



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Fondamentale et Appliquée

Référence /

Présenté et soutenu par :

Houda BENRIALA / Souheila BENOUI

Le : Mardi 9 juillet 2019

Etude de l'activité antibactérienne de le huile essentielle de *Pituranthos scoparius* seule et en combinaison avec les antibiotiques et évaluation de son activité antioxydante .

Jury :

Med.Fatma Z BENABDELLAH	MAA	Université de Biskra	Président
M.Redouane REBAI	MCB	Université de Biskra	Examineur
Med. Lamia BOUDJEDJOU	MAA	Université de Biskra	Rapporteur

Année universitaire : 2018 – 2019

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mohamed Khider Biskra

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de
Master
Spécialité : Biochimie Appliquée

**Etude de l'activité antibactérienne de l'huile
essentielle de *Pituranthos scoparius* seule et en
combinaison avec les antibiotiques et évaluation de
son activité antioxydante**

Présenté et soutenu par :
Le:9 juillet 2019

Jury :

Mme. Fatma Z BENABDELLAH	MAA	Mohamed Khider Biskra	Président
M. Redouane REBAI	MCB	Mohamed Khider Biskra	Examineur
Mme. Lamia BOUDJEDJOU	MAA	Mohamed Khider Biskra	Rapporteur

Année universitaire : 2018 - 2019

Remerciements

*En toute simplicité, nous tenons à remercier Allah de nous avoir guidé,
aidé et éclairé notre chemin.*

*Au terme de ce travail nous tenons à remercier en premier lieu notre
promotrice **Mme. BOUDJEDJOU Lamia.** de nous avoir accompagné
durant cette recherche, pour ses orientations, ses encouragements et
surtout pour ses précieux conseils.*

*Nous tenons à remercier les membres de jury d'avoir accepté
d'examiner notre
travail.*

*Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance et notre
sincère
gratitude à tous les enseignants qui nous ont accompagnés durant ce
cursus
Universitaire.*

*Finalement, il nous est agréable d'adresser nos remerciements à tous
ceux qui
ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail*

Dédicace

À nos parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que nous avons toujours eu pour vous.

Merci de nous avoir fait confiance, d'avoir été notre pilier, dans les bons comme dans les mauvais moments et d'avoir tout fait pour nous permettre de réaliser notre rêve.

Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour notre éducation et notre formation.

À nos frères, nos belles-sœurs

Nos anges gardien et nos fidèles compagnons dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse. Les mots *ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que nous portons pour vous.*

Au reste de notre belles et grandes familles «Ben oui, Benriala »

Par leurs présences dans tous nos moments par leur soutien moral et leurs belles surprises sucrées.

À nos amis de toujours «Ferial H ,Hamida B, kalissa B, Soumia B ,Amel M, Samira B»

Pour tous les moments inoubliables passés au *cours de ces cinq années qui n'ont pas toujours été faciles.* On y est arrivé ! Merci à toutes et à bientôt !

À nos amis fidèles

En particulier «Ahlam Doubbakhe, Rachida Gat , Ahlem Lamri, Sara CHala»

Nous ne pouvons trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer nos affections et nos pensées,

HOUDA et SOUHEILA

Liste des tableaux

Tableau1. Classification botanique d' <i>Pituranthos scoparius</i>	11
Tableau2. Résultats de l'activité antibactérienne d'antibiotique de <i>Pituranthos scoparius</i> testée sur les trois Antibiotiques bactériennes.....	21
Tableau3. Résultats de l'activité antibactérienne d'antibiotique de <i>Pituranthos scoparius</i> testée sur les trois souches bactériennes.....	23
Tableau4. Résultats du test de la combinaison de l'HE de <i>Pituranthos scoparius</i> avec les ABs.....	24
Tableau5. Activité de piégeage du radical DPPH par l'HE étudiée.....	27

Liste des figures

Figure01: Sites d'action antibactérienne des huiles essentielles (Burt, 2004).....	7
Figure02: <i>Pituranthos scopariu</i>	10
Figure03 : <i>Pituranthos scoparius</i> en petits morceaux.....	12
Figure04: Montage de la distillation par entrainement à la vapeur d'eau. (Type Clevenger).....	14
Figure05 : Ensemencement bactérien.....	15
Figure06: Aromatogramme sur boîte de pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque imprégné de l'HE Extraite. Zeraib(2016).....	16
Figure07: l'huile extraite au laboratoire.....	20
Figure08 : Photos illustrant la sensibilité des souches bactériennes testées vis-vis de l'HE de <i>Pituranthos scoparius</i> (Photos originales).....	24
Figure09 : Photos illustrant la sensibilité des souches bactériennes testées vis-vis de ABs et l'HE de <i>Pituranthos scoparius</i>	26
Figure10. Variation du pourcentage d'inhibition du DPPH• en fonction des concentrations de l'HEs.....	28
Figure 11: Activité antioxydant de l'acide ascorbique	29
Figure12 : pouvoir réducteur de l'huile essentielle de <i>pituranthos scoparius</i>	30
Figure13 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.....	30

Liste de l'abréviation

AA% : Activité antioxydante.

ABs : Antibiotiques.

Abs : Absorbance .

AML : Amoxicilline.

ATCC: American Type Culture Collection.

CE 50 : Concentration efficace (Concentration inhibitrice de 50 %).

CI50 : Concentration inhibitrice de 50 %.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice .

CZ : Céfazoline .

D : Diamètre.

DPPH : 2,2-Diphényle-1 - Picryl-Hydrazyl.

DMSO : Diméthyl sulfoxyde .

E.coli : *Escherichia coli* .

FRAP : Ferric reducing antioxidant power.

Gent : Gentamicine.

GN : Gélose nutritive.

HE : Huile essentielle.

MH : Muller Hinton.

P. aeruginosa: *Pseudomonas aeruginosa*.

R : Rendement .

ROS : Espèce réactif oxygène .

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

Table de matières

Remerciements	
Dédicace	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction générale	1
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique	
1.1. Généralités sur les huiles essentielles	3
1.1.1. Définition des huiles essentielles	3
1.1. 2. Répartition et localisation dans le règne végétal	3
1.1.3. Techniques d'Extractions des huiles essentielles.....	3
1.1.3.1. Hydrodistillation.....	3
1.1.3.2. Extraction par entrainement à la vapeur d'eau	3
1.1.3.3. Expression à froid	4
1.1.3.4. Extraction au co2 en phase super critique.....	4
1.1.3. 5. Extraction par solvant chimique.....	4
1.1. 4.Composition chimique des HE s.....	4
1.1.4.1. Les terpènes	5
➤ Les mono terpènes.....	5
➤ Les sesquiterpènes	5
1.1.4.2. Les composés aromatiques.....	5
1.1.5. Facteur influençant la composition des HE s.....	6
1.2. Activité biologique des HE s.....	6

1.2.1. Activité antibactérienne	6
1.2.1.1. Mode d'action antibactérien des huiles essentielles	6
1.2.1.2. Les antibiotique	7
1.2.1.3. Mode d'action des antibiotiques.....	8
1.2.2. Activité antioxydant.....	8
1.2.2.1. Les radicaux libres	8
1.2.2.2. Les Anti oxydants	9
➤ Les antioxydants endogène.....	9
➤ Les antioxydants exogènes	9
1.2.2.3. Stress oxydatif	9
1.3. Aspect botanique de l'espèce étudiées <i>Pituranthos scoparius</i>	9
1.3.1. Taxonomie et distribution de la famille des apiacées.	9
1.3.2. Le genre <i>Pituranthos</i>	10
1.3.3. L'espèce <i>Pituranthos scoparius</i> (Coss et Dur.) Benth. et Hook.	10
1.3.3.1. Répartition et Description botanique.....	10
1.3.3.2. Classification de la plante.....	11
1.3.4. Propriétés thérapeutiques et emplois.....	11
1.3.5. Les travaux antérieurs	11

Chapitre 2 : Partie expérimentale

2.1. Matériel	12
2.1.1. Matériel végétal.	12
2.1.2. Souches bactériennes.....	12
2.1.3. Matériel de laboratoire	13

a. Réactifs	13
b. Instruments et appareillage.....	13
2.2. Méthodes.....	13
2.2.1. Extraction des huiles essentielles	13
2.2.2. Calcul du rendement en HE.....	14
2.2.3. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles par la méthode de disque. « Aromatogramme sur milieu solide »	14
2.2.3.1. Repiquage des souches microbiennes	15
2.2.3.2. Préparation de l'inoculum bactérien	15
2.2.3.3. L'ensemencement	15
2.2.3.4. Test de l'activité antibactérienne.....	16
2.2.4. Evaluation de l'effet antibactérien de l'association de l'HE avec les ABs.....	16
2.2.4.1. Analyse statistique.....	16
2.2.5. Evaluation de l'activité antioxydant.....	17
2.2.5.1. Piégeage du radical libre DPPH.....	17
a-Principe.....	17
b-Mode opératoire.....	18
➤ Calcul de l'CI50.....	18
2.2.5.2. Test de la réduction du fer FRAP.....	18
a-Principe.....	18
b-Mode opératoire.....	19

Chapitre 3 : Résultats et discussion

3.1. L'huile essentielle de <i>Pituranthos scoparius</i>	20
3.1.1. Caractéristiques physiques.....	20
3.1.2. Rendement.....	20
3.2. L'activité antibactérienne.....	21
3.2.1. L'antibiogramme.....	21
3.2.2. L'aromatogramme.....	22
3.3. L'effet du test de la combinaison des ABs et l'HE.....	25
3.4. Activité antioxydante.....	27
3.3.1. Evaluation de l'activité antiradicalaire par le DPPH•.....	27
3.3.2. Evaluation de l'activité antiradicalaire par test de FRAP.....	30
Conclusion	32
Références bibliographiques	34
Annexe.	
Résumés.	

Introduction

Introduction générale

Au cours des cinquante dernières années, les antibiotiques ont joué un rôle crucial dans la lutte contre de nombreuses maladies et infections et leur développement a révolutionné le traitement des maladies infectieuses. Leur découverte a été l'une des principales causes de l'augmentation spectaculaire de l'espérance de vie moyenne durant le XXIème siècle (Pierangeli et al, 2009).

Malheureusement, l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques a mis un terme à cette vague d'optimisme. La montée des résistances est due à la prescription immodérée et souvent inappropriée des antibiotiques. En effet lorsque les antibiotiques sont administrés à titre curatif ou préventif, ils favorisent l'élimination des bactéries sensibles et la sélection des plus résistantes (El amri et al. 2014).

Dans le bagage chimique des plantes, les huiles essentielles, les alcaloïdes et autres composés phénoliques, représentent des molécules de fortes valeurs, utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires. Les activités antibactériennes de ces produits ont été rapportées dans de très nombreux travaux. (Bouzouita et al, 2008).

L'utilisation des plantes et leurs extraits riches en antioxydants pourrait également jouer un rôle important dans la prévention des maladies liées au stress oxydant. Ce dernier est à l'origine de plusieurs pathologies parmi lesquelles les arthroses, l'asthme, le cancer, le diabète et les maladies cardiaques (Sarr et al., 2015).

Des études récentes ont montré que les huiles essentielles et leurs constituants sont douées de nombreuses activités biologiques. La diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés, ainsi qu'une utilisation moins dommageable, car ils n'ont pas d'effets secondaires (Amarti et al., 2008; Mazari et al ., 2010; Goetz et Ghedira, 2012).

Au regard de tout ce qui précède, nous avons initié la présente étude dont le but est d'évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius* et de l'HE en association avec les antibiotiques ainsi que l'évaluation de son activité antiradicalaire sur un radical libre le DPPH (2,2 Diphényle-1-Picryl-Hydrazyle) et test de la réduction du fer FRAP.

Le premier chapitre est une mise au point bibliographique décrivant les notions essentielles à la compréhension de notre travail (définition des huiles

essentielles, leurs propriétés, les techniques d'extraction et leurs activités biologiques ainsi que leur mode d'action et une description de l'espèce étudiée). Le deuxième chapitre décrit la méthodologie adoptée. Le troisième chapitre consiste à une analyse des résultats obtenus et leur discussion. Enfin le manuscrit se terminera par une conclusion générale.

Chapitre 1

Synthèse bibliographique

1.1. Généralités sur les huiles essentielles

1.1.1. Définition des huiles essentielles

Ce sont en général des produits terpéniques, aromatiques volatils, qui ont un aspect huileux, elles sont obtenues à partir des plantes aromatiques par hydrodistillation (Burt, 2004). Elles sont solubles dans les lipides et plusieurs solvants organiques et possèdent une densité inférieure à celle de l'eau. (Bakkali *et al.*, 2008).

1.1.2. Répartition et localisation dans le règne végétal

Dans le règne végétal, les huiles essentielles se retrouvent généralement chez les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les constituants qui les composent sont répartis dans une cinquantaine de familles dont beaucoup appartiennent aux ordres des Lamiales, des Astérales, des Rutales, des Laurales et des Magnoliales. (Mann, 1987).

1.1.3. Techniques d'Extractions des huiles essentielles

1.1.3.1. Hydrodistillation

Le principe de l'hydro-distillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. Cette méthode est simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage coûteux (Hajji *et al.*, 1989).

1.1.3.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau correspond à la vaporisation en présence de vapeur d'eau d'une substance peu ou non miscible à l'eau. Cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». La vapeur d'eau entraîne la vapeur d'huile essentielle qui est condensée dans le réfrigérant pour être récupérée en phase liquide dans un vase florentin (ou essencier) où l'huile essentielle est séparée de l'eau par décantation (Lucchesi, 2005).

1.1.3.3. Expression à froid

C'est le procédé le plus ancien et le plus simple pour obtenir une HE. Cependant, il reste limité car il ne s'applique qu'aux agrumes dont le péricarpe des fruits possède des poches sécrétrices d'essences. Cette technique, née en Sicile et en Calabre, est uniquement mécanique et consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais afin de détruire les poches sécrétrices d'essences et donc de libérer l'essence qu'elles contiennent. L'expression à froid permet de limiter l'oxydation en conservant les antioxydants naturels présents dans la fraction non volatile de l'essence. (Daudoux *et al.*, 2012) .et (Roux D, 2011).

1.1.3.4. Extraction au CO₂ en phase super critiquee

Ce procédé, très moderne, consiste à faire éclater les poches à essences des végétaux et ainsi entraîner les substances aromatiques en faisant passer un courant de CO₂ à haute pression dans la masse végétale (en générale les fleurs). On utilise le CO₂ car il possède de nombreux atouts : il s'agit d'un produit naturel, ininflammable, facile à éliminer totalement, peu réactif chimiquement et enfin peu coûteux. Le CO₂ a également la capacité de fournir des extraits de compositions très proches de celles obtenues par les méthodes décrites dans la pharmacopée européenne. (Kevillek et Green, 1995 ; Baysal *et al.* ,1999).

1.1.3. 5. Extraction par solvant chimique

Cette méthode est pratiquée au niveau industriel et utilise des produits chimique comme le benzène, un solvant volatil, l'huile essentielle ainsi obtenue peut garder des traces du solvant utilisé dans l'opération et ne doit jamais être utilisée en aromathérapie ni en cosmétique. (Buronza et Schnebelen, 2013).

1.1. 4.Composition chimique des HEs

Les constituants des huiles essentielles appartiennent de façon quasi exclusive à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes, le groupe des terpènes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés de phényl propane beaucoup moins fréquents d'autre part. (Hennebelle *et al.*,2004).

1.1.4.1. Les terpènes

➤ Les monoterpènes

Les composés monoterpéniques sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est C₁₀H₁₆ (Rahal, 2004). Ces composés peuvent être: monoterpènes acycliques (myrcène, ocimènes), monoterpènes monocycliques (α - et γ -terpinène, p-cymène) et aux monoterpènes bicycliques (pinènes, Δ^3 -carène, camphène, sabinène). Selon Bruneton (1999), la réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions: alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes, phénols.

➤ Les sesquiterpènes

Ils comportent trois unités d'isoprène, leur formule est C₁₅H₂₄ soit une fois et demie (sesqui) la molécule des terpènes (Belaiche, 1979). Ils présentent une grande variété dans les structures conduisant à un nombre élevé de possibilités, ce qui a retardé l'élucidation de leurs structures (Rahal, 2004). Les sesquiterpènes peuvent être également, comme les monoterpènes, acycliques (farnésol), monocycliques (humulène) ou polycycliques (matricine). Ils renferment aussi des fonctions comme alcools (farnésol, carotol), cétones (β -vétivone), aldéhydes (sinensals), esters (acétate de cédryle) (Bruneton, 1999 ; Laouer, 2004).

1.1.4.2. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques sont des dérivés de phényl propane (C₆- C₃), et sont beaucoup moins fréquents que les terpènes. Ils peuvent être des aldéhydes comme le cinnamaldehyde, des alcools comme cinnamique alcool, des phénols comme chavicol, et eugénol, des dérivés de méthoxy comme l'anethol elemicine et estragole et des dérivés de dioxyméthylène comme l'apiol, myristicine, et safrole (Bakkali et al., 2008).

Les huiles essentielles peuvent également renfermer d'autres constituants qui ne sont pas des terpènes ou des dérivés de phényl propane, comme les composés issus de la dégradation d'acides gras (3Z-hexèn-1-ol, 2E-hexanals) et de terpènes (les ionones, et les irones), et les composés azotés et soufrés qui résultent du clivage d'acides aminés ou de ces précurseurs (indole). (Maffei, 2010 ; Csekea et al. , 2007).

1.1.5. Facteur influençant la composition des HEs

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant diverses conditions: l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le séchage, le lieu de séchage, la température et la durée de séchage, les parasites, les virus et les mauvaises herbes (Ozcan et *al.*, 2004 ; Svoboda et Hampson, 1999; Smallfield, 2001). Les conditions principales requis pour une production rentable en huile essentielles sont: le bon matériel végétal, la variété de la plante, le sol, l'équipement de distillation, le climat (Smallfield, 2001).

1.2. Activité biologique des HEs

Comme nous venons de la préciser plus haut, parmi les composés majoritaires des huiles essentielles (HE), nous trouvons les terpenoïdes. Ces derniers possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteur de la germination. Mais lors des interactions végétal-animal, il s'agit aussi comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Ils interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques, dans l'attraction des pollinisateurs (Langenheim, 1969). Prouvées par la recherche scientifique moderne, les huiles essentielles (HE) ont des propriétés médicinales nombreuses et variées. Elles agissent quasiment dans tous les domaines de la santé et de la maladie (Balz, 1986; Willem, 2004).

1.2.1. Activité antibactérienne

Un agent antimicrobien est une substance d'origine synthétique ou naturelle, utilisée pour la destruction ou l'inhibition de la croissance de micro-organismes, notamment des bactéries (Courvalin et *al.*, 1990).

Beaucoup des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles montrent une activité antimicrobienne qui pourraient empêcher la croissance des microorganismes d'altération et pathogènes. (Sacchetti et *al.* 2005 ; Souza et *al.* 2006).

1.2.1.1. Mode d'action antibactérienne des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large due principalement à leur grande affinité aux lipides membranaires grâce à leur nature hydrophobe (Dormans et Deans, 2000). En général les huiles essentielles empêchent la

multiplication, la sporulation et la synthèse des toxines des bactéries. Sur les levures, elles agissent sur la biomasse et la production du pseudo mycélium. Sur les moisissures, elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium et la toxicogénèse (Hulin *et al.*, 1998). Kim *et al.*, (1995) in Hulin *et al.*, (1998) rapportent que les huiles essentielles semblent posséder plusieurs modes d'action sur les différents microorganismes(**Fig.1**).

- Interférence avec la bicouche lipidique de la membrane cellulaire, provoquant une augmentation de la perméabilité et la perte des constituants cellulaires
- Altération des différents systèmes enzymatiques dont ceux impliqués dans la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction ou inactivation du matériel génétique.

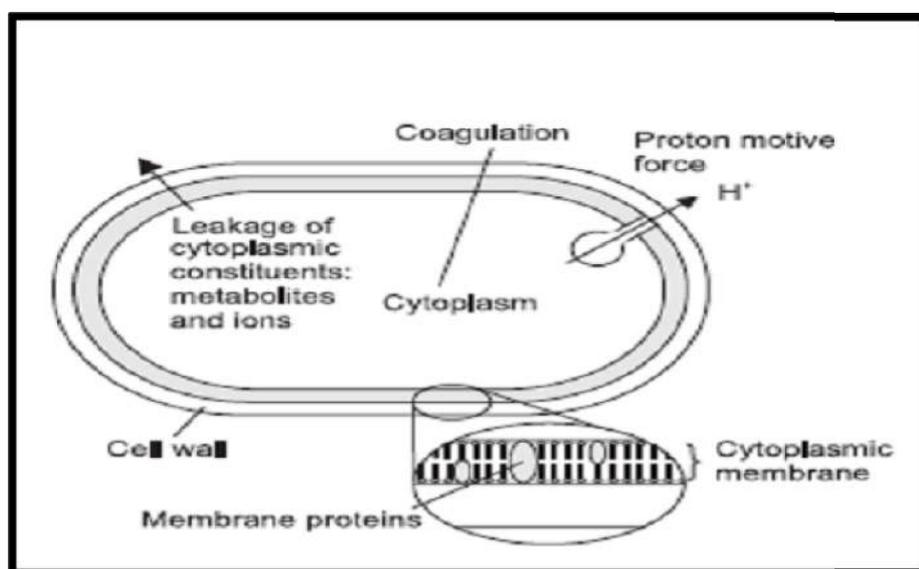


Figure 1. Sites d'action antibactérienne des huiles essentielles (Burt, 2004).

1.2.1.2. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des molécules d'origine naturelle, semi-synthétique ou synthétique, qui sont soit bactériostatique ou bactéricides. Certains antibiotiques peuvent être bactériostatiques dans certaines circonstances et concentration, et bactéricides dans d'autres (Walsh, 2003).

1.2.1.3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques capables d'inhiber la multiplication ou de tuer d'autres micro-organismes agissent sur des cibles bactériennes précises, à des concentrations mille à dix mille fois plus faibles que les antiseptiques (Talbert et Willoquet,

2011). Chaque famille d'antibiotiques regroupe un nombre de molécules très variable, ayant une structure de base identique. Certaines molécules altèrent la structure des bactéries en inhibant la formation de leur paroi: cas des β -lactamines, des Glycopeptides, qui bloquent différentes étapes de la voie de synthèse du peptidoglycane; ou en désorganisant leurs membranes (cas des polymyxines). D'autres, comme les aminoglycosides, les tétracyclines, les phénicoles..., qui se fixent sur le ribosome bactérien inhibant différentes étapes de la synthèse protéique. La synthèse des acides nucléiques (ADN et ARN) peut aussi être perturbée par les antibiotiques: cas des sulfamides, du triméthoprim, desquinolones... (Berche et Gaillard, 1989).

1.2.2. Activité antioxydante

La capacité antioxydante de l'huile volatile est étroitement liée à tout le contenu phénol (Stefanovits-Banyai et *al.*, 2003). Ceci a été confirmé par les travaux réalisés par Jukic et Milos (2005). Les huiles essentielles (HE) ont d'autres activités comme l'activité analgésique (Origan, Thym) (Schwammle et *al.*, 2001) ou des propriétés dépuratives ou cicatrisantes (Lavande) (Caillard, 2003).

1.2.2.1. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié sur la couche périphérique du squelette moléculaire. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules et mener à un désordre dans les structures moléculaires, en oxydant les lipides membranaires, protéines cellulaires, les acides nucléiques, et ainsi provoquant la mort cellulaire (Marfek, 2003 ; Djeridane et *al.*, 2006 ;Dacosta,2003).

Les radiations X et gamma peuvent par différents mécanismes faire apparaître des radicaux libres en scindant la molécule d'eau en deux radicaux. Les rayonnements UV sont capables de produire des anions superoxydes ou de l'oxygène singlet après activation des photos sensibilisantes. Une large variété de xenobiotiques (toxines, pesticides, herbicides, etc...) et médicaments (antibiotiques, anticancéreux, etc...) peuvent contribuer à la production des ROS qui se forment comme un des produits de leur métabolisme (Valko et *al.*, 2007).

1.2.2.2. Les Antioxydants

Sont des substances qui à faible concentration par rapport au substrat oxydable sont capables de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules hydro- ou liposolubles. Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires (Cano et al., 2006). Dans l'organisme, il existe plusieurs types de molécules à activité antioxydant :

➤ **Les antioxydants endogènes**

Les enzymes antioxydants directement synthétisées par l'organisme (catalase, glutathion peroxydases...) (Pastre et Priymenko, 2007).

➤ **Les antioxydants exogènes**

Les composés antioxydants d'origine exogène (alimentaire comme : les vitamines A, E ; les caroténoïdes (lycopène, la taurine ; certaines minéraux et oligoéléments (magnésium, le sélénium le zinc) (Pastre et Priymenko, 2007).

1.2.2.3. Stress oxydatif

Peut-être défini comme un déséquilibre entre les systèmes pro oxydants et antioxydants en faveur des premiers et impliquant la production d'espèces réactives de l'oxygène aura des conséquences souvent lourdes pour l'organisme, peut être induit lors de la surproduction d'espèces réactives et ou par suite de l'inhibition des systèmes antioxydants qui peuvent être inactivés (Pelletier et al. 2004).

1.3. Aspect botanique de l'espèce étudiée *Pituronthos scoparius*.

1.3.1. Taxonomie et distribution de la famille des apiacées.

Les Apiacées (Apiaceae) anciennement appelées ombellifères comprennent plus de 3000 espèces réparties dans près de 450 genres. C'est une famille cosmopolite. C'est une famille très homogène facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées. Paradoxalement, les espèces de famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres (Ozenda, 1991).

1.3.2. Le genre *Pituranthos*

Le genre *Pituranthos* est représenté par plus de 20 espèces. Dont le potentiel floristique algérien de ce genre (nommé « Guezzah ») comporte quatre espèces endémiques : *P. reboudii*, *P. scoparius*, *P. battandieri* et *P. chloranthus* (Quezel et Santa, 1963 ; Smaili et al., 2011 ; Lograda et al., 2013; Mosbah, 2013).

1.3.3. L'espèce *Pituranthos scoparius* (Coss et Dur.) Benth. et Hook.

1.3.3.1. Répartition et Description botanique

Est une espèce endémique d'Afrique du Nord et est très répandue en Algérie, surtout dans les hauts plateaux et dans la majeure partie du Sahara (pâturages arides rocaillieux) (Beniston, 1984; Verite et al., 2004 ; Smaili et al., 2011 ; Vernin et al., 1999; Lograda et al., 2013) difficile à distinguer de l'espèce *P. chloranthus* (Benchel et al., 2000, cité par Benlarabi et Hachemi, 2013). *P. scoparius* est une plante vivace, aphyllé ; les feuilles supérieures sont réduites à leur gaine, les tiges sont dressées, de 40 à 80 cm de haut, formant des touffes denses qui envoient latéralement de courts rameaux rigides, avec des fleurs blanches et des petits fruits (Beniston, 1984; Quezel et Santa, 1962-1963 cité par Lograda et al., 2013).



Figure 2. *Pituranthos scoparius*.

1.3.3.2. Classification de la plante

D'après Hamada et al., 2004 *Pituranthos scoparius* est classée.

Tableau 1. Classification botanique d' *Pituranthos scoparius*.

Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicotylédones
Sous classe	Melophyta Choripetalae
Série	Opétale hermaphrodite
Ordre	Araliales
Famille	Ombellifères
Genre	<i>Pituranthos</i>
Espèce	<i>Pituranthos scoparius</i>

1.3.4. Propriétés thérapeutiques et emplois

Le décocté des feuilles est efficace dans le traitement de l'asthme, alors que le macérât aqueux des feuilles est préconisé en cas d'ictère. Contre les morsures des vipères et les piqures des scorpions, certains recommandent l'application locale de la poudre des feuilles ; cette dernière en cataplasme soulagerait également les douleurs rhumatismales (Boukef., 1986).

1.3.5. Les travaux antérieurs

Les travaux antérieurs ont étudié la composition chimique des huiles essentielles de *pituranthos scoparius* et ont montré sa richesse en α -pinène, limonène, sabinène, dill-apiole et β -pinène (vérité et al., 2004) ; (Hammiche et Maiza, 2006) ; (Gourine et al., 2011) ; Kalla en 2012, a détecté quelques nouveaux constituants pour la première fois dans l'huile de *pituranthos scoparius* notamment :

δ -³-carane, tricyclène, 2- β - pinène, 1-cyclohexylidène-2-méthylpropène, α -pyronène, 3,7-Guaiadiène, 8-méthoxy-1,2,3,4-tetrahydro-1-isopropyl-naphtallène, butylidène phtalide, 3-méthyl-7-méthoxy-2-benzopyran-1(1H)-one, butylidène dihydro-phtalide.

Chapitre 2

Partie expérimentale

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel végétal.

La partie aérienne de *Pituranthos scoparius* a été recueillie de la région T'kout wilaya de Batna, en octobre 2018 au stade pleine floraison. L'identification botanique a été effectuée à l'aide de la flore locale (Quezel et Santa, 1963) et confirmée par Dr A. Zeraïb botaniste à l'université Abbes Laghrour- Khenchela. Le matériel végétal récolté a été séché à l'abri de la lumière pendant 2 semaines et découpé en petits morceaux, pour l'extraction des huiles.



Figure 3. *Pituranthos scoparius* en petits morceaux.

2.1.2. Souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans notre étude provenant du laboratoire de Bactériologie de l'hôpital Achour Ziane de Ouled Djellal, sont des souches de référence. Il s'agit de *Staphylococcus aureus* 29213, *Escherichia coli* 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* 27853.

2.1.3. Matériel de laboratoire**a. Réactifs**

DMSO, Gélose nutritive(GN), Muller-Hinton (MH), Ethanol, eau distillée, eau physiologique, Les disques d'antibiotiques : Céfazoline (CZ), Amoxiciline (AML), Gentamicine (GM), DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl), Tampon phosphate , TCA, Ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ et $FeCl_3$.

b. Instruments et appareillage

Clevenger, Agitateur magnétique+ plaque chauffante, Balance analytique, Boîtes de Pétri, Micropipettes, Pince stérilisée, anse de platine, Bec Bunsen, Vortex, tubes à essai, tubes sec, Disque de papier wattman N°1(6mm de diamètre), Réfrigérateur, autoclave 120°C, Etuve électrique, Bain marie, spectrophotomètre, Bécher.

2.2. Méthodes**2.2.1. Extraction des huiles essentielles**

Les huiles ont été extraites par distillation par entraînement à la vapeur pendant 3 heures. 510 g de matériel végétal séché ont été introduits dans une fiole surmontant un ballon contenant 1000 ml d'eau (Fig 4). L'eau distillée vaporisée par chauffage entraîne les huiles essentielles. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans le réfrigérant. La phase organique (les huiles essentielles) se sépare de la phase aqueuse puis placées dans des petits flacons tarés et conservés au réfrigérateur (4°C) et à l'obscurité jusqu'à analyse et utilisation.



Figure 4. Montage de la distillation par entrainement à la vapeur d'eau (Type Clevenger).

2.2.2. Calcul du rendement en HE

Les huiles essentielles possèdent un rendement défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse sèche du matériel végétal utilisé. (Carré, 1953).

$$R = PE / PA \times 100$$

- ❖ **R**= Rendement de l'HE en pourcentage.
- ❖ **PE**= Poids de l'HE en gramme.
- ❖ **PA**= Poids du matériel végétal en gramme.

2.2.3. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'HE seule, des antibiotiques ainsi que de leur association vis-à-vis des souches bactériennes choisies a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion sur milieu solide préconisée par Boudjedjou *et al.* (2019). Cette méthode est basée sur la diffusion de l'extrait testé dans la gélose. Elle consiste à déposer à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé par la suspension des germes choisis, des disques en papier Wattman (Annexe 2), imprégnés des

extraits ou des antibiotiques à tester. Après l'incubation, la lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres.

2.2.3.1. Repiquage des souches microbiennes

Les différentes souches microbiennes sont repiquées par la méthode des stries ensemencées sur des boîtes de pétri contenant la gélose nutritive (GN), puis incubées à l'étuve à 37 °C pendant (18-24) heures. Les colonies isolées ont servi à préparer l'inoculum bactérien.

2.2.3.2. Préparation de l'inoculum bactérienne

L'inoculum est préparé en prélevant 3 à 4 colonies jeunes bien isolées et identiques qu'on dépose dans 5 ml d'eau physiologique à 0.9%. Après agitation, une suspension bactérienne est obtenue. Cette dernière doit avoir une opacité comprise entre 0.08 et 0.1 lue à 625nm équivalente à 0.5 McFarland et qui correspond à une concentration de 10^6 - 10^8 UFC/ml (Gulluceet *al.*, 2006) (Annexe 4).

2.2.3.3. L'ensemencement

Les boîtes de Pétri ont été coulées par l'agar Muller Hinton à raison de 20ml par boîte. Après refroidissement et solidification, elles sont ensemencées à l'aide d'un écouvillon stérile ou par inonation (Annexe 5) trempé dans la suspension bactérienne .L'écouvillon doit passer 2 à 3 fois sur toute la surface en tournant la boîte 3 fois de 60° afin d'assurer une bonne répartition de l'inoculum. Laisser sécher les boîtes 10 minute savant de déposer les disques.



Figure 5. Ensemencement bactérienne.

2.2 .3.4. Test de l'activité antibactérienne

Les disques d'antibiotiques et des disques stériles imprégnés de 10 μ l de l'HE à différentes concentrations sont déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface du milieu gélosé à 15mm minimum de la périphérie de la boîte afin d'éviter le chevauchement des zones d'inhibition. Ensuite, les boîtes ont été inversées et incubés à 37°C durant 24 h.

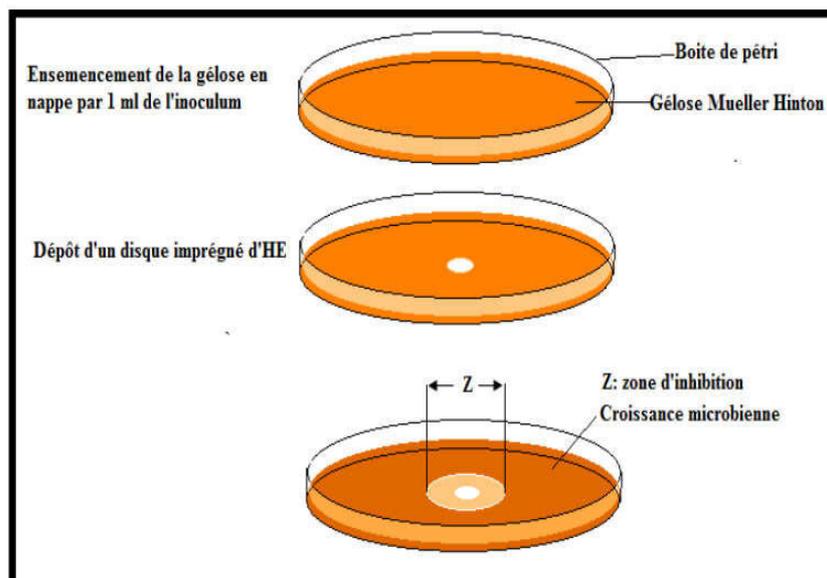


Figure 6. Aromatogramme sur boîte de pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque imprégné de l'HE Extraite (Zeraib, 2016).

La sensibilité des trois souches vis-à-vis de l'HE étudiée et des antibiotiques est classée selon le diamètre d'inhibition selon les critères suivants :

- ▶ Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm.
- ▶ Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- ▶ Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19mm.
- ▶ Extrêmement sensible (+++) diamètre > 20 mm (Ponce *et al.*, 2003).

2.2.4. Evaluation de l'effet antibactérien de l'association de l'HE avec les antibiotiques

Les disques des antibiotiques sont imprégnés par 10 µl de l'HE à la concentration préalablement choisie. Après 24 heures d'incubation, les zones d'inhibition ont été mesurées.

L'effet antibactérien des combinaisons entre l'HE et les antibiotiques a été évalué par la formule suivante :

$$\text{La combinaison} = D_{HE} + D_{ab} - 6$$

$$\text{La somme} = (D_{HE} - 6) + (D_{ab} - 6)$$

- **La somme** : Effet antibactérien de l'association de l'HE avec les antibiotiques.
- **D_{HE}** : diamètre de la zone d'inhibition produit par l'HE.
- **D_{ab}** : diamètre de la zone d'inhibition produit l'antibiotique.
- **6** : Diamètre du disque.

Les interactions peuvent produire 3 types d'effets :

- **Additif** : si le diamètre de la zone d'inhibition produit par la combinaison est égal à la somme des diamètres de l'antibiotique et de l'HE pris isolément.
- **Synergique** : si le diamètre de la zone d'inhibition produit par la combinaison est supérieur à la somme des diamètres de l'antibiotique et de l'HE pris isolément.
- **Antagoniste** : si le diamètre de la zone d'inhibition produit par la combinaison est inférieur à la somme des diamètres de l'antibiotique et de l'HE pris isolément.

2.2.4.1. Analyse statistique

Tous les tests ont été réalisés en triplicata. Les résultats sont exprimés en moyenne ± SD. La différence a été évaluée par le test ANOVA à un seul facteur (5%) en utilisant le logiciel STATISTICA 8.0 Software, Stat Soft Inc., USA.

2.2.5. Evaluation de l'activité antioxydant

2.2.5.1. Piégeage du radical libre DPPH

a-Principe

La capacité de piégeage du radical DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) des HEs et des extraits aromatiques a été évaluée selon la méthode décrite par (Blois, 1958) avec quelques modifications. Le test DPPH●, est un test très simple et rapide, qui ne nécessite qu'un spectromètre d'absorption UV-Vis. Ce test est basé sur la capacité du radical stable 2,2-diphényl-2- picrylhydrazyle de réagir avec des molécules donneuses d'hydrogène.

b-Mode opératoire

La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 4 mg de DPPH dans 100 ml de l'éthanol. Un volume de 100 µl de l'HE pour chaque dilution (1/2 jusqu'à 1/128) est ajouté à 900 µl de la solution éthanolique du DPPH (0,1 mM) fraîchement préparée.

Le contrôle négatif est préparé en mélangeant 100 µl du DMSO avec 900 µl d'une solution éthanolique de DPPH. Les tubes sont incubés pendant 30 min à l'obscurité et à la température ambiante. La lecture des absorbances est effectuée à 517 nm. L'activité antioxydante, qui exprime la capacité de piéger le radical libre est exprimée en pourcentage et donnée par la formule suivante :

$$AA\% = \left(\frac{\text{Abs}_{517\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}}}{\text{Abs}_{517\text{contrôle}}} \right) \times 100$$

➤ Calcul de l'CI50

L'CI50 ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée CE50 pour Concentration Efficace 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. L'CI50 est calculée graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

2.2.5.2. Test de la réduction du fer FRAP**a-Principe**

Le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par (Oyaizu ,1986).L'évaluation du pouvoir réducteur est basée sur la réduction du complexe fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure en fer ferreux (Fe^{2+}), en présence des antioxydants réducteurs, dont la couleur est verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits.

b-Mode opératoire

225 μl de l'HE à différentes concentrations sont mélangés avec 225 μl d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 225 μl d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%.L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 225 μl d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction et les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Un aliquote (375 μl) de surnageant est combinée avec 375 μl d'eau distillée et 75 μl d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 0,1%.La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

Chapitre 3

Résultats et discussion

3.1. L'huile essentielle de *Pituranthos scoparius*

3.1.1. Caractéristiques physiques

L'hydrodistillation de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* récoltée de la région de T'kout à Batna, a donné une huile de couleur jaune foncé, d'un aspect liquide limpide et d'une odeur très forte. La densité de l'huile essentielle obtenue a été estimée en calculant le rapport de sa masse volumique par rapport à celle de l'eau à 20°C ; elle est de 0.704. Ce paramètre est lié à la composition chimique de cette huile qui est affectée par un grand nombre de facteurs tels que le moment de récolte, le type de terrain, la conservation, le procédé et les conditions d'extraction (Tenscher et *al.*, 2005). Selon Afnor (2000), les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, elles sont plus ou moins colorées et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau.



Figure 7. L'huile essentielle de *Pituranthos scoparius* extraite au laboratoire.

3.1.2. Rendement

L'huile essentielle des parties aériennes de la plante *Pituranthos scoparius* est obtenue par hydrodistillation avec un rendement de 0,41 %.

Lograda *et al.* (2013) ont rapporté des rendements variables des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* récoltée dans différentes régions d'Algérie. Ces valeurs étaient de 0,47%, 0,85%, 1,04% et 2,29% pour les régions respectives de T'Kout, Boussaada, Mechouneche et Elkantra.

L'étude réalisée sur l'espèce issue de plusieurs régions du sud de la Tunisie a montré également une variation de rendement en fonction de l'origine de la plante. Ainsi des valeurs de 0,30%, 0,36% et 0,60% sont obtenues respectivement pour les régions de Benguerdane, Gabès et Médenine. Selon la même étude, le mois de récolte s'est avéré être un autre facteur influençant le rendement de l'huile essentielle de cette espèce.

En effet, les rendements étaient de 0,15%, 0,32% et 0,42% respectivement pour les plantes récoltées en avril, août et novembre (Neffati et *al.*, 2009).

3.2. Activité antibactérienne

3.2.1. Antibiogramme

L'antibiogramme permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne *in vitro* (Bouzidi, 2016).

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne estensemencée à la surface d'une gélose spécialement étudiée, la gélose Muller-Hinton. Des disques d'antibiotiques sont déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration.

Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduit par la détermination du diamètre de la zone d'inhibition. Les souches ont été testées vis-à-vis d'antibiotique choisis selon leur disponibilité sur le marché.

Tableau 2. Résultats de l'activité antibactérienne d'antibiotique testée sur les trois souches bactériennes.

Antibiotique	AMX	CEZ	GEN
Bactéries	M±ET	M±ET	M±ET
<i>E. coli</i>	8,33±0,58+	19±1++	28,67±2,52+++
<i>P. aeruginosa</i>	13±2 +	27,33±4,93 +++	35±5+++
<i>S. aureus</i>	8,33±0,58+	14,33±0,58+	26,67±3,79 +++

AMX : Amoxicilline, CEZ : Cefazoline, GEN : Gentamicine, M : Moyenne, ET : Ecartype, (+)=sensible, (++)=très sensible, (+++)=Extrêmement sensible, (-)=Non sensible.

Nos résultats montrent que les trois souches bactériennes testées : *E. coli*, et *P.aeruginosa*, *S.aureus* ont été affectés par les antibiotiques avec des diamètres d'inhibition allant de 8 à 35mm.

Les trois souches testées se sont révélées faiblement sensibles à l'amoxicilline avec des diamètres d'inhibition allant de 8 à 13mm. Par contre, les trois souches ont montré une sensibilité accrue vis-à-vis de la gentamicine. L'effet inhibiteur de la Céfazoline a été important sur la souche *P.aeruginosa*, modéré contre l'*E.coli*, tandis que la souche *S.aureus* s'est montrée faiblement sensible à l'effet de la Céfazoline.

Le résultat de Mann. (2000) indique que *P.aeruginosa* est connue par sa grande capacité à développer des résistances à de nombreux agents antimicrobiens, d'où leur implication fréquente dans les infections hospitalières. Cette bactérie possède une résistance intrinsèque aux agents biocides, en relation avec la nature de sa membrane externe. Cette dernière est composée de lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable aux composés hydrophobes. En présence d'agents perméabilisant de la membrane externe, des substances inactives contre *P. aeruginosa* deviennent actives.

Nos résultats sont en désaccord avec ceux de Mann, (2000), Mesaros et al.,(2007) et Bricha et al., (2009), en ce qui concerne la souche *P.aeruginosa*. En effet, ces auteurs ont mis en évidence la résistance de *P.aeruginosa* aux antibiotiques.

3.2.2. Aromatogramme

L'aromatogramme est une méthode inspirée de l'antibiogramme, il permet de déterminer l'activité inhibitrice de l'huile essentielle par mesure du diamètre d'inhibition, autour d'un disque imprégné de celle-ci, ou d'un produit à base d'huile essentielle (Vincent, 1991).

L'activité antibactérienne d'HE de *Pituranthos scoparius* a été évaluée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les échantillons à tester en présence de trois bactéries pathogènes (*E.coli*, *S.aureus* et *P. aeruginosa*) après 24 h d'incubation à une température de 37 ° C. Les diamètres des zones d'inhibition (mesurés en mm) obtenus par le calcul de la moyenne des trois répétitions, sont présentés dans le tableau 3 et illustrés dans la figure 8.

Tableau 3. Résultats de l'activité antibactérienne de l'HE de *Pituranthos scoparius* testée sur les trois souches bactériennes.

Souche Bactérienne	HP		1/2		1/4		1/8	
	M±ET	EF	M±ET	EF	M±ET	EF	M±ET	EF
<i>E.coli</i>	12,67±2,89	+	9,33 ±1,53	+	8,33 ±0,58	+	8 ±0	+
<i>S.aureus</i>	13,33 ±4,04	+	9,67 ±1,15	+	8,33 ±0,58	+	8± 0	+
<i>P.aeruginosa</i>	11 ±1	+	9,67 ±1,15	+	8,33 ±0,58	-	8± 0	+

Après incubation, on a constaté l'apparition de zones d'inhibition de diamètres variables autour des disques imprégnés de la fraction d'HE volatile. L'existence de ces zones peut s'expliquer par le fait que l'HE de notre espèce *Pituranthos scoparius* présente une activité inhibitrice vis-à-vis des trois bactéries pathogènes testées. Les trois souches testées présentent le même degré de sensibilité à l'HE avec des diamètres d'inhibitions très proches : *S.aureus* (13,33mm), *E.coli* (12,67mm) et *P. Aeruginosa* (11mm).

La sensibilité de la souche *S.aureus* peut s'expliquer par le fait que les bactéries à Gram(+) possèdent des dispositifs structuraux qui sont plus susceptibles aux HEs (Bouguerra, 2012) et par la probabilité de la sensibilité des bactéries Gram (+) aux changements environnementaux externes, tels que la température et le PH, et les extraits naturels, dus à l'absence de membrane externe (Balentine et al., 2006).

Selon Bouguerra (2012), le type et la structure moléculaire des composants actifs présents dans les HEs sont les principaux facteurs modifiant l'activité antibactérienne des HEs. Nos résultats sont similaires à ceux de Benabdelkrim (2013) où l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius* est avérée active sur les deux souches bactériennes *S.aureus* (10,6mm) et *E.coli* (9,0 mm) et inactive sur *P. aeruginosa* (6,0 mm).



La sensibilité de *S.aureus*
vis-à-vis de l'HE de
P.scoparius

La sensibilité de *P.*
aeruginosavis-à-vis de
l'HE de *P. scoparius*

La sensibilité d'*E.coli*
vis-à-vis de l'HE
de *P. scoparius*

Figure 8 .Photos illustrant la sensibilité des souches bactériennes testées vis-vis de l'HE de *P. scoparius* .

3.3. L'effet du test de la combinaison des ABs et l'HE

Le test de la combinaison a été effectué en combinant l'HE avec les trois ABs. Les Résultats de ce test sont récapitulés dans le tableau 04 et la figures19 (A-B et C).

Tableau 4. Résultats du test de la combinaison de l'HE de *Pituranthos scoparius* avec les ABs.

Test substance	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
GEN	28,67±2,52	26,67±3,79	35±5
AMX	8,33±0,58	8,33±0,58	13±2
CFZ	19±1	14,33±0,58	27,33±4,93
GEN+HE	32,67±2,52	34,33±5,13	35,50±0,71
AMX+HE	9,33±0,58	10,67±1,15	12,33±1,53
CFZ+HE	21,67±0,58	23,67±4,73	23,50±0,71
Valeur de P			
GEN/HE	0,385505 ns	0,066491 ns	0,724659 ns
AMX/HE	0,101192 ns	1,000000 ns	0,152317 ns
CFZ/ HE	0,373901 ns	0,063533 ns	0,003198**
Effet du Combinaison			
GEN/HE			
	Additif	Additif	Additif
AMX/HE	Additif	Additif	Additif
CFZ/HE	Additif	Additif	Antagoniste

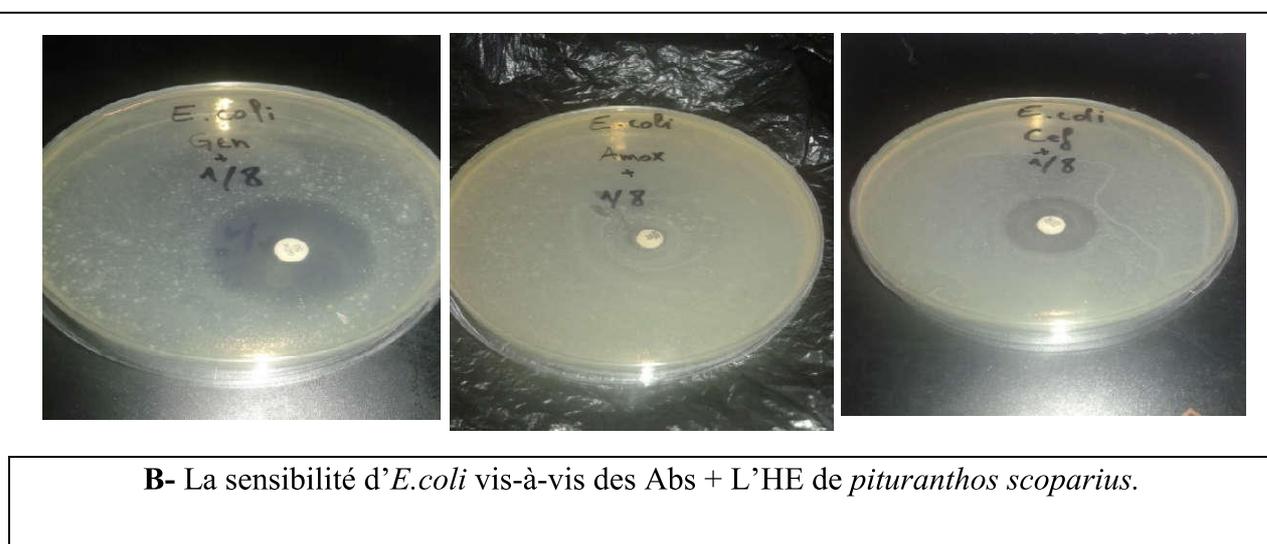
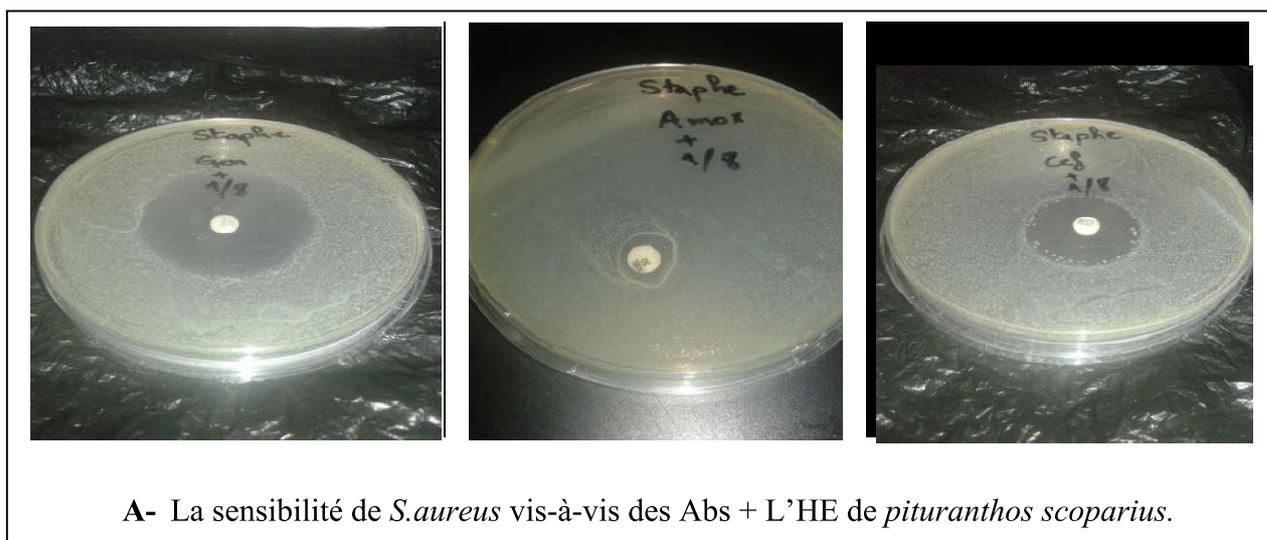
ns, non significative; *, significative (P<0.05); **, très significative (P<0.01); ***, très haut significative (P<0.001). GEN, gentamicine; AMX, amoxicilline; CFZ, céfazoline; HE, Huile essentielle

Nos résultats ont montré que toutes les combinaisons ont une activité inhibitrice vis-à-vis des trois souches bactériennes testées avec un diamètre d'inhibition allant de 9,33mm enregistré avec la combinaison de l'HE avec la Amoxicilline vis-à-vis de *E. coli*, à 35, 50 mm enregistré avec la Gentamicine vis-à-vis de *P.aeruginosa*.

L'analyse des données avec le test ANNOVA1 montre que l'association de l'HE de *Pituranthos scoparius* avec la GEN, l'AMX et la CFZ a donné des interactions de type additif sur les trois souches *E. coli*, *S. aureus* et *P.aeruginosa*, à l'exception de l'association HE/CEZ contre *P.aeruginosa* où un effet antagoniste a été enregistré.

Les effets antagonistes et additifs sont produits lors de l'association d'agents antibactériens agissant sur les mêmes cibles, alors que l'effet synergique résulte de l'association d'agents antibactériens ayant des cibles différentes (Wagner et Ulrich-Merzenich, 2009 ; Boudjedjou *et al.*, 2019). Dans le cas de la présente étude, les effets additifs et antagoniste enregistrés peuvent donc être justifiés par le fait que l'HE de *P.scoparius* exerce son effet inhibiteur en agissant sur la même cible que les antibiotiques.

L'association des ABs avec des HEs ciblant des bactéries résistantes peut avoir un mécanisme d'action différent et conduire à de nouveaux choix pour surmonter l'assaut de la résistance microbienne. L'exploitation des HEs dans la prévention de la résistance bactérienne est considérée comme plus prometteuse car les HEs sont à plusieurs composants par rapport à de nombreux antimicrobiens conventionnels qui n'ont qu'un seul site cible (Yap *et al.*, 2014).



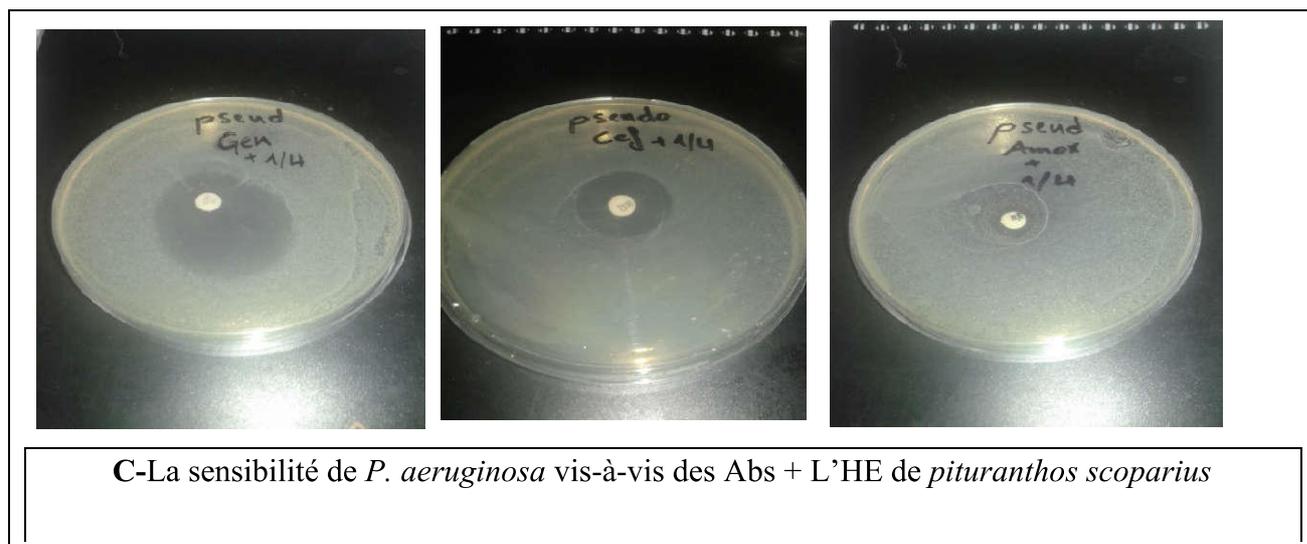


Figure 9 .Photos illustrant la sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis de ABs et l'HE de *Pituranthos scoparius*.

3.4. Activité antioxydante

Les mécanismes d'actions des antioxydants sont variés ainsi que les méthodes de mesure de leurs activités antioxydantes. Certaines d'entre elles reposent sur la capacité réductrice d'un composé, d'autres, par contre, reposent sur la mesure de la capacité de ces antioxydants à piéger les composés radicalaires (Javanmardi, 2003) tel que DPPH• ou ABTS⁺ et le test de blanchiment de β -carotène qui sont plus couramment utilisés pour l'évaluation du comportement antioxydant totale d'extraits et d'huiles essentielles (Hajlaoui *et al.*, 2010).

3.4.1. Evaluation de l'activité antiradicalaire par le DPPH•

La capacité de piégeage des radicaux libres (DPPH•) a été mesuré à partir du changement de la couleur violette de la solution méthanolique de DPPH sous l'effet des composés présents dans l'huile et pouvant céder un atome d'hydrogène ou un électron. La mesure de l'activité s'effectuant par spectrophotométrie (Burits et Bucar, 2000 et Sacchetti *et al.*, 2005 cité par Neffati *et al.*, 2009).

Ces antioxydants donneurs d'électrons aux radicaux libres conduisent à des espèces non radicalaires et par conséquent inhibent la propagation de l'oxydation des lipides (Lugasi *et al.*, 1998 cité par Fabri *et al.*, 2009).

Les résultats de calcul des pourcentages d'inhibition du radical DPPH• à partir de différentes mesures de l'absorbance (A) effectuées par spectrophotométrie à 517 nm, sont illustrés sur la Figure 10.

Tableau 5. Activité de piégeage du radical DPPH par l'HE étudiée.

Concentration en mg/ml	PI%
17,6	84,07
8,8	47,74
4,4	35,89
2,2	11,85
1,1	0,00

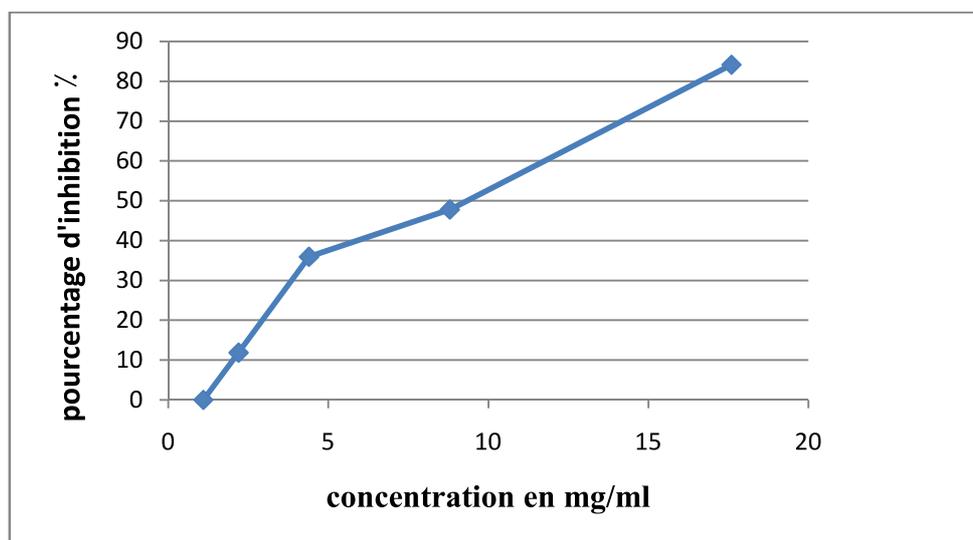


Figure 10. Variation du pourcentage d'inhibition du DPPH• en fonction des concentrations de l'HEs.

D'après les résultats, l'évolution de l'activité antiradicalaire de l'huile étudiée est dose-dépendante car le pourcentage d'inhibition de DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration de l'huile essentielle dans le milieu réactionnel. Pour une concentration maximale de 17,6 mg/ml l'huile essentielle a montré un pourcentage d'inhibition de DPPH de 84,07%.

La concentration requise pour la neutralisation et la stabilité de 50% de la concentration du radical DPPH est de 9,77 mg/ml .L'IC50 déterminé dans la présente

étude est supérieur à celle enregistrée dans les travaux de Neffati *et al.* (2009b) et Yangui *et al.* (2009), où les IC₅₀ sont de l'ordre de 0,078 mg/ml et 0,059 mg/ml respectivement pour la même espèce.

Yangui *et al.* (2009) indiquent que l'activité antioxydante et l'activité de piégeage du radical DPPH de l'huile essentielle de *P.chloranthus* peut être attribuée à la présence de quelques composés qui sont responsables de l'activité antioxydante. Ces différents composés cités par plusieurs auteurs sont: terpinen-4-ol, myrtenol, p-menth-2-en-1-ol, 8-hydroxy-pcymène. Ces composés sont considérés comme étant les constituants principaux ou majoritaires de l'huile essentielle de *P. chloranthus* et la plupart appartiennent au groupe des monoterpènes (Yangui *et al.*, 2009).

De même, Neffati *et al.* (2009a, b) ont étudié la composition chimique de l'huile essentielle de *P.chloranthus* et ont rapporté que la plupart des composés étaient des monoterpènes et que le thymol et le carvacrol sont les composés majoritaires.

Les composés qui sont majoritaires et appartenant aux classes des monoterpènes, cyclopentanes et des aldéhydes dans une huile essentielles expriment une forte activité antioxydante (Ricci *et al.*, 2005).

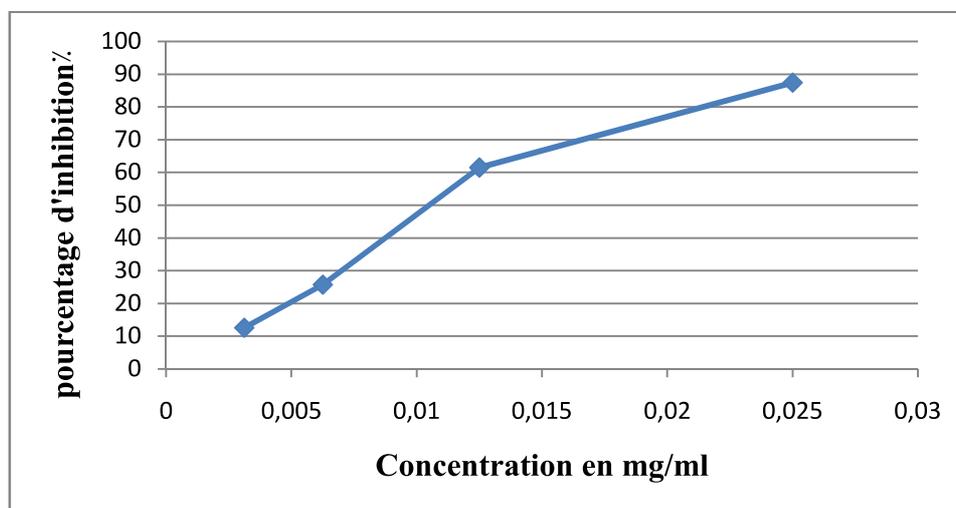


Figure 11. Activité antioxydant de l'acide ascorbique.

On rappelle que plus la valeur de la IC₅₀ est faible plus l'huile essentielle est puissante vis-à-vis des radicaux libres. En outre, il convient de noter que la valeur de la IC₅₀ dépend de Plusieurs paramètres: le rapport entre la quantité de l'huile essentielle et la quantité de solution de DPPH utilisée dans le mélange, la concentration de la solution du DPPH et le temps d'incubation (Akrouit *et al.*, 2010).

Ce résultat montre que le pouvoir antiradicalaire de l'HE de *Pituranthos scoparius* est nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique dont l'IC50= 0,012mg/ml, néanmoins, ce résultat reste intéressant.

3.4.2. Evaluation du pouvoir réducteur du Fer FRAP

C'est une analyse de l'activité antioxydante rapide, et reproductible. Dans cette méthode, la détermination de l'activité antioxydante est basée sur la capacité de l'extrait testé à réduire le fer ferrique Fe³⁺ en fer ferreux Fe²⁺.

En traçant la courbe d'absorbance obtenue de nos huile essentielle ; on a pu remarquer que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos extraits, et ça a été confirmé par beaucoup d'autres scientifiques (Su et coll., 2008 ; Liuk et al., 2009).

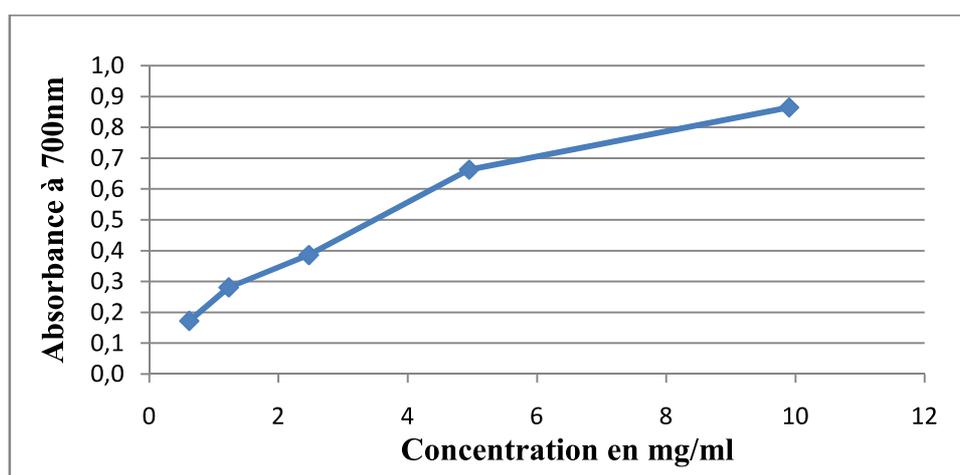


Figure 12. Pouvoir réducteur de l'huile essentielle de *pituranthos scoparius*.

Nous constatons que l'HE de la partie arienne du *pituranthos scoparius* possède un pouvoir réducteur très faible par rapport à celui de la substance de référence (Figure 12). En effet à la concentration de 9,9mg/ml de l'HE, la densité optique enregistrée était de 0,86. Alors que la même densité optique (0,86) a été obtenue par une concentration 0,045mg/ml de l'acide ascorbique. Notre huile présente une teneur de 4,62 mg E AA/g HE. Cette valeur est inférieure à celle rapportée par Berroua et Chebbi (2013) sur la même espèce par rapport à l' α -tocophérol et qui est de 2,588 g ET/g HE.

La propriété du pouvoir réducteur indique que ces composés sont des donneurs d'électrons et peuvent réduire les intermédiaires oxydées des processus de

peroxydation lipidique, donc ils peuvent agir comme antioxydants primaires et secondaires (Yen et Chen, 1995 cité par Fabrir et *al.*,2009).

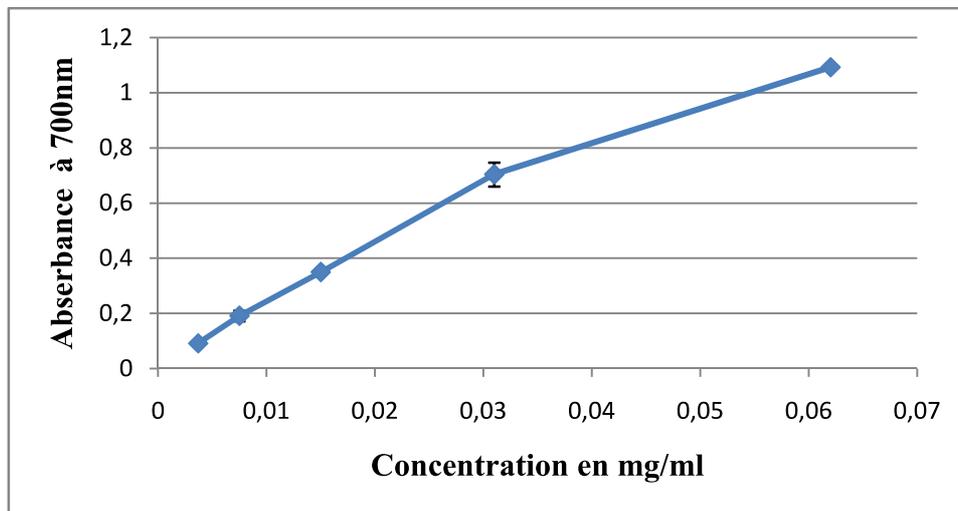


Figure 13. Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées depuis longtemps comme remèdes des maladies humaines puisqu'elles contiennent des composants chimiques de valeur thérapeutique. Selon l'OMS, plus de 80% de la population mondiale dépendent encore de la médecine traditionnelle pour prendre soin de leur santé.

La recherche de nouvelles substances antimicrobiennes et antioxydantes purement naturelles est la préoccupation capitale de la plupart des gens et des chercheurs, actuellement. Dans ce contexte, ce travail avait pour but d'étudier l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'une espèce médicinale *Pituranthos scoparius* (Guezzah).

L'hydrodistillation de la partie aérienne de *P. scoparius* a donné un rendement de 0,41% d'HE.

L'évaluation du potentiel antibactérien de l'huile essentielle étudiée par la méthode de diffusion sur disques a mis en évidence un effet inhibiteur faible sur les souches testées de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. De même, au cours de cette étude, la combinaison de l'huile essentielle de cette plante avec trois antibiotiques a été évaluée. L'addition a été observée avec toutes les combinaisons de l'HE avec les trois antibiotiques : Amoxicilline, Gentamicine et Céfazoline contre les souches bactériennes : *S. aureus*, *E-Coli* et *P. aeruginosa*. Alors que l'effet antagoniste a été produit lors de la combinaison de l'huile essentielle avec la CFZ vis-à-vis de la souche bactérienne *P. aeruginosa*. Ces effets peuvent être justifiés par le fait que les deux agents HE et antibiotiques exercent leur effets sur les bactéries en agissant sur les mêmes cibles.

Ces résultats nous permettent de conclure qu'on peut combiner certaines huiles avec les antibiotiques, ce qui peut réduire la dose efficace de ces derniers et minimiser leurs effets secondaires.

L'activité antioxydante de notre huile essentielle a été évaluée en adoptant deux tests: le piégeage du radical DPPH et le test de FRAP. Les résultats obtenus dans cette étude ont permis de mettre en évidence un pouvoir antiradicalaire ($IC_{50}=9,77\text{mg/ml}$) et un pouvoir réducteur de fer intéressants.

Néanmoins, cette activité reste nettement inférieure à celle de l'acide ascorbique.

Il serait intéressant à l'avenir d'approfondir cette étude dans le but d'isoler et d'identifier les molécules responsables de cette activité et tenter d'élucider leurs mécanismes d'action, leur efficacité, leur effet synergique : combiné entre eux ou bien avec des agents antimicrobiens conventionnels sur des germes pathogènes.

Références bibliographiques

Liste des références

À

- Al-Gaby, A.M., Allam, R.R. ,2000. Chemical analysis, antimicrobial activity, and the essential oils from some wild herbs in Egypt. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 7(1): 15-23.
- Abdallah, H.M., Ezzat, S.M. ,2011. Effect of the method of preparation on the composition and cytotoxic activity of the essential oil of *Pituranthos tortuosus*. *Z. Naturforsch. C.*, 66: 143-148.
- AFNOR (Association Française de Normalisation). 2000. les huiles essentielles, Monographies relatives aux huiles essentielles. Recueil des normes françaises, Tome 2, Paris.
- Akrouf A., El-Janil H., Amouri S., Neffati M. 2010. Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba alba* Asso, & *thymus capitatus* Hoff. And Link Growing wild in the southern of Tunisia. *Rec Res Sci Tech* 2: 29-39.
- Amarti F, Satrani B, Aafi A, Ghanmi M, Farah A, Aberchane M, El Ajjouri M, El Antry S et Chaouch A. (2008). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc. *Phytotherapie*. 6, 342–347.

B

- Berche P., Gaillard J-L., Simonet M., 1989. Bactériologie : bactéries des infections humaines. Médecine-Sciences Flammarion. PP(715).
- Baudoux D., Breda M., Zhiri A., 2012. Aromathérapie scientifique : Huiles essentielles chémotypées. 1e éd. Belgique : J.O.M, 98 pages.
- Burt S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*.vol.94, pp 223–253.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M.,2008 . Biological effects of essential oils. *Food Chemical Toxicology*, vol.46, pp 446–475.

- Baysal T. et Starmans D.A.J., 1999. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Carvone and Linalene from Caraway Seeds, *Journal of Supercritical Fluids* 14, p: 225-234.
- Balentine C.W., Crandall P.G., Bryan C.A.O., Duog D.Q., Pohlman F.W.W., 2006. The pre- and post grinding application of Rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef Meat. *Science* 73 (3):413-421.
- Bouzidi N., 2016. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba* Asso ». Thèses de Doctorat, Université Mustapha Stambouli de Mascara .p90.
- Buronzo A. M., Schnebelen J.-CH. 2013. Grande guide des huiles essentielles. Ed, Estella Graficas, Espagne, p. 22.
- Bruneton J. (1999) - Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition, Ed. TEC et DOC, Paris.
- Belaiche P. (1979) - Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme .éd. Maloine. Paris.
- Balz R., 1986: Les huiles essentielles et comment les utiliser, 152 p.
- Beniston NT et WS. , 1984. FLEUR D'ALGERIE, Ed : entreprise nationale du livre Alger, N°d'édition : 1822/84. 359p.
- Benchalah A., Bouziane H., Maka M., Ouahes C., 2000. Fleurs du sahara : voyage ethnobotanique avec les touaregs du tassili, Ed : atlantica & Ibis press, Biarritz, France. 255p.
- Boukef M.K. ,1986. Médecine traditionnelle et pharmacopée : les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. Tunisie, 350.
- Blois M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199–200.
- Burits M., Bucar F., 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother Res.* 14:323–328.
- Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M., Chaabouni MM., 2008. Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* , Société Chimique de Tunisie, p. 119 - 125.

- Bouaziz M., Dhouib A., Loukil S., Boukhris M., Sayadi S. , 2009. Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of extracts of some wild plants collected from the south of Tunisia. *African Journal of Biotechnology*. 8 (24) : 7017-7027.
- Bougurra A.,2012. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de foeniculim vulgare Mill. En vue utilisation comme conservation alimentaire. Thèse de Magistère, Université Constantine, Algérie, 77 p.
- Berroua Z., CHEbbi K., 2013. Conservation de la margarine par l'extrait aqueux et l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius*, Mémoire d'ingénieur, Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires I.N.A.T.A.A. Université Constantine 1. 63 p.
- Blois M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199–200.
- Ben abde Krim N.2013.Contribution à l'étude du rendement et du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de *pituranthos chloranthus* de la région de Biskra.Mémoire de Mastre d'état.p28.
- Bricha S., Ounine K., Oulkheir S., EL Haloui NE., Attarassi B. 2009. Facteurs de virulence et épidémiologie lies au *pseudomonas aeruginosa*. *Revue Tunisienne d'Identifecatiologie* ,2 :7-14.
- Boudjedjou L, Ramdani M, Zeraib A, Benmeddour T, Fercha A.2018. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Berries Essential Oil of Algerian *Juniperus thurifera*(Var. *aurasiaca*). *Pharmaceutical Sciences*, 24, 240-245
- Boudjedjou L. Ramdani M. Zeraib A. Benmeddour T. Fercha A. 2019. Chemical composition and biological activity of algerian *Santolina africana* essential oil. *Scientific African*, 1-17.



- Cano N., Barnoud D., Schneider S. M., Vasson M. P., Hasselmann M., Leverage X. 2006. *Traité de nutrition artificielle de l'adulte*. Edition Springer, p 255.

- Caillard J., 2003. In Zohra M., 2006. Etude du pouvoir antmicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoides de quelques plantes de larégion de Tlemcen – Thèse de l'Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen – Faculté des Sciences, p 150.
- Courvalin, P., H. Drugeon, J.P. Flandrois, and F. Goldstein., 1990. Bactericide, Aspects théoriques et thérapeutiques. p. 110.
- Cseke LJ, Kaufman PB, Kirakosyan A., 2007 The Biology of Essential Oils in the Pollination of Flowers. Natural product communications; 2 (12):1317-1336Aspects théoriques et thérapeutiques. p. 110.
- Carré P., 1953. Précis de technologie et de chimie industrielle. E1. Ballière J.B. et fils, T3.

D

- Dorman H.J.D, and Deans H.J.D. ,2000 - Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology. 88 (2) 308–316.
 - Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. FoodChem, 97: 654-660.
- Dacosta Y. Les phytonutriments bioactifs., 2003. 669 références bibliographiques. Ed. YvesDacosta, Paris, p. 317.

E

- El amriJ, ElbadaouiK, ZairT, BouharbH, ChakirS, AlaouiT.2014.Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucriumcapitatum*L et l'extrait de Silénevulgarissur différentes souches testées. *Journal of Applied Biosciences* 82:7481– 7492

F

- Fabrir L., Nogueira M.S., Braga F.G., Coimbra E.S., Scio E. 2009 .Mitracarpus frigidus aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects. Bioresource Technology .100 : 428–433.

- Fadli M., Sayadi S., Saad A., Hassani L. 2012. Antiantibacterial activity of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* essential oils against nosocomial infection - Bacteria and their synergistic potential with antibiotics. *Phytomedicine: International journal of Phytotherapy and Psychopharmacology* 19(5):464-71.

G

- Gulluce M., Aslan A., Sokemen M., Sahin F., Adiguzel A., Agar G., Sokmen A., 2006. Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmeliasaxatilis*, *Platismatiaglauca*, *Ramalinapollinaria*, *Ramalinapolymorpha* and *Umbilicarianylanderiana*. *Phytomedicine* 13 :515-521.
- Gourine N., Merrad B., Youfi M., Stocker P., Gaydou F.M., 2011. Chemical composition of the essential oil of *Pituranthos scoparius*. *Natural product communication*, 6(8) 1151-1154.
- Goetz P et Ghedira K. (2012). *Phytothérapie anti-infectieuse*. Edition : Springer-Verlag France, Paris. Pp 4-194.

H

- Hajji F., EL Idrissi A., Fkih-Tetouani S., Bellakhdar J., 1989. Étude des compositions chimiques de quelques espèces d'*Eucalyptus* du Maroc. *Al Biruniya, Rev. Mar. Pharm.* 5 (2): 125-132p.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F., 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.
- Hulin V., Mathot A.G., Mafart P. et Dufossé L., 1998- Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. *Sciences des aliments*, 18: 563-582.
- Hamada H. ; Benkhaled M. ; Massiot G. ; Long C. ; Lavaud C., 2004. Alkylated isocoumarins from *Pituranthos scoparius*, *Natural Product Research*, Vol. 18, No. 5, pp. 409– 413.
- Hajlaoui h., Mighri H., Noumi E., Snoussi M., Trabelsi N., Ksouri R., Bakhrouf A., 2010. Chemical composition and biological activities of Tunisian

Cuminum cyminum L. essential oil: A high effectiveness against *Vibrio* spp. Strains. Food and Chemical Toxicology. **48**: 2186–2192.

- Hammiche V. , Maiza K.,2006.T raditional Medicine In Central Sahara : PHarmacopoeia of Tassili N'ajjer. Journal of Ethnopharmacology,105(3), pp358-367.

J

- Javanmardi J., Stushnoff C., Locke E., Vivanco j.M., 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions, Food Chemistry. 83:547– 550.
- Jukic M. et Milos M., 2005 : In Zohra M., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen – Thèse de l'Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen – Faculté des Sciences, 150p

K

- Keville K. et Green M., 1995. Aromatherapy: A complete guide to healing art, Ed 1: The Crossing Press; p: 120-140.
- Kalla Ali .,2012. Etude de valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius*. *Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum*. Thèse de doctorat. option :PHYtochimie.L'universite Mentouri-Constantine.Faculté des Sciences Exactes.

L

- Liuk L., Sun Y., Laura T., Liang X., Ye H., Zeng X. (2009). Determination of polyphenolic content and antioxydant activity of Kudingcha made from *Ilex Kudingcha* C.J. Tseng. Food chemistry. 112 : 35-4.
- Lograda, T., Ramdani, M., Kiram, A., Chalard, P., Figueredo, G. 2013. Variation of essential oils composition of *Pituranthos scoparius* in Algeria. *Global J. Res. Med. Plants & Indigen. Med.*, 2(1): 1–11.
- Lugasi A., Dworschák E., Blázovics A., Kéry A., 1998. Antioxidant and free radical scavenging properties of squeezed juice from black radish (*Raphanus sativus* l. var. *niger*) root. *Phytother. Res.* 12: 502–506.

- Laouer H., 2004 -Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*. Thèse de Doctorat d'état, Département de Biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.
- Lucchesi E., 2005. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles, université de la reunion, p.142.
- Langenheim J. H., 1969 : a botanical inquiry. Science. 163 (872), 1157-1169 in Hernandez Ochoa L. R., 2005. Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine «solvant / actif» D'origine végétale – thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 209p.



- Mosbah S., 2013. Effet de l'incorporation de *Pituranthos chloranthus* Benth. Et Hook. (Dur. et Coss.) Dans l'alimentation sur les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du lait d'une population locale de chamelles. Thèse de Magister. Université. Ziane Achour, Djelfa, Algérie, p. 83.
- Maffei ME., 2010. Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. South African Journal of Botany; 76:612-631.
- Mann J., 1987. Secondary metabolism. second édition, Clarendon press, Oxford, p 374.
- Marfek A., 2003. Radiolyse gamma des flavonoides. Etude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : formation des depsides. Thèse de doctorat de l'université de Limoges.
- Mann C.M., Cox S.D., Markham J.L., 2000. The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Letters in Applied Microbiology 30(4): p. 294-297.
- Mesaros N., Nordmann P., Plesiat P., Roussel-Delvallez M., Van Eldere J., Glupczynski Y. 2007. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. Clin Microbiol Infect 13(6):560-78.
- Mazari K, Bendimerad N, Bekhechi C et Fernandez X. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from

Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L. Journal of Medicinal Plants Research. **4(10)**, 959-964, 18.

N

- Neffati A., Bouhlel I., Ben sghaier M., Boubaker J., Limem I., Kilani S., Skandrani I., Bhourri W., LE Dauphin J., Barillier D., Mosrati r., CHekir-Ghedira L., Ghedira K. ,2009a. Antigenotoxic and antioxidant activities of Pituranthos chloranthus essential oils. Environmental Toxicology and Pharmacology. 27 : 187–194.
- Neffati A., Limem I., Kilani S., Bouhlel I., Skandrani I., Wissem Bhourri W., Ben Sghaier M., Boubaker J., Ledauphin J., Barillier D., CHekir-Ghedira L., Ghedira K. 2009b. A comparative evaluation of mutagenic, antimutagenic, radical scavenging and antibacterial activities of essential oils of Pituranthos chloranthus (Coss. et Dur.). Drug and Chemical Toxicology. **32(4)**: 372–380.

O

- Özcan M. et Chachat J-C., 2004: Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey. Bulg. J. Plant Physiol . 30(3-4): 68-73.
- Ozanda P. ,1991.Flore et végétation du Sahara.(3^{ème} édition, augmentée) .Ed.CNRS,Paris :662p.
- Oyaizu, M. ,1986Studies on products of browning reactionAntioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition. 44, 307–315.
- Ozcelik B., Lee J.H., Min D.B., 2003.Effects of light, oxygen and pH on the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) method to evaluate antioxidants. Journal of Food Sciences 68, 487.

P

- Pastre J., Priymenko N., 2007. Intérêt des antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques .Revue Méd. Vét., 158, 4, 180-189.
- Pelletier E., Peter. G. C ., Campbel ., Francine D., 2004.Ecotoxicologie Moléculaire, Presses de l'université du Québec, Canada, PP (182).

- Pierangeli, G., Vital, G. and Windell, R., 2009. Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Chromolaena odorata* (L. f.) King and Robinson and *Uncaria perrottetii* (A. Rich) Merr. Extracts. *J. Medicinal Plants Res.* 3(7), p. 511-518.
- Ponce A.G., Fritz R., Del Valle C. Roura S.I., 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard, *Lebensm.-Wiss.u.-Technol* 36, pp.679-684.

Q

- Quezel P., Santa S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II, Editions du CNRS: Paris.1170p.
- Quezel P., Santa S., 1962-1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, Paris, 2 tomes. Cité par : Lograda T., Ramdani M., A. Kiram, Chalard P., Figueredo G. 2013. variation of essential oils composition of *Pituranthos scoparius* in Algeria, *Global J Res. Med. Plants & Indigen. Med.* 2 : 1

R

- Rahal S., 2004. Chimie des produits naturels et des êtres vivants. O.P.U. Edition. p.162.
- Ramadan M.F., 2010. Rapid antiradical method for screening deep fried oils. *Journal of Consumer Protection and Food Safety* 5: 47-50.
- Roux D., 2011. Conseil en aromathérapie. 2e éd. Pays-Bas : Pro-Officina, 187 pages.
- Rossi P.G. 2003. Caractérisation et valorisation des produits issus de la biomasse : activité biologique des huiles essentielles. Thèse de Doctorat, Université de Corse, 2.
- Rhayour K. ,2002. Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum* ", Thèse de Doctorat, Université de Mohamed Ben Abdallah Fès.170 p.
- Ricci D., Fraternali D., Giamperi L., Bucchini A., Epifano F., Burini G., 2005. Chemical composition, antimicrobial, and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum* (Lamiaceae). *J Ethnopharmacol.* 98:195– 200.



- Svoboda et Hampson., 1999. In Zohra M., 2006 : Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen – Thèse de l'Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen – Faculté des Sciences, 150p.
- Smallfield B., 2001: introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. Crops and Food Research. Number 45, P4.
- Smaili T., Zellagui A., Gherraf N., Flamini G., Cioni P. L., 2011. Essential oil content of the flowers of *Pituranthos scoparius* in Algeria, Medicinal Plants. 3 (2): 1-3.
- Stefanovits, Banyai E., Tulok M. H., Hegedus A., Renner C et Varga I. S., 2003. In Zohra M., 2006 : Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen – Thèse de l'Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen – Faculté des Sciences, 150p.
- Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M., 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origins as functional antioxidants, antiradicals, and antimicrobials in foods. Food Chem. 91:621–632.
- Schwammle B., Winkelhausen E., Kuzmanova S. et Stener W., 2001. In Zohra M., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen – Thèse de l'Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen – Faculté des Sciences, 150p.
- Singleton V.L. et Rossi J.A. , 1965 .Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. American Journal of Technology and Viticulture. 16, 144-153.
- Su M.S., Shyu Y. T., Chien P.J., 2008. Antioxydant activities of citrus herbal product *extracts*. Food chemistry. 111: 892-896.
- Sarr SO, Fall AD, Gueye R, Diop A, Diatta K, Diop N, NDiaye B, Diop YM. 2015. Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenaceae). Int. J. Biol. Chem. Sci., 9(3): 1263-1269.



- Talbert. Willoquet-Gervais.,2011.Guide pharmacoclinique.Wolters Kluwer.France .PP 946.
- Tenscher E., Anton R., Lobstein A. ,2005. Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Edition Tec&doc. Pp3-50/121-124.
- Takia L.,Messaouda R.,Abderazak K., Pierre C ., Gilles F.,2013.variation of essential oils composition of pituranthos scoparius in Algeria.Med.Plants & Indigen ,2(1) : 1-11 .

T^o

- Vincent MC., 1991. L'aromatogramme. Encyclopédie de médecine naturelle, phytothérapie, aromathérapie, Paris
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M and Telser J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol, 39(1), 44-84.
- Verite P., Nacer A., Kabouche Z., Seguin E. ,2004. Composition of seeds and stems essential oils of Pituranthos scoparius (Coss. & Dur.) Schinz, Flavour Fragr. J. 19: 562–564.
- Vernin G., Lageot C., Ghiglione C., Dahia M., Parkanyi C., 1999. GC/MS Analysis of the Volatile Constituents of the Essential Oils of Pituranthos scoparius (Coss et Dur.) Benth. et Hook. from Algeria, J.Essent. Oil Rex. **11**: 673-676.

W^o

- Walsh G., 2003. Biopharmceutical benchmarks- .Naturebiotechnology, 21(11),1396-1396.
- Willem J.P., 2004: Les huiles essentielles, médecine d'avenir, 318 p. 318.
- Wan Delden C., Iglewskib H. ,1998. Cell-to- cellsignaling and Pseudomonas aeruginosa infections. Emerging Infectious Diseases 4:551-560.
- Wagner H, Ulrich-Merzenich G. 2009. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. Phytomedicine.;16(2-3):97-110. doi:10.1016/j.phymed.2008.12.018.

Y

- Yap P. S. X., Yiap B. Ch., Ping H. C., Lim S. H. E. 2014. Essential Oils, a New Horizon in Combating Bacterial Antibiotic Resistance. *The Open Microbiology Journal* 8:6-14.
- Yangui T., Bouaziz M., Dhouib A., Sayadi S., 2009. Potential use of Tunisian *Pituranthos chloranthus* essential oils as a natural disinfectant. *Letters in Applied Microbiology* ISSN 0266-8254. **48**: 112–117.
- Yen G.C., Chen H.Y., 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity . *J. Agr. Food Chem.* **43**: 27–32.

Z

- Zeraib A., 2016. Etude phytochimique et chimiosystématique de *Juniperus thurifera* en Algérie. Thèse de Doc en Sc. Univ. Ferhat Abbès, Sétif 1. 144 p.

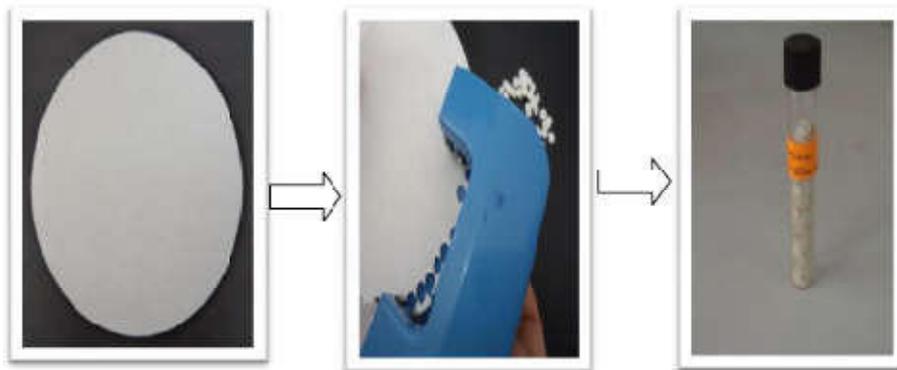
Site d'internet

- www.statsoft.com/textbook/k-nearest-neighbors

Annexes



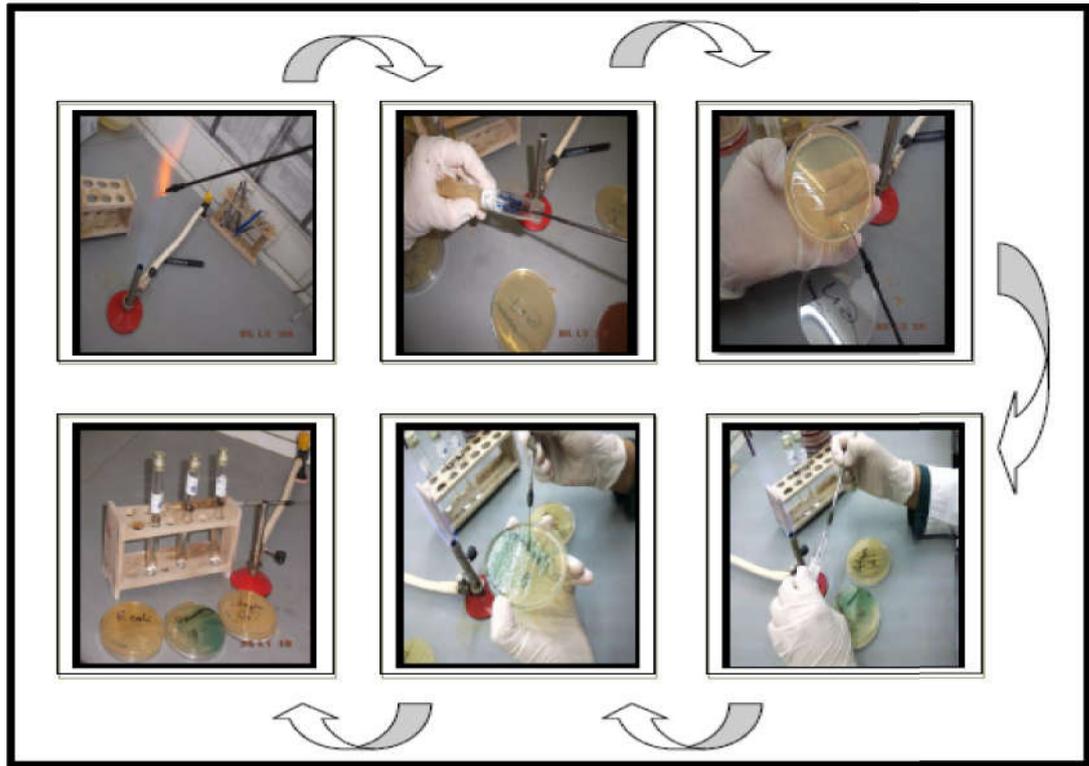
Annexe 1. Préparation de milieu de culture Muller Hinton (Photo originale).



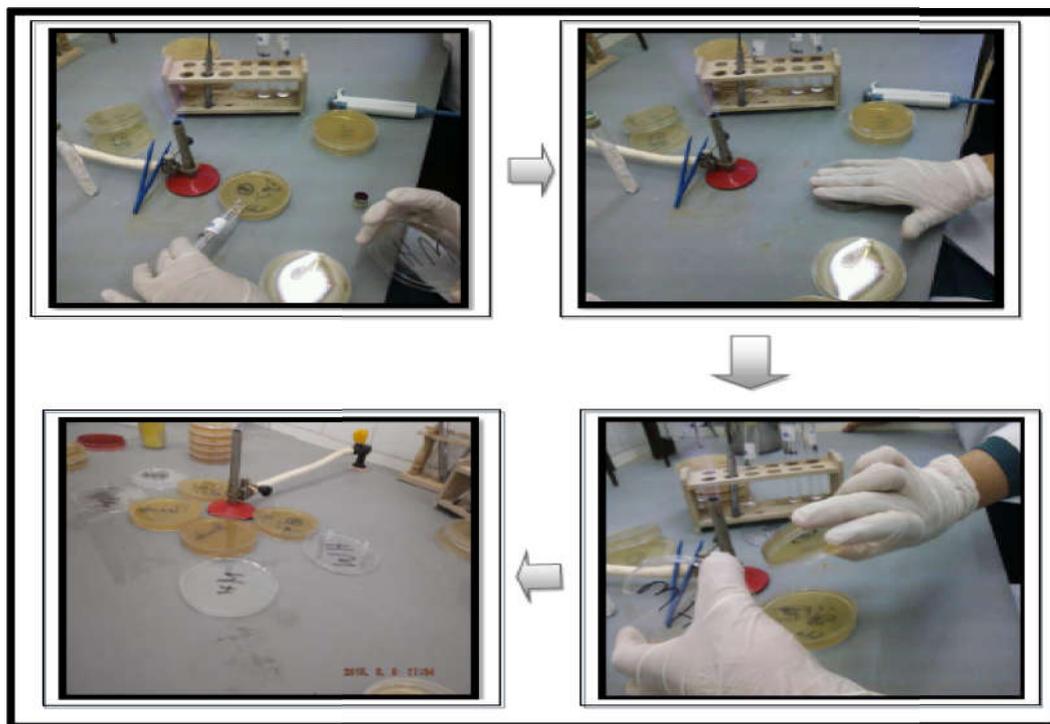
Annexe 2. Préparation des disques (Photo originale).



Annexe 3. Coulage de la MH.



Annexe 4. Préparation de la suspension bactérienne.



Annexe 5 .Technique d'ensemencement par inondation.

ملخص

صممت هذه الدراسة لتقييم النشاط المضاد للبكتيريا ومضاد الأكسدة في الزيت العطري المستخلص بواسطة طريقة تصريف بخار للجزء الهوائي لنبته القزاح تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا للزيت الأساسي المستخرج بواسطة طريقة الانتشار حيث أظهرت النتائج أن الزيت العطري الذي تم تمت دراسته له نشاط مضاد للبكتيريا مع السلالتين : *(E. coli et S. aureus)* أما بالنسبة لسلالة الثالثة *P. aeruginosa* من البكتيريا فهناك نشاط ضعيف للمضاد البكتيري في حين أن الجمع بين الزيت المستخلص مع ثلاثة من المضادات الحيوية اظهر أن له مفعول متساوي ومفعول تعاضدي مع Cefazolin بالإضافة إلى ذلك تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة بطريقة كبح الجذر الحر وأيضاً بطريقة إرجاع الحديد حيث لوحظ أن لهما قدرة ضعيفة بالتتابع مع سعة قدرها 9,77 مغ/مل و 9,9 مغ/مل بالترتيب .

الكلمات المفتاحية : الزيت الأساسي، القزاح، النشاط المضاد للبكتيريا، المضادات الحيوية، النشاط المضاد للأكسدة

Résumé

Cette étude a été conçue pour l'évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle extraite par la méthode de hydrodistillation entraînement à la vapeur d'eau de la partie aérienne de *pituranthos scoparius*. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite a été testée par la méthode de diffusion. Les résultats ont montré que l'huile essentielle examinée a une importante activité antibactérienne vis-à-vis de deux souches bactériennes *S. aureus* et d'*E. Coli* mais la souche *P. aeruginosa* possède une faible activité antibactérienne. Tandis que la combinaison de l'huile étudiée avec trois antibiotiques a provoqué des effets additifs sur les trois souches (*S. aureus*, *E. Coli* et *P. aeruginosa*). En addition, la capacité antioxydante a été évaluée in vitro par la méthode du DPPH et FRAP. Il montre un pouvoir antiradicalaire et un pouvoir réducteur de fer très faibles avec des CI50 sont respectivement 9,77mg/ml et 9,9mg/ml.

Les mots clé : huile essentielle, *pituranthos scoparius*, activité antibactérienne, antibiotique,

Abstract

This study was designed to evaluate the antibacterial and antioxidant activity of the essential oil extracted by the water vapor entrainment method of the aerial part of *pituranthos scoparius*. The antibacterial activity of the extracted essential oil was tested by the diffusion method. The results showed that the examined essential oil has a significant antibacterial activity against two *S. aureus* bacterial strains and *E. coli*. And weak of antibacterial activity against the *P. aeruginosa* strain. While the combination of the oil studied with three antibiotics provoked additifs effects with the strain *S. aureus* and *E. Coli* strain and *P. aeruginosa*. In addition, the antioxidant capacity was evaluated in vitro by the DPPH and FRAP method. It shows a very low antiradical power and iron reducing power with IC50 are 9.77 mg / ml and 9.9 mg /ml respectively.

Key words: essential oil, *pituranthos scoparius*, antibacterial activity, antibiotic, antioxidant activity