



Ministère de la Santé  
Royaume du Maroc

**Université Sidi Mohammed Ben Abdellah  
Faculté des Sciences et Techniques  
-Fès-**



**Licence Sciences et Techniques (LST)  
Biologie et Santé**

**Projet de fin d'étude**

**Etude de l'effet antibactérien de l'huile  
essentielle de la *Lavandula stoechas* sur les  
germes responsables d'infections urinaires**

Effectué au :

**Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et  
d'Hygiène du Milieu de Fès**

- ❖ **Présenté par :** FADEL Samira
- ❖ **Encadré par :** Dr A. EL OUALI LALAMI  
Pr. K. FIKRI BENBRAHIM  
Mr. Y. EZZOUBI

**Soutenu Le 14 Juin 2014 devant le jury composé de :**

- |   |              |
|---|--------------|
| ❖ Pr. K. FIKRI BENBRAHIM, F. S. T. Fès.       | Présidente   |
| ❖ Dr A. EL OUALI LALAMI, L. R. D. E. H. M Fès | Encadrant    |
| ❖ Mr. Y. EZZOUBI, L. R. D. E. H. M Fès        | Encadrant    |
| ❖ Dr. S. BERRADA, L. R. D. E. H. M Fès        | Examinatrice |

**Année Universitaire 2013 / 2014**

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail :*

*Aux deux êtres les plus chers au monde, qui  
ont souffert nuit et jour pour me couvrir de  
leur amour, mes parents.*

*A mon père pour sa patience avec moi et son  
encouragement ;*

*A ma source de bonheur, la prunelle de mes  
yeux, ma mère ;*

*Que le bon ALLAH vous garde en bonne  
santé ;*

*Je dédie aussi ce modeste travail :*

*A mes très chers frères et mes sœurs;*

*Ainsi que pour toutes mes amies.*

## Remerciements

*Avant tout je remercie Dieu « ALLAH » le tout puissant de m'avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce travail.*

*Je tiens à exprimer mes remerciements les plus respectueux au Docteur **EL OUALI LALAMI** responsable du laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu de Fès, de m'avoir accepté pour réaliser mon stage au sein du laboratoire et qui a bien voulu diriger ce travail avec beaucoup de compétence et d'efficacité.*

*Je remercie vivement **M<sup>me</sup> K. FIKRI BENBRAHIM** professeur de l'enseignement supérieur à la FST pour avoir accepté de m'encadrer, pour ces indications, ces conseils et son orientation tout au long de mon stage.*

*Je remercie également Monsieur **EZZOUBI YASSINE** pour son grand aide durant la réalisation de mon travail, il m'a orienté vers le succès avec ses connaissances et ses idées et aussi pour son encouragement tout on long de mon stage. Je le remercie également pour nous avoir fourni les huiles essentielles de l'institut nationale des plantes aromatiques et médicinales à la Province de Taounate.*

*Je tiens à remercier aussi **Dr. S. BERRADA** pour ses indications et ses conseils, et je remercie également **Mr. HAMID** et tous les membres du laboratoire (L.R.D.E.H.M).*

*Je remercie Monsieur **FRRAT** technicien de laboratoire de bactériologie au CHU Hassan II de Fès qui nous a offert les germes utilisés dans ce travail.*

*Enfin, à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce projet.*

### *Listes des tableaux et des figures*

#### Liste des tableaux

<b>N</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Facteurs favorisant la survenue des infections urinaires	<b>4</b>
<b>2</b>	Les antibiotiques testés	<b>13</b>
<b>3</b>	Diamètre critique pour les trois antibiotiques étudiés	<b>17</b>
<b>4</b>	Diamètre (mm) des zones d'inhibition d'huile essentielle de la <i>Lavandula stoechas</i> sur les bactéries isolées d'infection urinaire	<b>20</b>
<b>5</b>	Diamètre (mm) des zones d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis des souches isolées d'infection urinaire	<b>21</b>
<b>6</b>	CMI et CMB (mg/ml) de l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i> sur les souches isolées d'infections urinaires	<b>22</b>

#### Liste des figures

<b>N</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Anatomie de l'appareil urinaire	<b>2</b>
<b>2</b>	Répartition des infections nosocomiales selon les différents sites anatomiques	<b>6</b>
<b>3</b>	Classification de la plante <i>Lavandula Stoechas</i>	<b>11</b>
<b>4</b>	Photo de la plante <i>Lavandula stoechas</i>	<b>11</b>
<b>5</b>	Illustration de la méthode d'aromatogramme	<b>14</b>
<b>6</b>	Illustration de la méthode d'antibiogramme	<b>16</b>



Ministère de la Santé  
Royaume du Maroc

**Université Sidi Mohammed Ben Abdellah**  
**Faculté des Sciences et Techniques**  
**-Fès-**

<b>7</b>	Méthode de détermination de la CMI en milieu liquide	<b>18</b>
<b>8</b>	Méthode de détermination de la CMB	<b>19</b>
<b>9</b>	Photos montrant la CMI de l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i> sur les souches testées	<b>23</b>
<b>10</b>	Photos montrant la CMB de l'huile essentielles de <i>Lavandula stoechas</i> sur une bactérie isolées d'infection urinaire	<b>24</b>

*Liste des abréviations*

**BG-** : Bacille Gram-

**BHI** : Brain Heart Infusion

**CASFM** : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

**CHU** : Centre Hospitalier Universitaire

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**D** : Diamètre

**HE** : Huile Essentielle

**MH** : Mueller Hinton

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

## **Glossaire**

**Antispasmodique** : Est un produit permettant de lutter contre les spasmes musculaires.

**Dermatophytes** : Sont des champignons microscopiques filamenteux.

**Hépatotoxique** : Produit ou médicament qui est toxique pour le foie.

**Pollakiurie** : Est une fréquence excessive des mictions. Toutefois, le volume d'urine produite en 24 heures n'est pas plus élevé pour autant, le patient à juste plus souvent envie d'aller aux toilettes qu'à l'accoutumée.

**Polyurie** : Est un symptôme ou une maladie caractérisée par des urines abondantes.

**Psoriasis** : Est une maladie auto-immune de la peau d'origine inconnue et non contagieuse.

**Sédatif** : Est une substance qui a une action dépressive sur le système nerveux central et qui entraîne un apaisement, une relaxation, une réduction de l'anxiété, une somnolence, un ralentissement de la respiration et une diminution des réflexes.



Ministère de la Santé  
Royaume du Maroc

---

**Université Sidi Mohammed Ben Abdellah  
Faculté des Sciences et Techniques  
-Fès-**

**Lieu de stage : Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène  
du Milieu de Fès (L.R.D.E.H.M)**



Ministère de la Santé  
Royaume du Maroc

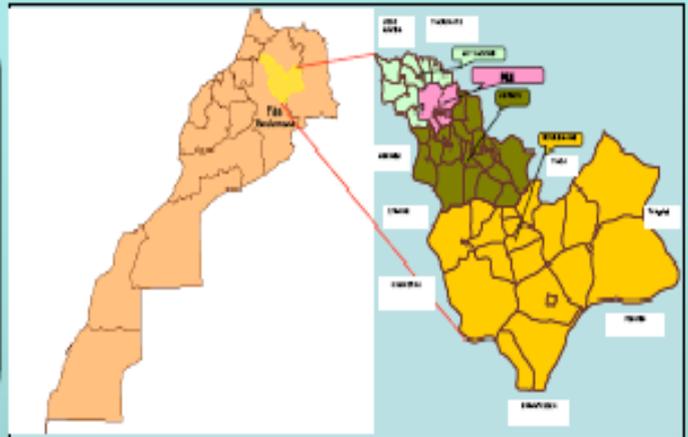
# Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté des Sciences et Techniques -Fès-

## HISTORIQUE

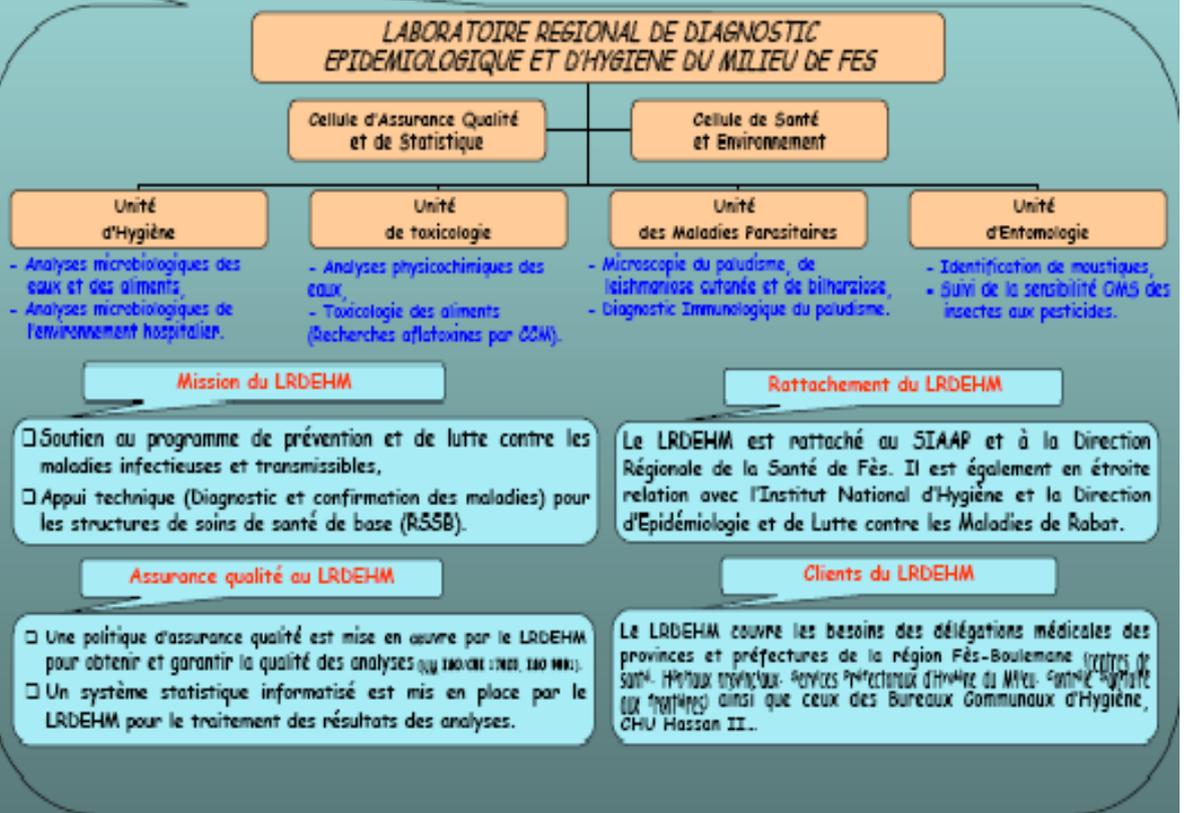
En 1977 Le Ministère de la Santé a créé des laboratoires "à visée préventive" : les Laboratoires de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu (LDEHM). Ils constituent une structure d'appui indispensable pour la surveillance épidémiologique des maladies infectieuses et transmissibles et pour les programmes sanitaires du Ministère de la Santé dans le cadre de l'Hygiène de l'environnement.

Actuellement il existe 42 LDEHM. Le laboratoire de Fès fait partie des 11 laboratoires régionaux qui ont vu le jour à partir des années 80. Il est implanté à l'Hôpital EL GHASSANI et est individualisé des Laboratoires d'analyses cliniques et de transfusion.

## SITUATION GÉOGRAPHIQUE DE LA VILLE DE FÈS



## Organisation fonctionnelle du LRDEHM



## Perspectives

- > Structurer la collaboration et la coopération du laboratoire avec son environnement.
- > Développer et réaliser des études épidémiologiques en relation avec ses activités.
- > Installer d'autres analyses:
  - Analyses toxicologiques de l'eau (recherches des pesticides et métaux lourds).
  - Parasitologie des eaux.
  - Sérologie et PCR du paludisme.
  - Entomologie du moustique vecteur des leishmanioses.

Projet constructif du Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu



## SOMMAIRE

Dédicace	
Remerciements	
Listes des tableaux et des figures.....	i
Liste des abréviations.....	ii
Glossaire.....	iii
Présentation du lieu de stage.....	iv
<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>

### *Première partie : Etude bibliographique*

#### *Chapitre I : Généralités sur les infections urinaires*

I.1 Définition.....	2
I.2 Anatomie de l'appareil urinaire.....	2
I.3 Epidémiologie.....	3
I.4 Physiopathologie.....	3
I.5 Types d'infection urinaire.....	3
I.5.1 Cystite.....	3
I.5.2 Pyelonephrite aigue.....	4
I.5.3 Prostatite aigue.....	5
I.6 Les micro-organismes responsables d'infection du tractus urinaire .....	5
I.7 Les infections urinaires nosocomiales.....	5

#### *Chapitre II: Généralités sur les huiles essentielles*

II.1 Définition.....	6
II.2 Techniques d'extraction.....	7
II.3 Domaines d'application.....	8
II.4 Activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	9
II.4.1 Activité antibactérienne.....	9
II.4.2 Activité antifongique.....	9



Ministère de la Santé  
Royaume du Maroc

**Université Sidi Mohammed Ben Abdellah**  
**Faculté des Sciences et Techniques**  
**-Fès-**

---

II.5 Huile essentielle de la	
<i>Lavande</i> .....	10
II.5.1 Les <i>Lavandes</i> .....	10
II.5.1.1 Le genre <i>Lavandula</i> .....	10
II.5.1.2 <i>Lavandula Stoechas</i> .....	10
II.5.2 Huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i> .....	11

***Chapitre III: Méthode de l'étude de l'effet antibactérien***

III.1 Aromatogramme ou méthode de disque.....	12
III.2 Méthode de diffusion en puits.....	12
III.3 Méthode de micro-atmosphère.....	12
III.4 Méthode de dilution.....	12

***Deuxième partie : Etude Expérimentale***

***Chapitre I : Matériels et méthodes***

**I.1 Matériels :**

I.1.1 Lieu de stage	
I.1.2 Matériel végétal.....	13
I.1.3 Microorganismes étudiés.....	13
I.1.4 Les antibiotiques testés.....	13

**I.2 Méthodes**

I.2.1 Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion par disque (aromatogramme).....	14
I.2.2 Méthode d'antibiogramme.....	15
I.2.3 Technique de macrodilution en milieu liquide.....	17
I.2.3.1 Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	17
I.2.3.2 Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB).....	18

***Chapitre II : Résultats et Discussion***

II.1 Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion par disque (aromatogramme).....	20
--	----

II.2 Méthode

d'antibiogramme.....	21	II.3
Technique de macrodilution en milieu liquide : détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB).....	22	
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>25</b>	

**Références bibliographiques**

**Annexe**

**Résumé**

## *INTRODUCTION*

Les infections urinaires sont parmi les infections bactériennes les plus fréquentes, tant en médecine de ville qu'en milieu hospitalier où les infections urinaires nosocomiales se classent en première ou deuxième place des principaux sites d'infections. Les infections urinaires sont de gravité très variée et peuvent toucher tous les patients quel que soit leur âge (**Bergogne-Bérézin., 2006**).

L'infection urinaire basse (cystite) est la manifestation la plus fréquente parmi les infections communautaires, notamment chez la jeune femme, mais l'infection du haut appareil urinaire (pyélonéphrite) n'est pas exceptionnelle en pathologie de ville, et sa prise en charge au domicile peut être faite en l'absence de signes de gravité.

Les infections urinaires constituent un problème important de santé publique par l'augmentation de la résistance des germes aux différents antibiotiques, Mouy et coll. ont suivi depuis 1989 la résistance d'*Escherichia coli*, chez des patients de ville et ont montré que le pourcentage de souches sensibles à l'amoxicilline et à l'amoxicilline + acide clavulanique était respectivement de 74 et 94% en 1989 et de 53 et 61 % en 1998. En 1998, seulement 63% des souches ont été trouvées sensibles au cotrimoxazole (90% en 1989) (**El Hajouji et al., 2009**).

Pour faire face au problème soulevé depuis plusieurs années par la résistance des bactéries aux antibiotiques, certains extraits de plantes, notamment les huiles essentielles, sont utilisées à la manière des antibiotiques ou d'autres préparations chimiques pour leurs fortes actions antimicrobiennes. L'évaluation des propriétés phytothérapeutiques des huiles essentielles dont les propriétés antibactérienne et antifongique, demeure une tâche très



Ministère de la Santé  
Royaume du Maroc

**Université Sidi Mohammed Ben Abdellah**  
**Faculté des Sciences et Techniques**  
**-Fès-**

intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquentes ou non connues dans la médecine.

Un intérêt majeur de l'utilisation potentielle des composés à base d'huiles essentielles réside dans le fait qu'il s'agit de molécules biocides multisites, c'est-à-dire qu'ils comportent des molécules présentant des modes d'action différents et des cibles différentes, avec un risque de développement de résistance probablement plus faible qu'avec les antibiotiques.

Ces nombreuses propriétés naturelles des huiles essentielles nous a amené à étudier l'effet antibactérien des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* sur certaines germes responsables d'infections urinaires.

**Première partie : Etude bibliographique**

## **I. Généralités sur les infections urinaires**

### **I.1 Définition**

L'infection urinaire est un terme général qui comprend à la fois la colonisation microbienne asymptomatique de l'urine et l'infection symptomatique avec l'invasion microbienne et l'inflammation des structures de l'arbre urinaire.

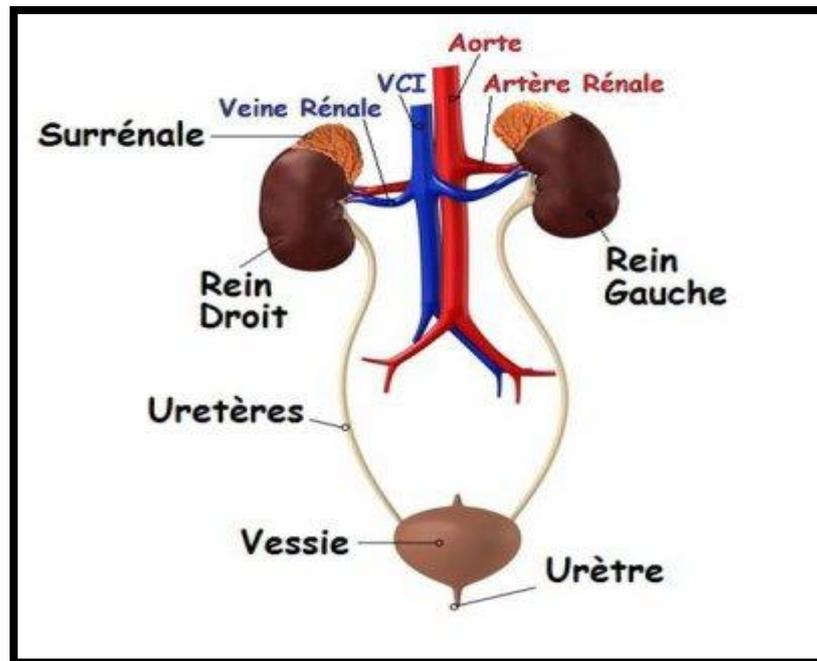
Les IU représentent l'un des motifs de consultation et d'hospitalisation les plus fréquents et constituent la première cause d'infection.

Selon le germe en cause, le degré de l'infection varie ; elle peut toucher une ou plusieurs parties du système urinaire à savoir la vessie ou/et l'urètre, les uretères ou les reins.

### **I.2 Anatomie de l'appareil urinaire**

L'appareil urinaire se compose des reins, des uretères, d'une vessie, d'un urètre et d'un méat urinaire. Il se forme et commence à fonctionner avant la naissance.

Le rôle de ce système est de former l'urine qui sera évacuée. L'urée est excrétée par les reins qui fabriquent l'urine ; cette urine est acheminée par l'uretère jusqu'à la vessie, une poche retenant l'urine, ensuite rejetée à l'extérieur de l'organisme lors de la miction par l'urètre s'abouchant au méat urinaire (Figure 1).



**Figure 1** : Anatomie de l'appareil urinaire

### **I.3 Epidémiologie**

Les infections de l'appareil urinaire sont plus courantes chez les femmes que chez les hommes hormis dans la période néonatale.

La prévalence de la bactériurie est de 1% chez les filles âgées de 5 à 14 ans. En outre, 4% des jeunes femmes adultes présentent une infection de l'appareil urinaire. Cette incidence augmente de 1 à 2% par décades. La prévalence chez les jeunes femmes est 30 fois plus importante que chez l'homme. Cet écart décroît progressivement avec l'âge puisqu'à 65 ans, 20 % des femmes et 10% des hommes présentent une bactériurie (**El Hajouji et al., 2009**).

Au total, 35% des femmes ont eu ou auront au moins un épisode d'infection de l'appareil urinaire dans leur existence.

### **I.4 Physiopathologie**

Chez l'homme, le tractus urinaire est stérile. La miction permet de déposer un bio film d'urine bactéricide et de recouvrir l'épithélium urinaire de protéines inhibant l'adhérence bactérienne. Les cellules de l'épithélium urinaire peuvent également s'exfolier, permettant l'élimination d'éventuels hôtes déjà fixés.

La contamination des patients non sondés se développe de façon ascendante avec une migration des germes provenant de la flore colique via le périnée. Si les germes stagnent dans la vessie, on a une infection urinaire basse (cystite). Si les germes se développent au niveau du bassinet, on a une infection urinaire haute pyélonéphrite (**Martin et al., 2002**).

### **I.5 Types d'infection urinaire**

Il existe trois types d'infections urinaires, qui se distinguent selon l'organe touché :

- Cystite
- Pyélonéphrite
- Prostatite

#### **I.5.1 Cystite**

La cystite est une inflammation de la muqueuse de la vessie. Elle est le plus souvent due à une infection, mais peut être d'une autre origine. Cette infection se caractérise par l'existence de brûlures mictionnelles, d'une pollakiurie et d'une polyurie (**Bergogne-Bérézin., 2006**).

On peut distinguer deux types de cystite : la cystite aigue simple et la cystite aigue compliquée.

- **La cystite aiguë simple**

Selon les recommandations françaises et américaines, la cystite est simple lorsqu'elle survient chez une femme de 15 à 65 ans, lorsque les autres diagnostics (notamment les infections gynécologiques) ont été éliminés, en l'absence d'antécédents ou de contexte clinique évocateur d'une anomalie urologique, lorsque l'infection urinaire n'est pas récidivante à court terme (délai < 3 mois) et en dehors de tout terrain particulier (diabète, grossesse, etc.) (**Bergogne-Bérézin., 2006**).

- **La cystite compliquée**

Les infections urinaires compliquées correspondent à une terminologie anglosaxonne désormais adoptée en France. Cette appellation n'implique pas nécessairement la présence d'une complication constituée, mais celle d'un facteur de risque pouvant rendre l'infection plus grave et le traitement plus complexe (**Bergogne-Bérézin., 2006**). Différents facteurs favorisant l'infection urinaire ont été identifiés. Ils sont résumés dans le tableau 1.

#### **Tableau 1 : Facteurs favorisant la survenue des infections urinaires**



Ministère de la Santé  
Royaume du Maroc

# Université Sidi Mohammed Ben Abdellah

## Faculté des Sciences et Techniques

### -Fès-

#### Facteurs favorisant la survenue des infections urinaires

Sexe féminin

Grossesse

Activité sexuelle

Utilisation de spermicides

Troubles du comportement mictionnel (mictions rares, retenues, incomplètes)

Diabète déséquilibré et /ou compliqué (neuropathie vésicale)

Anomalie organique ou fonctionnelle du tractus urinaire

#### I.5.2 Pyélonéphrite aigue

La Pyélonéphrite aigue est définie par l'existence d'une infection aigue du parenchyme rénal. Le risque évolutif à court terme est l'abcès du rein et la septicémie.

La pyélonéphrite aigue débute le plus souvent brutalement avec des signes généraux, urinaires et digestifs.

Les signes généraux sont de type de fièvre ( $> 39^{\circ} C$ ), de frissons et parfois d'altération de l'état général. Les signes digestifs sont à type de nausées et de vomissements (**Bergogne-Bérézin., 2006**).

#### I.5.2 La prostatite aigue

La prostatite est définie comme une inflammation de la prostate, elle survient généralement chez des patients ayant la cinquantaine. Son origine est rarement vénérienne. Sa survenue est brutale avec fièvre et frissons, accompagnée de troubles mictionnels : brûlures urinaires et pollakiurie. Elle rassemble donc, douleur lombaire en moins, à un syndrome de pyélonéphrite. Le diagnostic est affirmé par un toucher rectal qui se révèle extrêmement douloureux (**Richard-Olivier Fourcade., 1997**).

#### I.6 Les micro-organismes responsables d'infection du tractus urinaire

La nature des micro-organismes envahissant le tractus urinaire dépend pour la plus grande part de l'histoire de l'infection, des facteurs sous-jacents liés à l'hôte de traitements



Ministère de la Santé  
Royaume du Maroc

# Université Sidi Mohammed Ben Abdellah

## Faculté des Sciences et Techniques

### -Fès-

éventuels antérieures par antibiotique et de la notion d'instrumentation de l'appareil urinaire.

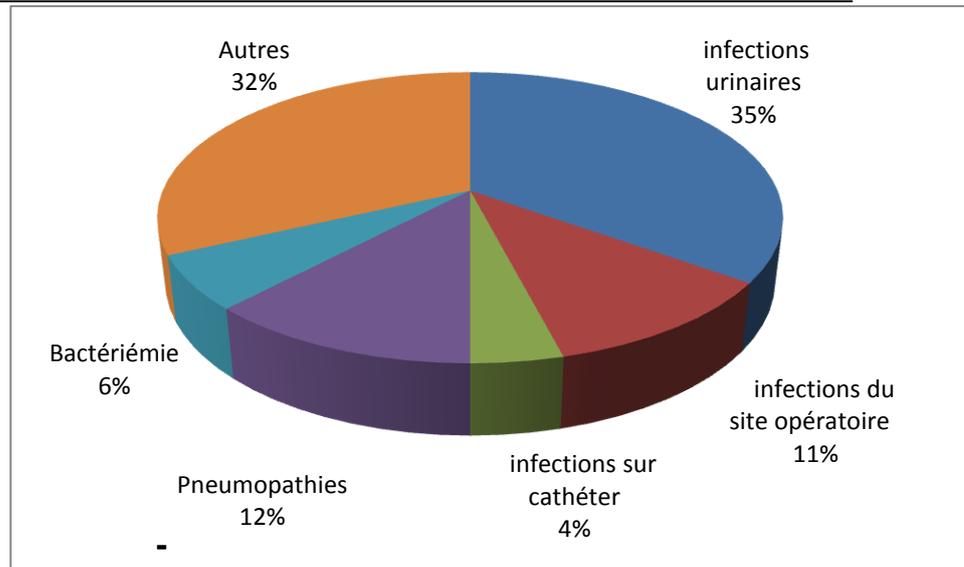
Une étude réalisée en France entre 2005 et 2008 chez 568 malades hospitalisés : 410 femmes et 158 hommes a identifié 441 cas d'infection urinaire positifs et 52 cas négatif (**Bruyère et al., 2013**). Cette étude montre que les bacilles à Gram négatif représentaient au total 95,7 % des germes en cause. *Escherichia coli* était le premier agent responsable d'infection urinaire avec 87,5 % des isolats suivi de *Proteus mirabilis* (2,9 %) et *Klebsiella* spp (2,9 %) tandis que les autres espèces de BG- étaient beaucoup moins fréquemment isolées. Parmi les Cocci Gram positif, *Streptococcus* spp (1,4 %) arrivait en première position suivi d'*Enterococcus* spp (1,1 %). *Staphylococcus saprophyticus* n'était isolé que dans 0,7 % des cas tout comme *Staphylococcus aureus*.

#### **I.7 Les infections urinaires nosocomiales**

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), une infection nosocomiale ou infection hospitalière est une infection d'origine microbienne qui atteint soit un patient hospitalisé, soit un membre du personnel hospitalier. Cette infection est habituellement considérée comme nosocomiale si elle survient dans un délai de 48 heures après l'hospitalisation (**Malek et al., 1996**).

L'infection urinaire nosocomiale reste la plus fréquente des infections nosocomiales en dépit des efforts de prévention. Elle est heureusement une infection bénigne dans la majorité des cas. Néanmoins les moyens mis en œuvre pour assurer son diagnostic et son traitement représentent une part importante du budget de la santé.

Une étude rétrospective réalisée au service de réanimation polyvalente du CHU HASSAN II de Fès en 2010 chez 682 malades hospitalisés, a identifié 147 épisodes d'infections nosocomiales chez 103 malades soit une incidence de 38,42% dont les infections urinaires représentent 35 % (**Qassimi., 2010**). La répartition des infections nosocomiales selon les différents sites anatomiques est représentée dans la Figure 2.



**Figure 2** : Répartition des infections nosocomiales selon les différents sites anatomiques.

## II. Généralités sur les huiles essentielles

### II.1 Définition

Les huiles essentielles sont des extraits volatiles et odorants que l'on extrait de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau, pressage ou incision des végétaux qui les contiennent. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous produits du métabolisme secondaire. Les huiles essentielles sont des composés liquides très complexes. Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie (**Benayad., 2008**).

Les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs (huiles de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.). Elles peuvent être extraites de différentes parties d'un végétal : les feuilles (ex : Eucalyptus), les fleurs (ex : camomille), l'écorce (ex : la cannelle), le bois (ex : le cèdre), le zeste (ex : le citron) et bien d'autres encore : les graines, les fruits, les baies, le bulbe.

La composition des HE est très complexe. Les terpènes, les aldéhydes, les cétones les phénols, les lactones, et les esters sont des composants que l'on retrouve dans les HE. Le rendement de la plante en HE diffère beaucoup en fonction de la période de l'année, des variétés, du climat et de nombreux autres facteurs.

Les HE ne sont pas des produits qui peuvent être utilisées sans risque. Certaines HE sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau sans être diluées, en raison de leur pouvoir irritant (huile riche en thymol ou en carvacrol), allergène (huile de citrus contenant des furacoumarines) ou neurotoxique (alpha-thujone). Cependant la toxicité de ces huiles est encore mal connue. Il manque des données bien précises sur leurs éventuelles propriétés mutagènes et cancérigènes.

## **II.2 Techniques d'extraction**

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des HE. Le choix du type de méthode dépend des propriétés de la plante ou le fruit utilisé (**Hellal., 2011**).

### **a. Hydrodistillation**

C'est un procédé facile et peu coûteux, aussi dit entraînement par la vapeur, C'est l'un des plus anciens. Le principe est le suivant : dans un ballon, on porte à ébullition un mélange d'eau et de la plante dont on souhaite extraire l'HE. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont alors entraînées par la vapeur d'eau créée. Elles passent par un réfrigérant à eau où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un récipient. Le distillat obtenu est constitué d'une seule phase qu'on sépare pour obtenir l'HE par l'ajout d'un solvant et du chlorure de sodium. La durée de l'hydrodistillation est généralement aux alentours d'une demi-heure, mais au cas où l'on veut extraire toute l'huile qui contient la plante elle peut durer un peu plus. En revanche, plus l'hydrodistillation dure plus l'HE est altérée. On a donc un dilemme qualité/quantité, soit on prolonge l'hydrodistillation pour avoir une grande quantité d'HE mais avec la moindre qualité, soit on privilégie la qualité de l'HE en gaspillant une grande partie de la plante (**Hellal., 2011**).

### **b. Extraction par expression à froid**

Elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique. Cette méthode se fait sans chauffage : elle consiste à soumettre la substance végétale à une forte pression à l'aide d'une presse hydraulique. Celle-ci est réalisée grâce à des machines

perfectionnées. Avant cette mécanisation, les méthodes d'extraction à froid ont longtemps été artisanales (Hellal., 2011).

### c. Extraction par micro-ondes

La micro-onde agit sur certaines molécules telles que l'eau, qui absorbent l'onde, et convertie leur énergie en chaleur. Contrairement au chauffage classique par conduction ou convection, le dégagement de chaleur a lieu dans la masse. Ainsi dans une plante, les micro-ondes sont absorbées par les parties les plus riches en eau converties en chaleur. Il en résulte une soudaine augmentation de la température à l'intérieur du matériel, jusqu'à ce que la pression interne dépasse la capacité d'expansion des parois cellulaires. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, et les substances situées à l'intérieur des cellules peuvent alors s'écouler librement à l'extérieur du tissu biologique et, l'HE est entraînée par la vapeur d'eau (Hellal., 2011).

## II.3 Domaines d'application

### a. Aromathérapie

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les HE pour traiter un certain nombre de maladies.

Les HE sont largement utilisées pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HE ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries.

Les huiles essentielles de thym et de romarin ont été utilisées pour soulager la fatigue, les maux de tête, les douleurs musculaires et quelques problèmes respiratoires (Daroui Mokaddem., 2012).

### b. Utilisation en aéro-ionisation

Dans les locaux, on peut aseptiser l'atmosphère avec un ionisateur d'huiles essentielles. Il se forme ainsi des aérosols vrais aromatiques, ionisées, créant de l'oxygène naissant ionique, fortement bactéricide, tout en contribuant à dépolluer l'atmosphère (Daroui Mokaddem., 2012).

### c. Parfumerie et cosmétologie

L'utilisation des HE dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et antioxydante, tout en leur assurant leur odeur agréable.

Le cinéole, par exemple, entre dans la fabrication des savons de toilette, des aérosols et des lotions désodorisantes (**Daroui Mokaddem., 2012**).

#### **d. Conservation des denrées alimentaires**

La préservation des produits alimentaires à caractère périssable constitue un des domaines d'utilisation des plantes aromatiques et médicinales.

La lutte contre les champignons toxigènes est l'un des objectifs de cette conservation, en effet ces micro-organismes élaborent des substances toxiques réputés pour leurs effets hépatotoxique et cancérigène.

Parmi le groupe diversifié des constituants chimiques des HE, le carvacrol, qui exerce une action antimicrobienne bien distinguée, est additionné à différents produits alimentaires en industrie agro-alimentaire. Ils y sont rajoutés pour rehausser le goût et pour empêcher le développement des contaminants alimentaire (**Daroui Mokaddem., 2012**).

### **II.4 Activité antimicrobienne des huiles essentielles**

De nombreuses études traitent l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, qu'elles soient citées dans des ouvrages, dans des journaux spécialisés de microbiologie ou présentées lors de congrès d'aromathérapie scientifique.

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles se trouve à la base des médecines dites alternatives, de nombreux procédés utilisés dans la conservation des produits alimentaires crus ou cuits, de substances actives exploitées dans les produits pharmaceutiques.

#### **II.4.1 Activité antibactérienne**

Les HE les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes sont riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous, reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations. Le thymol et eugénol sont utilisés dans les produits cosmétiques et alimentaires. Ces composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre

de bactéries : *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium spp*, *Helicobacter pylori* (Pauli. 2001, EL Ouali Lalami et al. 2013).

#### II.4.2 Activité antifongique

Le pouvoir antifongique des HE des plantes aromatiques a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les moisissures allergisantes et contre les dermatophytes et les champignons pathogènes et opportunistes tels que *Candida albicans* (levure), *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus*.

Il a été établi d'après COX et al. (2000) que les champignons sont généralement plus sensibles que les bactéries aux HE (Hellal., 2011).

### II.5 Huile essentielle de la Lavande

#### II.5.1 Les lavandes

Les *Lavandes* sont des plantes de la famille des *Labiées* (ou *Lamiacées*). Elles appartiennent au genre *Lavandula* qui regroupe une trentaine d'espèces, mais certaines d'entre elles peuvent n'être que des variétés ou sous-variétés ou même simplement des formes végétatives d'une espèce bien définie.

##### II.5.1.1 Le genre *Lavandula*

*Lavandula* est un sous-arbrisseau de la famille des *Labiées* abondant dans le bassin méditerranéen, il pousse spontanément dans la région de Tlemcen (Algérie). Le genre se compose d'environ 28 espèces, qui sont pour la plupart d'origine méditerranéenne. Ce sous-arbrisseau est à tige et feuilles persistantes, il peut atteindre une longueur de 1 mètre, étroit vert pâle, s'étend du gris bleuâtre profond au vert à brun pâle, fleurs de couleur bleu – violet. D'autres variétés sont à fleurs blanches et roses. L'ensemble de la plante est très aromatique comprenant fleurs et feuilles (Mohammedi et al., 2011).

Il existe en France :

- La *Lavande stoechas*, la plus estimée des anciens, la moins estimée des modernes.
- La *Lavande officinale*.
- La *Lavande aspic*.

Les anciens ne connaissaient ces plantes que sous le nom de *Stoechas*. Chaytor en 1937 a subdivisé le genre en cinq sections dont la section *Spica* avec la *Lavande officinale*, la *Lavande Aspic* et leurs hybrides, le *Lavandin*.

### II.5.1.2 *Lavandula Stoechas*

#### a. Définition :

*L. stoechas* est une plante tendre, qui préfère les endroits ensoleillés et les sols riches, les tiges étroites sont quadrangulaires à feuilles opposées, à son extrémité une inflorescence terminée par un toupet de longues bractées violettes. Largement distribuée dans les îles canari, Islande et à travers tout le tell méditerranéen, l'Afrique du Nord, Sud ouest de l'Asie, Afrique tropicale avec une disjonction vers l'Inde (Mohammedi et al., 2011).

#### b. Classification :

Règne	: Plantes
Sous règne	: Plantes vasculaires
Embranchement	: Angiospermes
Classe	: Dicotyledones
Sous classe	: Dialypétales
Ordre	: Lamiaceae
Genre	: <i>Lavandula</i>
Espèce	: <i>Lavandula stoechas</i> L

**Figure 3:** Classification de la plante *Lavandula Stoechas*



**Figure 4 :** Photo de la plante *Lavandula stoechas*

### II.5.2 Huile essentielle de *Lavandula stoechas* :

L'HE de lavande est l'ensemble des composés volatils odorants, extraite à partir de la plante sèche ou fraîche de la lavande.

L'huile des feuilles de *L. stoechas* est riche en monoterpènes, les constituants majoritaires sont : Fenchone (27.6%), Cinéole (18.9%) et Camphre (18.1%). On rencontre aussi de l'acétate de Bornyl (3.2%), du Camphène (1.3%) et du Viridiflorol (1.1%). Beaucoup de travaux ont révélé la dominance de fenchone, Cinéole et Camphre dans les huiles des

*Lavandes* de différentes origines à titre d'exemple les travaux de Garcia Vallejo et al. qui ont noté les principes actifs suivants : fenchone (42.1%) > camphre (23%) > 1,8 cinéole (9.4%) (Mohammedi et al., 2011).

La *Lavande* a une longue histoire en usage médicinal, employée comme expectorant, antispasmodique, carminative, désinfection des plaies, contre les problèmes dermatiques, psoriasis, possède des propriétés antimicrobiennes et anti-carcinogènes, sédatif, antidépresseur, antioxydant, anti-inflammatoire et insecticide (Mohammedi et al., 2011).

### **III. Méthode de l'étude de l'effet antibactérien**

Il existe une diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antibactérienne des huiles essentielles.

#### **III.1 Aromatogramme**

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en biologie médicale appelée antibiogramme. La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester, puis les déposer à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension du microorganisme à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelées zones d'inhibition. Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible à la substance testée et vice versa. Le diamètre de ces zones d'inhibition est proportionnel à l'activité bactériologique ou antifongique de l'HE sur le germe testé.

#### **III.2 Méthode de diffusion en puits**

C'est une méthode proposée par COOPER et WOODMAN en 1946 et reprise par SHROEDER et MESSING en 1949. Elle assure une diffusion radiale de l'HE à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire facilement mesurable. La méthode consiste à découper un trou circulaire dans la gélose et y verser une solution de l'HE de concentration connue. L'HE diffuse radialement en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablementensemencée avec la suspension à étudier.

#### **III.3 Méthode de micro-atmosphère**

Cette technique consiste à cultiver les microorganismes à tester dans les boîtes de Pétri sur un milieu de culture approprié. On dépose ensuite un disque imprégné dans l'HE au centre

du couvercle de la boîte de pétri, celui-ci n'est pas en contact avec le milieu gélosé. L'huile s'évapore dans l'atmosphère de la boîte et peut donc exercer son effet inhibiteur sur les microorganismes.

#### **III.4 Méthode de dilution**

Les HE peuvent également être directement mélangés en concentration connue au milieu de culture, qu'il soit solide ou liquide. Le milieu est ensuite inoculé avec un taux déterminé de micro-organismes. Après incubation, la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) sont déterminées.

## **Deuxième partie : Etude Expérimentale**

### **Chapitre I : Matériels et Méthodes**

## **I.1 Matériels**

### **I.1.1 Lieu de stage**

Ce travail a été réalisé au Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu de Fès durant 2 mois.

### **I.1.2 Matériel végétal**

La récolte des échantillons de la *Lavandula stoechas* a été effectuée en mois d'avril (2014) au niveau de la montagne de Timezgana relevant la commune rurale de Timezgana (Province de Taounate, nord-est du Maroc) à une altitude approximative de 800 m.

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée à l'institut nationale des plantes aromatiques et médicinales à la Province de Taounate par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (**Clevenger, 1928**).

Trois distillations ont été réalisées par ébullition, pendant 2h30, de 150 g de la partie aérienne de la plante (tiges, feuilles et fleurs) fraîche avec 1L d'eau dans un ballon de 2l surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant. L'huile essentielle a été stockée à 4 °C dans l'obscurité en présence de sulfate de sodium anhydre.

### I.1.3 Microorganismes étudiés

Les germes testés ont été obtenus du laboratoire de bactériologie au CHU Hassan II de Fès. Il s'agit de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Ces bactéries ont été choisies pour leur fréquence élevée dans les infections urinaires et pour leur pathogénicité. Elles ont été entretenues par repiquage sur Gélose nutritif favorable à leur croissance pendant 24 h à 37 +/- 1°C.

### I.1.4 Les antibiotiques testés

Les antibiotiques testés sont représentés dans le tableau 2.

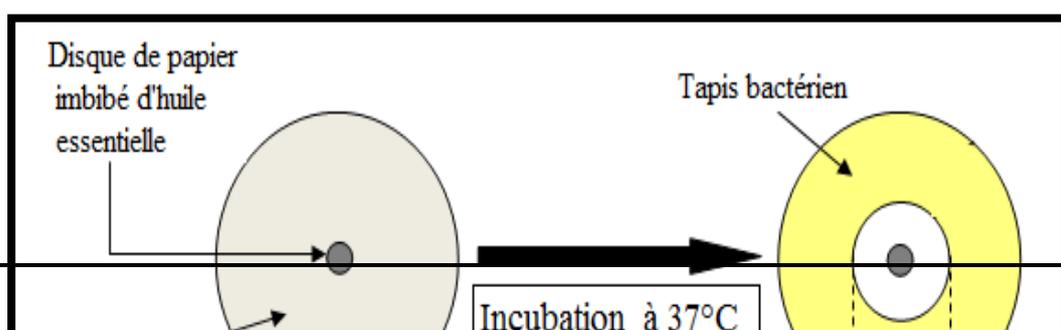
**Tableau 2 : Les antibiotiques testés**

Antibiotiques	Charge du disque	Familles
Céftriaxone	30µg	Céphalosporine 3 ème génération
Gentamycine	10µg	Aminosides
Ofloxacin	5µg	Quinolone

## I.2 Méthodes

### I.2.1 Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion par disque (aromatogramme)

Cette méthode permet d'évaluer l'activité antibactérienne d'une huile essentielle. Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs. La technique utilisée est une modification de la méthode de **Hayes et Markovic (2002)**. Elle consiste à déposer un disque stérile, imbibé d'huile essentielle, sur un tapis bactérien au tout début de sa croissance et de mesurer la zone où les bactéries n'ont pas pu se développer. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne de l'huile essentielle, est ainsi déterminé (figure 5).





Ministère de la Santé  
Royaume du Maroc

**Université Sidi Mohammed Ben Abdellah**  
**Faculté des Sciences et Techniques**  
**-Fès-**

**Figure 5** : Illustration de la méthode d'aromatogramme

➤ **Ecoulement du milieu de culture**

Pour les bactéries, le milieu standard utilisé est le Mueller-Hinton, c'est un milieu standardisé selon les normes de l'OMS, c'est-à-dire d'une manière telle qu'il permet la croissance de nombreuses bactéries. 20 ml de milieu gélosé MH ont été coulés par boîte de Pétri.

➤ **Préparation de la préculture**

Dans des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive, les souches bactériennes à tester ont été cultivées et incubées par la suite pendant 24 h à 37 +/- 1°C afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées.

➤ **Préparation de l'inoculum**

A partir des boîtes contenant les germes pathogènes, des suspensions bactériennes pour chaque espèce ont été préparées. A l'aide d'une anse deux ou trois colonies pures et bien isolées ont été prélevées et déchargées dans un tube stérile contenant 10 ml de milieu Brain Heart Infusion (BHI). Les tubes ont été incubés à 37 +/- 1°C pendant 2 à 3 heures.

➤ **Ensemencement**

Sur des boîtes contenant le milieu gélosé MH d'une épaisseur de 2 mm bien séché, 2 ml de l'inoculum ont été déposés. Après une imprégnation pendant 5 minutes, l'excédent d'inoculum a été éliminé.

➤ **Incubation**

A la surface de chaque boîte, un disque de papier filtre stérile de 6 mm de diamètre imbibé avec 10  $\mu$ L d'huile essentielle a été déposé. Les boîtes ont été laissées pendant 1 heure à température ambiante et incubées à 37 +/- 1°C pendant 24 heures.

Après incubation, le diamètre d'inhibition est mesuré en millimètre, disque inclus.

### I.2.2 Méthode d'antibiogramme

L'antibiogramme consiste à rechercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques. Pour cette étude nous avons étudié l'activité antibactérienne de trois antibiotiques à savoir : Céftriaxone, Gentamycine, Ofloxacine communément utilisés contre les infections urinaires (cystite, pyélonéphrite et la prostatite) (Fabre et al., 2010).

La technique utilisée consiste à déposer un disque de chaque antibiotique commercialisé à la surface d'une gélose MH uniformément ensemencée avec une suspension du microorganisme à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelée zone d'inhibition. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne d'antibiotique, est ainsi déterminé (figure 6).

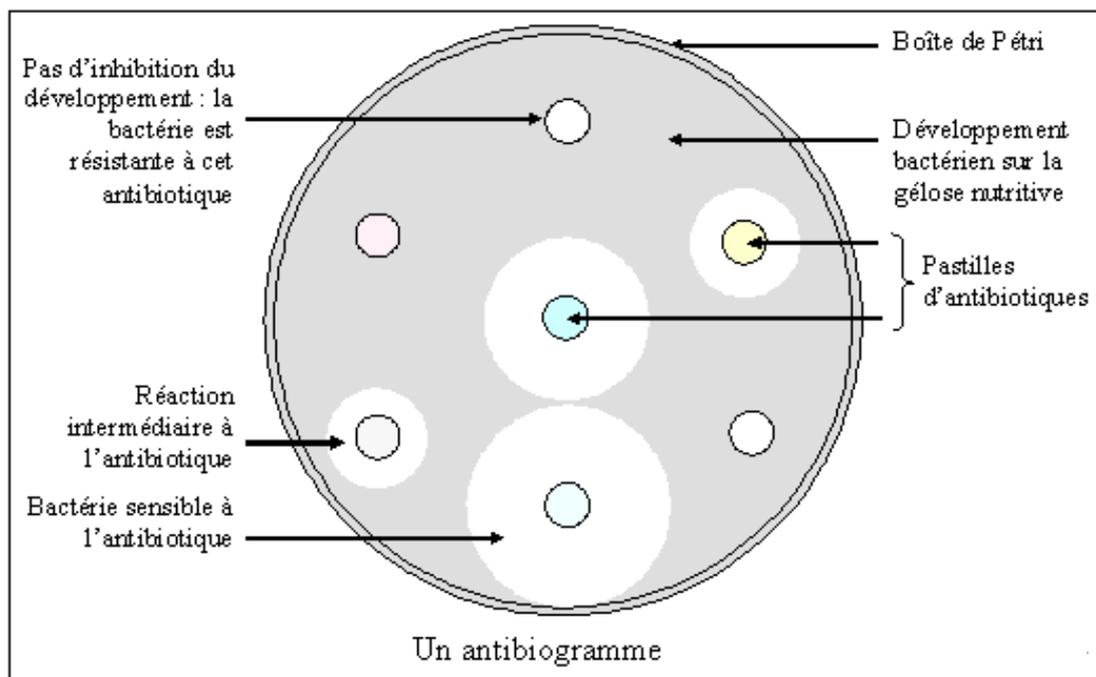


Figure 6 : Illustration de la méthode d'antibiogramme

- L'antibiogramme est basé sur le même protocole utilisé pour l'aromatogramme.

Des boîtes de pétri coulées par le milieu gélosé MH ont été ensemencées par 2ml d'inoculum de chaque bactérie étudiée. Après 5 minutes, l'excédent d'inoculum a été éliminé.

A la surface de chaque boîte, un disque d'antibiotique a été déposé. Les boîtes ont été laissées durant 1 heure à température ambiante et incubées à 37°C pendant 24 heures, le diamètre d'inhibition a été mesuré en millimètres, disque inclus.

La Société Française de Microbiologie a créé un Comité de l'Antibiogramme (CA-SFM) chargé de déterminer les valeurs critiques qui délimitent les catégories cliniques (antérieurement catégories thérapeutiques) et de proposer un guide pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Les diamètres critiques pour les antibiotiques étudiés sont représentés dans le tableau 3. **(Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie, 2013).**

**Tableau 3** : Diamètre critique pour les trois antibiotiques étudiés

<b>Antibiotique</b>	<b>Diamètre critique (mm)</b>
Céftriaxone	$\geq 26$ D < 23
Gentamycine	$\geq 18$ D < 16
Ofloxacine	$\geq 25$ D < 22

### **I.2.3 Technique de macrodilution en milieu liquide**

#### **I.2.3.1 Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)**

Cette technique consiste à inoculer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en huile essentielle. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne.

➤ **Préparation des dilutions d'huile essentielle**

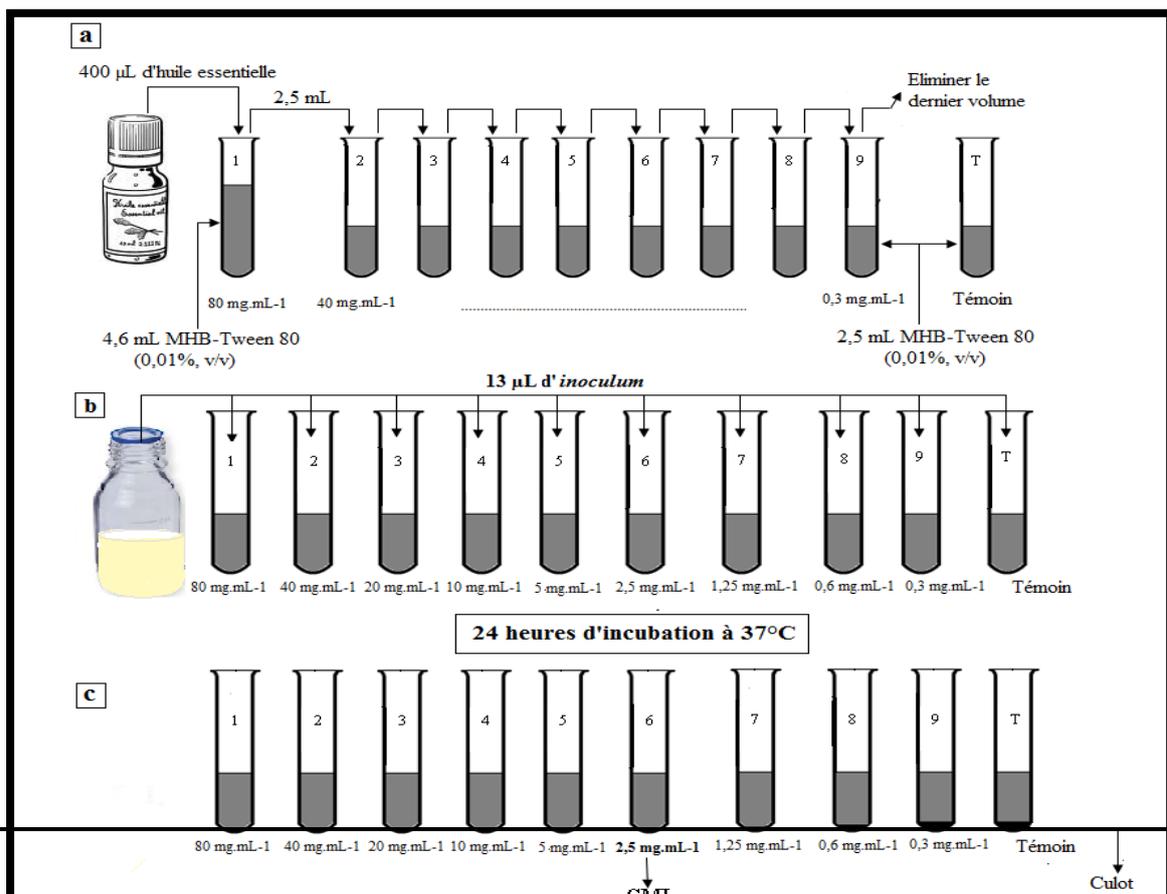
400  $\mu\text{L}$  de l'huile essentielle à tester sont placés dans un tube stérile contenant 4,6 ml de milieu BHI, supplémenté en Tween 80 (0,01 %, v/v). Une dilution en cascade a été effectuée dans du milieu BHI-Tween 80 (0,01 %, v/v), de manière à obtenir une gamme de concentration comprise entre 80  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  et 0,3  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  (figure 7).

➤ **Ensemencement**

13  $\mu\text{L}$  d'un inoculum bactérien ont été déposés dans chacun des tubes de la gamme. Un témoin de la croissance bactérienne, pour lequel 13  $\mu\text{L}$  de l'inoculum standardisé ont été déposés dans du milieu BHI-Tween 80 (0,01 %, v/v), est également réalisé.

➤ **Incubation**

Les tubes sont ensuite placés à 37°C pendant 24 heures.



**Figure 7** : Méthode de détermination de la CMI en milieu liquide

➤ **Lecture**

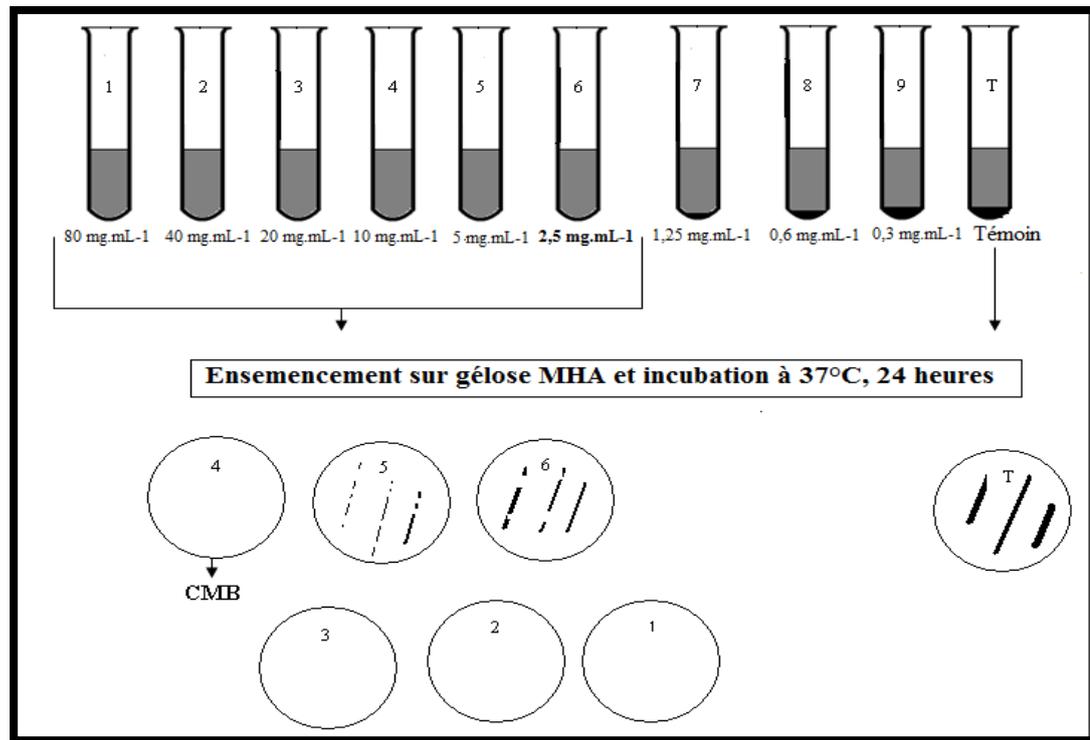
Après incubation, La CMI (% v/v) de l'huile essentielle testée est déduite à partir du premier tube de la gamme dépourvu de croissance bactérienne.

**I.2.3.2 Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)**

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable de tuer plus de 99,9 % de l'*inoculum* bactérien initial.

Les résultats de la détermination de la CMI réalisée par la technique de macrodilution en milieu liquide, ont été utilisées pour déterminer la CMB de l'huile essentielle.

Des prélèvements ont été effectués dans le tube témoin et dans chacun des tubes dépourvus de culot bactérien puis déposés « en strie » sur le milieu MH. Les boîtesensemencées ont été incubées 24 heures à 37°C. (Figure 8).



**Figure 8** : Méthode de détermination de la CMB

➤ La CMB (% , v/v) de l'huile essentielle a été déduite à partir de la première boîte dépourvue de bactérie



Ministère de la Santé  
Royaume du Maroc

---

**Université Sidi Mohammed Ben Abdellah  
Faculté des Sciences et Techniques  
-Fès-**

**Chapitre II : Résultats et Discussion**

## II.1 Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion par disque (aromatogramme)

Le tableau 4 illustre les variations des diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes apparues vis-à-vis des huiles essentielles de la *Lavandula stoechas*. Ces résultats montrent que l'activité de ces huiles est différente en fonction de la bactérie cible.

**Tableau 4 :** Diamètre (mm) des zones d'inhibition d'huile essentielle de la *Lavandula stoechas* sur les bactéries isolées d'infection urinaire

Bactéries	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Diamètre (mm)	16	17	14	13	14

En général, les bactéries utilisées dans cette étude ont été trouvées sensibles à l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*. Les diamètres d'activité antibactérienne obtenus ont été de l'ordre de 13mm, 14mm, 14mm, 16mm et 17mm respectivement pour *P. mirabilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *k. pneumoniae*. Ces résultats montrent que *K. pneumoniae* est la souche la plus sensible par rapport aux autres bactéries par contre *P. mirabilis* est la plus résistante.

**D'après les résultats de Gören et al (2002)** *Lavandula stoechas* a une très bonne activité antibactérienne quand l'HE est testé par la technique des disques et ils ont obtenu des zones d'inhibition de 22mm, 23mm, 24mm, 25mm et 25 mm, contre *S. aureus*, *E. coli*, *k. Pneumoniae*, *P. aeruginosa* et *P. mirabilis* respectivement.. par contre les travaux de **Mohammadi Zohra (2006)** ont montré une faible activité de ces huiles essentielles contre les mêmes bactéries, le pouvoir antibactérien le plus élevé a été observé contre *E. coli* mais dont le diamètre n'est que moyen de quelques millimètres d'environ (8.19 mm). Pour les autres bactéries les diamètres d'inhibition est sont de 0.55mm, 5mm, 5.66mm, 5.88mm pour *P. aeruginosa* *S. aureus*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* respectivement.

La différence des diamètres d'inhibition enregistrée dans les résultats de nos travaux pourrait être due à la richesse de cette plante de composés majoritaires qui diffèrent selon les conditions bio climatiques et la résistance des bactéries étudiées.

## II.2 La méthode d'antibiogramme

Le tableau 5 illustre les variations des diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes apparues en présence des différents antibiotiques.

**Tableau 5** : Diamètre (mm) des zones d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis des souches testées

Souches bactériennes	Diamètres d'inhibition (mm)		
	Céftriaxone	Gentamicine	Ofloxacin
<i>Staphylococcus aureus</i>	R	17	21
<i>Klebsiella</i>	R	14	21
<i>E. coli</i>	R	13	25
<i>Proteus</i>	18	14	27
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	13	14

La plupart des souches bactériennes étudiées ont montré une résistance vis-à-vis des antibiotiques utilisés sauf *E. coli* et *Proteus mirabilis* qui ont présenté une sensibilité vis-à-vis de l'ofloxacin ( $\geq 25$  D < 22) avec des diamètres d'inhibition respectivement de 27mm et 25mm. Aussi pour la gentamicine, *Staphylococcus aureus* a manifesté une activité de niveau intermédiaire ( $\geq 18$  D < 16) avec une zone d'inhibition de 17mm.

Les diamètres d'inhibition de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*, sont inférieurs à ceux produits par l'ofloxacin et presque les mêmes pour la gentamicine.

Pour la céftriaxone, les diamètres d'inhibition sont nuls sauf *P. mirabilis* qui a présenté un diamètre de 18mm. Nous pouvons déduire que cette huile à un effet antibactérien plus important que la céftriaxone.

D'après ces résultats on constate que *Proteus mirabilis* est la souche la plus sensible aux antibiotiques.

### **II.3 Technique de macrodilution en milieu liquide : détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB)**

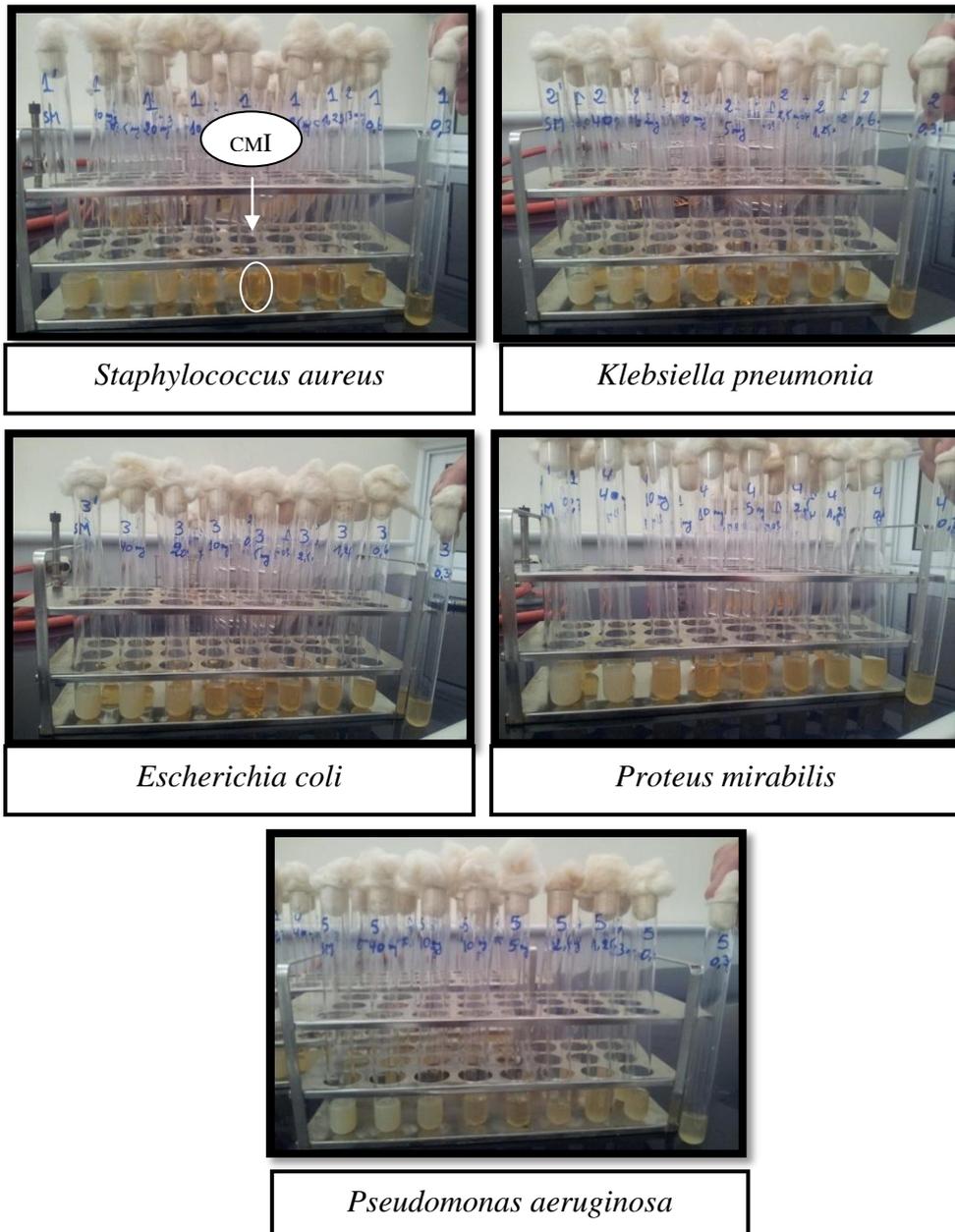
Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales bactéricides (CMB) de l'HE de *Lavandula stoechas* sur les 5 souches isolées d'infection urinaire sont représentées dans le tableau 6.

**Tableau 6** : Les CMI et CMB (mg/ml) de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* sur les 5 souches isolées d'infections urinaires

<b>Souches bactériennes</b>	<b>CMI (mg/ml)</b>	<b>CMB (mg/ml)</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	5
<i>Klebsiella pneumonia</i>	2,5	2,5
<i>Escherichia coli</i>	5	10
<i>Proteus mirabilis</i>	10	20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	10

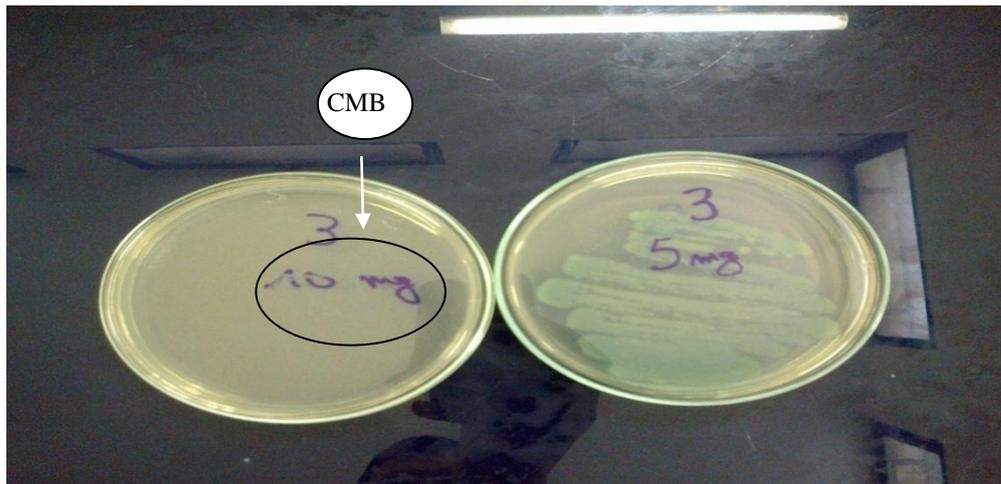
**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**CMB** : Concentration minimale bactéricide



**Figure 9 :** Photos montrant la CMI de l'huile essentielles de *Lavandula stoechas* sur les 5 souches isolées d'infection urinaire

D'après les résultats obtenus dans le tableau 6, les valeurs de CMI trouvées, sont comprises entre 2,5 et 10 mg/ml. La bactérie *K. pneumonia* s'avère plus sensible que les autres souches étudiées avec une CMI de 2,5 mg/ml, alors que *P. mirabilis* est la plus résistante avec une valeur de 10 mg/ml. Pour *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa* la croissance est inhibée à une même concentration qui atteint 5 mg/ml.



**Figure 10 :** Photos montrant la CMB de l'huile essentielles de *Lavandula stoechas* sur une bactérie isolées d'infection urinaire

La plus petite concentration capable de tuer les souches de *S. aureus* et *K. pneumonia* est égale à la concentration minimale capable d'inhiber son développement (CMB=CMI) avec des valeurs respectivement de 5mg/ml et 2,5mg/ml. Pour les autres bactéries, la concentration minimale bactéricide est de 10, 10 et 20 mg/ml respectivement pour *E. coli*, *P. aeruginosa* et *P. mirabilis*. Ces résultats confirment ceux de la méthode de diffusion par disque qui montre que la souche *K. pneumonia* est la plus sensible et que *P. mirabilis* est la plus résistante.

Les huiles essentielles sont reconnues par leurs composants naturels, comme les monoterpènes, diterpènes et les hydrocarbures avec des groupes fonctionnels divers. Dans les années 1990, Muanza et ses collaborateurs ont recherché des extraits de plantes potentiellement bioactifs contre les bactéries et les moisissures (Muanza., 1995). Depuis, beaucoup d'autres chercheurs ont rapporté l'effet antimicrobien (Sivropoulou *et al.* 1995, Sivropoulou *et al.* 1997) des huiles essentielles dans la recherche pharmaceutique.

La forte activité inhibitrice est bactéricide de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* est pourrait être due aux composés majoritaires. Il s'agit notamment de Fenchone, Cinéole et Camphre (**Mohammedi and Atik., 2011**).

L'étude de l'activité antibactérienne de ces huiles essentielles de *Lavandula stoechas* sur des souches de bactéries isolées d'infection urinaire montre que ces huiles possèdent une très forte activité antibactérienne surtout contre *K. Pneumonia*.

### *Conclusion et perspectives*

Les huiles essentielles de *L. stoechas* sont des antibactériens naturels très efficaces et peuvent être une source très importante de constituants phytopharmaceutiques utilisés pour éradiquer les infections d'origine bactérienne.

Dans cette étude, nous avons testé ces substances naturelles sur des germes responsables d'infection urinaire, qui menacent la santé publique. Les résultats expérimentaux obtenus montrent que l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* révèle un pouvoir antibactérien puissant contre les cinq bactéries étudiées. Ces résultats confirment l'utilisation traditionnelle de ces huiles essentielles dans le domaine pharmaceutique.

L'effet antibactérien de l'huile essentielle par la méthode de diffusion par disque a montré que *Klebsiella pneumonia* est la souche la plus sensible avec un diamètre d'inhibition de 17mm, par contre *Proteus mirabilis* est la plus résistante avec un diamètre de 13mm. Ces résultats ont été confirmés par la méthode de diffusion en milieu liquide dont la concentration minimale inhibitrice(CMI) est de 2,5mg/ml et 10mg/ml respectivement pour *Klebsiella pneumonia* et *Proteus mirabilis*.

Pour la concentration minimale bactéricide (CMB) est de 2,5mg/ml et 20mg/ml respectivement pour *Klebsiella pneumonia* et *Proteus mirabilis*.

A la suite de ces résultats, il serait donc intéressant de mener des autres recherches sur les fractions de ces huiles ayant l'activité antibactérienne in vitro en vue d'identifier l'espèce chimique ou les composés responsables de cette activité.

### **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- **Benayad, N. (2008).** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : Moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. projet de recherche au laboratoire des Substances Naturelles et Thermolyse Eclair, Faculté des Sciences de Rabat.
- **Bergogne-Bérézin, E. (2006).** Antibiothérapie des infections urinaires basses : bases cliniques, microbiologiques et pharmacologiques Antibiotiques. Pages 51-62.
- **Bonnet R., F. Caron, J.D. Cavallo, H. Chardon, C. Chidiac, P. Courvalin, L. Dubreuil, V. Jarlier, F. Jehl, T. Lambert, R. Leclercq, G. Lina, A. Merens, M.H. Nicolzs-Chanoine, P. Plesiat, M.C. Ploy, C. Quentin, C.J. Soussy, E. Varon, P. Weber (2013).** Comité de l'antibiogramme de la société Française de microbiologie.
- **Bruyère, F., B. M. Vidoni, Y. Péand, J.A. Ruimy, R. Elfassi (2013).** Analyse microbiologique de plus de 600 infections urinaires fébriles prises en charge dans un réseau de soin.
- **Clevenger JF (1928).** Apparatus for volatile oil determination: description of New Type Clevenger. Am Perf Ess Oil Review 467-503.
- **Daroui-Mokaddem Habiba (2012).** Etude phytochimique et biologique des espèces *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniium olusatrum* (Apiaceae), *Asteriscus*

*maritimus* et *Chrysanthemum trifurcatum* (Asteraceae). Thèse pour obtenir le diplôme de Doctorat en biochimie appliquée.

- **Delarras, C. (1998).** Microbiologie. 90 heures de travaux pratiques. Gaétan Morien Editeur. : 169-178.
- **El Hajouji, W. Fadili, N. Mtioui, K. Hachim, B. Ramdani, B. Querfani, S. El Mhef, F. Meziane (Janvier 2009).** Les cahiers du Médecin N° 123. Service d'urologie/ CHU ibn Rochd-Casablanca.
- **Ellatifi O. (2011).** Place des fluoroquinolones dans le traitement des infections urinaires dans les établissements de santé lorrains. Thèse pour obtenir le diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie.
- **EL Ouali Lalami A. et al (2013).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *Thymus vulagris* et *Thymus satureioidis* Les technologies de laboratoire - 2013, Volume 8, N°31.
- **Fourcade Richard-Olivier (1997).** *La prostate* - Page 95.
- **Frouhatz O. and B. Lahcini (2013).** Lutte biologique par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Mémoire master académique à l'Université Kasdi Merbah-Ouargla.
- **Görena, Ahmet C., Gülac, ı Topc, u\*a,b, Gökhan Bilsela, Mine Bilsela, Zeynep Aydogmus,c and John M. Pezzuto (2002).** The Chemical Constituents and Biological Activity of Essential Oil of *Lavandula stoechas* ssp. *Stoechas*.
- **Hayes AJ, Markovic B (2002).** Toxicity of australian essential oil *Backhousia citriodora* (Lemon myrtle). Part 1. Antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity. Food Chem Toxicol. 40: 535-543.
- **Hellal Z, (2011).** Contribution à l'étude antibactérienne et antioxydante de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur les sardines. Mémoire de Magister à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.
- **Malek K., Jean-Christophe Mino, Karine Lacombe (1996).** *Santé publique: médecine légale, médecine du travail*, Page 47.
- **Martin, C., Nicolas Bruder, Jean-Louis Pourriat (2002).** Pratique de la réanimation et de la médecine d'urgence, page 163.

- **Mohammedi Zohra, ATIK Fawzia (2011).** Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L.
- **Muanza, D.N., K.L. Euler and L. William (1995)** 'Screening for antitumor and anti-HIV activities of nine medicinal plants from Zaire', *International Journal of Pharmacology* 33, pp. 98–106.
- **Qassimi, L.** Epidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation; A propos de 147 cas, Thèse de Médecine, Fès, 2010.
- **Rhayour K. (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de Doctorat National à l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des Sciences Dhar Mehraz, Fès.
- **Sivropoulou, S. Kokkini and T. Lanaras,** "Antimicrobial activity of mint essential oil", *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43 (1995), 2384–2388.
- **Sivropoulou, C. Nicolaou, E. Papanikolaou, S. Dokkini, T. Lanaras and M. Arsenakis,** "Antimicrobial, cytotoxic and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil", *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45 (1997), 3197–3201.

## **ANNEXES**

### **MILIEUX DE CULTURE**

#### **❖ GELOSE MUELLER-HINTON**

##### **DOMAINE D'UTILISATION**

La gélose Mueller-Hinton est le milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques.

##### **COMPOSITION**

Pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

- Extrait de viande de bœuf.....2g
- Peptone de caséine.....17,5g
- Amidon.....1,5g

- Agar.....17g

pH final à 25°C: 7, 3

### PREPARATION

- Mettre en solution 29,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

### ❖ BRAIN HEART INFUSION (BHI)

### DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon BHI est utilisé pour la culture d'un grand nombre de microorganisme, notamment les bactéries, les levures et les moisissures.

Le BHI avec 6.5 % de sodium chloride permet de différencier les entérocoques.

### COMPOSITION

Pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

- Cœur-cerveille infusion à partir de matières solides.....6g
- Digestion peptique de tissu animal.....6g
- Chlorure de sodium.....5g
- Dextrose.....3g
- Digestion pancréatique de gélatine.....14.5g
- Phosphate disodique.....2.5g

### PREPARATION

- Mettre en solution 37 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée
- Agiter lentement, jusqu'à dissolution complète.



Ministère de la Santé  
Royaume du Maroc

# Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté des Sciences et Techniques -Fès-

- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

## ❖ GELOSE NUTRITIVE

### DOMAINE D'UTILISATION

En biologie, la gélose nutritive ou gélose nutritive ordinaire (GNO) ou encore gélose ordinaire est un milieu d'isolement non-sélectif.

### COMPOSITION

Pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

- extrait de viande.....1,0g
- extrait de levure.....2,5g
- peptone.....5,0g
- chlorure de sodium.....5,0g
- Agar.....15,0g

pH = 7,0

### PREPARATION

- Mettre en solution 29,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement, jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

## Résumé

Les infections urinaires constituent un problème important de santé publique par l'augmentation de la résistance des germes aux différents antibiotiques.

Ce travail vise l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* vis-à-vis cinq souches isolées d'infection urinaire : *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas aeruginosa*.

L'activité antibactérienne a été évaluée par deux méthodes l'une qualitative à savoir la méthode de diffusion par disque ou aromatoگرامme, et l'autre quantitative qui est la méthode de diffusion en milieu liquide.

L'effet antibactérien de l'huile essentielle par la méthode de diffusion par disque a montré que *Klebsiella pneumonia* est la souche la plus sensible avec un diamètre d'inhibition de 17mm, par contre *Proteus mirabilis* est la plus résistante avec un diamètre de 13mm. Ces résultats ont été confirmés par la méthode de diffusion en milieu liquide dont la concentration minimale inhibitrice (CMI) est de 2,5mg/ml et 10mg/ml respectivement pour *Klebsiella pneumonia* et *Proteus mirabilis*.

Pour la concentration minimale bactéricide (CMB) est de 2,5mg/ml et 20mg/ml respectivement pour *Klebsiella pneumonia* et *Proteus mirabilis*.

La forte activité antibactérienne des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* est peut être due au composés majoritaires. Il s'agit notamment de Fenchone, Cinéole et Camphre.

**Mots clés :** Infection urinaire, *Lavandula stoechas*, huile essentielle, activité antibactérienne, CMI, CMB.