conditions.

ملخص

يهدف هذا العمل من ناحية إلى استخراج الزيوت الأساسية من كينوبوديوم نيببينا ، ومن ناحية أخرى ، لتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لهذه الزيوت ضد بعض السلالات المسببة للأمراض. يتم استخراج الزيوت الأساسية من هذا النبات عن طريق التقطير المائي. تم إجراء تحاليل كمية ونوعية ، أي مردود الزيت الأساسي المستخرج من النبات ، ثم أيضا المراقبة أو التحكم في الخصائص العضوية للزيت الأساسي الذي تم الحصول عليه وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لهذه الزيوت ضد بعض السلالات المسببة للأمراض.

كانت نتائجنا على النحو التالي:

- من الواضح أن مردود الزيت الأساسي للكينوبوديوم نيببينا أعلى (2.60%) من تلك التي تم الحصول عليها على التوالي مع الأنواع التابعة لنبات من نفس الفصيلة أو العائلة من سيدي بلعباس "سالفيا أوفيسيناليس" تلمسان و عين تموشنت "كينوبوديوم نيببينا" (0.62% 0.53% 0.43%)
- تظهر الزيوت المستخرجة من كينوبوديوم نيببينا على شكل سائل صافٍ ، أصفر شاحب اللون ، يتميز برائحة قوية ومنعشة تذكر بالنبات.

- لقد ثبت أن زيت الكاليمينت فعال على جميع السلالات ولكن بدرجات متفاوتة وابتداءً من محلول 25٪. في الواقع ، تمثل *Pseudomonas aeruginosa* السلالة الأكثر حساسية ، تليها *Proteus mirabilis* التي ثبت أنها أقل حساسية. ومع ذلك ، كان هذا الزيت أقل فعالية على *Bacillus subtilis* و *Klebsiela pneumoniae*.

في الختام ، فإن محصول الزيت الأساسي أو العطري المستخرج بتقنية التقطير المائي للنبات المدروس (كينوبوديوم نيببينا 2.60%) يعتبر معتبرا هائلا مقارنة بالنباتات الأخرى من نفس النوع ومن نفس العائلة التي تم أخذها بعين الاعتبار في دراستنا. إن القوة أو النشاط المضادة للميكروبات للزيت الأساسي أو العطري الذي تمت دراسته هو عامل طبيعي مضاد للميكروبات فعال بتركيز معينة وربما يكون مصدرا للحفظ للحد من التسمم من أصل بكتيري ، وخاصة زيت الكاليمينت الذي يمثل نسبة التركيز الأدنى CMI إنطلاقا من 25٪.

كلمات المفتاح :

كينوبوديوم نيببينا؛ التقطير المائي؛ زيت أساسي أو عطري ؛ مردود ؛ تقنية الأقراص أو فتسنت؛ نشاط مضاد للبكتيريا ؛ التركيز الأدنى المثبط .

RESUME

Le but de ce travail est de faire d'une part, une extraction des huiles essentielles de *Chinopodium nepeta* et d'autre part, évaluer l'activité antibactérienne de ces huiles vis-à-vis de quelques souches pathogènes. L'extraction des huiles essentielles (HE) à partir de cette plante est réalisée par hydrodistillation. Des analyses quantitatives et qualitatives c'est-à-dire le rendement en huile essentielle extraite de la plante, un contrôle des caractéristiques organoleptiques d'HE obtenue et l'évaluation de l'activité antibactérienne de ces huiles vis-à-vis de quelques souches pathogènes ont été effectuées.

Nos résultats ont été les suivants :

- Le rendement en HE de *Chinopodium nepeta* L. est nettement supérieur (2.60%) à celui obtenu respectivement avec les autres espèces de Sidi Bel-Abbès "*Salvia officinalis*", Tlemcen et Aïn Temouchent "*Chinopodium Nepeta*" (0.62%, 0.53% et 0.43%).
- Les huiles extraites à partir de *Chinopodium nepeta* apparaissent sous forme d'un liquide limpide, d'une couleur jaune pâle, caractérisées par une forte odeur fraîche rappelant la plante.
- L'huile de calament s'est montrée efficace sur l'ensemble des souches mais à des degrés variables et à partir de la solution à 25%. En effet, les *Pseudomonas aeruginosa* représentent la souche la plus sensible, suivi de *Proteus mirabilis* qui s'est montré moins sensible. Cependant, cette huile était moins efficace sur les *Klebsiella pneumoniae* et *Bacillus subtilis*.

En conclusion, le rendement en huile essentielle extraite par la technique d'hydrodistillation de la plante étudiée (*Clinopodium nepeta*) "2,60%" est considérable comparée avec les autres plantes de la même espèce et de la même famille prises en compte dans notre étude. Le pouvoir antimicrobien de l'HE de (*Clinopodium nepeta* L.) active sur l'ensemble des souches surtout les souches à Gram négatif que positif. Selon ces résultats, nous pouvons prédire que l'huile essentielle étudiée est un agent antimicrobien naturel efficace à certaines concentrations et, peut-être une source de conservation pour limiter les empoisonnements d'origine bactérienne, notamment l'huile de calament qui présente une CMI à partir de 25%.

Mots clés : *Clinopodium nepeta* ; Hydrodistillation ; Huile essentielle; Rendement ; Technique des disques ou de Vincent; Activité antibactérienne ; CMI.

SUMMARY

The aim of this work is, on the one hand, to extract the essential oils of *Chinopodium nepeta* and, on the other hand, to evaluate the antibacterial activity of these oils against some pathogenic strains. The extraction of essential oils (EO) from this plant is carried out by hydrodistillation. Quantitative and qualitative analyzes, that is to say the yield of essential oil extracted from the plant, a control of the organoleptic characteristics of EO obtained and the evaluation of the antibacterial activity of these oils with respect to some pathogenic strains were carried out. Our results were as follows :

- The EO yield of *Chinopodium nepeta* L. is clearly higher (2.60%) than that obtained respectively with the other species of Sidi Bel-Abbès "*Salvia officinalis*", Tlemcen and Ain Temouchent "*Clinopodium Nepeta*" (0.62%, 0.53% and 0.43 %).
- Oils extracted from *Chinopodium nepeta* appear as a clear liquid, pale yellow in color, characterized by a strong, fresh odor reminiscent of the plant.
- Calament oil has been shown to be effective on all strains but to varying degrees and starting from the 25% solution. In fact, *Pseudomonas aeruginosa* represents the most sensitive strain, followed by *Proteus mirabilis*, which has been shown to be less sensitive. However, this oil was less effective on *Klebsiela pneumoniae* and *Bacillus subtilis*.

In conclusion, the yield of essential oil extracted by the hydrodistillation technique of the plant studied (*Clinopodium nepeta*) "2.60%" is considerable compared with other plants of the same species and of the same family taken into account in our study. The antimicrobial power of EO of (*Chinopodium nepeta* L.) activates on all strains, especially Gram-negative than positive strains. According to these results, we can predict that the essential oil studied is a natural antimicrobial agent effective at certain concentrations and, perhaps a source of preservation to limit the poisonings of bacterial origin, in particular the oil of calament, which presents an MIC from 25%.

Key words : *Clinopodium nepeta* ; Hydrodistillation ; Essential oil ; Yield ; Technical records or Vincent ; Antibacterial activity ; CMI.

ABREVIATIONS

C.H-U	: Centre Hospitalo-Universitaire.
OMS	: Organisation mondiale de la santé.
HE	: Huile essentielle.
CMI	: Concentration minimale inhibitrice.
Mm	: Millimètre.
g	: Gramme.
UI/L	: Unité Internationale/litre.
Cm	: Centimètre.
%	: Pourcentage.
M	: Mètre.
Mg	: Milligramme.
ml	: Millilitre.
MHE	: Masse d'huile essentielle.
RHE	: Rendement d'huile essentielle.
MMV	: Masse matière végétale.
UFC/ml	: Unité formant colonie/millilitre.
μ l	: Microlitre .
h	: heure.

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Pages

1. Liste des tableaux :

1. Dilution d'huile de calament	21
2. Rendement en HE de la plante étudiée comparé avec d'autres plantes de la même espèce et de la même famille	23
3. Diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbiennes des différents concentrations d'huile de calament	26
4. Evaluation de CMI de l'extrait brute de <i>Chninopodium nepeta</i>	26

2. Liste des figures :

1. Schéma d'un montage d'hydro-distillation.....	13
2. Montage d'entraînement à la vapeur d'eau.....	14
3. Dispositif d'extraction des huiles essentielles de <i>Chinopodium nepeta (L.)</i> par hydrodistillation.....	18
4. Ensemencement par stries	21
5. Principe de la méthode de diffusion disque.....	22
6. Huile essentielle de <i>Chinopodium nepeta L.</i>	24
7. Résultats de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé (technique des disques ou de Vincent).	25

TABLE DES MATIERES

	Pages
INTRODUCTION GENERALE	1
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES.....	3
1. Plantes médicinales et phytothérapie	3
1.1 plante médicinales	3
1.2. Phytothérapie.....	3
1.3. Rôles et distribution.....	3
1.3.1 Modes d'emploi des plantes médicinales	4
2. Généralité sur la plante <i>Chinopodium nepeta</i>	4
2.1. Description botanique.....	5
2.2. Noms vernaculaire	5
2.3. Ecologie de la plante	6
2.4. Classification.....	6
2.4.1 Répartition géographique.....	7
2.5. Utilisation de <i>Chinopodium nepeta</i>	7
2.5.1. Médicinales	7
2.5.2. Aromatique.....	7
3. les huiles essentielles	7
3.1 Définition	7
3.2 Composition chimique	8
3.3. Classification	8
3.4. Facteurs de variabilité des huiles essentielle	9

3.4.1. Facteurs extrinsèques	9
3.4.1.1. Origine géographique	10
3.4.1.2. Facteurs écologiques.....	10
3.4.2. Facteurs intrinsèque	10
3.4.2.1. Origine botanique	10
3.4.2.2. Les chimiotypes	10
3.4.2.3. Cycle biologique	10
3.4.2.4. Conservation de matériel végétal.....	10
3.4.3. Facteurs technologiques.....	10
3.5. Actions	10
3.5.1. Actions biologique	10
3.5.2. Actions sur la peau	11
3.6. Utilisations	11
3.6.1. Utilisations sanitaires	11
3.6.2. Utilisations dans l'industrie alimentaire.....	12
3.6.3. Utilisation thérapeutique	12
4. Procédés d'extraction	12
4.1. Les différentes techniques d'extraction	13
4.1.1. La distillation.....	13
4.1.1.1. Extraction par entrainement à la vapeur d'eau.....	14
4.1.1.1.a. Hydro-distillation.....	14
4.1.1.1.b. Entrainement à la vapeur.....	14
4.1.1.2. Extraction par solvant organique.....	14
4.1.1.3. Extraction par expression.....	14
4.1.1.4. Enfleurage.....	14
4.1.1.5. Extraction sous pression de CO ₂	15
4.1.1.6. Incision.....	15
5. Stratégies de conservation de l'espèce.....	15
5.1. Conservation in-situ.....	15
5.2. Conservation ex-situ.....	16
5.3. Biologie de la conservation.....	16

MATERIELS & METHODES	16
1. Objectifs du travail	17
2. Matériels.....	17
2.1. Choix du matériel biologique	17
2.2. Préparation du matériel végétal.....	17
3. Obtention des huiles essentielles (HE)	17
3.1. Procédé d'extraction	17
3.2. Décantation	17
4. Analyse des huiles essentielles (HE)	19
4.1. Analyse quantitative.....	19
4.1.1. Les rendements.....	19
4.2. Analyse qualitative.....	19
4.2.1. Contrôle organoleptique.....	19
4.2.2. Etude de l'activité antimicrobienne.....	19
4.2.2.1. Provenance des microorganismes.....	19
4.2.2.2. Technique d'étude microbiologique.....	20
RESULTATS	23
1. Analyse des huiles essentielles (HE).....	23
1.1. Analyse quantitative	23
1.1.1. Rendement en huiles essentielles	23
1.2. Analyse qualitative	23
1.2.1. Contrôle organoleptique.....	23
1.2.2. Evaluation de l'activité (pouvoir) antibactérienne.....	24
1.2.2.1. Méthode de diffusion en milieu gélosé (technique des disques ou de Vincent)	24
1.2.2.2. Détermination de la CMI	25
DISCUSSION	27
1. Analyse quantitative	27
1.1. Rendement en huiles essentielles	27
2. Analyse qualitative	27

2.1. Evaluation de l'activité antibactérienne	28
CONCLUSION GENERALE	29
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	30
ANNEXE	



INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

La nature était depuis toujours une source inépuisable pour l'être humain, aussi bien pour ses besoins de base d'alimentation et de survie que pour ses besoins médicaux (Svoboda et *al.*, 2000). Pendant des millénaires, l'utilisation des plantes médicinales fut le principal recours pour guérir l'homme. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique, en plus, ils possèdent un très large éventail d'activité biologique (Parekh & Chanda, 2007).

On trouve des **plantes médicinales** plus répandues en Algérie et qui peuvent être utilisées dans la médecine traditionnelle (phytothérapie) ; surtout dans le domaine de la lutte contre certaines maladies infectieuses ainsi que la riche flore Algérienne offre d'énormes possibilités dans ce domaine, et les **plantes aromatiques** qui se prêtent particulièrement à l'usage thérapeutique ou médecine classique (aromathérapie) (Baba, 2000).

Il y'a environ 500 000 plantes sur terre, environ 100 000 d'entre elles possèdent des propriétés médicinales contribuant à leur principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie, elles présentent en effet des avantages dont les médicaments conventionnels sont souvent dépourvus (Gilles, 1976 ; Iserine, 2001).

On estime environ 20 000 espèces de plantes utilisées dans le monde à des fins cosmétiques, chimiques, pharmaceutiques, thérapeutiques, alimentaires et agro-alimentaires (Herrera et *al.*, 2008). En effet, la phytothérapie est très importante surtout dans les pays tropicaux et méditerranéens (Arnold, 1990).

Plus de 5000 substances naturelles différentes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles se sont avérées utiles dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies. Malgré la nature hétérogène du continent, il y a eu d'efforts consacrés au développement des agents chimio-thérapeutiques et prophylactiques de ces plantes (Faromb, 2003).

Au cours des dernières décennies, l'étude des plantes médicinales a suscité un intérêt croissant (Al-Snafi, 2015).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les plantes médicinales sont des ressources précieuses pour la grande majorité des populations rurales d'Afrique où plus de 80% les utilise pour dispenser des soins de santé (Sarri et *al.*, 2014).

L'Algérie, par sa situation géographique, bénéficie d'un climat très diversifié, les plantes poussent en abondance dans les régions côtières, montagneuses et également sahariennes. Ces plantes constituent des remèdes naturels potentiels et peuvent être utilisées comme traitement curatif et préventif (Kherbouche, 2013).

En effet, chaque espèce végétale élabore des métabolites dites «secondaires» qui interviennent dans divers processus propres à la plante, et ce grâce à leur haute activité biologique. Parmi ces composés naturels, les huiles essentielles (HE) trouvent des emplois dans différents secteurs notamment en pharmacologie, parfumerie, cosmétologie, industrie agro-alimentaire et d'autres (Bruneton, 1999).

Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal en Algérie, se trouve le genre *Chinopodium*, ce dernier est l'un de plus important genre aromatique. En Algérie, il est présenté par 7 espèces environ dont certaines sont rares et d'autres très répandues (Abdelguerfi & Ramdane, 2003).

Compte-tenu de la résistance aux antibiotiques de certaines bactéries, de preuves scientifiques ont montré de plus en plus qu'une grande partie des plantes médicinales représente une source très prometteuse d'agents antibactériens efficaces ; seuls ou en association avec des antibiotiques conventionnels.

Le phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques est dû en grande partie, à la prescription massive d'antibiotiques par les médecins et leur mauvaise administration. Egalement, l'utilisation des antibiotiques en agriculture comme promoteurs de la croissance et dans la prévention des infections est suspectée de contribuer au développement de souches résistantes non seulement chez les animaux mais aussi chez les populations humaines (Cha et al., 2005).

Si de nombreux travaux sur la valorisation d'une plante très utilisée en médecine traditionnelle "extraction des huiles essentielles de *Chinopodium nepeta* et étude de son pouvoir antibactérien" sont disponibles dans d'autres pays, en revanche, très peu ou pas de travaux sont colligés quant aux aspects sus-cités dans notre pays, notamment l'Algérie.

C'est donc pour cette raison que dans ce travail, nous nous sommes proposé de faire d'une part, une **extraction des huiles essentielles** de *Chinopodium nepeta* et d'autre part, **évaluer l'activité antibactérienne** de ces huiles vis-à-vis de quelques souches pathogènes.



RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1. Les plantes médicinales et phytothérapie

1.1. Les plantes médicinales

La plante médicinale est définie par la pharmacopée européenne comme une drogue végétale au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possédée des propriétés médicamenteuse. Une drogue végétale est une plante ou une partie de plante, utilisée, soit le plus souvent sous la forme desséchée soit à l'état frais (Sofowora, 2010).

Le monde végétal regroupe des milliers d'espèces des plantes dont une partie seulement est capable de synthétiser des substances aortiques connus par les bonnes ou mauvaises odeurs qui sont susceptibles de les dégager (Aliaoui, 2003) comme elles sont utilisées pour leur arôme et leur saveur (Willem, 2002).

1.2. Phytothérapie

C'est l'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques. Ce terme dérive du grec (phytos = la plante et thérapie = cure), c'est l'art et la science de la médecine par les plantes et l'une des méthodes thérapeutiques les plus anciennes (Lecler, 1999).

Etymologiquement la phytothérapie utilisant les plantes ou les formes immédiatement dérivés des plantes excluant les principes d'extraction purs isolés des plantes. Pratiquement la phytothérapie est le traitement des pathologies bénignes par les plantes médicinales (Ghesten et *al.*, 2001).

Aujourd'hui 60% des spécialités médicamenteuses employées en médecine courante sont issues directement ou par héli-synthèse du règne végétal (Gromond, 2001).

1.3. Rôles et distribution

Leurs rôles sont multiples :

- ✓ Ils ont une action défensive (contre les insectes pathogènes (champignons bactéries) Ils interviennent dans la structure des plantes (lignines et tannins) ;
- ✓ Beaucoup des composés secondaires sont toxiques ils sont alors stockés dans des vésicules spécifiques ou dans la vacuole et peuvent même parfois être excrétés ;
- ✓ On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties des plantes. Ils sont distribués différent. Cette distribution varie d'une plante à l'autre.

1.3.1. Mode d'emploi les plantes médicinales

Les plantes médicinales peuvent être utilisées de différentes manières. Les plus citées sont celles décrites par Beauvais (Beauvais, 2000).

✓ **Infusion**

C'est la méthode la plus courante, en particulier pour toutes les parties herbacées des végétaux.

Tout d'abord il faut faire bouillir de l'eau. Ensuite, on ajoute la plante. On laisse en contact 5 à 10 minutes. Par exemple : pour les plantes aromatiques il faut ouvrir pour que l'arôme ne s'évapore pas.

✓ **Décoction**

Concerne les plantes dont les substances actives sont moins solubles en particulier les parties riches en tanins.

On porte l'eau à ébullition. On ajoute la drogue. Puis on laisse bouillir quelques minutes. Ceci est utilisé pour les parties dures d'une plante telles que les tiges ou les racines (Iserin, 2001).

✓ **Macération**

Concerne en particulier les plantes à hautes teneurs en mucilage, mais aussi certaines parties à tanin.

C'est la mise en contact d'une drogue et d'un liquide. Ce liquide peut être de l'eau ou de l'alcool. Puis on laisse en contact pendant un temps temporaire très variable selon les cas (Aubry & Dehin, 2008).

2. Généralités sur la plante de *Chinopodium nepeta*

Calamintha nepeta ou *Chinopodium nepeta* est une plante rhizomateuse, de souche dense, aux tiges cespiteuses. Les tiges sortent de terre au printemps, produisant un coussinet de feuilles, au dos rond, bien délimité. Au fur et à mesure que la saison s'avance, ces tiges s'allongent. Le calament faux-nepeta présente des tiges minces de sections carrées, aux petites feuilles opposées, légèrement dentées, courtement pétiolées. À partir de l'été jusqu'en octobre, les fleurs se développent en hautes inflorescences cylindriques, parsemées d'une multitude de petites fleurs labiées, de blanches à bleues. Le calament nepeta conserve tout le reste de l'année un beau port, aux tiges verticales hautes de 30 à 60 cm, en fonction des conditions de cultures.

Toute la plante est aromatique et dégage un parfum mentholé, elle est parfois utilisée en infusion ou parcimonieusement en cuisine : par exemple, elle est agréable associée à la pêche.

Calamintha nepeta est particulièrement mellifère (Alhawiriny T, 2002)



2.1. Description botanique

Calamintha nepeta, le calament faux-nepeta ou petit calament, est une plante vivace appartenant à la grande famille des Lamiacées, comme les sauges ou les menthes de 40 à 60cm de haut la tige est dressée pleine, avec une consistance herbacée, à section carrée. Elle a une surface lisse, et elle est poilue. Les feuilles pleines, avec une consistance herbacée, à section carrée (site web 1). Elles sont entières, ovales, pétiolées avec une base en coin avec un limbe gaufré et un bord faiblement denté, un sommet obtus enfin des glanduleux sur sa face inférieure. Les fleurs sont lilas violacé. Elles sont portées par un pédoncule court et poilu, présentent 4 étamines soudées à la corolle, de taille différente et groupées par deux. Le pistil est surmonté d'un seul style et d'un seul stigmate bifide. La corolle est en forme de tube muni de deux lèvres. La lèvre supérieure est plane. Le calice est velu. Il est en tube, avec 5 dents inégales, plus courtes que le tube. Les fruits sont des tetrakènes. Ils sont globuleux (site web 1).

2.2. Noms vernaculaire

Français : Calament glanduleux ; le calament népéta, le calament faux népéta, ou le petit calament.

Arabe : Napta

Anglais : Lesser Calamint

Latin : *Calamintha nepeta* subsp. *Nepeta*

Nom scientifique : *Chinopodium nepeta* (L.)

2.3. Écologie de la plante

Extrêmement facile de culture, le petit calament est adapté aux situations sèches et chaudes, ensoleillée, croissant même dans les sols pauvre et caillouteux. Au jardin, simplement planté dans les massifs ensoleillés ou à mi-ombre, il peut donner une belle plante épanouie de 60 cm en tous sens si le sol est plus riche, sans que ses tiges ne versent. Très rustique, *Calamintha nepeta* supporte jusqu'à -24°C. Ses tiges meurent en hiver, et la souche est nettoyée de ses vieilles tiges sèches au printemps, au plus bas au-dessus des nouvelles feuilles émergentes (FOUCHE.A & MARQIET.A, 2000)

Les graines de *Calamintha nepeta* germent, à peine couvertes, en 2 semaines à 21°C. Dès que leur taille le permet, les plantules sont transplantées au jardin. Les feuilles en coussinets du printemps, puis les nuages de fleurs de juillet à octobre ont leur place à l'avant dans les plates-bandes. Les graines de *Calamintha nepeta* germent, à peine couvertes, en 2 semaines à 21°C. Dès que leur taille le permet, les plantules sont transplantées au jardin (Delaveau. P, 1983)

Le petit calament se divise avec facilité au printemps. Chaque division est repiquée directement en place. De petites divisions, comportant 1 ou 2 tiges seulement et quelques racines reprennent également, mais avec plus de surveillance et d'apports d'eau (site web 2).

2.4. Classification

Règne : Plantae Haekal

Classe : Equisetopsida

Clade : Tracheophyta

Clades : Spermatophyta

Sous classe : Magnollidae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Sous famille : Nepetoideae

Tribu : Mentheae

Genre : *Chinopodium L*

Espèce : *Chinopodium nepeta L*

2.4.1. Répartition géographique

Chinopodium nepeta pousse naturellement principalement dans le bassin méditerranéen en Afrique, Asie et Europe (site web 2) mais il a été présenté comme ornemental, médicinal et condiment plante dans plusieurs pays (Scandalisais et *al.*, 2007), rapporté comme naturalisé dans les États-Unis (Marteau et *al.*, 2004). Dans L'Europe grandit en tempérer les forêts (eux, chêne, pin), des de 0-1500 m élévation (marteau et au. 2004). Les deux naturalisé populations dans Le Mexique est signalé ici pour les premières fois. Un des ceux que tu manges du sud-est San Luis Potosí, et il est possible que certaines populations supplémentaires pourraient être découverte dans les localités voisines de Querétaro, et l'autre d'Oaxaca. Les plantes étaient trouvées dans le pin-chêne, le chêne-pin et nuage montagnard les forêts, de 1500 à 2100 m élévation.

Aujourd'hui le calament est cultivé dans les pays de Maghreb en particulier, en Algérie Maroc, Tunisie et dans la plupart des régions tempérées chaudes du monde, on la trouve cultivé en plein terre principalement dans les jardins sur tout le pourtour du bassin méditerranéen.

2.5. Utilisation de *Chinopodium nepeta*

2.5.1. Médicinales

Le calament est le meilleur tonique pour la digestion (Camara, 2009).

2.5.2. Arômatique

Les huiles sont employées en parfumerie pour les savons les produits capillaires et les produits cosmétiques ex des crèmes anti-âge (Opsey & lerner, 2002).

3. Les huiles essentielles

3.1. Définition

L'huile essentielle peut être définie comme un ensemble de molécules pour un chimiste, un arôme pour un parfumiez ou encore la quintessence ou l'esprit d'un végétale pour un alchimiste. Mais dans la réalité, une huile essentielle est l'ensemble de tout cela car il s'agit d'un produit parfumé et volatil composé de molécules secrétées par certaines plantes qui lui confèrent un parfum spécifique. Le terme volatil s'explique par le fait que les huiles essentielles s'évaporent très rapidement (Oroburnonzo, 2005).

Une huile essentielle est une substance odorante volatile contenue dans les végétaux e n'est pas un corps gras malgré son dénomination d'huile (Barth, 2005).

Les huiles essentielles correspondent à un mélange de composés lipophiles volatiles, et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante (Eberhard & Robert & Annelise, 2005).

3.2. Composition chimique

C'est un mélange de molécules variées, comprenant en particulier des terpènes (hydrocarbures non aromatiques), c'est-à-dire dérivés de l'isoprène et non du benzène, et des composés oxygénés (alcools, aldéhydes, cétones, ester).

3.3. Classification

Les huiles essentielles (HE) sont classées usuellement selon la nature chimique des principes actifs majeurs, plus rarement sur le mode d'extraction (correspondant), ou les effets biologiques (correspondant ou correspondant). On retient huit classes principales (les carbures sesquiterpéniques et terpéniques, les alcools, les esters et alcools, les aldéhydes, les cétones, les phénols, les éthers et les peroxydes), avec les composants importants suivants :

- huiles essentielles riches en carbures terpéniques et sesquiterpéniques (HE de térébenthine (alpha-pinène, camphène), HE de genévrier (alpha-pinène, camphène, cadinène), HE de citron (limonène)) ;
- huiles essentielles riches en alcools (HE de coriandre (linalol), HE de bois de rose (linalol), HE de rose (géraniol)) ;
- huiles essentielles mélanges d'esters et d'alcools (HE de lavande (linalol, acétate de linalyle), HE de menthe (menthol, acétate de menthyle)) ;
- huiles essentielles riches en aldéhydes (HE de cannelle (aldéhyde cinnamique), HE de citronnelle (citral et citrannal), HE d'eucalyptus citriodora (citronellal)) ;
- huiles essentielles riches en cétones (HE de carvi (carvone), HE de sauge (thuyone), HE de thuya (thuyone), HE de camphrier (camphre)) ;
- huiles essentielles riches en phénols (HE de thym (thymol), HE de sarriette (carvacrol), HE d'origan (thymol et carvacrol), HE de girofle (eugénol)) ;
- huiles essentielles riches en éthers (HE d'anis vert, de badiane chinoise (anéthol), HE de fenouil (anéthol), HE d'eucalyptus globulus (eucalyptol), HE de cajepout (eucalyptol), HE de niaouli) ;
- huiles essentielles riches en peroxydes (HE de chénopode (ascaridol), HE d'Eucalyptus Globulus (Eucalyptol)) ;
- huiles essentielles sulfurées (HE d'ail (Diallyl Disulfide et Trisulfide), HE de crucifères et de liliacées).

La plupart des huiles essentielles sont constituées dans leur grande majorité d'un mélange assez complexe de mono terpènes, de sesquiterpènes, d'alcools, d'esters, d'aldéhydes, d'oxydes, etc. Il y a quelques exceptions : huile essentielle de gaulthérie couchée composée à plus de 99,5 % de salicylate de méthyle (un ester aromatique).

3.4. Facteurs de variabilité des huiles essentielles

La teneur et la composition chimique d'une huile essentielle varie en fonction d'un grand nombre de paramètres d'origine extrinsèques et intrinsèques et ordre technologique. On se contentera d'un bref aperçu sur les facteurs susceptibles d'influer sur la quantité et la qualité d'une essence.

3.4.1. Facteurs extrinsèques

Ce sont des paramètres qui touchent particulièrement les conditions écologiques (Ood, 1996).

3.4.1.1. Origine géographique

Les rendements des HE ainsi que leur composition diffèrent suivant l'origine géographique de la plante (Kambouche, 2003).

La qualité d'une HE dépend d'un certain nombre de facteurs interactifs : l'état de sol le climat l'altitude la période de récolte (Ood, 1996).

3.4.1.2. Facteurs écologiques

Les caractéristiques écologiques exercent une influence directe sur la production et la quantité de l'essence.

• Facteurs climatiques

La durée d'exposition au soleil les températures nocturnes et diurnes le régime des vents la pluviométrie sont des paramètres responsables de la modification de la proportion de l'essence de la composition chimique.

• Facteurs pédologiques

La nature de sol (calcaire siliceux ...) les aspects culturels comme la densité de culture l'apport d'engrais le nombre de récoltes et l'irrigation affectent la qualité des HE et leur rendement.

3.4.2. Facteurs intrinsèques

Ce sont des variables qui dépendent de la plante elle-même (génétique localisation maturité).

3.4.2.1. Origine botanique

Ce sont des variables qui le rendement et la composition d'une huile essentielle sont fonction respectivement de la famille et l'espèce productrice (Kambouche, 2003)

3.4.2.2. Les chimiotypes

Les chimiotypes ou les races chimiques sont très fréquents chez les plantes à HE pour une espèce botanique .il peut exister plusieurs rare chimique ou type chimique ou chimiotype fournissant des HE différentes par leur composition chimique (Bruneton, 1999).

3.4.2.3. Cycle biologique

La composition en HE d'une plante donnée varie avec son âge et les différents stades de son développement au fil des saisons alors la période et le moment de la récolte sont un des facteurs capitaux de variabilité des huiles essentielles.

3.4.2.4. Conservation de matériel végétal

La période de récolte le séchage ainsi que le stockage du matériel peuvent entrainer de profondes modifications sur l'essence.

3.4.3 Facteurs technologiques

Le mode d'extraction d'une huile essentielle marque de son empreinte la composition chimique de celle-ci. En effet hydro distillation et la distillation par solvant volatil ne conduisent pas à la même quantité d'essence (Kambouche, 2003).

3.5. Actions

3.5.1. Actions biologiques

Les huiles essentielles ont des effets biologiques variés, sur les cellules de l'organisme comme les agents infectieux (Giles, 1976). Les effets et cibles sont multiples du fait de chaque composant chimique, et de leur multiplicité. Les huiles essentielles ont notamment des :

- effets antiseptiques, anti-infectieux, voire antibiotiques. Exemple : l'huile essentielle de lavande avec le linalol (Eberhard & Robert & Annelise, 2005).
- effets sur les réponses inflammatoires et immunologiques : anti-inflammatoires¹, antihistaminiques (Bruneton, 1999) :
- effets sur l'activité neurologique : analgésiques, calmants, sédatifs, antispasmodiques, etc. (Barthe, 2005).

Juristes, législateurs et pharmacologues parlent de « vertus thérapeutiques » (Gesten, 2001) pour désigner les effets biologiques plus ou moins précis, selon les organes cibles

(dermatologique, musculaire...) ou pour des effets plus globaux ou subjectifs (amincissant, aphrodisiaque...).

3.5.2. Actions sur la peau

On choisit l'huile végétale de support en fonction de ses qualités de pénétration, selon que l'on vise le derme ou la circulation systémique par exemple, et selon ses qualités intrinsèques (Urquiaga & Leighton, 2000).

Parmi les huiles de support courantes, on trouve l'huile de pépins de raisin, l'huile d'amande douce et l'huile d'argan, mais également l'huile de noisette, l'huile de macadamia, l'huile de tournesol.

3.6. Utilisations

Les industries de la parfumerie, des arômes et du cosmétique sont les principales consommatrices d'huiles essentielles. Ce sont en effet les produits de base utilisés pour ajouter des odeurs, en raison de leur forte volatilité et du fait qu'elles ne laissent pas de trace grasse. Dans l'agro-alimentaire, on utilise aussi des HE pour incorporer aux aliments des saveurs.

- Les huiles essentielles sont très employées pour parfumer les produits cosmétiques : savons, shampoings, gels-douches, crèmes cosmétiques et/ou hydratantes, etc...
- Le secteur des produits ménagers (détergents et lessives par exemple) consomme beaucoup d'huiles essentielles pour masquer les odeurs, souvent peu agréables, des produits purs.
- L'utilisation des huiles essentielles dans les arômes alimentaires est croissante. Les arômes sont omniprésents de nos jours : ils sont utilisés comme exhausteur de goût dans divers produits : cafés, thés, tabacs, vins, yaourts, plats cuisinés, etc...

Il est tout à fait possible de fabriquer soi-même ses produits ménagers : les huiles essentielles constituent un ingrédient de premier plan en raison du caractère antiseptique et fongicide de nombre d'entre elles (Fattarsi, 2006/2007).

3.6.1. Utilisations sanitaires

Les huiles essentielles sont à l'étude pour éloigner les mouches charbonneuses, qui piquent les animaux domestiques (Poichon, 2008) afin d'éviter l'usage d'insecticides.

Les HE sont utilisés en raison de leurs propriétés stimulantes notamment sur les activités cellulaires des plantes et des animaux, ou inhibitrices, par exemple sur les microbes (désinfection).

Elles servent par exemple comme produits phytosanitaires pour combattre les infections fongiques, bactériennes ou virales dans les cultures végétales. Elles apportent des solutions en agriculture biologique en réduisant la pollution, le développement de résistances et autres

effets néfastes des pesticides de synthèse. À l'instar de ce qui est fait pour l'homme, les HE entrent aussi dans la composition de traitements pour les animaux, chez qui elles permettent par exemple de réduire l'apparition des résistances aux antibiotiques conventionnels ou de limiter les effets secondaires (Hilan & Sfeir & Jawish & Aitour, 2006).

3.6.2. Utilisations dans l'industrie alimentaire

Le 11 février 2011, Ira Glass révèle, lors de son émission de radio *This American Life*, que la formule secrète du composé 7x du Coca-Cola a été découverte dans un journal de 1979. La formule trouvée contiendrait pour dix litres d'eau, entre autres, vingt gouttes d'huile essentielle d'orange, trente d'huile essentielle de citron, dix d'huile essentielle de noix de muscade, cinq d'huile essentielle de coriandre, cinq d'huile essentielle de néroli, dix d'huile essentielle de cannelle (François, 2002).

3.6.3. Utilisation thérapeutique

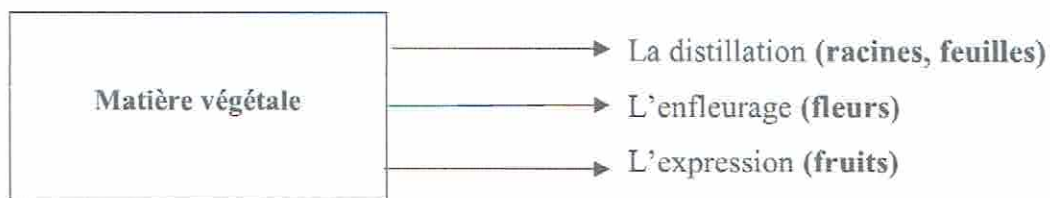
Les huiles essentielles sont utilisées pour soigner dans le cadre de l'aromathérapie, une discipline non réglementée. Certaines huiles essentielles possèdent des propriétés médicalement intéressantes. Leur usage doit être contrôlé car, comme pour tout produit ayant un effet sur le métabolisme, un mauvais dosage ou une mauvaise utilisation peuvent avoir des conséquences néfastes. Ainsi, le millepertuis, le ginkgo ou le pamplemousse peuvent provoquer une diminution ou une augmentation de l'effet thérapeutique d'autres médicaments par interaction médicamenteuse. De même, l'absinthe ou le thuya peuvent être toxiques pour le système nerveux, c'est pourquoi en France certaines huiles essentielles ne peuvent être délivrées que par un pharmacien (Hilan & Sfeir & Jawish & Aitour, 2006).

Seul un petit nombre de ces usages sont soutenus par des données scientifiques fiables, et les vendeurs prêtent facilement à leurs produits toutes sortes de propriétés imaginaires (Valent, 1983). Il s'agit pour certains d'une pseudo-médecine n'ayant pas fait les preuves de son efficacité (Fellah & Ramdhan & Abderraba, 2006). La principale efficacité clinique reconnue de certaines huiles essentielles est une activité antibactérienne³⁴ (beaucoup moins forte que celle des antibiotiques et antiseptiques modernes). Certaines ont également un effet répulsif sur les animaux, en particulier les insectes (Fellah & Ramdhan & Abderraba, 2006). Selon l'EHESP, « les huiles essentielles présentent des propriétés intéressantes qui pourraient être utilisées dans la vie courante, sous réserve d'études supplémentaires. Les données concernant une application à l'homme restent ponctuelles, il serait donc intéressant de pousser les recherches dans ce sens » (Fellah & Ramdhan & Abderraba, 2006).

4. Procédés d'extraction

Les huiles essentielles extraites de la matière végétale par différents procédés. Le choix de la technique dépend de la localisation histologique de l'essence dans le végétal et de son utilisation dans les diverses industries.

4.1. Les différentes techniques d'extraction



4.1.1. La distillation

4.1.1.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

4.1.1.1. a. Hydro-distillation

Cette méthode consiste en un contact entre l'eau bouillante et la matière végétale, qui peut flotter sur l'eau ou être complètement immergée selon sa densité et la quantité à traiter. Les vapeurs sont condensées dans une réfrigération et l'HE se sépare de l'hydrolysât par simple différence de densité l'HE étant plus légère que l'eau, elle surnage au-dessus de l'hydrolysât (figure 1). Cependant, l'hydro-distillation possédait des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (Lucchesi, 2005).

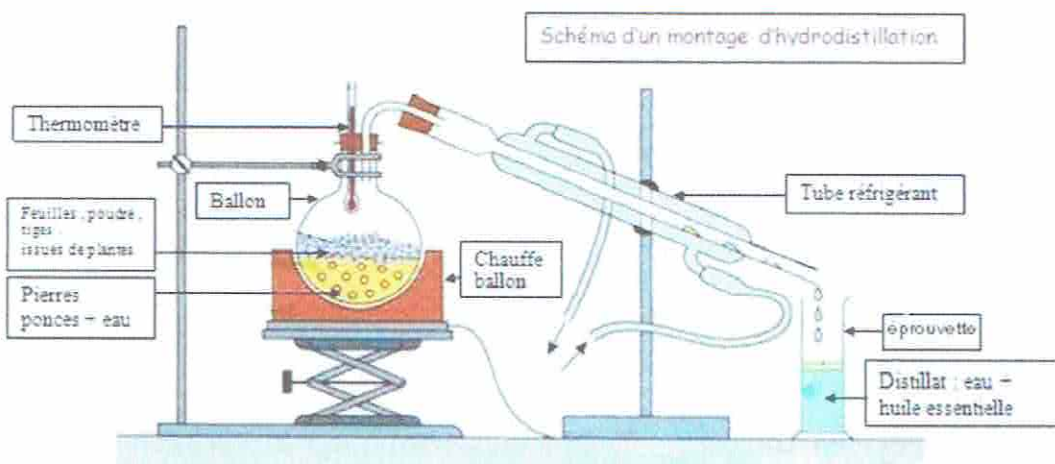


Figure 1 : Schéma d'un montage d'hydro-distillation (Lucchesi, 2005).

4.1.1.1. b. Entraînement à la vapeur

C'est la méthode beaucoup plus efficace qui empêche le distillat de se bruler (Wild Wood, 1996). Selon Valent (1984), le végétal n'est pas en contact avec l'eau, la vapeur d'eau est injectée à travers la masse végétale sur des plaques perforées. Les principaux volatiles n'ayant qu'une solubilité partielle dans l'eau, vont pouvoir être séparés par décantation de distillat refroidi.

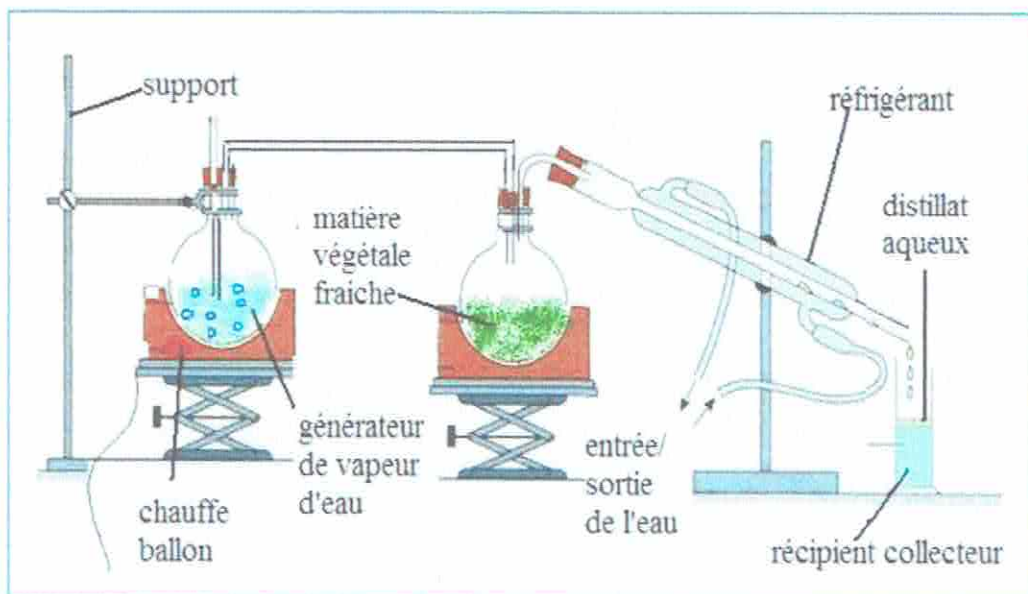


Figure 2 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau (Wild Wood, 1996).

4.1.1.2. Extraction par solvant organique

L'extraction par solvant consiste à faire tremper les plantes dans le solvant volatiles, tel l'hexane ou propylène glycol. Ce mode d'extraction est souvent utilisé quand la distillation à la vapeur d'eau est difficile. Le produit obtenu n'est pas à proprement parler une HE, il est appelé absolue (Barthe, 2005).

4.1.1.3. Extraction par expression

Le principe de la méthode est très simple ; les zestes sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices qui ont été rompus est récupéré par un procédé physique. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau et reçoit tout le produit habituel de l'entraînement à la vapeur d'eau, d'où la dénomination d'huile essentielle (AFNOR) (Bruneton, 1999).

4.1.1.4. Enfleurage

Cette méthode délicate et couteuse est remplacée par l'extraction par les solvants, les oranges (fleur d'organe, pétales de rose) sont mis en contact à la température ambiante avec un corps gras (Paris & Hurabielle, 1981). Puis ce corps gras est épuisé par un solvant qui est évaporé sous vide (Belaiche, 1979).

On distingue l'enfleurage à froid pour les plantes délicates (Jasmine, violette) et l'enfleurage à chaud, la graisse est chauffée entre (60°C-70°C) (Bachelot et *al.*, 2006).

4.1.1.5. Extraction sous pression de CO₂

C'est un procédé relativement récent, mais encore couteux (Wild Wood, 1996). Le dioxyde de carbone refroidi et comprimé à une pression inférieure à la pression critique passe à l'état liquide. Le fluide traverse alors la cuve d'extraction ou dissout l'extrait contenu dans le matériel végétal le dioxyde de carbone CO₂ passe à l'état gazeux, permettent ainsi au soluté de précipiter et d'être récupérée (El Abed & Kambouche, 2003).

4.1.1.6. Incision

C'est une opération très rarement utilisée, elle est spécifique à l'écorce des arbres, il suffit de fondre l'écorce pour en récolter le suc (Salle, 1991).

5. Stratégies de conservation de l'espèce

Deux modes de conservation des plantes s'enrichissent et se combinent : la conservation ex-situ et la conservation in-situ, chacun comportant plusieurs méthodes.

5.1. Conservation in-situ

Cette conservation est utilisée dans le milieu naturel des plantes ou l'espèce continuent à évoluer en synergie avec les autres. Outre celle utilisée dans les champs par les agricultures qui utilisent des semences variées traditionnelles, elle est également employée sur des terrains de parcours, des parcs nationaux ou autres zones protégées. On y a recouru en priorité pour les plantes qui ne peuvent être conservées facilement ex-situ (Pozzi, 2001).

5.2. Conservation ex-situ

Elle se fait hors des lieux de vie des plantes dans des jardins, les arboretums et les laboratoires rassemblant des collections, les spécimens, sont à l'abri des évolutions naturelles et des échanges avec les autres plantes (Pozzi, 2011). Selon (Lévêque, 2001) ; elles jouent un rôle fondamental dans la conservation des espèces en voie de disparition et les programmes de réintroduction, elles constituent l'outil essentiel pour la gestion des ressources génétiques des plantes utiles.

5.3. Biologie de la conservation

La biologie de la conservation est née à la fin des années 1970. Elle a pour objectifs d'évaluer l'impact des actions de l'homme sur les espèces, les communautés et les écosystèmes et de faire des propositions concrètes pour lutter contre la dégradation des écosystèmes. Alors que la protection de la nature a recours essentiellement aux moyens réglementaires pour soustraire les espaces et les espèces aux actions de l'homme, la biologie de la conservation utilise des concepts et théories empruntés à l'écologie, ou qu'elle contribue à développer, pour mettre en œuvre des actions concrètes et proposer des méthodologies appropriées pour la conservation de la nature. Elle travaille dans l'urgence puisque des espèces et des habitats menacés risquent de disparaître en l'absence de mesures efficaces.

La biologie de la conservation trouve un champ d'application dans la mise en œuvre de la conservation sur la diversité biologique. Il impose de confronter des options possibles en matière de conservation avec les avancées théoriques en biologie, en génétique et en biogéographie, en prenant en compte les apports de l'éthologie, de la physiologie et de l'économie.

Les restaurations et la réhabilitation d'habitats, la réintroduction d'espèces joueront des rôles de plus en plus importants dans la reconstitution de la diversité biologique. Cela demande à la fois des approches ex-situ et in-situ (Lévêque, 2001).

5.4. Durée de conservation

La plante sèche à une bonne stabilité, puisque la cellule végétale est dépourvue d'eau, elle conserve donc très bien son contenu en principes actifs. Cependant, en générale, les racines, les tiges et les graines se conservent mieux que les feuilles. Celles-ci sont la partie la plus fragile de la plante et se conservent par conséquent moins bien (Sophie, 2003).



MATERIELS & METHODES

MATERIELS & METHODES

1. Objectifs du travail

Deux aspects principaux font l'objet de cette étude : le premier est biochimique qui a pour but d'extraire l'huile essentielle d'une espèce végétale (*Chinopodium nepeta* L.) et le deuxième est microbiologique qui permettra de mettre en évidence leur activité antibactérienne vis-à-vis de 4 souches pathogènes.

2. Matériels

2.1. Choix du matériel biologique

Notre travail porte sur l'étude d'une espèce végétale dite le calament (*Chinopodium nepeta* L.) appartenant à la famille des Lamiacées. Le choix de cette espèce est d'une part lié à son statut d'une plante introduite, médicinale et aromatique poussant à l'état spontané et d'autre part par le rendement en huile susceptible d'être important. La récolte de cette plante a été effectuée au mois de Mars 2021 au niveau de la région de Sidi Bel-Abbès.

2.2. Préparation du matériel végétal

La plante récoltée est débarrassée des impuretés et des débris, étalée sur le sol et laissée séchée pendant une semaine à la température ambiante. Elle est ensuite broyée puis conservée à l'abri de la lumière et de l'humidité.

3. Obtention des huiles essentielles (HE)

L'extraction des huiles essentielles (HE) à partir de cette plante est réalisée au Laboratoire de Chimie Analytique du Département de Pharmacie de la Faculté de Médecine de Sidi Bel-Abbès. La technique utilisée est celle de l'hydrodistillation (distillation à vapeur d'eau).

3.1. Procédé d'extraction

Seules les feuilles de *Chinopodium nepeta* ont été utilisées pour l'obtention des HE. La matière végétale est pesée puis introduite dans un ballon contenant 500 ml d'eau distillée.

L'ensemble est porté à ébullition dans un chauffe ballon pendant trois heures. La vapeur d'eau provoque l'éclatement des cellules végétales ainsi la libération de leur contenu en huiles essentielles. Cette vapeur traverse un réfrigérant où elle se condense puis le distillat (eau + huile essentielle) est récupéré dans une ampoule à décanter (figure 1).

3.2. Décantation

Après extraction, le distillat est récupéré dans une ampoule à décanter. Par la suite, deux phases sont observées : une phase aqueuse contenant l'eau et une phase huileuse contenant l'huile essentielle qui sera ensuite récupéré dans un tube à essai.



a



b



c

Figure 1 : Dispositif d'extraction des huiles essentielles de *Clinopodium nepeta* (L.) par hydrodistillation.

Pour éviter la dégradation de ces huiles sous l'action de l'air ou la lumière, ces dernières sont conservées dans des tubes en verre, enveloppées avec du papier aluminium à une température de 4°C.

4. Analyse des huiles essentielles (HE)

Pour étudier la qualité de notre HE, nous avons effectué des analyses quantitatives et qualitatives.

4.1. Analyse quantitative

4.1.1. Les rendements

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE en gramme (M_{HE}) obtenue après distillation et la masse du matériel végétal en gramme (M_{MV}). Il est exprimé en pourcentage (%) et donné par la formule suivante :

$$R_{HE} (\%) = M_{HE} / M_{MV} \times 100 \text{ (Afnor, 1982).}$$

R_{HE} : Rendement en HE (%);

M_{HE} : Masse d'HE (g);

M_{MV} : Masse de matériel végétal (g).

4.2. Analyse qualitative

4.2.1. Contrôle organoleptique

Consiste à contrôler les caractéristiques organoleptiques d'HE obtenue c'est-à-dire l'aspect, la couleur et l'odeur.

4.2.2. Etude de l'activité antimicrobienne

Nous avons choisi d'étudier différentes espèces bactériennes citées ci-après, pour nous donner une idée de l'étendue du champ d'activité antimicrobienne de l'HE de calament. La technique a été réalisée au niveau du Laboratoire de Nutrition et Physiologie du Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature & de la Vie. Université de Sidi Bel-Abbès.

4.2.2.1. Provenance des microorganismes

Les tests effectués au cours de ce travail se feront sur 4 souches bactériennes référenciées dont 1 de type Gram⁺ (*Bacillus cereus* ATCC 10876) et 3 de type Gram⁻ (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 70060); (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) et (*Proteus mirabilis* ATCC 35659). Ces souches bactériennes utilisées nous ont été fournies par l'Institut Pasteur d'Alger.

4.2.2.2. Technique d'étude microbiologique

La technique utilisée est dite technique des disques ou de Vincent.

- Milieux de culture utilisés

Les milieux de culture utilisés sont les suivants :

- Gélose nutritive ;
- Gélose de Mueller Hinton.

Ces milieux ont été stérilisés.

a. Méthode de diffusion en milieu gélosé (technique des disques ou de Vincent)

C'est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis d'une substance réputée antimicrobienne. Elle permet de doser l'activité réelle de l'extrait et sa biodisponibilité : l'extrait se diffuse à partir des disques déposés sur la géloseensemencée avec la souche étudiée après 18-24 heures d'incubation. L'activité antimicrobienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle transparente, le diamètre de la zone d'inhibition déterminée par les différentes concentrations d'extrait autour des disques (Damintoti et *al.*, 2005).

Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par les substances à tester. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire de ces substances sur milieu gélosé solide (gélose Muller Hinton Agar).

b. Préparation de l'inoculum

Les tests antimicrobiens doivent être réalisés à partir de cultures jeunes de (18 à 24 heures) en phase de croissance exponentielle. La réactivation des espèces est effectuée par ensemencement de l'espèce bactérienne dans la gélose nutritive, puis incubées pendant 18 heures à 37°C. Ensuite, la dilution des espèces a été réalisée dans l'eau physiologique de telle façon à obtenir une suspension d'opacité équivalente à celle de Mac Farland 0.5 (10^6 UFC/ml) (Joffin & Leyral, 2001).

c. Préparation des différentes concentrations d'huile de calament

Différentes concentrations ont été préparées à partir de l'huile de calament qui sont comme suite : 25%, 50%, 75% et 100% (tableau 1).

Tableau 1 : Dilutions de l'huile de calament.

	100%	75%	50%	25%
Huile de calament (μ l)	1000	750	500	250
Solution Twin 80 (μ l)	0	250	500	750

d. Ensemencement

L'ensemencement est réalisé par inondation. 1ml de chaque suspension microbienne isolée, identifiée et probablement préparée, est réalisée sur des boites des pétri contenant de la gélose Muller Hinton.

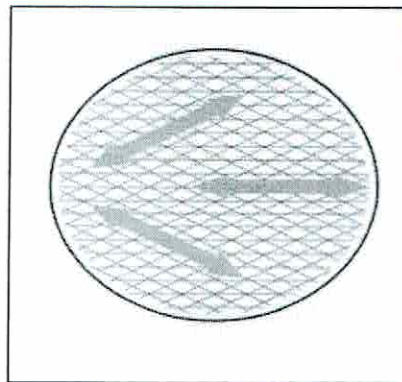


Figure 2 : Ensemencement par stries (Hessas & Simoud).

e. Dépôt des disques

Des disques de 6 mm de diamètre, découpés avec du papier filtre, stérilisés et imprégnés de différentes concentrations d'huile, ont été déposés stérilement sur la gélose Muller Hinton contenue dans des boites de pétri. Ces dernières sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 h (Berche et *al.*, 1989).

f. Lecture de résultats

La lecture s'effectue par la mesure de diamètre d'inhibition observé autour des disques de différentes concentrations de l'extrait.

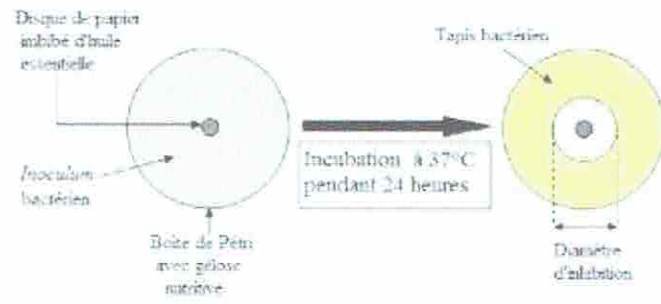


Figure 3 : Principe de la méthode de diffusion disque (Guinoiseau, 2010).



RESULTATS

RESULTATS

1. Analyse des huiles essentielles (HE)

Pour étudier la qualité de notre HE, nous avons effectué des analyses quantitatives et qualitatives.

1.1. Analyse quantitative

1.1.1. Rendement en huiles essentielles

Le rendement en HE de *Chinopodium nepeta* L. étudié obtenu par hydrodistillation et celui d'autres espèces médicinales du même genre est représenté dans le tableau 1 cité ci-dessous :

Tableau 1 : Rendement en HE de la plante étudiée comparée avec d'autres plantes de la même espèce et de la même famille.

Plantes	Rendement en HE (%)
<i>Clinopodium Nepeta</i> "plante étudiée" (Sidi Bel-Abbès)	2.60
<i>Clinopodium Nepeta</i> (Tlemcen)	0.53
<i>Clinopodium Nepeta</i> (Aïn Temouchent)	0.43
<i>Salvia officinalis</i> (Sidi Bel-Abbès) (Barous & Atia, 2012)	0.62

Les résultats obtenus dans ce tableau révèlent que le rendement en huile essentielle varie d'une espèce à une autre et que le nôtre est nettement supérieur (2.60%) à celui obtenu respectivement avec les autres espèces de Sidi Bel-Abbès "*Salvia officinalis*", Tlemcen et Aïn Temouchent "*Chinopodium Nepeta*" (0.62, 0.53% et 0.43%).

1.2. Analyse qualitative

1.2.1. Contrôle organoleptique

Les huiles extraites à partir de *Chinopodium nepeta* apparaissent sous forme d'un liquide limpide, d'une couleur **jaune pâle**, caractérisées par une **forte** odeur **fraîche** rappelant la plante (figure 1).



Figure 1 : Huile essentielle de *Chinopodium nepeta* L.
(Cliché Bireche, 2021).

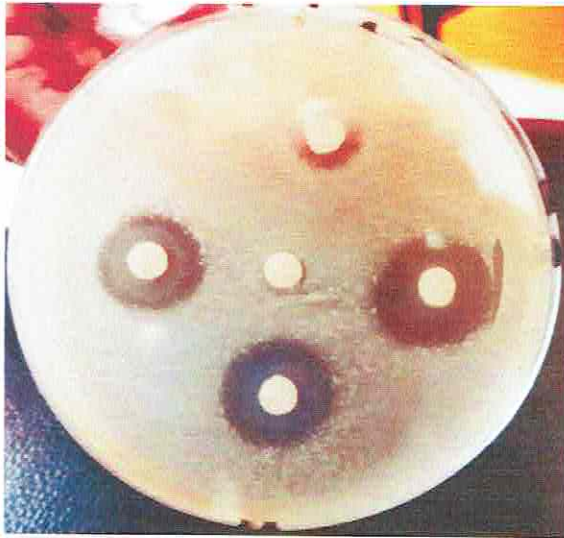
1.2.2. Evaluation de l'activité (pouvoir) antibactérienne

1.2.2.1. Méthode de diffusion en milieu gélosé (technique des disques ou de Vincent)

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile de calament extrait (*Chinopodium nepeta* L.) nous a permis de mettre en évidence des différents niveaux d'efficacité sur les souches bactériennes (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiela pneumoniae*).

La sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis de l'huile de calament est caractérisée par des zones d'inhibition variables d'une souche à une autre en fonction des concentrations d'huile utilisées. Ces zones qui sont représentées par un halo translucide (clair) montre la destruction des germes pathogènes et évalué donc l'efficacité d'huile testée (figure 2).

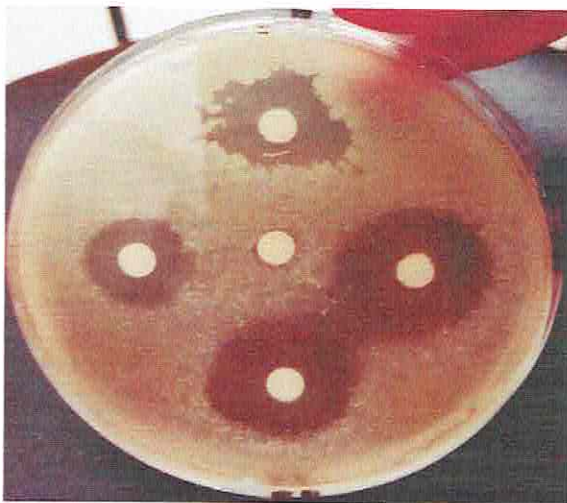
Le tableau 2 cité ci-dessous montre que l'huile de calament extraite au laboratoire par hydrodistillation, s'est montrée efficace sur l'ensemble des souches mais à des degrés variables et à partir de la solution à 25%. En effet, les *Pseudomonas aeruginosa* représentent la souche la plus sensible, avec des diamètres d'inhibition importants qui atteignent un maximum de 25 mm à la concentration de 100% d'huile de calament suivi de *Proteus mirabilis* qui s'est montré moins sensible avec un diamètre de 24 mm à la même concentration. Cependant, cette huile était moins efficace sur les *Klebsiela pneumoniae* et *Proteus mirabilis* qui ont manifestées une plus grande résistance avec un faible diamètre d'inhibition qui est de l'ordre de 7 et 10 mm respectivement au niveau de la solution 50% et 75%.



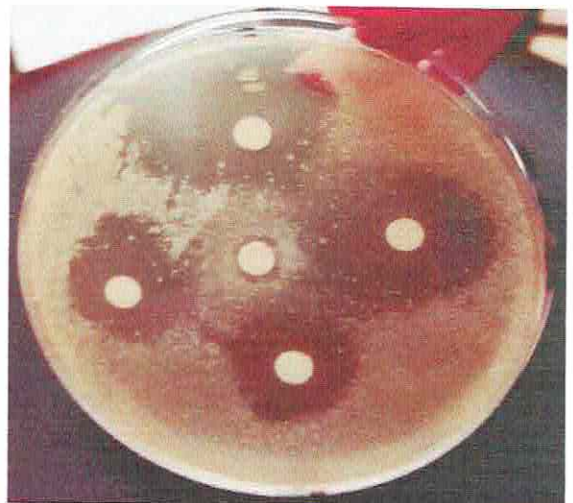
Bacillus subtilis



Proteus mirabilis



Pseudomonas aeruginosa



Klebsiella pneumoniae

Figure 2 : Résultats de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé (technique des disques ou de Vincent) (Cliché Bireche, 2021).

Tableau 2 : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne des différentes concentrations d'huile de calament (mm).

Dilutions (%)	25%	50%	75%	100%
Souches				
<i>Bacillus subtilis</i>	12	17	19	20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	18	23	25
<i>Proteus mirabilis</i>	12	7	20	11
<i>Klebsiela pneumoniae</i>	13	20	10	24

1.2.2.2. Détermination de la CMI

Selon l'OMS, la CMI est la concentration minimale inhibitrice d'une substance antiseptique capable de provoquer une inhibition complète de la croissance d'une souche appréciable à l'œil nu après une période d'incubation (Euzéby, 2001).

Tableau 3 : Evaluation de CMI de l'extrait brute de *Ruta Montana*.

Souche Microbienne	CMI (%)
<i>Bacillus subtilis</i>	≤ 25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	≤ 25
<i>Proteus mirabilis</i>	≤ 25
<i>Klebsiela pneumoniae</i>	≤ 25

Le tableau 3 illustre les valeurs de la CMI d'huile essentielle de *Chinopodium nepeta* pour les différentes souches microbiennes étudiées. Les résultats obtenus montrent que les quatre microorganismes présentent une CMI ≤ 25 .



DISCUSSION

DISCUSSION

1. Analyse quantitative

1.1. Rendement en huiles essentielles

Les résultats obtenus sur le rendement de l'huile essentielle extraite de *Chinopodium nepeta* par la technique d'hydrodistillation varie d'une espèce à une autre et d'une région à l'autre.

Les feuilles de la plante *Clinopodium nepeta* étudiée achetée du commerce au niveau de la wilaya de Sidi Bel-Abbès présentent un rendement plus important avec une valeur de 2,60 % en comparaison avec d'autres travaux similaires sur la même espèce comme ceux de (Attou, 2018) et de (Attou, 2018) qui ont trouvé respectivement des rendements de l'ordre de 0,53 % et de 0,43 % pour des feuilles provenant de la wilaya de Tlemcen et des feuilles de la région de Aïn Témouchent. Le rendement de notre espèce est aussi supérieur à celui d'une autre espèce de la même famille des labiacées "*Salvia officinalis*" avec 0.62 % de la région de Dhaya la wilaya de Sidi Bel-Abbès (Barous & Atia, 2012).

Cette différence pourrait être expliquée par le choix de la période de récolte car elle est primordiale en terme de rendement et la qualité de l'HE, le climat, la zone géographique, la génétique de la plante, l'organe de la plante utilisée, le degré de fraîcheur, la période du séchage, la méthode d'extraction employée...etc sont entre autres des facteurs qui peuvent avoir un impact direct sur les rendements en HE. Donc le rendement en huile essentielle est très variable d'une espèce à l'autre et au sein d'une même espèce.

Le pouvoir antimicrobien de l'HE de notre plante (*Chinopodium nepeta*) a été évalué grâce à la méthode de diffusion sur un milieu gélosé (Muller Hinton) dite la technique des disques, les résultats obtenus montrent que toutes les concentrations de l'extrait ont réagi positivement au moins sur une des souches testées. Les résultats obtenus confirment une autre fois de plus l'efficacité des extraits des plantes médicinales et leur pouvoir antiseptique qui vient rivaliser celui des antibiotiques. En effet, nous constatons que notre plante est douée de propriétés antimicrobiennes très appréciées et cela justifie son utilisation dans le traitement traditionnel comme un remède antimicrobien.

2. Analyse qualitative

2.1. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation du potentiel antibactérien des extraits montre que l'extrait d'huile de notre plante a pu réagir sur les germes testés. En effet, les quatre souches se sont montrées sensibles avec des diamètres d'inhibition compris entre 7 et 25 mm, ainsi les *Pseudomonas*

aeruginosa et *Klebsiella pneumoniae* représentent dans cette étude les souches les plus sensibles sous l'effet de notre extrait. Nos résultats sont en accord avec plusieurs auteurs qui montrent que les bactéries à Gram négatif peuvent être sensibles sous l'action des huiles (Moreira et al., 2005), à cela, viendra par la suite les *Bacillus subtilis* et les *Proteus mirabilis* suivant l'ordre décroissant de sensibilité. De ce fait, nos résultats montrent donc une grande variabilité des qualités bactériostatiques des extraits vis-à-vis des différentes souches. L'extrait s'est montré donc plus efficace sur la souche à gram négatif que les souches bactériennes testées à gram positif. La résistance de ces dernières n'est pas surprenante, en fait, ces bactéries possèdent une résistance intrinsèque aux agents biocides qui est en relation avec la nature de leurs membranes externes composées de lipopolysaccharides et qui forment une barrière imperméable aux composés hydrophobes. En présence d'agents perméabilisant de la membrane externe, des substances inactives contre ces bactéries deviennent actives.

Selon (Rojas et al., 1992 ; Marjorie, 1999), l'activité antibactérienne des extraits de plantes est due aux différents agents chimiques présents dans ces extraits, y compris les huiles essentielles, les flavonoïdes et les triterpénoïdes ainsi que d'autres composés de nature phényle libres, qui sont classifiés comme composés antibiotiques très actifs.

Par ailleurs, l'utilisation abusive des antibiotiques affaiblit notre immunité ; or le remplacement de ces antibiotiques par des essences naturelles empreinte le chemin inverse, celui de renforcer cette immunité.



CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Ce travail a été entrepris dans le but de faire d'une part, une **extraction des huiles essentielles** de *Clinopodium nepeta* et d'autre part, **évaluer l'activité antibactérienne** de ces huiles vis-à-vis de quelques souches pathogènes.

Ceci dit, nous valorisons une plante médicinale et aromatique (*Clinopodium nepeta* L.), fréquemment utilisée dans la pharmacopée traditionnelle, commercialisée et achetée au niveau de la ville de Sidi Bel-Abbès. A cela, nous effectuons une mise en évidence de l'effet antibactérien des HE de cette plante "*in vitro*".

De l'ensemble des résultats que nous venons d'analyser, il est important de conclure :

La médecine moderne constitue parfois un énorme problème pour la santé publique, du fait de l'utilisation des médicaments synthétisés avec des produits chimiques, mais cette situation peut être mieux contrôlée par l'utilisation de produits naturels à base de plantes.

Le rendement en huile essentielle extraite par la technique d'hydrodistillation de la plante étudiée (*Clinopodium nepeta*) "2,60%" est considérable comparée avec les autres plantes de la même espèce et la même famille prises en compte dans notre étude.

D'après notre étude du pouvoir antimicrobien, nous constatons que l'HE de (*Clinopodium nepeta* L.) active sur l'ensemble des souches surtout les souches à Gram négatif que positif. Selon ces résultats, nous pouvons prédire que l'huile essentielle étudiée est un agent antimicrobien naturel efficace à certaines concentrations et, peut-être une source de conservation pour limiter les empoisonnements d'origine bactérienne, notamment l'huile de calament qui présente une CMI à partir de 25%.

Finalement, nous espérons par cette étude qui confirme l'intérêt des HE, de donner de l'importance aux plantes médicinales et aromatiques, car il y a là, un vaste champ de recherche d'autant plus séduisant que son exploitation, implique la mise en valeur de nos ressources naturelles locales.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Sofowora, a** plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique **2010** : business Media
- Gromond,** la phytothérapie. Bulletin des GTV, hors-séries : Elevage et agriculture biologique, **2001** : p.143-144.
- Beauvais M. (2000).** Promenades les plantes médicinales. Ed. Dunod. Paris .153p.
- Alhawiriny T.A.** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of salvia Medicinal, aromatic and poisonous plants research center. King Saud University, Saudi Arabia, **2002**. P47-48.
- BITTENCOURT PL., FARIAS AQ., PORTA G., et al.** Frequency of concurrent auto-immune disorders in patients with auto-immune hepatitis: effect of age, gender, and genetic background. J Clin Gastroenterol **2008**;42: 300-305.
- BLACHIER M., et al.** The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. J Hepatol **2013**; 58 (3): p. 593-608.
- G. FOCHE ; A. MARQIET ; A. HAMBUECKERS ;** exposition temporaire du **19-09-2000** au **30-06-2000** ; les plantes médicinales : de la plante au médicament ; Sart-Tilman, B77.B-4000 Liège.
- Delaveau P (1983)** Histoire et renouveau des plantes médicinales. 1re édition. Albin Michel, Paris.
- Aissat Camara.** lutte contre sitophilus oryzael. (Coleoptera : curculionidae) et tribolium astaneuhrbst (oleoptera : tenebrionidae) dans le stok de riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiqué en basse-guinée et l'utilisatinades huiles essentielles végétales thés doctorat en sciences de l'enivrement. Université du Québec à Montréal. **2009**.
- Opsey k. and b.r. lerner. 2002.** gronigherbs. generalhorticulture; ho-28- dearteent of horticulture purdue uniersity.usa.4pp.
- Oroburnonzo e. (2005).** Grande guide des huiles essentielles (santé eauté bien-etre). Ed. Hahettepratique. Italie .242p
- Barth s. (2005).** Les huiles essentielles : désintoïque et fortifier lorganise soulager os ots gre au huiles esntielles. Un éritale guide sur l'utulisation des huiles. E franc elusif. paris . 254p.
- Eberhard t. Robert a. et Annelise l. (2005).** Plantes aromatiques : epies ; aromates ; ondiend et leurs huiles essenstielles. Ed te & oc. Paris.521p
- Ild ood.c.1996.** L'aromathéraie, les bienfaits des he. Enquotidien. Paris.ed.12.15.19.
- El Abed d, Kambouche n. oran 2003.** Leshe. Ed dar el Gharb

Bruneton, j.1999. Phytochimie des plantes médicinales .2eme édition. Technique et documentation Lavoisier. Paris .915p.

Barthe S. les HE. 2005. Désintoxiquer et fortifier l'organisme, soulager vos maux grâce aux EH, un véritable guide sur l'utilisation des huiles. France exclusive. 12-13.

Garnier G.1991. Les HE,leur obtention,leurs compositions, leur analyses et normalisation technique. Encephal. Med. Nat. Phyt. Aromathérapie 2.20.

Geste A, Seguin E, Paris M.2001.Orchid AM : le préparateur en pharmacie.Dossier2. « Botanique-pharmacognosie-phytothérapie »

Giles W.1976. L'encyclopédie des médecines naturelles et des secrets de santé,**Elima, Lavoisier,Paris.212-222**

Urquiaga I. et Leighton F.2000. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. Biological Research.,33(2): 55-64.

Fattarsi K. les terpènes Rapport de master 1 chimie 2006/2007.

Fellah S. Ramdhan M. Abderraba M. extraction et étude des huiles essentielles de salvia dans deux régions différentes de la Tunisie. Tunisie,2006

Valent J. Aromathérapie.1983. Traitement des maladies par essences des plantes. Paris.Maloine Ed.525.

Hilan C, Sfeir R, Jawish D et Aitour S – Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae – Lebanese Science Journal ; vol.7 N°2.2006.

Poichon M. (2008). Etude des huiles essentielles d'espèce végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. Mémoire, université du Québec Chicoutimi, Canada

François H. Précis de phytothérapie. Masson Ed. Paris, 2002.

Lucchesi M.E. (2005). Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat en Sciences, discipline : Chimie. Université de la Réunion. Faculté des sciences et technologies.

Hessas Thafsouth, Simoud Sonia, 2018

• **Sites d'Internet consultés:**

- <https://www.jardiner-malin.fr>
- <https://www.rustica.fr>

ANNEXE

RESUME

Le but de ce travail est de faire d'une part, une extraction des huiles essentielles de *Chinopodium nepeta* et d'autre part, évaluer l'activité antibactérienne de ces huiles vis-à-vis de quelques souches pathogènes. L'extraction des huiles essentielles (HE) à partir de cette plante est réalisée par hydrodistillation. Des analyses quantitatives et qualitatives c'est-à-dire le rendement en huile essentielle extraite de la plante, un contrôle des caractéristiques organoleptiques d'HE obtenue et l'évaluation de l'activité antibactérienne de ces huiles vis-à-vis de quelques souches pathogènes ont été effectuées.

Nos résultats ont été les suivants :

- Le rendement en HE de *Chinopodium nepeta* L. est nettement supérieur (2.60%) à celui obtenu respectivement avec les autres espèces de Sidi Bel-Abbès "*Salvia officinalis*", Tlemcen et Aïn Temouchent "*Chinopodium Nepeta*" (0.62%, 0.53% et 0.43%).
- Les huiles extraites à partir de *Chinopodium nepeta* apparaissent sous forme d'un liquide limpide, d'une couleur jaune pâle, caractérisées par une forte odeur fraîche rappelant la plante.
- L'huile de calament s'est montrée efficace sur l'ensemble des souches mais à des degrés variables et à partir de la solution à 25%. En effet, les *Pseudomonas aeruginosa* représentent la souche la plus sensible, suivi de *Proteus mirabilis* qui s'est montré moins sensible. Cependant, cette huile était moins efficace sur les *Klebsiella pneumoniae* et *Bacillus subtilis*.

En conclusion, le rendement en huile essentielle extraite par la technique d'hydrodistillation de la plante étudiée (*Clinopodium nepeta*) "2,60%" est considérable comparée avec les autres plantes de la même espèce et de la même famille prises en compte dans notre étude. Le pouvoir antimicrobien de l'HE de (*Clinopodium nepeta* L.) active sur l'ensemble des souches surtout les souches à Gram négatif que positif. Selon ces résultats, nous pouvons prédire que l'huile essentielle étudiée est un agent antimicrobien naturel efficace à certaines concentrations et, peut-être une source de conservation pour limiter les empoisonnements d'origine bactérienne, notamment l'huile de calament qui présente une CMI à partir de 25%.

Mots clés : *Clinopodium nepeta* ; Hydrodistillation ; Huile essentielle; Rendement ; Technique des disques ou de Vincent; Activité antibactérienne ; CMI.