

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem

Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

YFRAH Aïcha & GHALI Khadidja

Pour l'obtention du diplôme de

Master en Sciences biologiques

Spécialité: Microbiologie Appliquée

THÈME

Effet antimicrobien des huiles essentielles de
Curcuma longa L. sur quelques agents
pathogènes humain.

Soutenue publiquement le/...../2020

DEVANT LE JURY

Président	M. CHADLI Rabah	Pr.	U. Mostaganem
Encadreur	M. DJIBAOUI Rachid	Pr.	U. Mostaganem
Co-encadreur	M. ARABI Abed	M.C.B	U. Oum El Bouaghi
Examineur	Mlle. BECHELAGHEM Nadia	M.A.B	ESA. Mostaganem

Année universitaire 2019-2020

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force, le courage, la patience, et la volonté pour terminer ce travail.

Nous remercions nos parents pour nous avoir encouragés et permis d'entreprendre cette formation.

*Nous adressons toutes nos gratitude et nos remerciements à **Mr. DJIBAOUI Rachid** professeur à l'université de Mostaganem pour avoir accepté l'encadrement scientifique de ce travail. et de l'avoir suivi minutieusement jusqu'à la fin, et aussi pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter nos réflexions.*

*Nous désirons remercier également, monsieur professeur **CHADLI Rabah** pour avoir accepté la présidence du jury de ce travail et aussi. Mlle **BEHELAGHEM Nadia** pour avoir acceptée d'examiné ce sujet et pour leur aide.*

*Nous souhaitons néanmoins remercier plus particulièrement **Mr. ARABI Abed** d'avoir accepté de co-diriger ce travail, pour son indéfectible soutien scientifique, pour ces précieuses critiques et ses judicieux conseils qui nous ont été très utiles pour la bonne réussite de ce mémoire. Nous tenons à lui exprimer nos très vives gratitude pour sa disponibilité tout au long de notre stage et pour tout ce qu'il nous a appris.*

*Un grand merci à la responsable du laboratoire de microbiologie **Mme Hafida** pour ses conseils.*

Aussi nous remercions nos familles pour leurs aides durant nos études et leurs soutiens.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette modeste étude.

Merci à notre pays « L'Algérie »

Aicha & Khadija

Dédicaces

C'est avec immense fierté et respect que je dédie ce modeste travail :

A ma mère cet être de tendresse, de patience et de générosité.

A mon père duquel je tiens la force et la ténacité.

J'espère que dieu vous protège et vous garde

A mes très chers frères et mes très chères sœurs

A la famille YFRAH et ARABI

A mes proches amies qui m'ont toujours ouvert les portes de l'espoir

A mes amies de la promotion de master Microbiologie Appliquée

A tous ceux qui ont pris place dans mon cœur et a tous ceux

Qui m'ont aidé de près ou de loin

Aicha

Dédicaces

*À mes très chers parents Mohamed et Moumene Nedjma pour leur soutien, leur amour,
leur sagesse, leurs sacrifices, leurs conseils et leurs encouragements durant
toutes mes études et qu'Allah les bénissent.*

À ma sœur et mon amie Benyamina Fathia

À ma sœur Naima

*À tous mes amis qui font mon équilibre, pour leur présence
dans ma vie sans exception.*

Khadija

المخلص:

أصبحت مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية مصدر قلق حقيقي. ولهذا أصبح البحث عن مركبات بديلة مضادة للميكروبات، خاصة من النباتات، موضوع ذو أهمية أكثر من أي وقت مضى.

في الجزء الأول من هذا العمل، قمنا باستخلاص الزيوت الأساسية من جذور الكركم الجافة بواسطة التقطير المائي بجهاز من نوع Clevenger حيث حصلنا على مردود قدر بـ 0.86%.

يقدم الجزء الثاني من هذه الدراسة ملخصًا للأعمال التي قام بها باحثون حول النشاط المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية من جذور الكركم *Curcuma longa* L.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بإتباع طريقة الأقراص وطريقة التخفيف في الأنابيب أن الزيوت الأساسية لـ *C. longa* L. أحدثت نشاطًا قويًا مضادًا للفطريات ضد *C. albicans* حيث يتراوح قطر منطقة التثبيط من 18 مم إلى 31 مم. تشير هذه النتائج أيضًا إلى نشاط كبير مضاد للبكتيريا، خاصة على البكتيريا الموجبة الجرام (*Staphylococcus* sp) و (*Bacillus* sp) و أقل نشاطًا على البكتيريا سالبة الجرام (*E. coli*، *P. aeruginosa*، *Proteus* sp و (*Salmonella* sp

الكلمات المفتاحية: المقاومة البكتيرية، الزيوت الأساسية، التقطير المائي، نشاط مضاد للميكروبات *Curcuma longa* L.

Résumé

La résistance aux antibiotiques est devenue une véritable préoccupation. Avec cela, la recherche de composés antimicrobiens alternatifs, en particulier à partir de plantes, est devenue plus importante que jamais.

Dans la première partie de ce travail nous avons réalisé une extraction des huiles essentielles (HEs) des rhizomes secs de *Curcuma longa* L. par hydrodistillation de type Clevenger où nous avons obtenus un rendement de 0,86%.

La deuxième partie de cette étude présente une synthèse des travaux réalisés par des chercheurs sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des rhizomes secs de *Curcuma longa* L.

Les résultats obtenus suite à la méthode des disques et la méthode de microdillution montrent que les HEs de *C. longa* L. ont exercés une forte activité antifongique contre *C. albicans* dont le diamètre de la zone d'inhibition varie de 18 mm à 31 mm. Ces résultats indiquent aussi une activité antibactérienne importante principalement sur les deux bactéries à coloration de Gram positive (*Staphylococcus* sp et *Bacillus* sp) et une activité moins importante sur des bactéries à coloration de Gram négative (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Proteus* sp et *Salmonella* sp).

Mots clés : Résistance bactérienne, Huiles essentielles, Hydrodistillation, *Curcuma longa* L., Activité antimicrobienne.

Abstract

Antibiotic resistance has become a real concern. The search for alternative antimicrobial compounds especially from plants has become more important than ever.

In the first part of this work, we extracted essential oils (EOs) from the dry rhizomes of *Curcuma longa* L. by hydrodistillation of the Clevenger type where we obtained a yield of 0.86%.

The second part of this study presents a summary of works carried out by researchers on the antimicrobial activity of essential oils from the dry rhizomes of *Curcuma longa* L.

The results obtained following the disc method and the microdillution method show that the EOs of *C. longa* L. exerted a strong antifungal activity against *C. albicans*, the diameter of the inhibition zone of which varies from 18 mm to 31 mm. These results also indicate significant antibacterial activity mainly on the two Gram-positive bacteria (*Staphylococcus* sp and *Bacillus* sp) and less activity on Gram-negative bacteria (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Proteus* sp and *Salmonella* sp).

Keywords: Bacterial resistance, Essential oils, Hydrodistillation, *Curcuma longa* L., Antimicrobial activity.

*Table des
matières*

Table des matières

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Partie I : Partie Bibliographique

Chapitre I : Aromathérapie

I.1. Historique..... 3

I.2. Définition 6

I.3. Généralités 6

I.4. Propriétés physiques 6

I.5. Localisation des huiles essentielles..... 7

I.6. Procédés d'extraction 9

I.6.1. Distillation 9

I.6.1.1. Hydro distillation..... 9

I.6.1.2 Hydro-diffusion 10

I.6.1.3 Entraînement à la vapeur d'eau 11

I.6.2. Vapo-hydrodistillation..... 12

I.6.3. Distillation sèche 12

I.6.4. Expression à froid..... 12

I.6.5. Enfleurage..... 13

I.6.6. Extraction par le CO₂ à l'état supercritique 13

I.6.7. Extraction par solvants organiques.....	14
I.6.8. Extraction assistée par micro-ondes	14
I.7. Méthodes d'identification des huiles essentielles	15
I.7.1. Identification par couplage CPG-MS	16
I.8. Composition chimique des huiles essentielles.....	17
I.9. Conservation des huiles essentielles	18

Chapitre II : Généralité sur la plante *Curcuma longa* L.

II.1. Curcuma.....	19
II.1.1. Etymologie.....	19
II.1.2. Répartition géographique	19
II.1.3. Historique	20
II.1.4 Classification systématique	20
II.1.5 Description botanique.....	21
II.1.5.1. Rhizome.....	22
II.1.5.2. Feuilles.....	23
II.1.5.3. Fleurs	23
II.1.5.4. Fruit	23
II.1.6. Culture de <i>Curcuma longa</i> L.	24
II.1.7. Maladies et ravageurs	25
II.1.8. Valeurs nutritionnelle	25
II.1.9. Composition chimique.....	26
II.1.9.1.Fraction volatile.....	26
II.1.9.2. Fraction non volatile.....	29
II.1.9.3. Autres constituants	30
II.1.10. Domaines d'utilisation de <i>Curcuma longa</i> L.	30

II.1.10.1. Usage alimentaire	30
II.1.10.2. Usage médical.....	30
II.1.10.3. Usage industriel	31
II.1.10.4. Usage cosmétique	31
II.1.11.Effets toxiques	31

Chapitre III: Antibiorésistance et les activités biologiques des huiles essentielles

III.1 Infections nosocomiales.....	33
III.2 Antibiorésistance	34
III.2.1 Les Antibiotiques.....	34
III.2.2. Classification des antibiotiques	34
III.2.3 Mode d'action des antibiotiques.....	36
III.2.4 Résistance bactérienne aux antibiotiques	38
III.2.4.1. Résistance naturelle ou intrinsèque	39
III.2.4.2. Résistance acquise.....	39
III.3. Activités biologiques des huiles essentielles	40
III.3.1 Activité antimicrobien	41
III.3.1.1. Activité antibactérienne.....	41
III.3.1.2. Activité antifongique	41
III.3.1.3. Activité antivirale	42
III.3.2 Activité antioxydante.....	43
III.3.3 Activité anti-inflammatoire	43

Partie II: Partie Expérimentale

I. Matériel et méthodes

I.1. Objectif du travail	45
I.2. Procédé d'extraction des huiles essentielles	45

I.3. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de <i>Curcuma Longa</i> L.	47
I.4. Détermination du rendement en huiles essentielles	47

II. Résultats et discussion

II.1. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de <i>Curcuma Longa</i> L.	47
II.2. Rendement d'extraction des huiles essentielles de <i>Curcuma Longa</i> L.	48

I. Matériel et méthodes

I.1. Préparation des dilutions des huiles essentielles.....	51
I.2. Micro-organismes	51
I.3. Préparation de l'inoculum.....	52
I.4. Activité antimicrobienne des huiles essentielles de <i>Curcuma longa</i> L.	53
I.4.1. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme).....	53
I.4.2. Méthode de microdillution.....	53
I.4.3 Détermination de l'effet bactériostatique, bactéricide, ou fongicide.....	54
I.4.3.1 Détermination de la CMI	54

II. Résultats et discussion

II.1. Activité antimicrobienne des huiles essentielles de <i>Curcuma longa</i> L.	54
II.1.1 Méthode de diffusion sur disque.....	54
II.1.2 Microdillution	58

Conclusion	64
-------------------------	----

Références bibliographiques	65
--	----

Annexe	81
---------------------	----

Liste des figures

Figure 1 : Frise chronologique de l'histoire de l'aromathérapie.....	5
Figure 2 : Provenance des huiles essentielles en fonction des différentes parties de plantes. ..	8
Figure 3 : Différents types de glandes sécrétrices des HEs.	9
Figure 4 : Schéma du montage d'hydrodistillation (Clevenger).....	10
Figure 5 : Schéma d'extraction par hydrodiffusion.....	11
Figure 6 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau.	11
Figure 7 : Schéma d'installation de Vapo-hydrodistillation.	12
Figure 8 : Schéma d'Expression à froid.	13
Figure 9 : Schéma de procédé de l'extraction par CO ₂ supercritique	14
Figure 10 : Montage d'extraction assistée par micro-onde.....	15
Figure 11 : Principales voies d'analyse d'un mélange complexe naturel.	16
Figure 12 : principaux constituants des HEs.....	17
Figure 13 : Répartition du genre <i>Curcuma longa</i> L.....	20
Figure 14: Aspect général de <i>Curcuma longa</i> L.....	22
Figure 15: Rhizomes de <i>Curcuma longa</i> L. frais, séché et réduit en poudre.....	23
Figure 16: <i>Curcuma longa</i> L. rhizomes (a), feuilles (b) et fleurs (c).....	24
Figure 17: Chromatogramme des huiles essentielles de <i>C. longa</i> L.....	28
Figure 18 : Principaux composés des huiles essentielles de <i>C. longa</i> L.....	29
Figure 19: Propriétés médicinales de <i>Curcuma</i> et de curcumine.....	31
Figure 20 : Chaine épidémiologique des infections nosocomiales.	33
Figure 21 : Cibles d'antibiotiques à différents niveaux de la cellule.....	38
Figure 22 : Mécanismes permettant à une bactérie de devenir résistante à un antibiotique. ..	39
Figure 23 : Différents modes d'acquisition des gènes de résistance (R) aux antibiotiques chez les bactéries.	40
Figure 24 : Mécanisme d'action des huiles essentielles au niveau des cellules microbiennes	42

Figure 25 : Rhizomes secs et la poudre de <i>Curcuma longa</i> L. utilisés	46
Figure 26 : Procédé d'extraction des huiles essentielles de <i>Curcuma longa</i> L. par hydrodistillation (Clevenger).	46
Figure 27 : Quantité des Huiles essentielles de <i>C. longa</i> L. extraite par hydrodistillation.....	49
Figure 28 : Résultats de l'aromatogramme de <i>Escherichia coli</i>	57
Figure 29 : Résultats de l'aromatogramme de <i>Staphylococcus aureus</i>	58
Figure 30 : Résultats de l'aromatogramme de <i>Candida albicans</i>	58
Figure 31: Pourcentages de réduction de la croissance bactérienne obtenus avec les HEs de rhizomes de <i>C. longa</i> L.	61

Liste des tableaux

Tableau 1 : Différentes appellations du <i>Curcuma longa</i> L.	19
Tableau 2: Valeur nutritionnelle et énergétique du <i>Curcuma Longa</i> L.	26
Tableau 3: Composition chimique des huiles essentielles de rhizomes de <i>C. longa</i> L. obtenue par GC-SM	27
Tableau 4 : Principaux curculionidés isolées de rhizomes de <i>C. longa</i> L.	29
Tableau 5 : Mode d'action des principales classes d'antibiotiques.	35
Tableau 6 : Classe et cible d'action des antibiotiques	37
Tableau 7 : Mécanisme d'action de quelques antioxydants	43
Tableau 8 : Caractères organoleptiques des huiles essentielles de <i>Curcuma Longa</i> L.	48
Tableau 9 : Quantités des huiles essentielles de <i>C. longa</i> L. extraite par hydrodistillation....	49
Tableau 10 : Microorganismes testés contre les huiles essentielles de <i>Curcuma longa</i> L.	52
Tableau 11: activité antimicrobienne des huiles essentielles des rhizomes sec de <i>C. longa</i> L.	55
Tableau 12: Effet de l'huile des rhizomes de <i>C. longa</i> L. sur la croissance bactérienne d' <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Candida albicans</i>	57
Tableau 13: Zones d'inhibition de croissance (mm) et concentration minimale inhibitrice (CMI) (μl / mL) des HEs de rhizomes de <i>C. longa</i> L. contre une sélection de bactéries Gram-positives et Gram-négatives.	59
Tableau 14 : Absorbances obtenues par la méthode de microdilution	60

Liste des abréviations

% RC :	Pourcentage de réduction de la croissance bactérienne
%A	Pourcentage de surface normalisée qui indique la distribution relative des composés dans l'échantillon.
°C :	Degré Celsius
¹³C :	Carbone marqué
AFNOR :	Association Française de Normalisation
AINS :	Anti-inflammatoire Non Stéroïdien
ATB :	Antibiotique
ATCC :	American type culture collection
Av. J.-C :	Avant Jésus-Christ
BHI :	Bouillon cœur-cerveille
<i>C. longa</i> L. :	<i>Curcuma longa</i> Linné
Cals	Calories
CFU :	Unité formant colonie
CLHP :	Chromatographie en phase liquide à haute performance
CMB :	Concentration minimale bactéricide
CMF :	Concentration minimale fongicide
CMI :	Concentration minimale inhibitrice
CNRS :	Centre national de recherche scientifique
CO₂ :	Dioxyde de carbone
CPG :	Chromatographie phase gazeux
CPG-MS:	Chromatographie en phase gazeuse (CPG) équipée d'un spectromètre de masse (SM)

DMSO :	Sulfoxyde de diméthyle
ELISA :	Dosage d'immunoabsorption par enzyme liée
GN :	Gélose nutritive
H :	Hydrogène
HEs :	Huiles essentielles
HMPC:	Committee On Herbal Medicinal Products
IN :	Infections nosocomiales
INOS :	COX-2 et l'oxyde nitrique synthase inductible
IRTF :	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
McF :	McFarland
MH :	Muller Hinton
MTT :	bromure de 3- (4,5-diméthyl-2-thiazolyl) 2,5-diphényltétrazolium
Na₂ SO₄:	Sulfate de sodium anhydre
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
P :	Pression
Ppm :	Partie par million
R% :	Rendement
RMN :	Résonance Magnétique Nucléaire
SARM :	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline
SM :	Spectrophotométrie de masse
T_{RET} :	Temps de rétention
T :	Température
UMR :	Unité mixte de recherche

ZI : Zone d'inhibition

Introduction

Introduction

Introduction

L'antibiorésistance constitue de nos jours une préoccupation sanitaire internationale, tant pour la santé humaine que pour la santé animale (**Coustès, 2016**). Elle est identifiée par l'organisation mondiale de la santé (OMS) comme l'une des menaces les plus sérieuses pour la santé publique.

Il est pensé que la surutilisation ou la mauvaise utilisation des antibiotiques (ATB) est la principale cause de l'émergence et de la propagation de la résistance aux ATB (**Harkins et al., 2017**). L'augmentation de la résistance aux ATB se traduit dans la pratique hospitalière par une augmentation de la morbidité et de la mortalité, des coûts d'hospitalisation et par l'apparition de microorganismes résistants à l'ensemble des ATB disponibles (**Mennis, 2019**).

D'un autre côté, les ATB sont parfois associés à des effets indésirables sur l'hôte qui comprennent ; Une hypersensibilité, une déplétion des micro-organismes bénéfiques intestinaux et muqueux, des troubles gastriques, une ototoxicité, une néphrotoxicité, une immunosuppression et une réaction allergique (**Lopez et al., 2001; Cosgrove et al., 2009**).

Ainsi, pour toutes ces raisons il est nécessaire de chercher des nouvelles alternatives thérapeutiques entraînant moins d'effets secondaires et de résistances bactériennes, et présentant moins de danger pour la santé (**Lakhdar, 2015**). Par l'utilisation des molécules bioactives qui sont à base de plantes tels que les huiles essentielles (HEs) (**Boutabia et al., 2016**). Selon l'OMS (2008) plus de 80% de la population mondiale utilisent les plantes médicinales pour traiter plusieurs maladies (**Kada, 2018**).

Les HEs sont des mélanges complexes de métabolites végétaux secondaires. Ce sont des distillats huileux hautement concentrés, volatils, se retrouvent dans toutes les parties de la plante (fleurs, écorces, racines, feuilles, graines) en raison de l'activité des tissus végétaux sécrétoires endogènes et exogènes (**Stanković et Stanojević, 2014; Tongnuanchan et Benjakul, 2014**). Ils sont connus pour leur pouvoir inhibiteur contre les bactéries pathogènes et multirésistantes (**Tassou et al., 1995**). C'est dans ce contexte que nous nous sommes penchés sur l'efficacité des plantes par exploitation des HEs des rhizomes de la plante *Curcuma longa* L.

C. longa L., également connue sous le nom de curcuma (curcuma, saffron indien, déesse dorée) est une plante herbacée aromatique vivace de la famille du gingembre

Introduction

(*Zingiberaceae*) (**Shrishail et al., 2013**). Et est utilisé à plusieurs fins dans les industries médicales, cosmétiques, aromatisantes alimentaires et textiles et largement étudié par la communauté scientifique en raison de ses diverses propriétés, généralement attribuées aux substances présentes dans ses rhizomes (**Goncalves et al., 2019**). Certains d'entre eux sont, anti-cancérigène, anti-inflammatoire, antioxydant, antimicrobien, antifongique, antimutagène, hypocholestéremique, insectifuge, antirhumatismale, antifibrotique, antivenimeux, antidiabétique, antiviral, anti-hépatotoxique (**Stanojević et al., 2015**).

Les HEs de *C. longa* L. contient généralement de la curcumine ou turmérone, de la déhydroturmérone et des cétones aromatiques, en plus d'une variété d'autres composants volatils tels que les mono- et sesquiterpènes aliphatiques ou oxygénés, qui peuvent éventuellement être utilisée comme anti-inflammatoire, antioxydant, antimicrobien, anticancéreux et antiviral (**Goncalves et al., 2019**).

Notre travail a été divisé en deux grandes parties:

La première partie est une étude bibliographique qui se scinde en trois chapitres:

- Le premier chapitre commencé par l'aromathérapie, les caractéristiques des HEs et les méthodes d'extraction et d'identification des HEs
- Le deuxième chapitre représente des généralités sur la plante curcuma, la description, répartition géographique, les compositions chimiques ainsi que ses caractéristiques.
- Le troisième chapitre traite l'antibiorésistance et les activités biologiques des HEs (antioxydants, antibactérienne, antifongiques....etc.)

La deuxième partie comporte l'étude expérimentale :

- L'ensemble de matériel et méthodes : comporte le matériel biologique et la méthodologie de travail l'extraction de l'HE de *C. longa* L., l'évaluation de l'activité antimicrobienne par diffusion de disques et microdilution.
- les résultats obtenus et leurs discussions.

Partie I :

Partie Bibliographique

Chapitre I

Aromathérapie

Chapitre I : Aromathérapie

I.1 Historique

L'histoire de l'aromathérapie se confond avec celle de la phytothérapie jusqu'au XXème siècle. En réalité le terme « aromathérapie » issu du latin « *aroma* = odeur » et du grec « *thérapein* = soin », fut créé en 1928 par un chercheur Lyonnais Monsieur Gatte fossé René-Maurice. La petite Histoire dit qu'il aurait découvert les propriétés d'huile essentielle de lavande lors d'une explosion dans son laboratoire de parfumerie qui le brûla gravement. Il aurait trempé sa main dans un vase plein d'huile essentielle de lavande. La brûlure régresa rapidement sans laisser de cicatrice ni d'infection (**Cazau-beyret, 2013**).

L'histoire de l'aromathérapie se résume en quatre grandes époques :

- La première est celle où l'on utilisait les plantes aromatiques telles quelles.
- La seconde est l'époque durant laquelle est apparue la notion d'activité des substances odorantes.
- La troisième époque est l'époque de l'essor de la distillation, c'est la naissance du concept « huile essentielle ».
- Enfin la dernière période, la période moderne dans laquelle grâce à la technologie on a pu comprendre et expliquer les propriétés physiques, chimiques et biochimiques des arômes végétaux (**Gayda, 2013**).

De nos jours, l'aromathérapie est maintenant une pratique développée dans le monde entier (**figure1**) (**Vangelder, 2017**).

L'utilisation des plantes pour se soigner n'est pas nouvelle. Les premières traces écrites remontent à six mille ans, dans des inscriptions en Mésopotamie et en Egypte datant d'entre moins 3500 et moins 4000 ans. Les historiens parlent également de deux autres régions où l'utilisation des plantes était développée : la Chine et l'Inde. Les plantes étaient à cette époque utilisées telles quelles, ou alors sous forme d'infusion et de décoction (**Thomas, 2016**).

Ces extraits de plante aromatiques ont un large domaine d'utilisation depuis long temps :

-
- On découvre ainsi que 40 000 ans av. J.-C., les Aborigènes d’Australie utilisaient déjà les feuilles du Tea Tree (*Melaleuca alternifolia*), principalement sous forme de cataplasmes pour leurs blessures.
 - 7000 ans av. J.-C., les guérisseurs indiens méditaient, avant chaque soin, sur “cent sept plantes brunes et antiques” avant d’en choisir une et de l’inclure dans leur remède en accompagnement de leur prière.
 - 4000 ans avant notre ère, des inscriptions retrouvées en Mésopotamie sur des plaques d’argile révèlent l’existence de préparations à base de végétaux consacrées à des fins médicinales et religieuses. Les Égyptiens réservaient, quant à eux, les huiles essentielles pour leur hygiène→ quotidienne et embaumaient les morts avec la cannelle, le nard, la myrrhe et 10 l’encens.
 - Vers 3000 ans av. J.-C., ils importent, par caravanes ou par bateaux, des plantes aromatiques provenant d’Éthiopie ou d’Extrême-Orient. Ils en extraient les essences par macération ou enfleurage (**Poirot, 2016**).

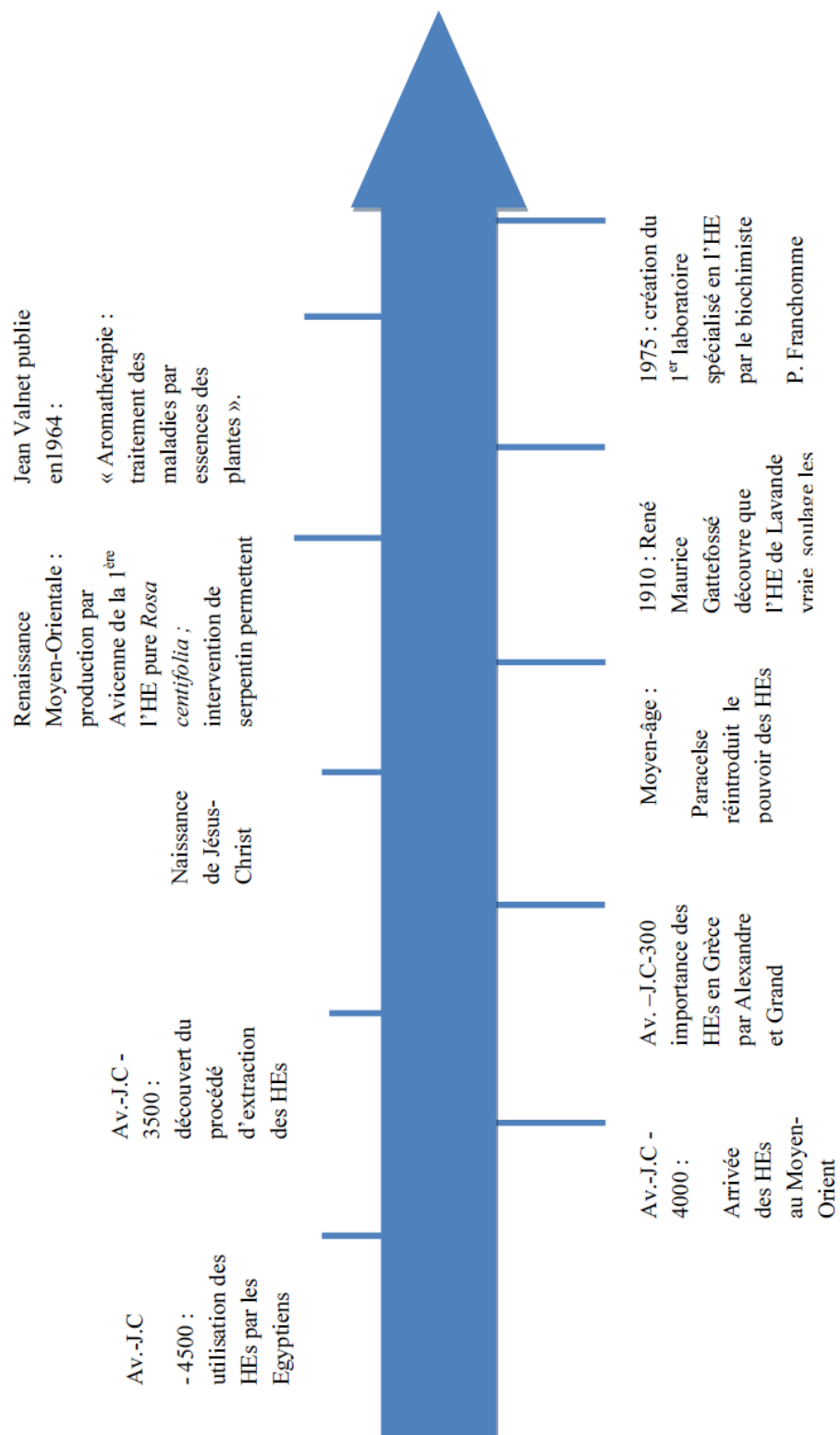


Figure 1 : Frise chronologique de l'histoire de l'aromathérapie (Vangelder, 2017).

I.2 Définition

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie («phyto» = plantes et «thérapie» = soigner). Elle utilise l'ensemble des éléments d'une plante, alors que l'aromathérapie utilise les extraits aromatiques de la plante. C'est une thérapeutique utilisant les essences, les huiles essentielles et les hydrolats aromatiques des plantes médicinales.

La différence majeure entre les deux repose sur le fait que l'aromathérapie a une action rapide mais courte et à l'inverse la phytothérapie a une action lente mais durable. On distingue deux types d'aromathérapie:

L'aromathérapie de terrain, qui considère l'homme dans sa globalité.

L'aromathérapie symptomatique, qui traite les manifestations ou les causes d'une maladie (Autard, 2017).

I.3 Généralités

Selon l'Association Française de Normalisation (AFNOR), la norme AFNOR NT75 de 2006 stipule que : « Une huile essentielle est un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épisperme des Citrus, soit par distillation sèche, séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (Aubert, 2016).

Les huiles essentielles (HEs) rencontrent depuis quelques années un succès grandissant dans différents secteurs d'activité aussi bien divers que ceux de la parfumerie, des cosmétiques, des industries pharmaceutiques et l'agroalimentaire pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes ou encore pouvant être utilisées comme source d'isolats pour les hémisynthèses (Bourkhiss *et al.*, 2015).

I.4 Propriétés physiques

Toutes substances d'origine naturelle ou chimiquement synthétisées possèdent des propriétés physico-chimiques spéciales, les HEs aussi ayant en commun un certain nombre de propriétés spécifiques, à savoir :

- Ce sont des liquides à la température ordinaire.
- Volatiles, odorant.
- Généralement incolores ou jaune pâle.
- Leur densité est le plus souvent inférieure à 1.
- Leur indice de réfraction souvent élevé avec un pouvoir rotatoire.

-
- Peu soluble dans l'eau, solubles dans l'alcool et les solvants organiques (**Boughendjioua, 2015**).

I.5 Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont classées parmi les métabolites secondaires, leur biosynthèse et leur accumulation se font généralement au niveau des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur la surface de la plante. Elles se situent soit dans les poils sécréteurs, soit au niveau des canaux sécréteurs ou encore des poches sécrétrices (**Roman et Giovanni, 2016**).

Les huiles essentielles se rencontrent dans tout le règne végétal (**figure 2**). Cependant elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles : Conifères, Rutacées, Ombellifères, Myrtacées, Lamiacées et Poacées. Tous les organes peuvent en renfermer, surtout les sommités fleuries (lavande, menthe...), mais on en trouve dans les racines ou rhizomes (vétiver, gingembre et curcuma), dans les écorces (cannelles), dans le bois (camphrier), dans les fruits (poivres), et dans les graines (Muscade) (**Bencheikh, 2017**).

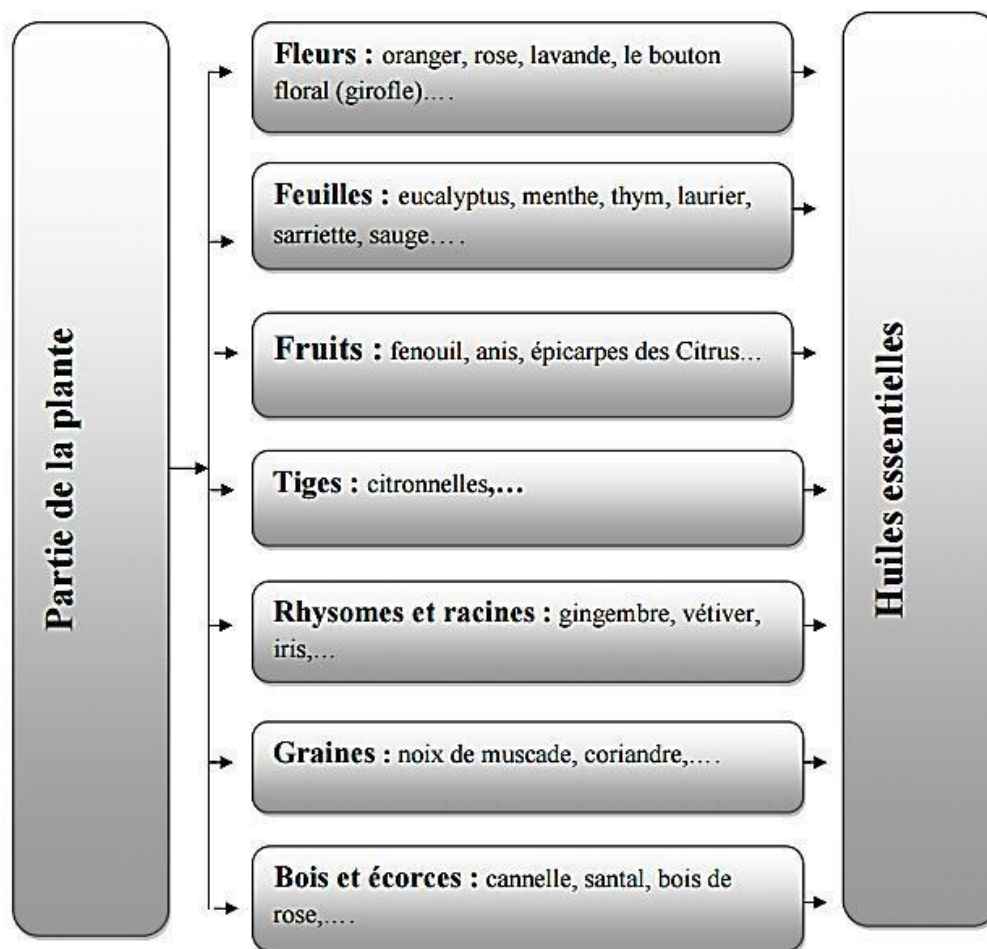


Figure 2 : Provenance des huiles essentielles en fonction des différentes parties de plantes (Bencheikh, 2017).

Les glandes sécrétrices sont réparties sur l'ensemble (figure 3) de la plante, rares sur les faces supérieures des feuilles et des tiges, elles sont un peu plus nombreuses sur le dessous des feuilles, mais elles abondent surtout sur le calice des fleurs. La formation des huiles essentielles (HEs) dans les végétaux est le fait d'une multitude de réactions biochimiques dont certaines ne sont pas encore élucidées. Elles prennent naissance dans des appareils sécréteurs qui ont une forme variée, il s'agit par exemple de:

- Trichomes glandulaires (*Lamiaceae*)
- Cavités sécrétrices (*Myrtaceae* et *Rutaceae*)
- Canaux sécréteurs (*Apiaceae* et *Asteraceae*).

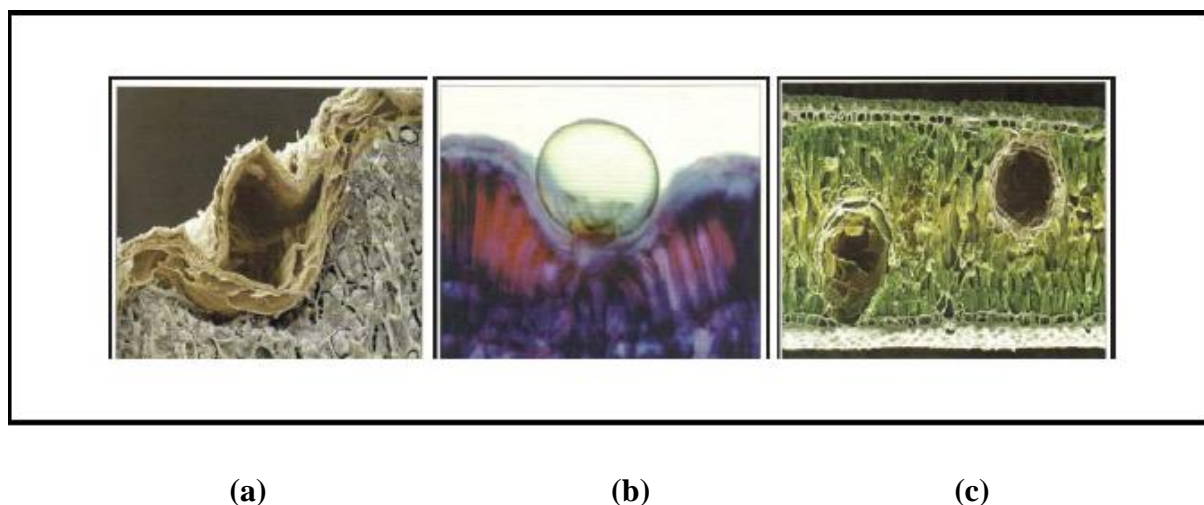


Figure 3 : Différents types de glandes sécrétrices des HEs. (Bey –ould si Said, 2014)

(a) Canal sécréteur dans la graine de Carvi ; (b) Glande sécrétrice sur la feuille de *Origanum heracleoticum* et (c) Cavite sécrétrice de *Eucalyptus citriodora*

I.6 Procédées d'extraction

Avant de pouvoir utiliser ou analyser de telles substances, il est nécessaire de les extraire de leur matrice. Plusieurs méthodes d'extraction ont été mises au point telles que les méthodes conventionnelles et les méthodes d'innovation (Himed, 2018).

I.6.1 Distillation

Il existe trois différents procédés qui utilisent le principe de la distillation : hydro-distillation, hydro-diffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau (Touhami, 2017).

I.6.1.1 Hydro distillation

C'est la méthode la plus ancienne et polyvalente pour l'obtention des huiles essentielles. Dans ce procédé (figure 4), le matériel végétal est submergé d'eau qui est chauffée pour produire de la vapeur riche en substances aromatiques. Cette méthode donne de très bons résultats avec des poudres ou des matériels végétaux durs comme les graines et les racines. La production de la vapeur en utilisant un chauffage direct du végétal entraînerait des réactions d'hydrolyse ce qui va causer la perte de certains esters aromatiques (Menaceur, 2015).

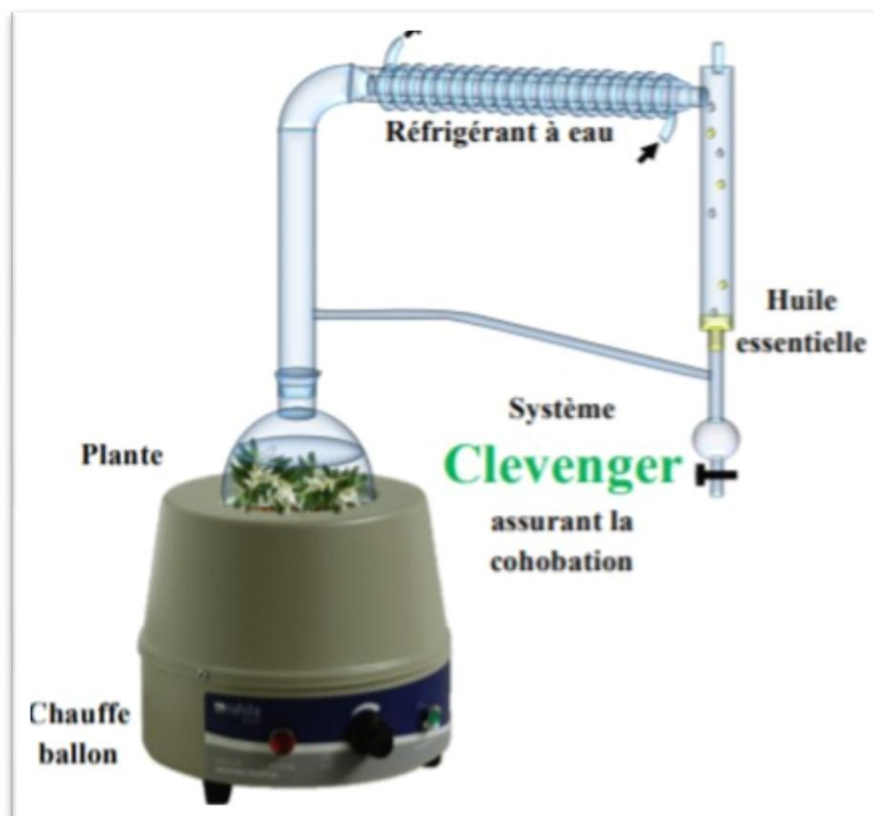


Figure 4 : Schéma du montage d'hydrodistillation (Clevenger) (Arabi, 2018).

I.6.1.2 Hydro-diffusion

Cette technique relativement récente, consiste à faire passer du haut vers le bas et à pression réduite la vapeur d'eau à travers une matrice végétale (figure 5). L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration quantitative et qualitative de l'huile essentielle (Touhami, 2017).

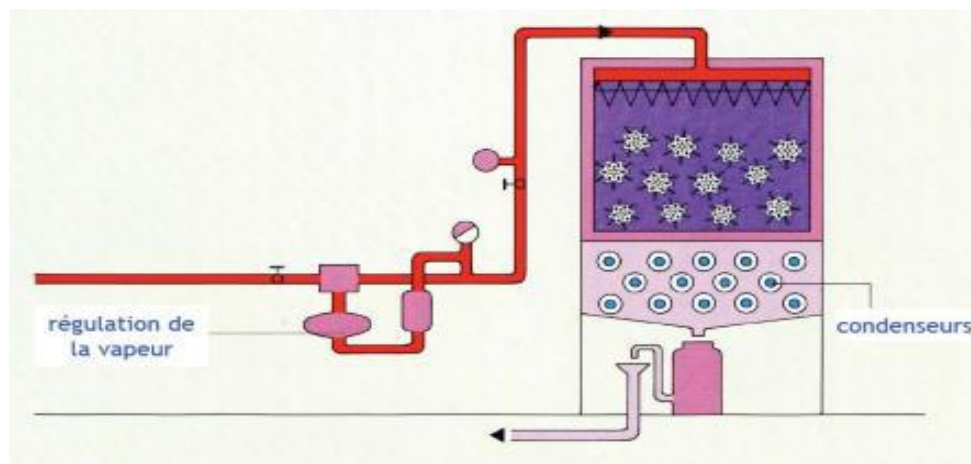


Figure 5 : Schéma d'extraction par hydrodiffusion (Bencheikh, 2017).

I.6.1.3 Entraînement à la vapeur d'eau

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter (**figure 6**). Le principe de la distillation à la vapeur d'eau consiste à faire passer la vapeur d'eau à travers la plante à une température adéquate pour détruire les cellules végétales, libérer les molécules aromatiques et les entraîner dans un serpentin de refroidissement. Là, les vapeurs refroidies retournent à l'état liquide formant un mélange «eau+ huile essentielle». Recueillies dans un essencier, l'huile essentielle et l'eau florale se séparent par simple différence de densité. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (**Lamamra, 2018**).

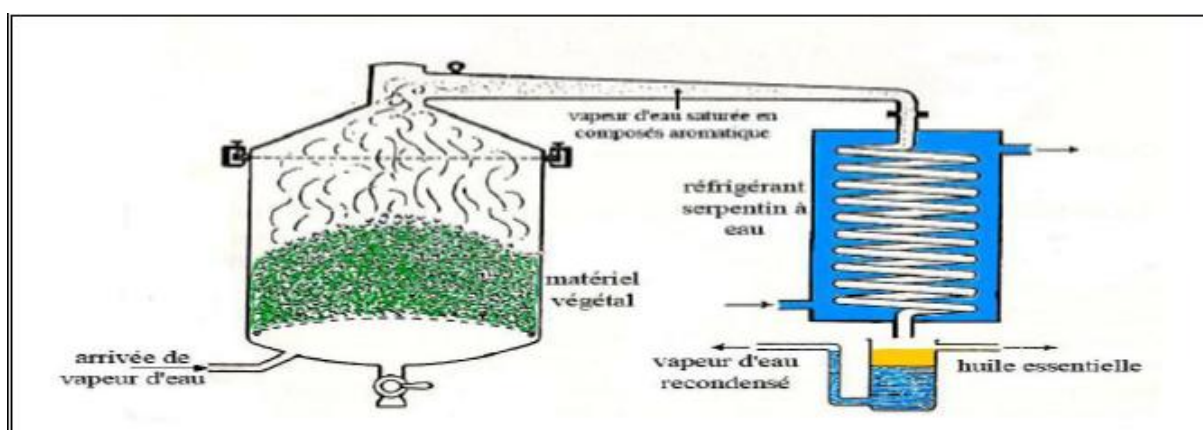


Figure 6 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau (El haib, 2011).

I.6.2 Vapo-hydrodistillation

Il s'agit d'une variante à mi-chemin entre l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur dans laquelle la matière végétale et l'eau se trouvent dans la même enceinte mais ne sont pas en contact (**figure 7**). L'eau est portée à ébullition par le chauffage de la cuve se transforme en vapeur et passe au travers de la plante, posée sur une grille au-dessus de l'eau (**Deschepper, 2017**).

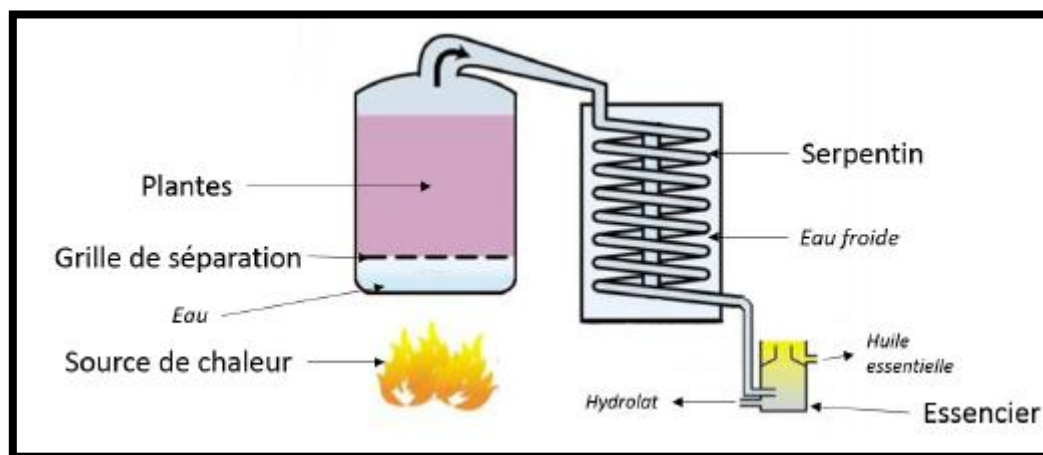


Figure 7 : Schéma d'installation de Vapo-hydrodistillation (**Deschepper, 2017**).

I.6.3 Distillation sèche

Il s'agit d'une méthode d'extraction des HES caractéristiques des végétaux fragiles tels que les pétales de rose. Dans le domaine de l'extraction végétale ; La distillation sèche consiste à chauffer de façon très modérée les plantes ou partie de plantes sans ajout d'eau ni de solvants organiques, puis à condenser les substances volatiles, l'avantage de cette méthode est la température à laquelle se déroule l'extraction 'inférieure à 100°C ; Ce qui évite la dénaturation de certaines molécules thermosensibles mais si cette technique présente un avantage certain au niveau de la qualité ; Elle aboutit cependant à des rendements extrêmement faibles en HE (**Duval, 2012**).

I.6.4 Expression à froid

Cette technique est la plus simple, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Cela concerne les citrus (orange, citron, mandarine, bergamote...). Cette méthode se fait sans chauffage et consiste à dilacérer (briser mécaniquement) les péricarpes ou « zestes » en y exerçant une forte pression à l'aide d'une

presse hydraulique (**figure 8**). Cela permet de faire sortir l'essence contenue dans les sacs oléifères, qui tapissent l'écorce du fruit, et de récupérer cette dernière par un procédé physique (**Laurent, 2017**).

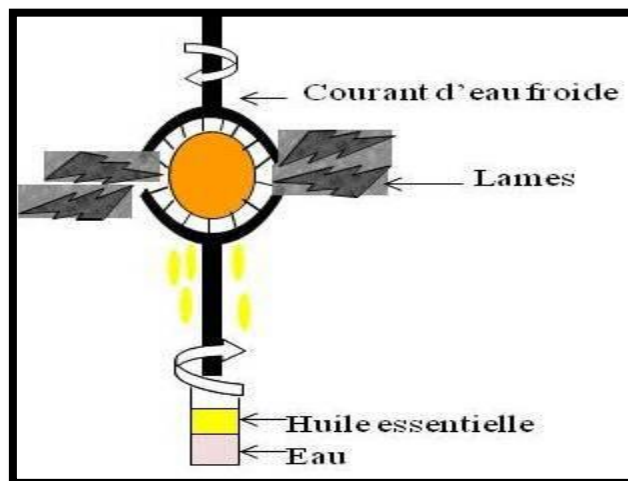


Figure 8 : Schéma d'Expression à froid (**Mnayer, 2014**).

I.6.5 Enfleurage

C'est une méthode complexe, elle n'est plus utilisée sauf pour les fleurs. Celles-ci sont étalées délicatement sur des plaques grasses qui absorberont tout le parfum. Les corps gras vont, ensuite, être épuisés par un solvant. Une fois l'arôme des fleurs absorbé, les fleurs sont remplacées par d'autres fraîches, et ceci jusqu'à saturation du corps gras. Au bout de 24 heures, le corps gras et les HEs sont séparés (**Bouziid, 2018**).

I.6.6 Extraction par le CO₂ à l'état supercritique

L'originalité de cette technique repose sur le solvant utilisé: il s'agit du CO₂ en phase supercritique. L'extraction consiste à comprimer le dioxyde de carbone à des pressions et à des températures au delà de son point critique (P=72.8 bars et T= 31.1°C) (**figure 9**). A l'état supercritique, le CO₂ n'est ni liquide, ni gazeux, et cela lui confère un excellent pouvoir d'extraction, modulable à volonté en jouant sur la température de mise en œuvre. Le CO₂ est un bon solvant à l'état supercritique, et un mauvais solvant à l'état gazeux (**Lakhdar, 2015**).

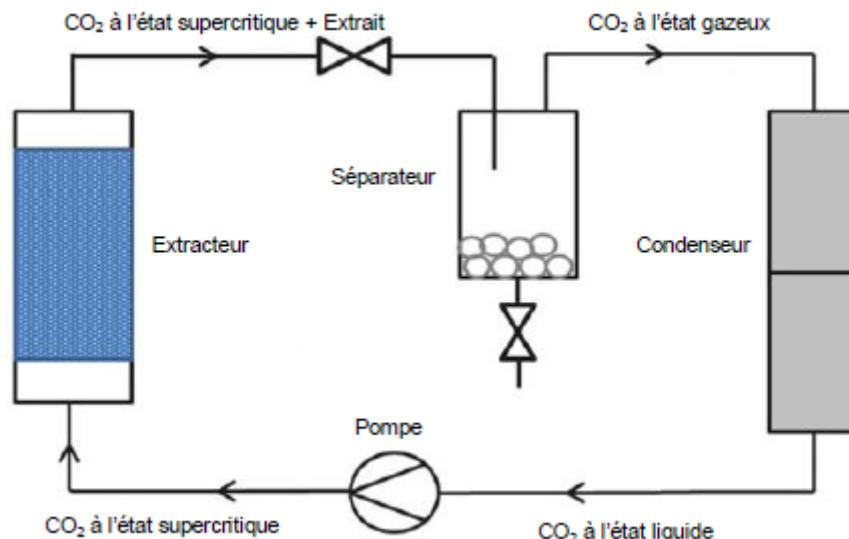


Figure 9 : Schéma de procédé de l'extraction par CO₂ supercritique (Channi, 2016).

I.6.7 Extraction par solvants organiques

Dans ce procédé, l'extrait de plantes est obtenu au moyen de solvants non aqueux. Les plus utilisés sont l'hexane, le cyclohexane et l'éthanol, moins fréquemment, le dichlorométhane et l'acétone. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également un bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres. Un lavage à l'éthanol permet l'élimination de ces composés non désirables. Après distillation de l'alcool, le produit obtenu est appelé « absolu ». L'emploi de cette méthode est restrictif, ceci se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité ainsi que, la réglementation liée à la protection de l'environnement (Abdelli, 2017).

I.6.8 Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction assistée par micro-ondes est un processus par lequel l'énergie micro-onde accélère l'extraction (figure 10). Ce traitement accélère la rupture des cellules en provoquant une augmentation rapide de la température et de la pression interne dans les parois des cellules végétales.

Au cours du traitement par micro-ondes, le chauffage provoque la rupture des liaisons hydrogène faibles par la rotation dipolaire des molécules. Une quantité considérable de pression s'accumule à l'intérieur du biomatériau, qui modifie les propriétés physiques des

tissus biologiques et améliore la porosité de la matrice biologique. Ceci permet une meilleure pénétration du solvant d'extraction à travers la matrice et facilite l'extraction des composés entre autre les composés phénoliques. Les principaux paramètres de l'extraction assistée par micro-ondes sont : le type de solvant, la puissance micro-ondes et le temps d'extraction (M'hiri, 2015).

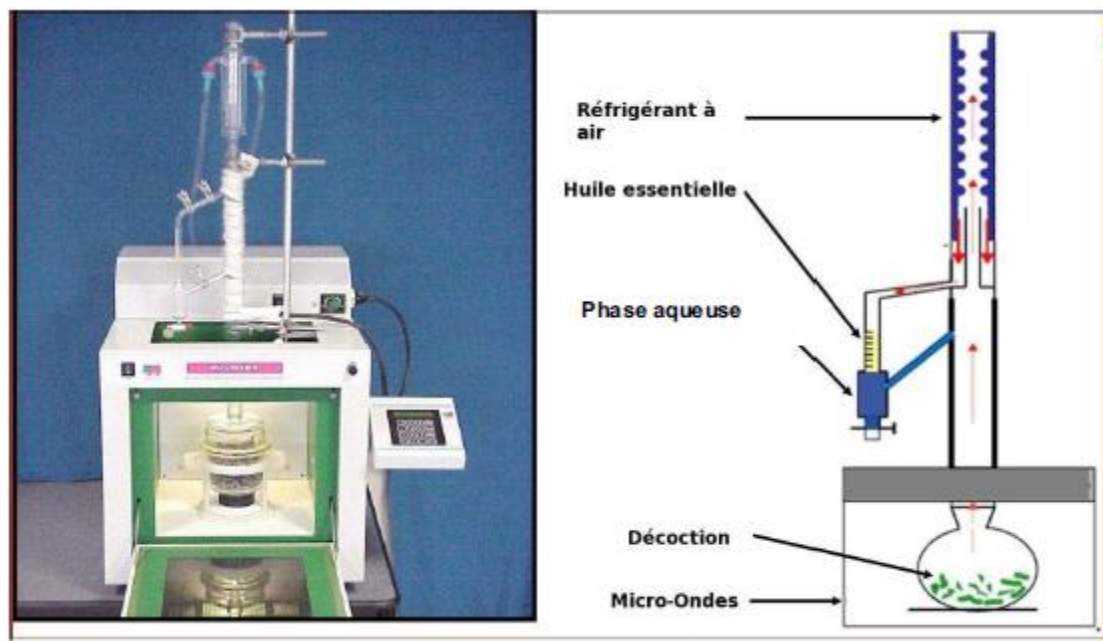


Figure 10 : Montage d'extraction assistée par micro-onde (Duval, 2012).

I.7 Méthodes d'identification des huiles essentielles

Le double objectif identification/quantification consiste à déterminer la composition chimique de chaque huile essentielle est extraits par différentes méthodes analytiques spectroscopique et/ou chromatographiques (Sutour, 2011).

D'une manière générale, l'identification des constituants d'un mélange complexe naturel s'effectue selon trois voies (**figure 11**):

- la voie A est spécialement bien adaptée aux analyses de routine telles que les contrôles de qualité d'échantillons (d'huiles essentielles ou d'extraits végétaux par exemple) dont les constituants ont déjà été décrits dans la littérature. Elle fait intervenir le couplage « en ligne » d'une technique chromatographique (CPG, CLHP), qui permet l'individualisation et la quantification des constituants, avec une technique spectroscopique (SM, IRTF, etc.), qui permet leur identification par comparaison de leurs données spectrales avec celles de produits connus ;

• la voie B, est préconisée lorsque les constituants d'un mélange présentent des difficultés d'identification (structures d'un nouveau composé et/ou structures très proches). Deux étapes sont nécessaires : après purification/isolement des composés par différentes techniques chromatographiques, une analyse structurale est réalisée en s'appuyant sur la RMN du ^1H et du ^{13}C ;

• enfin la voie C, intermédiaire entre les deux précédentes, met en œuvre la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) du ^{13}C sans séparation préalable des composés ou précédée d'une étape de fractionnement réduite au minimum. Cette voie, initiée par Formáček et Kubeczka (1982a/1982b) a été développée, optimisée et informatisée par l'équipe de « Chimie et Biomasse » (UMR CNRS n° 6134 – SPE – Université de Corse) depuis une vingtaine d'années pour devenir un véritable outil analytique pour l'identification des constituants d'un mélange naturel (Arabi, 2018).

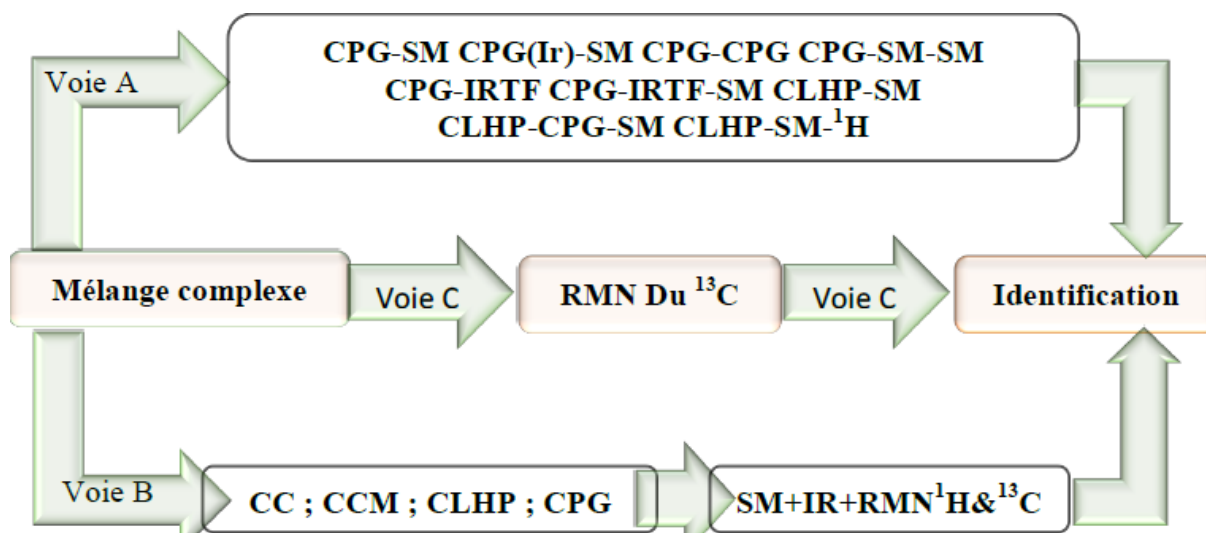


Figure 11 : Principales voies d'analyse d'un mélange complexe naturel (Arabi, 2018).

Parmi les principales méthodes pour l'identification nous citons :

I.7.1 Identification par couplage CPG-MS

Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse CPG-MS est une technique d'analyse qui possède plusieurs atouts : le chromatogramme en phase gazeuse permet de séparer les constituants d'un mélange. Le spectromètre de masse associé permet d'obtenir le spectre de masse de chacun des constituants et bien souvent de les identifier. La chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse possèdent des limites de sensibilité voisines. Leur association permet de disposer d'un outil analytique très

performant. L'identification de produits est réalisable pour des quantités de l'ordre du nanogramme, la détection par fragmentométrie est possible jusqu'au picogramme. Cette technique réclame peu d'échantillon, la quantité injectée est de l'ordre du microlitre. Elle est rapide, le temps d'acquisition du spectre est identique à celui de l'analyse chromatographique (Benayad, 2013).

I.8 Composition chimique des huiles essentielles

Les HEs sont extraits de certains végétaux. Toutefois, la totalité du végétal reste rarement utilisé pour l'extraction d'une HE. Ainsi, la partie de la plante employée déterminera les propriétés des HEs recueillies. Chaque HE contient de nombreuses molécules actives, chacune possédant des propriétés spécifiques (figure 12). Ce qui rend une huile essentielle unique et polyvalente.

Toutefois, les constituants des HEs peuvent être classés en 3 groupes provenant de trois voies de biosynthèse bien distinctes ; Les terpénoïdes, les dérivés du phénylpropane, et les composés divers (Muther, 2015).

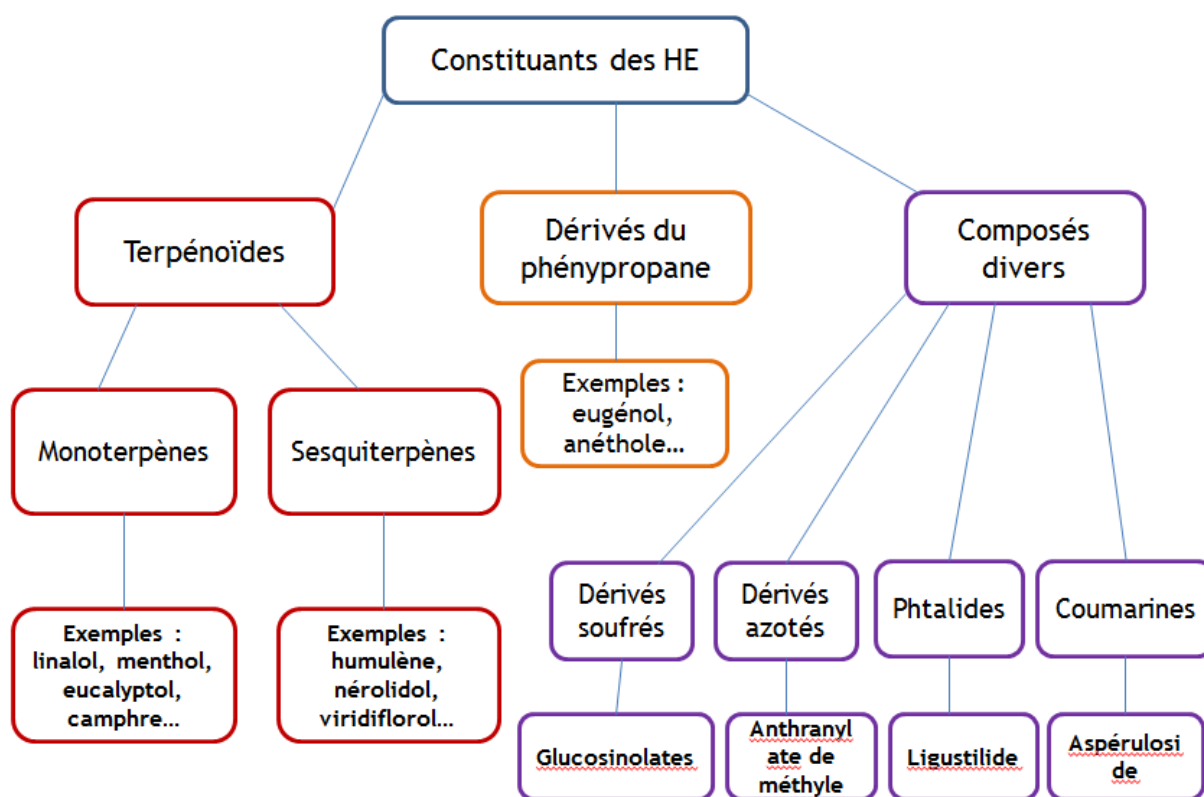


Figure 12 : principaux constituants des HEs (Muther, 2015).

I.9 Conservation des huiles essentielles

Les HEs sont des substances très délicates et s'altèrent facilement, ce qui rend leur conservation difficile. Les risques de dégradation des huiles essentielles sont multiples. Ces dégradations peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons propres et secs en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté, qui sont conservés à l'abri de la lumière et de la chaleur (**Bouchaala, 2018**).

Chapitre II

Généralité sur la plante

Curcuma longa L.

Chapitre II : Généralité sur la plante *Curcuma longa* L.

II.1 Curcuma

II.1.1 Etymologie

Le terme de *Curcuma* est d'origine irano-indienne. Il dérive du sanscrit *kartouma* qui a donné *kurkum* en persan ancien, *kourkoum* en arabe et *Curcuma* en latin (Tableau 1) (Hombourger, 2010).

Tableau 1 : Différentes appellations du *Curcuma longa* L. (Ravindran *et al.*, 2007).

Langue	Dénominations
ARABE	Kourkoum
FRANÇAISE	<i>Curcuma longa</i> , safran des indes, terre-mérite
ANGLAISE	Turmeric indian safran
ALLMEND	Kurkumawurzel
INDIENNE	Haldi

II.1.2 Répartition géographique

Originaire du Sud- Est asiatique, le *Curcuma* cultivé essentiellement dans les régions tropicales jusqu'à 2000 m d'altitude, en Inde, en Chine, aux Antilles (Réunion – Jamaïque), en Malaisie, au Brésil, a Ceylan mais également au Jappant, aux Philippines, a Java et Haïti (figure13) (Grugeau, 1995).

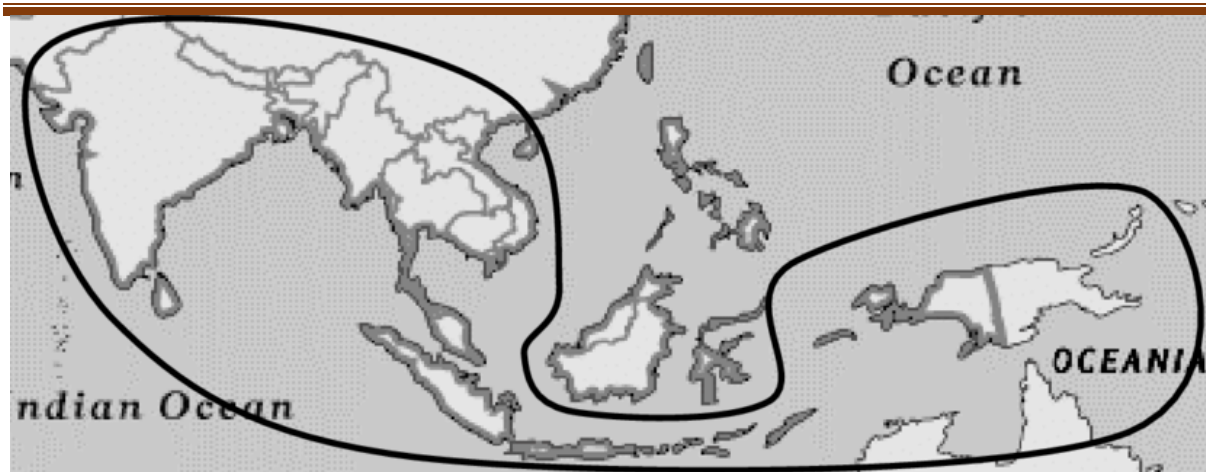


Figure 13 : Répartition du genre *Curcuma longa* L. (Sirirugsa *et al.*, 2007).

II.1.3 Historique

Il relate qu'il y a 6 000 ans le *Curcuma* était utilisé pour « chasser » la jaunisse. Marco Polo en 1280 retrace le transport du *Curcuma* entre la Chine et l'Inde dans son journal de bord. Pendant ce siècle-là, les commerçants arabes ont desservi le marché européen depuis l'Inde. Un peu plus tard, lors du début de la colonisation de l'Inde par les anglais (XV^e siècle), le *Curcuma* fut mélangé, entre autres, avec du cumin et de la coriandre pour former ce que l'on appelle le curry. Le pays d'origine du curcuma n'est pas clairement identifié aujourd'hui. On peut penser qu'il est originaire d'Inde ainsi que les autres espèces du genre *Curcuma* mais les différents rapports traitant de *C. longa* L. depuis 1810 ne font état que de sa culture agricole à des fins industrielles. Il existe une théorie établissant que le *Curcuma* est originaire de Cochinchine (aujourd'hui représenté géographiquement par le sud du Vietnam) et qu'il aurait été exporté dans le Nord Est de l'Inde par des tribus Bouddhistes durant la période post-Buddha (Jourdan, 2015).

Elle était, et est toujours, une des pièces centrales de la médecine Ayurvédique, considérée comme symbole de prospérité et de bonne santé. Elle a aussi une longue tradition dans la médecine chinoise (Vaquier, 2010).

II.1.4 Classification systématique

C. longa L. est une plante de la famille Zingiberaceae communément appelée famille du gingembre et comprend environ 70 espèces (Hikmat *et al.*, 2012).

Règne: Plantae

Sous-règne: Tracheobionta

Super division: Spermatophyta

Division: Magnoliophyta

Sous-classe : Zingiberidae

Ordre : Zingiberales

Famille : Zingiberaceae

Genre : *Curcuma*

Espèce : *Longa* (**Gajanan et al., 2017**).

II.1.5 Description botanique

C. longa L. est une plante herbacée vivace de 0,50 à 1 m de hauteur, à tubercule dont la chair est d'un jaune orangé (**figure 14**); C'est à la fois une plante tinctoriale, une plante alimentaire et une plante à épice (**Orliac, 2002**).

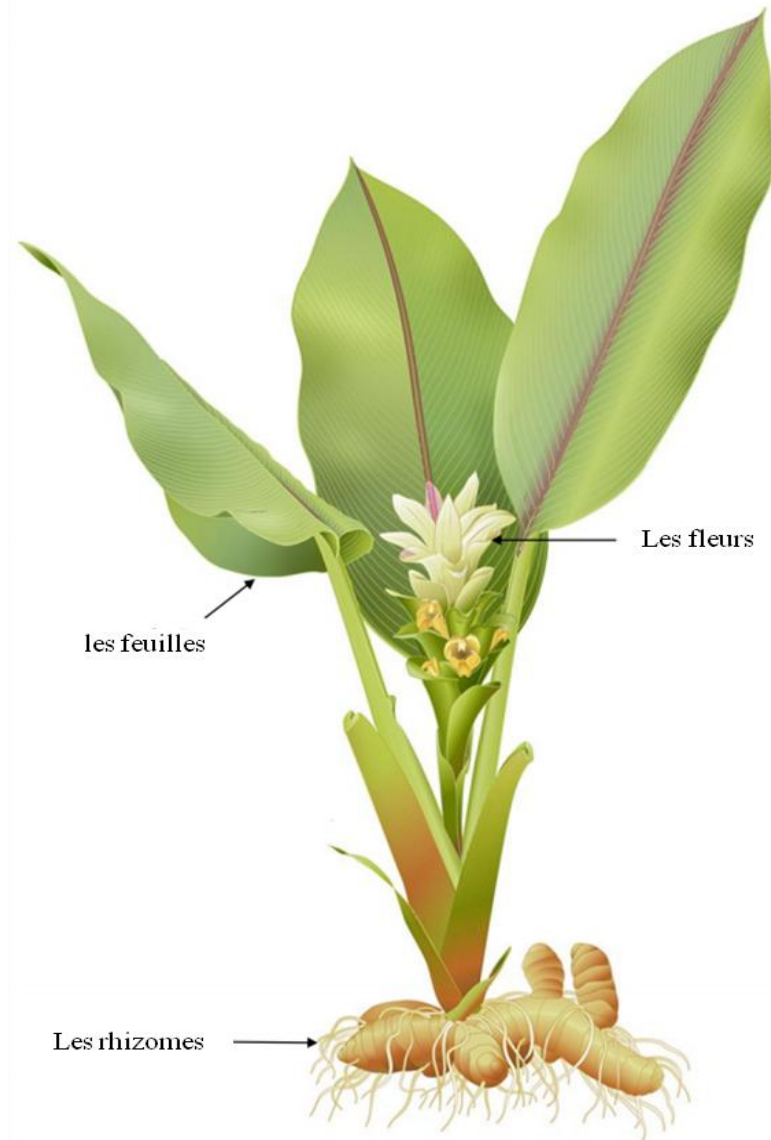


Figure 14: Aspect général de *Curcuma longa* L. (Mirzaee *et al.*, 2014).

II.1.5.1 Rhizome

Les rhizomes principaux de forme ovoïde fournissent le curcuma rond et les secondaires le curcuma long. Épais, écailleux, se ridant par dessiccation, ces rhizomes sont d'une couleur jaune orangé en section, gris brunâtre en surface (**figure15**). Une odeur aromatique se dégage après section du rhizome (**Delaveau, 1987**).



Figure 15: Rhizomes de *Curcuma longa* L. frais, séché et réduit en poudre (Goel *et al.*, 2008).

II.1.5.2 Feuilles

Les feuilles sont larges et naissent à partir du rhizome. Elles sont alternes et distiques, présentent un pétiole engainant, portant un limbe penninervé, oblong-lancéolé, long d'une cinquantaine de centimètres, glabre sur les deux faces (**figure 16**) (Cheikh-Ali, 2012).

II.1.5.3 Fleurs

Tige longue, inflorescence sortant du cœur des feuilles de 12 à 20 cm contenant beaucoup de fleurs de couleurs blanche (**figure 16**). Dont la floraison est de mai à septembre (Floraison non parfumée) et possèdent :

Un calice tubulaire court présent 3 dents inégales

Une corolle tubulaire à sa base, puis divisée en 3 lobes jaunes inégaux

Un ovaire infère, trilobulaire, surmonté d'un style terminé par un stigmate simple et en crochet (Itokawa *et al.*, 2008).

II.1.5.4 Fruit

Le fruit du *Curcuma* est une capsule globuleuse, mais il n'est pas produit chez l'espèce *Curcuma longa*, qui est une plante stérile disséminée par division de son rhizome (Cheikh-Ali, 2012).



(a)

(b)

(c)

Figure 16: *Curcuma longa* L. rhizomes (a), feuilles (b) et fleurs (c) (**Attou et Boukhari, 2013**).

II.1.6 Culture de *Curcuma longa* L.

A la mise en place des rhizomes leur germination est achevée en deux à quatre semaines; suivie d'une période de croissance végétative active. La floraison et le développement des rhizomes débutent environ cinq mois après la plantation (**Jansen et al., 2005**).

La plante de *Curcuma* a besoin de températures comprises entre 20 ° C et 30 ° C et d'une quantité considérable de précipitations annuelles pour prospérer. Elle est cultivée dans les régions tropicales et subtropicales et elle nécessite un climat humide. Le sol pour la culture du *Curcuma* doit être riche et friable (**Yadav et Tarun, 2017**).

La plantation se fait de mi-juin à mi-juillet à partir de rhizomes munis d'un ou deux bourgeons. Dans les zones pluvieuses, les plantules émergent du sol un mois environ après la plantation. La croissance végétative est très rapide durant les quatre premiers mois. Ensuite, les rhizomes se développent et mûrissent pendant les mois d'hiver. Le stade de maturation optimal est atteint au bout de huit à neuf mois après la plantation et la récolte à lieu de février à avril (**Lonchamp, 2002**).

Pour le *C. longa* L., le nombre d'irrigations dépendra du sol et des conditions climatiques. Selon les sols, les précipitations sont de 15 à 25 irrigations dans les sols moyennement lourds et en cas de sols rouges à texture légère, 35 à 40 irrigations sont nécessaires (**Yadav et Tarun, 2017**).

Le rendement moyen en rhizomes frais de *Curcuma* est de 17 à 23 tonnes/hectare si la culture est irriguée, et de 6,5 à 9 tonnes/hectare en culture pluviale. Toutefois, les rendements dépendent en grande partie du cultivar. Certains d'entre eux peuvent produire 30 à 35 tonnes/hectare de rhizomes frais (**Hombourger, 2010**).

Les rhizomes sont généralement entassés à l'ombre des arbres ou dans des hangars bien ventilés et recouverts de feuilles de *Curcuma*. Ils peuvent également être stockés dans des fosses avec de la sciure (**Yadav et Tarun, 2017**).

II.1.7 Maladies et ravageurs

Malgré son potentiel antimicrobien, *C. longa* L. est sujette à plusieurs maladies fongiques. La tache foliaire causée par *Colletotrichum gloeosporioides* est l'une des principales maladies affectant les parties aériennes de la plante et est responsable du rendement. Il est devenu un obstacle majeur à la réussite de la culture. Cette maladie est responsable de la diminution de la capacité du rhizome en développement à stocker les réserves alimentaires, affectant ainsi les paramètres qualitatifs intrinsèques de la culture. Elle conduit à une forte réduction du rendement en rhizomes par la destruction de tissus chlorophylliens (**Suruchi et al., 2016**).

II.1.8 Valeurs nutritionnelle

Le tableau n° 02 résume la valeur nutritionnelle et énergétique calculée pour 100 g de poudre de rhizome de *C. longa* L. et qui est de 354 cal, ce qui représente en moyenne 11.42 % des besoins journaliers d'un adulte.

Tableau 2: Valeur nutritionnelle et énergétique du *Curcuma Longa* L. (Shahid, 2016).

Composition du <i>Curcuma</i> (pour 100 g)						
Energie		354 calories	Minéraux (mg)		Vitamines (mg)	
Eau		11.36	Calcium	183.00	Vitamine A et B12	
Protéine		7.83	Cuivre	603.00 (µg)	Vitamine B1	
Sucre		3.21	Fer	41.42	Vitamine B2	
Fibre		21.10	Magnésium	193.00	Vitamine B3	
Acides gras (g)			Manganèse	7.83	Vitamine B6	
Total		9.88	Phosphore	268.00	Vitamine B9	
Acides gras insaturés	Omega 3	0.48	Potassium	2525.00	Vitamine C	
	Omega 6	1.69	Autres		Vitamine D	
	Omega 9	1.66	Phytostérol	82.00	Vitamine E	
Acides Gras saturés		3.12	Curcumine	3888.80	Vitamine K	

Le *Curcuma* est remarquablement riche en vitamines et en minéraux, comme le fer et le manganèse. C'est donc une épice alcalinisant et par conséquent, efficace contre l'acidose tissulaire, souvent à l'origine des états inflammatoires (Shahid, 2016).

II.1.9 Composition chimique

C. longa L. est l'espèce de *Curcuma* la plus étudiée chimiquement. À ce jour, au moins 235 (composés phénoliques et trapézoïdes principalement ont été identifiés), y compris les diarylpentanoïdes, monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpénoïdes, alcaloïdes et stérols, etc (Shiyou *et al.*, 2011).

La poudre de *Curcuma* issue du rhizome séché contient à la fois des molécules volatiles et d'autres non volatiles (Roy, 2013).

II.1.9.1 Fraction volatile

L'odeur caractéristique du *C. longa* L. est due à la présence des huiles essentielles riches en molécules odorantes. L'extraction s'en fait par hydrodistillation. Les principales composées chimiques contenues dans ces huiles essentielles sont les monoterpènes et des sesquiterpènes (Roy, 2013).

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) équipée d'un spectromètre de masse (SM). Est l'outil de référence pour séparer et caractériser les constituants volatils d'une huile essentielle (Hay, 2015).

Selon Tsai *et al.*, (2011) les rhizomes séchés de *C. longa* L. importés de la province du Sichuan, en République populaire de Chine, analysés par (CPG) couplé avec (SM). Au total, vingt-trois composés ont été identifiés, dont dix terpènes, six alcools, deux cétones et cinq autres composés. Les principaux composés étaient l'ar-turmerone (49,04%), l'oxyde d'humulène (16,59%) et le -selinène (10,18%).

Des parties aériennes du rhizome de *C. longa* L. ont été achetées sur le marché central de São Luís. Le rendement en huile essentielle de *C. longa* était de 3,4%.

La GC-SM a été utilisé pour identifier, quantifier et évaluer les composés chimiques présents dans le rhizome de *C. longa*, comme montrent le tableau 03 et la (figure 17) (Teles *et al.*, 2019).

Tableau 3: Composition chimique des huiles essentielles de rhizomes de *C. longa* L. obtenue par GC-SM (Teles *et al.*, 2019).

Pic	<i>Curcuma longa</i> L.		
	t _{RET}	Composants	%A
1	5.464	α -pinène	1.15
2	5.638	Mycènes	0.37
3	6.823	Vinyl propionate	0.20
4	7.206	p-Clyméné	1.01
5	7.206	Bisabolone	0.55
6	8.304	β -Turmerone	12.02
7	8.385	1,8-cineole	1.01
8	8.461	Camphore	1.24
9	9.267	α -Terpinéol	4.13
10	9.645	Terpinolène	0.43
11	10.167	α -Zingiberene	0.29
12	10.587	β -Sesquiphellandrene	2.67
13	12.945	β -Caryophyllene	1.00
14	13.544	γ -Curcumine	6.96
15	14.397	ar-Curcumine	1.58
16	16.664	Turmerone	55.43
17	16.739	β -Sesquiphellandrene	1.10

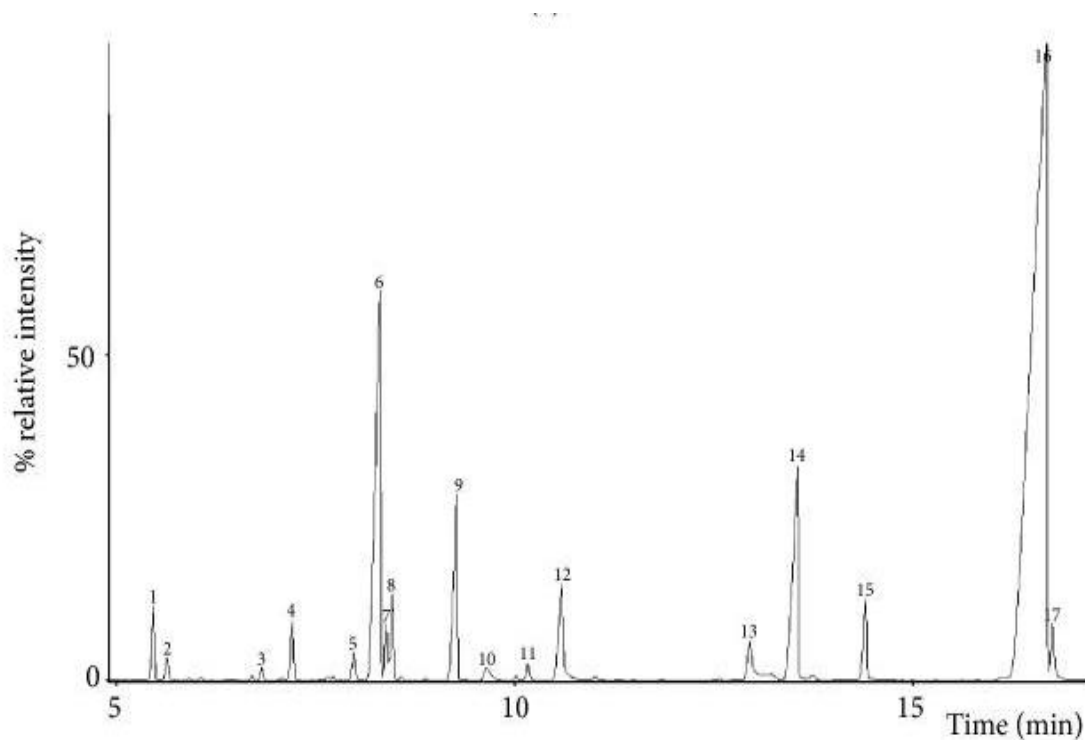


Figure 17: Chromatogramme des huiles essentielles de *C. longa* L. (Teles *et al.*, 2019).

Composés présents dans les huiles essentielles ont été énumérés selon l'ordre d'éluion et le temps de rétention. L'huile essentielle de *C. longa* L. a montré 17 composés avec la turmérone (55,43%), la β-turmérone (12,02%) et le γ-curcumène (6,96) comme principaux composés (figure 18) (Teles *et al.*, 2019).

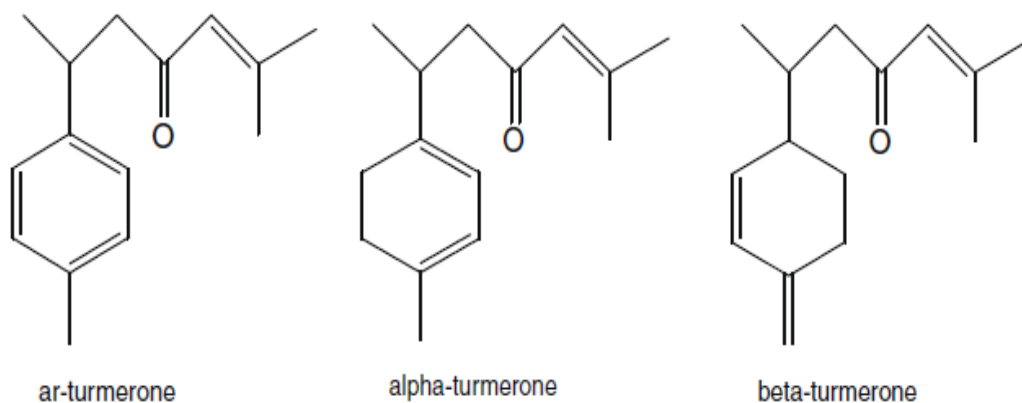


Figure 18 : Principaux composés des huiles essentielles de *C. longa* L. (Singh *et al.*, 2010).

II.1.9.2 Fraction non volatile

Cette fraction est principalement composée de curcuminoïdes qui sont des dérivées phénoliques qui donne au rhizome sa couleur jaune caractéristique. La curcumine et ses deux dérivés proches : la déméthoxycurcumine et la bisdéméthoxycurcumine représentent des composés phénoliques isolés du rhizome de *C. longa* L. (tableau 04).

Tableau 4 : Principaux curculionidés isolées de rhizomes de *C. longa* L. (Roy, 2013).

Molécule	Structure chimique
Curcumine	
Déméthoxycurcumine	
Bisdéméthoxycurcumine	

II.1.9.3 Autres constituants

Les rhizomes de *C. longa* L. renferment également :

- **Des polysaccharides :** 40 à 50% d'amidon sous forme d'un gel.

Des complexes arabinolactane: les ukonanes. Il en existe quatre types : les ukonanes A, B, C et D composés chacun de L-arabinose, D-xylose, D-glucose, L-ramnose et D-acide galacturonique, en proportions variables.

Ces composés seraient susceptibles de posséder une action sur le système réticulo-endothéliale

- **Des peptides:** Srinivas *et al.* (1992) ont mis en évidence un peptide hydrosoluble ayant des propriétés anti-oxydantes et l'ont nommé turmerine, ce peptide représente 0.1 % du poids sec des rhizomes et est obtenu sous forme cristalline (**Lonchamp, 2002**).

II.1.10 Domaines d'utilisation de *Curcuma longa* L.

Le *C. longa* L. est utilisé sous différentes formes brutes ou produits d'extraction.

II.1.10.1 Usage alimentaire

Le *C. longa* L. est largement utilisé dans les aliments pour sa saveur et sa couleur. Les rhizomes du curcuma broyés, donne une poudre orange-jaune profond couramment utilisée comme épice au curry et d'autres spécialités de l'Asie du Sud et de l'Est, il est également utilisé pour donner de la couleur aux condiments et à la moutarde. Son ingrédient actif est la curcumine et il présente une saveur piquante distinctement terreuse, légèrement amère et chaude et une odeur de moutarde (**Habbachi *et al.*, 2013**).

II.1.10.2 Usage médical

Le *Curcuma*, en poudre, est utilisé à des fins médicinales, comme un antiseptique, un remède contre l'empoisonnement, purgatif, pour le traitement de dyspepsie et des troubles respiratoires, et pour certaines maladies de la peau, y compris la cicatrisation des plaies, et comme un remède pour traiter les entorses et les enflures causées par les blessures (**Gaouji, 2016**).

Le *C. longa* L. présente un large éventail d'activités biologiques (**figure 19**) et est utilisé dans la médecine (**Lal, 2012**).

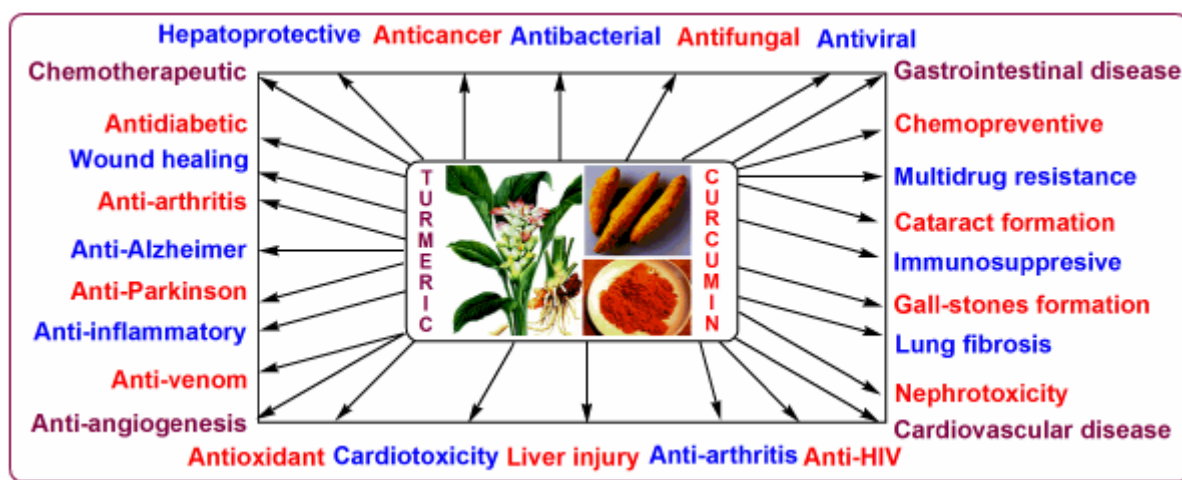


Figure 19: Propriétés médicinales de *Curcuma* et de curcumine (**Lal, 2012**).

II.1.10.3 Usage industriel

Vavilova (1990) a rapporté que la racine en poudre du *Curcuma* a été utilisée pour fabriquer un colorant jaune profond pour les tissus (**Habbachi et al., 2013**).

II.1.10.4 Usage cosmétique

Le rhizome de *C. longa* L. contient trois curcuminoïdes principaux, à savoir la curcumine, la déméthoxycurcumine et la bisdéméthoxycurcumine, ainsi que les huiles volatiles (tumerone, atlantone et zingibérone). La curcumine exerce son effet bénéfique chez les patients psoriasiques puisqu'elle agit au niveau des kératinocytes comme agent anti-inflammatoire en inhibant l'expression de plusieurs cytokines pro-inflammatoires. L'utilisation topique d'une formulation de gel de curcumine a fortement inhibé l'inflammation de type psoriasis dans un modèle animal (**Jandi, 2017**).

II.1.11 Effets toxiques

Bien que le *C. longa* L. soit non-toxique, des études ont montré une légère inhibition de l'agrégation plaquettaire.

Des dermatites allergiques ont été recensées, ce qui est plus susceptible d'arriver chez des personnes présentant des réactions allergiques connues aux plantes du genre *Curcuma*

La curcumine n'a pas démontré d'effet toxique sur le corps humain, même à une dose élevée (8000 mg/j) (**Guillouty, 2016**).

L'utilisation du rhizome de *Curcuma* est contre-indiquée en cas d'hypersensibilité à la substance active et en cas d'obstruction des voies biliaires.

L'HMPC (Committee On Herbal Medicinal Products) rapporte une possibilité d'interaction du *Curcuma* avec les AINS (Anti-Inflammatoire Non Steroïdien), les antiagrégants plaquettaires ainsi qu'avec les hypolipidémies. De plus, comme l'harpagophyton, le *Curcuma* aurait un effet inhibiteur sur les enzymes du cytochrome P450, notamment les sous unités 3A4 et 1A2, ce qui peut engendrer des interactions entre le curcuma et les médicaments substrats de ce cytochrome (**Villeneuve, 2017**).

Un adage explique que « c'est la dose qui fait le poison ». Ceci s'applique particulièrement bien aux HEs. En général, elles sont peu toxiques mais leurs fortes concentrations en molécules actives et donc leur utilisation en faible volume nécessite le respect strict des posologies et des excipients utilisés (**Bourachot, 2017**).

Chapitre III

Antibiorésistance et les activités biologiques des huiles essentielles

Chapitre III : Antibiorésistance et les activités biologiques des huiles essentielles

II.2 Infections nosocomiales

Une infection se définit par l'envahissement de l'organisme par un agent étranger, comme une bactérie ou un virus, provoquant un état pathologique par une lésion des cellules locales, une libération de substances toxiques ou par une réaction intracellulaire (germe-anticorps) (Aouraghe, 2016).

Les infections nosocomiales (IN) aussi appelées « infections hospitalières » sont définies par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme des infections acquises pendant un séjour à l'hôpital et qui n'étaient ni présentes ni en incubation au moment de l'admission du patient « lorsque la situation précise à l'admission n'est pas connue, un délai d'au moins 48 heures après admission (ou un délai supérieur à la période d'incubation lorsque celle-ci est connue) est communément accepté pour distinguer une infection d'acquisition nosocomiale d'une infection communautaire » (Kakupa *et al.*, 2016).

Les infections nosocomiales les plus fréquentes sont par ordre décroissants : infection urinaire (40%), pneumonies (20%), Infection de site opératoire (15%), infection sur cathéter (15%), Bactériémie primaire (5%) (Francois *et al.*, 2007).

En milieu hospitalier, la transmission par contact direct ou indirect est raisonnablement le mode de transmission prépondérant (figure 20).

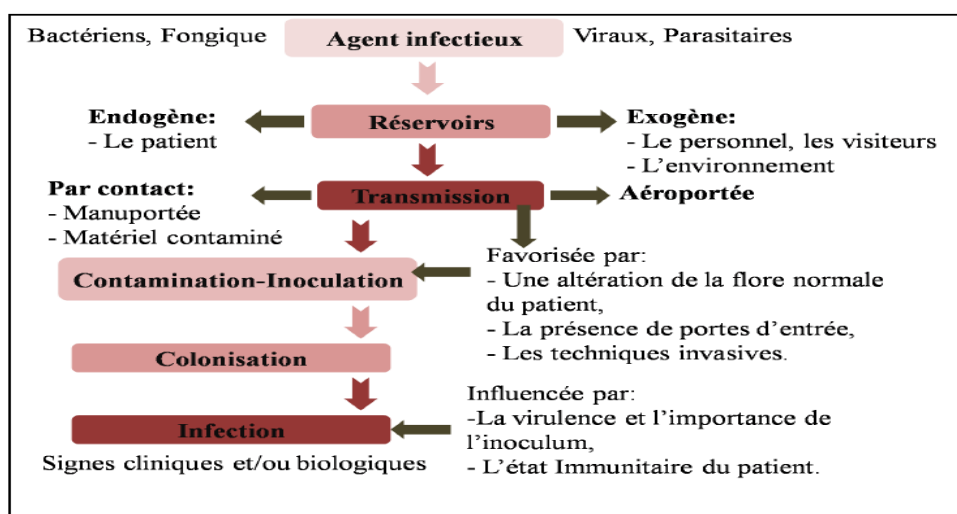


Figure 20 : Chaîne épidémiologique des infections nosocomiales (Bouguenoun, 2017).

II.3 Antibiorésistance

II.3.1 Les Antibiotiques

Un antibiotique (ATB) se définit comme une substance naturelle ou synthétique possédant une toxicité sélective et capable d'inhiber la croissance d'une bactérie ou de la tuer (Tasse, 2017).

II.3.2 Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques (Tableau 05) peut se faire selon :

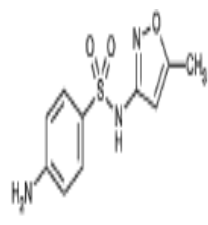
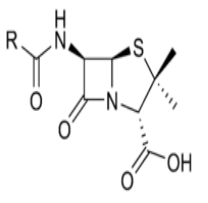
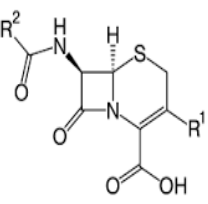
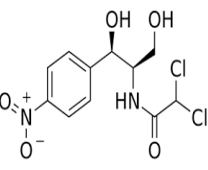
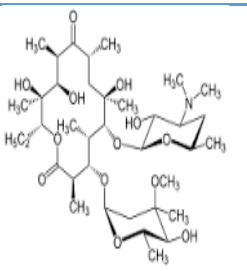
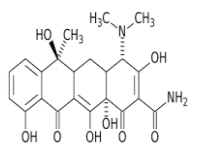
L'origine : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).

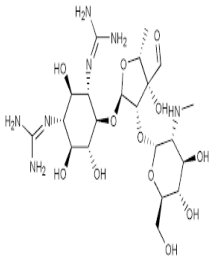
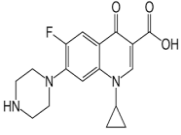
Le mode d'action : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.

Le spectre d'activité : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large).

La nature chimique : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycl β lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse. La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (β lactamines, aminosides, tétracyclines.....etc) (Ziani et Moumen, 2019).

Tableau 5 : Mode d'action des principales classes d'antibiotiques (Arabi, 2018).

Classe	Origine	Mode d'action	Exemple	Structure chimique
Sulfamides	Synthétique	-Inhibe la synthèse de l'acide folique -Entraînent une diminution de la production.	Sulfamithoxanol	
B-Lactame de 1^{ère} génération	<i>Penicillium notatum</i> <i>Penicillium chrysogenum</i>	Inhibe la synthèse du peptidoglycane par blocage de la transpeptidation	pénicilline	
B-Lactame de 2^{ème} génération	<i>Cephalosporium</i>		Céphalosporine	
Phénylpropanoïdes	<i>Streptomyces venezuelae</i>	Se fixent sur l'ARN 23S de la sous unité 50S du ribosome empêchant l'elongation du peptide cours de la traduction	Chloromphicolol	
Macrolides	<i>Streptomyces erythraeus</i>		Erythromycine	
Tétracyclines	<i>Streptomyces</i>	Bloquent la traduction en se fixant sur la sous unité 30S du	Tétracycline	

		ribosome		
Aminoglycosides	<i>Streptomyces</i> ou <i>Micromonospora</i>	Se fixent sur la sous unité 30S du ribosome et bloquent en partie la traduction en engendrant des erreurs de lecture	Streptomycine	
Quinolones et fluoroquinolones	Synthétique	Inhibe la gyrase bacterienne	Ciprofloxacine	

II.3.3 Mode d'action des antibiotiques

L'antibiotique peut agir sur le peptidoglycane de la paroi bactérienne ce qui cause une déstabilisation de la bactérie et entraîne sa mort. Il s'agit de l'action bactéricide, autrement dit qui tue les bactéries. D'autres agissent sur le système protéique de la bactérie : en se fixant sur la sous unité 50s du ribosome bactérien entraînant une inhibition de la synthèse protéique. La bactérie ne meurt pas mais ne peut plus se développer ni se multiplier, on parle de bactériostatisme. L'antibiotique est donc capable d'inhiber la multiplication des bactéries sans les tuer (**Battraud, 2017**). Le tableau 6 donne une vision globale des modes d'action des antibiotiques.

L'effet bactériostatique d'un antibiotique comme l'effet bactéricide est déterminé par la mesure de sa concentration minimale inhibitrice (CMI), c'est-à-dire la plus petite concentration de l'antibiotique considéré requise pour inhiber *in vitro* la croissance d'une souche bactérienne (**El haimer, 2019**).

Tableau 6 : Classe et cible d'action des antibiotiques (Batraud, 2017).

Antibiotiques à activité principalement Bactéricide		Antibiotiques à activité principalement bactériostatique	
Classe	Cible bactérienne d'action	Classe	Cible bactérienne d'action
1. Bétalactamines Ex. : pénicillines Céphalosporines	Paroi (peptidoglucane)	1. Phénicolés Ex. : chloramphénicol thiophénicol	Ribosome
2. Aminosides Ex. : streptomycine Gentamicine	Ribosome	2. Cyclines Ex. : tétracycline doxycycline	Ribosome
3. polymyxine Ex. : colimycine	Membrane cytoplasmique	3. Macrolides et apparentés Ex. : érythromycine pristinamycine	Ribosome
4. Rifamycines Ex. : rifampicine	ARN polymérase	4. Sulfamides et apparentés Ex. : cotrimoxazole	Synthèse des acides nucléiques
5. Quinolones Ex. : A. nalidixique ciprofloxacine	ADN gyrase	5. Nitroimidazolés Ex. : mitrinidazole	acides nucléiques

Plusieurs types de cibles se sont montrées particulièrement vulnérables à l'action des antibiotiques (la paroi, la membrane plasmique, l'ARN ribosomal...etc). Cependant, chaque famille possède son site d'action propre (**Figure 21**):

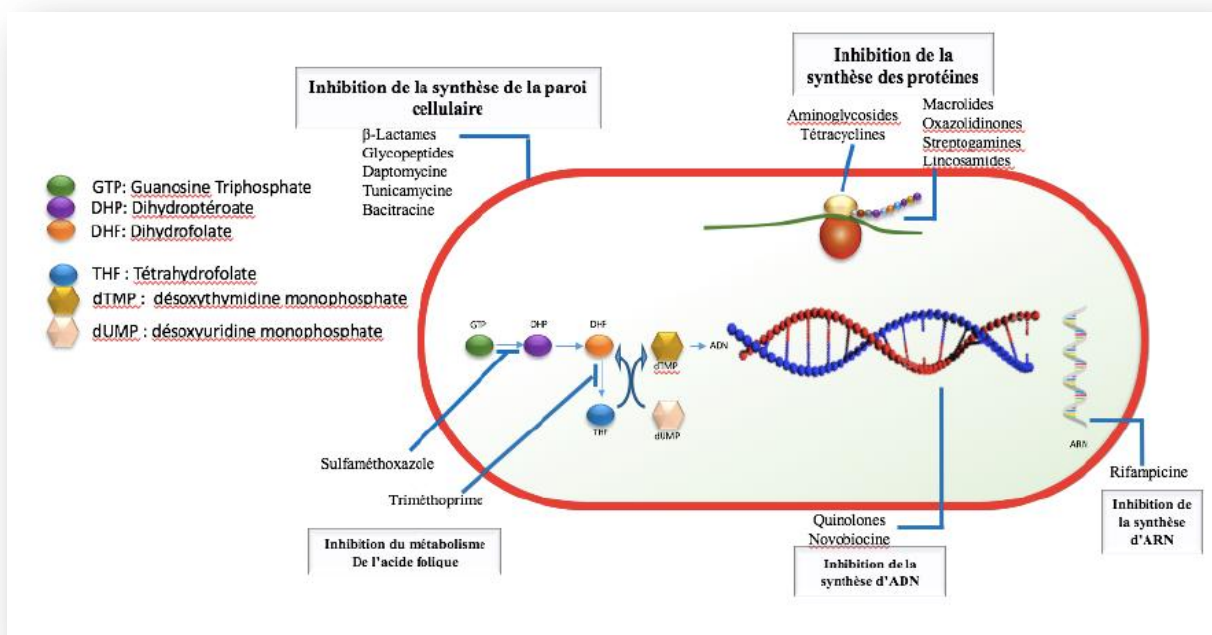


Figure 21 : Cibles d'antibiotiques à différents niveaux de la cellule (Arabi, 2018).

II.3.4 Résistance bactérienne aux antibiotiques

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique donné quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration de cet antibiotique notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la plupart des souches appartenant à la même espèce bactérienne (El bouamri, 2017).

La (figure 22) montre les mécanismes pouvant être mis en place pour contourner l'effet d'un antibiotique. Les bactéries peuvent (1) induire la destruction de l'agent antibactérien par l'intermédiaire d'enzymes inactivatrices nouvellement synthétisées pour empêcher l'antibiotique d'atteindre sa cible soit (2) en le modifiant chimiquement ou (3) en modifiant sa cible, rendant ainsi l'interaction impossible (Bocquet, 2018).

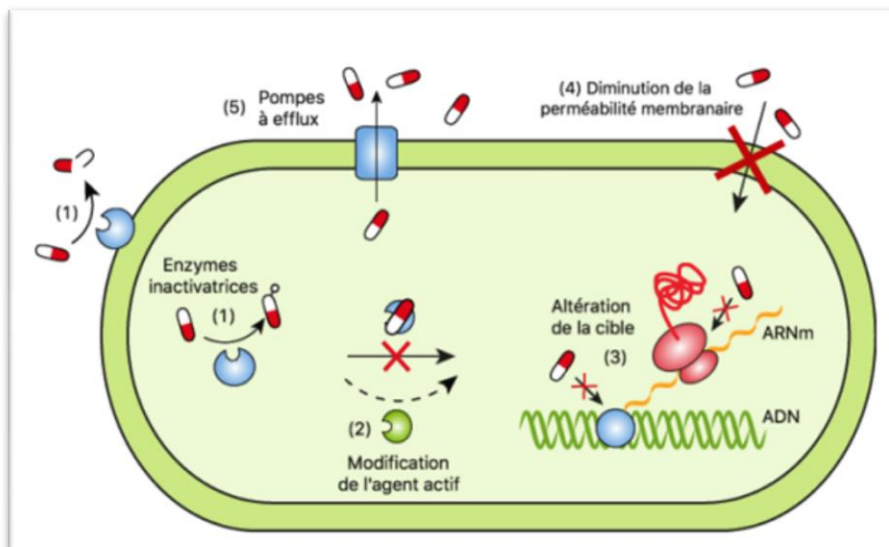


Figure 22 : Mécanismes permettant à une bactérie de devenir résistante à un antibiotique (Bocquet, 2018).

II.3.4.1 Résistance naturelle ou intrinsèque

Certaines bactéries sont naturellement résistantes à des ATB, il s'agit d'une résistance de toutes les souches d'une espèce de bactérie face à un antibiotique. Elle est inscrite dans le patrimoine génétique de ces bactéries, on trouve ainsi des gènes de résistance sur leur chromosome. Pour citer un exemple, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) résiste naturellement à toutes les β -lactamines (Batraud, 2017).

Cette résistance peut être due à la structure de la bactérie (par exemple, les mycoplasmes par leur absence de paroi sont insensibles aux bêta lactamines) (Coustès, 2016). Ou par production des enzymes (*Klebsiella spp* produit naturellement des pénicillinases qui sont présentes dans leur espace périplasmique et conduisent à la destruction d'ATB comme les pénicillines A, avant que ceux-ci ne puissent atteindre leur cible bactérienne) (Hnich, 2017).

II.3.4.2 Résistance acquise

Il s'agit d'un caractère qui ne concerne alors que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. Elle résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce (Kenz, 2017).

Elle apparaît après emploi de l'antibiotique, en réponse à la pression de sélection des bactéries résistantes. La population bactérienne est un ensemble hétérogène en constante évolution où mutations chromosomiques et échanges de matériel génétique entre les bactéries (Mangin, 2016). L'insertion d'éléments génétiques mobiles, comme les plasmides et les transposons, favorise l'acquisition des résistances par les bactéries. Elle peut s'effectuer par transduction, conjugaison ou transformation (figure 23) (Guinoiseau, 2010).

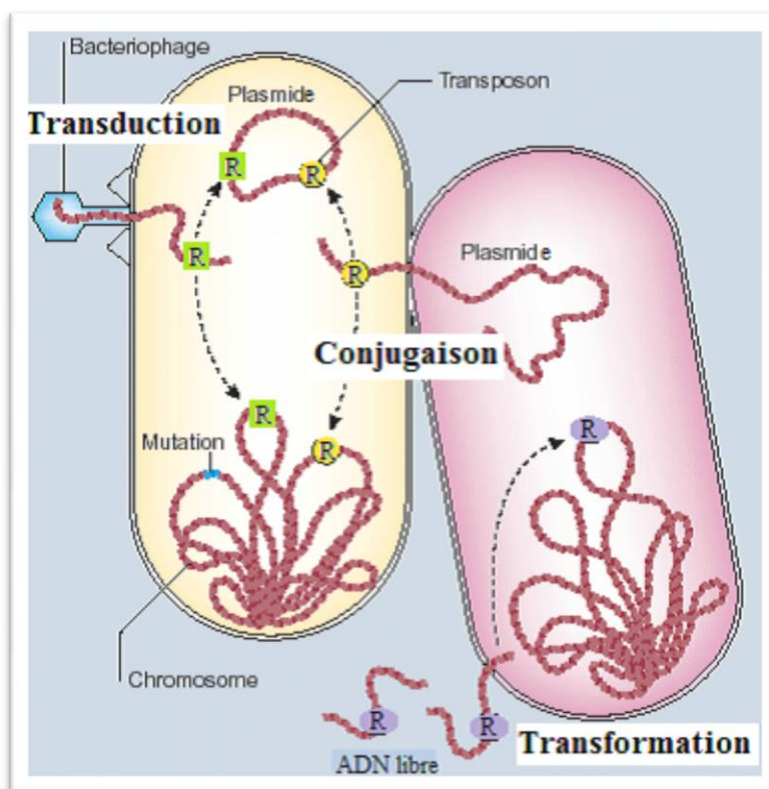


Figure 23 : Différents modes d'acquisition des gènes de résistance (R) aux antibiotiques chez les bactéries (Guinoiseau, 2010).

II.4 Activités biologiques des huiles essentielles

L'activité biologique d'une HE est liée à sa composition chimique et aux effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (Boulechar, 2014). Ces HEs peuvent être utilisées directement comme agents thérapeutiques, ou comme matières premières pour la synthèse de principes actifs (Bessah et Benyoussef, 2015).

Dans le domaine médical, le rôle des HEs est devenu indéniable puisqu'elles sont utilisées dans le traitement de diverses pathologies, comme agents antibactériens, antiparasitaires, insecticides, antiviraux, antifongiques et antioxydants. On leur attribue

également des pouvoirs antispasmodiques, diurétiques, expectorants, cicatrisants et sédatives, elles ont également une action antitoxique, antivenimeuse et anticancéreuse (**Kouch, 2015**).

II.4.1 Activité antimicrobien

Les HES s'avèrent efficaces pour le traitement des affections bactériennes et fongiques de la cavité buccale et du système respiratoire (**Boumaza, 2019**).

II.4.1.1 Activité antibactérienne

Plusieurs travaux ont montré que les HES du Thym, d'écorce de Cannelle, et de Menthe poivrée sont très efficace sur les principaux germes pathogènes responsables des infections respiratoires, notamment *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoneae*, *Streptococcus pyogènes* et *Staphylococcus aureus* (**Boumaza, 2019**).

De façon générale, l'activité antibactérienne de plusieurs HES testées est plus puissante sur les bactéries à coloration de Gram positif que les bactéries à coloration de Gram négatif (**Mehalaine, 2018**).

Le processus de l'effet des HES dépend initialement de la nature chimique et des caractéristiques physico chimiques des substances bioactives, en particulier leur propriété hydrophobe. Cette propriété permet à la molécule de pénétrer à travers la barrière de la membrane plasmique (la bicouche phospholipidique) des cellules microbiennes. Une fois la substance pénètre la membrane, elle peut induire des changements de la conformation structurale, et peut donc perturber l'équilibre chimiosmotique par une fuite d'ions (**Benmeddour, 2016**).

II.4.1.2 Activité antifongique

Les infections fongiques sont d'une actualité criante aujourd'hui. En effet, leur extension est largement favorisée par l'utilisation abusive et parfois trop légère des antibiotiques. Par exemple, les huiles essentielles de Cannelle, de Palmarosa, de Clou de girofle et de Niaouli sont des antifongiques (**Pierron, 2014**).

L'eugénol est un composé antifongique efficace qui cause des dommages permanents aux cellules des levures tels que *Candida albicans*, et des champignons : *Aspergillus ochraceus*, *A.versicolor*, *A. niger*, *A. fumigates*, *Trichoderma viride* et *Penicillium. funiculosum* (**Bouزيد, 2018**).

Le carvacrol, thymol, possède une activité antifongique contre les mycètes phytopathogènes, également les HEs de la Menthe pouliot dont le composé majoritaire est le pulégone (82%) sont dotées d'un fort pouvoir antifongique contre *Penicillium* et *Mucor*. (Chouitah, 2012)

L'effet des HEs testés sur la croissance mycélienne des dermatophytes est différent de celui exercé sur la germination ; sur la sporulation (Benalia, 2018). Chez les levures, les HEs agissent sur la biomasse et la production des pseudo-mycéliums, alors qu'elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures (figure 24) (Bouhaddoud, 2016).

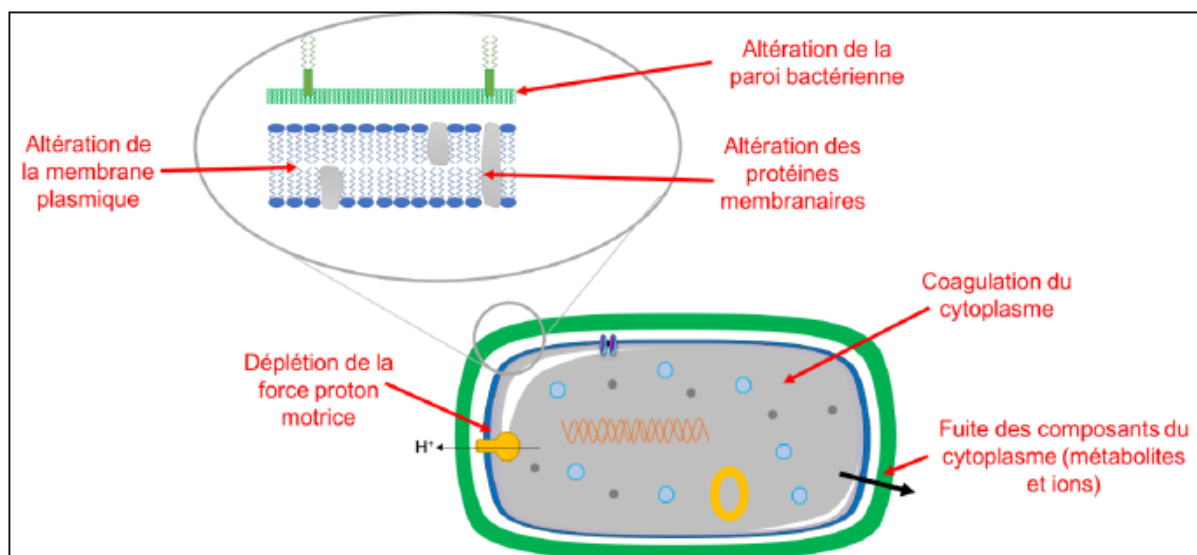


Figure 24 : Mécanisme d'action des huiles essentielles au niveau des cellules microbiennes (Lboumhamdi *et al.*, 2018).

II.4.1.3 Activité antivirale

La plupart des virus sont sensibles aux HEs à phénol. Ces derniers sont très puissants mais également dermocaustiques, les HEs les contenant devront donc être utilisées avec précaution. Etant lipophiles, ils peuvent pénétrer dans l'enveloppe des virus et sont donc plus actifs sur les virus enveloppés comme le HSV 1 et 2 (herpès) (Velé, 2015). Plus d'une dizaine d'huiles essentielles possèdent des propriétés antivirales. Nous pouvons citer l'huile essentielle de Ravintsara, l'HE de Bois de Hô, ou l'HE de Cannelle de Ceylan (Mayer, 2012).

II.4.2 Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant des HEs est développé comme substitut dans la conservation alimentaire (**Bouhaddoud, 2016**). Leur activité est en relation avec leur structure phénolique car les composés de ce type ont des propriétés oxydo-réductrices et jouent ainsi un rôle important en neutralisant les radicaux libres et en décomposant les peroxydes (Tableau 7) (**Boucekrit, 2018**).

Tableau 7 : Mécanisme d'action de quelques antioxydants (Ghayati, 2019)

	Nature	Mode d'action
Propriétés non enzymatique	Vitamine E	Neutralise les radicaux libres
	Vitamine C	Participe aux réactions d'oxydoréduction
	B-carotène	Fixation des métaux de transition
Propriétés enzymatique	Superoxyde dismutase	Catalyse la dismutation de l'anion
	Catalase	Métabolise H ₂ O ₂
	Glutathion peroxydase	Action réductrices sur H ₂ O ₂ et les hydroperoxydes

II.4.3 Activité anti-inflammatoire

Les HEs ont une place de choix dans le traitement de l'inflammation. Elles constituent une alternative aux traitements allopathiques classiques de type AINS (Anti-inflammatoires non stéroïdiens) qui sont connus pour leur mauvaise tolérance digestive au long court. Bien utilisées, ces HEs n'induisent pas d'effets indésirables (**Laurent, 2017**).

L'HE de *Angelicasinensis* présente des effets anti-inflammatoires et protège le foie en inhibant la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , interleukine-18 et interleukine-6), les médiateurs inflammatoires (histamine, 5-hydroxytryptamine, prostaglandine E₂, et l'oxyde nitrique), les enzymes liées à l'inflammation (COX-2 et

l'oxydenitrique synthéase inductible (INOS) ainsi que la production des cytokines anti-inflammatoires interleukine-10 (**Chaib, 2018**).

Partie II

Partie expérimentale

I. Matériel et méthodes

I.1 Objectif du travail

Nous avons commencé à effectuer cette partie expérimentale dans le laboratoire de microbiologie et biologie végétale à l'université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem (UMAB) en mois de février 2020. Notre objectif était d'extraire les HEs à partir des rhizomes du *Curcuma longa* L. par hydrodistillation .et de tester leur effet antibactérien et antifongique sur quelques microorganismes pathogènes dans le but de confirmer l'intérêt pharmacologique et médicinale de cette plante. A cet effet nous avons obtenu des rhizomes secs de l'espèce *C. longa* L. qui ont été achetées sur le marché local de la ville de Mostaganem.

I.2 Procédé d'extraction des huiles essentielles

Les HEs se présentent avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%) (**Jacqueline, 2009**). Cependant, La distillation reste la méthode la plus utilisée pour l'extraction des composés aromatiques très volatils qui sont facilement analysables par chromatographie en phase gazeuse (**Benjilali, 2004**).

Les HEs sont obtenues par hydrodistillation dans un appareil Clevenger (**figures 25 et 26**) pendant 5 h. Le procédé consiste à broyer les rhizomes secs de *C. longa* L. et immerger un échantillon de 200 g de la poudre obtenue dans un ballon en verre de 2000 ml contenant une quantité suffisante d'eau distillée (1500 ml) sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. Les vapeurs chargées des HEs passent à travers le tube vertical, puis dans le réfrigérant où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. En raison de la différence de densité, les HEs surnagent à la surface de l'eau.



Figure 25 : Rhizomes secs et la poudre de *Curcuma longa* L. utilisés

Enfin, les HEs obtenus ont été déshydratés sur du sulfate de sodium anhydre et conservés dans des flacons ambres au réfrigérateur (4°C) (Mahmoudvand *et al.*, 2019).

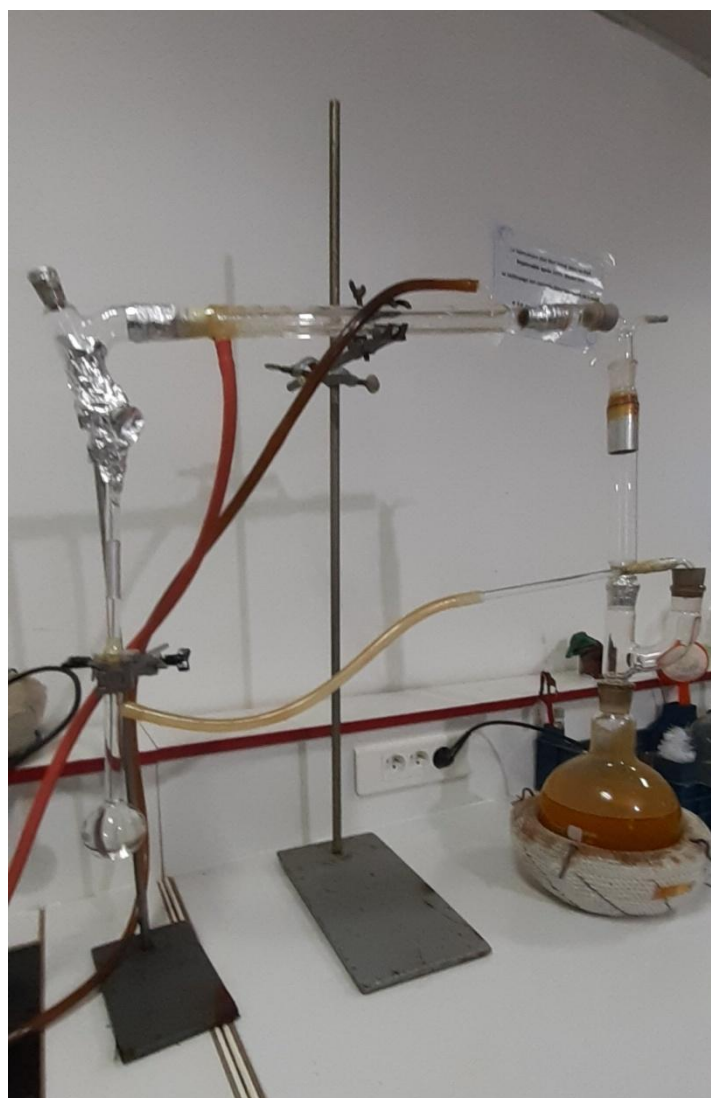


Figure 26 : Procédé d'extraction des huiles essentielles de *Curcuma longa* L. par hydrodistillation (Clevenger).

I.3 Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de *Curcuma Longa L.*

L'examen organoleptique de différentes HEs concerne : aspect, viscosité, couleur, odeur, goût, ces propriétés sont très sensibles à l'oxydation que subissent les huiles essentielles en vieillissant (Deschepper, 2017).

I.4 Détermination du rendement en huiles essentielles

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en HEs est défini comme étant le rapport entre la masse des HEs obtenues après l'extraction et la masse de la matière végétale sèche utilisée. Le rendement exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante (Goudjil, 2015).

$$R\% = (P'/P) \times 100$$

Où

R% : Rendement de l'huile en (%)

P' : Poids de l'huile en (g)

P : Poids de la plante en (g)

II. Résultats et discussion

II.1 Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de *Curcuma Longa L.*

Les caractères organoleptiques de notre HEs extraite à partir de la poudre du *C. Longa L.* sont reportés dans le (tableau 08). Il s'agit des HEs très aromatique, liquide et de couleur Jaune pale. Et sont les mêmes caractéristiques trouvées par Tefiani en 2015. A la déférence Oyemitan *et al.* (2017) ils ont obtenue des HEs avec une couleur brunâtre.

Tableau 8 : Caractères organoleptiques des huiles essentielles de *Curcuma Longa* L.

Huiles essentielles	Couleur	aspect	Odeur	Saveur
<i>Curcuma Longa</i> L.	Jaune pale	Liquide (visqueus)	Très aromatique	Forte et piquante

II.2 Rendement d'extraction des huiles essentielles de *Curcuma Longa* L.

L'extraction des HES des rhizomes secs de *C. longa* L. par hydrodistillation (**figure 27**). A fourni un rendement moyen calculé en fonction de la matière végétale sèche de l'ordre de 0,86% (tableau 09). Ce rendement en huiles est proche a ce lui rapporté par Tefiani (2015) qui est 0,96%, et beaucoup plus faible que celui rapporté par Zhang *et al.* (2017) sur les rhizomes secs de la même plante collectés dans les différentes provinces du la Chine qui varient de 4,03% à 5,27%. Les rendements des HES dans les trois essais ont été calculés comme suit :

$$R1 = \left[\frac{2,149}{200} \times 100 \right] = 1,07\%$$

$$R2 = \left[\frac{1,463}{200} \times 100 \right] = 0,73\%$$

$$R3 = \left[\frac{1,554}{200} \times 100 \right] = 0,78\%$$

$$Rm = \frac{y1 + y2 + y3}{3} = 0,86\%$$

$$Rm = 0,86\%$$

Tableau 9 : Quantités des huiles essentielles de *C. longa* L. extraite par hydrodistillation

Essai N°	Masse de matérielle végétale utilisé en g	Volume d'eau distillé utilisé en ml	Masse des HEs extraites en g	Rendement (R%)	Rendement moyen (Rm%)
01	200	1500	2,149	1,07	0,86
02	200	1500	1,463	0,73	
03	200	1500	1,554	0,78	

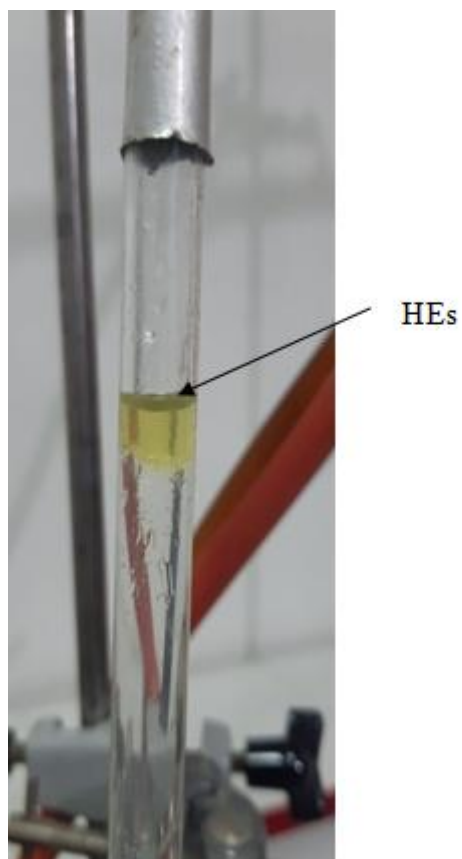


Figure 27 : Quantité des Huiles essentielles de *C. longa* L. extraite par hydrodistillation

Les caractéristiques organoleptiques étaient autrefois les seules indications permettant d'évaluer la qualité des HEs, mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très

limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisations plus précises telles que la chromatographie (**Taleb-Toudert, 2015**).

Les travaux réalisés par Gounder et Lingamallu (2012) sur les rhizomes frais, séchés et durcis de cette même espèce leurs ont permis d'obtenir un rendement en huiles essentielles est de 3.52, 3.05 et 4.45%, respectivement, sur la base du poids sec.

La teneur en HEs obtenus par Goncalves *et al.* (2019) à partir des rhizomes frais de *curcuma longa* L. collectée au Brésil est de 0.70 %

De leur côté, Singh *et al.* (2010) ont obtenu des rendements d'extraction en huiles essentielles des rhizomes de *C. longa* L. de l'ordre de 1.4% et 2.9 %, respectivement pour des rhizomes frais et secs.

Un certain nombre de facteurs peuvent affecter la qualité des HEs, notamment les espèces végétales, la région géographique de culture, la procédure de récolte des plantes, les méthodes d'extraction des HEs et les conditions de stockage (**Hu *et al.*, 2015**). Lors de l'extraction des HEs, plusieurs phénomènes sont à la base du transfert de matière entre les phases solide, liquide et vapeur, d'où l'influence de différents paramètres sur la qualité et le rendement de l'huile obtenue (**Herzi, 2013**).

Cependant, le contact direct des constituants des HEs avec l'eau occasionne des réactions chimiques conduisant à des changements dans la composition finale de l'extrait. Les conditions opératoires et, notamment, la durée de distillation ont une influence considérable sur le rendement et la composition des HEs (**Boukhatem *et al.*, 2019**).

Sandeep *et al.* (2016) suggère que le rendement et la qualité des HEs dans le *curcuma* sont fortement contrôlés par les facteurs environnementaux et les nutriments du sol. Ainsi, le rendement avec des constituants volatils peut être amélioré grâce à la sélection de l'emplacement de croissance et à une bonne gestion des nutriments. En revanche, la température et la teneur en phosphore ont été jugées essentielles pour les HEs des feuilles, tandis que les teneurs en azote, en phosphore et en potassium étaient les principaux déterminants quantitatifs et qualitatifs des HEs de rhizome.

Selon Fadil *et al.* (2015) la température de séchage influe inversement sur le rendement en HEs. Ce dernier atteint son maximum lorsque la température est dans la borne inférieure du domaine de variation de ce facteur (250°C). Ceci est peut-être dû à la localisation des glandes productrices des métabolites dans les tissus de cette plante.

L'extraction a montré non seulement la commodité, mais également la capacité d'optimiser les paramètres de condition, ce qui a permis d'obtenir plus efficacement le rendement en HEs de curcuma à la fois en quantité et en qualité (**Tran *et al.*, 2016**). Et pour extraire quelques grammes des huiles essentielles, il faut une grande quantité de matériel végétal (**Randrianarevilo, 2010**).

Notre étude s'est arrêtée à ce niveau là en raison de la pandémie causée par le Coronavirus Covid 19. Pour pouvoir atteindre les autres objectif de notre étude nous présentons dans ce mémoire de fin d'études une synthèse des travaux scientifiques qui ont abordé l'effet antimicrobien des huiles essentielles de *Curcuma longa* L. sur des microorganismes pathogènes humains.

I. Matériel et méthodes

I.1 Préparation des dilutions des huiles essentielles

Pour tester l'activité antimicrobienne des HEs il est procédé d'abord à leurs solubilisation dans différentes solvant : dans le sulfoxyde de diméthyle (DMSO) (**Acevedo *et al.*, 2017**), ou dans le tween -80 (polysorbate - 80) a 5% à une concentration initiale de 2000 ppm et les concentrations obtenues (100, 500 et 1 000 ppm) y sont ajoutées du bouillon BHI (Bouillon cœur-cervelle) (**Álvarez *et al.*, 2016**), ou bien le milieu MH liquide (annexe) (**Goncalves *et al.*, 2019**). Afin d'obtenir des dilutions avec différentes concentration en HEs.

I.2 Micro-organismes

Les HEs de *C. longa* L. sont testés contre un groupe des microorganismes de différentes origines et d'autres souches de référence (Tableau 10), impliqués dans des nombreuses infections humaines (nosocomiales, alimentaires...) et relativement résistantes aux antibiotiques habituellement utilisés en thérapie.

Tableau 10 : Microorganismes testés contre les huiles essentielles de *Curcuma longa* L. (Stanojević *et al.*, 2015 ; Álvarez *et al.*, 2016 ; Acevedo *et al.*, 2017 ; Goncalves *et al.*, 2019).

Microorganismes à coloration de Gram	Isolats	Souches de référence
négative	<i>Escherichia coli</i>	<i>E. coli</i> ATCC 25922
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i> ATCC (27853, 13525)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ,	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603
	<i>Proteus sp</i> <i>Salmonella sp</i>	<i>Proteus vulgaris</i> (ATCC 8427)
Positive	<i>Bacillus sp</i>	<i>Bacillus cereus</i> (ATCC)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)
	<i>Candida albicans</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 19166)
		<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)
	<i>S. aureus</i> ATCC (43300, 29213, 25923)	
	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10259)	

I.3 Préparation de l'inoculum

Une colonie bien isolée issue d'une culture fraîche de 18-24 H a été introduite dans 5 ml d'eau physiologique contenue dans un tube à essai (El amri *et al.*, 2014). Ou bien dans un 9 ml de BHI (annexe) est incubé à $36 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 16-18 heures. Après incubation, des dilutions en série de la suspension bactérienne ont été réalisées, mesurant la densité optique de chaque dilution à 630 nm dans un spectrophotomètre, jusqu'à atteindre une absorbance comprise entre 0,08 et 0,13. Cette absorbance correspondait à 2×10^8 UFC / ml et à une turbidité de 0,5 sur l'échelle Mac Farland (Álvarez *et al.*, 2016).

I.4 Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Curcuma longa* L.

L'activité antimicrobienne *in vitro* de les HEs de *C. longa* L. ont été évaluées qualitativement et quantitativement par la présence ou l'absence de zones d'inhibition et détermination de la CMI (concentration minimale inhibitrice), respectivement.

I.4.1 Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

Cette méthode consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant de la gélosé Muller Hinton (MH) (annexe), solidifié et inoculé avec les suspensions microbiennes à l'aide d'écouvillons. Des disques de papier stériles de 6 millimètres de diamètre (Whatman TM) imbibés de 10 ml d'HE ont été distribués en double sur la surface de la gélose (**Goncalves *et al.*, 2019**).

Ou bien un inoculum de 0,1 cm³ de culture pendant une nuit a été ajouté à 10 cm³ du milieu stérile (gélose nutritive (GN) (annexe) pour les bactéries et milieu Sabouraud (annexe) pour les levures) et versé dans des boîtes de Pétri. Puis, des disques de papier filtre stérilisés de 12,7 mm de diamètre ont été placés à la surface des milieux inoculés et imprégnés de 60 µl des HEs (**Stanojević *et al.*, 2015**). Les boîtes ont été incubées pendant 24 h à 37°C pour les bactéries et 48 h à 25°C pour les levures. Les diamètres de la zone d'inhibition (ZI) autour de chaque disque sont mesurés en millimètres (mm) à l'aide d'un pied à colis (**Stanojević *et al.*, 2015**).

- ✓ **Témoins positive** : Des disques standardisés d'ampicilline (10 µg / disque), de Bactrim (25 µg / disque), de Cefalexin (30 µg / disque) (Bio Rad) et de Nystatine (100 U / disque) (Bioanalyse) ont été utilisés.
- ✓ **Témoin négative** : disques de papier imbibé par le DMSO

I.4.2 Méthode de microdillution

Suivant la méthodologie mise en œuvre par Valgas *et al.* (2007). Cette méthode consiste à distribuer 100 µl de différentes concentration des HEs (100, 500 et 1000 ppm) dans une microplaque à 96 puits, chaque puits d'essais est inoculé avec 10 µl de la suspension bactérienne (**Álvarez *et al.*, 2016**).

- Pour contrôler la stérilité : des puits contenant les HEs tout seuls sont utilisé

- Pour contrôler la croissance : des puits contenant le BHI et inoculé avec le microorganisme.
- Témoins positifs : des antibiotiques commerciaux (vancomycine, ciprofloxacine et chloramphénicol) ont été utilisés.
- Témoin négatif : est le Tween-80 5%

Selon le protocole suivi par Goncalves *et al.* (2019). L'HE a été émulsifiée dans du polysorbate 80 et diluée dans du bouillon Mueller-Hinton. Les cultures de bouillon ont été ajoutées à une plaque à 96 puits. Les concentrations d'HE ajoutées aux suspensions variaient de 5,5 µL / ml à 111,1 µL / ml. La plaque de microdilution est incubée à $36 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 24 h et La croissance bactérienne est détectée par mesure de la densité optique à 630 nm dans un lecteur ELISA. Pour évaluer la viabilité cellulaire, 20 µL d'une solution alcoolique (0,5 mg/mL) de bromure de 3- (4,5-diméthyl-2-thiazolyl) 2,5-diphényltétrazolium (MTT) ont été ajoutés. Tous les tests ont été effectués en triple (Álvarez *et al.*, 2016).

I.4.3 Détermination de l'effet bactériostatique, bactéricide, ou fongicide

La détermination de l'effet bactéricide ou bactériostatique des HEs est réalisée en procédant un repiquage des zones d'inhibition formées et ne présentant aucune croissance bactérienne visible à l'œil nu sur milieu de culture (Bouhekrit, 2018).

I.4.3.1 Détermination de la CMI

La CMI (concentration minimal inhibitrice) est définie comme la concentration la plus faible en HEs qui a complètement inhibé la croissance des micro-organismes pendant 24 heures (Mohammed et Habil, 2015).

La détermination de CMI est réalisée par la technique citée précédemment (technique de la microdilution).

II. Résultats et discussion

I.5 Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Curcuma longa* L.

I.5.1 Méthode de diffusion sur disque

Partie expérimentale

D'après **Stanojević et al. (2015)** Les HEs des rhizomes secs de *C. longa* L. ont exercés un effet antimicrobien sur la majorité des micro-organismes étudiés. Une meilleure activité antimicrobienne a été observée sur *C. albicans*. De plus, l'inhibition était presque deux fois plus forte que la médication antifongique Nystatine - 31 mm contre 17 mm, respectivement (tableau 11).

Ces huiles présentent une activité antimicrobienne moins forte sur les bactéries Gram-négatives (une activité légèrement meilleure (18 mm) contre *K. pneumoniae* que l'antibiotique céphalosporine Cefalexin (13 mm)) par rapport aux Gram positives (*B. cereus* et *B. subtilis*), *B. subtilis* était plus sensible. Et aucune activité été montré sur *S. aureus*, *E. coli* et *L. monocitogenes*.

Antunes et al. (2012) ont montré que l'addition de l'acide ascorbique aux HEs de *C. longa* L. est une alternative a fin d'augmenter leurs activités contre *L. monocitogenes*.

Tableau 11: activité antimicrobienne des huiles essentielles des rhizomes sec de *C. longa* L. (Stanojević et al., 2015).

microorganismes	HE (mm)	Antibiotiques (mm)			
		Ampicilline	Bacterim	Cefalexin	Nystatine
<i>Candida albicans</i>	31	n. t.	n. t.	n. t.	17
<i>Proteus vulgaris</i>	15	13,2	22,9	n. t.	n. t.
<i>Bacillus cereus</i>	17	n. t.	n. t.	n. t.	n. t.
<i>Bacillus subtilis</i>	24	n. t.	n. t.	48	n. t.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	18	n. t.	n. t.	13	n. t.
<i>Staphylococcus aureus</i>	p. a.	36,7	42,1	26	n. t.
<i>Escherichia coli</i>	p. a.	p. a.	15,0	26	n. t.
<i>Listeria monocitogenes</i>	P. a.	n. t.	n. t.	34	n. t.

P. a : pas d'activé ; **N. t**: non traité : Diamètre de disque 12.7 mm

En 2015 Tefiani a étudié l'effet antibactérien des HEs des rhizomes de *C. longa* L. par la méthode de disque et enregistré des zones d'inhibitions avec un maximum de 12 mm en contact d'*Escherichia coli* ATCC 25922 qui s'est montrée la plus sensible suivie par *Escherichia coli* ECL 6611 (11.8 mm) puis par *Escherichia coli* ECL 3463 (10.7 mm). Par contre les Staphylocoques ce sont montré moins sensibles, sans enregistrer une différence significative ($P < 0.05$), avec des zones d'inhibition de l'ordre de 9.26 mm pour *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 et de 8.93 pour *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Les résultats obtenus par Goncalves *et al.* (2019) et représenté dans le tableau 13 ont montré que aussi les HEs des rhizomes frais de *C. longa* L. ont exercés un effet antibactérien contre tous les souches étudiées (Gram positives et Gram négatives).

À partir des résultats obtenus dans cette expérience effectuée par Acevedo *et al.* (2017) (tableau 12) et (**figures 28, 29 et 30**), nous avons remarqué que les HEs des rhizomes frais manque d'activité antimicrobienne contre *E. coli* pour les dilutions 25% et 50% et que les souches avec une plus grande zone d'inhibition était *Candida albicans*, une différence significatif a été obtenue , ce qui signifie que plus la concentration du composé est élevé, plus la croissance de *C. albicans* est moindre.

Avec cela, il a été démontré que l'HE de *C. longa* L. inhibe la croissance *in vitro* de la bactérie *Staphylococcus aureus* et la levure *C. albicans*. Cependant, il n'a pas inhibé la croissance d'*E. coli*.

Tableau 12: Effet de l'huile des rhizomes de *C. longa* L. sur la croissance bactérienne d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* (Acevedo *et al.*, 2017).

Souche	HEs de <i>Curcuma longa</i> L.			
	Dilution (%)	ZI 1(mm)	ZI 2(mm)	Moyenne (mm)
<i>Escherichia coli</i>	100	5	4	4,5
	50	-	-	-
	25	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	9,5	10,5	10
	50	9,8	9,5	9,65
	25	8,5	8,9	8,7
<i>Candida albicans</i>	100	19	18	18,5
	50	13	15	14
	25	11	12	11,5

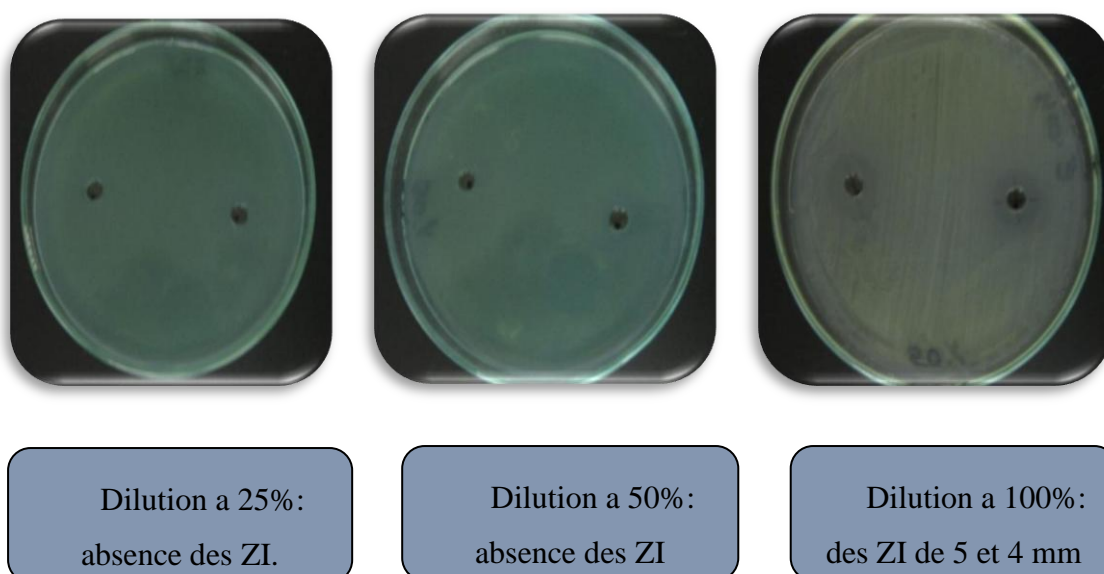


Figure 28 : Résultats de l'aromatogramme de *Escherichia coli* (Acevedo *et al.*, 2017).

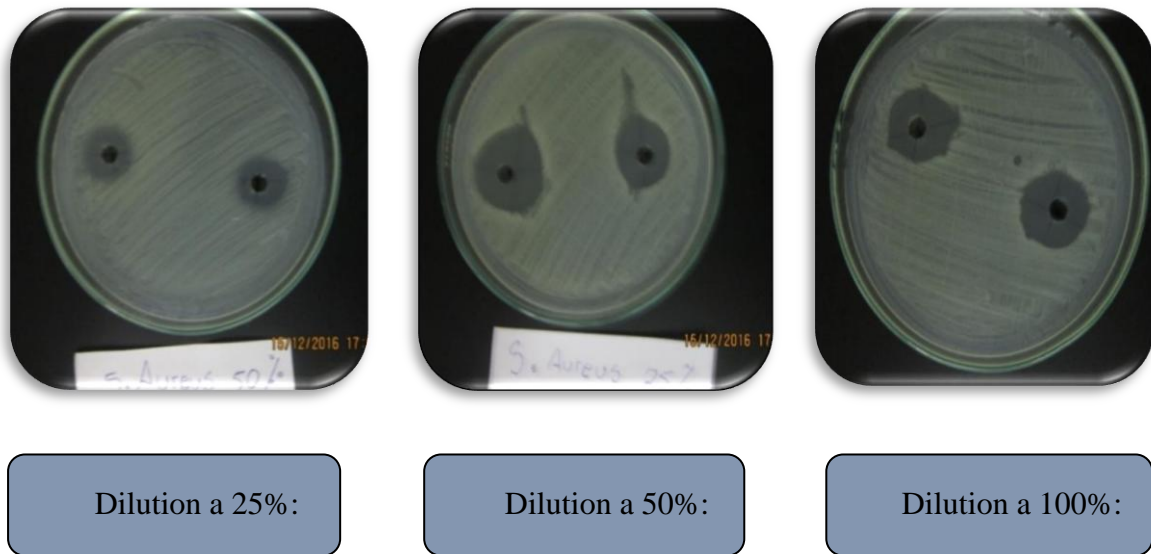


Figure 29 : Résultats de l'aromatogramme de *Staphylococcus aureus* (Acevedo *et al.*, 2017).

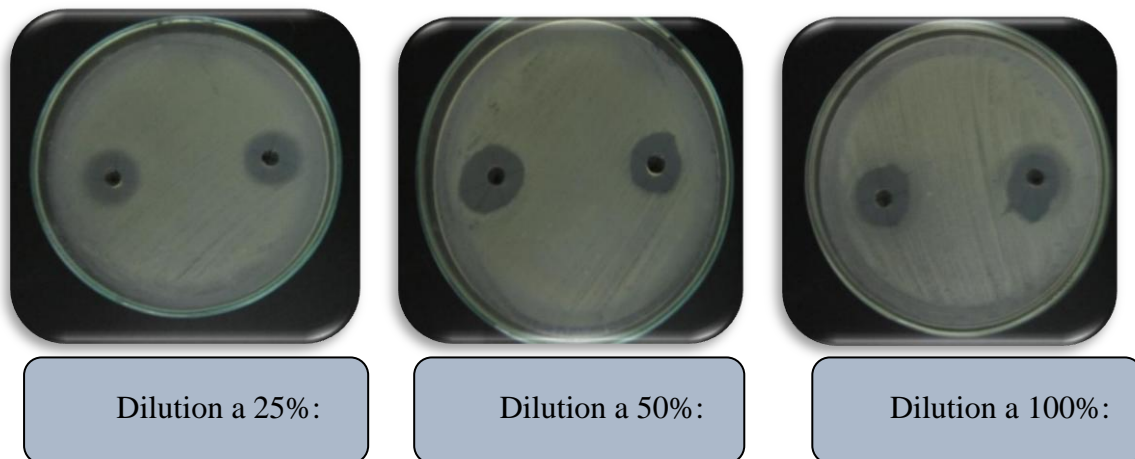


Figure 30 : Résultats de l'aromatogramme de *Candida albicans* (Acevedo *et al.*, 2017).

I.5.2 Microdillution

Dans ce teste de microdillution, le tableau 13 confirme les résultats obtenus par la méthode de diffusion sur gélose par l'obtention de CMI déférente pour les souches étudiées. Il s'agit d'un résultat important, étant donné que certaines de ces bactéries sont multirésistantes (*P. aeruginosa*) et donc il est difficile à combattre avec une thérapie conventionnelle.

Tableau 13: Zones d'inhibition de croissance (mm) et concentration minimale inhibitrice (CMI) (μl / mL) des HEs de rhizomes de *C. longa* L. contre une sélection de bactéries Gram-positives et Gram-négatives (Goncalves *et al.*, 2019).

Microorganismes	Zone d'inhibition (mm)	CMI ($\mu\text{l}/\text{ml}$)
<i>Staphylococcus aureus</i>	8,3 \pm 0,2	38,8
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9,0 \pm 0,4	50,0
<i>Escherichia coli</i>	8,0 \pm 0,3	44,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9,3 \pm 0,2	27,7

Suite aux résultats obtenus par Álvarez *et al.* (2016) et indiqués dans le tableau 14 qui a été construit avec l'absorbance obtenue dans le programme Microsoft Excel, exprime les résultats sous forme de moyennes \pm écarts-types. L'effet des concentrations des extraits sur la croissance des micro-organismes a été déterminé avec le pourcentage de réduction de la croissance bactérienne (% RC) proposé par Sandasi *et al.* (2010) et ajusté par les auteurs, comme suit:

$$\% \text{ RC} = [(CC - CE) - (ATC - CE)] * 100 / (CC - CE)$$

- % RC : le pourcentage de réduction de la croissance bactérienne
- CC : l'absorbance obtenue pour le contrôle de la croissance
- CE: est l'absorbance obtenue pour le contrôle de la stérilité
- ATC : est l'absorbance obtenue pour une certaine concentration de l'extrait
- CC-CE : exprime la croissance réelle des bactéries
- ATC-CE la croissance réelle des bactéries à une certaine concentration de l'extrait.

Tableau 14 : Absorbances obtenues par la méthode de microdilution (Álvarez *et al.*, 2016).

Les bactéries	Code	C. croissance	100 ppm	500 ppm	1 000 ppm	C. stérilité
<i>S.aureus</i> ATCC	Sa ATCC 43300	0,659 ± 0,062	0,556 ± 0,027	0,553 ± 0,007	0,517 ± 0,006	0,233 ± 0,004
<i>S. aureus</i>	Sa ATCC 25923	0,879 ± 0,078	0,656 ± 0,046	0,630 ± 0,025	0,618 ± 0,030	0,269 ± 0,008
<i>S. aureus</i>	Sa ATCC 29213	0,692 ± 0,052	0,674 ± 0,086	0,625 ± 0,030	0,591 ± 0,058	0,334 ± 0,089
<i>E. coli</i>	Ec ATCC 25922	0,867 ± 0,029	0,848 ± 0,013	0,787 ± 0,033	0,737 ± 0,010	0,252 ± 0,009
<i>E. coli</i>	Ec (AII)	1 095 ± 0,025	1 103 ± 0,007	1 019 ± 0,020	0,909 ± 0,098	0,254 ± 0,005
<i>E. coli</i>	Ec (AI)	0,675 ± 0,069	0,654 ± 0,016	0,649 ± 0,051	0,597 ± 0,017	0,252 ± 0,009
<i>Proteus sp.</i>	Proteus (AI)	1 028 ± 0,014	0,923 ± 0,036	0,875 ± 0,019	0,817 ± 0,031	0,269 ± 0,005
<i>Bacillus sp.</i>	B (AI)	0,818 ± 0,027	0,637 ± 0,044	0,582 ± 0,052	0,504 ± 0,100	0,252 ± 0,009
<i>K. pneumoniae</i>	Kp (AI)	0,975 ± 0,015	0,926 ± 0,016	0,804 ± 0,039	0,668 ± 0,036	0,263 ± 0,014
<i>K. pneumoniae</i>	Kp (AII)	1 113 ± 0,011	1 109 ± 0,027	1 105 ± 0,039	0,786 ± 0,125	0,264 ± 0,005
<i>Salmonella sp.</i>	S (AI)	0,953 ± 0,036	0,929 ± 0,021	0,900 ± 0,045	0,897 ± 0,014	0,267 ± 0,009
<i>P. aeruginosa</i>	Pa ATCC 27853	1 291 ± 0,150	1 246 ± 0,067	1 118 ± 0,141	1 006 ± 0,056	0,249 ± 0,002

C. croissance: contrôle de la croissance, **C. stérilité:** contrôle de la stérilité.

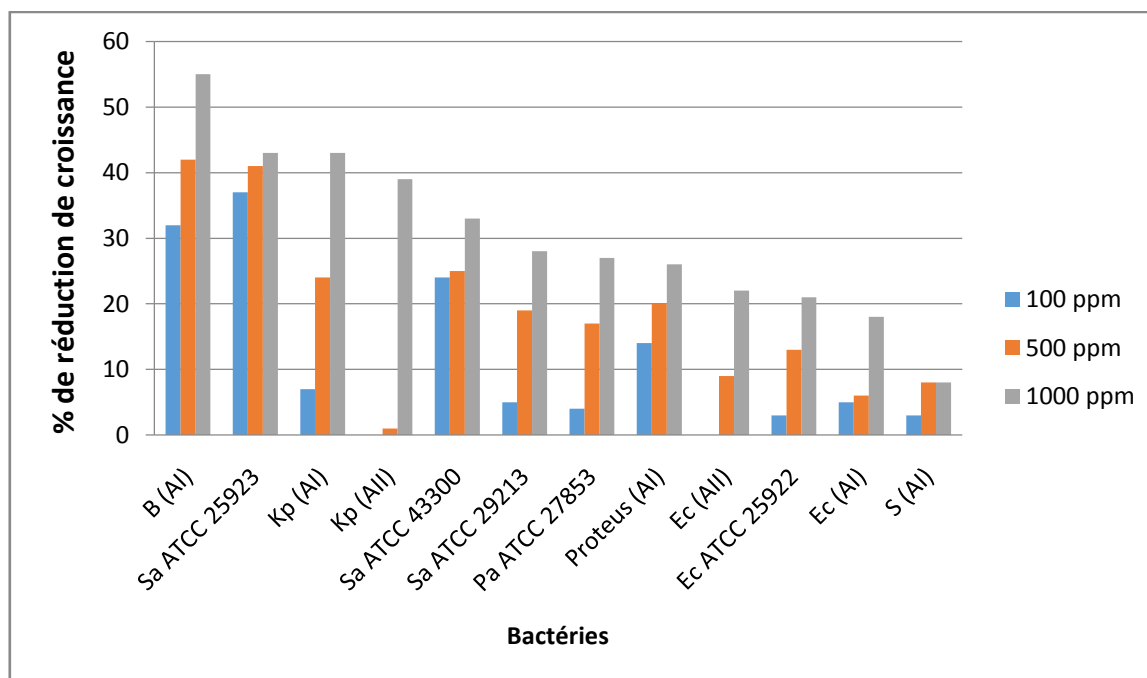


Figure 31: Pourcentages de réduction de la croissance bactérienne obtenus avec les HES de rhizomes de *C. longa* L. (Álvarez *et al.* 2016).

En général, il est observé que lorsque la concentration de l'HE augmente, une diminution d'absorbances se produit (**figure 31**) reflétant un (%RC). Et ce n'est qu'à une concentration de 1000 ppm qu'elle a montré un % RC supérieur à 50% contre un isolat clinique du genre *Bacillus* [B (AI)]. À cette concentration les % RC les plus élevés ont été obtenus contre le reste des micro-organismes utilisés, mettant en évidence des pourcentages de 43, 43, 39 et 33% contre *S. aureus* ATCC 25923, *K. pneumoniae* [Kp (AI) et Kp (AII)] et *S. aureus* ATCC 43300, respectivement. Des pourcentages plus faibles ont été obtenus avec le reste des bactéries.

Pour la méthode d'aromatogramme et selon Duraffourd *et al.* (1990) la sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égale à 8 mm. La sensibilité est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm. Elle est moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm le germe est très sensible.

D'après ce constat, et les résultats obtenus on peut dire que l'activité antimicrobienne des HES des rhizomes de *C. longa* L. est principalement une activité antifongique contre *C. albicans* avec des zones d'inhibition de 18 à 31 mm (le germe est très sensible).

Il ressort, ces résultats obtenue nous indique clairement que l'HE a été plus efficace sur les bactéries à coloration de Gram positive représentées par *Staphylococcus* sp et *Bacillus* sp, comparé aux bactéries à coloration de Gram négative. Ces dernières sont résistantes grâce à la présence de protéines membranaires extrinsèques ou de lipopolysaccharides de la paroi cellulaire, avec la capacité de limiter le taux de diffusion des composés hydrophobes à travers la membrane cellulaire (plus complexe, à double couche - lipopolysaccharide) **(Tongnuanchan et Benjakul, 2014)**

De l'autre côté, L'absence de cette barrière chez les bactéries à coloration de Gram positives permet le contact direct des constituants hydrophobes de l'HE avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire provoquant ainsi soit, une augmentation de la perméabilité des ions et la fuite des constituants intracellulaires vitaux soit une déficience au niveau du système enzymatique **(Bouhekrit et al., 2016 ; Sadou et al., 2015)** .

L'activité antibactériennes de l'extrait éthanolique et de l'HE de cette espèce est liée a l'effet synergique entre les différents composants chimiques des extraits et / ou par la présence d'autres composants qui peuvent même être actifs à de faibles concentrations **(Soković et al., 2010)**. Et plusieurs autres variables qui influencent les résultats sont la composition des HE, la méthode d'essai antimicrobienne utilisées. De plus, les critères standards pour l'évaluation de l'activité des HEs végétales font défaut et les résultats obtenus par différents auteurs sont donc très différents **(Stanojević et al., 2011)** .

En 2009 Allawi *et al.* ont montré que les HEs de *C. longa* L. possèdent une activité antimicrobienne significative a très faible concentration 40µg /disque est associée a la présence de groupement hydroxyle et phénol.

Hu *et al.* (2015) ont vérifié et identifié trois composés volatils (l'eucalyptol, le bêta-pinène et le camphre) comme les composés antifongiques les plus puissants par leur contribution plus élevée pour le contrôle de la contamination par *A. flavus*.

Les HEs de *C. longa* L. possèdent un effet inhibiteur à 50% contre une autre souche à coloration de Gram positive (*Enterococcus faecalis*) par leur pourcentage élevé en sesquiterpènes oxygéné **(Coy et Acosta, 2013)**.

Partie expérimentale

L'étude réalisée par Essien *et al.* (2015) montrée que les HEs extraites des feuilles de *C. longa* L. du sud de Nigeria sont riches en α -turmérone et possèdent une activité biologique puissante (antibactérienne, antifongique et cytotoxique). Selon Hans *et al.* (2016) une concentration à 100% d'HE de cette espèce montre une activité antibactérienne contre *Porphyromonas gingivalis*.

Selon la bibliographie les HEs de *C. longa* L. ont montré une puissante activité antibactérienne contre *Helicobacter pylori*, *Bacillus cereus*, *B. coagulans*, *Vibrio parahaemolyticus* et *Proteus mirabilis*. Ils ont également représentés de puissants effets antifongiques contre *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. parasiticum*, *Rhizoctonia solani*, *Helminthosporium oryzae*, *Trichoconis padwickii*, *Curvularia lunata*, *C. pallescens*, *C. trifolii*, *Fusarium verticillioides*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *Penicillium digitatum*, *Alternaria dianthi*, *Trichophyton longifusus* et *Colletotrichum falcatum*. De plus, les HEs *C. longa* L. auraient une activité antiaflatoxigène (**Dosoky et Setzer, 2018**).

Les métabolites actifs des plantes peuvent présenter leur effet antimicrobien par la dégradation de la paroi cellulaire, la perturbation de la membrane cytoplasmique, la sortie des composants cellulaires, des altérations dans la synthèse de l'ADN et de l'ARN, dans le transport des électrons et dans l'absorption des nutriments affectant la production d'énergie et modifiant les constituants des acides gras et des phospholipides (**Acevedo et al., 2017**). Les activités substantiellement antifongiques des HEs de *Curcuma* sur la croissance mycélienne, la germination des spores et la production d'aflatoxines. En outre, la perturbation du système endomembranaire des cellules fongiques, y compris la membrane plasmique et les mitochondries, en particulier à savoir l'inhibition de la synthèse de l'ergostérol, de l'ATP ase mitochondriale, de la malate déshydrogénase et des activités de la succinate déshydrogénase. De plus, les profils de régulation négative des HEs de *Curcuma* sur l'expression relative des gènes de mycotoxines dans la voie de biosynthèse de l'aflatoxine ont révélé son mécanisme anti-aflatoxigène (**Hu et al., 2017**).

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales resteront toujours une source fiable connue par leurs intérêts pharmaceutiques. Face à la recrudescence des résistances aux ATB (Antibiorésistance).

L'objectif de notre étude s'inscrit dans la recherche de nouvelles biomolécules comme des alternatives thérapeutiques pour éliminer les bactéries multirésistantes. Par l'exploitation des HEs des rhizomes secs de la plante *C. longa* L.

Dans le premier volet de travail, nous avons procédé à l'extraction des HEs des rhizomes sec de *C. longa* L. par hydrodistillation dans un appareil de type Cleavenger, avec un rendement en HEs de 0.86%.

Le deuxième volet, consiste a la mise en évidence *in vitro* de l'activité antimicrobienne de ces HEs vis-à-vis des microorganismes pathogènes par la méthode d'aromatogramme et la microdillution. Les résultats obtenus par Stanojević *et al.* (2015) ; Álvarez *et al.* (2016) ; Acevedo *et al.* (2017) ; Goncalves *et al.* (2019) indiquent clairement une meilleur activité antimicrobiennes des HEs de *C. longa* L. est antifongique contre *C. albicans*. Et même antibactériennes contre le genre *Staphylococcus* et *Bacillus* qui pourraient être utilisés dans de futures recherches comme alternative thérapeutique pour le traitement des infections causées par des pathogènes nosocomiaux.

Afin d'approfondir les aspects entrevus dans ce travail un certains nombres de perspectives peuvent être envisagés :

- ✓ Testant d'autres méthodes d'extraction et leurs influences sur le rendement et la composition chimique des HEs, et l'identification des composés responsables des différentes activités biologiques et l'élaboration de la relation structure activité.
- ✓ Il serait également très instructif d'explorer l'effet isolé et synergique des différents constituants des huiles essentielles de cet espèce.
- ✓ Etudiant les mécanismes d'action et les facteurs influençant l'efficacité des HEs.
- ✓ Elargissant la gamme des microorganismes testés.

Références

Bibliographiques

Référence bibliographique

A

Abdelli W. (2017). Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*). Thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. Algérie.178p.

Acevedo A., Willian Y., Toribio G. et Paolo C. (2017). Détermination de la actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial extraido de la raiz de *Curcuma longa* L. (curcuma) en *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Thèse de doctorat : Université national de Trujillo (Peru). 28 P.

Allawi S. S., Auda J.M., Hameed H.Q. et Tagreed I. A. (2009). The effect of *Curcuma longa* (Turmeric) rhizomes extracts on pathogenic bacteria In comparison with standard antibiotics. J. of Biotechnology Research Center, Vol. 3 (1), p: 15-20.

Álvarez N.M., Ortíz A.A. and Martínez O.C. (2016). Actividad antibacteriana *in vitro* de *Curcuma longa* (Zingiberaceae) frente a bacterias nosocomiales en Montería, Colombia. J. Revista de Biologia Tropical, Vol. 64 (3), p: 1201-1208.

Antunes S.A., Robazza W.D.S., Schittler L. et Gomes G.D.A. (2012). Synergistic and antimicrobial properties of commercial turmeric (*Curcuma longa*) essential oil against pathogenic bacteria. J. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, vol. 32(3), p:: 525-530.

Aouraghe S. (2016). Les infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* au service de réanimation al (à propos 30 cas). Thèse de doctorat. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Fes .Maroc.126p.

Arabi A. (2018). Effet antimicrobien des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L. sur quelques espèces bactériennes multirésistantes de la microflore digestive humaine. Thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis -Mostaganem .Algérie. 158p.

Attou S.E. et Boukhari F. (2013). Enquête ethnobotanique et étude phytochimique et évaluation de quelques activités biologiques de *Curcuma longa* Linné. Mémoire de master. Université Saad Dehleb-Blida 1. Algérie. 68p.

Aubert E. (2016). Prise en charge thérapeutique de l'acné : place de l'aromathérapie à l'officine. Thèse de doctorat .Université de Poitiers. France. 111.

Autard M. (2017). Place et intérêt de l'aromathérapie en cancérologie. Thèse de doctorat. Université de Marseille. France.134.

B

Battraud P. (2017). La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité ? .Thèse de doctorat. Université de Lille 2. France. 128p.

Benalia Y. (2018).Valorisation des ressources végétales steppiques par l'étude des huiles essentielles. Cas: *Marrubium deserti* De Noé. Mémoire de magister. Université de Ferhat Abbas –Sétif. Algérie.102p.

Benayad N. (2013). Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytes isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse. Thèse de doctorat. Université Mohammed V – Agdal. Maroc.186p.

Bencheikh S. (2017). Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium ssp Aurasianum Labiatae* .Thèse de doctorat .université Kasdi Merbah – Ouargla. Algérie. 98p.

Benjilali B. (2004). Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. *Le pharmacien du Maghreb*.17-59.

Benmeddour T. (2016). Etude de l'activité biologique de quelques espèces végétales dans la région de Aurès et au nord du Sahara algérien. Thèse de doctorat. Université de Ferhat Abbas Sétif 1. Algérie. 152p.

- Bessah R., Benyoussef E. (2015).** La filière des huiles essentielles état de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. *Revue des Energies Renouvelables* .Vol. (18) 513 – 528.
- Bey –ould si Said Z. (2014).** Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale *Eucalyptus globulus* .Mémoire de Magister. Université Abderrahmane Mira – Bejaïa .Algérie .64p.
- Bocquet L. (2018).** Les composés phénoliques du houblon, *Humulus lupulus* L. : Lutte contre la résistance microbienne et perspective industrielles. Thèse de doctorat. Université de Lille. France.
- Bouchaala M. (2018).** Etude phytochimique, caryologique et activités biologiques des huiles essentielles du genre *Helichrysum* Auct. Plur. de l'Est Algérien. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1. Algérie. 155p.
- Bouhekrit M. (2018).** Etude de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles de deux apiaceae *Elaeoselinum asclepium* (L.) bertol. Et *Margotia gummifera* (desf.) lange. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1. Algérie. 159p.
- Bouhekrit M., Laouer H., Hajji M., Nasri M., Haroutounian S. A., et Akkal S. (2016).** Essential oils from *Elaeoselinum asclepium*: Chemical composition, antimicrobial and antioxidant properties. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(10), 851- 857.
- Boughendjioua H. (2015).** Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau. Composition chimique, activité antioxydant et antimicrobienne des huiles essentielles de *Citrus limon*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Thymus numidicus*. Thèse de doctorat. Université Badji-Mokhtar - Annaba. Algérie. 187p.
- Bouguenoun W. (2017).** Étude de la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les infections nosocomiales et leur dissémination dans l'environnement hospitalier de la région de Guelma. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar -Annaba. Algérie. 139p
- Bouhaddouda N. (2016).** Activités antioxydant et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie.167p.

Boukhatem M.N., Ferhat A. et Kameli A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. J. *Revue Agrobiologia*, vol. 9(2), P: 1653-1659.

Boulechfar S. (2014). Valorisation des Substances Bioactives à Activités Pharmacologiques à partir de deux Asteraceae: *Aster squamatus* (Spreng.) Hieron et *Hertia cheirifolia* (L.) O.K. thèse de magister .Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi. Algérie. 130p.

Boumaza S. (2019). Evaluation de l'effet des extraits flavonoïques et des huiles essentielles d'*Euphorbia guyoniana* sur les bactéries pathogènes d'origine tellurique. Thèse de doctorat. Université m'Hamed bougara- Boumerdes. Algérie. 126.

Bourachot M. (2017). Traitement des mammites chez la vache laitière : l'aromathérapie, état des lieux et perspectives. Thèse de doctorat. Université Claude-Bernard - Lyon I. France.112p.

Bourkhiss M., Chaouch A., Ouhssine M., Bourkhiss B. et Rassam A. (2015). Etude physicochimique de l'huile essentielle de *tetraclinis articulata* (VAHL) masters du plateau central marocain. Les technologies de laboratoire. Vol. 9 (37) : 1-7.

Boutabia L., Telailia S., Bouguetof I., Guenadil F. et Chefrou A. (2016). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, Vol. 85, p. 174 - 189.

Bouzid D. (2018). Evaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysum italicum* (Roth) G. DON. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1. Algérie. 105p.

Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review, *International Journal of Food Microbiology*, 94. 223 - 253.

C

Cazau-beyret N. (2013). Prise en charge des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie. Thèse de doctorat. Université Toulouse III Paul Sabatier France. 94 p.

Chaib F. (2018). Etude de quelques plantes sahariennes de Tamanrasset « El-Hoggar » : Extraction, Identification et Activités Biologiques des Huiles Essentielles. Thèse de doctorat. Université d'Oran Ahmed Ben Bella. Algérie. 173p.

Channi M. (2016). Etude comparative de la composition chimique de l'activité biologique des huiles essentielles des feuilles du basilic *Ocimum basilicum* L. extraite par hydrodistillation et par micro-onde. Thèse de doctorat. Université d'Oran Ahmed ben Bella, Algérie. 166p.

Cheikh-Ali Z. (2012). Études chimiques et biologiques d'*Aframomum sceptrum* (Zingiberaceae) et de la curcumine. Thèse de doctorat. Université Paris-Sud. France. 153p.

Chouitah O. (2012). Composition chimiques et activité antimicrobienne des huiles essentielles de feuillet de *Glycyrrhizaglabra*. Thèse de doctorat. Université d'Oran. Algérie. 288p.

Cosgrove, S.E., G.A. Vighiani, Jr. V.G. Fowler, E. Abrutyn and G.R. Corey (2009). Initial low-dose gentamicin for *Staphylococcus aureus* bacteraemia and endocarditis is nephrotoxic. Clin. Infect. Dis., 48:713-721.

Coustès T. (2016). Loi d'avenir agricole, réglementation du médicament vétérinaire et lutte contre l'antibiorésistance. Thèse de doctorat. École nationale vétérinaire d'Alfort. France. 100p.

Coy, C. et Acosta, E. (2013). Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(2),37-46

D

Delaveau P., 1987. Les épices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. Paris. Albin Michel. 130-136.

Deschepper R. (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de doctorat : université de Marseille (France).160p.

Dosoky N.S. et Setzer W.N. (2018). Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of Curcuma Species. *J. Nutrients*, vol.10, p : 1196.

Duraffourd C., D'Hervicourt L., Lapraz J. C. (1990). Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris.

Duval L. (2012). Les Huiles Essentielles à l'officine. Thèse de doctorat. UFR de médecine et de pharmacie de Rouen. (France) 153p.

E

El amri J., Elbadaoui K., Zair T., Bouharb H., Chakir S. et Alaoui T. (2014). Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L. et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testées. *Journal of Applied Biosciences* 82:7481–7492.

El bouamri M. (2017). Etude épidémio-moléculaire des entérobactéries productrices de β lactamases a spectre elargi au chu de Marrakech. Thèse de doctorat. Université Mohammed – Rabat. Maroc. 144p.

El haïb A. (2011). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse de doctorat. Université Toulouse III - Paul Sabatier. France.158p.

El haimer F. (2019). Statistiques de traitement antibiotique des infections a bacteries multirésistantes. Thèse de doctorat. Université de Mohammed V de Rabat. Maroc.123p.

Essien E.E., Newby J.S., Walker T.M. et Setzer W.N. (2015). Chemotaxonomic Characterization and *in-Vitro* Antimicrobial and cytotoxic Activities of the Leaf Essential Oil of *Curcuma longa* Grown in Southern Nigeria and Olusegun Ekundayo. *J. Medicines*, vol. 2, p:340-349.

F

Fadil M., Farah A., Ihssane B., Haloui T. et Rachiq S. (2015). Optimisation des paramètres influençant l'hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* L. par la méthodologie de surface de réponse Optimization of parameters influencing the hydrodistillation of *Rosmarinus officinalis* L. by réponse surface methodology. *J. Mater. Environ. Sci.*, vol. 6 (8) p.: 2346-2357.

Francois D., Edouard B., Christian M., Maric C. et Renald. (2007). Bactériologie médical: technique usuelles .2 end édition .Elsevier Masson .274P.



Gajanan G.V., Milind G.M. and Adhikrao Y. (2017). Study of metabolic leaves extract of *curcuma longa* as an anti-solar. Current research in pharmaceutical sciences. Vol. 07(03): 87-90.

Gaouji A. (2016). Étude synthétique des mécanismes d'action des plantes médicinales utilisées dans le traitement de l'asthme. Thèse de doctorat .Université Mohammed V-Rabat. Maroc.187p.

Gayda A. (2013). Étude des principales huiles essentielles utilisées en rhumatologie .Thèse de doctorat. Université Toulouse III Paul Sabatier. France.110 p.

Ghayati Z. (2019). Oxydants et diabète de type 2. Thèse de doctorat. Université Mohammed V. Rabat. MAROC.127p.

Goel A., Kunnumakkara A.B. and Aggrawal B.B. (2008). Curcumin as Curcumin from Kitchen to clinic. Biochemical pharmacology: 75(4): 787-809.

Goncalves G.M.S., Barros P.P., Silva G.H.D. et Fedes G.R. (2019).The essential oil of *Curcuma longa* rhizomes as an antimicrobial and its composition by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. J. Rev. Cienc. Med., vol. 28(1), p: 1-10.

Goudjil M.B., Ladjel S., Bencheikh S. E. et Zighmi S. (2015). Influence du séchage sur le rendement de l'extraction des huiles essentielles de *Mentha piperita*. 5^{ème} Séminaire Maghrébin sur les Sciences et les Technologies du Séchage (SMSTS'2015) Ouargla (Algérie).

Gounder D.K. et Lingamallu J. (2012).Comparison of chemical composition and antioxidant potential of volatile oil from fresh dried and cured turmeric (*Curcuma longa*) rhizomes. Industrial Crops and Products. Vol. 38, p: 124– 131.

Grugeau C. (1995). *Curcuma longa* L. (Zingibéracées).Thèse de doctorat. Université de Limoges. France.136p.

Guillouty A. (2016). Plantes médicinales et antioxydants. Thèse de doctorat. Université Toulouse III Paul Sabatier. France.101p.

Guinoiseau E. (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat. Université de Corse-Pascale Paoli. France.143.

H

Habbachi W., Benhissen S., Ouakid M. L., et Farine J. P. (2013). Effets biologiques d'extraits aqueux de *Peganumharmala* (L.)(Zygophyllaceae) sur la mortalité et le développement larvaire de *Drosophila melanogaster* (Diptera-Drosophilidae). Algérien journal of arid environment, vol.3(1), 82-88.

Hans V.M., Grover H.S., Deswal H. et Agarwal P. (2016). Antimicrobial Efficacy of Various Essential Oils at Varying Concentrations against Periopathogen *Porphyromonas gingivalis*. J. of Clinical and Diagnostic Research, Vol-10 (9), P: 16-19.

Harkins C.P., Pichon B., Doumith M., Parkhill J., Westh H., Tomasz A., de Lencastre H., Bentley S.D., Kearns, A.M. et Holden M.T.G. (2017). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* emerged long before the introduction of methicillin into clinical practice. Genome Biol. 18, 130.

Hay Y.O.M. (2015). La complexité des simples - caractérisations chimique et biologique de combinaisons hydrolats-huiles essentielles et huiles essentielles-huiles essentielles pour l'objectivation d'effets conservateurs de produits phytothérapeutiques. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. France. 187p.

Herzi N. (2013). Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles. Thèse de doctorat : Université de Toulouse (France). 185 p.

Hikmat U.J., Malik A.R., and Zabta K .S. (2012). Estimation of genetic variability in turmeric (*curcuma longa* l.) germplasm using agro-morphological traits. *Pak. j. bot.*, 44: 231-238.

Himed L. (2018). Évaluation des activités biologiques des huiles essentielles du citron (*Citrus limon*): encapsulation et application comme agent conservateur à la margarine allégée. Thèse de doctorat. Université frères Mentouri Constantine 1. Algérie. 105p.

Hnich H. (2017). La résistance bactérienne : mécanismes et méthodes de détection au laboratoire. Thèse de doctorat. Université de Sidi Mohamed Ben Abdellah. Maroc. 148.

Hombourger C. (2010).Curcuma, De l'épice au médicament. Thèse de doctorat. Université Henri Poincare - Nancy 1. France. 206p.

Hu Y., Luo J., Kong W., Zhang J., Logrieco A.F., Wang X. et Yang M. (2015). Uncovering the antifungal components from turmeric (*Curcuma longa* L.) essential oil as *Aspergillus flavus* fumigants by partial least squares. J. RSC Advances, vol. 5, p: 41967-41976.

Hu Y., Zhang J., Kong W., Zhao G. et Yang M. (2017). Mechanisms of antifungal and anti aflatoxigenic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*. J. Food Chemistry 220, vol. p: 1-8.

I

Itokawa H., Shi Q., Akiyama T., Morris-Natschke S. and Lee K.H. (2008). Recent advances in the investigation of curcuminoïdes. Chinese Medicine. 1-13.

J

Jacqueline S. (2009). Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments (LCSNSA). Université de La Réunion. Colloque GP3A -Tananarive 2-3.

Jandi M. (2017). Plantes médicinales en dermatologie et en cosmétologie : Enquête auprès des herboristes de la région de Béni Mellal. Thèse de doctorat. Université Cadi Ayyad. Marrakech. Maroc.128p.

Jansen P.C.M., Grubben G.J.H. et Cardon D. (2005): Ressources végétales de l'Afrique tropicale 3. Colorants et tanins. Wageningen, Pays-Bas : PROTA. P.238.

Jourdan J.P. (2015).Curcuma et curcumine, de l'histoire aux intérêts thérapeutiques. Thèse de doctorat. Université de Caen. France.133p.

K

Kada S. (2018).Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1. Algérie. 130p.

Kakupa DK., Muenze PK., Byl B. et Wilmet MD. (2016). Study of the prevalence of nosocomial infections and associated factors in the two university hospitals of Lubumbashi, Democratic Republic of Congo. *The Pan African Médical Journal*. Vol. (24).275.

Kenz E. (2017). Profil de résistance des bacteries aux antibiotiques dans le milieu extrahospitalier dans la ville de Kenitra. Thèse de doctorat. Université Mohammed v – Rabat. Maroc. 77.

Kouch M. (2015). Etude phytochimique et biologique d'une espèce végétale endémique Algérienne « *Thymus numidicus* Poiret ». Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie.148.

L

Lakhdar L. (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* : étude *in vitro*. Thèse de doctorat. Université Mohamed Elkhames Rabat, Maroc. 164p.

Lal J. (2012). Turmeric, Curcumin and Our Life: A Review. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*. Vol. 1(7): 11 – 17.

Lamamra M. (2018). Activités biologiques et composition chimique des huiles essentielles d'*Ammiopsis aristidis* Coss. (Syn. *Daucus aristidis* Coss.) et d'*Achillea santolinoïdes* Lag. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie. 157p.

Laurent J. (2017). Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse de doctorat. Université Paul Sabatier Toulouse III, France.219p.

Lboumhamdi A., Znini M., Paolini J., Costa J. et Majidi L. (2018). Composition chimique et biocontrôle de l'huile essentielle des graines de céleri (*Apium graveolens* L.) contre *Botrytis cinerea* après la récolte des pommes. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*. 2429-5396.

Lonchamp E. (2002). *Curcuma domestica* V. (Zingibéracées).Thèse de doctorat. Université Joseph Fourier. France. 91p.

Lopez, A., Hudson, J. B., Towers, G. H. N. (2001). Antiviral and antimicrobial activities of Colombian medicinal plant. *Journal of Ethnopharmacology*, 77:189-196.

M

M'hiri N. (2015). Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydant des extraits des écorces de l'orange « Maltaise demi sanguine» et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone. Thèse de doctorat. Université de Lorraine. Tunis. 143p.

Mahmoudvand H., Pakravanan M., Aflatoonian M.R., Khalaf A.k., Niazi M., Mirbadie S.R., Kareshk A.T. et Khatami M. (2019). Efficacy and safety of *Curcuma longa* essential oil to inactivate hydatid cyst protoscoleces. J.BMC Complementary and Alternative Medicine.vol. 19: 87.

Mangin L. (2016). Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. Thèse de doctorat, université de Lorraine. France. 104p.

Mayer F. (2012).Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite. Thèse de doctorat. Université de Lorraine. France.98.

Mehalaine S. (2018). Etude de l'activité des huiles essentielles de quelques plantes médicinales et leur amélioration de leur production en culture *in vitro*. Thèse de doctorat. Université l'Arbi Ben m'Hidi Oum El Bouaghi. Algérie. 106.

Menaceur F. (2015). Contribution à l'étude phytochimique et biologique de l'érigéron, du fenouil commun, de la lavande et du genévrier. Thèse de doctorat. École nationale supérieure agronomique El-Harrach. Algérie. 221p.

Mennis N. (2019). Consommation des antibiotiques au service de réanimation A1. Thèse de doctorat, université de Sidi Mohamed Ben Abdellah. 167P.

Mirzaee F., Kooshk M.R.A., Rezaei-Tavirani M. and Khodarahmi R. (2014). Protective effects of accompanying proteins on light- and water-mediated degradation of Curcumin. *Journal of Paramedical Science (JPS)*. Vol. 5 (1).2008-4978.

Mnayer D. (2014). Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse de doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. France .142p.

Mohammed N.A. et Habil N. Y. (2015). Evaluation of antimicrobial activity of Curcumin against two oral bacteria Medical technology institute, Medical technical university (MTU), Baghdad, Iraq. J. Automation, Control and Intelligent Systems, vol. 3(2-1), p: 18-21.

Muther L. (2015). Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant. Thèse de doctorat. Université d'Auvergne. France.186p.

O

Orliac C. (2002). Le *Dieu rao* de Mangaréva et le *curcuma longa*. Journal de la société des océanistes 114-115.

Oyemitan I.A., Elusiyan C. A., Onifade A.O., Akanmu M. A., Oyedeji A. O. et McDonald A. G. (2017). Neuropharmacological profile and chemical analysis of fresh rhizome essential oil of *Curcuma longa* (turmeric) cultivated in Southwest Nigeria. J. Rapports de toxicologie, Vol. 4 , p: 391 – 398.

P

Pierron C. (2014). Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie gérontologie et soins palliatifs Thèse de doctorat. Université de Lorraine. France.256p.

Poirot T. (2016). Bon usage des huiles essentielles, effets indésirables et toxicologie. Thèse de doctorat. Université de lorraine. France. 87p.

R

Randrianarevilo R. (2010). Étude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar « *Cinnamosma fragrans* », alternative aux antibiotiques en crevette culture. Thèse de Doctorat: Université Antananarivo. 152 P.

Ravindran P.N., Nirmal Babu K. et Sivaraman K. (2007). Medicinal and Aromatic Plants Industrial Profiles: Turmeric: The Genus *Curcuma* CRC Press, Washintogton, PP: 484p.

Roman P. et Giovanni B. (2016). Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. Trends in Plant Science. Vol. 12 : 1000-1007.

Roy E. (2013). Les plants exotiques dans les cosmétiques: Réel intérêt ou effet marketing ?. Thèse de doctorat. Université de Nantes. France.134p.

S

Sadou, N., Seridi, R., Djahoudi, A., & Hadeif, Y. (2015). Composition chimique et activité antibactérienne des Huiles Essentielles des aiguilles de *Pinus halepensis* Mill. Du Nord est Algérien. *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 30(1), 33-39.

Sandasi M., Leonard C., et Viljoen A. (2010). The *in vitro* antibiofilm activity of selected culinary herbs and medicinal plants against *Listeria monocytogenes*. *Letters in applied microbiology*, 50(1), 30-35.

Sandeep I. S., Kuanar A., Akbar A., Kar B., Das S., Mishra A., Sial P., Naik P.K., Nayak S. et Mohanty S. (2016). Agroclimatic zone based metabolic profiling of turmeric (*Curcuma longa* L.) for phytochemical yield optimization. *Industrial Crops and Products*. Vol. 85, p: 229–240.

Shahid N. (2016). Valeur thérapeutique du curcuma. *Sources Vitales* 98. Laboratoire phytomisan (France).

Shawket D.S. (2013). Screening the antibacterial potency of *Curcuma longa* L.essential oil extract against boils causing *Staphylococcus* species. *I.J.A.B.R*, Vol. 3(4) p: 490-500.

Shiyou L., Wei Y., Guangrui D., Ping W., Peiying Y. and Bharat A. (2011). Chemical composition and product quality control of turmeric (*Curcuma longa* L.). *Pharmaceutical Crops*, 2, 28-54.

Shrishail D., Harish H. K., Ravichandra H., Tulsianand G. et Shruthi S.D. (2013). Turmeric: nature's precious medicine, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(3).10 -16.

Singh G., Kapoor I.P.S., Singh P., Heluani C. S., Lampasona M. P. et Catalan C.A.N. (2010). Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of fresh and dry rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* Linn.). *J. Food and Chemical Toxicology*, vol.48, P: 1026–1031.

Sirirugsa P., Larsen K. and Maknoi C. (2007). The Genus *Curcuma* L. (Zingiberaceae): Distribution and Classification with Reference to Species Diversity in Thailand. *Gardens' Bulletin Singapore*, vol. 59 (1&2): 203-220.

Soković M., Glamočlija J., Marin P., Brkić D. et van Griensven, L. (2010). Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *J. Molecules*, vol, 15(11), p: 7532-7546.

Srinivas L., Shalini V.K. et Shylajam D. (1992). Turmerin: a water soluble antioxidant peptide from turmeric (*Curcuma longa*). *Arch. Biochem. Biophys.* 292 (2): 617-623.

Stanković M. Z. et Stanojević L.J. P. (2014). Tehnologija lekovitog začinskog bilja, Tehnološki fakultet, Leskovac, p. 138.

Stanojević J.S., Stanojević L.P., Cvetković D.J. et Danilović B.R. (2015). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of the turmeric essential oil (*Curcuma longa* L.). J. Advanced technologies, vol. 4(2), p: 19-25.

Stanojević L.j., Stanković M., Cakić M., Nikolić V., Nikolić L.j., Ilić D. et Radulović N. (2011). The effect of hydrodistillation techniques on yield, kinetics, composition and antimicrobial activity of essential oils from flowers of *Lavandula officinalis* L., J. Hemijska Industrija, vol. 65(4), p: 455 - 463.

Suruchi G., Sanjana K., Baljinder S., Ram A. V. And Manoj K. D. (2016). Production of Gentisyl Alcohol from Phoma herbarum Entophytic in *Curcuma longa* L. and Its Antagonistic Activity Towards Leaf Spot Pathogen Colletotrichum gloeosporioides. Appl Biochem Biotechnol.

Sutour S. (2011). Étude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats. Thèse de doctorat. Université de Corse Pascal Paoli. France. 213p.

T

Taleb-Toudert K. (2015). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur le bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de doctorat : Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (Algérie). 160P.

Tasse J. (2017). L'apport de l'antibiofilmorgamme et de la mesure de la capacité de formation de biofilm dans la prise en charge des infections osteo-articulaires à staphylocoques. Thèse de doctorat. Université Claude Barnard Lyon 1. France. 243p.

Tassou C.C., Drosinos E.H. et Nychas GJE. (1995). Effects of essential oil from mint (*Menthapiperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4° and 10°C. J. Appl Microbiol 78:593–600.

Tefiani C. (2015). Les propriétés biologiques des huiles essentielles de *Curcuma longa*, *Ammoides verticillata* et *Thymus ciliatus* ssp. *eu-ciliatus*. Thèse de doctorat : Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, Algérie. 145 P.

Teles A.M., Da Silva Rosa T.D., Mouchrek A.N., Abreu-Silva A.L., Da Silva Calabrese K. and Almeida-Souza F. (2019). *Cinnamomum zeylanicum, Origanum vulgare, and Curcuma Longa* Essential Oils: Chemical Composition, Antimicrobial and Antileishmanial Activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Vol. 2019, 2421695-2421707.

Thomas A. (2016). L'utilisation des huiles essentielles chez le sportif. Thèse de doctorat. Université de Lorraine. France. 83p.

Tongnuanchan P. et Benjakul S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation, *Journal of Food Science*, 79(7), P: 1231 - 1249.

Touhami A. (2017). Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement. Thèse de doctorat. Université Badji-Mokhtar – Annaba .Algérie .134p.

Tran T. H., Nguyen P. T. N., Pham T. N., Nguyen D. C., Dao T. P., Nguyen T. D., Nguyen D.H., Vo D. V. N., Le X. T., Le N. T. H. et Bach L. G. (2016). Green technology to optimize the extraction process of turmeric (*Curcuma longa L.*) oils. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* p: 479.

Tsai S.Y., Huang S.G., Chyau C.C., Tsai C. H., Weng C.C. and Mau J.L. (2011). Composition and Antioxidant Properties of Essential Oils from Curcuma rhizome. *Asian Journal of Arts and Sciences*, vol. 2. 57-66.



Valgas C., Souza S., Smânia E., et Smânia J. (2007). Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38(2), 369-380.

Vangelder V. (2017). L'aromathérapie dans la prise en charge des troubles de sante mineurs chez l'adulte a l'officine. Thèse de doctorat. Université de Lille 2 .France.145p.

Vaquier A.R.L. (2010). Intérêt d'un nouveau nutriment a visée anti-inflammatoire dans la gestion de troubles locomoteurs chez le cheval. Aspects bibliographiques et étude clinique. École nationale vétérinaire d'Alfort. France.187p.

Velé H. (2015). Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments. Thèse de doctorat. Université Angers. France. 253p.

Villeneuve E. (2017). Place de la phytothérapie dans la prise en charge des douleurs articulaires chroniques à l'officine. Thèse de doctorat. Université de Limoges. France.160.

Υ

Yadav R.P. and Tarun G. (2017). Versatility of turmeric: A review the golden spice of life
Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 6(1): 41-46

Z

Zhang L., Yang Z., Chen F., Sua P., Chen D., Pan W., Fang Y., Dong C., Zheng X. et Du Z. (2017). Composition and bioactivity assessment of essential oils of *Curcuma longa* L. collected in China. *J. Industrial Crops and Products*, vol. 109 (15), p: 60–73.

Ziani S. et Moumen S I. (2019). Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie. Université Saad Dahleb –Blida. Algérie.130p.

Annexe

Annexe

Mueller Hinton gélosé (M-H) (g/l)

Extrait de viande.....	3 g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5 g
Amidon.....	1.5 g
Agar.....	16 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH = 7,3

Mueller Hinton bouillon (M-H) (g/l)

Hydrolysate acide de caséine	17,5 g
Infusion de viande	2,0 g
Amidon	1,5 g

Ph = 7,4 ± 0,2.

Bouillon BHI (Bouillon cœur-cerveille):

Extrait cœur-cerveille	17,5 g
Peptone pancréatique de gélatine	10,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Phosphate disodique	2,5 g
Glucose	2,0 g

pH = 7,4

Gélose nutritive (GN) (g/l)

Peptone.....	10g
--------------	-----

Extrait de viande	3 g
Extrait de levure.....	3 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Agar.....	18 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH = 7,3 ± 0,2

Milieu Sabouraud

Dextrose	40,0 g
Digestat pancréatique de tissus animaux	5,0 g
Digestat pancréatique de caséine.....	5,0 g
Agar.....	15,0 g

pH = 5,6 ± 0,