



UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES (FAST)
ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE



THESE N° ____ /EDSV

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI

Option : Microbiologie

Spécialité : Microbiologie Alimentaire et Industrielle

**COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITES ANTIMICROBIENNES
D'EXTRAITS VEGETAUX DU BENIN CONTRE LES MICRO-
ORGANISMES PATHOGENES ET ALTERANTS
DES DENREES ALIMENTAIRES**

Soutenue publiquement, le 13 Juillet 2012

Par : Boniface Bodounrin YEHOUENOU
Diplômé d'Etudes Approfondies

Devant le jury composé de :

| | | |
|------------------------------|--|--|
| Président | : M^r FIOGBE Emile | Professeur Titulaire/CAMES, Université d'Abomey-Calavi (Bénin) |
| Membres | : M^{me} DIALLO Bouli | Professeur Titulaire, Université Abdou Moumouni de Niamey (Niger), Rapporteur |
| | : M^r AMEYAPOH Yaovi | Maître de Conférences/CAMES, Université de Lomé (Togo), Rapporteur |
| | : M^r FAROUGOU Souaïbou | Maître de Conférences/CAMES, Université d'Abomey-Calavi (Bénin), Rapporteur |
| Co-Directeur de Thèse | : M^r TOUKOUROU Fatiou | Professeur Titulaire/CAMES, Université d'Abomey-Calavi, (Bénin) |
| Co-Directeur de Thèse | : M^r SOHOUNHLOUE Dominique | Professeur Titulaire/CAMES, Université d'Abomey-Calavi (Bénin) |

SOMMAIRE

| | <i>Pages</i> |
|--|--------------|
| DEDICACE | iii |
| REMERCIEMENTS | iv |
| LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS | vii |
| LISTE DES TABLEAUX | ix |
| LISTE DES FIGURES | xi |
| LISTE DES ANNEXES | xv |
| RESUME | xvi |
| ABSTRACT | xvii |
| INTRODUCTION GENERALE | 1 |
| | |
| PREMIERE PARTIE | 5 |
| CHAPITRE 1 : Généralités sur les microorganismes étudiés | 6 |
| 1.1. Bactéries étudiées | 6 |
| 1.1.1. Ultrastructure bactérienne | 7 |
| 1.1.2. <i>Staphylococcus</i> | 15 |
| 1.1.3. <i>Streptococcus</i> | 18 |
| 1.1.4. <i>Bacillus</i> | 21 |
| 1.1.5. <i>Clostridium</i> | 25 |
| 1.1.6. <i>Escherichia coli</i> | 28 |
| 1.1.7. <i>Salmonella</i> | 31 |
| 1.1.8. <i>Klebsiella</i> | 34 |
| 1.2. Champignons étudiés | 36 |
| 1.2.1. Levure pathogène <i>Candida</i> | 36 |
| 1.2.2. <i>Aspergillus</i> | 38 |
| 1.2.3. <i>Fusarium</i> | 41 |
| 1.2.4. <i>Penicillium</i> | 42 |
| | |
| CHAPITRE 2 : Généralités sur les plantes aromatiques étudiées | 44 |
| 2.1. <i>Ocimum gratissimum</i> | 44 |
| 2.1.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques | 44 |
| 2.1.2. Composition et activités antimicrobiennes | 45 |
| 2.2. <i>Ocimum basilicum</i> | 47 |
| 2.2.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques | 47 |
| 2.2.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes | 49 |
| 2.3. <i>Lippia multiflora</i> | 51 |
| 2.3.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques | 51 |
| 2.3.2. Composition chimique de l'huile essentielle et activités antimicrobiennes | 53 |
| 2.4. <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf. | 56 |
| 2.4.1. Identification botanique, utilisation et propriétés biologiques | 56 |
| 2.4.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes | 57 |
| 2.5. <i>Cymbopogon giganteus</i> (Hochst.) Chiov | 58 |
| 2.5.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques | 58 |
| 2.5.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes | 59 |
| 2.6. <i>Xylopiya aethiopica</i> (Dunal) A. Richard | 61 |
| 2.6.1. Identification botanique, utilisations, propriétés biologiques | 62 |
| 2.6.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes | 62 |

| | |
|--|------------|
| 2.7. Crassocephalum rubens (Juss. Ex Jacq) S. Moore | 63 |
| 2.7.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques | 63 |
| 2.7.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes | 65 |
| 2.8. Mentha piperita | 65 |
| 2.8.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques. | 65 |
| 2.8.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes | 67 |
| 2.9. Lippia rugosa A.Chev. | 68 |
| 2.9.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques | 68 |
| 2.9.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes | 69 |
| 2.10. Syzygium aromaticum L. | 70 |
| 2.10.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques | 70 |
| 2.10.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes | 71 |
| 2.11. Pimenta racemosa (Mill.) J. W. Moore | 71 |
| 2.11.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques | 71 |
| 2.11.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes | 72 |
| 2.12. Cinammomum zeylanicum | 74 |
| 2.12.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques | 74 |
| 2.12.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes | 75 |
| | |
| DEUXIEME PARTIE - Chapitre 3 : Matériel & Méthodes | 77 |
| 3.1. Matériel | 78 |
| 3.1.1. Matériel végétal | 78 |
| 3.1.2. Les souches microbiennes | 78 |
| 3.1.3. Matériel de diagnostic biologique et chimique | 78 |
| 3.2 Méthodologie | 81 |
| 3.2.1 Extraction des huiles et calcul des rendements | 81 |
| 3.2.2. Composition chimique des huiles essentielles | 81 |
| 3.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles | 83 |
| 3.3.1. Isolement et purification des souches microbiennes | 83 |
| 3.3.2. Concentration Minimale d'Inhibition (CMI) | 89 |
| 3.3.3. Effet des HE sur le compte de viabilité des microorganismes : dénombrement des microorganismes vivants après contact avec l'HE par unité de temps | 90 |
| 3.3.4. Tests antifongiques | 90 |
| | |
| TROISIEME PARTIE - Chapitre 4 : Résultats & Discussion | 92 |
| 4.1. Résultats | 94 |
| 4.1.1. Rendements des plantes étudiées | 94 |
| 4.1.2. Composition chimique des huiles essentielles | 94 |
| 4.1.3. Activités antimicrobiennes des huiles essentielles investiguées | 110 |
| 4.2. Discussion | 157 |
| | |
| CONCLUSION GENERALE | 166 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 168 |
| ANNEXES | 189 |

DEDICACE

Je dédie la présente thèse à :

- ✚ *Dieu le Père Tout-Puissant et à Toute la Cour Céleste.*

- ✚ Mon feu père **Fabien Sodjinou Maroya YEHOUEYOU** pour tous les vœux exprimés de son vivant à l'aboutissement de cet heureux évènement.

- ✚ Ma mère **Marie Zossi ANIWATO** pour avoir eu la chance de vivre l'heureux évènement.

- ✚ Ma femme **Joséphine HODONOU** pour sa compréhension et son soutien multiforme.

- ✚ **Fabius, Valérien** et **Léila**, mes trois enfants pour leur responsabilité à hériter de ce modeste travail.

- ✚ Mes frères **Jérôme, Irénée, Sylvestre, Alain** et sœurs **Noélie** et **Chantal** et à titre posthume **Basiline** qui a tiré ses révérences pendant l'une de mes sorties de récolte de plantes à Malanville.

REMERCIEMENTS

Ce travail est l'aboutissement des recherches amorcées depuis mon acceptation au Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée de l'Ecole polytechnique de l'université d'Abomey-Calavi en qualité d'enseignant-chercheur jusqu'à ces jours riches de culture et de métamorphose intellectuelle.

Au terme de ce travail, je tiens à remercier :

❖ **Monsieur Dominique SOHOUNHLOUE**, Professeur Titulaire CAMES/UAC, Directeur du Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée (LERCA). Homme de grande probité morale et intellectuelle, il est le métronome de cette œuvre, pour ne pas dire l'alpha et l'oméga de cette thèse. Auteur de ma mise à disposition du LERCA, il m'a suivi, guidé et assisté jusqu'à l'achèvement de ce travail. Qu'il reçoive ici l'hommage de mes sincères gratitude.

❖ **Monsieur Fatiou TOUKOUROU**, Professeur Titulaire CAMES/UAC, Directeur du Laboratoire de Microbiologie et des Technologies Alimentaires (LAMITA), Membre de mon comité de thèse et qui a co-dirigé les travaux de thèse. Recevez ici toutes mes gratitude pour tous les aides et conseils dont vous m'avez assisté tout au long de ce périple doctoral. Je vous sais gré de toute l'attention affective que vous portez à ce travail.

❖ **Monsieur Joseph D. HOUNHOUGAN**, Professeur Titulaire CAMES/UAC, membre de mon Comité de Thèse. Vos suggestions ont contribué à améliorer dans une large mesure l'ossature de mes recherches. Soyez-en remercié gracieusement.

❖ **Monsieur Emile FIOGBE**, Professeur Titulaire CAMES/UAC, je vous sais gré pour l'honneur que vous me faites en acceptant de présider ce jury de thèse. Recevez ici toutes mes gratitude.

❖ **Madame Bouli DIALLO**, Professeur Titulaire, Recteur Honoraire et Présidente du Conseil Scientifique de l'Université Abdou Moumouni de Niamey (NIGER), Rapporteur et membre de Jury de thèse. Votre élogieuse présence dans ce jury a comblé une attente : celle du genre. Soyez-en félicitée et remerciée à juste titre pour avoir accepté de siéger dans ce jury malgré vos multiples occupations.

❖ **Monsieur AMEYAAPOH Yaovi**, Maître de Conférences/CAMES, à l'Université de Lomé (TOGO). Toutes mes gratitudes pour l'honneur que vous me faites de sanctionner ce travail.

❖ **Monsieur Souaïbou FAROUGOU**, Maître de Conférences des Universités/CAMES, Vice-Recteur de l'Université d'Abomey-Calavi, Rapporteur du présent travail. Vos contributions et aides ne m'ont pas fait défaut tout au long de ce parcours doctoral. Recevez mes sincères remerciements.

❖ **Monsieur Félicien AVLESSI**, Maître de Conférences des Universités/CAMES, Directeur de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi. Vous m'avez conduit, guidé et assisté en qualité de responsable de l'Unité de Recherche sur les Extraits végétaux et Arômes naturels (UREV) depuis le laboratoire jusque dans les champs de collecte du matériel végétal. Je vous exprime en cette occasion solennelle toutes mes sincères et franches gratitudes pour tout votre agissant soutien.

❖ **Messieurs les Professeurs, Henri H. SOCLO, Mansourou SOUMANOU et Valentin D. WOTTO**, vos continuelles injonctions ont porté de sérieux coups d'accélération à la rédaction du présent document. Soyez-en honorés.

❖ **Monsieur le Docteur Honoré BANKOLE**, Directeur du Laboratoire National du Ministère de la Santé pour son encadrement technique de proximité.

❖ **Mesdames les Docteurs Justine DANGO, Edwige DAHOUEYOU épouse AHOUSI et Messieurs les Docteurs Judicaël DEGUENON, Guy ALITONOU, Tindo Sébastien DJENONTIN, Fidèle Paul TCHOBO, Jean Pierre NOUDOGBESSI, Pascal AGBANGNAN, Léonce DOVONON, Alassane YOUSAO et Magloire GBAGUIDI** qui n'ont ménagé aucun effort à assurer l'encadrement de proximité pour la rédaction de ma thèse. Trouvez ici mes vifs remerciements.

❖ **Monsieur Philippe SESSOU**, Doctorant à la Faculté des Sciences et Techniques, mon « Alter Ego » sans lequel la matérialité scripturale du présent document n'existe pas. Je ne finirai jamais de le remercier pour toute son implication personnelle à la réalisation dudit document.

❖ *J'associe à ces remerciements une liste de personnes qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail. Il s'agit des Doctorants **Mickael SAIZONOU**, **Sophie BOGNINO** épouse **AGBIDINOUKOUN**, **Diane BOTHON**, **Annick BOSSOU**, **Guévara NONVIHO**, **Alain Yaya KOUDORO** avec lesquels j'ai partagé les joies du terrain ainsi que les doctorants **Vahid AISSI**, **Euloge ADJOU** et **Akibou OSSENI** qui m'ont encouragé et soutenu lors de la rédaction dudit document, **Rose de Lima HOUINSOU**, **Christian KONFO**, **Arétas TONOUHEWA** et **Eustache HOUNKPE** pour leur aide appréciable aux opérations de saisie.*

❖ *Je remercie monsieur **ALAMON Yessoufou**, Directeur de la Promotion de la Qualité et du Conditionnement des Produits Agricoles du Bénin (DPQC), pour sa grande probité morale et intellectuelle. Il a été à l'arrière plan de ce travail, prévu et planifié depuis notre collaboration à la Direction de l'Alimentation et de la Nutrition Appliquée à Porto-Novo.*

❖ *Je remercie tout particulièrement tout le personnel de la Direction de l'Alimentation et de la Nutrition Appliquée (DANA) et celui du Service de la Qualité des Analyses et de la Législation Alimentaire (SQALA/DANA) qui m'ont soutenu tout au long de ce travail.*

❖ *Je formule également à monsieur **Franck Alain DIDE** toutes mes vives gratitude pour ses aides multiformes au cours de ce périple doctoral.*

❖ *Je n'occulterai pas deux personnes importantes de l'arrière plan du LERCA, mais qui en constituent les socles ; je leur exprime de tout cœur mes vives reconnaissances :*

- ***Monsieur Arnaud Ulrick SAGBO**, la mémoire informatique permanente du LERCA ;*
- ***Monsieur Barthélémy GNONHOSSOU**, Responsable technique des travaux pratiques du laboratoire.*

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

| | | |
|---------------------------|---|--|
| ADB | : | Azide Dextrose Broth |
| ADH | : | Arginine Dihydrolase |
| ADN | : | Acide Desoxyribonucleique |
| AFPA | : | <i>Aspergillus flavus</i> and <i>Parasiticus</i> Agar |
| API | : | Appareillage et procédés d'Identifications |
| API 20^E | : | Appareillage et Procédés d'identification pour les 20 caractères des Entérobactéries |
| API 20 NE : | : | Appareillage et Procédés d'identification pour les 20 caractères des Non Entérobactéries |
| ATCC | : | American Type Culture Collection |
| BEA | : | Bile Esculine Azide |
| BORSA | : | Boderline Oxacillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> |
| CCM | : | Chromatographie en Couche Mince |
| CHB | : | Hydrates de Carbone- <i>Bacillus</i> |
| CMB | : | Concentration Minimale Bactéricide |
| CMI | : | Concentration Minimale d'Inhibition |
| CPG | : | Chromatographie en Phase Gazeuse |
| CPG/SM Masse | : | Chromatographie en Phase gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse |
| CZ | : | Czapek Dox Agar |
| CZA | : | Czapek Yeast Autolysed Agar |
| EIEC | : | Entero Invasive <i>Escherchia coli</i> |
| ELISA | : | Enzyme Linked Immunosorbent Assay |
| EMB | : | Eosine Methylen-Blue |
| EPEC | : | Entero Pathogenic <i>Escherchia coli</i> |
| EPT | : | Eau Peptonée Tamponnée |
| ETEC | : | Entero Toxin <i>Escherchia coli</i> |
| EVA | : | Ethyl Violet Azide |
| HE | : | Huile Essentielle |
| HPLC | : | High Performance Liquid Chromatography |
| HUS | : | Hemolytic and Uremic Syndrom |

| | |
|------------------------|--|
| ISO | : International Standards organization |
| KCN | : Cyanure de Potassium |
| KNO₃ | : Nitrate de potassium |
| LDC | : Lysine Décarboxylase |
| LPS | : Lipopolysaccharides |
| MBC | : Minimal Bactericidal concentration |
| MEA | : Malt Extract Agar |
| MHA | : Mueller Hinton Agar |
| MHB | : Mueller Hinton Broth |
| MIC | : Minimal Inhibitory Concentration |
| MRSA | : Methicillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> |
| NCCLS | : National Committee for Clinical Laboratory Standards |
| NI : | : Non Identifié |
| NPP | : Nombre le plus Probable |
| ODC | : Ornithine Decarboxylase |
| OGA | : Oxytétracycline Glucose Agar |
| OMS | : Organisation Mondiale de la Santé |
| ONPG | : Ortho-Nitro-Phenol Beta-galactosidase |
| p.a | : pouvoir antibiotique |
| PCR | : Polymerase Chain Reaction |
| rARN | : Acide Ribonucleique ribosomal |
| R-V | : Rappaport-Vassiliadis |
| SIDA | : Syndrome d'Immuno-Deficience Acquis |
| SM | : Spectrométrie de Masse |
| STEC | : Shiga Toxin <i>Escherchia coli</i> |
| TIA | : Toxi-Infections Alimentaires |
| TSI | : Triple Sugar Iron |
| VP | : Voges Proskauer |
| YES | : Yeast Extract Sucrose Agar |

LISTE DES TABLEAUX

| | <i>Pages</i> |
|---|--------------|
| <u>Tableau I</u> : Clé d'identification biochimique de <i>Staphylococcus aureus</i> | 18 |
| <u>Tableau II</u> : Caractéristiques de différenciation des streptocoques β -hémolytiques d'origine humaine | 21 |
| <u>Tableau III</u> : Quelques caractéristiques biochimiques de différenciation entre certains <i>Bacillus</i> . | 24 |
| <u>Tableau IV</u> : Test biochimique d'identification des <i>Salmonella</i> non Typhi, sérotypes Typhi et Paratyphi A. | 33 |
| <u>Tableau V</u> : Spécifications biochimiques identificatrices des souches de <i>Klebsiella</i> et associées. | 36 |
| <u>Tableau VI</u> : Zonalisation et parties des plantes étudiées | 80 |
| <u>Tableau VII</u> : Revue synoptique des méthodes de détection, d'isolement et d'identification de souches microbiennes testées | 84 |
| <u>Tableau VIII</u> : Rendements en huiles essentielles des plantes étudiées | 94 |
| <u>Tableau IX</u> : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Ocimum gratissimum</i> | 95 |
| <u>Tableau X</u> : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Ocimum basilicum</i> | 96 |
| <u>Tableau XI</u> : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Mentha piperita</i> | 97 |
| <u>Tableau XII</u> : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Lippia multiflora</i> Pèrèrè | 98 |
| <u>Tableau XIII</u> : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Lippia multiflora</i> Savalou | 99 |
| <u>Tableau XIV</u> : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Lippia rugosa</i> de Gbé gourou | 100 |
| <u>Tableau XV</u> : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Lippia rugosa</i> N'Dali | 101 |

| | | |
|------------------------------|---|-----|
| <u>Tableau XVI</u> | : Composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de <i>Pimenta racemosa</i> récoltées à Godomey | 102 |
| <u>Tableau XVII</u> | : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Syzygium aromaticum</i> | 103 |
| <u>Tableau XVIII</u> | : Composition chimique des HE des fruits et feuilles de <i>Xylopia aethiopica</i> | 104 |
| <u>Tableau XIX</u> | : Composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles fraîches de <i>Crassocephalum rubens</i> | 106 |
| <u>Tableau XX</u> | : Composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de <i>Cymbopogon citratus</i> | 108 |
| <u>Tableau XXI</u> | : Composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles fraîches de <i>Cymbopogon giganteus</i> Chiov de Houin. | 109 |
| <u>Tableau XXII</u> | : Concentrations Minimales d'Inhibition (CMI) des HE extraites vis-à-vis des souches microbiennes testées (mg/mL) | 115 |
| <u>Tableau XXIII</u> | : Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) des HE extraites vis-à-vis des souches microbiennes testées (mg/mL) | 116 |
| <u>Tableau XXIV</u> | : Pouvoir antibiotique (CMB/CMI \leq 4) des huiles essentielles extraites vis-à-vis des souches microbiennes testées | 117 |
| <u>Tableau XXV</u> | : Sensibilité aux antibiotiques des HE des <i>Labiatae</i> testées contre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 et <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. | 135 |
| <u>Tableau XXVI</u> | : Sensibilité aux antibiotiques des HE des <i>Poaceae</i> testées contre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 et <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | 136 |
| <u>Tableau XXVII</u> | : Sensibilité aux antibiotiques des HE des <i>Annonaceae</i> testées contre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 et <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. | 137 |
| <u>Tableau XXVIII</u> | : Sensibilité aux antibiotiques des HE des <i>Verbenaceae</i> testées contre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 et <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. | 138 |
| <u>Tableau XXIX</u> | : Sensibilité aux antibiotiques des HE des <i>Myrtaceae</i> testées contre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 et <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. | 139 |
| <u>Tableau XXX</u> | : Sensibilité aux antibiotiques des HE des <i>Asteraceae</i> et <i>Lauraceae</i> testées contre <i>E. coli</i> ATCC 25922 et <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. | 140 |

LISTE DES FIGURES

| | <i>Pages</i> |
|--|--------------|
| Figure 1 : Ultrastructure de la cellule bactérienne (source : Leyral et Vierling, 1997) | 6 |
| Figure 2 : Structure de la paroi des bactéries Gram+ (Corvec, 2009) | 7 |
| Figure 3 : Formule développée du peptidoglycane (Corvec, 2009) | 8 |
| Figure 4 : Structure de la paroi bactérienne des Gram- (Corvec, 2009) | 11 |
| Figure 5 : <i>Aspergillus</i> spp sur Potato Dextrose Agar ((Pitt <i>et al.</i> , 2009) | 39 |
| Figure 6 : <i>Fusarium</i> spp sur Potato Dextrose Agar (Pitt <i>et al.</i> , 2009) | 42 |
| Figure 7 : <i>Penicillium</i> spp sur Potato Dextrose Agar (Pitt <i>et al.</i> , 2009) | 43 |
| Figure 8 : <i>Ocimum gratissimum</i> | 44 |
| Figure 9 : <i>Ocimum basilicum</i> | 47 |
| Figure 10 : <i>Lippia multiflora</i> | 52 |
| Figure 11 : <i>Cymbopogon citratus</i> | 56 |
| Figure 12 : <i>Cymbopogon giganteus</i> | 58 |
| Figure 13 : <i>Xylopiya aethiopica</i> | 61 |
| Figure 14 : <i>Crassocephalum rubens</i> | 64 |
| Figure 15 : <i>Mentha piperita</i> | 65 |
| Figure 16 : <i>Lippia rugosa</i> | 69 |
| Figure 17 : <i>Syzygium aromaticum</i> | 70 |
| Figure 18 : <i>Pimenta racemosa</i> | 72 |
| Figure 19 : <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | 74 |
| Figure 20 : Effets de l'huile essentielle des feuilles de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> (CMI) sur la viabilité de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>C. albicans</i> par unité de temps | 120 |
| Figure 21 : Effets de l'huile essentielle des feuilles de <i>Cymbopogon citratus</i> (CMI) sur la viabilité de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>C. albicans</i> par unité de temps | 121 |
| Figure 22 : Effets de l'huile essentielle des feuilles de <i>Cymbopogon giganteus</i> (CMI) sur la viabilité de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>C. albicans</i> par unité de temps | 122 |
| Figure 23 : Effets de l'huile essentielle des feuilles de <i>Lippia multiflora</i> de Pèrèrè (CMI) sur la viabilité de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>C. albicans</i> par unité de temps | 123 |
| Figure 24 : Effets de l'huile essentielle des feuilles de <i>Lippia multiflora</i> de Kpakpassa sur la viabilité de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>C. albicans</i> par unité de temps | 124 |
| Figure 25 : Effets de l'huile essentielle des feuilles de <i>Lippia rugosa</i> de Gbégorou (CMI) sur la viabilité de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>C. albicans</i> par unité de temps | 125 |
| Figure 26 : Effets de l'huile essentielle des feuilles de <i>Lippia rugosa</i> de N'Dali (CMI) sur la viabilité de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>C. albicans</i> par unité de temps | 126 |
| Figure 27 : Effets de l'huile essentielle des feuilles de <i>Ocimum gratissimum</i> (CMI) sur la viabilité de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>C. albicans</i> par unité de temps | 127 |
| Figure 28 : Effets de l'huile essentielle des feuilles de <i>Ocimum basilicum</i> (CMI) sur la viabilité de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>C. albicans</i> par unité de temps | 128 |
| Figure 29 : Effets de l'huile essentielle des feuilles de <i>Mentha piperita</i> (CMI) sur la viabilité de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>C. albicans</i> par unité de temps | 129 |
| Figure 30 : Effets de l'huile essentielle des feuilles de <i>Pimenta racemosa</i> (CMI) sur la viabilité de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>C. albicans</i> par unité de temps | 130 |

| | | |
|------------------|---|-----|
| Figure 31 | : Effets de l'huile essentielle des feuilles de <i>Syzygium aromaticum</i> (CMI) sur la viabilité de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>C. albicans</i> par unité de temps | 131 |
| Figure 32 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Syzygium aromaticum</i> | 142 |
| Figure 33 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Penicillium digitatum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Syzygium aromaticum</i> | 142 |
| Figure 34 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus ochraceus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Syzygium aromaticum</i> | 142 |
| Figure 35 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus parasiticus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Syzygium aromaticum</i> | 142 |
| Figure 36 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Pimenta racemosa</i> | 143 |
| Figure 37 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Penicillium digitatum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Pimenta racemosa</i> | 143 |
| Figure 38 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus ochraceus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Pimenta racemosa</i> | 143 |
| Figure 39 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus parasiticus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Pimenta racemosa</i> | 143 |
| Figure 40 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Ocimum gratissimum</i> | 144 |
| Figure 41 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Penicillium digitatum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Ocimum gratissimum</i> | 144 |
| Figure 42 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus ochraceus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Ocimum gratissimum</i> | 144 |
| Figure 43 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus parasiticus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Ocimum gratissimum</i> | 144 |
| Figure 44 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Ocimum basilicum</i> | 145 |
| Figure 45 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Penicillium digitatum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Ocimum basilicum</i> | 145 |
| Figure 46 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus ochraceus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Ocimum basilicum</i> | 145 |
| Figure 47 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus parasiticus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Ocimum basilicum</i> | 145 |
| Figure 48 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Lippia multiflora</i> de Savalou | 146 |
| Figure 49 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Penicillium digitatum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Lippia multiflora</i> de Savalou | 146 |
| Figure 50 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus ochraceus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Lippia multiflora</i> de Savalou | 146 |
| Figure 51 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus parasiticus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Lippia multiflora</i> de Savalou | 146 |
| Figure 52 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Lippia multiflora</i> de Pèrèrè | 147 |

| | | |
|------------------|---|-----|
| Figure 53 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Penicillium digitatum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Lippia multiflora</i> de Pèrèrè | 147 |
| Figure 54 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus ochraceus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Lippia multiflora</i> de Pèrèrè | 147 |
| Figure 55 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus parasiticus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Lippia multiflora</i> de Pèrèrè | 147 |
| Figure 56 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Cymbopogon giganteus</i> | 148 |
| Figure 57 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Penicillium digitatum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Cymbopogon giganteus</i> | 148 |
| Figure 58 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus ochraceus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Cymbopogon giganteus</i> | 148 |
| Figure 59 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus parasiticus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Cymbopogon giganteus</i> | 148 |
| Figure 60 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Cymbopogon citratus</i> | 149 |
| Figure 61 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Penicillium digitatum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Cymbopogon citratus</i> | 149 |
| Figure 62 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus ochraceus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Cymbopogon citratus</i> | 149 |
| Figure 63 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus parasiticus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Cymbopogon citratus</i> | 149 |
| Figure 64 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Mentha piperita</i> | 150 |
| Figure 65 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Penicillium digitatum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Mentha piperita</i> | 150 |
| Figure 66 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus ochraceus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Mentha piperita</i> | 150 |
| Figure 67 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus parasiticus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Mentha piperita</i> | 150 |
| Figure 68 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | 151 |
| Figure 69 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Penicillium digitatum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | 151 |
| Figure 70 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus ochraceus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | 151 |
| Figure 71 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus parasiticus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | 151 |
| Figure 72 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE des fruits de <i>Xylopiya aethiopica</i> | 152 |
| Figure 73 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Penicillium digitatum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE des fruits de <i>Xylopiya aethiopica</i> | 152 |
| Figure 74 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus ochraceus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE des fruits de <i>Xylopiya aethiopica</i> | 152 |
| Figure 75 | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus parasiticus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE des fruits de <i>Xylopiya aethiopica</i> | 152 |

| | | |
|-------------------------|---|-----|
| <u>Figure 76</u> | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE des feuilles de <i>Xylopiya aethiopica</i> | 153 |
| <u>Figure 77</u> | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Penicillium digitatum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE des feuilles de <i>Xylopiya aethiopica</i> | 154 |
| <u>Figure 78</u> | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus ochraceus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE des feuilles de <i>Xylopiya aethiopica</i> | 153 |
| <u>Figure 79</u> | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus parasiticus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE des feuilles de <i>Xylopiya aethiopica</i> | 153 |
| <u>Figure 80</u> | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Lippia rugosa</i> de Gbégourou | 154 |
| <u>Figure 81</u> | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Penicillium digitatum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Lippia rugosa</i> de Gbégourou | 154 |
| <u>Figure 82</u> | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus ochraceus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE <i>Lippia rugosa</i> de Gbégourou | 154 |
| <u>Figure 83</u> | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus parasiticus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Lippia rugosa</i> de Gbégourou | 154 |
| <u>Figure 84</u> | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Lippia rugosa</i> de N'Dali | 155 |
| <u>Figure 85</u> | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Penicillium digitatum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Lippia rugosa</i> de N'Dali | 155 |
| <u>Figure 86</u> | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus ochraceus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE <i>Lippia rugosa</i> de N'dali | 155 |
| <u>Figure 87</u> | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus parasiticus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Lippia rugosa</i> de N'Dali | 155 |
| <u>Figure 88</u> | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Crassocephalum rubens</i> | 156 |
| <u>Figure 89</u> | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Penicillium digitatum</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Crassocephalum rubens</i> | 156 |
| <u>Figure 90</u> | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus ochraceus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Crassocephalum rubens</i> | 156 |
| <u>Figure 91</u> | : Réduction de la croissance mycélienne de <i>Aspergillus parasiticus</i> en fonction de différentes concentrations d'HE de <i>Crassocephalum rubens</i> | 156 |

| |
|--------------------------|
| LISTE DES ANNEXES |
|--------------------------|

| | <i>Pages</i> |
|--|--------------|
| <u>Annexe 1</u> : Structure chimique de quelques molécules isolées de nos huiles essentielles | 190 |
| <u>Annexe 2</u> : Publications | 194 |

RESUME

Nous avons étudié à travers ce travail la composition chimique des huiles essentielles extraites des feuilles par chromatographie en phase gazeuse et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de *Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Mentha piperita*, *Lippia multiflora*, *Lippia rugosa*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon giganteus*, *Crassocephalum rubens*, *Xylopia aethiopica*, *Pimenta racemosa* et de *Cinnamomum zeylanicum* d'une part, et des graines de *Syzygium aromaticum* et de *Xylopia aethiopica* d'autre part et les a testées par les méthodes de microdilution et diffusion en agar contre les microorganismes pathogènes et altérants des denrées alimentaires largement consommées au Bénin.

Les huiles essentielles étudiées sont de composés terpéniques : monoterpènes et sesquiterpènes hydrogénés et oxygénés, composés aromatiques et composés aliphatiques et autres substances naturelles. Les activités antimicrobiennes exhibées par les unes et les autres sont à la fois antibactériennes et antifongiques. Les concentrations minimales d'inhibition déterminées ainsi que les concentrations minimales bactéricides calculées pour ces huiles nous ont permis d'évaluer leur pouvoir antibiotique et leur effet sur le compte de viabilité par unité de temps des souches testées. Il s'agit de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 10231, *Streptococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis* et *Clostridium* spp.

Les huiles essentielles extraites de *Syzygium aromaticum*, *Pimenta racemosa*, *Ocimum gratissimum*, *Cymbopogon giganteus* et *Lippia multiflora* sont celles qui détiennent les activités antimicrobiennes les plus prononcées.

Au total, les huiles essentielles testées possèdent différemment et de manière spécifique un pouvoir antibiotique contre *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 10231 et contre les souches de contamination courante telles que *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* et *Clostridium* spp. Elles manifestent également des activités fongistatiques et fongicides contre les Deuteromycètes (*Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*) qui sont en même temps altérants et toxigènes de nos aliments. Ce travail ouvre la voie à une conservation des aliments avec des substances naturelles extraites et également la formulation d'antimicrobiens naturels pour ce fait.

Mots clés : Plantes aromatiques, extraits volatils, antimicrobiens, conservation, aliments

ABSTRACT

We have studied through out this work the chemical composition of essential oils extracted from the leaves of *Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Mentha piperita*, *Lippia multiflora*, *Lippia rugosa*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon giganteus*, *Crassocephalum rubens*, *Xylopi aethiopica*, *Pimenta racemosa* and *Cinnamomum zeylanicum* in a part and from the seeds of *Syzygium aromaticum* and *Xylopi aethiopica* in other part and had tested them against some food pathogenic and adulterated microorganisms isolated from common foods largely consumed in Benin.

The essential oils investigated were made of terpenic components: hydrogenated and oxygenated monoterpenes and sesquiterpenes, aromatic and aliphatic components and other natural substances.

Antimicrobial activities displayed by these essential oils were both antibacterial and antifungal. The minimal inhibitory concentrations (MIC) and the minimal bactericidal concentrations (MBC) calculated for each essential oil allowed for an evaluation of their antibiomatic power and their viability count by time unit for all tested microorganisms. These latter concerned *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 10231, *Streptococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis* and *Clostridium* spp.

The essential oils extracted from *Syzygium aromaticum*, *Pimenta racemosa*, *Ocimum gratissimum*, *Cymbopogon giganteus* and *Lippia multiflora* are the one which get relevant antimicrobial activities.

In summary, the oils tested possess differently and specifically, an antibiomatic power against *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 10231 and against the microorganisms implicated in many food contaminations such as *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* and *Clostridium* sppm. They also displayed their fungistatic and/or fungicidal activities against Deuteromycetes (*Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*) which are adulterated fungi but producers of mycotoxins inside our foods. This work may easy foods preservation with natural extracted substances and also allow the natural antimicrobial formulation for this fact.

Key words: aromatic plants, volatile extracts, antimicrobial substances, preservation, food.

INTRODUCTION GENERALE

Les maladies d'origine alimentaire constituent de nos jours des problèmes de santé publique (WHO, 2002) nonobstant toutes les innovations modernes dans le sens de l'amélioration et de la performance des techniques et de l'hygiène de la production des aliments. On a estimé à plus de 30% des populations des pays industrialisés souffrant chaque année de ces affections et plus particulièrement en l'an 2000, deux millions de décès proviennent des maladies diarrhéiques à travers le monde (Burt, 2004). L'activité microbienne est le premier mode de détérioration des aliments et plusieurs microorganismes impliqués dans ces affections d'origine alimentaire contribuent le plus souvent à la perte de leur qualité et de leur sécurité (Atiqur et Sun Chul, 2009).

Les principaux agents infectieux responsables des toxi-infections alimentaires sont : *Escherichia coli* et plus particulièrement *E. coli* entérohémorragique (O : 157 H : 7) (Leyral et Vierling, 1997 ; Dolore *et al.*, 2001) ; *Staphylococcus aureus* (Nwigni *et al.*, 2009) ; *Salmonella typhi*, agent responsable des fièvres thyphoïdes et paratyphoïdes (Pechere *et al.*, 1994) ; *Listeria monocytogenes* (Faber, 2000) et *Vibrio parahaemolyticus* (Leyral et Vierling, 1997).

Les Deuteromycètes (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*) incluent plusieurs contaminants alimentaires et nombreuses espèces sont productrices de métabolites toxiques au nombre desquels les aflatoxines, les ochratoxines, les fumonisines, les trichotécènes et zéralénone (Nickelsen et Jacobsen, 1997). Parmi les mycotoxines, l'Aflatoxine B₁ est la forme la plus toxique pour les mammifères et présente les propriétés hépatotoxiques, tératogéniques et mutagéniques, causant des dommages tels que les hépatites toxiques, les hémorragies, les oedèmes, l'immunosuppression et les carcinomes hépatiques ainsi que l'émésie et le refus de s'alimenter (Magan *et al.*, 2004). Au nombre des champignons unicellulaires pathogènes, nous pouvons citer *Candida albicans* (Murray, 2003), *Cryptococcus neoformans*, *Rhodotorula* spp (Filtenborg, 1995). Il a été également question des spores de *Clostridium* spp en particulier *Clostridium perfringens* (Grosjean *et al.*, 2010) et de certains *Bacillus* spp notamment *B. cereus* et *B. anthracis* responsables de toxi-infections alimentaires.

Les populations de la sous-région ouest-africaine en général et celles du Bénin en particulier sont aussi confrontées aux problèmes d'alimentation. Selon les prévisions de la FAO (Revue annuelle sur l'Alimentation, 2010), la couverture des besoins alimentaires à venir de cette partie du monde ne pourra se faire sans une très nette augmentation de l'utilisation des technologies chimiques, des engrais et produits phytosanitaires nécessaires à l'accroissement de la production agricole. Il y a aussi de grandes pertes de denrées

alimentaires au cours de leur stockage. Compte tenu de la dégradation de l'environnement, du coût en perpétuelle augmentation des antimicrobiens de synthèse appartenant aux groupes des benzimidazoles, des hydrocarbures aromatiques et des inhibiteurs de biosynthèse des stéroïdes utilisés à grande échelle pour endiguer ces infections dans les grands systèmes post-récoltes, lesquels malheureusement appliqués à des doses incontrôlées, altèrent la qualité des produits alimentaires et accroissent le risque de toxicité de leurs résidus (Tatsadjieu *et al.*, 2009), la tendance actuelle est à l'utilisation de produits biologiques de substitution très peu toxiques, biodégradables, moins onéreux et dont l'efficacité est avérée. Il s'agit de métabolites secondaires de plantes aromatiques renfermant en forte proportion des molécules très actives à propriétés antibactériennes, insecticides, fongicides, acaricides et cytotoxiques (Faleiro *et al.*, 1999).

De nombreux travaux ont permis d'une part de faire l'étude systématique des huiles essentielles extraites des plantes aromatiques couramment utilisées en pharmacopées traditionnelles au Bénin (Sohounhloué *et al.*, 1997 ; Ayedoun *et al.*, 1998 ; Avlessi *et al.*, 2005 ; Alitonou, 2006), et d'autre part de relever l'efficacité de certaines huiles essentielles dans le cadre de la protection intégrée contre certains insectes déprédateurs des stocks de céréales (Noudogbessi, 2009). Cependant, avant nos travaux et à notre connaissance, aucune étude scientifique au Bénin n'a porté sur les tests relatifs à l'efficacité des extraits volatils des plantes aromatiques contre les microorganismes pathogènes et d'altération identifiés dans les aliments.

Face à la résistance des microorganismes aux antibiotiques de synthèse, nous avons entrepris cette étude pour proposer une solution alternative moins coûteuse et plus crédible avec des plantes aromatiques utilisées en médecine traditionnelle. Notre choix, à l'issue d'enquête ethnobotanique, a porté sur *Pimenta racemosa*, *Lippia multiflora*, *Lippia rugosa*, *Xylopiya aethiopica*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon giganteus*, *Crassocephalum rubens*, *Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Mentha piperita*, *Cinnamomum zeylanicum*.

La présente étude vise donc à analyser les compositions chimiques des extraits volatils des plantes aromatiques retenues et à tester leur efficacité contre certains microorganismes pathogènes et d'altération identifiés dans les aliments de grande consommation au Bénin. Il s'agit, spécifiquement de déterminer les concentrations minimales d'inhibition, les concentrations minimales bactéricides vis-à-vis des microorganismes testés d'une part, déterminer le pouvoir antibiotique des HE, le pouvoir antifongique et faire le compte de viabilité des microorganismes en contact des extraits après un temps d'autre part.

Ce travail comporte trois parties. Dans la première, nous présenterons les généralités sur les microorganismes (bactéries, champignons), les caractéristiques botaniques ainsi que les diverses utilisations des espèces végétales qui ont fait l'objet de notre étude. Dans la deuxième partie, nous traitons du matériel et des méthodes d'investigation expérimentale et dans la troisième partie nous présentons les résultats et les discussions.

PREMIERE PARTIE

Chapitre 1 : Généralités sur les microorganismes étudiés

1.1. Les bactéries

1.2. Les champignons

Chapitre 2 : Etude bibliographique des espèces végétales investiguées

CHAPITRE 1 : Généralités sur les microorganismes étudiés

Ils sont pour la plupart constitués des bactéries et des champignons unicellulaires (levures) et pluricellulaires (moisissures).

1.1. Bactéries étudiées

Elles rassemblent certains coques ou cocci à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus β -hémolytique*), les bacilles ou bâtonnets à Gram positif (*Bacillus* spp, *Clostridium* spp) d'une part et certains bacilles ou coccobacilles à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Salmonella* spp) d'autre part.

L'ultrastructure de la cellule bactérienne lui confère une enveloppe rigide appelée paroi cellulaire laquelle est un élément d'identification et de spécification des bactéries. Elle est le siège des échanges entre le milieu extérieur et le milieu intérieur de la bactérie. La figure 1 présente l'ultrastructure de la cellule bactérienne avec tous les éléments constants et inconstants observée au microscope électronique. Toutefois, sans pour autant nous attarder sur tous ces éléments, l'étude de la paroi bactérienne nous paraît plus opportune dans la présente étude compte tenu du rôle qu'elle joue en tant qu'entité de préservation de l'intégrité de la bactérie contre tout élément antagoniste (antibiotiques, antimicrobiens naturels tels que les huiles essentielles, etc...).

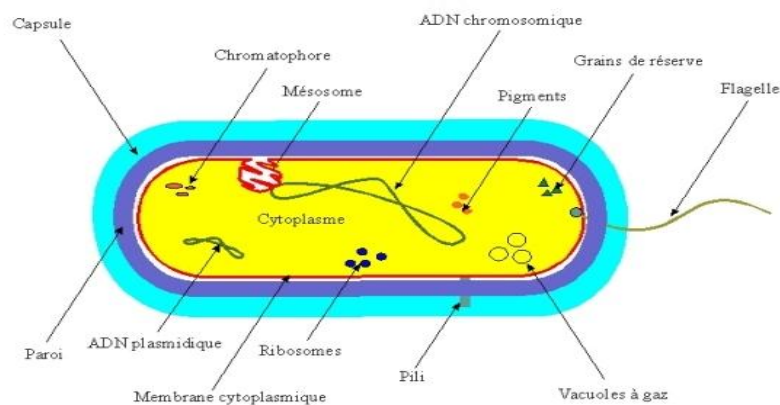


Figure 1 : Ultrastructure de la cellule bactérienne (source : Leyral et Vierling, 1997)

1.1.1. Ultrastructure bactérienne

✚ Structure biochimique de la paroi bactérienne

Parmi les méthodes d'identification des microorganismes tantôt évoquées par Murray *et al.* en 2003, lesquelles sont l'analyse des acides gras, l'analyse du contenu cellulaire en protéines, les quinones isoprénoïdes, les polyamines, celles relatives à la composition chimique de la paroi nous paraissent plus abordables et plus aisées. En effet, la distinction entre les cellules microbiennes Gram positif et Gram négatif continue d'être l'une des caractéristiques premières qui guident dans la caractérisation et l'identification des microorganismes.

Pour une compréhension plus approfondie de la structure chimique des parois des bactéries Gram positif et Gram négatif, une synthèse sera faite sur ces dernières.

1.1.1.1. La paroi des bactéries Gram+.

Elle est composée :

- du peptidoglycane environ 50% de mureine ;
- des acides teichoïques, lipoteichoïques, teichuroniques ;
- de polysaccharides neutres parmi lesquels on peut noter le polysaccharide C (streptocoque du groupe A et C) ;
- de protéines au nombre desquelles on peut citer : la protéine M (chez le streptocoque du groupe A), la protéine A (chez *Staphylococcus aureus*) et les autolysines (figure 2).

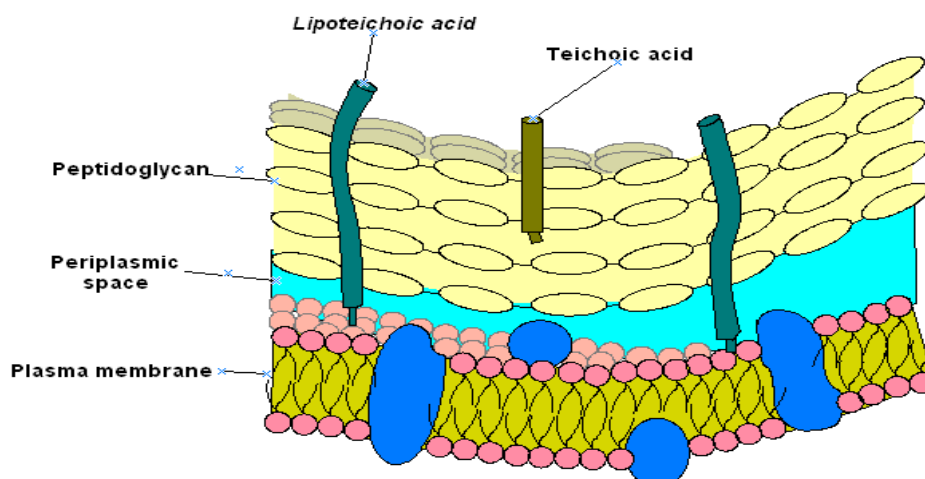


Figure 2 : Ultrastructure de la paroi des bactéries Gram+ (Corvec, 2009)

1.1.1.1.1. Le peptidoglycane

Il est le constituant commun de la paroi de toutes les bactéries. Sa structure schématisée est la suivante :

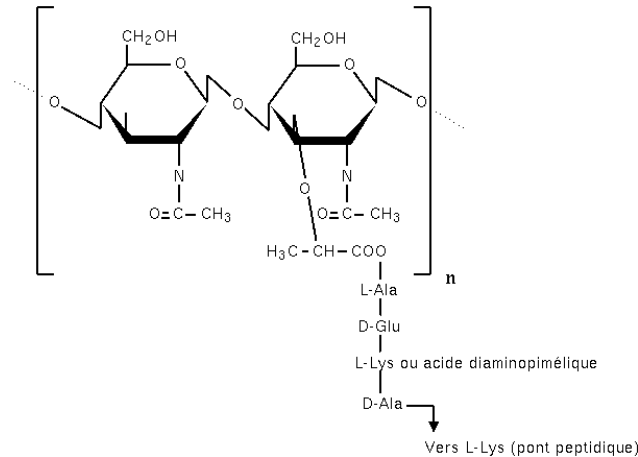


Figure 3 : Formule développée du peptidoglycane (Corvec, 2009)

Le peptidoglycane est une macromolécule comprenant :

- un polyoside de base, polymère de N-acétyl glucosamine et d'acide N-acétyl muranique ;
- de courtes chaînes peptidiques comportant, en général, quatre acides aminés. Ces tétrapeptides sont branchés sur le polyoside de base au niveau de l'acide N acétyl muramique ;
- des ponts peptidiques (pentaglycine chez *Staphylococcus aureus*) qui relient les tétrapeptides entre deux polyosides de base.

La séquence en acides aminés des tétrapeptides présente quelques variations selon les groupes bactériens. Ce sont eux qui confèrent au peptidoglycane sa cohésion et sa structure en réseau tridimensionnel rigide (Leyral et Vierling, 1997).

1.1.1.1.2. Les Acides teichoïques

Au plan structurel, ils constituent une grande diversité au sein des espèces bactériennes et ces derniers sont liés au squelette sucré (en unités répétitives de 30 à 50), à la substitution par des glucides (de par la nature et la position), à la substitution par des acides aminés et aux liens phosphodiester. Il existe 5 à 10% de liaison au C₆ du N-acétyl-muramique au peptidoglycane. La richesse en phosphates confère des charges négatives à la paroi des

bactéries Gram⁺ car les polymères linéaires des acides teichoïques sont riches en phosphates : il s'agit des Polyglycérolphosphates (PGP) et les polyribitolphosphates (PRP) et des PGP ou PRP avec des sucres dans la chaîne principale, substitués par les esters du D-alanine ou du D-Glucose. La particularité de la liaison au C₆ du N-acétylmuramique est justifiée par la liaison triglycérol-P-glucosamine.

Les acides teichoïques ont un rôle structural pour ce qui est de la liaison et l'intrication dans le réseau du peptidoglycane et de la possession des ions phosphates (PO₄²⁻). Ils assurent également la capture des cations ce qui explique la forte affinité sélective pour le Mg²⁺ et l'implication des enzymes de la membrane cytoplasmique. Ils interviennent également dans l'inhibition et la régulation de l'activité des autolysines (Corvec, 2009).

1.1.1.1.3. Les acides lipoteichoïques

Selon Corvec (2009), on les retrouve chez certaines bactéries Gram⁺ ayant des acides teichoïques et ils sont constitués de PGP de 25 à 30 unités liés par des liaisons 1-3-phosphodiester et qui ont la possibilité de substitution par le D-alanine ou le D-glucose et la cohésion entre l'acide lipoteichoïque et la membrane cytoplasmique est assurée par les ions Mg²⁺. Ils se fixent également à la membrane cytoplasmique par des glycolipides (diacylglycérol+sucres) insérés dans celle-ci.

Les acides lipoteichoïques assurent la capture et l'acheminement des ions Mg²⁺ vers la membrane cytoplasmique ainsi que la fixation et l'inhibition des enzymes autolytiques. Leur rôle déterminant dans l'adhérence des bactéries aux surfaces (pour le cas de *Streptococcus mutans* dans les caries dentaires) a été signalé de même que leur faible effet toxique imputable à la partie glycolipidique.

1.1.1.1.4. Les acides teichuroniques

Ils sont équivalents aux acides teichoïques dont ils assument les fonctions ; ce sont des polysaccharides à acide uronique, notamment les acides glucuroniques, les acides aminoglucuroniques, les acides manuroniques mais qui sont dépourvus d'ions PO₄²⁻, donc de D-alanine. La liaison au C₆ de N-acétyl-glucosamine est faite par la liaison du phosphodiester. Ils possèdent plus un rôle de régulation de synthèse : dans la nutrition et dans la libération des ions PO₄²⁻ et Mg⁺⁺.

1.1.1.1.5. Les polysaccharides neutres de la paroi des Gram⁺

Ils sont facultatifs et neutres, ce qui leur confère les caractères de non acides et spécifiques. Ils sont liés au 6^e carbone du N-acétyl-muramique (NAM) du peptidoglycane. Ils ont un rôle structural et antigénique dans la paroi (exemple des streptocoques et du polysaccharide C). Ils interviennent dans la spécificité immunologique de groupe (groupage de Lancefield).

Le groupe A est constitué du L-rhamnose-N-acétylglucosamine et le groupe C est fait du L-rhamnose-N-acétylgalactosamine.

1.1.1.1.6. Les protéines de la paroi des Gram⁺

Ce sont des protéines de structure ou enzymes variables en nature et en quantités selon la bactérie.

1.1.1.1.6.1. La protéine M du Streptocoque du groupe A est :

- pariétale
- la partie C terminale est située à l'intérieur et la partie N terminale à l'extérieur de la paroi. Cette protéine a un rôle dans la virulence du streptocoque A, protège la bactérie contre la phagocytose et elle constitue une liaison à d'autres composés pariétaux.

1.1.1.1.6.2. La protéine A du staphylocoque doré est :

- une protéine fibrillaire (une partie incluse dans la paroi, et une partie à l'extérieur)
- la protéine est liée par son extrémité C terminale au peptidoglycane
- elle peut se lier au fragment Fc des immunoglobulines G (I_gG) et ainsi éviter au staphylocoque doré la phagocytose liée à l'opsonisation (évite la reconnaissance par le système immunitaire de l'hôte)

1.1.1.1.6.3. Les autolysines

Ce sont des protéines très fortement associées à la paroi. Elles représentent aussi les enzymes qui lors de la croissance et la division bactérienne, dégradent le peptidoglycane de la paroi de façon ménagée pour le remodeler. Les autolysines se lient aux acides teichoïques, teichuroniques et lipoteichoïques qui assurent la régulation de leur activité et lysent le peptidoglycane pariétal.

1.1.1.2. Les macromolécules de la paroi des bactéries à Gram⁻ : les lipopolysaccharides et les phospholipides

La paroi des bactéries à Gram⁻ est constituée du peptidoglycane et d'une membrane externe qui est une membrane biologique avec une double couche lipidique. Elle présente deux particularités :

C'est une macromolécule spécifique : ce sont les lipopolysaccharides (LPS) et cette macromolécule est dotée d'une assymétrie importante.

Les phospholipides constituent le feuillet interne et les lipopolysaccharides le feuillet externe. Le rôle des cations divalents tels que les ions Ca²⁺ est déterminant en particulier dans la cohésion de la membrane externe.

Les protéines limitées en nombre sont constituées de feuillet β (tonneaux β).

1.1.1.2.1. Structure de la membrane externe de la paroi des Gram⁻

Elle est constituée des phospholipides, des lipopolysaccharides et des protéines majeures et mineures (voir figure 4)

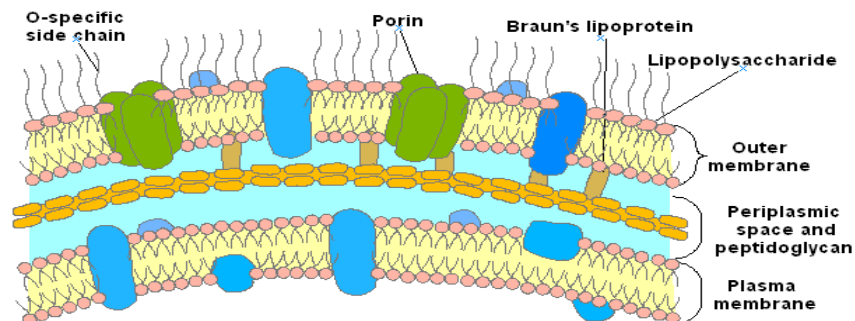


Figure 4 : Ultrastructure de la paroi bactérienne des Gram- (Corvec, 2009)

1.1.1.2.2. Les phospholipides

Ils sont situés dans le feuillet interne de la membrane. Les parties hydrophile et hydrophobe sont amphiphiles. Les phospholipides sont appariés aux lipopolysaccharides par leur partie hydrophobe ce qui justifie la double couche lipidique.

Chez *Escherichia coli* on les retrouve sous les formes suivantes :

- phosphatidyl-éthanolamine (PE) la plus fréquente
- phosphatidyl-glycerol (PG)
- phosphatidylglycerol ou cardiolipide (CL)

1.1.1.2.3. Les lipopolysaccharides (LPS)

Ils sont constitués de lipides et de polysaccharides. Ils représentent le constituant majeur du feuillet externe de la membrane externe. Ils sont le siège de l'endotoxine des bactéries à Gram⁻ et portent l'antigène O des bactéries à Gram⁻ (antigène somatique).

Les trois parties essentielles qui les composent sont :

- le lipide A : il est hydrophobe et proximal
- le core polysaccharide qui est la zone intermédiaire de jonction comprenant une partie interne et une partie externe.
- les chaînes latérales polysaccharidiques O

1.1.1.2.3.1. Le lipide A

Assez bien conservé chez les bactéries à Gram⁻, il présente cependant une certaine diversité des structures chimiques. Sa structure chez *Escherichia coli* est faite de :

- deux glucosamines liées en β_{1-4} (β_{1-3} ou β_{1-6})
- phosphates en C₁ et C₄' des 2 glucosamines
- acides gras substituants au nombre de 6 ou 7
- acides gras courts à 14 C, saturés et hydroxylés en C₃

1.1.1.2.3.2. Le core polysaccharidique

C'est une structure bien conservée chez les bactéries à Gram⁻ mais marque une différence de structure entre *E. coli* et *P. aeruginosa*. Il est marqué par une courte séquence avec des sucres spécifiques dans la partie interne du core (KDO et Heptose) :

- le KDO est l'acide 3-désoxy-D-manno-octulosonique
- l'heptose est du L-glycérol-D-manno-heptose
- des sucres divers

La partie interne du core et le lipide A contiennent de nombreux groupes anioniques.

1.1.1.2.3.3. Les chaînes latérales polysaccharidiques O

Plus longues que le core, elles déterminent la variabilité inter-espèces. Elles sont constituées d'unités oligosaccharidiques répétitives (tri, tétra, penta saccharides linéaires ou ramifiés). Grâce aux sucres non habituels, elles conditionnent la diversité au sein d'une espèce.

Les chaînes hydrophiles couvrent la surface bactérienne. C'est une structure lâche très efficace pour maintenir à distance les composés hydrophobes.

Lorsque survient une perte partielle ou totale des chaînes latérales O et qui confère à la bactérie une virulence moindre, on obtient des colonies d'aspect rugueux au lieu de l'aspect lisse habituel.

1.1.1.2.4. Fonction de la membrane externe

1.1.1.2.4.1. Fonction du LPS

Les mutants à LPS incomplet subissent la :

- perte de l'antigène O, ce qui entraîne la perte de virulence par augmentation de la sensibilité bactérienne à la phagocytose
- perte du core interne (les mutants rugueux deviennent hypersensibles aux composés hydrophobes, ce qui détermine le rôle du core dans la barrière de perméabilité). Les mutants conditionnels sont défectueux dans le lipide A ce qui réprecise le rôle structural essentiel du lipide A.

1.1.1.2.4.2. Fonction du lipide A

Il possède un rôle structural très important, l'endotoxine caractérisant l'activité toxique du LPS est liée au lipide A.

Il agit par l'intermédiaire du macrophage qui sous son action produit des médiateurs cellulaires :

- de nature protéique tels que les interleukines-1,6,8 et le Tumor Necrotizing Factor(TNP)
- des radicaux libres oxygénés : O₂, H₂O₂, NO.
- de nature lipidique tels que les prostaglandines E₂, la thromboxane et le FAP (facteurs agréant les plaquettes).

Si la production des médiateurs est faible on note les effets bénéfiques du lipide A, mais par contre les effets néfastes adviennent à la suite d'une production très forte des médiateurs.

1.1.1.2.4.3. Fonction du core polysaccharidique S

Le core interne représente le facteur essentiel de la barrière de perméabilité de la membrane externe à de nombreux composés hydrophobes tels que les colorants, les antibiotiques, les sels biliaires, les détergents et les mutagènes.

1.1.1.2.4.4. Les fonctions des chaînes polysaccharidiques SO

Ces dites chaînes détiennent le rôle de virulence des bactéries à Gram négatif. Du fait de leur hydrophilie, elles sont peu perméables aux antibiotiques et aux composés hydrophobes, lesquels sont maintenus à distance par encombrement stérique, en outre elles interviennent dans l'antigénicité du LPS : la réaction antigène - anticorps utilisée dans le diagnostic des maladies infectieuses pour l'identification et le typage bactérien d'une part (en diagnostic direct) et d'autre part pour le diagnostic sérologique des infections (en diagnostic indirect) reste sous contrôle des chaînes polysaccharidiques SO

Exemples : le sérogroupage O des *E. coli* (*E. coli* 0157)

- le sérogroupage des *Salmonella spp*, épidémiologie des *Salmonella enterica* et *Typhimurium*
- le sérodiagnostic de *Legionella pneumophila*, la chaîne polysaccharidique qui est le support de l'antigénicité O est caractéristique de chaque séro groupe de *L. pneumophila*.

1.1.1.3 Modes d'action des antimicrobiens

Selon Walsh, 2003, les principales cibles des grandes classes d'antimicrobiens sont :

- l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire ;
- l'inhibition de la synthèse de l'ADN ou de l'ARN ;
- l'inhibition de la synthèse des protéines ;
- l'inhibition de la synthèse de l'acide folique par compétition avec l'acide p.aminobenzoïque (PABA).

Prescot et al. en 2010, ont ajouté une cinquième classe qui est la perturbation de la membrane cellulaire selon les mêmes auteurs, par rapport au mode d'action, l'inhibition de la

paroi est surtout sous l'action des pénicillines, des céphalosporines et de la vancomycine de la famille des glycopeptides.

Il y a également perturbation des fonctions cellulaires des ribosomes

1.1.2. Différents genres de bactéries étudiées

1.1.2.1. *Staphylococcus*

1.1.2.1.1. Taxonomie et description du genre

Les staphylococques retrouvés chez les humains et quelques primates incluent *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. caprae*, *S. saccharolyticus*, *S. Warneri*, *S. pasteurii*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. lugdunensis*, *S. auricularis*, *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosus* et *S. stimulans* (Kloos, 1986, 1998 ; Kloos *et al.*, 1991).

Les membres du genre *Staphylococcus* sont des coques Gram+ (0,5 à 1,5 µm de diamètre) qui existent seuls, en paires, en tétrades, en courtes chaînes (3 ou 4 cellules) ou regroupés en grappes. Ils sont immobiles, asporulés, habituellement catalase positive, non capsulés, ou avec une formation capsulée limitée. Les espèces sont anaérobies facultatives, exceptions faites pour *Staphylococcus saccharolyticus* et *Staphylococcus aureus* sp *anaerobius* lesquelles sont anaérobies et catalase négative et qui ne produisent pas de gaz à partir des hydrates de carbone. Certaines souches non communes de *Staphylococcus* doivent nécessiter la présence de CO₂ ou d'autres métabolites (hémine, ménadione) (Slifkin *et al.*, 1971), ou un milieu hypertonique pour la croissance (Proctor *et al.*, 1998).

1.1.2.1.2. Signification clinique

Staphylococcus aureus est une espèce coagulase positive bien connue comme un pathogène opportuniste de l'homme. Aussi bien considéré comme un pathogène nosocomial, *Staphylococcus aureus* est la majeure cause de morbidité et de mortalité. Les infections de *Staphylococcus aureus* sont souvent aiguës et pyogéniques et si elles ne sont pas traitées plus tôt peuvent s'étendre jusqu'aux tissus environnants en passant par la bactériémie aux sites métastatiques (incluant d'autres organes). Certaines infections causées par *Staphylococcus aureus* incluent celles de la peau, les furoncles, les boubouilles, les cellulites, l'impétigo et les infections des plaies post-opératives des différents sites.

D'autres infections plus sérieuses produites par *Staphylococcus aureus* sont les bactériémies, les pneumonies, les ostéomyélites, les endocardites aiguës, les myocardites, les

péricardites, les cérébrites, les méningites, les chorioamnionites (Negishi *et al.*, 1998), le syndrome des brûlures de la peau, les abcès du muscle du tractus urogénital, du système nerveux central et de différents organes abdominaux.

Les variantes de petites colonies de *Staphylococcus aureus* adviennent en sous population qui croît et produit de petites colonies dans les milieux de routine. On retrouve cette population de *Staphylococcus aureus* plus communément chez les patients présentant des infections persistantes inhabituelles comme les fibroses kystiques ou les ostéomyélites chroniques et qui sont chroniquement exposés aux aminoglycosides et à la triméthoprime-sulfaméthoxazole (Looney, 2000 ; Proctor *et al.*, 1998).

Bien que les infections à *Staphylococcus aureus* chez les enfants et les adultes présentant des fibroses kystiques n'affectent pas la fonction respiratoire (Miall *et al.*, 2001 ; Thomas *et al.*, 1998), l'usage continu des thérapies anti-staphylococciques et antimicrobiennes accroît le risque d'installation et de colonisation par *Pseudomonas aeruginosa* (Ratjen *et al.*, 2001).

La présence de *Staphylococcus aureus* dans les aliments peut présenter un danger potentiel en santé publique dès lors que plusieurs colonies de *Staphylococcus aureus* produisent des entérotoxines (Downes *et al.*, 2001). Les symptômes les plus communs de *Staphylococcus aureus* à la contamination des aliments incluent les vomissements et la diarrhée qui surviennent deux à quatre heures après l'ingestion de la toxine. La maladie peut être relativement bénigne (dure seulement quelques heures) mais certaines nécessitent l'hospitalisation.

Les aliments communément associés à ces intoxications staphylococciques alimentaires sont les viandes et dérivés, les salades, les produits de pâtisserie et les produits laitiers.

Le Toxic Shock Syndrome (TSS) une maladie acquise par les communautés a été aussi attribuée à l'infection ou à la colonisation par *Staphylococcus aureus*. Le TSS est prévalent chez les jeunes, chez les femmes en menstruation qui utilisent certains types de tampons hautement absorbants (Tierno *et al.*, 1989).

On retrouve également *Staphylococcus aureus* non génital chez les hommes et les femmes non en menstruation. TSS est associé à certaines souches qui produisent et secrètent l'exotoxine TSST1 (Schlievert *et al.*, 1981).

1.1.2.1.3. Sensibilité aux antibiotiques

Les infections nosocomiales causées par les *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) posent un sérieux problème aux institutions en charge de la santé. La détection de la résistance chez ces isolats est fortement due à la variabilité dans les techniques standards utilisées pour déterminer la résistance à la méthicilline. Les souches résistantes sont souvent hétéro-résistantes aux antibiotiques β -lactames dans ces deux sous populations (l'une sensible et la seconde résistante) qui coexistent dans la même culture (Chambers, 1998). Chaque cellule dans la population doit porter l'information génétique de la résistance mais seulement une petite fraction (10^{-8} à 10^{-4}) peut exprimer le phénotype résistant sous les conditions expérimentales in vitro. La détection avec succès des souches hétéro-résistantes dépend dans une large mesure de la promotion de la croissance des sous populations résistantes, laquelle est favorisée par un pH neutre, une température moyenne (30-35°C), la présence de NaCl (2 à 4%) et une possible incubation prolongée (jusqu'à 48 heures) (Brown, 2001).

La résistance à l'Oxacilline chez les *Staphylococcus* peut être détectée selon le recueil des méthodes recommandées par le National Committee of Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2001).

Pour accroître la précision des sensibilités à la méthicilline, des recueils récents de NCCLS ont donné des seuils de sensibilité pour les différents isolats de *Staphylococcus aureus* et des *Staphylococcus* coagulase négative (NCCLS, 2001). Les difficultés dans la différenciation des isolats MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*) et des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à l'Oxacilline (BORSA : Borderline Oxacillin Resistant *Staphylococcus aureus*) qui sont dues à l'hyperproduction de β -lactamases doivent être un problème pour plusieurs laboratoires cliniques qui n'utilisent pas la PCR (Polymerase chain Reaction) comme méthode standard de détection des MRSA.

Les tests de fluorescence disponibles dans le commerce (Leven *et al.*, 1995; Qadri *et al.*, 1994 et Rohrer *et al.*, 2001) et les tests d'agglutination de latex sur lame (Cavassini *et al.*, 1999 ; Nakatomi *et al.*, 1998 et Rohrer *et al.*, 2001) sont précis et donnent des résultats plus rapidement que les tests de sensibilité standards.

La résistance de *Staphylococcus aureus* à la Gentamycine et autres aminoglycosides peut également être observée (Proctor *et al.*, 1998a).

La résistance à la triméthoprime-sulfaméthoxazole est observée chez les auxotrophes de la thymidine (Proctor *et al.*, 1998b).

Cependant, la précision dans la détermination des standards suit actuellement les méthodes de dilution avec calcul de la concentration minimale d'inhibition utilisant des niveaux bas avec des disques comme suppléments auxotrophes (Proctor *et al.*, 1998b) sous instruction et répertoire du NCCLS avec le Mueller Hinton Agar supplémenté en sang.

1.1.2.1.4. Identification biochimique

Le tableau I donne une clé d'identification biochimique de *Staphylococcus aureus*.

Tableau I : Clé d'identification biochimique de *Staphylococcus aureus*

| Nomenclatures des tests | | Résultats |
|---|--------------|-----------|
| Pigment colonie | | + |
| Coagulase | | + |
| Facteur de groupage | | + |
| Nucléase thermostable | | + |
| Phosphatase alcaline | | + |
| Pyrrolidonyl arylamidase | | - |
| Ornithine Décarboxylase (ODC) | | - |
| Uréase | | 11 à 89% |
| β-galactosidase | | - |
| Voges-Proskauer (Production d'acétoïne) | | + |
| Résistance à la Novobiocine | | - |
| Résistance à la Polymixine B | | + |
| Production d'acide à partir de : (en aérobie) | D-tréhalose | + |
| | D-mannitol | + |
| | D-mannose | + |
| | D-turanose | + |
| | D-xylose | - |
| | D-Cellobiose | - |
| | Maltose | + |
| Sucrose | | + |

+ : positif, supérieur à 90% ; - : négatif, inférieur à 10%) **Source** : Murray *et al.*, 2003

1.1.2.2. *Streptococcus (Enterococcus)*

1.1.2.2.1. Taxonomie et description du genre

Les streptocoques sont des coques Gram positif, catalase négative, anaérobie facultatif et forment des cellules ovoïdes ou sphériques de moins de deux micromètres de diamètre (Bergey *et al.*, 1971). Le contenu en G+C de l'ADN des membres de ce genre est de 34 à 46 mol %. Les streptocoques aérobies sont incapables de synthétiser les composés de l'hème, donc incapables du métabolisme respiratoire. Certaines souches de *Streptococcus pneumoniae* et certaines espèces de type *viridans* ont besoin d'un taux élevé (5%) de CO₂ pour croître.

La croissance de plusieurs isolats de streptocoques est stimulée par une atmosphère enrichie en CO₂. Les streptocoques sont nutritionnellement exigeants avec des besoins nutritifs variables et leur croissance sur des milieux complexes est renforcée par l'adjonction de sang ou de sérum. Le glucose et autres hydrates de carbone sont métabolisés par fermentation avec production d'acide lactique comme métabolite majeur produit à la fin. Le gaz n'est pas produit comme résultat du métabolisme du glucose (Murray *et al.*, 2003). Les isolats de streptocoques produisent l'enzyme leucine-aminopeptidase mais la production du pyrrolidonyl arylamidase (PYR) est rare parmi les streptocoques, advenant seulement chez les isolats de *Streptococcus pyogenes* et quelques souches de pneumocoques.

Les streptocoques β -hémolytiques d'origine humaine sont *Streptococcus pyogenes* groupe A, *Anginosus* groupe A, *Streptococcus agalactiae* groupe B, *Streptococcus dysgalactiae sp equisimilis* groupe C, *Anginosus* groupe C, *Anginosus* groupe F, *Streptococcus dysgalactiae sp equisimilis* groupe G, *Anginosus* groupe G et *Anginosus* non groupables (Kathryn *et al.*, 2003).

1.1.2.2.2. Signification Clinique

Streptococcus pyogenes

β -hémolytique, sensible à la bacitracine, pyrrolydonyl-arylamidase positive, les colonies larges formant streptocoques avec le groupe A de Lancefield sont incluses dans l'espèce *pyogenes* et représente l'un des plus impressionnant pathogène des hommes. Les nombreux facteurs de virulence de *S. pyogenes* (protéine M codée par les gènes emm, les exotoxines pyogéniques codées par les gènes spe ; la capsule de l'acide hyaluronique, les hémolysines et autres facteurs) l'autorisent à causer de larges étendues de sérieuses infections

incluant les pharyngites, l'infection respiratoire, les infections de la peau et du tissu mou, l'endocardite, la méningite et l'arthrite. Les infections avec certaines souches produisant la toxine peuvent résulter d'une fièvre écarlate ou en plus sérieux choc toxique comme symptôme (Kathryn *et al.*, 2003).

Les autres streptocoques β -hémolytiques

Les isolats des groupes B, C et G des streptocoques qui forment les larges colonies appartenant aux sous espèces *agalactiae* et *dysgalactiae* sp *equisimilis* sont des streptocoques pyogéniques semblables à *Streptococcus pyogenes* en respect aux traits de la virulence. Ils causent une vaste étendue de sérieuses infections telles que la bactériémie, l'endocardite, la méningite, l'arthrite septique et les infections du tractus respiratoire et de la peau. Les symptômes cliniques de l'infection du pharynx causés par ces streptocoques sont semblables à ceux de *Streptococcus pyogenes* exceptée la forte association avec *Streptococcus pyogenes* en ce qui concerne les séquelles non suppuratives. Les glomérulonéphrites post-streptococcales sont cependant aussi associées au déclenchement du groupe C pharyngite (Barnham *et al.*, 1983).

Les souches de streptocoques des groupes C et G formant de larges colonies, normalement isolées chez des animaux ont été également notées non fréquentes comme des agents d'infections humaines.

Les souches streptococciques β -hémolytiques formant de petites colonies peuvent exprimer l'antigène du groupe de Lancefield A, C, F ou G, ou peuvent être non groupables. Ces streptocoques sont souvent identifiés comme les membres de l'anginose ou groupe d'espèce *S. milleri* (streptocoques du groupe *viridans*).

Quoique ces organismes puissent être isolés des infections pyogéniques (notamment les abcès), ils peuvent résider dans le pharynx comme des commensaux.

Turner *et al.* (1993) n'ont trouvé aucune association entre ces streptocoques et les pharyngites mais Whiley *et al.* (1999) proposèrent que ces petites colonies formant β -hémolytique du groupe C et classées comme *Streptococcus constellatus* subdivisées *pharyngis* puissent être associées avec les infections de la gorge.

1.1.2.2.3. Sensibilité aux antibiotiques

En dehors de la résistance de certains isolats, la pénicilline reste le médicament de choix pour le traitement des infections à streptocoques pendant que le spectre restreint des

céphalosporines, de l'érythromycine (ou les néomacrolides tels que l'azithromycine, la clarithromycine et la dirithromycine) ou la vancomycine servent comme des choix alternatifs de traitement (Moellering, 2000).

On a noté à travers le monde dans les années 90, la résistance de *Streptococcus pyogenes* à l'érythromycine.

Bien que les streptocoques soient sensibles à la vancomycine, plusieurs études rapportent la découverte de nouvelles souches de *Streptococcus* résistantes à la vancomycine. Les souches de *Streptococcus bovis* isolées des selles sont des entérocoques vancomycine résistants (Poyart *et al.*, 1997).

L'échec du traitement à la pénicilline est imputable à la présence de β -lactamase dans certains cas de pharyngite au site de l'infection (Brook *et al.*, 1995).

Il a été alors envisagé la combinaison de médicaments (par exemple la pénicilline et la gentamycine) pour le traitement des sévères affections des streptocoques du groupe B et pour les endocardites dues aux streptocoques du groupe *viridans* lesquels restent résistants à la pénicilline (CMI > 0,1 à 0,2 $\mu\text{g/mL}$) (Dinubile, 1990).

1.1.2.2.4. Identification biochimique

Le tableau ci après donne les caractéristiques de différenciation des streptocoques β -hémolytiques d'origine humaine.

Tableau II : Caractéristiques de différenciation des streptocoques β -hémolytiques d'origine humaine

| Groupage de Lancefield | Taille de la colonie | Espèces | PYR | VP | CAMP | BGUR |
|------------------------|----------------------|---------------------------------------|-----|-----|------|------|
| A | Large | <i>Streptococcus pyogenes</i> | + | - | - | Ind |
| A | Petite | Groupe <i>Anginosus</i> | - | + | - | Ind |
| B | - | <i>Streptococcus agalactiae</i> | - | Ind | + | Ind |
| C | Large | <i>S. dysgalactiae sp equisimilis</i> | - | - | - | + |
| C | Petite | Groupe <i>Anginosus</i> | - | + | - | - |
| F | Petite | Groupe <i>Anginosus</i> | - | + | - | Ind |
| G | Large | <i>S. dysgalactiae sp equisimilis</i> | - | - | - | + |
| G | Petite | Groupe <i>Anginosus</i> | - | + | - | - |
| Non Groupable | Petite | Groupe <i>Anginosus</i> | - | + | - | Ind |

+ = positif ; - = négatif ; ind = indéterminé ; PYR= Pyrrolidonyl Arylamidase, VP = Voges Proskauer (Production de l'acétoïne) ; CAMP= Protéine extracellulaire Diffusible produite par streptocoque du groupe B (facteur CAMP), agit synergiquement avec la β -lysine produite par *S. aureus* et qui cause la lyse des cellules sanguines ; BGUR = β -D-glucuronidase

Source : Murray *et al.*, 2003

1.1.2.3. *Bacillus*

1.1.2.3.1. Taxonomie et description du genre

Bacillus a été divisé à l'intérieur de plusieurs groupes bien définis sur la base des études séquentielles 16S rARN. Aussi longtemps, neuf nouveaux genres ont été proposés : *Alicyclobacillus* (Wisotzkey *et al.*, 1992) qui contient quatre espèces de thermoacidophiles ; *Paenibacillus* (Ash *et al.*, 1997) contenant 27 espèces et incluant des organismes appelés au début *B. polymyxa*, *B. macerans*, *B. alvei* et les pathogènes des abeilles *B. larvae* et *B. pulvificiens* ; *Brevibacillus* (Shida *et al.*, 1996) contenant dix espèces et incluant des organismes appelés *B. brevis* et *B. laterosporus* ; *Aneurinibacillus* (Shida *et al.*, 1996) avec *A. aneurinilyticus* et deux autres espèces ; *Virgibacillus* (Heyndrickx *et al.*, 1998) avec *V. pantothenicus* et une autre espèce ; *Gracilibacillus* et *Salibacillus* (WainØ *et al.*, 1999) lesquels contiennent chacun deux espèces de halophiles ; *Geobacillus* (Nazina *et al.*, 2001) avec huit espèces de thermophiles incluant *B. stearothermophilus* et *Ureibacillus* (Fortina *et al.*, 2001) possédant deux spores ovales, des espèces thermophiles dont *Sporocarcina* qui contient les mobiles en forme de coque formant des spores, *Sporocarcina ureae* qui est très proche de *Bacillus sphaericus* et quatre espèces en bâtonnets sporulés incluant *Bacillus pasteurii* qui est actuellement rangé dans ce genre (Murray *et al.*, 2003). D'autres genres aérobies sporulés sont *Sulfobacillus*, *Amphibacillus*, *Halobacillus*, *Ammoniphilus* et *Thermobacillus* (Spring *et al.*, 1996 ; Zaitsev *et al.*, 1998 ; Touzel *et al.*, 2000).

Bacillus continue de rassembler les espèces les mieux connues comme *B. subtilis* (l'espèce type), *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. sphaericus* et *B. thuringiensis*. Il est un vaste genre avec 70 espèces. Les membres de *B. anthracis*, *B. cereus* et *B. thuringiensis* sont réellement des pathovars d'une seule espèce (Turnball *et al.*, 2002).

Bien que la production d'endospores résistantes en présence d'oxygène reste le trait défini des *Bacillus* et des nouveaux genres dérivés, la définition a été ébranlée par la découverte de *Bacillus infernus* lequel est strictement anaérobie (Boone *et al.*, 1995). Les membres similaires isolés dans les laboratoires cliniques sont Gram positif en culture jeune mais parfois de gram variable ou franchement Gram négatif, en bâtonnet, formant d'endospores qui peuvent être aérobies ou anaérobies facultatifs. Ils sont pour la plupart catalase positive et peuvent être mobiles au moyen de flagelles péritriches ; plusieurs espèces sont mésophiles mais *Bacillus* renferme quelques thermophiles et psychrophiles ; *Paenibacillus* renferme une espèce psychrophile.

Alicyclobacillus, *Amnioniphilus*, *Amphibacillus*, *Gracibacillus*, *Halobacillus*, *Salibacillus*, *Sulfobacillus*, *Thermobacillus* et *Ureibacillus* ne sont pas comptabilisés dans les descriptions cliniques donc ces genres ne sont pas considérés.

1.1.2.3.2. Signification clinique

La majorité des espèces aérobies formant des endospores, de manière apparente, ont peu ou pas de potentiel pathogénique et sont rarement associées aux maladies chez l'homme et chez d'autres animaux. Les principales exceptions à ceci sont *Bacillus anthracis*, agent de l'anthrax, et *Bacillus cereus*, mais un nombre d'autres espèces particulièrement *Bacillus licheniformis* ont été impliquées dans la contamination des aliments et dans d'autres infections humaines et animales. La résistance des spores à la chaleur, aux radiations, aux désinfectants et à la dessiccation sont imputables à la formation des endospores qui constituent des facteurs de contamination dans les salles d'opérations, les accoutrements chirurgicaux, les produits pharmaceutiques et dans les aliments. D'un côté positif, plusieurs de ces espèces n'ont pas d'importance aux plans clinique et sanitaire mais plutôt leur importance se manifeste dans la la production des antibiotiques (particulièrement la bacitracine du *Bacillus licheniformis* ou *Bacillus subtilis* et la polymyxine de *Paenibacillus polymyxa*) ou la synthèse de certaines vitamines (par exemple les vitamines B2 et B12 synthétisées à partir du *Bacillus megaterium* et la biotine et la riboflavine du *Bacillus subtilis*). Elles servent également de base aux essais d'antibiotiques (*Bacillus cereus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis* et *Gracibacillus stearothermophilus*) (Murray *et al.*, 2003).

La restriction des endonucléases et des ADN polymérase de plusieurs espèces de *Bacillus* sont d'une importance considérable pour une meilleure compréhension des maladies et des diagnostics approfondis. Les espèces de *Bacillus* militent en qualité de système vectoriel pour la synthèse des produits thérapeutiques de biomachinisme.

Certaines d'espèces de *Bacillus* sont des ingrédients actifs des probiotiques pour les animaux et les hommes (Niall *et al.*, 2003).

Les produits thérapeutiques souvent synthétisés sont les peptides non ribosomiques (NRPS = Non Ribosomal Protein Synthesis) (Cabroche S., Leclèvre V., Pupin M., Kucherou G. and Jacques Ph., 2010).

1.1.2.3.3. Sensibilité aux antibiotiques

Bacillus anthracis est sensible à la pénicilline. La gentamycine, l'érythromycine et le chloramphénicol sont administrés en combinaison et même en combinaison thérapeutique à la fluoroquinolone comme la ciprofloxacine (Murray *et al.*, 2003). *Bacillus cereus* et *Bacillus thuringiensis* produisent des β -lactamases et résistent à la pénicilline, l'ampicilline et les céphalosporines. Ils résistent également à la triméthoprimine mais restent sensibles à la clindamycine, à l'érythromycine, au chloramphénicol, à la vancomycine et aux aminoglycosides, à la tétracycline et aux sulfonamides.

La ciprofloxacine appliquée per os est utilisée avec succès dans les plaies infectées à *Bacillus cereus*. La clindamycine avec la gentamycine appliquée plus tôt apparaissent être les meilleurs traitements contre les infections ophtalmiques causées par *Bacillus cereus* et les expériences effectuées sur des rats suggèrent que ces corticostéroïdes sont efficaces dans ces cas (Liu *et al.*, 2000). En général, la gentamycine est efficace dans le traitement des infections à *Bacillus*.

1.1.2.3.4. Identification biochimique

Le tableau 3 donne quelques caractéristiques biochimiques de différenciation entre certains *Bacillus*.

Tableau III : Quelques caractéristiques biochimiques de différenciation entre certains *Bacillus*.

| Caractères | Groupe de <i>B. subtilis</i> | | | Groupe de <i>B. cereus</i> | | |
|--------------------------------------|------------------------------|-------------------------|-------------------|----------------------------|---------------------|-------------------------|
| | <i>B. subtilis</i> | <i>B. licheniformis</i> | <i>B. pumilus</i> | <i>B. cereus</i> | <i>B. anthracis</i> | <i>B. thuringiensis</i> |
| Réaction de l'émulsion d'oeuf | - | - | - | + | + | + |
| Hydrolyse de la caséine | + | + | + | + | + | + |
| Hydrolyse de l'amidon | + | + | - | + | + | + |
| Arginine dihydrolase | - | + | - | V(-) | - | + |
| Production d'indole | - | - | - | - | - | - |
| Hydrolyse de la gélatine | + | + | + | + | (+) | + |
| Réduction de nitrates | + | + | - | (+)[+] | + | + |
| Gaz à partir des hydrates de carbone | - | - | - | - | - | - |
| Production d'acide à partir de : | | | | | | |
| D-arabinose | - | - | - | - | - | - |
| Glycérol | + | + | + | +[V] | - | + |
| Glycogène | + | + | - | +[-] | + | + |
| Inuline | (+) | V | - | - | - | - |
| Mannitol | + | + | + | - | - | - |
| Salicine | + | + | + | +[-] | - | (+) |
| D-Tréhalose | + | + | + | + | + | + |

+ = > 85% positif ; (+) = 75 à 84% positif ; V= variable (26 à 74% positif) ; (-) = 16 à 25% positif ; - = 0 à 15% positif. Les réactions arginine dihydrolase, production d'indole, hydrolyse de la gélatine et réduction de nitrate sont des réactions déterminées par l'utilisation des tests de la galerie API 20E. Les réactions de la formation d'acide à partir des hydrates de carbone ont été déterminées à partir du système API 50CHB

Source : Murray *et al.*, 2003

1.1.2.4. *Clostridium*

1.1.2.4.1. Taxonomie et description du genre

Historiquement, le genre *Clostridium* renferme obligatoirement les bâtonnets sporulés anaérobies (ou aérotolérants) qui ne forment pas les spores en présence de l'air ; ils sont habituellement Gram positif (au moins dans les premiers stades de la croissance) et qui ne portent pas une sulfite-réduction dissimulatrice (Cato *et al.*, 1989 et Collins *et al.*, 1994).

Bien que la diversité génétique significative à l'intérieur du genre ait été connue depuis (Johnson *et al.*, 1975), les études utilisant les séquences du gène 16S rARN déterminées par le séquençage direct par la PCR et la construction des arbres phylogénétiques révèlent que le genre *Clostridium* est extrêmement hétérogène et pourrait être divisé entre plusieurs arrangements phylogénétiques. L'espèce type *Clostridium butyricum*, et plusieurs des espèces importantes de *Clostridium* médicales sont rangées dans le compartiment 1 équivalent au groupe 1 rARN de Johnson et Francis. En 1994, Collins *et al.* nommèrent cinq nouveaux genres de bâtonnets sporulés : *Caloramator*, *Filifactor*, *Morella*, *Oxobacter* et *Oxalophages* (Collins *et al.*, 1994). Aucune de ces désignations d'espèces et de ces nouveaux genres n'a de signification médicale.

Cependant, le nom de *Clostridium putrificum* fut rejeté pendant que *Clostridium botulinum* et *Clostridium sporogenes* sont conservés quoique les colonies de *Clostridium putrificum*, *Clostridium botulinum* et *Clostridium sporogenes* soient connues comme génétiquement liées au niveau espèce. La nomenclature nouvelle considère alors *Clostridium botulinum* comme une simple espèce (JCICSB, 1999). Sur la base des similarités de l'hybridation ADN-ADN et d'autres données, *Clostridium hylemonae* et *Clostridium hyranonis* sont les noms proposés pour les deux nouvelles espèces de bactéries intestinales humaines avec l'activité de la 7 α -déshydroxylation de l'acide biliaire (Kitahara *et al.*, 2000 ; 2001). Actuellement, plus de 150 espèces de *Clostridium* sont notoirement publiées.

Les cellules végétatives de plusieurs espèces sont des bâtonnets droits ou incurvés, mais les cellules varient de courts coccoïdes aux formes filamenteuses longues. Les cellules apparaissent singletons, en paires ou en chaînes de dimensions variées. Chez certaines espèces (comme *Clostridium codeatum* et *Clostridium spiroforme*), plusieurs bâtonnets peuvent être joints pour former des configurations en spirales très serrées. Plusieurs espèces Gram positif, au cours du stade primaire de croissance, telles que *Clostridium ramosum* et *Clostridium clostridioforme*, apparaissent presque toujours Gram négatif après une culture de nuit. Plusieurs espèces (par exemple *Clostridium tetani*) apparaissent Gram- avec la formation des

spores. Peu d'espèces sont mobiles par le biais de flagelles péritriches. Les espèces immobiles isolées des spécimens cliniques incluent *Clostridium perfringens*, *Clostridium ramosum* et *Clostridium innocuum*. Les spores des clostridies sont ovoïdes ou sphériques et font étirer les cellules végétatives. Certaines espèces comme *Clostridium perfringens* produisent des spores seulement sous des conditions spéciales de culture. Bien que la majorité des espèces de *Clostridium* soient des anaérobies obligatoires, il y a une considérable variation de l'espèce par rapport à la toxicité de l'oxygène ; certaines espèces (par exemple *Clostridium haemolyticum* et *Clostridium noviyi* type B) sont des anaérobies strictes obligatoires et ne peuvent pousser si exposées à une quelconque trace d'oxygène. Peu d'espèces aérotolérantes (*Clostridium tertium*, *Clostridium carnis*, *Clostridium hystolyticum* et occasionnellement certaines souches de *Clostridium perfringens*) affichent une croissance insuffisante sur des milieux solides incubés en atmosphère enrichie de 5 à 10% de CO₂ en incubateur ventilé ou dans une jarre à bougie (Murray *et al.*, 2003).

Les clostridies aérotolérants peuvent être confondus avec certaines espèces de *Bacillus* anaérobies facultatifs. Cependant, les membres du genre *Clostridium* forment habituellement des spores sous des conditions anaérobies et ne produisent presque jamais la catalase. Aussi, les clostridies montrent-ils une meilleure croissance (c'est-à-dire forment de larges colonies) sous des conditions anaérobies que dans l'air, différemment des espèces de *Bacillus* (Summanen *et al.*, 2002).

1.1.2.4.2. Signification clinique

Les infections tissulaires dues à *Clostridium perfringens* ne sont plus à démontrer. *Clostridium perfringens* est une espèce communément isolée des spécimens humains (les fèces exclus). On le retrouve depuis les contaminations des plaies jusqu'au myonécroses traumatiques et non traumatiques, les cellulites clostridiales, les septicités intra-abdominales, les cholécystites gangréneuses, les infections post abortives avec des septicémies dévastatrices, les hémolyses intra-vasculaires, les bactériémies sous leurs divers traits cliniques, les pneumonies aspiratrices et nécrotisantes, les emphysèmes thoraciques, les emphysèmes cachés et les abcès du cerveau (Gorbach, S.L., 1998). *Clostridium perfringens* est également associé aux toxi-infections alimentaires. Pendant plusieurs années, il a été l'une des premières causes de maladies d'origine alimentaire aux Etats Unis (Olsen, 2000 ; Shandera *et al.*, 1983). Le type A est associé aux gastroentérites causées par les viandes mal cuites et les produits carnés. La maladie est suspectée suite à des diarrhées accompagnées de douleurs dues à des

crampes stomacales environs 7 à 15 heures après consommation de l'aliment incriminé. Les malaises adviennent à la suite de l'ingestion de l'aliment contenant environs 10^8 UFC de cellules végétatives dans un environnement alcalin de l'intestin grêle et passant par la sporulation et une production d'entérotoxine (Shandera *et al.*, 1983). L'entérotoxine, un polypeptide d'un poids moléculaire de 35000, s'accumule avec les cellules de *Clostridium perfringens* au moment de la sporulation et est déversée dans le petit intestin lorsque les cellules sporulées passent par la lyse et le relâchement de leurs spores (Kokai-Kin *et al.*, 1997). Après son relâchement dans l'intestin grêle, l'entérotoxine se lie apparemment aux récepteurs à la surface de l'épithélium intestinal et cause des dommages cytotoxiques aux membranes cellulaires et des altérations de la perméabilité favorisant des diarrhées et les symptômes des crampes abdominales (Kokai-Kin *et al.*, 1997). Les études du modèle animal ont révélé que l'entérotoxine de *Clostridium perfringens* cause un dommage histopathologique significatif à l'intestin grêle incluant les nécroses des cellules des villosités (Sherman *et al.*, 1994). Chez les hommes, la maladie est bénigne et beaucoup de patients guérissent deux à trois jours après l'infection.

1.1.2.4.3. Sensibilité aux antibiotiques

Malgré la résistance évolutive à la pénicilline parmi les isolats (Marrie *et al.*, 1981) et les faibles impacts dans les traitements expérimentaux chez les animaux avec les antibiotiques seuls, la pénicilline G (10×10^6 à 24×10^6 UI/j) est considérée comme le médicament de choix contre la gangrène gazeuse dans certains tests (Lorber, 2000). L'on n'a pas retrouvé la β -lactamase chez *Clostridium perfringens*. La résistance à la pénicilline G peut impliquer une faible affinité à la protéine I liant la pénicilline (Hecht *et al.*, 1989) mais sa signification pratique demeure non élucidée. Néanmoins, dans le modèle des souris de la gangrène gazeuse, l'issue est meilleure pour les souris traitées avec la clindamycine, le métronidazole, la rifampine, le chloramphénicol ou la tétracycline seule, ou avec la clindamycine combinée à la pénicilline que si elle a été effective pour les animaux qui n'ont reçu que seulement la pénicilline G (Stevens *et al.*, 1987a ; 1987b). Ainsi, au cours de ces études, la combinaison du métronidazole et de la pénicilline G est antagoniste donc pour le traitement de la gangrène gazeuse, il semble sage de sélectionner une alternative de la pénicilline seule, comme la combinaison de la clindamycine et de la pénicilline G (Lorber, 2000).

1.1.2.4.4. Identification biochimique

De tous les clostridies investigués, *Clostridium perfringens* retient notre attention quant aux caractéristiques différentielles de son identification. Néanmoins, quelques traits biochimiques sont communs à tous les clostridies. La catalase est rarement produite et ainsi la réaction est faiblement positive. En plus, les clostridies sont dépourvus de système cytochrome et donc réagissent négativement dans le test du cytochrome oxydase. Les clostridies sont usuellement fermentatifs ou protéolytiques ou les deux à la fois, mais certains sont saccharolytiques et non protéolytiques. Plusieurs clostridies produisent une gamme de courtes chaînes d'acides gras (par exemple acétate et butyrate) lorsqu'ils poussent dans le milieu peptone-extrait de levure-glucose ou dans le milieu viande hachée-hydrates de carbones et plusieurs d'entre eux produisent une variété d'autres produits de fermentation (comme par exemple acétone, butanol et autres alcools).

1.1.2.5. *Escherichia coli*

1.1.2.5.1. Taxonomie et description du genre

Le genre est composé des bactéries mobiles et non mobiles se conformant aux définitions de la famille des Enterobacteriaceae. Il y a cinq espèces dans ce genre : *Escherichia blattae*, *Escherichia coli*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii* et *Escherichia vulneris*. L'espèce type est *Escherichia coli*.

1.1.2.5.2. Signification clinique

Des cinq espèces d'*Escherichia*, *E. coli* est l'espèce usuellement isolée des spécimens humains. C'est une partie de la flore intestinale des individus bien portants, cependant, certaines souches peuvent causer des infections extra-intestinales et intestinales chez des individus immuno-déficients aussi bien que chez des individus bien portants. Les infections du tractus urinaire, les bactériémies, la méningite et la diarrhée sont les syndromes cliniques les plus fréquents et causés à priori par un nombre limité de clones pathogènes d'*Escherichia coli*, de *Escherichia hermannii* et de *Escherichia vulneris*, lesquels sont le plus souvent à la base des infections de plaies et d'infections d'autres parties du corps, pendant que *Escherichia fergusonii* est le plus fréquemment identifié dans les selles humaines (Bettelheim, 1992). *Escherichia blattae* qui est un organisme commensal des cafards n'est pas retrouvé dans les spécimens humains.

✚ *Escherichia coli* diarrhéogénique

Il y a quatre catégories de *Escherichia coli* diarrhéogénique reconnues : *Escherichia coli* produisant la toxine de la Shiga (STEC) (aussi référé à *Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC), *Escherichia coli* entérotoxigène (ETEC), *Escherichia coli* entérotoxigène (EPEC) et *Escherichia coli* entéroinvasif (EIEC) (Nataro, 1998).

✚ Le groupe O :157 et autres sérogroupes STEC

Nous nous référons à la catégorie STEC d'*Escherichia coli* diarrhéogénique selon la toxine produite par ces organismes c'est-à-dire TEC plutôt que EHEC parce que les traits génétiques essentiels définissant les organismes capables de causer les colites hémorragiques et le syndrome hémolytique urémique (HUS) ne sont pas clairs. Les sérotypes de *Escherichia coli* O : 157 H : 7 et O : 157 non mobile (O : 157 STEC) produisent une ou plusieurs toxines Shiga appelées aussi verocytotoxines et sont les plus fréquemment identifiées comme les sérotypes d'*Escherichia coli* en Amérique du Nord et en Europe.

Escherichia coli O : 157 H : 7 et autres sérotypes STEC causent une maladie qui peut présenter une diarrhée non sanguinolente modérée, une sévère diarrhée sanglante (colite hémorragique) et le syndrome hémolytique urémique (HUS) (Griffin *et al.*, 2002). Les symptômes additionnels de l'infection de *Escherichia coli* O : 157 H : 7 incluent les crampes abdominales et une absence de fièvre élevée. Des patients présentant la diarrhée avec O :157 STEC (8% approximativement) développent le HUS, une condition caractérisée par une anémie hémolytique microangiopathique, une thrombocytopénie et une insuffisance rénale aigue.

On pense que O : 157 STEC cause au moins 80% des HUS en Amérique du Nord et est reconnue comme une commune cause des diarrhées sanglantes dans les pays en voie de développement (Murray *et al.*, 2003).

✚ ETEC

ETEC qui produit *Escherichia coli* entérotoxique thermolabile, *Escherichia coli* entérotoxique thermostable ou les deux, est une importante cause de diarrhée dans les pays en voie de développement, en particulier parmi les jeunes enfants (Nataro *et al.*, 1998). ETEC est aussi une cause fréquente de la diarrhée des voyageurs. Dix déclenchements ont été rapportés par le Centre de Contrôle des Maladies et de la Prévention de 1995 à 2001, au moment où seulement 15 déclenchements sont advenus les 25 dernières années (Murray *et al.*, 2003).

Les symptômes les plus proéminents de la maladie de ETEC sont la diarrhée et les crampes abdominales, quelquefois accompagnées d'une nausée et de mal de tête, mais habituellement avec un léger vomissement ou la fièvre (Dalton *et al.*, 1999). Bien qu'EPEC soit habituellement associé avec une diarrhée relativement aqueuse et légère, la maladie dans les récents déclenchements a été notée pour sa durée prolongée.

1.1.2.5.3. Sensibilité aux antibiotiques

STEC

La thérapie antimicrobienne de la diarrhée pour O : 157 STEC ou HUS n'a pas été trouvée efficace et sécurisante. En conséquence, la susceptibilité antimicrobienne est habituellement déterminée seulement pour les études épidémiologiques.

Dans un passé récent, les isolats de *Escherichia coli* O : 157 H : 7 étaient au plus uniformément sensibles aux agents antimicrobiens. Cependant, depuis 1990, les souches de O : 157 et autres STEC ont montré doucement des niveaux élevés de résistance à certains antibiotiques en particulier, la streptomycine, les sulfamides et la tétracycline (Slutsker *et al.*, 1997).

ETEC, EPEC, EIEC et autres souches d'*Escherichia coli* diarrhéogénique

Le traitement avec un antibiotique approprié peut réduire la sévérité et la durée des symptômes d'infections causées par ETEC (Nataro *et al.*, 1998). La résistance antimicrobienne particulièrement à la tétracycline est commune à toutes les souches ETEC isolées aux Etats Unis. Le traitement antibiotique doit aider à endiguer la diarrhée causée par EPEC. Il est utile d'anticiper les déclenchements causés par ces souches par une bonne application et une bonne combinaison d'antibiotiques appropriés pour éviter leur résurgence à des fins diarrhéiques (Murray *et al.*, 2003).

1.1.2.5.4. Identification biochimique

En se référant aux normes ISO 7251 et ISO 4832 suivie de la norme NF 7261, les différentes souches d'*Escherichia coli* précitées, après isolement et purification successifs, feront l'objet d'ensemencement à l'aide de la galerie API 20^E. Après confirmation, on soumettra les souches isolées à la sérologie à l'aide des antigènes O et H (Leyral et Vierling, 1997).

1.1.2.6. *Salmonella*

1.1.2.6.1. Taxonomie et description du genre

Le genre *Salmonella* est composé de bactéries mobiles se conformant ainsi à la définition de la famille des Enterobacteriaceae. Deux espèces sont couramment reconnues dans le genre *Salmonella*, *Salmonella enterica* et *Salmonella bongori* (au prime abord sous-espèces V) (Reeves *et al.*, 1989). *Salmonella enterica* a été subdivisé en 6 sous-espèces (*Salmonella enterica* sous-espèce *enterica* désigné sous-espèce I, *Salmonella enterica* sous-espèce *salamae*, sous-espèce II, *Salmonella enterica* sous-espèce *arizonae*, sous-espèce IIIa, *Salmonella enterica* sous-espèce *diarizonae*, sous-espèce IIIb, *Salmonella enterica* sous-espèce *houtenae*, sous-espèce IV et *Salmonella enterica* sous-espèce *indica*, sous-espèce VI).

Les souches de la sous-espèce I sont habituellement isolées des humains et des animaux à sang chaud.

Les souches des sous-espèces II, IIIa, IIIb, IV et VI et *Salmonella bongori* sont habituellement isolées des animaux à sang froid et de l'environnement (rarement des hommes).

Nomenclature pour *Salmonella* et distribution des sérotypes

Le Centre de référence et de Recherche sur *Salmonella* collaborant avec l'OMS, lequel est logé à l'institut Pasteur à Paris France désigne les sérotypes (sérovirs) appartenant à *Salmonella enterica* sous-espèce *enterica* (sous-espèce I) avec un nom qui est lié au lieu géographique où le sérotype a été pour la première fois isolé (Popoff *et al.*, 2001). Le nom du sérotype n'est pas écrit en italique mais la première lettre est une lettre capitale (par exemple *Salmonella* serotype [ser] Typhimurium ou *Salmonella* Typhimurium). Les sérotypes appartenant à d'autres sous-espèces sont désignés par leur formule antigénique en suivant le nom de la sous-espèce (par exemple *Salmonella enterica* sous-espèce *salamae* ser 50 :z :e,n,x ou *Salmonella* serotype II 50 :z :e,n,x). Le laboratoire National de Référence pour *Salmonella* au CDC utilise cette nomenclature avec la déviation mineure d'utiliser le terme « sérotype » au lieu de « sérovar » et encourage fortement son utilisation parce qu'il communique la relation taxonomique appropriée de plus de 2500 membres antigéniquement distincts de ces deux espèces (Brenner *et al.*, 2000). De manière courante, il y a 2501 sérotypes de *Salmonella* (Popoff *et al.*, 2001). Plusieurs de ces sérotypes, incluant *Salmonella* sérotype Typhi, appartiennent aux sous-espèces I (1478 sérotypes reconnus) et sont trouvés dans les groupes O, A, B, C, D et E. Les deux sérotypes plus connus isolés aux USA sont les

sérotypes Typhimurium et Enteritidis (CDCP, 2001). Les sérotyes appartenant aux sous-espèces II (498 sérotypes), IIIa (94 sérotypes), IIIb (327 sérotypes), IV (71 sérotypes), VI (12 sérotypes) et *S. bongori* (21 sérotypes) ont été trouvés au prime abord dans les groupes O, O II (F) à travers 0 67 (le plus grand groupe O) (Le Minor *et al.*, 1986 ; Reeves *et al.*, 1989). Le genre « *Arizona* » est inclus dans le genre *Salmonella*. Les sous-espèces IIIa renferment les souches monophasiques et les sous-espèces IIIb les souches diphasiques.

1.1.2.6.2. Signification clinique

Les souches non typhoïdales de *Salmonella* causent habituellement une infection intestinale (accompagnée de diarrhée, de fièvre et de crampes abdominales) qui finit souvent une semaine ou plus (Miller *et al.*, 1995 ; Hohmann, 2001). Moins communément, le *Salmonella* non typhoïdal peut causer des infections locales (ostéomyélite ou infection du tractus urinaire) ou bactériémie, spécialement chez les personnes immunodépressives ; cependant, les personnes de tous les âges sont affectées. L'incidence est plus élevée chez les enfants. *Salmonella* est ubiquiste chez les animaux et la maladie chez l'homme est liée aux aliments d'origine animale. La salmonellose est transmise par un contact direct avec les animaux, par des aliments d'origine non animale, par l'eau et occasionnellement par un contact humain. Chaque année, une estimation de 1,4 millions de cas d'affections et 600 morts sont causés par la salmonellose non typhoïdale aux Etats Unis (Mead *et al.*, 1999).

La fièvre typhoïde est une sérieuse infection de la physiologie sanguine, fréquente dans les pays en voie de développement. La fièvre typhoïde typique présente une forte fièvre et un mal de tête, sans diarrhée. La maladie est plus modérée chez les jeunes enfants, la fièvre est non spécifique (Mermin *et al.*, 1998 ; Mead *et al.*, 1999). Les hommes constituent le seul réservoir et sont les porteurs sains. La fièvre typhoïde typique à la dose d'infection basse (inférieur à 10^3) a une période d'incubation fortement variable longue (1 à six semaines). Elle est transmise par contact de personne à personne ou par des aliments et l'eau fécalement contaminés. Un syndrome similaire à la fièvre typhoïde est causé par des souches de *Salmonella* paratyphoïdal : sérotypes Paratyphi A, Paratyphi B et Paratyphi C.

1.1.2.6.3. Sensibilité aux antibiotiques

La thérapie antimicrobienne n'est pas recommandée pour une gastroentérite à *Salmonella* non compliquée. En particulier, une sensibilité réduite à la ciprofloxacine est convenable pour les isolats de *Salmonella* sérotype Typhi (Threlfall *et al.*, 2001). Des céphalosporines de troisième génération, des inhibiteurs de la gyrase nouvellement développés et des macrolides sont utilisés dans le traitement de la fièvre typhoïde chez l'enfant (Murray *et al.*, 2003).

1.1.2.6.4. Identification biochimique

Le tableau 4 ci-dessous indique quelques tests biochimiques utiles pour l'identification des *Salmonella* non Typhi, sérotypes Typhi et Paratyphi A.

Tableau IV : Test biochimique d'identification des *Salmonella* non Typhi, sérotypes Typhi et Paratyphi A.

| Tests | <i>Salmonella</i> non typhoïde sous-espèce I : réactions | <i>Salmonella</i> Typhi : réactions | <i>Salmonella</i> Paratyphi : réactions |
|-------------------------------|--|-------------------------------------|---|
| TSI (Triple Sugar Iron) | K/Ag | K/A | K/Ag |
| H ₂ S (TSI) | + | + (faible) | -ou + (faible) |
| Indole | - | - | - |
| Rouge de méthyle | + | + | + |
| Voges-Proskauer | - | - | - |
| Citrate de Simmons | + | - | - |
| Urée | - | - | - |
| Lysine Décarboxylase (LDC) | + | + | - |
| Arginine Dihydrolase (ADH) | + | d | (+) |
| Ornithine Décarboxylase (ODC) | + | - | + |
| Mobilité | + | + | + |
| Muqueux | + | - | - |
| Malonate | - | - | - |
| Croissance dans KCN | - | - | - |
| Glucose, | Ag | A | Ag |
| Lactose | - | - | - |
| Sucrose | - | - | - |
| Salicine | - | - | - |
| Dulcitol | Ag | - | Ag (2 jours) |
| Inositol | d | - | - |
| Sorbitol | Ag | A | Ag |
| ONPG | - | - | - |
| Galacturonate | - | - | - |

K= alcalin ; A= acide ; g=gaz ; +=90% ou plus positif après 1 ou 2 jours ; (+) : réaction positive après 3 jours ou plus ; -= pas de réaction (90% ou plus) après 7 jours ; d=différentiel

Source : Murray *et al.*, 2003

1.1.2.7. *Klebsiella*

1.1.2.7.1. Taxonomie et description du genre

Les membres appartenant à la famille des Enterobacteriaceae sont Gram négatif anaérobies facultatifs, des bâtonnets ou des coccobacilles, larges entre 0,3 à 1µm et longs entre 0,6 à 6 µm. De ces organismes isolés des spécimens humains, toutes les souches de *Klebsiella* sont immobiles. Cependant, les isolats qui ont des besoins en cystéine urinaire de *Klebsiella pneumoniae*, dont les colonies poussent comme des colonies en pointes d'épingles sont rencontrées sur les milieux de routine. Si on les détecte, ces souches nécessitent une supplémentation de milieux biochimiques ou de systèmes commerciaux d'identification avec 0,63 mM de cystéine pour une identification précise. *Klebsiella* reste une souche capsulée.

1.1.2.7.2. Signification clinique

Les données les plus récentes du Système International de Surveillance des Infections Nosocomiales rangent *Klebsiella pneumoniae* (Richards *et al.*, 1999) parmi les septièmes agents les plus communs impliqués dans les infections nosocomiales du tractus urinaire, les infections de la physiologie sanguine, des infections cardiovasculaires, des infections du nez, des oreilles et de la gorge. On parle aujourd'hui plutôt d'infections associées au soin, ce qui inclut les infections contractées lors des soins chez le dentiste, chez l'oculiste et même lors des soins médicaux reçus à la maison (Hajjar J., 2008).

Il est classé également comme quatrième cause des pneumonies hospitalières acquises.

Klebsiella est, à l'origine, à hauteur de 68% d'infections des plaies alors que *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* sont respectivement à hauteur de 31 et 55% pour la même infection (Turim-Danso *et al.*, 1992).

Bien que *Klebsiella pneumoniae* cause quatre fois moins de sepsie que les Gram positif, il est deux fois plus à l'origine de décès des malades (Vallis *et al.*, 1997).

Klebsiella est responsable des infections du tractus urinaire. Les études de surveillance en Europe de ces infections ont montré que 7% provenaient d'infections à *Klebsiella* (Jones *et al.*, 1999). *Klebsiella* est transporté dans le nasopharynx et l'intestin.

Approximativement, le 1/3 des malades hospitalisés abritent dans leurs fèces des *Klebsiella* et ces derniers en constituent le réservoir (Montgomerie *et al.*, 1979).

Klebsiella rhinoscleromatis et *Klebsiella ozaenae* causent des infections granulomateuses appelées rhinoscleroma et les rhinites atrophiques respectivement. Ses deux

sont des maladies chroniques du tractus respiratoire élevé bien que les rhinites atrophiques soient restreintes au nez, le rhinoscleroma doit s'étendre à la trachée et au larynx (Janda et Abbott, 1998). Ces maladies surviennent surtout dans les zones tropicales dans le monde, la transmission serait de personne à personne.

Klebsiella granulomatis cause les ulcères notamment l'ulcère chronique génital et on le retrouve de manière prédominante dans les pays tropicaux (Hart et Rao, 1999). On pense que *Klebsiella (c) granulomatis* est sexuellement transmis et c'est le réservoir connu chez l'humain.

Les souches telles que *Raoultella (Klebsiella) planticola* et *Raoultella (Klebsiella) terrigena*, qui se distinguent très difficilement de *Klebsiella pneumoniae*, sans avoir recours à des tests spéciaux, sont généralement considérées comme des souches de l'environnement et 15 à 39% de ces souches isolées en Europe possèdent les mêmes traits de pathogénicité que *Klebsiella pneumoniae*.

1.1.2.7.3. Sensibilité aux antibiotiques

Il y a une évolution de la résistance au sein des membres des Enterobacteriaceae, spécialement les organismes connus avoir un spectre étendu en β -lactamase (ESBL = Extended-Spectrum β -Lactamase), les céphalosporinases et les carbapénemases (ASCP Susceptibility group, 1997).

La prévalence des ESBL est élevée chez *Klebsiella pneumoniae*. Dans plusieurs régions du monde, la classe des céphalosporinases C medium-plasmides a émergé chez *Klebsiella pneumoniae* pendant que les céphalosporinases AmpC medium sont retrouvés au plan chromosomique chez *Citrobacter* spp, *Morganella*, *Providencia*, *Proteus vulgaris* et *Citrobacter Koseri* (Livemore, 1995). On a retrouvé localisées dans les plasmides de *Klebsiella pneumoniae* des céphalosporinases (avec des substrats tels que ESBL, des céphamycine et l'aztreoname) et des carbapénemases (avec des substrats tels que l'oxamino-céphalosporines et l'aztreoname) mais il résiste à l'acide clavulanique.

Toute souche d'Enterobacteriaceae qui montre une possession du spectre étendu en β -lactamase ou de la céphalosporinase AmpC est considérée comme résistante à toutes les pénicillines, au spectre élargi des céphalosporines et à l'aztreoname (Patterson et Yu, 1999).

1.1.2.7.4. Identification biochimique

Le tableau ci-après donne les spécifications identificatrices des souches de *Klebsiella* et associées.

Tableau V : Spécifications biochimiques identificatrices des souches de *Klebsiella* et associées.

| Espèces | Indole | ODC | VP | Malonate | ONPG | Croissance | |
|----------------------------|--------|-----|----|----------|------|------------|------|
| | | | | | | 10°C | 45°C |
| <i>R. ornithinolytica</i> | + | + | V | + | + | + | ind |
| <i>K. oxytoca</i> | + | - | + | + | + | - | + |
| <i>K. ozaenae</i> | - | - | - | - | V | ind | ind |
| <i>K. pneumoniae</i> | - | - | + | + | + | - | + |
| <i>R. planticola</i> | V | - | + | + | + | + | - |
| <i>R. terrigena</i> | - | V | + | + | + | + | - |
| <i>K. rhinoscleromatus</i> | - | - | - | + | - | ind | ind |

R : *Raoultella* ; K : *Klebsiella* ; ODC : Ornithine Décarboxylase ; VP : Voges-Proskauer ; ONPG : Ortho-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside ; ind : indéterminé ; += supérieur ou égal à 90%. V : 11 à 80% ; - : $\leq 10\%$; V : variable.

1.2. Champignons étudiés

1.2.1. Levure pathogène *Candida*

1.2.1.1. Taxonomie et description du genre

Le genre hétérogène *Candida* appartient à la famille des Cryptococcaceae incluant les Deuteuromycetes (Fungi Imperfectii). Le genre renferme approximativement deux cents espèces. Les genres téléomorphes incluent *Clavispora*, *Debaromyces*, *Issatchenkia*, *Kluyveromyces*, *Pichia* et *Yarrowia*. Ce grand nombre de téléomorphes qui sont en relation avec le genre montre que *Candida* est un mélange d'espèces non liées. La désignation du genre *Candida* est utilisée pour toute levure asexuée qui ne possède aucun des caractères suivants : production d'acide acétique, pigments rouge, encre ou visuellement détectables, arthroconidies, scissiparité unie et bipolaire à une base, blastoconidies formées sur les sympodules, cellules triangulaires, scission entéroblastique basipétale, habituellement avec des colonies muqueuses et habileté à croître sur l'inositol comme seule source de carbone et possession de bellistoconidies (Kurtzman *et al.*, 1998).

Les espèces de *Candida* sont des levures ubiquistes retrouvées dans plusieurs plantes et sont les membres de la flore normale du tractus digestif des mammifères et dans les tissus muqueux des humains (Odds, 1988).

1.2.1.2. Signification clinique

Candida possède des déterminants de virulence qui militent pour un parasitisme important. Ces attributs incluent relativement une rapide germination des tissus granuleux de la physiologie sanguine (Hazen *et al.*, 1991), production de protéases (Kwon-Chung *et al.*, 1985), un complément du récepteur du binding-protein. Seulement, *Candida tropicalis* apparaît plus virulent que *Candida albicans* lorsqu'il est présent chez des malades présentant la leucémie ou la maladie lymphoréticulaire maligne (Wingard *et al.*, 1982). Quelques espèces de *Candida* médiocrement importantes incluent *Candida catenulata*, *Candida ciferrii*, *Candida guilliermondii*, *Candida haemulonii*, *Candida kefyr*, *Candida crusei*, *Candida lipolytica*, *Candida lusitaniae*, *Candida norvegensis*, *Candida parapsilosis*, *Candida pulcherima*, *Candida rugosa*, *Candida utilis*, *Candida viswanathii* et *Candida zeylanoides* (Hazen *et al.*, 1995).

Les trois espèces qui apparaissent comme des pathogènes opportunistes sont *Candida lipolytica*, *Candida lusitaniae*, *Candida crusei* ; elles ont été isolées des malades présentant des fongémies.

Essentiellement, toutes les parties du tractus gastro-intestinal humain peuvent abriter *Candida*. Le plus communément isolé (50 à 70% des levures isolées) du tractus gastro-intestinal humain est *Candida albicans* suivi de *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* et *Candida glabrata*.

Les espèces de *Candida* sus-citées et qui constituent la flore normale du tractus gastro-intestinal humain peuvent causer des maladies mortelles chez les patients dont le système immunitaire est altéré par des maladies dégénératives. *Candida albicans* est associé au syndrome de l'immunodéficience acquis et elle est l'espèce la plus communément isolée présentant presque toutes les formes de candidose. Une attention particulière doit être accordée à toute espèce de *Candida* isolée du sang surtout si elle provient d'un malade immunodéficient ou immunodéprimé. 97% des candidémies sont causés par *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* et *Candida crusei* (Edmond *et al.*, 1999).

Les candidoses orales sont considérées comme une maladie induite par le SIDA. Elles sont souvent causées par *Candida albicans* ou *Candida dublimensis*. Elles doivent être présentes aux stades prodromaux du SIDA ou accompagner les dernières étapes du SIDA (le compte des CD4 est inférieur à 400 cellules/microlitre) (Phelan *et al.*, 1987).

1.2.1.3. Sensibilité antimicrobienne

Candida lusitanae qui manifeste une moindre virulence est potentiellement résistant à l'amphotéricine B (Hadfield *et al.*, 1987). *Candida crusei* est sensible au Kétoconazole mais pas au fluconazole (Wingard *et al.*, 1991). Il a été généralement remarqué que la plupart des *Candida* sont résistants aux azoles et aux polyènes.

1.2.1.4. Caractéristiques biochimiques

Candida albicans pousse à 37°C, possède des pseudos ou vrais hyphes, produit des chlamydospores (une ou deux au plus), assimile le glucose, le maltose, le sucrose (rarement), le galactose, le xylose et le tréhalose. Mais, il fermente le glucose, le maltose, le galactose et le tréhalose avec production de gaz.

Il ne possède pas d'uréase, n'utilise pas le KNO₃, ne possède pas de phénol-oxydase et ne produit pas d'ascospores. L'un des tests le plus valable et le plus simple pour une identification présomptive de *Candida albicans* est le « germ test tube ». Ce test est considéré présomptif parce que tous les isolats de *Candida albicans* sont germ test tube positif et de faux positifs peuvent également être obtenus en particulier de *Candida tropicalis*. Le milieu le plus utilisé pour sa culture et sa croissance est la gélose Sabouraud Glucose agar ou l'Agar au sang incubé à 30°C pendant 24 à 48 heures (Odds, 1988).

1.2.2. *Aspergillus*

1.2.2.1. Taxonomie et description du genre

Le genre *Aspergillus* comprend les espèces anamorphes (mitotiques) avec les connues ou présumées connections à huit différents genres téléomorphes classés dans la famille des Trichocomaceae des ascomycètes. Cette famille contient aussi les genres téléomorphiques, *Penicillium* et Paecilomycètes. L'analyse de Peterson des sous unités de séquences dérivées de 215 taxons corrèle dans une large mesure avec les espèces décrites par Raper et Fennell.

Ce dernier avait divisé le genre en dix huit groupes et confirmé 132 espèces avec dix huit variétés. Le genre aujourd'hui ne contient pas plus que 180 espèces avec environ 70 téléomorphes nommément classés (Samson *et al.*, 2000). Trois importantes branches dans l'arbre phylogénétique sont utilisées pour définir les sous genres *Aspergillus*, *Fumigati* et *Nidulantes*. *Aspergillus* incluent les unisériées et les bisériées. Les espèces d'*Aspergillus* sont différenciées principalement sur la base de leurs caractéristiques phénotypiques d'anamorphes mais très tôt, les monographies incluent aussi les descriptions de téléomorphes. *Aspergillus fumigatus* continue de figurer parmi les nombreux cas d'aspergilloses, avec *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger* qui deviennent les potentiels pathogènes à travers le monde entier (Kwon-Chung *et al.*, 1992 ; Richardson, 1998). On évoque aussi *Aspergillus terreus*. Les espèces produisant communément des structures sexuelles (clésthécies et des ascospores) sont décrites sous leurs formes téléomorphes notamment *Eurotium*, *Emericella* et *Neosartorya*. Lorsque les espèces d'*Aspergillus* sont isolées sur des milieux tels que sabouraud dextrose agar, c'est la forme asexuée qui prédomine. Le repiquage sur le Czapek-Dox standard, le Czapek-Dox avec ajout de glucose (20 à 30%) et 2% de malt extract agar ou sur des modifications de ces milieux (Klich *et al.*, 1988) permet la comparaison des traits microscopiques des colonies avec ceux donnés par les clés taxonomiques et de monographies (Samuels *et al.*, 1998). Certaines espèces sont osmophiles et poussent faiblement sur les milieux contenant de faibles concentrations de sucre. Les dimensions des colonies sur les milieux standards à 25 et 37°C, les observations des couleurs de face ou de dos, la texture, l'arrangement des colonies et la présence d'exsudat ou de pigments diffusibles sont enregistrés après sept jours (Onions *et al.*, 1981).



Figure 5 : *Aspergillus* spp sur Potato Dextrose Agar ((Pitt *et al.*, 2009)

1.2.2.2. Signification clinique

Les espèces d'*Aspergillus* abordées au cours de notre étude sont *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus ochraceus*. Pour ce qui est de toutes ces trois espèces différentes, la plus notoire et qui est pratiquement semblable aux deux autres est *Aspergillus flavus* Link dont les métabolites toxiques importants sont l'acide kojic, l'acide 3-nitroproionique, l'acide cyclopiazonique, l'aflatoxine B1 et l'acide aspergillique. *Aspergillus ochraceus* Wilhelm par contre produit les métabolites toxiques importants suivants : l'acide pénicillique, l'ochratoxine A, la xanthomégline, le viomelleine, la vioxanthine. Enfin, *Aspergillus parasiticus* Speare produit les métabolites toxiques suivants : acide cogic, acide aspergillique, aflatoxine B1, B2, G1, G2 (Samson *et al.*, 1995).

1.2.2.3. Sensibilité antifongique

Les agents antifongiques disponibles pour lutter contre les infections fongiques en général sont les polyènes (l'amphotéricine B et la nystatine), les azoles qui incluent les imidazoles et les triazoles (kétoconazole, fluconazole, itraconazole), les antimétabolites constitués de flucytosine (5-fluorocytosine et 5-amino-5-fluoro-2-pyrimidine), les allylamines qui sont constitués de terbinafine et de naftifine, les echinocandines (lipopeptides) et les autres agents antifongiques comme la griséofulvine (Sevtap Aarikan and John H. rex cités par Murray *et al.*, 2003). Cette rubrique concerne tous les fungi (moisissures filamenteuses) abordés au cours de cette revue de littérature à savoir, *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium*.

1.2.2.4. Identification stéréomicroscopique et chromatographique

Selon Samson *et al.* (1995), les identifications stéréomicroscopiques sont réalisées d'abord par la méthode de dilution en boîte de Pétri avec des milieux spécifiques. Les milieux les plus courants utilisés sont la gélose d'extrait de malt, le potato dextrose agar, le Czapek yeast extract agar et autres ; l'incubation se fait à $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 5 jours suivie d'un scotchage de la colonie détectée à l'aide d'un ruban adhésif transparent que l'on colle sur la lame porte objet. On y ajoute le liquide de montage (immersion) et on observe au grossissement X100, X400, X800, X1000 pour visualiser les structures mycéliennes. Ensuite on fait accompagner cette observation microscopique d'une chromatographie en couche mince pour déceler les métabolites supérieurs produits par la comparaison de leur facteur de rétention avec celui de la griséofulvine utilisée comme standard appliquée sur la plaque de la chromatographie.

Les méthodes nouvelles utilisées dans ce sens sont les techniques de chromatographie avancée (HPLC) et les techniques ELISA.

Cette rubrique concerne tous les fungi (moisissures filamenteuses) abordés au cours de cette revue de littérature à savoir, *Aspergillus*, *Fusarium*, et *Penicillium*.

1.2.3. *Fusarium*

1.2.3.1. Taxonomie et description du genre

En observation directe, les hyphes des espèces de *Fusarium* ressemblent à ceux de *Aspergillus*, de *Paecylomyces* et aux espèces de *Scedosporium* quant à la taille (3 à 6mm), la septation, l'embranchement et la prédilection pour l'invasion vasculaire. Les hyphes sont irréguliers en largeur et peuvent montrer des zones de collapse (Liu *et al.*, 1998). Les microconidies et rarement les macroconidies et les cellules en bourgeonnement, aussi bien que les phialides, peuvent être retrouvés dans le sérum sanguin ou dans les tissus (Perfect *et al.*, 1996 ; Liu *et al.*, 1998). Les traits microscopiques des phialides, le nombre d'ouvertures sur ces dernières (monophialides ou polyphialides), la formation de conidies dans les hyphes ou les chaînes, les éléments de micro ou macroconidies et la septation, la présence et les arrangements des chlamydospores et les aspects des colonies incluant les niveaux de leur croissance, la couleur à l'observation directe et au revers et la couleur des masques des colonies sont les caractères importants pour l'identification des espèces. Cependant, un considérable professionnalisme est requis pour identifier les espèces de *Fusarium* avec certitude et un laboratoire de référence devrait être consulté. Les études phylogénétiques moléculaires ont été utilisées pour examiner les espèces et les sections parmi lesquelles *Fusarium*. *Fusarium solani* paraît être un complexe de vingt six espèces différentes qui incluent les importants isolats médicaux groupés en fait parmi quinze différentes entités non encore complètement définies (Summerbell, R.C., 2003). Le complexe *Fusarium solani* inclut *Acremonium falciforme*, *Cylindrocarpan lichenicola*, *Neocosmospora vasinfecta* (De Hoog *et al.*, 2000 ; Iwen *et al.*, 2000 ; Summerbell *et al.*, 2002). Nombreuses espèces importantes sont incluses parmi les 29 espèces de *Gibberella fugikurroicomplexe* ; *Fusarium verticilloides*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium napiforme*, *Fusarium nygamai*, *Fusarium subglutinans*, *Fusarium saccharii* et *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum Schlecht: Fr (Samson *et al.*, 1995)

La forme téléomorphe est inconnue. Les colonies sur Potato Dextrose Agar à 25°C atteignent un diamètre de 3,5 à 5 cm après 4 jours. Le mycélium aérien est flocculeux, passant

de terne à blanchâtre ou crémeux, avec habituellement une terminaison pourpre plus intense près de la surface du milieu. Chez quelques souches, la couleur orange peut se retrouver sur les sporanges. Le revers est jaunâtre ou une configuration pourpre. Les conidiophores sont embranchés ou non embranchés portant les monophialides. Les microconidies sont simples (souvent réduites). Les phialides sont sur de courts conidiophores embranchés généralement nombreux et sont pointus en taille, ovoïdes-ellipsoïdales acylindriques, droits ou légèrement incurvés et entre 5-12 x 2,2-3,5 μm . Les macroconidies plus de trois (ou a 5 septés) modérément incurvées de dimension 27-50 x 3-4,5 μm pointées à chaque fin. Les chlamydospores sont présentes, formées en singleton ou en paires, lisses ou rugueuses, terminales ou intercalées.



Figure 6: *Fusarium* spp sur Potato Dextrose Agar (Pitt *et al.*, 2009)

1.2.3.2. Signification clinique

Le spectre des infections et affections cliniques causées par les *Fusaria* inclut les kératites, les onychomycoses, la colonisation des peaux brûlées ou nécroses des plaies ou ulcères, les sinusites et les infections des tissus internes telles que les mycétomes, les endophtalmites, les péritonites, les endocardites, les ostéomyélites, les arthrites et les abcès sous cutanés et du cerveau (Nelson *et al.*, 1994 ; Guarro *et al.*, 1995 ; Kane *et al.*, 1997). Quant aux métabolites toxiques importants retrouvés chez *Fusarium oxysporum*, nous pouvons citer l'acide fusarique, les pigments naphthoquinones et la nectriafurone. *Fusarium oxysporum* est souvent présent sur les graines de soja, les arachides, les haricots, le coton, les bananes, les bulbes d'oignon, les pommes de terre, les ananas et le maïs en conservation.

1.2.4. *Penicillium*

1.2.4.1. Taxonomie et description du genre

Les membres du genre *Penicillium* sont les moisissures bleu-vert ubiquiste, figurant parmi les plus communs contaminants de tous les laboratoires et qui peuvent être aisément isolés des spécimens respiratoires et de la surface du corps. Aussi proche qu'il est de

Aspergillus, le genre *penicillium* comprend les espèces anamorphes (mitotiques) avec des traits communs à la famille des Trichocomaceae (Samson, 2000). Environ 200 espèces ont été rangées dans quatre sous genres tenant compte des embranchements des conidiophores (Pitt, 2000). Mais les analyses moléculaires ont montré que trois de ces sous genres sont polyphylétiques (Peterson, 2000). Le seul vrai pathogène est *Penicillium marneffe*, un membre du sous genre *biverticillium* (LoBuglio *et al.*, 1995).

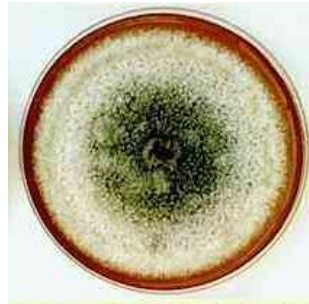


Figure 7: *Penicillium* spp sur Potato Dextrose Agar (Pitt *et al.*, 2009)

1.2.4.2. Signification Clinique

Penicillium marneffe est la quatrième commune cause des infections opportunistes disséminées chez des patients souffrant du SIDA en Thaïlande, au Sud de la Chine et à d'autres endroits de l'Asie du sud est où il est endémique (Chariyalertsak *et al.*, 2001 ; Duong, 1996 ; Viviani *et al.*, 1998). L'espèce est unique parmi les *Penicillia*, étant dimorphique, forme un tissu unicellulaire qui se reproduit par division plane comme une levure. Plusieurs espèces sont signalées causer le péritonite, l'infection du tractus urinaire, l'endocardite, l'infection pulmonaire, la fongémie et les infections disséminées (Cimon *et al.*, 1999 ; De Hoog *et al.*, 2000). Le rôle des *Penicillia* dans l'allergie et l'hypersensibilité de la pneumonie est établi (Horner *et al.*, 1995).

CHAPITRE 2 : Généralités sur les plantes aromatiques étudiées

Elles sont au nombre de douze plantes appartenant à sept grandes familles botaniques que sont : Myrtaceae (*Pimenta racemosa* et *Syzygium aromaticum*), Lamiaceae (*Ocimum basilicum*, *Ocimum gratissimum* et *Mentha piperita*), Verbenaceae (*Lippia multiflora* et *Lippia rugosa*), Annonaceae (*Xylopia aethiopica*), Asteraceae ou Compositae (*Crassocephalum rubens*), Poaceae (*Cymbopogon citratus* et *Cymbopogon giganteus*) et la famille des Lauraceae (*Cinnamomum zeylanicum*).

2.1. *Ocimum gratissimum*

2.1.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques

Famille : Lamiaceae ou labiateae

Synonyme : *O. viride* Willd

Nom usuel : Gros basilic

Noms en langues nationales du Bénin :

Fon : Tchayo

Yoruba : Simonua

Mina : Esuru



Figure 8 : *Ocimum gratissimum*

Plante herbacée sous ligneuse environs de 1,5 m de haut avec des feuilles opposées, elliptiques ou ovales elliptiques, à marge dentée d'environ 10 cm de long.

Les inflorescences sont des épis de petites fleurs à corolle blanche. Le calice, renflé à la base, est persistant après la chute de la corolle.

Ocimum gratissimum est une espèce pantropicale très répandue, utilisée en pharmacopée traditionnelle et préconisée dans le traitement des diarrhées, des infections urinaires, respiratoires et cutanées (Adjanohoun *et al.*, 1997).

Selon Kokwaro (1993), ses feuilles triturées dans les paumes de la main sont inhalées pour déboucher les narines. Elles sont également utilisées contre les douleurs abdominales, l'irritation des yeux et les infections des oreilles, contre la toux, la stérilité et la fièvre, contre les convulsions, le gargarisme dentaire, pour la régulation de la menstruation et comme un remède contre le prolapsus du rectum.

Nakamura *et al.* (1999) ont signalé que l'utilisation de l'eugénol purifié de la plante ainsi que la plante elle-même avaient la même activité pour soigner les pneumonies, les diarrhées et les conjonctivites.

Mshana *et al.* (2000) rapportent les nombreux usages médicaux dont la plante fait l'objet.

Okwu (2006) note que la plante est utilisée comme une épice alimentaire et pour le traitement de certaines affections telles que la malaria, les diabètes, les infections des tractus urinaire et respiratoire, contre la toux, les fièvres, les diarrhées, les douleurs abdominales, les conjonctivites, les plaies buccales et les infections dentaires (Rabelo *et al.*, 2006).

Nwinyi *et al.* (2009) rapportent que la plante est utilisée dans le traitement de différentes maladies incluant les infections du tractus respiratoire, les diarrhées, les maux de tête, les conjonctivites, les maladies cutanées, les pneumonies, les toux et comme un répulsif des moustiques (Okigbo et Mnéka, 2006).

2.1.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes

2.1.2.1. Composition chimique

Yayi (1998) rapporte dans sa thèse de doctorat, la composition chimique de l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* du Bénin et les composés majoritaires isolés de cette huile sont le γ -terpinène (37,4%), le thymol (19,7%), le p-cymène (14,6%) et α -thujène (5,5%).

Vasconcelos *et al.* (1999) ont mis en évidence au Brésil le chémotype à eugénol-1-8 cinéole.

Sahouo *et al.* (2003) ont mis en évidence la prédominance du thymol (70,8%) dans l'huile essentielle d'*Ocimum gratissimum* de la Côte d'Ivoire.

Akojobi *et al.* (2004) ont mis en évidence dans les extraits volatils de cette plante surtout les feuilles, le thymol (32-65%), l'eugénol d'une part et, dans les extraits non volatils du même organe, des xanthones, des terpènes et les lactones ensemble avec les glycosides, des saponines, des tanins et des alcaloïdes d'autre part.

Eveline Solon *et al.* (2004) ont isolé dans l'huile essentielle de l'*Ocimum gratissimum* du Brésil de l'eugénol (43,7%), du 1-8 cinéole (32,7%), du (Z)- Ocimène (6,2%), du trans-caryophyllène (4,1%).

Oussou *et al.* (2004) ont identifié dans l'huile essentielle extraite des feuilles de l'*Ocimum gratissimum* de la Côte d'Ivoire le chémotype thymol-p-cymène.

Aquinos Lemos *et al.* (2005) ont isolé de l'huile essentielle des feuilles de *Ocimum gratissimum* du Brésil de l'eugénol (57,82%) et de (Z)- α -Bisabolène (17,7%).

Madéra *et al.* (2005) ont mis en évidence dans l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* au Brésil, la prédominance du 1-8 cinéole (39,3%) et de l'eugénol (35,5%).

Au Kenya, Matassiyoh (2007) a mis en évidence dans les huiles essentielles des différentes variétés de cette plante de l'eugénol (68,81%), le méthyl-eugénol (13,21%), le cis-ocimène, le germacrène D, le trans-caryophyllène et le β -pinène.

Oussou *et al.* (2010) ont identifié dans l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* de Côte d'Ivoire, le thymol (34,6%), le p-cymène (25,2%), l' α -sélinène (6,8%), le myrcène (5,4%), le (E)- β -caryophyllène (4,9%) et α -thujène (4,5%).

Saliu *et al.* (2011) mis en évidence dans l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* du Nigéria de l'eugénol (61,9%) et du cis-ocimène (8,2%).

2.1.2.2. Activités antimicrobiennes

N'dounga *et al.* (1997) ont montré au Congo Brazzaville que les huiles essentielles de *Ocimum gratissimum* ont des effets antibactériens sur les bactéries isolées de pus de malades hospitalisés et des champignons de ces mêmes patients.

Amvam *et al.* (1998) ont montré que les huiles essentielles de *Ocimum gratissimum* inhibent la croissance de *Aureobasidium pullulans* et de *Microsporum gypseum*.

Kishore *et al.* (2000) ont montré que l'essence brute de *Ocimum gratissimum* était plus efficace sur *Candida albicans* (CMI= 350 μ g/mL), alors que l'estragole avait le même effet sur ce fungi à une CMI égale à 400 μ g/mL.

L'HE de *Ocimum gratissimum* présente également d'intéressantes activités antifongiques (Dubey *et al.*, 2002 ; Aquino Lemos *et al.*, 2005 ; Terezinha, 2006),

antibactériennes (Iwalokun *et al.*, 2001 ; Cimanga *et al.*, 2002 ; N'gassoum *et al.*, 2003 ; Adebolu et Oladimagi, 2005).

Oussou *et al.* (2004) ont montré l'effet bactéricide de cette huile essentielle sur les entérobactéries.

Matassyoh *et al.* (2007) ont étudié les activités antimicrobiennes de l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus* spp, *E coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi* et *Candida albicans* par la méthode de diffusion en boîte de Pétri et la microdilution avec un témoin positif, le chloramphénicol et ont montré que l'huile essentielle possédait une activité contre les bactéries, et une activité plus marquée contre *Candida albicans* et *Escherichia coli*.

Oussou *et al.* (2010) en réalisant le fractionnement de l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* ont montré que toutes les fractions oxygénées thymol et terpinéol-4) sont très actives sur les bactéries que la partie hydrocarbonée (p-cymène, cis-hydrate de sabinène), résultats en accord avec les travaux de Vijaya *et al.* (2001), de Giordani *et al.* (2004) et de Ben Arfa *et al.* (2006) qui ont montré que les composés phénoliques ont un pouvoir antibactérien très élevé.

2.2. *Ocimum basilicum*

2.2.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques

Famille : Lamiaceae ou labiateae

Nom usuel : Basilic

Noms en langues nationales du Bénin :

Fon : kesu kesu



Figure 9 : *Ocimum basilicum*

Ocimum basilicum appelé basilic est une plante aromatique annuelle qui traditionnellement, est utilisée comme une herbe médicinale dans le traitement des maux de

tête, des toux, des diarrhées, de la constipation, des vers et de divers troubles (Simon *et al.*, 1999).

Sharma *et al.* (2002) ont montré que les extraits foliaires de *Ocimum basilicum* peuvent protéger le foie des métaux lourds et empêcher l'induction de la nécrose myocardiale chez les rats (Soud *et al.*, 2005).

Martin et Ernst (2004) rapportent son utilisation en externe pour le traitement des acnés, des piqûres d'insectes, des morsures de serpents et des infections de la peau.

Orafidiya *et al.* (2006) ont montré que les huiles de *Ocimum basilicum* sont capables d'améliorer la croissance normale des cheveux et promouvoir la prolifération des follicules dans la perte des cheveux provoquée par le cyclophosphamide.

Seyed (2006) d'Iran rapporte que les feuilles et fleurs de la plante sont utilisées en tant que carminatives, galactogènes, stomachiques et antispasmodiques. Des activités antiretrovirales et antimicrobiennes de cette plante ont également été rapportées (Barata, 1998).

La plante possède plusieurs activités pharmacologiques. Les extraits des feuilles ont des propriétés antioxydantes, anticancéreuses, antivirales et antimicrobiennes (Bozin *et al.*, 2006 ; Manosroi *et al.*, 2006 ; Almeida *et al.*, 2007 ; Akujobi *et al.*, 2010).

Kaya *et al.* (2008) rapportent que cette feuille est utilisée dans la cuisine turquoise en tant qu'épice, et ses huiles essentielles, depuis plusieurs années, dans l'assaisonnement des viandes et des saucisses. On fait également usage de son huile aussi bien dans la parfumerie que dans les soins de la bouche et des dents. Ses feuilles et fleurs sont traditionnellement utilisées en tant qu'agents antispasmodiques, aromatiques, carminatifs, digestifs, galactogènes, stomachiques et tonifiants (Duke et Ayensa, 1985). En médecine traditionnelle, ses parties (feuilles et fleurs) sont utilisées pour traiter certaines affections telles que les indigestions, les nausées, les crampes abdominales, les gastroentérites, les migraines, les insomnies, les dépressions, la gonococcie, la dysenterie et les diarrhées chroniques (Chopra *et al.*, 1986).

Selon Ji-Wen Shang *et al.* (2009), *Ocimum basilicum* est utilisé comme un antiseptique, un conservateur, un sédatif, un régulateur digestif et un diurétique. Selon les mêmes auteurs, il est également recommandé dans le traitement des maux de tête, des toux, des infections du tractus respiratoire et pour éliminer les toxines.

En outre, la consommation d'huile de basilic a été associée à la réduction du cholestérol total, du low-density-lipoprotein et des tryglycérides, fait rapporté par Huchan *et al.* (2009).

Ruppert (2009) indique que le basilic et l'huile de basilic renferment des composés pour la prévention des maladies cardiovasculaires.

Tomar *et al.* (2009) rapportent que les extraits de *Ocimum basilicum* sont susceptibles de détenir d'importants effets au niveau cellulaire incluant une activité inhibitrice contre la transcriptase inverse de l'HIV1.

Ayman *et al.* (2010) rapportent que *Ocimum basilicum* connu sous le nom de « Rahan » à Médine, est utilisé comme un carminatif, un expectorant, un stimulant et un diaphorétique. Les décoctions des feuilles sont utilisées pour traiter les toux, la fièvre, les vers intestinaux, les diarrhées, les douleurs internes et les troubles néphrétiques (Mossa *et al.*, 2000).

2.2.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes

2.2.2.1. Composition chimique

L'inventaire systématique des *Ocimum basilicum* au Bénin a permis à Yayi (1998) de catégoriser cette plante selon les lieux géographiques de récolte :

- La catégorie I correspond aux huiles essentielles riches en méthyl-chavicol (> à 65%) extraites d'échantillons en provenance de Pobè, aéroport, Savè, Kilibo et Gankpétin, tous du type A appelé type « Réunion »
- La catégorie II regroupe les huiles essentielles riches en linalol (42-45%), eugénol (15%) et/ou trans- α -bergamotène (6-15%) provenant de Midédji, Houéyiho 2 constituées de linalol + eugénol (type DF) et/ou linalol+ terpénoides.
- La catégorie III rassemblant les huiles essentielles riches en méthyl-chavicol (>75%) et en linalol (20-30%) et provenant de Natitingou et de Womè (type AD)

Seung-Joo *et al.* (2005) identifient dans l'huile essentielle de *Ocimum basilicum* de Corée du Sud, le linalol (21,1-33,8%), l'estragole (35, 9-56,2%), l'eugénol (1,12-4,36%), le 1-8 cinéole (3,40-4,37%).

Politeo *et al.* (2005) ont comparé les composés majoritaires des HE d'*Ocimum basilicum* de la Croatie et ceux des aglycones volatils libres de la même plante qui sont respectivement linalol (28,6%), estragole (21,7%), (E)-méthylcinnamate (14,3%), α -cadinol (7,1%) et eugénol (5,9%) pour l'huile essentielle et, eugénol (44,0%), chavicol (29,5%) et al.cool benzylique (5,7%) pour les aglycones volatils libres.

Selon Seyed (2006), l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum* de l'Iran a pour composés majoritaires le méthyl-chavicol (52,4%), le linalol (20,1%), l'épi- α -cadinol (5,9%) et le trans- α -bergamotène (5,2%) pour la variété pourpre et la variété verte de son côté affiche les composés majoritaires suivants : le méthyl-chavicol (40,5%), le géraniol (27,6%), le néral (18,5%) et l'oxyde de caryophyllène (5,4%).

Sokovic *et al.* (2007) ont déterminé dans l'huile essentielle de *Ocimum basilicum* de Belgrade le linalol (69,25%), α -cadinol (2,56%), γ -cadinène (2,48%), méthyl-chavicol (2,38%), trans- β -guaiène (2,10%) et du géraniol (1,87%).

Selon Abdoullah *et al.* (2009), l'HE de *Ocimum basilicum* du Pakistan détient les composés majoritaires tels que : linalol (56,7-60,6%), épi- α -cadinol (8,6-11,4%), α -bergamotène (7,4-9,2%) et γ -cadinène (3,2-5,4%).

Maria *et al.* (2009) ont identifié dans l'huile essentielle de *Ocimum basilicum* de la Roumanie, les composés majoritaires suivants : germacrène-D (24,10%), élémène (14,67%), γ -élémente (5,91%), cadinène (5,63%) et α -guainène (5,09%).

Selon Bassolé *et al.* (2010), l'HE d'*Ocimum basilicum* du Burkina-Faso contient 19 composés représentant 94,6% du total en huile essentielle. Les composés majoritaires sont le linalol (57,0%) et l'eugénol (19,2%) et 7 composés minoritaires dont α -cadinol (3,2%), β -ocimène (2,7%), trans- α -bergamotène (2,7%), 1-8 cinéole (1,7%), γ -cadinène (1,6%), germacrène A (1,1%) et le bicyclo-germacrène (1,0%).

Zyani *et al.* (2011) ont isolé de l'huile essentielle de *Ocimum basilicum* du Maroc, le méthyl-chavicol (30,87%) et le linalol (20,10%) comme composés majoritaires.

2.2.2.2. Activités antimicrobiennes

Omogbe *et al.* (1996) rapportent les propriétés antimicrobiennes d'extraits d'*Ocimum basilicum* contre *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi* et *Shigella dysenteriae*.

Adiguzel *et al.* (2005) ont testé les potentialités antimicrobiennes d'extraits éthanolique, méthanolique et hexanique et leurs résultats ont montré qu'aucun des extraits ne possède d'activité antifongique mais plutôt des effets candidocides et antibactériens.

Sokovic *et al.* (2007) ont déterminé des activités antibactériennes de l'HE de *Ocimum basilicum* de Belgrade contre *Bacillus subtilis* (CMI= 4,0 mg/mL), *Staphylococcus aureus* (CMI= 4,5 mg/mL), *Salmonella typhimurium* (CMI= 5,0 mg/mL), *Escherichia coli* (CMI= 6,0 mg/mL), *E. cloacae* (CMI= 6,0 mg/mL).

Abdullah *et al.* (2009) rapportent que l'HE d'*Ocimum basilicum* du Pakistan avec un taux de linalol élevé possède une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* (CMI= 0,9 mg/mL), *Bacillus subtilis* (CMI= 0,8 mg/mL) et modéré contre *Escherichia coli* (CMI= 2,6 mg/mL) et *Proteus multocida* (CMI= 1,9 mg/mL).

Kaya *et al.* (2009) étudièrent les activités antimicrobiennes d'extraits de *Ocimum basilicum* (chloroforme, acétone et méthanol). Les extraits méthanoliques sont plus actifs sur *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella* sp, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et deux souches de *Escherichia coli*.

Bassolé *et al.* (2010) ont déterminé par la méthode de diffusion en boîte de Pétri et celle de la microdilution, les concentrations minimales d'inhibition contre *Enterococcus faecalis* (CMI= 4,2 mg/mL), *E. aerogene* (CMI= 4,2 mg/mL), *Salmonella typhimurium* (CMI= 5,0 mg/mL), *Escherichia coli* (CMI= 8,3 mg/mL) et *Staphylococcus aureus* (CMI= 2,5 mg/mL).

Zyani *et al.* (2011) ont étudié l'activité antifongique de l'HE de *Ocimum basilicum* du Maroc contre les champignons *Penicillium commune* (IC₅₀=0,8 et CMI=1,5), *Penicillium chrysogenum* (IC₅₀=0,6 et CMI=1,0), *Penicillium expansum* (IC₅₀=1,0 et CMI=1,4), *Cladosporium cladosporoides* (IC₅₀=0,6 et CMI=1,5), [IC₅₀ est égale à la concentration qui inhibe 50% de la croissance mycélienne du fungi et les valeurs de la CMI sont significativement différentes du niveau p<0,05 selon le test de Tukey.

Shafique *et al.* (2011) ont testé l'efficacité de l'huile essentielle de *Ocimum basilicum* contre *Bacillus subtilis* ATCC 6333, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* utilisant la méthode de diffusion en boîte de Pétri avec des témoins positifs Penicilline G et Streptomycine. Les diamètres d'inhibition déterminés pour l'HE sont supérieurs à ceux révélés par les contrôles positifs.

2.3. *Lippia multiflora*

2.3.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques

Synonyme : *Lippia adoensis* Hochst

Lippia garndifolia Martus et Schau

Nom en langues nationales du Bénin :

Fon : Aglala, Aklala

Yoruba : Efintin, Kanhoun

Mina : Avundati

Nom usuel : Thé Gambie



Figure 10 : *Lippia multiflora*

Lippia multiflora est une plante aromatique, ligneuse, dressée, atteignant 2,5 m de haut, répandue dans les savanes soudano-zambéziennes, dans les savanes de l'Afrique subtropicale (Adjanohoun *et al.*, 1986, 1992). Elle est anguleuse et pubescente, ramifiée aux inflorescences. Les feuilles verticillées par quatre ou par trois, rarement par deux, sont oblongues, lancéolées ou elliptiques, à base longuement cunée, au sommet acuminé, à bords finement dentés et à pubescence blanchâtre dessous, portant 7 à 8 paires de nervures latérales.

Les épis terminaux ombelliformes, globuleux ou cylindriques, sont longs de 5 à 20 millimètres, larges de 4 à 8 millimètres, disposés à l'extrémité d'un pédoncule plus ou moins long.

Les fleurs sont petites et blanches ou jaunâtres. Les bractées sont obtuses (Adjanohoun *et al.*, 1986).

Poussant à travers les pays du centre et du sud de l'Amérique et en Afrique tropicale (Adjanohoun *et al.*, 1988), la plante est utilisée en médecine traditionnelle africaine pour traiter la malaria et l'hypertension artérielle (Koffi, 1985 ; Noamessi, 1985) ; l'arôme caractéristique de ses feuilles le fait consommer sous forme d'infusion ou de thé (d'où son nom thé Gambie).

Kanko (1995) signale qu'elle est utilisée en tant qu'antitussif, un désinfectant, un antipyrétique et un diurétique.

Des études antérieures sur ses huiles essentielles lui confèrent des propriétés pharmacologiques, antimicrobiennes (Kunke *et al.*, 2003), pelliculocides et qui tuent la gale

(Otradimeyi *et al.*, 2000), antibactériennes et antifongiques (Abena *et al.*, 2002), analgésiques et anti-inflammatoires (Abena *et al.*, 2003), antioxydantes (Agnaniet *et al.*, 2005).

Scientifiquement, on rapporte que l'huile essentielle extraite de la plante détient des propriétés insecticides et pesticides contre les parasites du corps, et Kanko *et al.* (2004), Otradimeyi *et al.* (2000), Bassolé *et al.* (2003), Owolabi *et al.* (2009), ont montré qu'elle détient une activité antimicrobienne remarquable.

Owolabi *et al.* en 2009, rapportent que la plante est utilisée au Nigéria pour traiter les bronchites, la fièvre et la malaria, les conjonctivites, les troubles gastro-intestinaux, les vomissements, les toux et les refroidissements. Selon les mêmes auteurs, la plante possède des propriétés hypotensives, défatigantes et diurétiques. Préparées et consommées sous forme de thé, les herbes enlèvent le stress et favorisent un bon sommeil.

2.3.2. Composition chimique de l'huile essentielle et activités antimicrobiennes

2.3.2.1. Composition chimique

Lamaty *et al.* (1990) ont découvert un nouveau chémotype (E)-tagetone (31,7%), (Z)-tagetone (13,5%), ipsenone (12,5%), β -caryophyllène (11,3%).

Mwangi *et al.* (1992) ont isolé dans l'HE de *Lippia multiflora* du Kenya, du linalol (46,1%), du thymol (15,2%), β -cabenène (11,7%) alors que Pelissier *et al.* (1994) ont identifié les composés majoritaires tels que (E)-tagetone (30,2%), (Z)-tagetone (11,3%).

Menut *et al.* (1995a) ont isolé de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* du Bénin, le myrténol (27,1%), le linalol (11,9%) et le 1-8 cinéole (11,6%). Les mêmes auteurs ont identifié dans l'huile essentielle de *Lippia multiflora* du Centrafrique, les composés majoritaires tels que le 6,7-epoxymyrcène (70,3%), le myrcène (11,3%), le limonène (5,1%) et le (E)- β -farnésène (4,7%) (Menut *et al.*, 1995b).

Keita *et al.* (1996) ont identifié dans l'huile essentielle de *Lippia multiflora* du Mali du p-cymène (18,7%), du thymol (53,3%), de l'acétate de thymol (9,8%) et du carvacrol (5,4%) ;

Koumaglo *et al.* (1996) ont identifié comme composés majoritaires de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* au Togo, du gèranial (55,9%) et du néral (33,4%) alors qu'un autre chémotype de cette huile essentielle a pour composé essentiel du 1-8 cinéole (63,2%).

Talalaj *et al.* (1997) avaient déterminé les compositions chimiques d'huiles essentielles d'espèces sauvages de différentes origines et les composés majoritaires identifiés sont : le camphre, le limonène ou carvone (46,0%) suivi du linalol et ses acétates (Rovesti *et al.*, 1997).

Kanko *et al.* (1999), en Côte d'Ivoire trouvent un chémotype jamais décrit auparavant dans un échantillon récolté à Bouaké, l'huile essentielle est caractérisée par un taux élevé de (Z)-nérolidol. Ils proposent une classification complète incluant tous les chémotypes précédemment décrits. Ils distinguent trois groupes :

- ❖ Le groupe I est celui de monoterpènes acycliques avec plusieurs chémotypes :
 - à linalol (Nigéria, Kenya, Bénin, Togo),
 - à géraniol/nérol (Togo),
 - à (E)-tagétone/(Z)-tagétone/ipsénone (Congo),
 - à 6,7-epoxymyrcène (Centrafrique)
- ❖ Le groupe II se caractérise par la prédominance des monoterpènes aromatiques avec le chémotype à thymol/acétate de thymyle/ p-cymène (Congo, Bénin, Togo, Gabon).
- ❖ Le groupe III enfin est celui à monoterpènes cycliques ou bicycliques, représentés par le 1,8-cinéole qui peut être seul, ou associé à d'autres composés comme l' α -terpinéol et/ou le sabinène, le myrténol, le thymol, le (Z)- β -farnésène.

Oladimeyi *et al.* (2000) ont identifié dans l'huile essentielle de *Lippia multiflora* du Nigéria le linalol (26,7%), le géraniol (20,0%) et le limonène (15,4%).

Bassolé *et al.* (2003) ont isolé dans l'huile essentielle de *Lippia multiflora* du Burkina-Faso, du thymol (29,9%), du p-cymène (26,2%) et de l'acétate de thymyle (11,7%).

Agnaniet *et al.* (2005) ont également mis en évidence deux chémotypes de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* du Gabon dont le premier est composé du thymol (23,1%), de l'acétate de thymyle (23,0%) et du p-cymène (6,7%) alors que le second chémotype a pour composés majoritaires de l'ispedienone (54,5%), du (Z)- β -ociménone (11,5%) et du (E)- β -ociménone (8,8%).

Avlessi *et al.* (2005) ont analysé l'huile essentielle de *Lippia multiflora* du Bénin et ses composés majoritaires sont le 1-8 cinéole (38,9%), le sabinène (11,7%), le linalol (10,9%), composition proche de la même huile analysée par Alitonou G. A en 2006) qui trouve les composés majoritaires suivants 1-8 cinéole (39,9%), sabinène (11,1%), linalol (10,9%) et α -terpinéol (10,0%).

Dans les études Rwandaises N°12, Kamaga *et al.* (2006) ont identifié un autre chémotype de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* du Togo dont les composés majoritaires sont le p-cymène (18,5%), thymol (15,3%), γ -terpinène (11,5%), acétate de thymyle (8,8%) et

cinéole (8,5%) ; cette composition est différente de celles du Mali et du Congo (Keita *et al.*, 1996) dont le thymol est le constituant majoritaire avec une proportion non négligeable de 53,5% pour celle du Mali et de 40,4% pour celle du Congo.

Selon Owolabi *et al.* (2009), l'huile essentielle de *Lippia multiflora* du Nigéria a pour composés majoritaires le 1-8 cinéole (60,5%), du sabinène (16,9%), de l' α -terpèneol (14,1%) et de l' α -pinène (4,4%).

Gouollaly *et al.* (2010) ont identifié dans les huiles essentielles de certaines parties de *Lippia multiflora* du Congo respectivement dans les feuilles du thymol (35,5%), du p-cymène (18,0%), de l'acétate de thymyle (21,4%), dans les fleurs du thymol (21,4%), de l'acétate de thymyle (17,9%), du p-cymène (17,2%) et du γ -terpinène (11,4%), dans l'écorce de l'acétate de thymyle (37,5%) et du thymol (29,2%) alors que dans les racines, l'huile essentielle extraite contient de l'acétate de thymyle (29,5%), du thymol (23,5%) et de l'oxyde de β -caryophyllène (10,0%). Selon les mêmes auteurs, l'huile essentielle de *Lippia multiflora* du Congo a pour composés majoritaires des monoterpènes aromatiques, le p-cymène, le thymol, le carvacrol et leurs acétates (44-70,0%) suivis du β -caryophyllène et ses oxydes (3,0-8,4%) ; il a été retrouvé dans l'huile essentielle extraite des fleurs environ 10,0% de (Z)- β -ocimène, composé absent dans les feuilles, l'écorce et les racines. Mais par contre, de très petites quantités d'acide hexadécanoïque, le β -eudesmol, l'isocaryophyllène et le phytol ont été identifiées dans les huiles essentielles extraites des écorces et des racines.

Bassolé *et al.* (2010) ont communiqué une autre composition de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* du Burkina-Faso et ont isolé 29 composés représentant 97,3% du total de l'huile essentielle dont les composés majoritaires sont : le p-cymène (21,3%), le thymol (14,0%), le β -caryophyllène (12,9%), le carvacrol (9,3%) et le carvone (8,5%).

2.3.2.2. Activités antimicrobiennes

Babamoussa *et al.* (1997) ont montré que l'huile essentielle de *Lippia multiflora* du Bénin possède des propriétés fongistatiques et fongicides.

Pelissier *et al.* (1998) ont montré que l'huile essentielle de *Lippia multiflora* détient des propriétés bactériostatiques sur *Staphylococcus aureus* et les entérocoques.

Bassolé *et al.* (2001) rapportèrent que l'huile essentielle de *Lippia multiflora* du Burkina-faso possédait une activité bactéricide vis-à-vis des souches de *Staphylococcus* spp et

confirmèrent ainsi l'usage traditionnel des feuilles de *Lippia multiflora* dans le traitement des furoncles et des diarrhées (Nacouma et Ouédraogo, 1996).

Oussou *et al.* (2008) ont déterminé le pouvoir antibiotique de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* et ont prouvé que cette huile est bactéricide sur *Escherichia coli* (CMB/CMI=2,1), sur *Shigella dysenteriae* (CMB/CMI=2,0), sur *Salmonella typhi* (CMB/CMI=1,0), sur *Escherichia coli* ATCC 25922 (CMB/CMI=1,8), sur *Escherichia coli* ATCC 35218 (CMB/CMI=1,7).

Owolabi *et al.* (2009) en étudiant les activités antibactériennes de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* du Nigéria ont rapporté dans leurs études qu'elle possède des activités antimicrobiennes contre *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* avec une CMI déterminée égale à 1250 µg/mL. Selon les mêmes auteurs, cette huile essentielle est très efficace contre *Staphylococcus aureus* (CMI=1,2 mg/mL), *Shigella enterica* (4,2 mg/mL) et *Shigella dysenteriae* (CMI=4,4 mg/mL).

2.4. *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.

2.4.1. Identification botanique, utilisation et propriétés biologiques

Nom usuel : Citronnelle

Nom en langues nationales du Bénin :

Fon : tcha

Yoruba, nago : koriko oba, tii oba



Figure 11: *Cymbopogon citratus*

Originnaire de l'Inde, *Cymbopogon citratus* est largement répandu dans toutes les régions tropicales et est cultivé en Afrique. Son herbe est pérenne, robuste. Elle pousse en touffe dense. Ses feuilles odoriférantes, rubanées et rétrécies, atteignent 70 cm de longueur et 5 à 15 mm de largeur. Les inflorescences en panicule ont 30 à 60 cm de longueur ; les épillets sont sessiles, linéaires ou linéaires lancéolées (Adjanooun *et al.*, 1989).

Cymbopogon citratus est une herbe connue à travers le monde comme citronnelle et le thé obtenu à partir de ses feuilles est communément utilisé comme un antispasmodique, un

analgésique, un anti-inflammatoire, un antipyrétique, un diurétique et un sédatif (Carlini *et al.*, 1986).

Mélo *et al.* (2001) rapportent que la plante est utilisée en médecine traditionnelle au Brésil pour le traitement des troubles nerveux et gastro-intestinaux et dans de nombreux pays pour traiter les fièvres.

Raubert *et al.* (2005) rapportent que son huile essentielle obtenue des feuilles fraîches de la plante est utilisée dans les industries cosmétiques et de parfumerie. Elle est également utilisée dans les synthèses chimiques à causes de son contenu élevé en citral.

Pedroso *et al.* (2006) notifient que l'huile essentielle extraite de *Cymbopogon citratus* possède un effet sur la croissance, la viabilité, les résidus d'hydrates de carbone de la surface cellulaire et l'ultrastructure des symbiontes et des endosymbiontes de *Crihthidia danei*, un protozoaire, vecteur de la trypanosomose.

Bourobou *et al.* (2008) du Gabon ont rapporté que *Cymbopogon citratus* possède des propriétés antihypertensives.

Blanco *et al.* (2009) ont analysé l'effet neurobiologique de l'huile essentielle obtenue à partir des tiges de *Cymbopogon citratus* récoltées au Brésil sur des souris.

Wright *et al.* (2009) ont testé les jus produits à partir de *Cymbopogon citratus* et de la gentiane violette dans le traitement des infections des voies orales chez les patients du VIH/SIDA.

N'guefack *et al.* (2009) ont rapporté l'effet fongicide des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* sur les moisissures toxigéniques rencontrées dans certains aliments.

Oliveira *et al.* (2010) ont suggéré l'utilisation d'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* pour désinfecter la surface de l'acier inoxydable.

2.4.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes

2.4.2.1. Composition chimique

Koba *et al.* (2004) ont isolé 8 composés chimiques représentant 93,57% du total en huile essentielle du *Cymbopogon citratus* du Togo et les trois composés majoritaires sont : le gèranial (43,15%), le néral (31,36%) et le myrcène (10,65%).

Helal *et al.* (2006) ont noté dans l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* d'Égypte, 20 composés chimiques représentant 94,6% du total en huile essentielle et dont les majoritaires sont le e-citral (65,4%) et l' α -myrcène (6,7%).

Kanko (2010) a donné les composés majoritaires de l'huile essentielle extraite de *Cymbopogon citratus* de la Côte d'Ivoire: gèranial (33,3%), myrcène (23,1%) et le néral (23,0%).

2.4.2.2. Activités antimicrobiennes

Koba *et al.* (2004) ont prouvé que les huiles essentielles extraites des feuilles de *Cymbopogon citratus* L du Togo détiennent une activité fongistatique très valable avec des concentrations minimales fongistatiques allant de 75 à 200 µL/mL contre des souches de moisissures isolées des animaux de compagnie chiens et chats.

Helal *et al.* (2006) ont évalué les propriétés antibactériennes et antifongiques de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* contre les moisissures, les levures et les bactéries isolées de jus frais d'orange, de goyave et de banane en Egypte.

N'guefack *et al.* (2009) ont prouvé les potentialités antifongiques de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* du Cameroun contre *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium verrucosum* et *Penicillium expansum*.

Selon Kanko (2010), l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* de la Côte d'Ivoire renfermant en majorité du citral, inhibe la croissance de *Musca domestica*, de sept *Pleurotus* spp dont *Aspergillus flavus* et des champignons filamenteux.

2.5. *Cymbopogon giganteus* (Hochst.) Chiov

2.5.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques

Synonyme : *Andropogon giganteus*

Nom usuel : citronnelle de brousse

Noms en langues nationales du Bénin :

Fon : gbézin

Waama : Yakimooribou

Yom : meunououse

Bambara: trékala, kékala, tékala



Figure 12 : *Cymbopogon giganteus*

Grande herbe vivace et odoriférante et dont les nombreuses tiges émergent d'une racine en forme de rhizomes, *Cymbopogon giganteus* atteint 2 à 3 m de haut avec des tiges flexibles comportant des entre-noeuds importants. Ses feuilles sont planes avec des bords rudes au toucher ayant 30 à 40 cm de longueur et 2 à 2,5 cm de largeur (Mabberley, 1990). *Cymbopogon giganteus* a une odeur agréable et est utilisée dans la médecine traditionnelle africaine le plus souvent seule, quelque fois en association avec d'autres plantes. Au Togo, l'infusé des tiges feuillées est conseillé per os pour les maladies mentales et les affections broncho-pulmonaires (Adjanohoun *et al.*, 1986).

Au Burkina-Faso, les sommités fleuries réduites en poudre sont utilisées en cataplasme et en massage pour soulager la douleur des piqûres de scorpions (Fortin *et al.*, 1990).

Une infusion des inflorescences de *Cymbopogon giganteus* et des feuilles de *Vepris heterophylla* sont également utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle (Kéita, 1986).

Au Niger, la partie aérienne est utilisée en décoction contre les douleurs rhumatismales et les toux émétisantes chez l'enfant. Les décoctions des inflorescences sont également utilisées sous forme de boissons et de bains dans le traitement des hépatites (Adjanohoun *et al.*, 1985).

2.5.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes

2.5.2.1. Composition chimique

Huile essentielle moins étudiée que celles des essences commerciales des autres espèces du même genre, les études qui ont été menées sur l'huile essentielle de *Cymbopogon giganteus* concernent surtout les huiles essentielles des feuilles. Ouamba (1991) a prouvé la similitude des huiles essentielles des feuilles récoltées en Côte d'Ivoire et au Cameroun. Les composés majoritaires de l'huile essentielle sont le trans-p-mentha-1(7), 8-diène-2-ol (de 25 à 32% respectivement), son isomère cis (de 17 à 19%), le trans-p-mentha-2,8-diène-1-ol (14 à 19%), son isomère cis (de 6 à 9%), le trans-isopipériténol (de 6 à 7%), son isomère cis (de 7 à 8%) et la carvone (de 4 à 5%).

En 1997, Ayedoun *et al.* ont isolé les essences de feuilles récoltées dans trois régions du Bénin avec un rendement de 0,8%. Les composés chimiques similaires ont été identifiés : il s'agit du limonène (18,4-23,6%), du trans-p-mentha-2,8-diène-1-ol (13,9-22,5%), du trans-p-mentha-1(7),8-diène-2-ol (16,2-18,5%), du cis-p-mentha-1(7),8-diène-2-ol (14,4-18,4%) puis du

cis-p-mentha-2,8-diène-1-ol (7,6-8,6%) et en faibles pourcentages, l' α -terpinéol (2,1-4,4%), la carvone (2,3-3,2%), le trans-isopipériténol (1,5-4,2%) et le trans-carvéol (0,6-3,1%).

En 2000, Menut *et al.* ont étudié les activités antioxydantes et la composition chimique de l'essence obtenue à partir des feuilles récoltées au Burkina-faso. Les mêmes types de constituants ont été retrouvés. L'essence contient majoritairement 17,3% de limonène, 17,0% de trans-p-mentha-1(7),8-diène-2-ol, 16,5% de cis-p-mentha-1(7),8-diène-2-ol, 13,8% du trans-p-mentha-2,8-diène-1-ol et 9,3% de cis-p-mentha-2,8-diène-1-ol, le cis-isopipériténol (4,5%) et le carvone (4,1%).

Sidibé *et al.* (2001) étudient huit échantillons d'huiles essentielles obtenues à partir de feuilles de *Cymbopogon giganteus* récoltées sur deux sites du Mali (Sotuba et sindo) ; le même type de composition est retrouvé dans les échantillons : les trans et cis-p-mentha-1(7),8-diène-2-ols (24,0-35,2%) et (16,0-24,0%), et les trans et cis-p-mentha-2,8-diène-1-ols (13,3-16,2%) et (8,2-10,2%). Le limonène est présent en proportions variables (0,5-13,2%), de la p-méthylacétophénone (3,2-6,0%) et de la carvone (0,1-2,9%).

En 2003, Sahouo *et al.* ont isolé les mêmes composés majoritaires dans l'huile essentielle extraite des feuilles fraîches de *Cymbopogon giganteus* récoltées au sud de la Côte d'Ivoire. Les trans et cis-p-mentha-2,8-diène-1-ols (26,2 et 11,9%), le limonène (14,2%) et les trans et cis-p-mentha-1(7),8-diène-2-ols (13,3% et 11,3%).

En 2004, Kanko *et al.* ont effectué l'analyse chimique de l'essence obtenue à partir des feuilles de cette espèce récoltées en Côte d'Ivoire et ont trouvé comme composés majoritaires le trans-p-mentha-2,8-diène-1-ol (20,7%), le trans-p-mentha-1(7),8-diène-2-ol (19,6%), le cis-p-mentha-1(7),8-diène-2-ol (19,0%), le cis-p-mentha-2,8-diène-1-ol (9,2%) et le limonène (5,1%).

En 2006, Boti *et al.* ont étudié l'huile essentielle de *Cymbopogon giganteus* de la Côte d'Ivoire par une combinaison de deux méthodes analytiques : GC/MS et RMN ^{13}C ; parmi les 46 composés identifiés, on trouve les trans et cis-p-mentha-2,8-diène-1-ols (18,4% et 8,7%), les trans et cis-p-mentha-1(7),8-diène-2-ols (15,7 et 16,0%) accompagnés du limonène (12,5%).

Kamaga *et al.* (2006) ont identifié dans l'huile essentielle extraite de *Cymbopogon giganteus* du Togo le limonène (38%), le cis-p-mentha-2,8-diène-1-ol (12,6%), le p-menthadiénol (10,9%), le p-mentha-1,8-diène-2-ol (9,7%) et le trans-p-mentha-2,8-diène-1-ol (6,2%).

Kanko (2010) a donné les composés majoritaires de l'huile essentielle extraite de *Cymbopogon giganteus* de Côte d'Ivoire : trans-p-mentha-1(2),8-diène-3-ol (18,4%), cis-p-

mentha-1(7),8-diène-2-ol (16,0%), cis-p-mentha-1(2),8-diène-3-ol (8,7%), trans-p-mentha-1(7),8-diène-2-ol (15,7%) et le limonène (12,3%).

2.5.2.2. Activités antimicrobiennes

A notre connaissance et jusqu'à ce jour, la seule étude effectuée sur les propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle de *Cymbopogon giganteus* contre les microorganismes est celle effectuée sur les souches isolées des animaux domestiques chiens et chats du Togo par Kamaga *et al.* en 2006. Ces auteurs ont montré que l'huile essentielle de *Cymbopogon giganteus* est active contre les bactéries isolées parmi lesquelles nous avons *Staphylococcus aureus*.

2.6. *Xylopiya aethiopica* (Dunal) A. Richard

2.6.1. Identification botanique, utilisations, propriétés biologiques

Synonyme : *Unona aethiopica* Dunal

Uvaria aethiopica (Dunal) A. Rich

Habzelia aethiopica (Dunal) A. DC

Xylopium aethiopicum (Dunal) Kuntze

Xylopiya eminii A. chev

Xylopiya dekeyzeriana De wild

Xylopiya gillettii de Wild

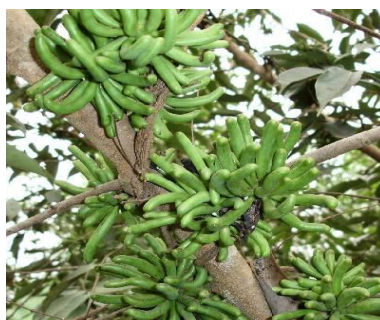


Figure 13: *Xylopiya aethiopica*

Noms usuels: Poivrier d'Ethiopie, Poivrier de Guinée, Poivrier nègre, etc...

Noms en langues nationales du Bénin :

Fon : Kpéjelekoun
Goun : Kpedjrekoun
Yoruba : Eranje
Mina: Eso

Xylopia aethiopica est un arbre très connu en Afrique de 12 à 15 m de haut, au fût généralement droit, élancé avec écorce lisse et finement striée. Les feuilles sont elliptiques, acuminées au sommet, obtuses ou arrondies à la base. Le limbe est épais, gras au toucher, les fleurs sont d'un blanc verdâtre, parfumées. Les pétales sont de 5 cm de longueur ; les fruits à nombreuses carpelles, cylindriques, linéaires, disposés en capitules, forment des bouquets de 12 à 20 capsules, bacciformes (Kerharo *et al.*, 1974 ; Adjanohoun *et al.*, 1989 ; Somova *et al.*, 2001.)

Le fruit de *Xylopia aethiopica* consommé comme condiment dans les sauces accélère la sécrétion du lait maternel chez la femme après accouchement. Il est efficace contre la toux, les maux de ventre, les bronchites, les affections hépatiques et la dysenterie (Iwu, 1993, Gouillerot *et al.*, 1996). Il est également un antitussif (Adjanohoun *et al.*, 1989).

2.6.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes

2.6.2.1. Composition chimique

Au Bénin, en 1996, Guigues de Souza *et al.* ont étudié l'huile essentielle extraite des fruits de *Xylopia aethiopica*. Parmi les 40 composés identifiés figurent le sabinène (36,0%), le 1,8-cinéole (12,8%) et le terpinen-4-ol (7,0%).

Le sabinène et le β -pinène sont les principaux composés de l'huile essentielle extraite des fruits de *Xylopia aethiopica* selon les travaux de Ayedoun *et al.*, 1996. En 1997, les mêmes auteurs isolent dans l'huile essentielle extraite des feuilles de cette même plante du β -pinène (34,9%), de l'elemol (14,9%) et de l' α -pinène (11,6%).

Chalchat *et al.* (1997) retrouvent dans l'huile essentielle extraite des fruits de *Xylopia aethiopica* du Cameroun des taux élevés de sabinène (23,9%), de β -pinène (17,4%) et de terpinen-4-ol (12,9%) ; le 1,8-cinéole ne représente que 2,1% du mélange.

Ndoye, en 2001, a analysé au cours de sa thèse l'huile essentielle extraite des fruits de *Xylopia aethiopica* récoltés au Cameroun. On y retrouve : le sabinène (21,8%), du β -pinène (14,5%), α -pinène (7,1%), myrténal (6,4%) et de l'acétate d'octyle (6,4%).

Keita *et al.*, en 2003, isolent de l'huile essentielle extraite des fruits séchés de *Xylopiya aethiopyca* récoltés au Mali, le β -pinène (19,1%), le γ -terpinène (14,7%), le trans-pinocarveol (8,6%) et le p-cymène (7,3%).

En 2003, Tatsadjieu *et al.* ont identifié dans l'huile essentielle des fruits de *Xylopiya aethiopyca* le β -pinène (18,3%), le terpinen-4-ol (8,9%), le sabinène (16,2%), l' α -phellandrène (7,1%).

Asekun et kunle (2004) indiquent que l'huile essentielle obtenue avec un rendement de 0,42% des fruits de *Xylopiya aethiopyca* est constituée majoritairement de monoterpènes dont le 1,8-cinéole (15,2%), le sabinène (6,6%) et le terpinen-4-ol (4,1%).

Selon les travaux de karioti *et al.* (2004), l'huile essentielle extraite de différents organes de *Xylopiya aethiopyca* contient une forte proportion de Germacrène D dans les feuilles (24,4%), dans les fruits frais (19,4%) et dans les fruits séchés (25,1%) et du trans-meta-mentha-1(7),8-diène dans les racines (30,4%) et dans les écorces (30,7%).

Les études de Jirovetz *et al.* (2005) et celles de Ogunwande *et al.* (2005) ont été menées sur les compositions chimiques respectives des huiles essentielles des fruits de l'espèce camerounaise et nigériane. L'espèce camerounaise affiche comme composés majoritaires β -pinène (18,0%), terpinen-4-ol (8,9%) et sabinène (7,2%) alors que celle du Nigéria affiche des résultats surprenants : le β -santalol (14,5%), α -cadinol (13,0%), benzoate de benzyle avec de l'acide dodécanoïque (10,0%) et de la zerumbone (4,0%).

2.6.2.2. Activités antimicrobiennes

Chalchat *et al.* (1997) avaient montré que l'huile essentielle extraite des fruits de *Xylopiya aethiopyca* possède une activité antimicrobienne contre *Klebsiella pneumoniae*.

Massoti *et al.* (1998) montrent que l'huile essentielle extraite des fruits de *Xylopiya aethiopyca* présente des activités antimicrobiennes et antifongiques très élevées. La fraction hydrocarbonée est particulièrement active sur les champignons.

Asekun et Adeniyi (2004) indiquent que l'huile essentielle extraite des fruits de *Xylopiya aethiopyca* du nigéria présente des activités antimicrobiennes sur quatre microorganismes.

2.7. *Crassocephalum rubens* (Juss. Ex Jacq) S. Moore

2.7.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques

Synonyme : *Senecio rubens* Juss. Ex Jacq (1776), *Gynura cernua* Benth. (1849), *Crassocephalum sarcobasis* (DC.) S. Moore (1912).

Noms en langues nationales du Bénin :

Idatcha : Gbolo

Goun (wémè) : Gblo

Yoruba : Ebolo

Fon : Akogbo



Figure 14 : *Crassocephalum rubens*

Plante herbacée annuelle, érigée, atteignant 80 cm de haut, elle est rencontrée dans toute l’Afrique tropicale y compris les îles de l’Océan Indien, où il a probablement été introduit ; on le signale aussi au Lesotho, en Afrique du sud et au Yémen. Ses feuilles disposées en spirale sont sessiles et ne présentent pas de stipules. Le limbe des feuilles inférieures est elliptique, oblancéolé ou obovale, de 4,5-16 cm x 2-5 cm, soit non lobé, soit 2-4-lobé ou rarement pennatilobé ; celui des feuilles supérieures est étroitement lancéolé, elliptique ou ovale, non lobé ou 6-8-lobé. Les fleurs sont bisexuées, égales ; la corolle tubulaire, de 8-10 mm de long, est de couleur bleu violet pâle, mauve ou violette. Son fruit est un akène côtelé, atteignant 2,5 mm de long, surmonté d’un pappus de poils blancs de 8-12 mm de long (Kokwaro, 1993 ; Katende *et al.*, 1999 ; Schippers, 2000).

En Afrique tropicale, *Crassocephalum* comprend environ 24 espèces, parmi lesquelles de nombreuses ont des usages médicaux. Le genre est placé dans la tribu des Senecioneae. Jusqu’à peu, *Crassocephalum rubens* et *Crassocephalum sarcobasis* étaient considérées comme des espèces distinctes avec une variation considérable au sein de chaque espèce. La variabilité a donné deux types distincts au Nord de la Sierra Leone. La différence de goût au Malawi implique que l’on consomme certains types régulièrement, alors qu’on en consomme d’autres uniquement en période de pénurie. On ne comprend pas encore tout à fait cette variabilité (Lemmens, 2003).

Crassocephalum rubens est présent comme adventice dans les champs, au bord des rivières et aux abords des routes, la plupart du temps à des altitudes élevées. En Ouganda, il

préfère des limons sableux et on le trouve jusqu'à 1800 m dans les régions où la pluviométrie annuelle est de 1000-1600 mm (Grubben *et al.*, 2004).

Les feuilles de *Crassocephalum rubens* sont couramment consommées dans le sud-ouest du Nigéria, un peu moins dans d'autres zones humides d'Afrique de l'Ouest et d'Afrique centrale. Elles sont mucilagineuses et utilisées pour des potages et des sauces. En Ouganda, les feuilles sont séchées, hachées puis cuites avec des pois ou des haricots. Au Malawi, on cuit les feuilles et les jeunes pousses avec de l'arachide et des tomates. On utilise *Crassocephalum rubens* en médecine comme stomachique et pour traiter les problèmes de foie et les rhumes, et à usage externe pour traiter les brûlures, les douleurs oculaires (filariose), le mal d'oreille, la lèpre, et le cancer du sein. En Afrique de l'Est, il est utilisé comme antidote contre toute forme d'empoisonnement. Comme l'ail, on dit que la plante entière repousse les crocodiles (Kokwaro, 1993 ; Raji *et al.*, 1995 ; Katende *et al.*, 1999 ; Schippers, 2000 ; Grubben *et al.*, 2004).

2.7.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes

Peu de travaux ont été effectués sur cette plante. Grubben *et al.* (2004) rapportent que des traces d'alcaloïdes ont été relevées dans les tiges et les feuilles de cette plante ainsi qu'une grande quantité de tannins dans les racines. Les mêmes auteurs rapportent que l'huile essentielle extraite des feuilles de *Crassocephalum crepidioides*, une autre espèce de *Crassocephalum* contient principalement des monoterpènes hydrocarbonés (myrcène, limonène et α -copaène). Des extraits de *Crassocephalum crepidioides* ont présenté une activité antimutagène modérée chez *Salmonella typhimurium*.

2.8. *Mentha piperita*

2.8.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques.

Nom usuel : menthe poivrée



Figure 15 : *Mentha piperita*

Mentha piperita, communément appelée menthe poivrée en français et Peppermint en anglais, est une plante hybride issue d'un croisement entre la menthe aquatique (*Mentha aquatica*) et la menthe verte (*Mentha spicata*). D'origine égyptienne, elle est une espèce végétale d'environ 50 cm de hauteur possédant une tige légèrement poilue de section carrée. Ses feuilles sont de couleur vert foncé à ses extrémités supérieures, d'une couleur vert pâle à ses parties postérieures, et d'une structure foliaire ovale en dents de scie. Elles mesurent entre 4 et 10 cm de long. Ses fleurs sont localisées aux extrémités supérieures de la plante et d'une couleur rose violet (Bruneton, 2009).

En 2005, des essais cliniques ont conclu que l'huile essentielle de menthe poivrée (180 mg à 200 mg par jour) pourrait être utilisée contre le syndrome de l'intestin irritable (SII). (Grigoleit *et al.*, 2005).

Ford *et al.* (2008) rapportèrent que l'huile essentielle de *Mentha piperita* était efficace pour soulager les symptômes du syndrome de l'intestin irritable et elle semble moins chère que les médicaments antispasmodiques.

Selon les travaux de Madisch *et al.* (1999) et May *et al.* (2000), une préparation à base d'huile essentielle de menthe poivrée associée à celle du carvi peut, comme la cisapride, un médicament classique utilisé pour traiter la dyspepsie fonctionnelle, soulager des douleurs abdominales chez des patients souffrant de pareil trouble.

Plusieurs essais effectués en majorité au Japon démontrent que l'huile essentielle de menthe poivrée réduit les spasmes des intestins causés par des interventions comme le lavement baryté ou l'endoscopie abdominale (Sparks *et al.*, 1995 ; Asao *et al.*, 2001 ; Asao *et al.*, 2003 ; Hiki *et al.*, 2003 ; Mizuno *et al.*, 2006 ; Yamamoto *et al.*, 2006). Certains de ces essais indiquent qu'elle peut être aussi ou même plus efficace qu'un antispasmodique classique administré par injection (Asao *et al.*, 2003 ; Hiki *et al.*, 2003).

Deux essais cliniques préliminaires visant à vérifier l'efficacité de l'application d'huile essentielle de menthe poivrée pour soulager les maux de tête liés à la tension nerveuse ont été menés (Gobel *et al.*, 1994 ; 1996). Selon le plus récent, frictionner les tempes avec une solution alcoolique renfermant 10 % d'huile essentielle serait aussi efficace qu'une dose de 1 000 mg d'acétaminophène (Tylenol®).

Les gerçures causées par l'allaitement sont très douloureuses et sont une des principales raisons de son abandon. Au cours d'un essai comparatif sur 216 femmes qui allaitaient leur premier bébé, un gel contenant 0,2 % de menthe poivrée a été plus efficace que

de la lanoline purifiée et qu'un gel placebo pour réduire le nombre de gerçures sur les mamelons (Melli *et al.*, 2007).

Les résultats de 2 essais préliminaires indiquent que l'huile essentielle de menthe pourrait contribuer à contrer les nausées consécutives aux interventions chirurgicales (Tate, 1997 ; Anderson et Gross, 2004).

La Commission Européenne, l'Organisation mondiale de la Santé et l'ESCOP reconnaissent l'usage de l'huile essentielle de menthe par voie externe pour soulager les maux de tête, le rhume, certaines irritations cutanées et les douleurs musculaires, névralgiques ou rhumatismales. Ces organismes reconnaissent aussi plusieurs effets thérapeutiques à la menthe prise sous forme de tisane : soulagement des spasmes gastro-intestinaux et des voies biliaires, des troubles digestifs mineurs (dyspepsie), du syndrome de l'intestin irritable et des symptômes du rhume. Les résultats d'essais *in vitro* tendent à confirmer ces usages traditionnels. L'huile essentielle de menthe aurait en effet une action antibactérienne marquée sur plusieurs souches de micro-organismes infectieux, dont *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (Mimica-Dukic *et al.*, 2003 ; Betoni *et al.*, 2006).

Shin et Lee (2007) rapportèrent que l'utilisation d'un mélange d'huiles essentielles de romarin, de lavande et de menthe poivrée a amélioré l'effet antidouleur d'un traitement d'acupression auprès de patients souffrant de douleur à l'épaule à la suite d'un accident vasculaire cérébral.

La prise simultanée de menthe poivrée et d'un supplément de fer pourrait nuire à l'absorption du fer (Hurrell *et al.*, 1999 ; Akdogan *et al.*, 2004).

Sareta *et al.* (2011) rapportent les propriétés larvicides et repoussantes de l'huile essentielle de *Mentha piperita* contre *Aedes aegypti*. Les mêmes auteurs ont prouvé que la même huile essentielle possède une efficacité contre le vecteur de la dengue.

2.8.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes

2.8.2.1. Composition chimique

Gokalp *et al.* (2002) ont isolé de l'huile essentielle de *Mentha piperita* de Turquie, le menthol et le menthone comme les deux composés majoritaires.

Sokovic *et al.* (2007) étudient la composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Mentha piperita* de Belgrade et isolent majoritairement le menthol (37,4%), l'acétate de menthyle (17,4%) et le menthone (12,7%).

Selon Bassolé *et al.* (2010), 17 composés caractérisent l'huile essentielle de *Mentha piperita* représentant 93,4% du total de l'huile essentielle. Les plus abondants sont le menthol (39,3%) et le menthone (25,2%). Quelques composés minoritaires isolés de cette huile essentielle de *Mentha piperita* du Burkina-Faso sont : le menthofurane (6,8%), l'acétate de menthyle (6,7%), l'isomenthone (5,3%), le 1,8-cinéole (4,1%) et le pulegone (1,4%).

Dahouenon-Ahoussi *et al.* (2010) ont étudié la composition de l'huile essentielle extraite de la feuille fraîche de *Mentha piperita* du Bénin. Elle est composée majoritairement de menthol (46,7%), de neomenthol (8,26%), de 1-8 cineole (6,49%) et de limonène (2,81%).

2.8.2.2. Activités antimicrobiennes

Inouye *et al.* (2001) notent que la plupart des pathogènes du tractus respiratoire, incluant *Haemophilus influenza*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, et *Staphylococcus aureus*, sont sensibles à l'huile essentielle de *Mentha piperita* du Japon.

Gokalp *et al.* (2002) notent que toutes les huiles essentielles de *Mentha piperita* de turquie ont exhibé une forte activité antibactérienne contre les microorganismes pathogènes des plantes et une activité antibactérienne modérée contre les microorganismes pathogènes humains.

Sokovic *et al.* (2007) ont montré que l'huile essentielle de *Mentha piperita* a exhibé de fortes activités antimicrobiennes contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium* avec des CMI comprises entre 1,0 et 3,0 µg/mL et des CMB comprises entre 1,5 et 5,0 µg/mL montrant ainsi les mêmes potentialités antibiotiques que la streptomycine détenant les mêmes CMI et les mêmes CMB.

Bassolé *et al.* (2010) ont noté que parmi les trois huiles essentielles investiguées à savoir *Lippia multiflora*, *Ocimum basilicum* et *Mentha piperita*, cette dernière a montré les plus faibles activités antimicrobiennes contre *Staphylococcus aureus* (CMI= 8,3±0,2 mg/mL), *Escherichia coli* CIP 105182 (CMI=40±0,3 mg/mL), *Salmonella typhimurium* (CMI=13,3±0,2 mg/mL).

2.9. *Lippia rugosa* A.Chev.

2.9.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques

Famille : Verbenaceae

Synonyme : *Lippia adoensis* Baker non Hochst p.p.
Lippia nigeriensis Moldenke

Nom usuel : Thé de Gambie

Noms en langues nationales du Bénin :

Fon : aglala, aklala, nye ya, nyinya, danxomè-fio, pobè fio, kanhun

Yoruba-nagot : efinrin, go gow

Mina: avlovo, avundati



Figure 16 : *Lippia rugosa*

Herbe pérenne à fils scabres et nervures saillantes, elle est présente en savane de la Guinée, au Cameroun. Selon Oliver-Bever (1982), *Lippia rugosa* est un arbre robuste pérenne appartenant à la famille des verbenaceae, haut de 12 pieds avec des feuilles bleu-vert, lancéolées oblongues, possédant des fleurs aromatisantes plaisantes, petites et blanchâtres dans une inflorescence en branches.

La plante est retrouvée dans les savanes arborées. Elle est utilisée en médecine traditionnelle contre l'indigestion, le rhumatisme, la fièvre, la toux et la jaunisse. Des études ethnobotaniques et les premières enquêtes ont révélé que cette plante est aussi utilisée pour la conservation des aliments. Pour cela, les feuilles fraîches sont enfouies entre les graines de haricots pour conserver les légumineuses et les maïs des attaques d'insectes et de champignons (Illiassa, 2004).

N'gamo *et al.* (2007), dans leurs investigations dans le domaine de la conservation des grains pendant le stockage, ont insisté sur l'activité antifongique prononcée de *Lippia rugosa* du Cameroun sur *Sitophilus zeamais* et *Sitophilus orizae*, deux coléoptères ravageurs des grains en stockage.

2.9.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes

2.9.2.1. Composition chimique

Selon Tatsadjieu *et al.* (2009), la composition chimique de l'huile essentielle de *Lippia rugosa* du Cameroun révèle les composés majoritaires suivants : géraniol (51,5%), nérol (18,6%) et géraniol (10,4%).

2.9.2.2. Activités antimicrobiennes

A notre connaissance et jusqu'à ce jour, ce sont les études de Tatsadjieu *et al.* (2009) qui ont utilisé l'huile essentielle de *Lippia rugosa* du Cameroun pour inhiber la croissance de *Aspergillus flavus* Link et des aflatoxines.

2.10. *Syzygium aromaticum* L.

2.10.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques

Famille botanique : Myrtaceae

Synonyme : *Eugenia caryophyllata* L. Merr & Perry

Nom usuel : Clou de Giroffle



Figure 17 : *Syzygium aromaticum*

En médecine traditionnelle, la plante est utilisée pour ses propriétés analgésiques et antiseptiques et pour traiter les maux de dents (Cai et Wu, 1996). L'origine géographique exacte de cet arbre est inconnue. Il est probable que cet arbre soit d'origine des climats chauds et humides de l'Asie tropicale, peut être dans les Molucques. Les zones de production de cet arbre sont localisées dans les îles de Ceylan et de Penandé aussi bien les îles indonésiennes de Molucques (Guenter, 1965). L'huile essentielle obtenue des bourgeons de cette plante est utilisée dans les formulations pour produits dentaires, de pâtes dentifrices pour les bains de bouche, des savons, des produits cosmétiques et pour repousser les insectes. Cette huile possède des propriétés antibactériennes, antifongiques et cytotoxiques (Baratta *et al.*, 1998 ; Dorman *et al.*, 2000 ; Gayoso *et al.*, 2005, Prashar *et al.*, 2006).

L'huile essentielle de *Eugenia caryophyllata* est reconnue efficace pour ses activités antifongiques (Chami *et al.*, 2005), antibactériennes (Cai et Wu, 1996 ; Fridmann *et al.*, 2002 ; Beuchat, 2000 ; Kalemba et Kumicka, 2003), anticarcinogènes (Zheng *et al.*, 1992), antiallergiques (Kim *et al.*, 1998), antimutagène (Miyazawa et Hisama, 2001), analgésique, anesthésique, stimulant tonique des douleurs stomacales, antiémétique, antiseptique, antispasmodique (Lavabre 1992 ; Sèllan, 2002).

2.10.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes

2.10.2.1. Composition chimique

Khan *et al.* (2008) ont signalé une très forte proportion en eugénol dans l'huile essentielle extraite de *Syzygium aromaticum* de l'Inde. Politeo *et al.* (2010) ont identifié dans l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* de Croatie, une très forte proportion d'eugénol (80,5%) comme composé volatil dominant.

Burt (2007), dans ses études sur les huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antibactériennes puissantes, a investigué la composition chimique de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* et a trouvé comme composés majoritaires l'eugénol (75-85%) et l'acétate d'eugénol (8-15%).

2.10.2.2. Activités antimicrobiennes

Mourad *et al.* (2011) ont rapporté que l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* possède un large spectre antifongique contre les champignons délétères du bois (*Thielavia hyalocarpa*, *Penicillium commune*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum* et *Cladosporium cladosporioides*) mais également cette huile possède une activité antibactérienne, fait déjà rapporté par Ezzaouia *et al.*, 2007 ; Hoffman *et al.*, 2004 ; Mau *et al.*, 2001).

Selon Khan *et al.* (2008), les extraits éthanoliques de *Syzygium aromaticum* possèdent des activités antimicrobiennes très fortes sur *Candida albicans* ATCC 10231, sur *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, sur *Streptococcus bovis* ATCC 9809, sur *Staphylococcus aureus* ATCC 29212 et des activités antimicrobiennes modérées sur *Escherichia coli* ATCC 25922 et sur *Enterobacter faecalis*. Selon les mêmes auteurs, *Candida albicans* semble très sensible à l'action de *Syzygium aromaticum* avec une CMI de 156 µg/mL.

L'eugénol, composé isolé dans le *Syzygium aromaticum*, possède une activité antifongique très forte (Charmin *et al.*, 2004).

2.11. *Pimenta racemosa* (Mill.) J. W. Moore

2.11.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques

Famille botanique: Myrtaceae

Synonyme: *Pimenta acris* Kostel

Syzygium racemosum DC

Noms usuels : bay run tree, « bois d'Inde » en Guadeloupe.



Figure 18 : *Pimenta racemosa*

Arbre pouvant atteindre 15 m de hauteur avec écorce lisse blanchâtre et au bois dur et lourd. Les feuilles sont elliptiques de 4 à 12 cm de longueur, 2,5 à 8 cm de largeur, à nervures saillantes dessus et dessous. Son tube floral est cupuliforme, son calice S lobé, ses pétales blancs, longs de 3 mm (Adjanooun *et al.*, 1985). Il est relevé au Venezuela, au Puerto Rico dans les caraïbes surtout en République dominicaine et en Jamaïque pour la production d'huile essentielle à partir des feuilles ; l'huile est communément appelé « bay oil » ou « Myrcia oil ».

Les feuilles de *Pimenta racemosa* sont exploitées dans l'industrie pour l'obtention de l'huile essentielle de « bay ». Au Bénin, elles sont utilisées dans les préparations culinaires où l'espèce est connue sous le nom de « laurier sauce ». Cette espèce est également utilisée pour diverses propriétés thérapeutiques.

Selon Opdyke (1973), elle est utilisée dans la fabrication de crèmes, lotions, détergents ou dans les champings. Elle est également utilisée en parfumerie. Une décoction de morceau d'écorce, prise en tisane, est utilisée contre l'hypertension.

Selon Robineau (1991) et Duke (1986), la plante mieux connue sous le nom de « Ozua » (Germosen, 1995) est utilisée pour ses propriétés anti-inflammatoire et analgésique.

Ayedoun (1995) rapporte que les feuilles sont utilisées per os en association avec les feuilles d'*Ocimum basilicum* et de *Chenopodium ambrosoides* ou avec celles de *Pluchea symphitifolia* comme fébrifuges.

2.11.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes

2.11.2.1. Composition chimique

En 1991, Tuckei *et al.* ont étudié la composition chimique des huiles essentielles des feuilles de trois variétés de *Pimenta racemosa* de la République Dominicaine. *Pimenta racemosa* var *grisea* est dominé par le géraniol, le méthyl-eugénol ou le trans-méthyl-isoéugénol, *Pimenta racemosa* var. *hispaniolensis* est dominé par le 1,8-cinéole, le méthyl

chavicol, le méthyl eugénol, le γ -terpinène, le terpinèn-4-ol ou le thymol, *Pimenta racemosa* var. *ozua* est caractérisé par les taux élevés en 1,8-cinéole, limonène ou α -terpinéol.

L'huile essentielle de « bay commune » (*Pimenta racemosa* var. *racemosa*) est dominée par des constituants aromatiques (chavicol, eugénol et méthyl eugénol).

En 1995, Abaut *et al.* ont retrouvé en Guadeloupe les trois variétés chimiques décrites par McHale en 1977 c'est-à-dire la variété « giroffle » dominée par l'eugénol, la variété « anisée » dominée par l'estragole et le méthyl eugénol et enfin la variété « lemon » caractérisée par un taux élevé de citral (70%).

Ayedoun *et al.* (1996) ont montré que l'huile essentielle de *Pimenta racemosa* du Bénin est comparable à une huile essentielle commerciale classique ; elle est dominée par l'eugénol (52,7%), le myrcène (26,6%) et le chavicol (6,3%).

Bello *et al.* (1996, 1998) ont effectué l'analyse chimique de l'huile essentielle extraite de feuilles de *Pimenta racemosa* récoltées à Cuba ; ils ont montré que les composés majoritaires étaient le terpinèn-4-ol (20%) et le 1,8 cinéole (20,4%), accompagnés par des constituants aromatiques tels que le méthylchavicol (10,8%), le chavicol (10,1%) et l'eugénol (10,7%).

En 2001, Bello *et al.* ont repris l'étude des huiles essentielles de différentes Myrtacées de Cuba et notamment de *Pimenta racemosa* var. *racemosa* : ils ont trouvé une composition chimique comparable à celle précédemment décrite ; elle est dominée par le terpinèn-4-ol (20,7%), le 1,8-cinéole (20,4%) mais avec, également, des taux importants d'eugénol (10,7%) et d' α -terpinéol (10,0%).

Garcia *et al.* (2002) ont analysé les huiles essentielles obtenues à partir des feuilles de deux variétés de *Pimenta racemosa* rencontrées en République Dominicaine : *Pimenta racemosa* var. *terebinthia* et *Pimenta racemosa* var. *grisea*. Ils ont montré que la variété *terebinthia* était caractérisée par 27% d'acétate de terpinyle, 20% d' α -terpinéol et 12,6% de 4-méthoxy eugénol tandis que la variété *grisea* contenait 75,2% de 4-méthoxy isoeugénol, et de 4-méthoxy eugénol (4,5%).

Selon la norme internationale ISO/FDIS 3045 (Normes AFNOR, 2004), l'huile essentielle de bay (*Pimenta racemosa*) contient 42 à 56% d'eugénol, 8 à 13% de chavicol et 20 à 30% de myrcène.

2.11.2.2. Activités antimicrobiennes

Aurore *et al.* (1998) étudient les activités antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles de trois variétés chimiques de *Pimenta racemosa* sur 5 bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Mycobacterium smegmatis*) et sur 5 champignons (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Absidia corymbifera*, *Penicillium verrocosum* et *Cladosporium cladosporioides*). Les trois variétés « chimiques » énumérées sont de chémotypes à citral/à méthyl chavicol-méthyl eugénol/et à chavicol-eugénol.

Les souches fongiques ont été les plus sensibles, mais seule une activité bactériostatique a pu être mise en évidence.

En 2000, Delespaul *et al.* ont montré que l'huile essentielle de la variété chimique de *Pimenta racemosa* riche en eugénol (60%) présentait une forte activité antifongique aussi bien par contact que par la méthode en « micro-atmosphère » utilisant la phase « vapeur » de l'huile essentielle.

Burt *et al.* (2002) ont montré que l'huile essentielle de *Pimenta racemosa* présentait une forte activité antibactérienne sur *Escherichia coli* O 157 : H7.

Saenz *et al.* (2004) ont montré que l'huile essentielle de *Pimenta racemosa* var. *grisea* était active sur les bactéries Gram (+) et Gram (-), ce qui indique des potentialités pour l'utilisation de cette variété comme agent microbiostatique, antiseptique et désinfectant.

2.12. *Cinammomum zeylanicum*

2.12.1. Identification botanique, utilisations et propriétés biologiques

Synonyme : *Cinnamomum verum*

Noms vernaculaires français : cannelle et petit cannelle

Nom vulgaire : Cannelier



Figure 19 : *Cinnamomum zeylanicum*

Cinnamomum zeylanicum blume appartient à la famille des Lauraceae. C'est un arbre de 3 à 15 m de haut avec des feuilles opposées, oblongues-ovales, coriaces, luisantes, de 15 à

20 cm de long et de 8 à 10 cm de large munies de 3 ou 5 nervures longitudinales. Ses fleurs sont unisexuées, blanchâtres, disposées en panicules axillaires et terminales. Originaire de Sri Lanka (Nees *et al.*, 1978), de Madagascar, des Iles Comores, de l'Inde et de l'Indochine (Simic *et al.*, 2004 ; Unlu *et al.*, 2010) où la culture est industrialisée ainsi qu'en Asie du Sud-Est, la plante est assez répandue dans les régions chaudes du monde. Ses feuilles comme l'écorce ont un goût prononcé de cannelle. Leur infusion prolongée et légèrement refroidie a naturellement un goût sucré. On traite la toux et le rhume avec l'infusion des feuilles de cannelle avec du safran (*Curcuma longa* L.) auxquels on ajoute la peau d'orange, du miel et un œuf cru. On traite également la grippe avec la cannelle accompagnée ou pas d'un petit verre de rhum. Le décocté de l'écorce per os calme les douleurs abdominales. Celui des feuilles est un fébrifuge per os. Le décocté de la plante entière est indiqué contre les douleurs abdominales en association avec *Eryngium foetidum* (chadon béni) (Nees *et al.*, 1978). L'intérieur des écorces de l'arbre a été utilisé en ethnomédecine et pour donner de la saveur aux aliments (Baytop, 1999 ; Bakkali *et al.*, 2008). Les études modernes ont montré que les extraits et les constituants de *Cinnamomum zeylanicum* possèdent aussi des activités antimicrobiennes (Chao *et al.*, 2000 ; Ranasinghe *et al.*, 2002 ; Dusan *et al.*, 2006 ; Shahverdi *et al.*, 2007 ; Carno *et al.*, 2008), insecticides (Yang *et al.*, 2005), acaricides (Fichi *et al.*, 2007), antityrosinase (Marongiu *et al.*, 2007), antioxydantes et antimutagéniques (Jayaprakasha *et al.*, 2007).

2.12.2. Composition chimique et activités antimicrobiennes

Simic *et al.* (2004) ont montré que l'huile essentielle extraite des feuilles de ladite plante possédait des activités fongicides contre *Aspergillus niger* ATCC 6275, *Aspergillus ochraceus* ATCC 12066, *Aspergillus versicolor* ATCC 11730, *Aspergillus flavus* ATCC 9170, *Aspergillus terreus* ATCC 16792, *Alternaria alternata* ATCC 13963, *Aureobasidium pullulans* ATCC9348, *Penicillium ochrochloron*, *Penicillium funiculosum*, *Fusarium tricinctum*, *Cladosporium cladosporoides* etc.... Selon les mêmes auteurs, la composition chimique de l'huile essentielle extraite de *Cinnamomum zeylanicum* de Serbie et de Monténégro a pour composés majoritaires, le trans-cinnamaldéhyde (62,79%), du limonène (8,31%), de l'eugénol (7,09%) et du cinnamaldéhyde propylène (5,55%). Selon Unlu M. et al (2010), l'huile essentielle de *Cinnamomum zeylanicum* de Turquie a pour composés majoritaires, le (E)-cinnamaldéhyde (68,95%), le benzaldéhyde (9,94%), le (E)-cinnamylacétate (7,44%) et le limonène (4,42%). Selon ces mêmes auteurs, l'huile essentielle

de *Cinnamomum zeylanicum* a une activité antimicrobienne très forte contre quatre espèces de *Candida*, contre des bactéries gram+ telles que *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* et *Bacillus cereus* et contre des Gram- telles que *Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium* et *Pseudomonas*. Selon Khan *et al.* (2008), l'huile essentielle de *Cinnamomum zeylanicum* a induit des sensibilités antimicrobiennes contre *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

DEUXIEME PARTIE :

Chapitre 3 : Matériel & Méthodes

CHAPITRE 3 : Matériel et méthodes

3.1. Matériel

Il est constitué du matériel végétal, des souches microbiennes (bactéries, levure et moisissures), du matériel de diagnostic biologique et chimique.

3.1.1 Matériel végétal

Les douze plantes investiguées (*Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Mentha piperita*, *Pimenta racemosa*, *Lippia multiflora*, *Lippia rugosa*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon giganteus*, *Xylopi aethiopica*, *Crassocephalum rubens*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Syzygium aromaticum*) appartenant aux sept grandes familles botaniques à savoir Lamiaceae, Myrtaceae, Verbenaceae, Poaceae, Annonaceae, Asteraceae et Lauraceae ont été récoltées dans cinq départements du BENIN. La répartition géographique des plantes aromatiques récoltées figurent dans le tableau.

3.1.2. Les souches microbiennes

Les bactéries communément présentes dans les aliments sont : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* β -hémolytique, *Bacillus* spp, *Clostridium perfringens*, *Klebsiellia pneumoniae*, *Salmonella* Typhi et certaines de leurs homologues ATCC (American Type Culture Collection) telles que *E. coli* 0 : 157 H : 7 ; *E. coli* 25922 et *S. aureus* ATCC 25923. La levure investiguée est *Candida albicans* ATCC 10231.

Les moisissures filamenteuses isolées sont : *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium digitatum*, *Fusarium oxysporum*.

3.1.3. Matériel de diagnostic biologique et chimique

Constitué de la verrerie classique (pipettes, erlenmeyers, tubes à essais) des boîtes de Pétri à usage unique stériles de 90mm de diamètre, des microplaques de 96 puits, d'une micropipette P100 marque Gilson, des milieux de cultures (Mueller Hinton broth et Agar) du rouge de phénol, de l'oxytétracycline Glucose Agar, du fluconazole, des disques standards

d'antibiotiques, des disques stériles de 6mm de diamètre. Les milieux de culture et réactifs utilisés dans le diagnostic microbiologique (identification des souches microbiennes et différents tests de confirmation) proviennent de BIORAD, 3 Bd Raymond Poincaré et 92430 Marnes-La-Coquette (France), de MERCK, 64271 Darmstadt, Germany, OXOID, BASINGSTORE, Hampshire, England, de BIOMERIEUX, 69280 Marcy l'Etoile, France et de DifCO, Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD 21152, Usa.

Le matériel du diagnostic chimique est un CPG, d'un spectromètre, du Clevenger pour extraction des huiles essentielles.

Les analyses microbiologiques ont été effectuées à la fois au Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi (LERCA/EPAC) et au Laboratoire du service d'Hygiène des Eaux et des Aliments du Laboratoire National de Santé Publique (SHEA/LNSP).

Tableau VI : Zonalisation et parties des plantes étudiées

| Plantes | Lieu de récolte | Structure pédologique de récolte | Partie analysée | Famille botanique |
|------------------------------|----------------------------|----------------------------------|-----------------|-------------------|
| <i>Ocimum gratissimum</i> | Plateau d'Abomey-Calavi | Sol ferralitique sableux | Feuille | Lamiaceae |
| <i>Ocimum basilicum</i> | Plateau-Ouémé | Sol ferralitique sableux | Feuille | |
| <i>Mentha piperita</i> | Plateau-Ouémé | Sol ferralitique sableux | Feuille | |
| <i>Pimenta racemosa</i> | Plateau-Ouémé | Sol ferrugineux | Feuille | Myrtaceae |
| <i>Syzygium aromaticum</i> | Nigéria | - | Graines | |
| <i>Lippia multiflora</i> | Pèrèrè | Sol ferralitique gravionnaire | Feuille | Verbenaceae |
| | Kpakpassa | Argilo limoneux gravionnaire | Feuille | |
| <i>Lippia rugosa</i> | N'dali-Tamarou | Ferrugineux gravionnaire | Feuille | |
| | Gbé gourou village Binassi | Ferrugineux gravionnaire | Feuille | |
| <i>Cymbopogon citratus</i> | Plateau-Ouémé | Sol ferrugineux | Feuille | |
| <i>Cymbopogon gignateus</i> | Lokossa | Sol argileux | Feuille | |
| <i>Xylopiya aethiopica</i> | Plateau-Ouémé | Sol ferrugineux sableux | Feuille | Annonaceae |
| | Plateau-Ouémé | Sol ferrugineux sableux | Fruits | |
| <i>Crassocephalum rubens</i> | Savalou | Sol ferrugineux gravionnaire | Feuille | Asteraceae |
| | Ouèssè | Sol ferrugineux gravionnaire | Feuille | |
| <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | Plateau d'Abomey-Calavi | Sol ferralitique sableux | Feuille | Lauraceae |

3.2 Méthodologie

3.2.1 Extraction des huiles et calcul des rendements

Environ 200g du matériel végétal de chaque plante ont été soumises chacune à une hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger pendant 3 heures. L'huile essentielle ainsi obtenue dans un essencier a été recueillie dans un petit flacon sombre contenant du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) et entreposée à 4°C jusqu'à son utilisation.

Le rendement R est exprimé par rapport au matériel végétal frais et son calcul se fait de la manière suivante :

$$R = \frac{MHe}{MMv} \times 100$$

R : rendement

MHe : Masse d'huile essentielle obtenue

MMv : Masse de matériel végétal extrait

3.2.2 Composition chimique des huiles essentielles

3.2.2.1. Analyse par chromatographie en phase gazeuse

Les huiles ont été analysées à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse VARIAN CP.3380 équipé de deux colonnes capillaires (apolaire et polaire) et relié à un intégrateur Varian (Model C-R4A°)

3.2.2.1.1 Caractéristiques techniques de l'équipement

- un bloc injecteur capillaire SPL 14 (Split/Splitless)
- un four avec programmation et contrôle de la température
- deux colonnes capillaires en silice fondue de 30m de longueur, 0,25mm de diamètre interne. Les deux phases stationnaires utilisées étaient le polyéthylène glycol (Carbomax 20M) pour la colonne polaire et le diméthyl polysiloxane (DB-1) pour la colonne apolaire.
- un bloc détecteur à ionisation de flamme (FID)
- un intégrateur Varian (Model C-R4A) équipé d'une imprimante à transfert thermique, d'une unité de lecture de disquettes et d'un écran de visualisation.

3.2.2.1.2. Conditions de travail

Les analyses chromatographiques gaz-liquide des huiles ont été faites dans les mêmes conditions :

- données thermiques : les températures de l'injecteur et du détecteur sont fixées respectivement à 220°C et 250°C, tandis que celle du four est programmée de 50°C à 200°C avec un gradient de 5°C /min.
- débit des gaz utilisés : pour l'élution, le gaz utilisé est l'azote (gaz vecteur) avec un débit réglé à 0,8mL/min.
- rapport de Split : 1 :100
- injection : 1µl d'une solution de 1-10% (dans le pentane, l'éther ou le dichlorométhane suivant la solubilité de l'HE).

Les calculs d'indices de rétention ont été réalisés par comparaison des temps de rétention des constituants avec ceux d'un mélange d'alcane (C9-C20 pour DB-1 et C9-C26 pour CWX 20M) obtenues dans les mêmes conditions expérimentales.

3.2.2.2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse et en spectrométrie de masse

3.2.2.2.1. Caractéristiques techniques de l'équipement

- Identification à partir des indices de rétentions et des spectres de masse

Tous les huiles essentielles ont été analysés par CPG / SM, technique qui résulte en la séparation des constituants du mélange sur une colonne montée en série avec un spectromètre de masse. Chaque constituant sortant de la colonne, passe directement dans le champ d'ionisation du spectromètre. La molécule soumise à l'impact électronique est fragmentée. Les spectres de masse obtenus pour chaque composé sont comparés aux données de la littérature ainsi qu'à ceux de la banque de données du laboratoire.

Les couplages CPG/SM ont été réalisés sur un appareil de type Hewlett Packard-Quadruple (Model 5970). Le chromatographe est équipé d'une colonne capillaire de silice fondue de 30m de longueur et 0,25mm de diamètre intérieur avec une phase greffée de type diméthylpolysiloxane (DB-1) de 0,25µm d'épaisseur.

3.2.2.2.2 Conditions de travail

- La température de l'injecteur est fixée à 220°C
- Le voltage du spectromètre de masse est de 70 eV
- La température du four est programmée de 70°C à 200°C avec un gradient de 10°C /min.
- Le gaz vecteur (l'hélium) était réglé à un débit de 0,6mL/min.

3.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

3.3.1. Isolement et purification des souches microbiennes

Les microorganismes testés ont été isolés pour la plupart à partir de certains aliments de grande consommation selon les normes opérationnelles et analytiques prescrites par International Standards Organization (tableau VII). *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ont été respectivement détectés et isolés d'une sauce de tomate et de la pâte cuite, *Enterococcus faecalis* β -hémolytique, *Salmonella* Typhi, *Klebsiella pneumoniae* ont été par contre isolés respectivement de l'eau, d'une boisson rafraichissante appelée Tchakpalo et du lait cru de vache ; quant à *Bacillus subtilis* et *Clostridium perfringens*, ils ont été isolés d'un jus de mangue pressé à froid selon les techniques usuelles de détection et d'isolement à partir des milieux de culture sélectifs et appropriés.

Les méthodes analytiques et les normes opérationnelles ISO (International Standards Organization) figurent dans le tableau VII.

Les souches de référence *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 10231 ont été fournies par le Laboratoire National de Santé Publique du Ministère de la Santé sis à Cotonou.

En ce qui concerne les champignons, ils ont été détectés, isolés et identifiés selon les techniques décrites par Samson *et al.*, (1997) à savoir, technique de dilution en boîte de Pétri (culture 5 jours à 25°C), scotchage des colonies sur lame de verre et observation par stéréomicroscopie et chromatographie en couche mince pour isoler les métabolites supérieurs produits par les moisissures ce qui permet de faire la spéciation à partir de l'identification des métabolites produits par ces champignons par Chromatographie en Couche Mince.

Tableau VII: Revue synoptique des méthodes de détection, d'isolement et d'identification des souches microbiennes testées.

| Souches microbiennes | Origine | Méthode de Détection | Isolement | Identification |
|--------------------------------|-----------------------------------|---|---|--|
| <i>Escherichia coli</i> | Sauce de tomate | ISO 7251. NPP (Sept.1994) | Confirmation Test d'indole Réactif de Kovacs | API 20E |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Lait de vache | ISO 4832 NPP (Juil.1991) | Isolement sur EMB | API 20E |
| <i>Salmonella typhi</i> | Boisson rafraîchissante « adôyo » | ISO 6579 EPT, RV, Hektoen-Rambach (Déc.2002) | Gélose Nutritive verification TSI-Lysine broth-Urea broth | API 20E + Sérologie Anti O. anti H. |
| <i>Streptococcus faecalis</i> | Eau de boisson | ISO 7899 ADB.EVA Broth. | Confirmation sur BEA | Oxydase-Catalase Microscopie |
| <i>Bacillus</i> | Jus de mangue | ISO 7932 MYP (Mars.1998) | Confirmation Glucose Agar, VP broth, Nitrate broth | API 20NE |
| <i>Clostridium spp</i> | Jus de mangue | TSN culture en anaérobiose ISO 7937 (fév.2005) | - | - |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Pâte de maïs cuite | ISO 6888. Baird-Parker, gélose Nutritive (Juin.2003) | Test de coagulase | API Staph |
| <i>Aspergillus ochraceus</i> | Tomate fruit | Culture en boîte de Pétri avec la méthode de dilution (Samson et al., 1995) | MEA, AFPA, CZ, YES, CYA | CCM, HPLC. (Frisvad et Filtenborg, 1995) |
| <i>Aspergillus parasiticus</i> | | | | |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | Néré | | | |
| <i>Penicillium digitatum</i> | | | | |

Conformément au tableau synoptique des méthodes analytiques et d'identification des microorganismes utilisés pour les tests, le détail des normes y afférent se présente comme suit :

Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella typhi* sont classés parmi les Enterobacteriaceae, les bacilles Gram- qui fermentent le glucose. Les identifications relatives à chacun de ces microorganismes ont été effectuées de la manière suivante :

Escherichia coli

Après culture à 30°C dans du bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB) du substrat avec la méthode du nombre le plus probable (ISO 7251), les tubes positifs ont été repiqués dans de nouveaux tubes de BLBVB accompagnés de tubes d'eau

peptonée simple ensemencés de la même manière que les précédents et incubés à 44°C. Les tubes d'eau peptonée simple positifs ont subi le test de l'indole à l'aide du réactif de Kovacs. Ce qui sont indole + sont considérés *E. coli* présumés, réisolés sur de la gélose nutritive et sont passés à l'identification à l'aide de la galerie API 20^E.

Klebsiella pneumoniae

Les tubes d'eau peptonée simple à 44°C qui sont indole négatif ont été réisolés sur la gélose Eosine Bleu de Méthylène (EMB). L'aspect muqueux présenté par certaines colonies indique que nous avons à faire à des souches de *Klebsiella* spp. Leur confirmation a été faite à l'aide de la galerie API 20^E.

Salmonella

Après les phases de préenrichissement en eau peptonée tamponnée, d'enrichissement dans le Rappaport-Vassiliadis, et l'isolement sur le Rambach Agar ou le Hektoen, les colonies caractéristiques (lactose-, incolores ou incolores à centre noir) sont réisolées sur des milieux de confirmation (XLD, TSI) et purifiées sur de la gélose nutritive ordinaire pour subir les tests de l'uréase à partir de la galerie API 20^E : les colonies uréase négative sont considérées comme des *Salmonella* présumés et elle sont soumises à des tests sérologiques à l'aide des sérum test anti O et anti H.

Les techniques d'identification et les clefs dichotomiques décrites par Guiraud et Galzy (1980) passent par les étapes suivantes :

Techniques d'identification

- La mobilité : étudiée par utilisation d'une gélose mobilité en culot, ensemencée par piqûre centrale et incubée 24h à 37°C (gélose mannitol-mobilité).
- Fermentation avec ou sans gaz, utilisation du lactose et production de H₂S.

Cette étude est réalisée sur des milieux spécifiques des entérobactéries : les milieux de Kligler et le Triple Sugar Iron (TSI).

Le milieu de Kligler est un milieu complexe gélosé contenant du glucose, du lactose, de la peptone, un sel de fer et un indicateur de pH, le rouge de phénol. Réparti en tube à essai sous forme semi-inclinée avec un haut culot et une petite tranche, il est ensemencé par piqûre profonde du culot au fil droit et par ensemencement en stries de la tranche. Le milieu est

examiné après 24h à 37°C. Le milieu TSI contient également du saccharose et permet de déceler aussi son utilisation qui se traduit également par l'acidification de la tranche qui indique donc le caractère Lactose+ ou saccharose +. Ce milieu permet de différencier les *Salmonella-Shigella* (lactose saccharose-) de la plupart des autres entérobactéries.

❖ Dégradation de l'urée et production d'indole.

Ces caractères sont étudiés séparément par utilisation des milieux liquides de Stuart (bouillon à l'urée) pour la dégradation de l'urée et d'eau peptonée pour la production d'indole.

Le milieu urée-indole

Le milieu est réparti en tubes à hémolyse et ensemencé à partir d'une culture sur milieu solide. Après incubation à 37°C/24h maximum, l'alcalinisation du milieu qui vire au rouge traduit la présence d'une uréase. On peut y caractériser l'indole par la réaction de Kovacs.

❖ Rouge de Méthyle et Voges-Proskauer (RM-VP).

Chez les entérobactéries, on rencontre deux types métaboliques : les espèces RM^+VP^- à fermentation acide mixte et les espèces RM^-VP^+ à fermentation butylène glycolique (butanéodielique). Les milieux liquides de Fouad ou de Clark et Lubs sont ensemencés et incubés 48h à 37°C. Les réactions sont réalisées en y ajoutant le Rouge de méthyle d'une part pour la réaction RM, et d'autre part, le KOH à 40% et l' α -naphthol pour le VP.

❖ Utilisation du citrate

Elle est testée par culture sur le milieu incliné de Simmons. Ce milieu est ensemencé par stries à partir d'un milieu solide et incubé 24h à 37°C.

Les trois derniers groupes de tests appelés IMVIC (Indole, Rouge de méthyle, Voges-Proskauer et Citrate) sont réalisés pour confirmer les microorganismes identifiés. Des études complémentaires comme la recherche de la β -galactosidase, de la lysine décarboxylase (LDC), de l'ornithine décarboxylase (ODC) et de la gélatinase permettent d'approfondir l'identification. Cependant, les systèmes API (Appareillage et Procédés d'Identification), 20 tests pour les entérobactéries et qui regroupent de façon pratique l'étude de nombreux caractères ont été utilisés et se résument à :

- ❖ API 20^E : 20 caractères d'identification des entérobactéries ;
- ONPG : Ortho-Nitro-Phénol β -galactosidase ;

- LDC: Lysine Décarboxylase;
- ODC: Ornithine Décarboxylase;
- Adénine dihydrolase;
- Urée
- Production d'H₂S;
- Citrate
- Tryptophane Désaminase (TDA) avec utilisation de perchlorure de fer;
- Indole avec utilisation de réactif de Kovacs ;
- Voges-Proskauer avec utilisation du KOH à 40% et de l' α -naphthol ;
- Hydrolyse de la gélatine ;
- Fermentation des différents sucres.

❖ La Clef dichotomique.

- Lactose+ (en 24h) : « coliforme »
 - Citrate - : *Escherichia coli*
 - Citrate + : RM-VP+ : immobile : *Klebsiella*
- Lactose - : urée - : Mobile : Indole- : Gélatine - : *Salmonella* S-GI (RM+VP)

 ***Staphylococcus aureus***

L'isolement sélectif et la numération de *Staphylococcus aureus* est réalisé en utilisant le milieu de Baird-Parker.

Il est constitué d'une base gélosée contenant du chlorure de lithium de glyocolle et du pyruvate, auquel on rajoute avant l'utilisation du tellurite de potassium et du jaune d'œuf. L'agent sélectif est constitué par le lithium et le tellurite. Après l'étalement de l'inoculum et incubation 24 à 36h à 37°C, les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent sous forme de colonies noires entourées d'un halo d'éclaircissement dû à l'hydrolyse de la lécithine de l'œuf.

On a ensuite procédé à la vérification de la catalase (*S. aureus* est catalase +) et à la caractérisation du pouvoir pathogène. Les tests ci-après sont effectués ; il s'agit de la coagulase : elle a été faite avec le plasma lyophilisé de lapin. Les souches présumées *Staphylococcus* sontensemencées dans un tube à hémolyse contenant 5 ml de plasma puis incubé à 37°C pendant 6 à 18 heures. Les tubes positifs (dont le contenu a coagulé dans l'intervalle de temps d'incubation) sont considérés coagulase +.

Streptococcus faecalis

C'est le groupe des entérocoques comprenant les Streptocoques fécaux qui ont une hémolyse α , β ou γ et qui appartiennent au groupe sérologique D.

La technique de numération et d'isolation en milieu liquide a été utilisée et passe par le milieu de Rothe (Azide Dextrose Broth) puis repiqué dans le milieu liquide de Litsky (Ethyl Violet Azide) qui lui est spécifique. Après 24 à 48h d'incubation à 37°C la présence de streptocoques fécaux se manifeste par apparition d'un trouble et éventuellement d'une pastille violette au fond du tube. La confirmation a été faite par isolement du bouillon sur Gélose Bile Esculine Azide qu'on incube à 37°C pendant 24h. Les colonies de streptocoques fécaux sont petites et translucides et vont subir le test d'hémolyse à l'aide de la gélose au sang de mouton défibriné. La souche de *Enterococcus faecalis* est β - hémolytique (qui éclate les hématies du plasma du mouton).

Bacillus subtilis

L'identification de *Bacillus* a été faite au moyen du milieu complet MYP Agar et composé d'un milieu de base, d'une solution de polymyxine et d'une émulsion de jaune d'œuf.

L'identification biochimique de *Bacillus subtilis* se fait au moyen des recherches suivantes : Hydrolyse de l'amidon (+), Production de l'acétoïne (+), Production d'indole (-), réduction des nitrates (+), utilisation du citrate (variable), recherche de l'uréase (-).

Clostridium

Pour ce qui est des *Clostridium*, nous avons fait la culture en tube dans du milieu TSN (Trypticase sulfite Néomycine) et l'incubation a été faite à 37°C pendant 24 heures ; les colonies noires recueillies de la gélose TSN sont réisolées sur de la gélose nutritive ordinaire et ont subi successivement la coloration de Gram pour vérifier la position de la spore et l'hydrolyse de la gélatine. Le *Clostridium* isolé est gélatinase + et l'observation à la microscopie optique nous montre un bacille Gram+ à spore subterminale.

3.3.2. Concentration Minimale d'Inhibition (CMI)

100µl du Mueller Hinton Bouillon (MHB) contenant du rouge de phénol à 0,02g/l ont été distribués dans les 96 puits d'une microplaque. 100 µl de la solution-mère de l'extrait (suspension préparée à partir de 40 µl de l'Huile Essentielle pure diluée dans 2000 µl de MHB) ont été ajoutés à chacun des puits de la 1^{ère} colonne A, C, D, E, F, G et H sauf à celui de la 2^{ème} rangée (B). Des dilutions successives de raison 2 puits par puits jusqu'au 12^e puits dans chaque rangée ont été faites et 100 µl du dernier puits ont été rejetés. 100 µl de MHB ne contenant pas du rouge de phénol ont été introduits dans le 1^{er} puits de la 2^{ème} rangée et on a procédé à des dilutions successives de raison 2. Tous les puits ont étéensemencés sauf ceux de la 1^{ère} rangée par 100 µl de la suspension bactérienne à 10⁶ germes/ml (densité égale à l'échelle 2 de M_C Farland).

A la place de la suspension bactérienne 100 µl de MHB sans rouge de phénol ont été distribués dans tous les puits de la 1^{ère} rangée (A). La 1^{ère} rangée constitue le témoin négatif et la 2^e rangée le témoin positif.

La microplaque a été recouverte du papier parafilm et incubée à 37°C environ 18h. Pour une meilleure évaluation de l'activité des extraits, six essais ont été effectués pour chaque germe. La valeur de la CMI étant celle qui s'est répétée au moins 4 fois sur les tests (Bajpai *et al.*, 2008).

Concentration Minimale Bactéricide et pouvoir antibiotique.

On réisole à partir de la CMI les puits n'ayant pas montré une croissance microbienne visible à l'œil nu sur de la gélose Muller-Hinton. L'incubation est faite à 37°C pendant 24h. Le pouvoir antibiotique est évalué en faisant le rapport CMB/CMI.

Sensibilité aux antibiotiques

Nous avons utilisé la méthode de diffusion en Agar en comparant l'activité des huiles essentielles à celle des disques d'antibiotiques spécifiques des souches *E. coli* ATCC 25922 (Ceftriazone, chloramphénicol, gentamycine et acide nalidixique) et *S. aureus* ATCC 25923 (Érythromycine, oxacilline, tétracycline et lincomycine)ensemencées uniformément par étalement sur de la gélose Muller-Hinton. Les disques stériles de 6mm de diamètre recevant les huiles essentielles à la même concentration que les disques d'antibiotiques ont été déposés

ensemble avec ces derniers sur les géloses ensemencés par chacune des deux souches. On mesure après incubation à 37°C/24h les diamètres en millimètre des zones d'inhibition et des disques d'antibiotiques et ceux ayant reçu les huiles essentielles ont mesurés après incubation à 37°C pendant 24h.

3.3.3. Effet des HE sur le compte de viabilité : dénombrement des microorganismes survivants après contact avec l'huile essentielle par unité de temps

Des cultures actives ont été préparées dans le milieu Mueller-Hinton bouillon. Pour chaque plaque, 1ml de la solution du stock microbien a été transféré dans 4ml du MHB. Toutes les cultures traitées ont été gardées sous les conditions aéro-anaérobies à 37°C pour 2h. Les cultures ont été centrifugées à 5000 tours pendant 20min. Les culots ont été recueillis et redilués avec 1ml de solution phosphate. Pour les comptes de viabilité, chacun des tubes contenant les suspensions bactériennes (approximativement 10^8 ufc/ml) a été inoculé avec la CMI des HE extraites dans 10ml de MHB et gardé à 37°C.

Les échantillons pour le compte des cellules viables ont été pris à 0 ; 20 ; 40 ; 60 ; 80 ; 100mn de temps d'intervalle. Le compte a été alors réalisé de la manière suivante : 1ml de la culture concentrée a été dilué dans 9ml d'EPT, et a été ainsi dilué 10 fois de suite. Au total, 0,1ml de l'échantillon de chaque concentration a été dilué et étalé à la surface du MHA (Mueller-Hinton Agar). Les colonies ont été comptées après 24h d'incubation à 37°C. Les témoins ont été inoculés sans les HE pour chaque bactérie dans les mêmes conditions expérimentales décrites précédemment (Bajpai *et al.*, 2008).

3.3.4. Tests antifongiques

Les huiles essentielles de *Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Mentha piperita*, *Pimenta racemosa*, *Lippia multiflora*, *Lippia rugosa*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon giganteus*, *Xylopiya aethiopica*, *Crassocephalum rubens*, *Cinnamomum zeylanicum*, et de *Syzygium aromaticum* ont été testées sur les moisissures isolées des aliments de grande consommation. Il s'agit de : *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium digitatum*, *Fusarium oxysporum*. L'activité antifongique des HE a été recherchée *in vitro* et elle a pour but de déterminer la concentration minimale inhibitrice des Huiles Essentielles vis-à-vis de ces différentes moisissures.

Ces tests des HE ont été effectués sur le milieu solide gélosé Oxytétracycline Glucose Agar (OGA). Différentes concentrations d'HE ont été testées par leur addition au milieu de culture. Ces différentes concentrations ont été ensemencées en profondeur à raison de trois boîtes par concentration. Après stérilisation et refroidissement du milieu de culture, à une température voisine de 45°C, les milieux de culture auxquels nous avons ajouté l'inoculum ont été coulés à raison de 20 ml par boîte de Pétri. Les boîtes ont été agitées avec un mouvement en forme de huit, afin d'homogénéiser le milieu et ont été laissées refroidies 30 min à température ambiante pour permettre une meilleure solidification. Ensuite une transplantation de la moisissure sur le milieu coulé à l'avance a été réalisée. Afin de suivre la croissance mycélienne, les moisissures ont été transplantées à l'aide d'un disque (rondelle) de 6 mm de diamètre sur le milieu de culture contenant de l'huile essentielle à ces différentes concentrations ou non (témoin) coulé dans les boîtes de Pétri. Ces boîtes ont été incubées à 25°C et la croissance mycélienne a été prise toutes les 24 heures en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le milieu de la rondelle pendant 7 jours au moins (Mishra et Dubey, 1994 ; Khallil, 2001).

L'activité antifongique a été évaluée par la formule suivante : $I = [1 - (d/dc)] \times 100$ (**Chang et al., 2000**).

Aux concentrations expérimentales où aucune croissance, ni germination observée, nous avons testé l'activité fongicide ou fongistatique. Ce test consiste à prélever le disque mycélien qui n'a pas poussé en fin d'incubation de la boîte de Pétri et à le réintroduire dans un milieu de culture neuf sans extrait naturel. Dans le cas où la croissance mycélienne est toujours inhibée, on parle d'activité fongicide de l'extrait naturel et dans le cas contraire, il s'agit de l'activité fongistatique (Mohammedi, 2006).

Avec **I** : indice antifongique ; **d** : diamètre de croissance des essais avec les huiles essentielles ; **dc** : diamètre de croissance du contrôle (les boîtes sans huiles essentielles : témoin).

TROISIEME PARTIE

Chapitre 4 : Résultats & Discussion

CHAPITRE 4 : Résultats & Discussion

4.1. Résultats

4.1.1. Rendements des plantes étudiées

Les rendements en huile essentielle des plantes étudiées varient de $0,10 \pm 0,02$ % à $2,18 \pm 0,04$ %. Parmi les Lamiaceae investiguées, les feuilles de *Mentha piperita* sont les plus riches en huile essentielle avec un rendement de $1,1 \pm 0,02$ %. Les rendements en huile essentielles des feuilles de *Ocimum gratissimum* et de *Ocimum basilicum* sont respectivement de $0,58 \pm 0,02$ % et $0,43 \pm 0,01$ %. Quant aux Myrtaceae étudiées, les feuilles de *Pimenta racemosa* sont très riches en huile essentielle avec un rendement de $2,18 \pm 0,04$ %. Les feuilles de *Syzygium aromaticum* fournissent un rendement en huile essentielle égal à $0,18 \pm 0,02$ %. S'agissant des plantes de la famille des Verbenaceae, les rendements en huile essentielle extraites des feuilles de *Lippia multiflora* (de Pèrèrè et de Savalou) sont relativement élevés et leurs rendements sont de $1,36 \pm 0,01$ %, et $1,07 \pm 0,03$ % respectivement à comparer à ceux obtenus des huiles essentielles extraites des feuilles de *Lippia rugosa* dont les rendements en huile essentielle sont respectivement de $0,10 \pm 0,02$ % et $0,11 \pm 0,03$ % pour celles de N'Dali et de Gbégorou. Pour ce qui est des Poaceae, les rendements d'extraction en huile se présentent comme suit : $1,70 \pm 0,04$ % pour l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* et $0,41 \pm 0,02$ % pour celle de *Cymbopogon giganteus*. Les feuilles et fruits de *Xylopiya aethiopica* appartenant à la famille des Annonaceae ont des rendements compris entre $0,29 \pm 0,16$ % et $0,60 \pm 0,14$ % avec une teneur prononcée en huile dans les fruits de cette plante. *Crassocephalum rubens* appartenant à la famille des Asteraceae et *Cinnamomum zeylanicum* de la famille des Lauraceae ont respectivement comme rendement en huile essentielle $0,12$ % en moyenne et $1,6 \pm 0,14$ %.

Tableau VIII : Rendements en huiles essentielles des plantes étudiées

| Plantes | Partie analysée | Rendement |
|------------------------------------|-----------------|------------|
| <i>Ocimum gratissimum</i> | Feuille | 0,58± 0,02 |
| <i>Ocimum basilicum</i> | Feuille | 0,43±0,01 |
| <i>Mentha piperita</i> | Feuille | 1,1±0,02 |
| <i>Pimenta racemosa</i> | Feuille | 2,18±0,04 |
| <i>Syzygium aromaticum</i> | Graines | 0,18±0,02 |
| <i>Lippia multiflora</i> Pèrèrè | Feuille | 1,36±0,01 |
| <i>Lippia multiflora</i> Kpakpassa | Feuille | 1,07±0,03 |
| <i>Lippia rugosa</i> | Feuille | 0,10±0,02 |
| | Feuille | 0,11±0,03 |
| <i>Cymbopogon citratus</i> | Feuille | 1,70±0,04 |
| <i>Cymbopogon gignateus</i> | Feuille | 0,41±0,02 |
| <i>Xylopiya aethiopica</i> | Feuille | 0,29±0,16 |
| | Fruits | 0,60±0,14 |
| <i>Crassocephalum rubens</i> | Feuille | 0,11±0,01 |
| | Feuille | 0,13±0,02 |
| <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | Feuille | 1,6±0,14 |

NB : Les valeurs figurant dans le tableau VIII spécifient la plage des valeurs observées (moyenne ± erreur-type)

4.1.2. Composition chimique des huiles essentielles

Nous étudierons les compositions chimiques des huiles essentielles en les rangeant par grande famille botanique.

4.1.2.1. LAMIACEAE

Il s'agit de *Ocimum basilicum*, *Ocimum gratissimum* et *Mentha piperita*.

4.1.2.1.1. *Ocimum gratissimum*

La composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Ocimum gratissimum* figure dans le tableau IX :

Tableau IX: Composition chimique de l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum*

| KI | Nom des composés | % |
|-------------|---------------------------------------|-------------|
| 915 | α -Thujène | 1,7 |
| 923 | α - Pinène | 0,5 |
| 943 | Camphène | 0,1 |
| 962 | β -Pinène | 0,3 |
| 972 | Myrcène | 2,7 |
| 996 | α -Phellandrène | 0,3 |
| 998 | δ -3-Carène | 0,2 |
| 1001 | α - Terpinène | 2,5 |
| 1012 | Para-Cymène | 12,3 |
| 1013 | Limonene | 1,3 |
| 1014 | 1,8-Cinéole | 0,3 |
| 1035 | (z)- β -Ocimène | 0,2 |
| 1051 | γ- Terpinène | 12,1 |
| 1078 | Terpinolène | 0,3 |
| 1079 | Para-Cymenène | 1,9 |
| 1084 | Linalol | 0,6 |
| 1086 | Trans-p-2,8-menthadièn-1-ol | 0,2 |
| 1157 | Terpinen-4-ol | 2,0 |
| 1197 | α -Terpinéol | 0,2 |
| 1225 | Estragole | 1,6 |
| 1265 | Thymolméthyléther | 0,4 |
| 1267 | Thymol | 43,5 |
| 1274 | Carvacrole | 2,8 |
| 1418 | β -Caryophyllène | 3,3 |
| 1428 | Trans- α -Bergamotène | 0,3 |
| 1454 | α -Humulène | 0,4 |
| 1472 | Germacrène D | 0,2 |
| 1492 | β -Selinène | 2,8 |
| 1502 | α -Selinène | 1,3 |
| 1514 | γ -Cadinène | 0,2 |
| 1524 | δ - Cadinène | 0,3 |
| | Monoterpènes hydrogénés | 36,5 |
| | Monoterpènes oxygénés | 4,9 |
| | Sesquiterpènes hydrogénés | 8,8 |
| | Sesquiterpènes oxygénés | - |
| | Composés aromatiques | 46,7 |
| | Total | 96,9 |

Les résultats de l'analyse chimique de l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* montrent la présence de thymol en proportion élevée 43,5%, des monoterpènes hydrogénés a

un taux de 36,5% dont les plus importants sont le p-cymène, le γ -terpinène de monoterpènes oxygénés dont le linalol, le 1,8-cinéol, le terpinène-4-ol, le sesquiterpènes hydrogénés dont le β -caryophyllène.

4.1.2.1.2. *Ocimum basilicum*

La composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Ocimum basilicum* figure dans le tableau X :

Tableau X : Composition chimique de l'huile essentielle de *Ocimum basilicum*

| KI | Nom des composés | % |
|-------------|----------------------------------|-------------|
| 958 | δ -3-carène | 0,3 |
| 1001 | α -terpinène | 1,3 |
| 1009 | limonène | 1,1 |
| 1014 | 1,8-cinéole | 0,5 |
| 1037 | trans oct-2-énol | 1,4 |
| 1074 | linalol | 24,0 |
| 1157 | terpinène-4-ol | 4,2 |
| 1195 | β -Terpinène | 0,5 |
| 1225 | estragole | 30,3 |
| 1325 | eugénol | 20,7 |
| 1362 | méthyleugénol | 3,2 |
| 1428 | trans- α -bergamotène | 4,0 |
| 1454 | α -Humulène | 0,7 |
| 1472 | germacrène D | 0,5 |
| 1492 | bicyclogermacrène | 0,5 |
| 1493 | α -Muuroolène | 0,5 |
| 1495 | γ -Cadinène | 0,3 |
| 1501 | γ -Elémène | 0,4 |
| 1520 | globulol | 0,1 |
| 1560 | viridiflorol | 1,3 |
| 1602 | γ -Eudesmol | 0,3 |
| 1621 | α -Cadinol | 0,3 |
| 1630 | oxyde de manoyl | 0,1 |
| 1642 | méthyle linoléate | 0,1 |
| | Monoterpènes hydrogénés | 3,2 |
| | Monoterpènes oxygénés | 30,1 |
| | Sesquiterpènes hydrogénés | 6,9 |
| | Sesquiterpènes oxygénés | 3,2 |
| | Composés aromatiques | 54,2 |
| | Total | 99,6 |

L'huile essentielle de *Ocimum basilicum* contient majoritairement, 24,0% de linalol, 30,3% d'estragole, et 20,7% d'eugénol. 24 composés chimiques représentant 99,6% en huile

ont été identifiés parmi lesquels 30,1% de monoterpènes oxygénés, 3,2% de monoterpènes hydrogénés, 6,9% de sesquiterpènes hydrogénés, 3,2% de sesquiterpènes oxygénés et 54,2% de composés aromatiques.

4.1.2.1.3. *Mentha piperita*

La composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Mentha piperita* figure dans le tableau XI :

Tableau XI : Composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha piperita*

| KI | Composés identifiés | (%) |
|-------------|----------------------------------|-------------|
| 939 | α -pinène | 0,8 |
| 979 | β -pinène | 1,2 |
| 1028 | limonène | 2,8 |
| 1031 | 1,8-cinéole | 6,5 |
| 1060 | gamma terpinène | 0,3 |
| 1153 | menthone | 7,4 |
| 1164 | menthofurane | 1,6 |
| 1166 | iso-menthone | 4,8 |
| 1174 | menthol | 46,7 |
| 1183 | iso-menthol | 0,8 |
| 1188 | neo-menthol | 8,28 |
| 1238 | pulegone | 3,6 |
| 1254 | piperitone | 1,7 |
| 1294 | menthyl-acétate | 6,7 |
| 1408 | caryophyllène | 2,1 |
| | Monoterpènes hydrogénés | 5,1 |
| | Monoterpènes oxygénés | 87,0 |
| | Sesquiterpènes hydrogénés | 2,1 |
| | Total | 94,2 |

Les compositions chimiques des huiles essentielles sont diversement constituées : Celle de *Ocimum basilicum* affiche les composés majoritaires suivants : estragole (30,3%), linalol (24,0%), et eugénol (20,7%). Les monoterpènes hydrogénés en très faible quantité sont constitués de : α -terpinène (1,3%), limonène (1,3%), β -terpinène (0,5%) et δ -3-carène (0,3%). Les monoterpènes oxygénés sont représentés par le linalol (24,0%), le terpinène-4-ol (4,2%), le trans-octénol (1,4%) et le 1,8-cinéole (0,9%).

Celle de *Ocimum gratissimum* est majoritairement composée de thymol (43,5%), de p-cymène (12,3%), de γ -terpinène (12,1%). Les monoterpènes oxygénés sont de 4,9%, les

monoterpènes hydrogénés 36,5%, les sesquiterpènes hydrogénés 8,8% et les composés aromatiques 46,7%.

Quant-à celle de *Mentha piperita*, elle est majoritairement composée de menthol (46,7%), de néomenthol (8,28%), de 1,8-cinéole (6,49%) et de limonène (2,81%). Au total les monoterpènes hydrogénés (5,1%), les monoterpènes oxygénés (87,0%) et sesquiterpènes hydrogénés (2,1%).

4.1.2.2. VERBENACEAE

Cette famille regroupe le *Lippia multiflora* (de Pèrèrè et de Savalou) et le *Lippia rugosa* (de Gbé gourou et de N'dali).

4.1.2.2.1. *Lippia multiflora* (Pèrèrè)

La composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Lippia multiflora* (Pèrèrè) figure dans le tableau XII :

Tableau XII : Composition chimique de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* Pèrèrè

| KI | Nom des composés | % |
|------|----------------------------------|-------------|
| 964 | sabinène | 0,1 |
| 977 | myrcène | 0,1 |
| 1024 | 1,8-cnéol | 0,2 |
| 1037 | trans- β -ocimène | 0,3 |
| 1101 | linalol | 91,9 |
| 1375 | α -copaène | 0,2 |
| 1388 | aromadendrène | 0,1 |
| 1422 | α -caryophyllène | 1,1 |
| 1446 | allo-aromadendrène | 0,9 |
| 1484 | germacrène D | 2,9 |
| 1520 | δ -cadinène | 0,4 |
| 1553 | (E)-nérolidol | 0,5 |
| 1577 | oxyde de caryophyllène | 0,1 |
| 1588 | NI | 0,1 |
| 1639 | α -muurolène | 0,1 |
| | Monoterpènes hydrogénés | 0,2 |
| | Monoterpènes oxygénés | 92,1 |
| | Sesquiterpènes hydrogénés | 5,7 |
| | Sesquiterpènes oxygénés | 0,6 |
| | Total | 98,6 |

L'huile essentielle de *Lippia multiflora* de Pèrèrè contient quatorze composés identifiés dont 92,1% de monoterpènes oxygénés (linalol 91,9% et le 1-8 cinéole 0,2%), de

monoterpènes hydrogénés (sabinène 0,1% et myrcène 0,1%) de sesquiterpènes hydrogénés (germacrène D 2,9%, α -cariophyllène 1,1%, du δ -cadinène 0,4%, trans- β -ocimène 0,3%, α -copaène 0,2%, aromadendrène 0,1%, α -murolène 0,1% et le allo-aromadendrène 0,9%) de sesquiterpènes oxygénés ((E)-nérolidol 0,5% et oxyde de caryophyllène 0,1%).

4.1.2.2.2. *Lippia multiflora* (Savalou)

La composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Lippia multiflora* (Savalou) figure dans le tableau XIII :

Tableau XIII : Composition chimique de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* Savalou

| KI | Nom des composés | % |
|------|-------------------------------------|-------------|
| 920 | α -thujène | 0,3 |
| 929 | α -pinène | 3,7 |
| 969 | sabinène | 14,4 |
| 973 | β -pinène | 1,9 |
| 981 | myrcène | 2,9 |
| 1033 | 1,8-cinéol | 50,6 |
| 1040 | γ -terpinène | 0,3 |
| 1063 | NI | 0,8 |
| 1084 | terpinolène | 0,2 |
| 1092 | linalol | 0,3 |
| 1094 | NI | 0,6 |
| 1123 | camphèn-6-ol | 0,1 |
| 1162 | pinocarvone | 0,2 |
| 1164 | NI | 0,9 |
| 1175 | terpinen-4-ol | 0,3 |
| 1192 | α-terpinol | 13,8 |
| 1378 | α -cubebène | 0,1 |
| 1426 | NI | 1,8 |
| 1450 | aromadendrène | 4,2 |
| 1487 | germacrene - D | 2,1 |
| 1519 | isolede | 0,2 |
| 1524 | δ -cadinene | 0,2 |
| 1556 | (E) - nerolidol | 0,1 |
| | Monoterpènes hydrogénés | 23,7 |
| | Monoterpènes oxygénés | 65,3 |
| | Sesquiterpènes hydrogénés | 6,8 |
| | Sesquiterpènes oxygénés | 0,1 |
| | Total | 95,9 |

L'huile essentielle de *Lippia multiflora* de Savalou est majoritairement constituée de monoterpènes oxygénés (1,8-cinéol 50,6%, α -terpinol 13,8%, linalol 0,3%, camphène 6-ol

0,1%, terpinène-4-ol 0,3%) de monoterpènes hydrogénés (sabinène 14,4%, α -pinène 3,7%, myrcène 2,9%, β -pinène 1,9%, γ -terpinène 0,3%, α -tujène 0,3%, δ -cadinène 0,2%) de sesquiterpènes hydrogénés 6,8% et de sesquiterpène oxygénés 0,1%.

4.1.2.2.3. *Lippia rugosa* (Gbégourou)

La composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Lippia rugosa* (Gbégourou) figure dans le tableau XIV :

Tableau XIV : Composition chimique de l'huile essentielle de *Lippia rugosa* de Gbégourou

| KI | Nom des composés | % |
|------|---|-------------|
| 1008 | limonène | 2,6 |
| 1077 | (Z)- β -ocimène | 1,3 |
| 1340 | NI | 1,2 |
| 1346 | NI | 1,0 |
| 1364 | eugenol | 1,1 |
| 1375 | α -copaène | 1,2 |
| 1378 | β -èlémène | 3,6 |
| 1411 | Z-β-caryophyllène | 16,4 |
| 1426 | α -humulène | 1,0 |
| 1446 | allo-aromadendrène | 1,7 |
| 1453 | γ -murolène | 2,0 |
| 1472 | germacrène D | 43,7 |
| 1484 | NI | 1,2 |
| 1487 | cubebol | 2,4 |
| 1504 | NI | 2,5 |
| 1510 | δ -Cadinène | 1,9 |
| 1570 | oxyde de caryophyllène | 1,3 |
| 1578 | carotol | 4,8 |
| 1629 | α-cadinol | 6,5 |
| 1643 | 14-hydroxy-9-epi-(E)-caryophyllène | 2,7 |
| | Monoterpènes hydrogénés | 3,9 |
| | Monoterpènes oxygénés | - |
| | Sesquiterpènes hydrogénés | 72,0 |
| | Sesquiterpènes oxygénés | 16,5 |
| | Composés aromatiques | 1,1 |
| | Total | 93,5 |

L'huile essentielle de *Lippia rugosa* de Gbégourou est constituée majoritairement de sesquiterpènes hydrogénés 72,0% dont le (Z)- β -cariophyllène et le germacrèneD, de sesquiterpènes oxygénés (16,5%) dont α -cadinol, carotol, cubébol, oxyde de caryophyllène et

de 14-hydroxy-9-épi(E)-cariophyllène, de monoterpènes hydrogénés 3,9% dont le limonène, α -copaène et de composé aromatique dont l'eugénol (1,1%).

4.1.2.2.4. *Lippia rugosa* (N'dali)

La composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Lippia rugosa* (N'dali) figure dans le tableau XV :

Tableau XV: Composition chimique de l'huile essentielle de *Lippia rugosa* N'Dali

| KI | Nom des composés | % |
|-------------|---|-------------|
| 962 | sabinène | 3,6 |
| 1014 | p-cymène | 1,4 |
| 1019 | limonène | 3,8 |
| 1034 | (Z)- β -ocimène | 1,1 |
| 1085 | linalol | 0,6 |
| 1276 | thymol | 2,8 |
| 1370 | α -copaène | 0,7 |
| 1381 | β -élémane | 1,3 |
| 1386 | benzène 1,4-diméthoxy-2-méthyl-5-isopropyl | 3,8 |
| 1423 | trans-β-caryophyllène | 17,4 |
| 1432 | β -duprezianène | 1,4 |
| 1452 | α -humulène | 2,2 |
| 1460 | allo-aromadendrone | 2,6 |
| 1490 | D-germacrène | 43,5 |
| 1497 | δ -cadinène | 2,3 |
| 1513 | α -cadinène | 1,4 |
| 1517 | spathulenol | 1,4 |
| 1557 | oxyde caryophyllène | 0,6 |
| 1585 | alloaromadendrone – epoxide (1) | 2,2 |
| 1600 | NI | 4,1 |
| 1651 | α -murolol | 1,8 |
| | Monoterpènes hydrogénés | 9,9 |
| | Monoterpènes oxygénés | 0,6 |
| | Sesquiterpènes hydrogénés | 72,8 |
| | Sesquiterpènes oxygénés | 4,6 |
| | Composés aromatiques | 6,6 |
| | Total | 94,5 |

L'huile essentielle de *Lippia rugosa* de N'dali est majoritairement constituée de sesquiterpène hydrogénés (72,8%) dont le germacrèneD, le trans- β -cariophyllène, Z- β -ocimène, β -duprezianène, α -humulène, δ -cadinène, α -cadinène, de monoterpènes hydrogénés 9,9%, de monoterpènes oxygénés 0,6%, de sesquiterpènes oxygénés 4,6% et de composés aromatiques 6,6%.

4.1.2.3. MYRTACEAE

4.1.2.3.1. *Pimenta racemosa*

La composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Pimenta racemosa* figure dans le tableau XVI :

Tableau XVI : Composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de *Pimenta racemosa* récoltées à Godomey

| KI | Noms des composés | (%) |
|-------------|-------------------------------------|-------------|
| 940 | α -pinène | 0,4 |
| 974 | octèn-3-ol | 2,4 |
| 982 | β -pinène | 0,1 |
| 993 | myrcène | 25,1 |
| 1018 | α -terpinène | 0,1 |
| 1022 | p-cymène | 0,7 |
| 1034 | limonène | 3,0* |
| 1041 | 1,8-cinéole | 2,7* |
| 1043 | (E)- β -ocimène | 0,2 |
| 1058 | γ -terpinène | 0,1 |
| 1089 | terpinolène | 0,2 |
| 1092 | linalol | 0,6 |
| 1178 | terpinène-4-ol | 0,8 |
| 1188 | α -terpinéol | 0,7 |
| 1250 | chavicol | 7,5 |
| 1368 | eugénol | 51,1 |
| 1440 | β -caryophyllène | 0,1 |
| 1489 | α -humulène | 0,1 |
| 1502 | (E,E)- α -farnesène | 0,2 |
| 1533 | δ -cadinène | 0,1 |
| 1638 | torréyol | 0,1 |
| 1665 | T-cadinol | 0,1 |
| 1941 | Diterpène (M+=272) | 0,6 |
| 1981 | Diterpène (M+=272) | 0,2 |
| | Monoterpènes hydrocarbonés | 29,9 |
| | Monoterpènes oxygénés | 4,8 |
| | Sesquiterpènes hydrocarbonés | 0,5 |
| | Sesquiterpènes oxygénés | 0,2 |
| | Dérivés aliphatiques | 2,4 |
| | Composés aromatiques | 56,6 |
| | Total | 96,4 |

Les principaux constituants chimiques présents dans l'huile essentielle de *Pimenta racemosa* analysée sont : l'eugénol (51,1%), le myrcène (25,1%), le chavicol (7,5%), le

limonène (3,0%), et le 1,8-cinéole (2,7%). Cet échantillon contient en forte proportion de composés aromatiques (56,6%) suivis de monoterpènes hydrocarbonés (29,9%).

4.1.2.3.2. *Syzygium aromaticum*

La composition chimique de l'huile essentielle extraite des graines de *Syzygium aromaticum* figure dans le tableau XVII :

Tableau XVII : Composition chimique de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*

| KI | Nom des composés | % |
|------|------------------------------------|-------------|
| 831 | furfural | 0,2 |
| 1370 | eugenol | 60,4 |
| 1423 | trans-β-caryophyllène | 24,0 |
| 1438 | β-Duprezianene | 0,1 |
| 1442 | α-Guaiene | 0,1 |
| 1451 | (Z)-β-Farnesene | 0,1 |
| 1463 | α-imachalene | 0,1 |
| 1473 | α-umulene | 0,1 |
| 1494 | γ-uurolene | 1,4 |
| 1514 | germacrene D | 0,1 |
| 1517 | eugenol acetate | 10,0 |
| 1537 | β-Sesquiphellandrene | 1,7 |
| 1560 | δ-cadinene | 0,2 |
| 1569 | 10-epi-α-Cubebol | 0,1 |
| 1616 | isolongifolanone | 0,1 |
| 1639 | davanol D ₂ (isomere 2) | 0,2 |
| 1697 | davanol acetate | 0,1 |
| 1708 | heptadecane | 0,1 |
| 1724 | cedroxyde | 0,1 |
| | Monoterpènes hydrogénés | 0,2 |
| | Monoterpènes oxygénés | 60,4 |
| | Sesquiterpènes hydrogénés | 38,1 |
| | Sesquiterpènes oxygénés | 0,7 |
| | Total | 99,4 |

L'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* est dominée par des structures de type p-menthane et est caractérisée par un pourcentage relativement élevé en eugénol (60,1%) suivi de trans-β-caryophyllène (24,0%) et 10% d'acétate d'eugénol. Au total nous avons identifié 19 composés représentant 99,4% parmi lesquels 60,4% de monoterpènes oxygénés, 0,2% de

monoterpènes hydrogénés 38,1% de sesquiterpènes hydrogénés et 0,7% de sesquiterpènes oxygénés.

4.1.2.4. ANNONACEAE

4.1.2.4.1. *Xylopi aethiopica*

Les compositions chimiques des huiles essentielles extraites des feuilles et fruits de *Xylopi aethiopica* figurent dans le tableau XVIII :

Tableau XVIII : Composition chimique des HE des fruits et feuilles de *Xylopi aethiopica*

| KI | Composé identifiés | Feuille | Fruit |
|-------------|--------------------------------------|-------------|-------------|
| 930 | α -thujène | 2,0 | 0,1 |
| 934 | α-pinène | 5,3 | - |
| 979 | sabinène | 14,7 | 1,8 |
| 972 | β-pinène | 4,7 | 38,9 |
| 987 | <i>cis</i> -méta-mentha-2,8-diène | - | 3,1 |
| 999 | para-mentha-1(17),8-diène | - | 0,2 |
| 1002 | α -phellandrène | 0,8 | 0,1 |
| 1017 | α -terpinène | 3,6 | 0,1 |
| 1021 | 1,4-cinéole | - | 0,7 |
| 1025 | ortho-cymène | - | 1,1 |
| 1026 | para-cymène | 1,8 | - |
| 1031 | sylvestrène | 1,4 | - |
| 1035 | 1,8-cinéole | 5,3 | 0,1 |
| 1055 | γ-terpinène | 6,2 | 0,2 |
| 1067 | <i>cis</i> -hydrate de sabinène | - | 1,0 |
| 1081 | 2,3-diéthylpyrazine | - | 0,1 |
| 1089 | terpinolène | 1,6 | - |
| 1100 | Linalol | 1,0 | 1,1 |
| 1121 | <i>cis</i> -para-menth-2-èn-1-ol | 0,9 | - |
| 1125 | α -campholène aldéhyde | - | 0,7 |
| 1126 | chrysanthénol | - | 0,1 |
| 1132 | α -campholénal | - | 0,8 |
| 1137 | nopinone | - | 0,4 |
| 1139 | <i>trans</i> -pinocarvéol | 3,2 | 0,7 |
| 1144 | <i>trans</i> -verbénol | - | 0,6 |
| 1155 | iso-isopulégol | - | 0,7 |

Tableau XVIII : Composition chimique des HE des fruits et feuilles de *Xylopiya aethiopica* (suite1)

| KI | Composé identifiés | Feuille | Fruit |
|-------------|--------------------------------|-------------|-------------|
| 1156 | sabinacétone | 0,2 | 1,0 |
| 1168 | δ -terpinéol | - | 1,0 |
| 1170 | menthol | - | 0,1 |
| 1178 | terpinèn-4-ol | 30,8 | 0,6 |
| 1182 | iso-géranial | - | 3,0 |
| 1184 | cryptone | 0,7 | - |
| 1193 | α -terpinéol | 0,9 | 2,3 |
| 1189 | myrténol | 9,1 | 0,1 |
| 1194 | myrténal | - | 7,4 |
| 1205 | verbénone | - | 0,3 |
| 1215 | <i>trans</i> -carvéol | - | 0,3 |
| 1284 | α -terpinèn-7-al | - | 0,3 |
| 1288 | para-cymèn-7-ol | - | 0,1 |
| 1335 | acétate de verbényle | - | 0,1 |
| 1509 | β -bisabolène | - | 3,1 |
| 1547 | Elémol | - | 5,1 |
| 1560 | 1,5-époxy-salvial-4(14)-ène | - | 0,1 |
| 1574 | germacrène-D-4-ol | - | 1,0 |
| 1632 | isopathuléol | 2,9 | - |
| 1654 | α -eudesmol | - | 2,1 |
| 1656 | vélérianol | - | 7,7 |
| 1664 | bulnésol | - | 1,1 |
| 1681 | élémol acétate | - | 0,2 |
| 1686 | épi- α -bisabolol | - | 2,1 |
| 1704 | E-apritone | - | 1,1 |
| 1710 | (Z, Z)-farnésol | - | 0,1 |
| 1723 | longifolol | - | 1,5 |
| 1732 | acétate de (E,E)-farnésyle | - | 2,1 |
| | Monoterpènes hydrogénés | 42,1 | 46,6 |
| | Monoterpènes oxygénés | 43,0 | 13,9 |
| | Sesquiterpènes hydrogénés | - | 03,1 |
| | Sesquiterpènes oxygénés | 12,0 | 32,8 |
| | Total | 97,1 | 96,4 |

- : trace

Les HE des feuilles de *Xylopiya aethiopica* sont constituées majoritairement du terpinèn-4-ol (30,8%), du sabinène (14,7%), du myrténol (9,1%), du γ -terpinène (6,2%), d' α -pinène (5,3%), du 1-8 cinéole (5,3%) et de β -pinène (4,7%), alors que celles des fruits

montrent la présence du β -pinène (38,9%), du vélérianol (7,7%), du myrténal (7,4%) et de l'élémol (5,1%).

Les huiles essentielles des feuilles de *Xylopiya aethiopica* sont constituées de monoterpènes hydrogénés (42,1%), de monoterpènes oxygénés (43,0%), de sesquiterpènes oxygénés (12,0%) alors que celles des fruits sont constituées de monoterpènes hydrogénés (46,6%), de monoterpènes oxygénés (13,9%), de sesquiterpènes hydrogénés (3,1%) et de sesquiterpènes oxygénés (32,8%).

4.1.2.5. ASTERACEAE

4.1.2.5.1. *Crassocephalum rubens*

La composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Crassocephalum rubens* figure dans le tableau XIX :

Tableau XIX : Composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles fraîches de *Crassocephalum rubens*

| KI | Composés identifiés | Pourcentage |
|-------------|-------------------------------------|-------------|
| 930 | α-thujène | 4,6 |
| 969 | sabinène | 0,4 |
| 974 | β -pinène | 0,2 |
| 988 | myrcène | 30,7 |
| 1002 | α -phellandrène | 0,1 |
| 1022 | para-cymène | 0,6 |
| 1030 | limonène | 48,8 |
| 1033 | δ -3-carène | 0,3 |
| 1044 | E-β-ocimène | 7,4 |
| 1055 | γ -terpinène | 0,3 |
| 1082 | para-mentha-2,4(8)-diène | 1,0 |
| 1087 | 3-méthyl-2-(2-méthylbutényl)-furane | 0,1 |
| 1095 | linalol | 0,2 |
| 1178 | terpinène-4-ol | 0,1 |
| 1181 | naphtalène | 0,1 |
| 1183 | para-cymène-8-ol | 0,1 |
| 1386 | β -élémane | 0,2 |
| 1401 | cypérène | 0,1 |
| 1418 | β -caryophyllène | 1,3 |

Tableau XIX : Composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles fraîches de *Crassocephalum rubens* (suite)

| KI | Composés identifiés | Pourcentage |
|------|----------------------------------|-------------|
| 1429 | trans- α -bergamotène | 0,1 |
| 1447 | E- β -farnésène | 0,3 |
| 1454 | α -humulène | 0,2 |
| 1477 | ar-curcumène | 0,1 |
| 1494 | α -sélinène | 0,1 |
| 1503 | (Z)- α -bisabolène | 0,2 |
| 1554 | E-nérolidol | 0,1 |
| 1579 | oxyde de caryophyllène | 0,4 |
| 1665 | E-bisabol-11-ol | 0,3 |
| | Monoterpènes hydrogénés | 94,5 |
| | Monoterpènes oxygénés | 0,4 |
| | Sesquiterpènes hydrogénés | 2,6 |
| | Sesquiterpènes oxygénés | 0,8 |
| | Autres composés | 0,1 |
| | TOTAL | 98,4 |

Selon les résultats obtenus, l'HE de *Crassocephalum rubens* révèle la présence de limonène (48,8%), du myrcène (30,7%), du E- β -Ocimène (7,4%), de l' α -thujène (4,6%), du β -caryophyllène (1,3%), du para-mentha-2,4(8)diène (1,0%). Au total 94,5% des composés sont des monoterpènes hydrogénés, 0,4% de monoterpènes oxygénés au nombre desquels on a le linalol (0,2%), le terpinen-4-ol (0,1%) et le para-cymène-8-ol (0,1%) ; 2,6% de sesquiterpènes hydrogénés, 0,8% de sesquiterpènes oxygénés et 0,1% d'autres composés.

4.1.2.6. POACEAE

4.1.2.6.1. *Cymbopogon citratus*

La composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Cymbopogon citratus* figure dans le tableau XX :

Tableau XX : Composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de *Cymbopogon citratus*

| IK | Composés | % |
|-------------|---------------------------------------|-------------|
| 985 | 6-méthyl-hep-5-èn-2-one | 1,2 |
| 991 | myrcène | 10,4 |
| 1031 | limonène | - |
| 1036 | (Z)- β -ocimène | 0,2 |
| 1047 | (E)- β -ocimène | 0,2 |
| 1091 | 6,7-èpoxymyrcène | 0,2 |
| 1098 | Pirillène | 0,1 |
| 1100 | linallol | 0,5 |
| 1106 | 2,2-octa-3,4-diéнал | 0,1 |
| 1140 | cis-vervéнол | 0,1 |
| 1144 | trans-verbéнол | - |
| 1150 | menth-3-èn-9-ol | 0,1 |
| 1153 | citronella | 0,4 |
| 1162 | cis-chrysanthenol | 0,5 |
| 1170 | époxy rose furane | 0,2 |
| 1231 | nérol | 0,3 |
| 1245 | néral | 33,0 |
| 1256 | géraniol | 6,6 |
| 1276 | géraniol | 41,3 |
| 1285 | formate de néryle | 0,1 |
| 1299 | formate de géranyle | - |
| 1378 | acétate de géranyle | 2,4 |
| 1419 | β -caryophyllène | - |
| 1435 | trans- α -bergamotène | - |
| 1587 | oxyde de caryophyllène | 0,1 |
| 1659 | vulgarone | - |
| | Composés aliphatiques oxygénés | 1,3 |
| | Monoterpènes oxygénés | 85,5 |
| | Sesquiterpènes hydrogénés | - |
| | Sesquiterpènes oxygénés | 0,2 |
| | Total | 98,1 |

L'analyse de ce tableau indique la présence dans cette huile essentielle de vingt sept composés ; les principaux constituants chimiques sont le géraniol (41,3%), le néral (33%), le myrcène (10,4%) et le géraniol (6,6%). Le géraniol (ou citral A) et le néral (citral B) constituent à eux seuls 74% du poids total de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*. Cette huile contient en forte proportion de monoterpènes oxygénés (85,50%) suivis de monoterpènes hydrogénés (11,1%).

4.1.2.6.2. *Cymbopogon giganteus*

La composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Cymbopogon giganteus* figure dans le tableau XXI :

Tableau XXI : Composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles fraîches de *Cymbopogon giganteus* Chiov de Houin.

| KI | Composés | % |
|-------------|--|--------------|
| 1002 | myrcène | 0,1 |
| 1021 | p-cymène | 0,5 |
| 1029 | limonène | 18,41 |
| 1118 | trans-p-2,8-menthadiène-1-ol | 22,47 |
| 1132 | cis-p-2,8 menthadiène 1-ol | 8,6 |
| - | trans-p-1(7),8 menthadiène-2-ol | 16,2 |
| 1156 | Acétate de méthylphényle | 0,2 |
| 1162 | Décanone-3 | 0,1 |
| 1164 | myrtenal | 1,4 |
| 1168 | α -terpineol | 3,2 |
| 1199 | trans-iso-piperitenol | 1,5 |
| 1217 | trans-carvéol | 0,6 |
| 1229 | cis-1(7),8 menthadiène-2-ol | 14,4 |
| 1232 | Acétate de myrtényle | 0,8 |
| 1235 | cuminaldéhyde | 0,2 |
| 1241 | carvone | 3,2 |
| 1254 | 2hydroxy-5-méthyl-acétophénone | 0,5 |
| 1272 | périaldéhyde | 0,1 |
| | Dérivés aromatiques | 0,2 |
| | Monoterpènes oxygénés | 50,17 |
| | Monoterpènes hydrogénés | 19,01 |
| | Sesquiterpènes hydrogénés | - |
| | Sesquiterpènes oxygénés | 21,5 |
| | Total | 90,88 |

L'huile essentielle de *Cymbopogon giganteus* contient 50,17% de monoterpènes oxygénés de 19,01% de monoterpènes hydrogénés de 21,5% de sesquiterpènes hydrogénés et de 0,2% de dérivés aromatiques. Soit au total 18 composés chimiques différents pour un pourcentage de 90,88. Elle est composée majoritairement de 22,47% de trans-p-2,8-menthadiène-1-ol, de 18,41% de limonène, de 16,2% de trans-p-1(7),8 menthadiène-2-ol et de 14,4% cis-p-1(7),8 menthadiène-2-ol.

4.1.2.7. LAURACEAE

4.1.2.7.1. *Cinnamomum zeylanicum*

Composition chimique

La plante a été récoltée dans le département de l'atlantique, après avoir été précédemment prélevé sur le campus de l'Université de Koumassi au Ghana. La littérature nous indique que les composés majoritaires de cette plante sont l'aldéhyde cinnamique (58 à 70%), l'eugénol entre 4 et 10%, et des carbures terpéniques parmi lesquels on peut citer α -pinène, le 1,8-cinéol, le β -phèlendrène et le linalol. Les études sont en cours pour élucider la composition chimique de l'espèce acclimatée au Bénin sur laquelle nous avons mené nos investigations.

4.1.3. Activités antimicrobiennes des huiles essentielles investiguées

4.1.3.1. Activités antibactériennes

Elles ont pris en compte la détermination des concentrations minimales d'inhibitions (CMI), les concentrations minimales bactéricides (CMB), le pouvoir antibiotique et l'effet des extraits sur le compte de viabilité des microorganismes testés.

Il est à noter que pour une aisance dans la manipulation des bactéries, nous avons inclus dans ce groupe le champignon unicellulaire *Candida albicans* qui présente le même comportement cultural que les bactéries. Pourtant, il est à préciser qu'elle n'est pas une bactérie.

4.1.3.1.1. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Le tableau XXII affiche les concentrations minimales d'inhibition déterminées pour chacune des huiles essentielles vis-à-vis des souches microbiennes testées. Les différents extraits volatils détiennent de relatives activités antibactériennes selon leur nature et de manière spécifique vis-à-vis des souches bactériennes.

4.1.3.1.1.1. LAMIACEAE

Les CMI varient pour les Lamiaceae, de 0,12 mg/ml à 0,56 mg/ml. Les souches les plus sensibles sont *Escherichia coli* (0,12mg/ml pour *Ocimum gratissimum*, 1,07mg/ml pour ATCC 25922, *Mentha piperita*) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (0,48mg/ml pour

Ocimum gratissimum, 1,04 mg/ml pour *Ocimum basilicum*), *Candida albicans* ATCC 10231 (pour *Ocimum gratissimum* 0,48mg/ml, *Ocimum basilicum* 0,52mg/ml, *Mentha piperita* 0,27mg/ml), *Clostridium spp* (0,48mg/ml pour *Ocimum gratissimum*), *Bacillus subtilis* (0,96 mg/ml pour *Ocimum gratissimum*), *Enterococcus faecalis* (0,96mg/ml pour *Ocimum gratissimum*) et *Klebsiella pneumoniae* (0,24mg/ml pour *Ocimum gratissimum*). Les souches les plus résistantes sont *Escherichia coli* ATCC 25922 (4,16mg/ml pour *Ocimum basilicum*), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (*Mentha piperita* avec une CMI de 8,56 mg/ml), *Salmonella typhi* (1,92mg/ml pour *Ocimum gratissimum*, 2,08mg/ml pour *Ocimum basilicum* et 2,09mg/ml pour *Mentha piperita*) et *Klebsiella pneumoniae* (2,09mg/ml pour *Mentha piperita*).

4.1.3.1.1.2. VERBENACEAE

Les CMI varient pour les Verbenaceae de 0,32 mg/ml à 1,92mg/ml. Les souches les plus sensibles sont *Escherichia coli* ATCC 25922 (0,64mg/ml pour l'HE de *Lippia multiflora* de Savalou, 0,44mg/ml pour l'HE de *Lippia rugosa* de Gbégorou et 0,49mg/ml pour l'HE de *Lippia rugosa* de Binassi), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (0,49mg/ml l'HE de *Lippia rugosa* de Binassi, 0,64mg/ml pour l'HE de *Lippia multiflora* de Savalou et 0,88mg/ml pour l'HE de *Lippia rugosa* de Gbégorou). *Enterococcus faecalis* (0,48mg/ml pour l'HE de *Lippia multiflora* de Pèrèrè, 0,64mg/ml pour l'HE de *Lippia multiflora* de Savalou), *Salmonella typhi* (0,96mg/ml pour l'HE de *Lippia multiflora* de Pèrèrè, 0,64mg/ml pour l'HE de *Lippia multiflora* de Savalou, 0,44mg/ml pour l'HE de *Lippia rugosa* de Gbégorou et 0,96mg/ml pour l'HE de *Lippia rugosa* de Binassi), *Klebsiella pneumoniae* (0,96mg/ml pour l'HE de *Lippia multiflora* de Pèrèrè, et 0,64mg/ml pour l'HE de *Lippia multiflora* de Savalou), *Candida albicans* ATCC 10231 (0,48mg/ml pour l'HE de *Lippia multiflora* de Pèrèrè, 0,32 mg/ml pour l'HE de *Lippia multiflora* de Savalou et 0,49 mg/ml pour l'HE de *Lippia rugosa* de Binassi), *Clostridium spp* et *Bacillus subtilis* (respectivement 1,12mg/ml et 1,12mg/ml pour l'HE de *Lippia multiflora* de Pèrèrè et 1,28mg/ml et 0,64mg/ml pour l'HE de *Lippia multiflora* de Savalou). Les souches les plus résistantes sont *E. coli* ATCC 25922 (1,92 mg/ml pour l'HE de *Lippia multiflora* de Pèrèrè), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (1,92mg/ml pour l'HE de *Lippia multiflora* de Pèrèrè), *Enterococcus faecalis* (1,96mg/ml pour l'HE de *Lippia rugosa* de Gbégorou et 1,92 mg/ml pour l'HE de Binassi) *Candida albicans* ATCC 10231 (1,76mg/ml pour l'HE de *Lippia rugosa* de Gbégorou).

4.1.3.1.1.3. MYRTACEAE

Les CMI varient pour les Myrtaceae de 0,025mg/ml à 2,24mg/ml. Il faut signaler toutefois que toutes les souches sont sensibles à l'HE de *Syzigium aromaticum* et sont diversement pour *Pimenta racemosa* (0,28mg/ml pour *S. aureus* ATCC 25923, 0,28mg/ml pour *Candida albicans* ATCC 10231, 0,56mg/ml pour *Clostridium spp* et 1,12mg/ml pour *Bacillus subtilis*). Les souches les plus résistantes à l'HE de *Pimenta racemosa* sont *E. coli* ATCC 25922 avec une CMI de 2,24mg/ml, *Enterococcus faecalis* (CMI = 2,24mg/ml), *Salmonella typhi* (CMI = 2,24 mg/ml) et *Klebsiella pneumoniae* (CMI = 2,24mg/ml).

4.1.3.1.1.4. POACEAE

Quant à la famille des Poaceae, leurs CMI varient de 0,13mg/ml à 2,20mg/ml. Les souches les plus sensibles sont *E. coli* ATCC 25922 (pour l'HE de *Cymbopogon giganteus* avec une CMI = 0,64mg/ml), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (pour l'HE de *Cymbopogon giganteus* avec une CMI = 0,32 mg/ml et CMI = 0,55mg/ml pour l'HE de *Cymbopogon citratus*), *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhi*, *klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis* *Clostridium* et *Candida albicans* pour l'HE de *Cymbopogon citratus* avec des CMI respectivement de 1,11mg/ml, 1,11mg/ml, 1,11mg/ml, 1,11mg/ml, 0,55mg/ml et 0,13mg/ml. La souche la plus résistante pour l'HE de *Cymbopogon citratus* est *E. coli* ATCC 25922 avec une CMI = 2,20mg/ml.

4.1.3.1.1.5. LAURACEAE

Les CMI varient pour l'HE de *Cinamomum zeylanicum* de 0,20mg/ml à 1,60mg/ml. Hormis *Salmonella typhi* et *Klebsiella pneumoniae* qui sont relativement résistantes à l'activité de l'HE (CMI = 1,60mg/ml) toutes les autres souches testées restent sensibles à savoir *E. coli* ATCC 25922 (CMI = 0,80mg/ml) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (CMI = 0,20mg/ml) *Candida albicans* ATCC 10231 (CMI = 0,40mg/ml).

4.1.3.1.1.6. ASTERACEAE ou COMPOSITAE

Les Concentrations Minimales d'Inhibitions déterminées sur l'HE de *Crassocephalum rubens* varient de 0,54mg/ml à 4,38mg/ml. La CMI déterminée pour *Escherichia coli* ATCC 25922 (2,18mg/ml) est le double de celle obtenue à partir de la même souche isolée de la

souche tomate et la CMI calculée pour *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 est la moitié de celle isolée de la même bactérie de la pâte de maïs cuite (0,54 mg/ml). La CMI déterminée pour *Candida albicans* est élevée (4,38mg/ml) tandis que les CMI calculées pour *Enterococcus faecalis* et *Salmonella typhi* sont respectivement de 1,05mg/ml et 2,19mg/ml. Les observations fondamentales mentionnées à travers ces différentes CMI sont d'une part la faible activité de l'HE de *Crassocephalum rubens* contre *Candida albicans*, la disproportion des CMI contre les bactéries isolées des aliments et leurs souches homologues ATCC et d'autre part, la grande sensibilité des bactéries Gram+ vis-à-vis de l'HE comparée aux bactéries Gram- qui sont moins sensibles.

4.1.3.1.1.7. ANNONACEAE

Les CMI varient de 0,13 mg/ml à 2,36 mg/ml pour l'HE extraite des feuilles et de 0,25 mg/ml à 1,07 mg/ml pour l'huile essentielle extraite des fruits. Les souches *Candida albicans* et *E. coli* ont été les plus sensibles et *Salmonella* spp la plus résistante pour l'HE des feuilles ; pour celle extraite des fruits *Candida albicans* et *Salmonella* spp ont été les plus sensibles et les plus résistantes sont *E. coli*, *S. aureus* et *Enterococcus faecalis*.

Les extraits volatils des feuilles de *Xylopiya aethiopica* sont particulièrement actifs contre les bactéries à Gram + (*Enterococcus faecalis* CMI = 0,45 mg/ml et *Staphylococcus aureus* CMI = 0,54 mg/ml), sur *Escherichia coli* (CMI = 0,27 mg/ml) pendant que ceux des fruits sont deux fois plus actifs contre *Salmonella* spp que les trois autres bactéries (*Streptococcus*, *Staphylococcus* et *E. coli*). Par contre *Candida albicans* reste très sensible aux deux extraits respectivement CMI_{feuilles} = 0,13 mg/ml et CMI_{fruits} = 0,27 mg/ml.

4.1.3.1.2. Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide est la plus petite concentration en huile essentielle qui décime 99,9% des bactéries présentes dans un substrat. Les concentrations minimales bactéricides varient pour les huiles essentielles testées de 0,48 mg/mL à 34,24 mg/mL. Les concentrations les plus élevées se retrouvent associées aux HE telles que *Mentha piperita* (*S. aureus* ATCC 25923 dont CMB = 34,24 mg/mL), *Pimenta racemosa* (*S. typhi* dont la CMB = 17,92 mg/mL), *Crassocephalum rubens* (*S. typhi* dont la CMB = 17,44 mg/mL), *Xylopiya aethiopica* feuilles (*S. typhi* dont la CMB = 17,12 mg/mL). Les plus petites concentrations minimales bactéricides se retrouvent associées aux HE telles que *Ocimum gratissimum* (*E. coli* ATCC 25922 dont la CMB = 0,96 mg/mL), *Cinnamomum zeylanicum* (*S. aureus* ATCC 25923 dont la CMB = 0,80 mg/mL), *Cymbopogon citratus* (*Candida albicans* ATCC 10231 dont la CMB = 0,52 mg/mL), *Xylopiya aethiopica* feuilles (*Candida albicans* ATCC 10231 dont la CMB = 0,52 mg/mL).

Tableau XXII: Concentrations Minimales d'Inhibition (CMI) des HE extraites vis-à-vis des souches microbiennes testées (mg/mL)

| Famille botanique | Annonaceae | | Asteraceae Compositae | Poaceae | | Myrtaceae | | Verbenaceae | | | | Lamiaceae Labiatae | | | Lauraceae |
|---|----------------------|-------|------------------------------------|----------------|---------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|-------|-------------------|------|-------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------------|
| HE d'extraits | <i>X. aethiopica</i> | | <i>C. rubens</i> (feuilles = F) | <i>C. citr</i> | <i>C. gig</i> | <i>P. racemosa</i> (F) | <i>Syzygium aromaticum</i> | <i>L. multiflora</i> (F) | | <i>L. rug</i> (F) | | <i>O. gratis</i> (F) | <i>O. basi</i> (F) | <i>M. pip</i> (F) | <i>C. zeylanicum</i> (F) |
| Souches microbiennes | Feuille | Fruit | | (F) | (F) | | | Pèrèrè | Saval | Gbeg | Bin | | | | |
| <i>Escherichia coli</i> (souche tomate) | 0,27 | 1,07 | 1,09 | 0,55 | 0,32 | 2,24 | 0,40 | 0,96 | 0,64 | 0,88 | 0,96 | 0,12 | 2,08 | 0,54 | 0,20 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | 1,07 | 2,14 | 2,18 | 2,20 | 0,64 | 2,24 | 0,20 | 1,92 | 0,64 | 0,44 | 0,49 | 0,12 | 4,16 | 1,07 | 0,80 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (pâte cuite) | 0,54 | 1,07 | 2,18 | 1,11 | 0,64 | 0,56 | 0,05 | 0,48 | 0,32 | 1,76 | 1,92 | 0,96 | 1,04 | 4,28 | 0,20 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | 0,27 | 0,54 | 0,54 | 0,55 | 0,32 | 0,28 | 0,025 | 1,92 | 0,64 | 0,88 | 0,49 | 0,48 | 1,04 | 8,56 | 0,20 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> (eau) | 0,54 | 1,07 | 1,09 | 1,11 | nd | 2,24 | 0,025 | 0,48 | 0,64 | 1,76 | 1,92 | 0,96 | nd | nd | nd |
| <i>Salmonella typhi</i> (boisson rafraichissante) | 2,14 | 0,54 | 2,18 | 1,11 | nd | 2,24 | 0,40 | 0,96 | 0,64 | 0,44 | 0,96 | 1,92 | 2,08 | 2,09 | 1,60 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> (lait) | 1,07 | 1,07 | 1,09 | 1,11 | nd | 2,24 | 0,40 | 0,96 | 0,64 | nd | nd | 0,24 | nd | 2,09 | 1,60 |
| <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 | 0,13 | 0,27 | 4,38 | 0,13 | 0,32 | 0,28 | 0,025 | 0,48 | 0,32 | 1,76 | 0,49 | 0,48 | 0,52 | 0,27 | 0,40 |
| <i>Clostridium</i> spp (jus de mangue) | 0,81 | 1,07 | 1,09 | 0,55 | nd | 0,56 | 0,40 | 1,12 | 1,28 | nd | nd | 0,48 | nd | nd | nd |
| <i>Bacillus subtilis</i> (jus de mangue) | 1,07 | 2,14 | 2,18 | 1,11 | nd | 1,12 | 0,80 | 1,12 | 0,64 | nd | nd | 0,96 | nd | nd | nd |

Tableau XXIII : Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) des HE extraites vis-à-vis des souches microbiennes testées (mg/mL)

| Famille botanique | Annonaceae | | Asteraceae Compositae | Poaceae | | Myrtaceae | | Verbenaceae | | | | Lamiaceae Labiataeae | | | Lauraceae |
|--|----------------------|-------|---------------------------------------|----------------|---------------|---------------------------|----------------------|-----------------------------|-------|-------------------|-------|-------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------------|
| HE d'extraits | <i>X. aethiopica</i> | | <i>C. rubens</i> (feuilles = F) | <i>C. citr</i> | <i>C. gig</i> | <i>P. racemosa</i> (F) | <i>S. aromaticum</i> | <i>L. multiflora</i> (F) | | <i>L. rug</i> (F) | | <i>O. gratis</i> (F) | <i>O. basi</i> (F) | <i>M. pip</i> (F) | <i>C. zeylanicum</i> (F) |
| Souches microbiennes | Feuille | Fruit | | (F) | (F) | | | Pèrèrè | Saval | Gbeg | Bin | | | | |
| <i>Escherichia coli</i> (souche tomate) | 0,54 | 8,56 | 8,72 | 2,20 | 2,56 | 17,92 | 1,6 | 3,84 | 2,56 | 7,04 | 7,68 | 0,48 | 8,32 | 2,16 | 0,80 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | 4,28 | 17,12 | 17,44 | 8,80 | 2,56 | 8,96 | 0,8 | 15,36 | 5,12 | 3,52 | 3,92 | 0,96 | 16,64 | 8,56 | 3,20 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (pâte cuite) | 4,32 | 8,56 | 8,72 | 8,88 | 5,12 | 4,48 | 0,10 | 1,92 | 2,56 | 14,08 | 15,36 | 3,84 | 4,16 | 17,12 | 1,60 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | 1,08 | 2,16 | 2,16 | 2,20 | 1,32 | 1,12 | 0,1 | 3,84 | 1,28 | 7,04 | 3,92 | 3,84 | 8,32 | 34,24 | 0,80 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> (eau) | 1,08 | 4,28 | 4,36 | 4,44 | nd | 8,96 | 0,1 | 1,92 | 2,56 | 7,04 | 7,68 | 3,84 | nd | nd | nd |
| <i>Salmonella typhi</i> (boisson rafraichissante) | 17,12 | 4,32 | 17,44 | 8,88 | nd | 17,92 | 0,80 | 7,68 | 5,12 | 3,52 | 7,68 | 7,68 | 8,32 | 16,72 | 6,40 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> (lait) | 8,56 | 8,56 | 8,72 | 8,88 | nd | 17,92 | 0,80 | 7,68 | 5,12 | nd | nd | 0,96 | nd | 8,36 | 6,40 |
| <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 | 0,52 | 1,08 | 17,52 | 0,52 | 1,28 | 1,12 | 0,05 | 1,92 | 1,28 | 7,04 | 1,96 | 0,96 | 2,08 | 1,08 | 1,60 |
| <i>Clostridium</i> spp (jus de mangue) | 12,96 | 8,56 | 8,72 | 4,40 | nd | 2,24 | 0,80 | 4,48 | 5,12 | nd | nd | 3,84 | nd | nd | nd |
| <i>Bacillus subtilis</i> (jus de mangue) | 8,56 | 17,12 | 17,44 | 4,44 | nd | 4,48 | 1,60 | 4,48 | 2,56 | nd | nd | 7,68 | nd | nd | nd |

Tableau XXIV: Pouvoir antibiotique (CMB/CMI \leq 4) des huiles essentielles extraites des HE extraites vis-à-vis des souches microbiennes testées

| Famille botanique | Annonaceae | | Asteraceae Compositae | Poaceae | | Myrtaceae | | Verbenaceae | | | | Lamiaceae Labiataeae | | | Lauraceae |
|---|----------------------|-------|---------------------------------------|----------------|---------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|-------|-------------------|------|-------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------------|
| HE d'extraits Souches microbiennes | <i>X. aethiopica</i> | | <i>C. rubens</i> (feuilles = F) | <i>C. citr</i> | <i>C. gig</i> | <i>P. racemosa</i> (F) | <i>Syzygium aromaticum</i> | <i>L. multiflora</i> (F) | | <i>L. rug</i> (F) | | <i>O. gratis</i> (F) | <i>O. basi</i> (F) | <i>M. pip</i> (F) | <i>C. zeylanicum</i> (F) |
| | Feuille | Fruit | | (F) | (F) | | | Pèrèrè | Saval | Gbeg | Bin | | | | |
| <i>Escherichia coli</i> (souche tomate) | 2,00 | 8,00 | 8,00 | 4,00 | 8,00 | 8,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 8,00 | 8,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | 4,00 | 8,00 | 8,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 4,00 | 8,00 | 4,00 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (pâte cuite) | 8,00 | 8,00 | 4,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 2,00 | 4,00 | 4,00 | 8,00 | 8,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 8,00 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 2,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 4,00 | 4,00 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> (eau) | 2,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | nd | 8,00 | 4,00 | 1,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | nd | nd | nd |
| <i>Salmonella typhi</i> (boisson rafraichissante) | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | nd | 8,00 | 2,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 4,00 | 8,00 | 4,00 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> (lait) | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | nd | 8,00 | 2,00 | 8,00 | 8,00 | nd | nd | 4,00 | nd | 4,00 | 4,00 |
| <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | nd | 4,00 | 2,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 | 2,00 | 4,00 | 4,00 | 4,00 |
| <i>Clostridium</i> spp (jus de mangue) | 16,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | nd | 4,00 | 2,00 | 4,00 | 4,00 | nd | nd | 8,00 | nd | nd | nd |
| <i>Bacillus subtilis</i> (jus de mangue) | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 4,00 | nd | 4,00 | 2,00 | 4,00 | 4,00 | nd | nd | 8,00 | nd | nd | nd |

De l'analyse du tableau XXIV, les points suivants sont à retenir :

- **Annonaceae** : l'huile essentielle des feuilles de *Xylopi*a possède un pouvoir antibiotique contre les deux souches d'*Escherichia coli* isolées de la tomate et celle ATCC 25922, contre la souche de *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, contre la souche de *Enterococcus faecalis* (2,0) et contre celle de *Candida albicans* (4,0). L'huile essentielle des fruits de *Xylopi*a ne possède de pouvoir antibiotique que contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, celle de *Enterococcus faecalis* (4,0) et contre celle de *Candida albicans* (4,0).

- **Asteraceae** : l'huile essentielle de *Crassocephalum rubens* possède un pouvoir antibiotique contre les deux souches de *Staphylococcus aureus* (4,0) contre celle de *Enterococcus faecalis* (4,0) et contre celle de *Candida albicans* (4,0).

- **Poaceae** : l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* possède un pouvoir antibiotique contre les deux souches de *Escherichia coli* (respectivement 4,0 et 4,0) contre celle de *Staphylococcus aureus* ATCC (4,0), contre (4,0), contre celle de *Candida albicans* (4,0) et contre celle de *Bacillus subtilis* (4,0). Celle de *Cymbopogon giganteus* détient un pouvoir antibiotique contre la souche de *Escherichia coli* ATCC 25922 (4,0), contre celle de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et contre celle de *Candida albicans* (4,0).

- **Myrtaceae** : l'huile essentielle de *Pimenta racemosa* possède un pouvoir antibiotique contre la souche de *Escherichia coli* ATCC 25922 (4,0), contre celle de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (4,0), contre celle de *Enterococcus faecalis* (4,0), contre les souches de *Candida albicans* ATCC 10231, de *Clostridium* spp et de *Bacillus subtilis* (respectivement 4,0, 4,0, 4,0).

- L'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* possède un pouvoir antibiotique sur toutes les souches étudiées. Les pouvoirs antibiotiques varient de 2,0 à 4,0.

- **Verbenaceae** : l'huile essentielle de *Lippia multiflora* de Pèrèrè possède un pouvoir antibiotique contre la souche d'*Escherichia coli* (tomate : 4,0), contre *Enterococcus faecalis* (1,0) contre *Candida albicans*, *Clostridium* spp et *Bacillus subtilis* (respectivement 4,0 , 4,0, 4,0). Celle de *Lippia multiflora* de Savalou possède un pouvoir antibiotique contre les mêmes souches que précédemment alors que les deux huiles essentielles de *Lippia rugosa*

(Gbégourou et Binassi) ne possèdent pas de pouvoir antibiotique contre *Enterococcus faecalis* et contre *Candida albicans*.

- **Lamiaceae** : l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* possède un pouvoir antibiotique contre *Escherichia coli* (tomate : 4,0), contre *Staphylococcus aureus* (pâte : 4,0), contre *Enterococcus faecalis*(4,0), contre *Klebsiella pneumoniae* (4,0), contre *Candida albicans* (2,0)

- L'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* possède un pouvoir antibiotique contre les deux souches d'*Escherichia coli* (4,0), contre celle de *Staphylococcus aureus* (pâte : 4,0), contre *Salmonella typhi* (4,0) et contre *Candida albicans* (4,0).

- **Lauraceae** : l'huile essentielle de *Cinnamomum zeylanicum* détient un pouvoir antibiotique contre les deux souches d'*Escherichia coli* (4,0), contre *Staphylococcus aureus* (4,0), contre *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae* et *Candida albicans* (4,0).

Au total : les souches les plus sensibles à toutes les huiles essentielles sont : *Streptococcus faecalis*, *Candida albicans*.

4.1.3.1.3. Effets des huiles essentielles des feuilles (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

4.1.3.1.3.1. Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Cinnamomum zeylanicum* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

La figure 20 montre l'efficacité de l'huile essentielle de *Cinnamomum zeylanicum* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps.

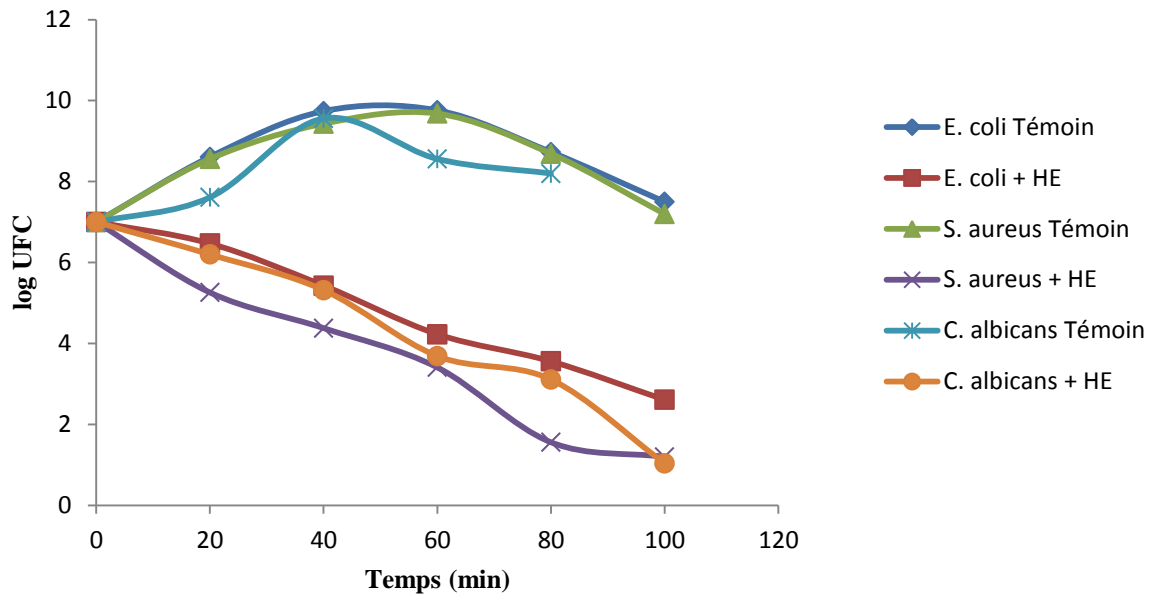


Figure 20 : Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Cinnamomum zeylanicum* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

L'HE extraite des feuilles fraîches de *Cinnamomum zeylanicum* possède une activité inhibitrice diversifiée contre les souches de *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et *C. albicans* ATCC 10231. A 40mn, *S. aureus* au contact de l'HE plus sensible, a connu un taux de réduction de 28,6% alors qu'au même temps, *E. coli* et *C. albicans* sont réduites de 15%. A 100mn, *S. aureus* et *C. albicans* sont réduites de 85,7% alors que *E. coli* ne l'est que de 57,1%.

Les témoins des trois souches qui n'ont pas été au contact de l'HE ont atteint un pic de croissance à 40mn égal au correspondant logarithmique de 10 et la chute la plus drastique, celle de *C. albicans* est égal au correspondant logarithmique de 9 après 60mn et pour *E. coli* et *S. aureus* pour le même correspondant logarithmique après 80mn.

4.1.3.1.3.2. Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Cymbopogon citratus* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

La figure 21 exhibe l'efficacité de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps.

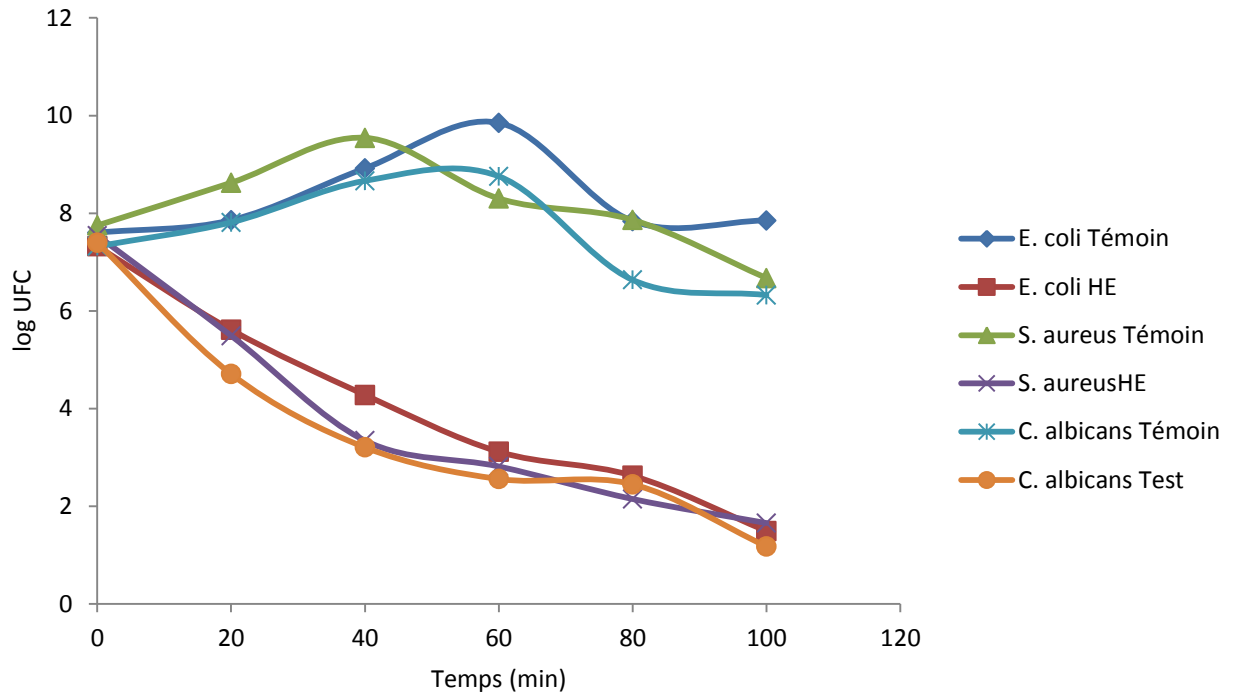


Figure 21 : Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Cymbopogon citratus* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

L'HE extraite de *Cymbopogon citratus* affiche une inhibition relative contre les souches de *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et contre de *C. albicans* ATCC 10231. A 40mn, elle réduit la viabilité de *S. aureus* et de *C. albicans* de plus de 60% et à 100mn les trois souches sont inhibées à plus de 90%.

Les témoins des trois souches n'ayant pas été en contact de l'HE marquent différemment leur croissance avec des pics à 40mn respectivement pour *S. aureus* (correspondant logarithmique égal à 9,5) pour *E. coli* (correspondant logarithmique égal à 9) et pour *C. albicans* (correspondant logarithmique égal à 8).

4.1.3.1.3.3. Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Cymbopogon giganteus* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

La figure 22 illustre l'efficacité de l'huile essentielle de *Cymbopogon giganteus* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps.

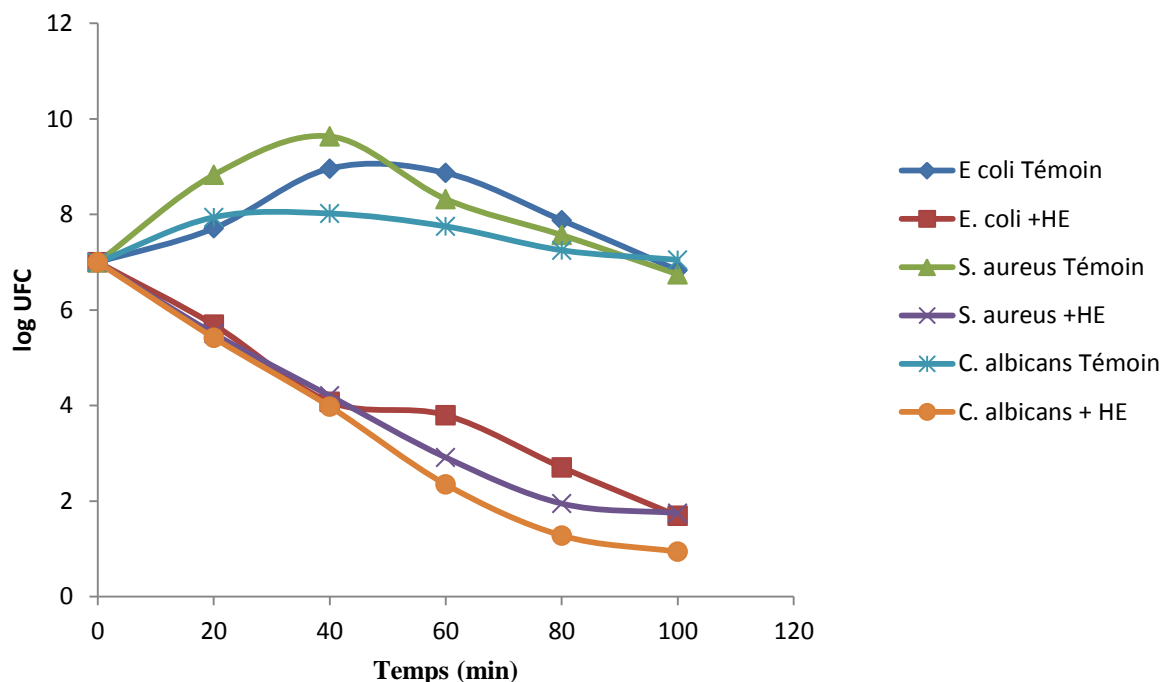


Figure 22: Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Cymbopogon giganteus* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *Candida albicans* par unité de temps

L'HE extraite des feuilles de *Cymbopogon giganteus* détient un pouvoir inhibiteur contre les souches *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et celle de *C. albicans* ATCC 10231. Les trois souches à 40mn sont réduites de 42,8% et à 80mn la souche de *E. coli* est réduite de 71,4% pendant que les deux autres souches microbiennes le sont à 80%. A 100mn, la souche de *C. albicans* est la plus touchée : elle est réduite de 90% alors que les deux bactéries *E. coli* et *S. aureus* sont réduites de 80%. Leurs homologues témoins qui n'ont pas reçu d'HE suivent la même allure quant à la croissance microbienne : une phase de croissance exponentielle, une phase stationnaire et un déclin. Les pics de croissance à 40mn pour les trois souches sont respectivement pour *S. aureus* (correspondant logarithmique égal 9,5), pour *E. coli* (correspondant logarithmique égal à 9) et pour *C. albicans* (correspondant logarithmique égal à 8).

4.1.3.1.3.4. Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Lippia multiflora* de Pèrèrè (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

La figure 23 illustre l'efficacité de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* de Pèrèrè (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps.

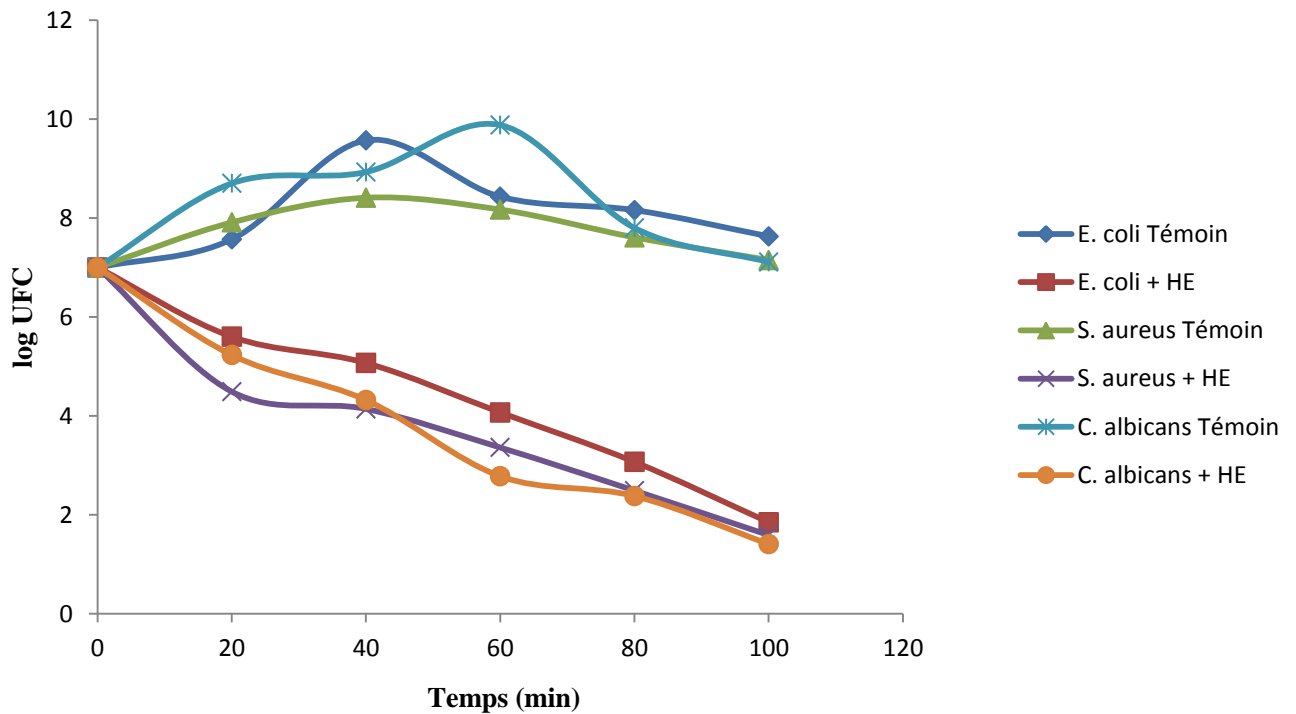


Figure 23 : Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Lippia multiflora* de Pèrèrè (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

L'HE extraite des feuilles fraîches de *Lippia multiflora* de Pèrèrè détient une activité inhibitrice contre les souches de *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et *C. albicans* ATCC 10231. A à 40mn, *S. aureus* et *C. albicans* sont plus sensibles à l'action de l'HE et sont réduits de 43% de leur quantum pendant que *E. coli* l'est de 29%. Entre 80 et 100mn, les deux premières souches sont réduites de près de 72% pendant que *E. coli* est inhibé à près de 65% de son quantum.

Le témoin *S. aureus* suit l'allure normale d'une courbe de croissance microbienne avec un pic à 40mn (correspondant logarithmique égal à 8,5) alors au même temps de 40mn *E. coli* a atteint son pic (correspondant logarithmique égal à 9,5) et à 60mn *C. albicans* a atteint son pic de croissance (correspondant logarithmique égal à 10).

4.1.3.1.3.5. Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Lippia multiflora* de Kpakpassa (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

La figure 24 illustre l'efficacité de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* de Kpakpassa (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps.

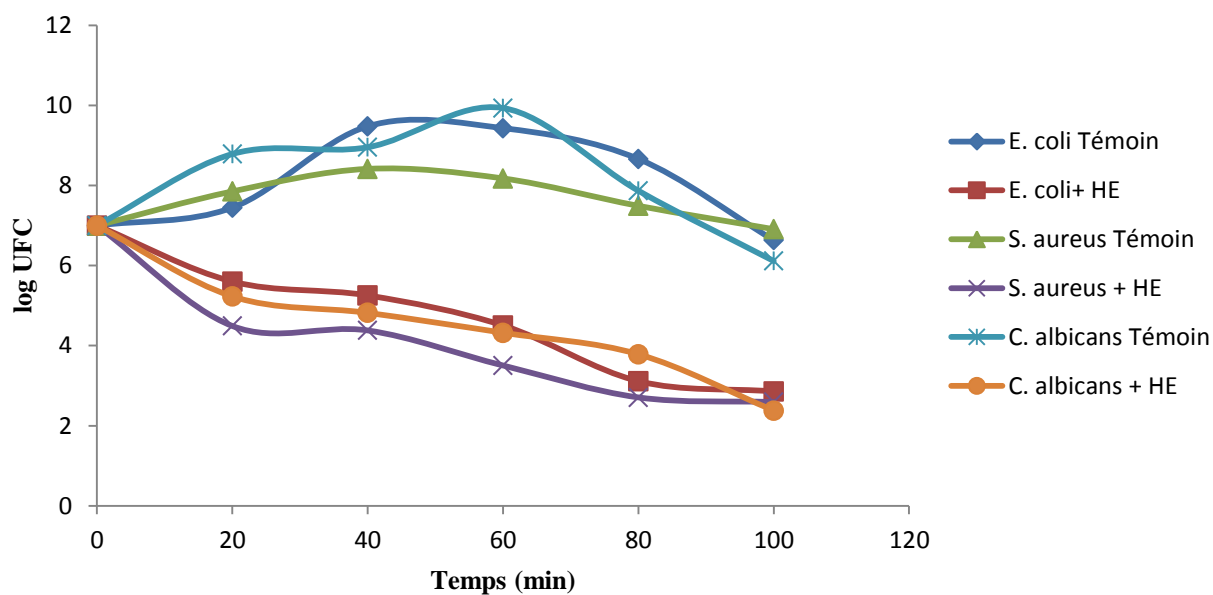


Figure 24: Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Lippia multiflora* de Kpakpassa (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *Candida albicans* par unité de temps

L'HE extraite des feuilles de *Lippia multiflora* de kpakpassa (Savalou) a exhibé des activités inhibitrices contre les souches de *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et *C. albicans* ATCC 10231. Si à 60 mn de temps de contact entre l'HE et les souches, *S. aureus* reste très sensible et est réduite de près de 43% de son quantum, *E. coli* et *C. albicans* le sont à 29% de leurs quanta. A 100mn, les trois souches sont réduites de 72% de leurs quanta.

Les témoins des trois souches qui n'ont pas été mises en contact des HE ont atteint diversement leur pic de croissance respectivement à 40mn pour *S. aureus* et *E. coli* (correspondant logarithmique égal à 8 pour l'une et 9 pour l'autre) alors que *C. albicans* a atteint le sien à 60mn pour un correspondant logarithmique égal à 10.

4.1.3.1.3.6. Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Lippia rugosa* de Gbégourou (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

La figure 25 illustre l'efficacité de l'huile essentielle de *Lippia rugosa* de Gbégourou (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps.

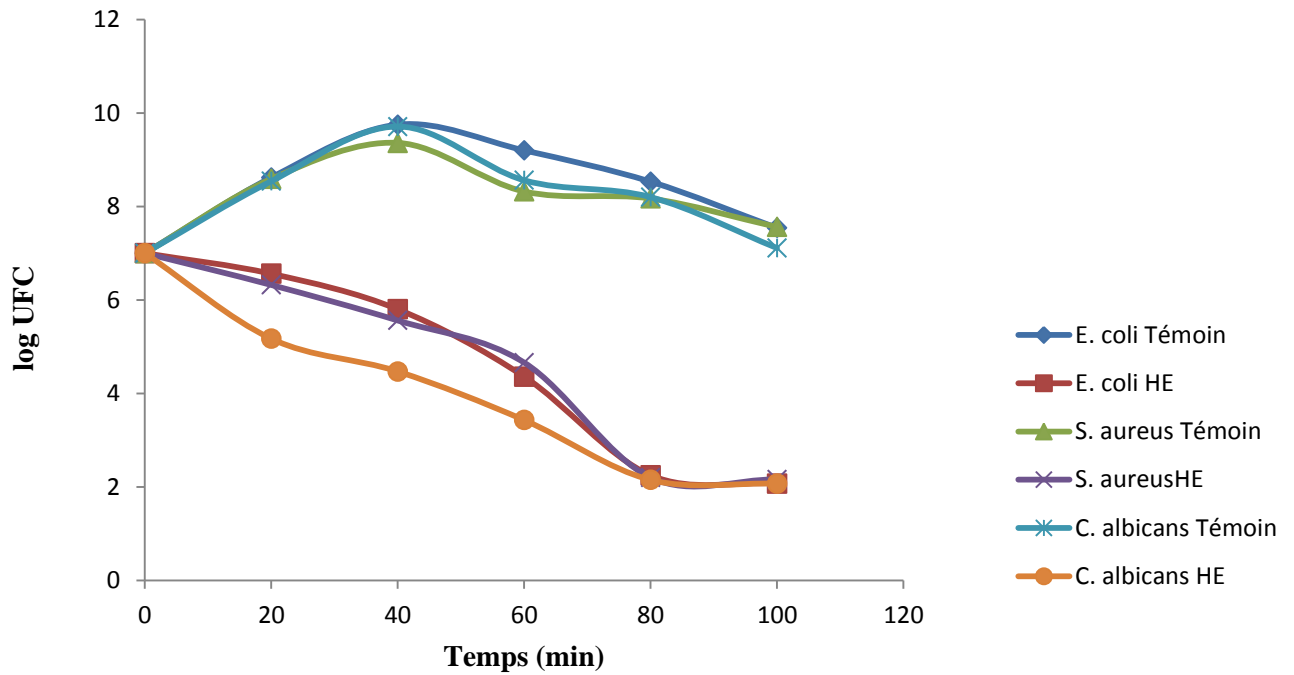


Figure 25 : Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Lippia rugosa* de Gbégourou (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

L'HE extraite des feuilles fraîches de *Lippia rugosa* de Gbégourou a exhibé des activités inhibitrices contre *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et *C. albicans* ATCC 10231. Si à 40mn *C. albicans* est la souche la plus sensible des trois au contact de l'HE avec un taux de réduction de 29% (les deux autres souches étant à 14% de leur réduction), à 100mn les trois souches sont réduites de près 71,4% de leurs différents quanta.

Les témoins n'ayant pas reçu d'HE ont atteint leurs pics de croissance à 40mn égaux aux correspondants logarithmiques de 10 et de 9,5 respectivement pour *C. albicans* et *E. coli* d'une part et pour *S. aureus* d'autre part.

4.1.3.1.3.7. Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Lippia rugosa* de N'Dali (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

La figure 26 illustre l'efficacité de l'huile essentielle de *Lippia rugosa* de N'Dali (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps.

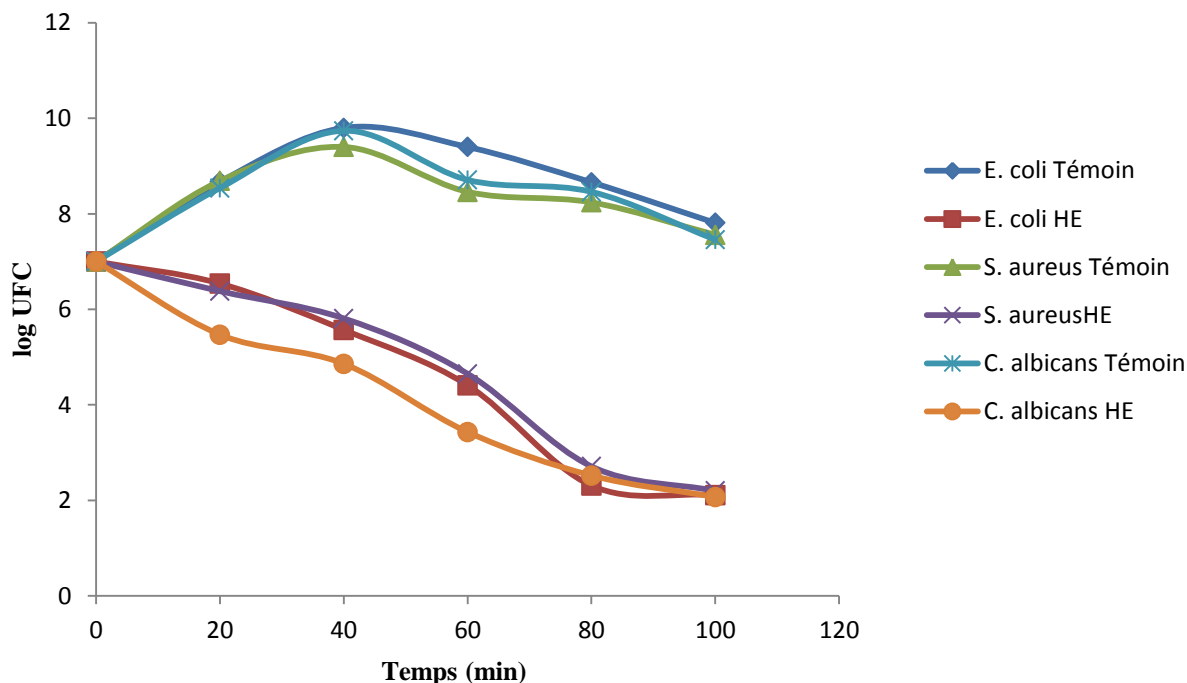


Figure 26 : Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Lippia rugosa* de N'Dali (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

L'HE extraite des feuilles fraîches de *Lippia rugosa* de N'Dali possède une relative activité inhibitrice contre les souches de *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et *C. albicans* ATCC 10231. A 40mn la souche de *C. albicans* reste la plus sensible avec un taux de réduction égal à 28,6% (dans le même temps *E. coli* et *S. aureus* sont réduits de 14,3%) ; cependant, à 100mn, les trois souches sont réduites dans la même proportion de 71,4%. Les témoins par contre qui n'ont pas reçu l'HE croissent dans la même proportion avec un pic de croissance à 40mn égal à un correspondant logarithmique de 10 pour *E. coli* et *C. albicans* d'une part et de 9,5 pour *S. aureus* d'autre part.

4.1.3.1.3.8. Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Ocimum gratissimum* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

La figure 27 illustre l'efficacité de l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps.

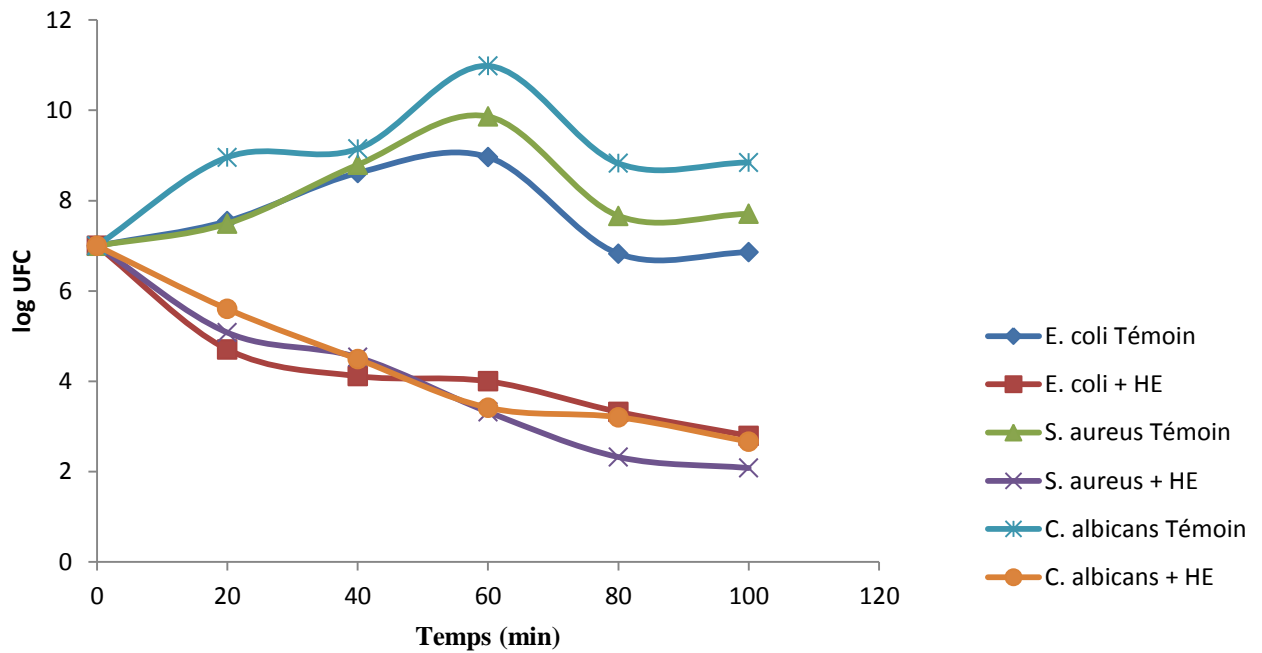


Figure 27: Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Ocimum gratissimum* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *Candida albicans* par unité de temps

L'huile essentielle des feuilles fraîches de *Ocimum gratissimum* possède une activité inhibitrice contre les souches de *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et *Candida albicans* ATCC 10231. Si à 40 mn, les trois souches restent sensibles au même niveau, à 100mn, la souche de *S. aureus* a été inhibée à près de 72% de son quantum de départ. Toutefois, *C. albicans* et *E. coli* restent dans la même proportion d'inhibition (environ 57%).

Les témoins des trois souches n'ayant pas été en contact de l'HE ont atteint leur pic de croissance à 60mn respectivement pour *C. albicans* (correspondant logarithmique égal à 10), pour *S. aureus* (correspondant logarithmique égal à 9,5) et pour *E. coli* (correspondant logarithmique égal à 9).

4.1.3.1.3.9. Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Ocimum basilicum* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

La figure 28 illustre l'efficacité de l'huile essentielle de *Ocimum basilicum* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps.

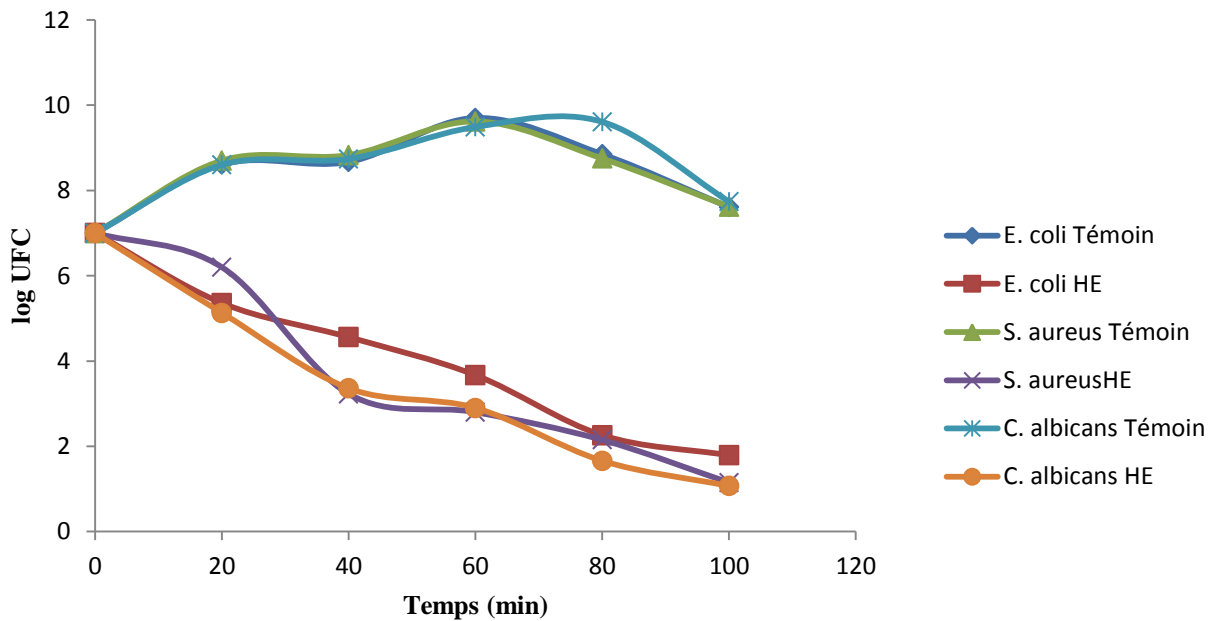


Figure 28: Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Ocimum basilicum* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

L'huile essentielle de *Ocimum basilicum* possède un effet inhibiteur sur les souches de *Escherichia coli* ATCC 25922, de *Staphylococcus aureus* 25923 et sur celle de *Candida albicans* ATCC 10231. A 40 mn, les viabilités de *Staphylococcus aureus* et de *Candida albicans* sont réduites de 60% alors que celle de *Escherichia coli* ne l'est que de 40%. A 100 mn, les deux premières souches sont inhibées jusqu'à 95% de leur quanta alors que la viabilité de *Escherichia coli* est réduite de 85%.

Les trois souches témoins qui n'ont pas reçu l'huile essentielle restent dans le schéma classique de la croissance microbienne : une phase de croissance exponentielle entre 0 et 80 mn, une phase stationnaire relativement courte entre 60 et 80 mn selon la souche et une phase de déclin entre 80 et 100 mn.

4.1.3.1.3.10. Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Mentha piperita* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

La figure 29 illustre l'efficacité de l'huile essentielle de *Mentha piperita* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps.

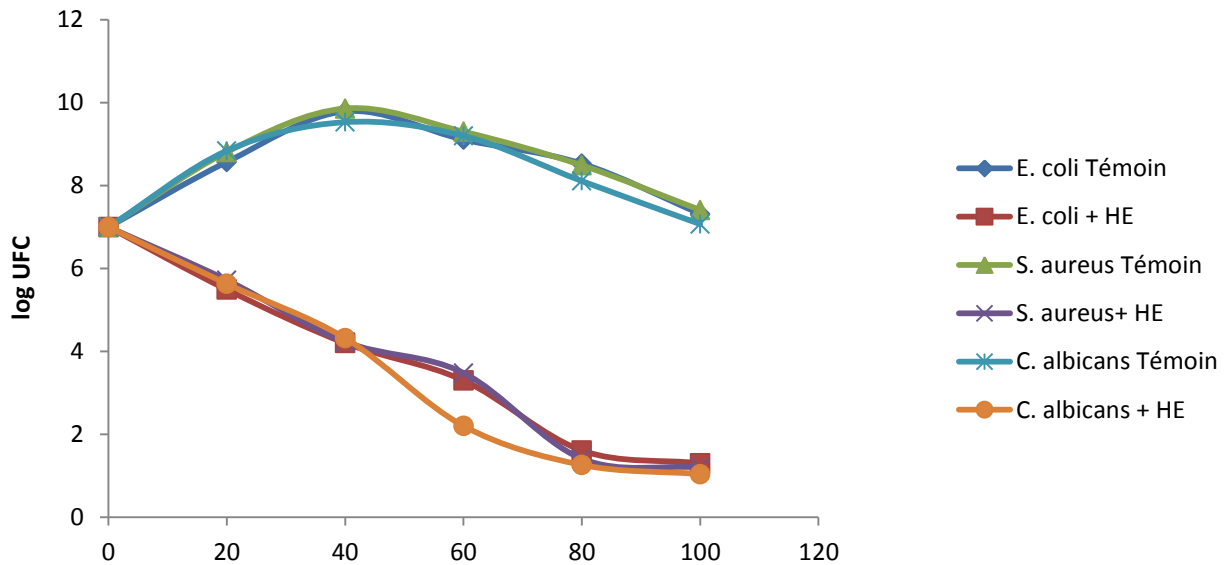


Figure 29: Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Mentha piperita* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *Candida albicans* par unité de temps

L'HE extraite des feuilles fraîches de *Mentha piperita* possède un effet inhibiteur sur les souches de *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et *C. albicans* ATCC 10231. A 60 mn, la souche de *C. albicans* ATCC 10231, très sensible à l'action de l'HE a été réduite de près de 72% de son quantum et à 100mn, les trois souches testées sont réduites de près de 86% de leurs quanta.

Les témoins qui n'ont pas reçu d'HE, à 40mn, ont atteint un pic similaire égal à un correspondant logarithmique de 10 pour chuter à partir de 50mn au correspondant logarithmique de 7 jusqu'à 100mn.

4.1.3.1.3.11. Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Pimenta racemosa* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

La figure 30 illustre l'efficacité de l'huile essentielle de *Pimenta racemosa* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps.

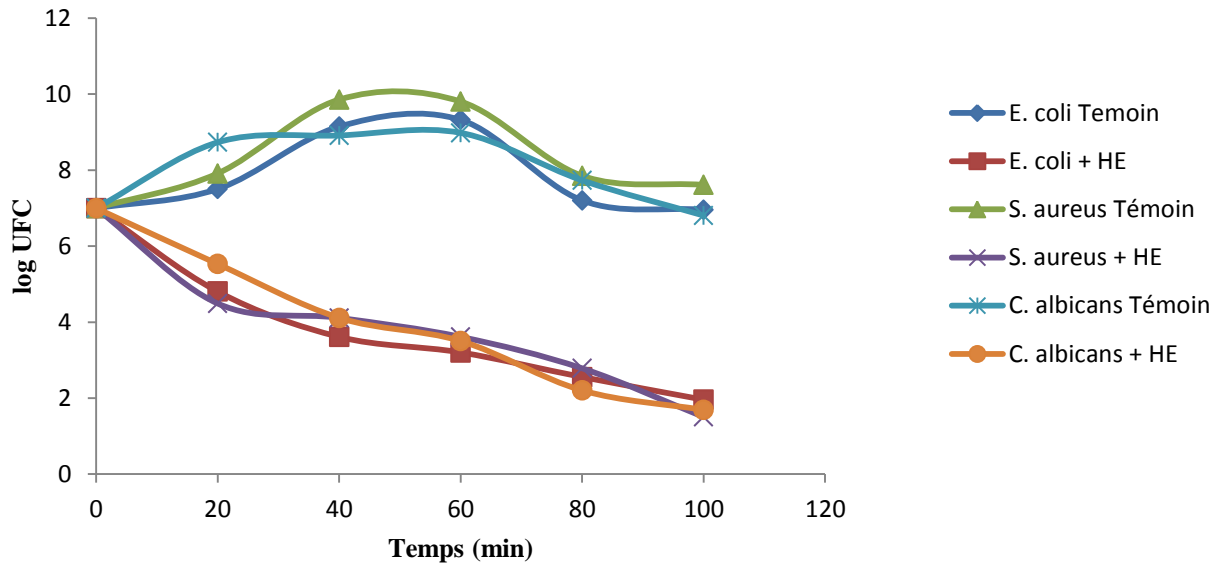


Figure 30: Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Pimenta racemosa* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *Candida albicans* par unité de temps

L'HE extraite des feuilles fraîches de *Pimenta racemosa* possède des activités inhibitrices avérées contre les souches de *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et *C. albicans* ATCC 10231. L'HE à 40 mn a réduit les quantités des trois souches précitées dans la même proportion (environ 42,8%) et à 100mn la similarité de l'inhibition est manifeste et reste dans la proportion de 71,4%.

Les témoins n'ayant pas été en contact avec l'HE ont atteint leur pic de croissance à 40 mn pour *S. aureus* (correspondant logarithmique égal à 10) et pour *E. coli* et *C. albicans* (correspondant logarithmique égal à 9). Leur phase stationnaire est observée entre 80 et 100mn avec un correspondant logarithmique de 8 pour *S. aureus* et de 7 pour *C. albicans* et *E. coli*.

4.1.3.1.3.12. Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Syzygium aromaticum* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps

La figure 31 illustre l'efficacité de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* par unité de temps.

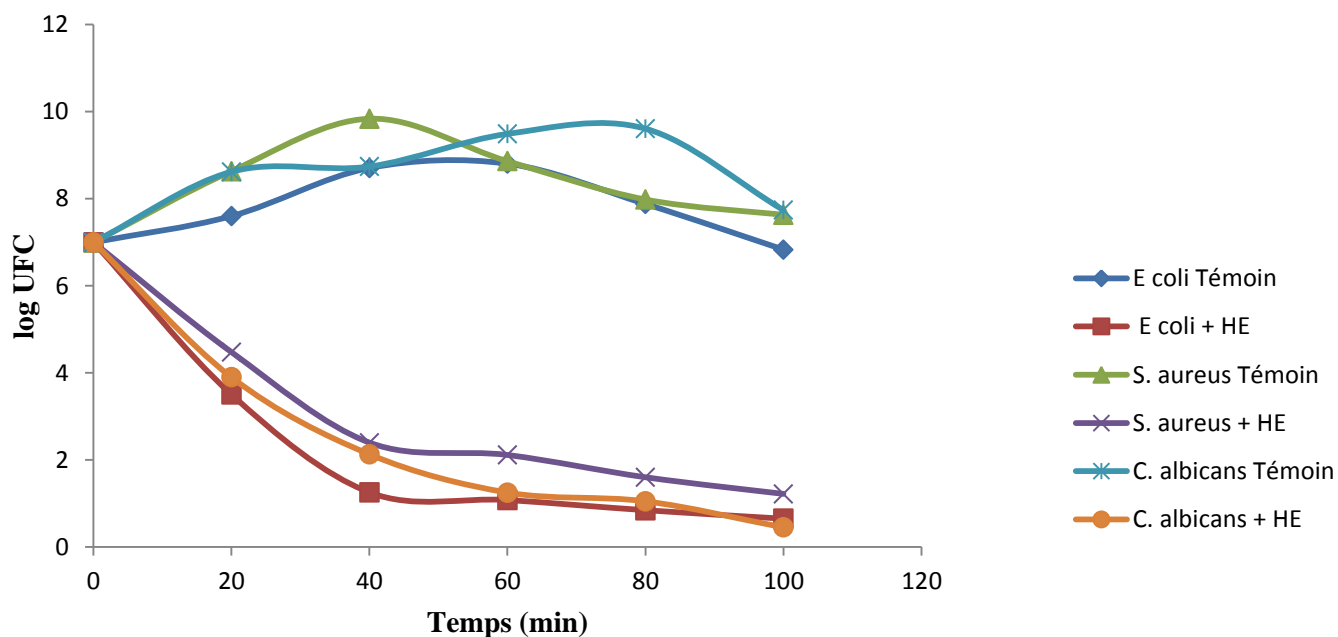


Figure 31: Effets de l'huile essentielle des feuilles de *Syzygium aromaticum* (CMI) sur la viabilité de *E. coli*, *S. aureus* et *Candida albicans* par unité de temps

L'HE extraite des fruits de *Syzygium aromaticum* détient de très fortes activités inhibitrices contre les souches de *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et *C. albicans* ATCC 10231. A 40 mn, 86% du quantum de *E. coli* a été réduit alors que 56% des quanta le sont pour *C. albicans* et *S. aureus*. A 100mn, près de 95% des quanta de *C. albicans* et *E. coli* sont réduits pendant qu'au même temps, *S. aureus* reste réduit de 88% de son quantum. Les témoins des trois souches qui n'ont pas été en contact de l'HE ont atteint chacune leur pic de croissance pour *S. aureus* à 40mn (correspondant logarithmique égal à 10), *E. coli* à 20mn (correspondant logarithmique égal à 9) et pour *Candida albicans* à 80mn (correspondant logarithmique égal à 10).

4.1.3.1.4. Sensibilité aux antibiotiques

Il s'est agi ici de tester dans les mêmes conditions la sensibilité de la souche *E. coli* ATCC 25922 en présence de certains disques d'antibiotiques spécifiques à elle (diamètre = 6mm) tels que la ceftriazone 30 µg (de la famille des Cephalosporines), la gentamycine 10 µg (de la famille de Aminosides), l'Acide Nalidixique 30 µg (de la famille des Phénicoles) et du Chloramphénicol 30 µg (de la famille des Phénicoles) d'une part et celle de la souche *S. aureus* ATCC 25923 d'autre part à l'aide des disques d'antibiotiques qui lui sont spécifiques

tels que la lincosamine et Erythromycine 15µg (Macrolides et Apparentés), la Tétracycline 30 µg et l'oxacilline 30 µg (Pénicilline) et le comportement des différentes HE avec les mêmes souches et en mesurant les diamètres d'inhibition (en mm) exhibés par les unes (HE) et les autres (disque d'antibiotique).

Les tests révèlent que *Escherichia coli* ATCC 25922 est sensible à la ceftriazone (diamètre = $21,2 \pm 0,2$ mm), à la gentamycine (diamètre = $18,1 \pm 0,1$ mm) et au chloramphénicol (diamètre = $18,2 \pm 0,2$) reste cependant résistante à l'acide nalidixique (diamètre = 0,0) et que *S. aureus* ATCC 25923 est sensible aux macrolides et apparentés à savoir la lincosamine (diamètre = $24,2 \pm 0,2$ mm), l'érythromycine (diamètre = $24,2 \pm 0,2$ mm) et à la tétracycline (diamètre = $30,1 \pm 0,1$ mm) mais reste résistante à l'oxacilline (0,0)

Les huiles essentielles de chaque famille botanique ont réagi différemment sur les souches les comparant à l'activité antibiotique exprimée par les disques. Parmi les Labiatae l'HE de *Ocimum basilicum* a exprimé une activité antibiotique relativement semblable à celle de l'HE de *Ocimum gratissimum* à la différence qu'elle a marqué une inhibition à l'une et à l'autre des deux souches, pour *E. coli* ATCC 25922 à l'acide nalidixique ($17,2 \pm 0,2$) et pour *S. aureus* ATCC 25923 c'est à l'érythromycine que l'on ne peut exhiber l'activité de l'HE de *O. gratissimum*. L'HE de *Mentha piperita* reste dans la même forme d'activité antibiotique contre *E. coli* ATCC 25922 que celle de *Ocimum gratissimum* et *Ocimum basilicum*, par contre elle ne permet pas de comparer son activité antibiotique sur *S. aureus* ATCC 25923 car elle ne possède pas d'activité à comparer à la tétracycline.

Les trois HE possèdent donc une activité antibiotique contre *E. coli* ATCC 25922 par contre *Ocimum gratissimum* et *Mentha piperita* ne possèdent pas d'activité antibiotique contre *S. aureus*.

Chez les Poaceae, les HE de *Cymbopogon citratus* et *Cymbopogon giganteus* détiennent une activité antibiotique contre les deux souches testées à savoir *E. coli* ATCC 25922 et *S. aureus* ATCC 25923. Les diamètres d'inhibition exprimés par l'activité des HE en comparaison avec celle des disques d'antibiotique standard figurent sur le tableau XXVI. En dehors des sensibilités déterminées sur chacune des souches, les deux HE ont exprimé leur activité antibiotique à les comparer à l'acide nalidixique respectivement (diamètre = $39,2 \pm 0,2$ mm) et (diamètre $30,1 \pm 0,1$ mm) pour *E. coli* ATCC 25922 pour *Cymbopogon citratus* et *Cymbopogon giganteus* et pour *S. aureus* ATCC 25923 l'oxacilline respectivement (diamètre = $30,2 \pm 0,2$ mm) et (diamètre $30,2 \pm 0,2$ mm) pour *Cymbopogon citratus* et *Cymbopogon giganteus*.

Dans la famille des Annonaceae, l'HE des feuilles de *Xylopiya aethiopica* détient une activité antibiotique contre *E. coli* ATCC 25922. Les diamètres d'inhibition exhibés (XXVII) montrent qu'ils sont dans les mêmes proportions que ceux exprimés sur la même souche par les disques d'antibiotiques standards ; en outre, l'HE exprime la sensibilité de la souche à comparer à l'acide nalidixique (diamètre = $18,1 \pm 0,1$ mm). Cette même HE détient une activité antibiotique contre celle de *S. aureus* ATCC 25923. Les diamètres d'inhibition déterminés sur la souche par les disques d'antibiotique sont dans les mêmes proportions que ceux exprimés par l'HE, toutefois l'HE semble plus active sur la souche car cette dernière lui est sensible à la comparer à l'oxacilline (diamètre = $20,1 \pm 0,1$ mm). Par contre l'HE des fruits de *Xylopiya aethiopica* n'a pas d'activité antibiotique sur la souche de *E. coli* ATCC 25922 à la comparer à la ceftriazone pour laquelle la souche est sensible. Cependant cette HE détient une activité antibiotique contre *S. aureus* ATCC 25923. Les HE et les disques d'antibiotiques sont concordants (voir tableau XXVII).

Dans la famille des Verbenaceae, l'HE de *Lippia multiflora* de Pèrèrè n'a pas d'activité antibiotique contre *E. coli* ATCC 25922 à la comparer à la ceftriazone alors qu'elle détient une activité antibiotique contre *S. aureus* ATCC 25923. L'HE de *Lippia multiflora* de Kpakpassa (Savalou) ne possède pas d'activité antibiotique contre *E. coli* ATCC 25922 à la comparer à la gentamycine pour laquelle la souche reste sensible alors qu'elle détient une activité antibiotique contre *S. aureus* ATCC 25923. Les diamètres d'inhibition déterminés sur les deux souches par les HE sont concordants à ceux révélés par les disques standards (voir tableau XXVIII).

L'HE de *Lippia rugosa* de Binassi et celle de Gbégorou n'ont pas d'activité antibiotique contre *E. coli* ATCC 25922 à les comparer aux disques d'antibiotique, elles n'ont pas inhibé la souche comme la ceftriazone. Elles n'ont pas non plus d'activité antibiotique contre *S. aureus* ATCC 25923 à les comparer aux disques d'antibiotiques (Erythromycine) pour lesquels le germe exprime une inhibition (voir tableau XXVIII).

Chez les Myrtaceae, les deux HE à savoir celles de *Pimenta racemosa* et de *Syzygium aromaticum* ont une activité antibiotique contre *E. coli* ATCC 25922 et contre *S. aureus* ATCC 25923. Les diamètres d'inhibition déterminés sur les deux souches avec ces dernières concordent avec ceux obtenus sur les mêmes souches à l'aide des disques d'antibiotiques standards (tableau XXIX).

Dans la famille des Asteraceae, l'HE de *Crassocephalum rubens* n'a pas d'activité antibiotique contre *E. coli* ATCC 25922 alors qu'elle la possède contre *S. aureus* ATCC 25923. Les diamètres d'inhibition obtenus pour l'HE contre chaque souche figurent dans le tableau XXX.

Dans la famille des Lauraceae l'HE de *Cinnamomum zeylanicum* possède une activité antibiotique contre *E. coli* ATCC 25922 (diamètre = $30,2 \pm 0,2$ mm pour la ceftriazone), $29,1 \pm 0,1$ mm pour la gentamycine, $29,1 \pm 0,1$ mm pour l'acide nalidixique et $28,2 \pm 0,2$ mm pour le Chloramphénicol et contre *S. aureus* ATCC 25923 (diamètre = $20,1 \pm 0,1$ mm pour la lincosamine $21,2 \pm 0,2$ mm pour l'Erythromycine et $30,2 \pm 0,2$ mm pour la tétracycline).

Ces différentes sensibilités antibiotiques confirment les pouvoirs antibiotiques calculés à partir du rapport CMB/CMI inférieur ou égal à 4 pour toutes les HE testées vis-à-vis des deux souches.

Tableau XXV: Sensibilité aux antibiotiques des HE des *Labiatae* testées contre *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

| Souche microbienne | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | | | | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | | | |
|---------------------------|------------------------------------|----------------------|----------------------|-------------------------------|---|-----------------------------|------------------------|-----------------------|
| | antibiotique | Ceftriazone 30 µg | Gentamycine 10 µg | Acide Nalidixique 30 µg | Chloramphenicol 30 µg | Lyncomycine 15 µg | Erythromycine 15 µg | Tétracycline 30 µg |
| Famille | Céphalosporine | Aminoside | Quinolone | Phénicole | Macrolides et apparentés | Macrolides et apparentés | Tétracycline | Pénicilline |
| Diamètre (mm) | 21,2 ± 0,2 | 18,1 ± 0,1 | - | 18,2 ± 0,2 | 24,2 ± 0,2 | 24,2 ± 0,2 | 30,2 ± 0,2 | - |
| <i>Ocimum basilicum</i> | 16,1 ± 0,1 | 14,2 ± 0,2 | - | 17,2 ± 0,2 | 16,1 ± 0,1 | 15,2 ± 0,2 | 26,3 ± 0,3 | - |
| <i>Ocimum gratissimum</i> | 16,1 ± 0,1 | 16,2 ± 0,2 | - | 16,2 ± 0,2 | 18,1 ± 0,1 | - | 19,2 ± 0,2 | - |
| <i>Mentha piperita</i> | 15,2 ± 0,2 | 15,5 ± 0,3 | - | 15,5 ± 0,1 | 15,1 ± 0,1 | 15,1 ± 0,1 | - | - |

NB : Les valeurs figurant dans le tableau XXV spécifient la plage des valeurs observées (moyenne ± erreur-type)

Tableau XXVI : Sensibilité aux antibiotiques des HE des Poaceae testées contre *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

| Souche microbienne | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | | | | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | | | |
|---------------------------------|------------------------------------|----------------------|----------------------|-------------------------------|---|-----------------------------|------------------------|-----------------------|
| | antibiotique | Ceftriazone 30 µg | Gentamycine 10 µg | Acide Nalidixique 30 µg | Chloramphenicol 30 µg | Lyncomycine 15 µg | Erythromycine 15 µg | Tétracycline 30 µg |
| Famille | Céphalosporine | Aminoside | Quinolone | Phénicole | Macrolides et apparentés | Macrolides et apparentés | Tétracycline | Pénicilline |
| Diamètre (mm) | 21,1 ± 0,1 | 18,1 ± 0,1 | - | 18,2 ± 0,2 | 24,2 ± 0,2 | 24,2 ± 0,2 | 30,1 ± 0,1 | - |
| <i>Cymbopogon citratus</i> | 39,2 ± 0,2 | 18,1 ± 0,1 | 39,2 ± 0,2 | 39,2 ± 0,2 | 26,1 ± 0,1 | 26,1 ± 0,1 | 30,1 ± 0,1 | 30,2 ± 0,2 |
| <i>Cymbopogon giganteus</i> | 30,2 ± 0,2 | 18,1 ± 0,1 | 30,1 ± 0,1 | 30,2 ± 0,2 | 24,2 ± 0,2 | 24,1 ± 0,1 | 30,1 ± 0,1 | 30,2 ± 0,2 |

NB : Les valeurs figurant dans le tableau XXVI spécifient la plage des valeurs observées (moyenne ± erreur-type)

Tableau XXVII : Sensibilité aux antibiotiques des HE des Annonaceae testées contre *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

| Souche microbienne | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | | | | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | | | |
|---|------------------------------------|----------------------|----------------------|-------------------------------|---|-----------------------------|------------------------|-----------------------|
| | antibiotique | Ceftriazone 30 µg | Gentamycine 10 µg | Acide Nalidixique 30 µg | Chloramphenicol 30 µg | Lyncomycine 15 µg | Erythromycine 15 µg | Tétracycline 30 µg |
| Famille | Céphalosporine | Aminoside | Quinolone | Phénicole | Macrolides et apparentés | Macrolides et apparentés | Tétracycline | Pénicilline |
| Diamètre (mm) | 21,1 ± 0,1 | 18,1 ± 0,1 | - | 18,2 ± 0,2 | 24,2 ± 0,2 | 24,2 ± 0,2 | 30,1 ± 0,1 | - |
| <i>Xylopia aethiopica</i> fruits | - | 20,2 ± 0,2 | - | 21,2 ± 0,2 | 21,1 ± 0,1 | 19,1 ± 0,1 | 21,1 ± 0,1 | - |
| <i>Xylopia aethiopica</i> feuilles | 18,1 ± 0,1 | 18,2 ± 0,2 | 18,1 ± 0,1 | 18,2 ± 0,2 | 21,1 ± 0,1 | 20,1 ± 0,1 | 21,1 ± 0,1 | 20,1 ± 0,1 |

NB : Les valeurs figurant dans le tableau XXVII spécifient la plage des valeurs observées (moyenne ± erreur-type)

Tableau XXVIII: Sensibilité aux antibiotiques des HE des Verbenaceae testées contre *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

| Souche microbienne | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | | | | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | | | |
|--|------------------------------------|----------------------|----------------------|-------------------------------|---|-----------------------------|------------------------|-----------------------|
| | antibiotique | Ceftriazone 30 µg | Gentamycine 10 µg | Acide Nalidixique 30 µg | Chloramphenicol 30 µg | Lyncomycine 15 µg | Erythromycine 15 µg | Tétracycline 30 µg |
| Famille | Céphalosporine | Aminoside | Quinolone | Phénicole | Macrolides et apparentés | Macrolides et apparentés | Tétracycline | Pénicilline |
| Diamètre (mm) | 21,2 ± 0,2 | 18,1 ± 0,1 | - | 18,2 ± 0,2 | 24,2 ± 0,2 | 24,2 ± 0,2 | 30,1 ± 0,1 | - |
| <i>Lippia multiflora</i> Pèrèrè | - | 22,1 ± 0,1 | 40,4 ± 0,4 | 30,1 ± 0,1 | 30,2 ± 0,2 | 24,2 ± 0,2 | 30,2 ± 0,2 | - |
| <i>Lippia multiflora</i> Kpakpassa Savalou | 18,4 ± 0,1 | - | 20,1 ± 0,1 | 20,2 ± 0,2 | 27,1 ± 0,1 | 25,2 ± 0,2 | 29,2 ± 0,2 | 27,1 ± 0,1 |
| <i>Lippia rugosa</i> Binassi | - | 15,2 ± 0,2 | 15,1 ± 0,1 | 15,2 ± 0,2 | 14,1 ± 0,1 | - | 15,2 ± 0,2 | 14,1 ± 0,1 |
| <i>Lippia rugosa</i> Gbegourou | - | 10,2 ± 0,2 | 15,1 ± 0,1 | 14,1 ± 0,1 | 14,1 ± 0,1 | - | 13,2 ± 0,2 | 13,1 ± 0,1 |

NB : Les valeurs figurant dans le tableau XXVIII spécifient la plage des valeurs observées (moyenne ± erreur-type)

Tableau XXIX: Sensibilité aux antibiotiques des HE des Myrtaceae testées contre *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

| Souche microbienne | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | | | | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | | | |
|--------------------------------|------------------------------------|----------------------|----------------------|-------------------------------|---|-----------------------------|------------------------|-----------------------|
| | antibiotique | Ceftriazone 30 µg | Gentamycine 10 µg | Acide Nalidixique 30 µg | Chloramphenicol 30 µg | Lyncomycine 15 µg | Erythromycine 15 µg | Tétracycline 30 µg |
| Famille | Céphalosporine | Aminoside | Quinolone | Phénicole | Macrolides et apparentés | Macrolides et apparentés | Tétracycline | Pénicilline |
| Diamètre (mm) | 21,1 ± 0,1 | 18,1 ± 0,1 | - | 18,2 ± 0,2 | 24,2 ± 0,2 | 24,2 ± 0,2 | 30,1 ± 0,1 | - |
| <i>Pimenta racemosa</i> | 17,1 ± 0,1 | 17,2 ± 0,2 | 39,1 ± 0,1 | 28,2 ± 0,2 | 20,2 ± 0,2 | 20,2 ± 0,2 | 30,1 ± 0,1 | 28,2 ± 0,2 |
| <i>Syzigium aromaticum</i> | 18,2 ± 0,2 | 17,2 ± 0,2 | 13,1 ± 0,1 | 24,2 ± 0,2 | 18,2 ± 0,1 | 30,2 ± 0,2 | 28,1 ± 0,1 | 26,2 ± 0,2 |

NB : Les valeurs figurant dans le tableau XXIX spécifient la plage des valeurs observées (moyenne ± erreur-type)

Tableau XXX : Sensibilité aux antibiotiques des HE des Asteraceae et Lauraceae testées contre *E. coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

| Souche microbienne | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | | | | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | | | | |
|--|------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------------|---|--------------------------|---------------------|--------------------|-------------------|
| | antibiotique | Ceftriazone 30 µg | Gentamycine 10 µg | Acide Nalidixique 30 µg | Chloramphenicol 30 µg | Lyncomycine 15 µg | Erythromycine 15 µg | Tétracycline 30 µg | Oxxacilline 30 µg |
| Famille | Céphalosporine | Aminoside | Quinolone | Phénicole | Macrolides et apparentés | Macrolides et apparentés | Tétracycline | Pénicilline | |
| Diamètre (mm) | 21,1 ± 0,1 | 18,1 ± 0,1 | - | 18,2 ± 0,2 | 24,2 ± 0,2 | 24,2 ± 0,2 | 30,1 ± 0,1 | - | |
| <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Lauraceae | 30,2 ± 0,2 | 29,1 ± 0,1 | 29,1 ± 0,1 | 28,2 ± 0,2 | 20,1 ± 0,1 | 21,2 ± 0,2 | 30,2 ± 0,2 | - | |
| <i>Crassocephalum rubens</i> Asteraceae | - | 18,1 ± 0,1 | - | 18,2 ± 0,2 | 24,2 ± 0,2 | 24,2 ± 0,2 | 28,1 ± 0,1 | 28,1 ± 0,1 | |

NB : Les valeurs figurant dans le tableau XXX spécifient la plage des valeurs observées (moyenne ± erreur-type)

4.1.3.2. Activités antifongiques des huiles étudiées

Les différentes activités des huiles essentielles observées sur les moisissures testées à savoir : *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus*, *Penicillium digitatum* et *Fusarium oxysporum* sont consignées dans les figures

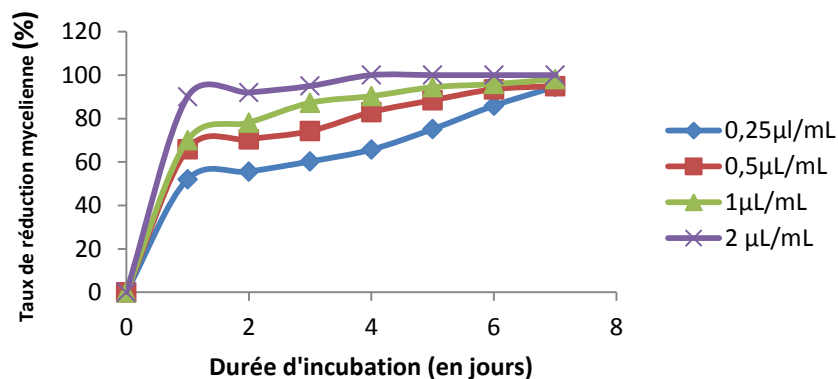


Figure 32: Réduction de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Syzygium aromaticum*

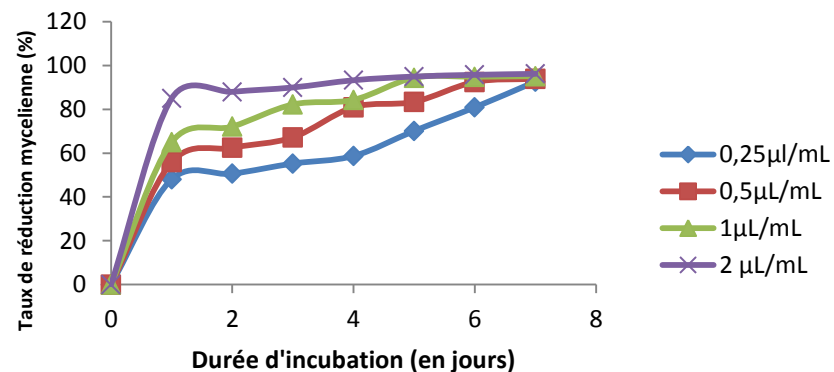


Figure 33: Réduction de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Syzygium aromaticum*

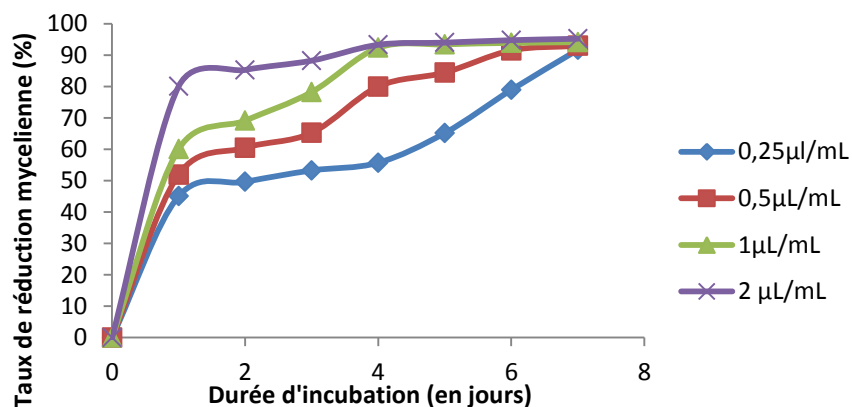


Figure 34 : Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus ochraceus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Syzygium aromaticum*

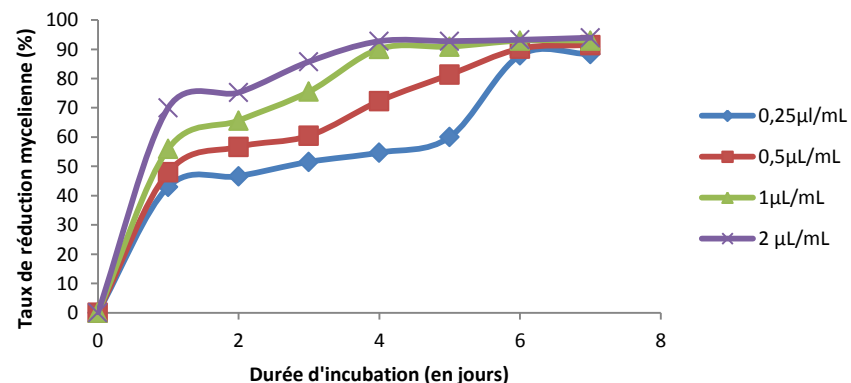


Figure 35 : Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus parasiticus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Syzygium aromaticum*

L'huile essentielle extraite des graines de *Syzygium aromaticum* détient une activité fongicide contre *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium oxysporum* à la concentration de 1 μL/mL à compter du 4^{ème} jour. Mais elle est fongicide contre *Penicillium digitatum* à la concentration de 1 μL/mL à compter du 5^{ème} jour de contact.

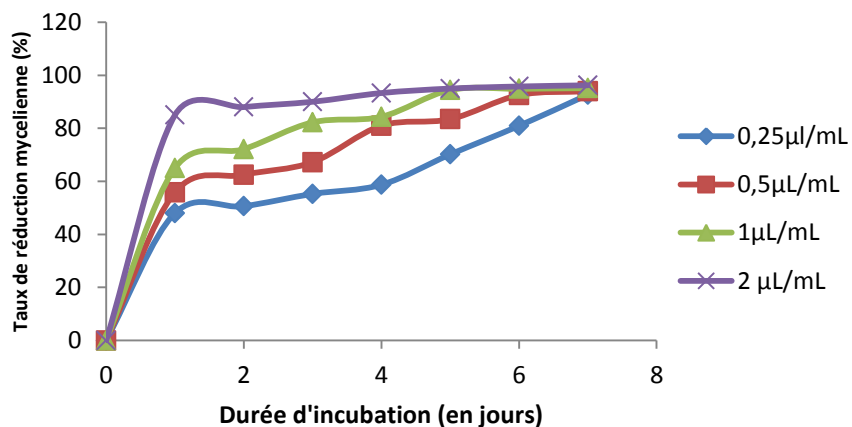


Figure 36: Réduction de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Pimenta racemosa*

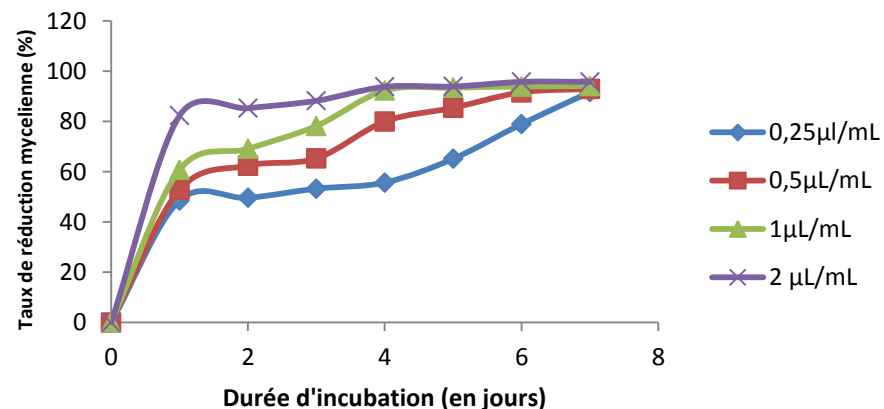


Figure 37: Réduction de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Pimenta racemosa*

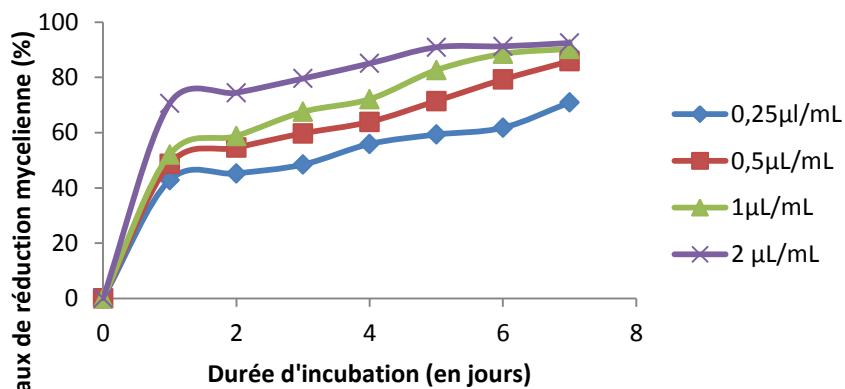


Figure 38: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus ochraceus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Pimenta racemosa*

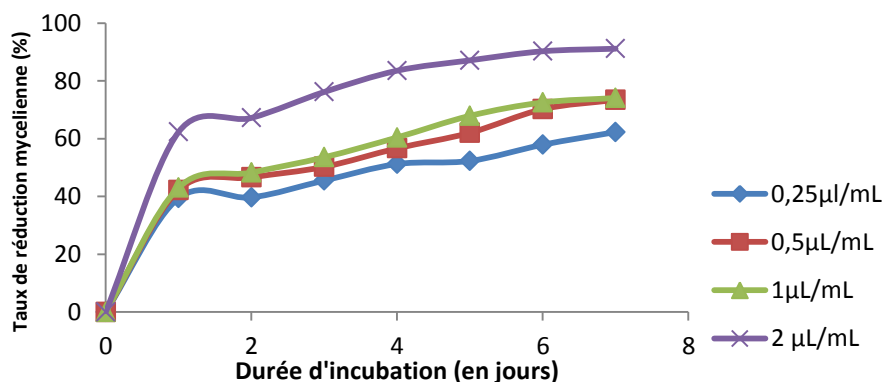


Figure 39: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus parasiticus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Pimenta racemosa*

L'huile essentielle extraite des feuilles de *Pimenta racemosa* exhibe une activité fongicide à 1000 ppm contre *Fusarium oxysporum*, *Penicillium digitatum* 1 µL/mL à compter du 4^{ème} jour de contact. Elle exprime une activité fongicide contre *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus parasiticus* à la concentration de 2 µL/mL. Elle reste fongistatique sur toutes les souches de moisissures testées aux concentrations inférieures à 1 µL/mL.

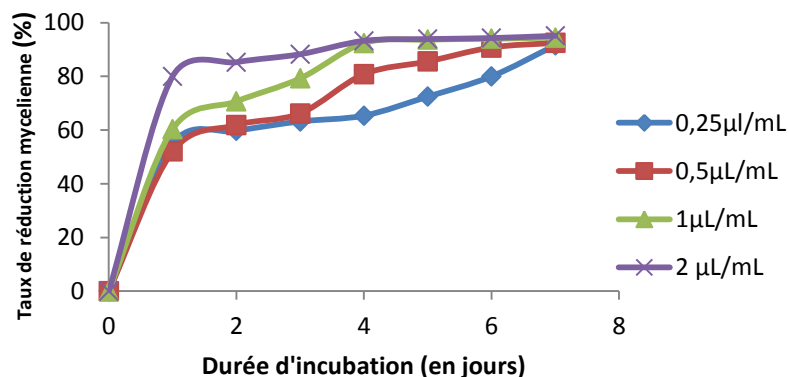


Figure 40: Réduction de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Ocimum gratissimum*

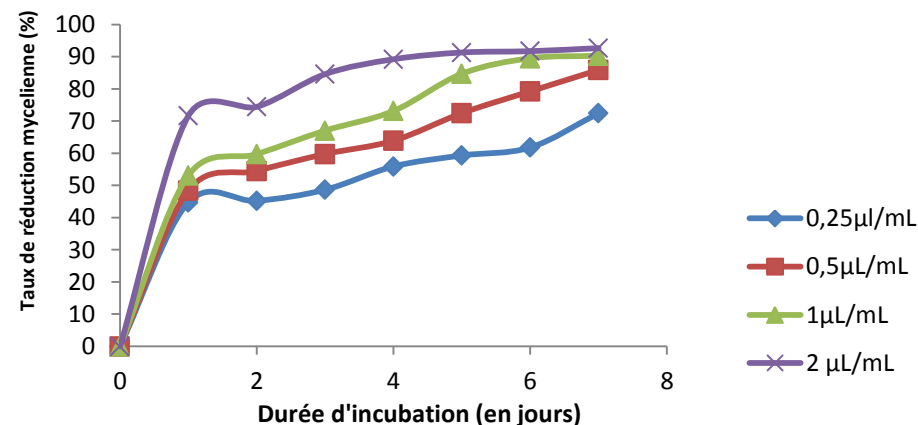


Figure 41: Réduction de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Ocimum gratissimum*

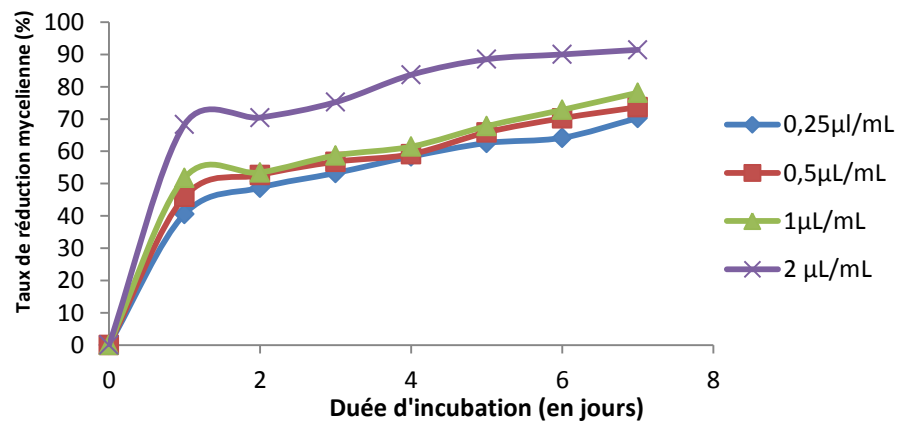


Figure 42: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus ochraceus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Ocimum gratissimum*

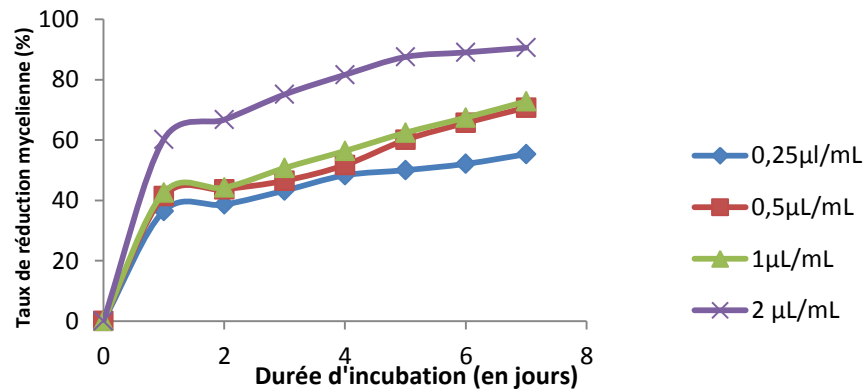


Figure 43: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus parasiticus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Ocimum gratissimum*

L'huile essentielle extraite des feuilles de *Ocimum gratissimum* est fongicide à la concentration de 1 µL/mL à compter du 4^{ème} jour de contact sur *Fusarium oxysporum* et à compter du 5^{ème} jour sur *Penicillium digitatum*. Elle est également fongicide à la concentration de 2 µL/mL sur *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus parasiticus* à compter du 5^{ème} jour de contact.

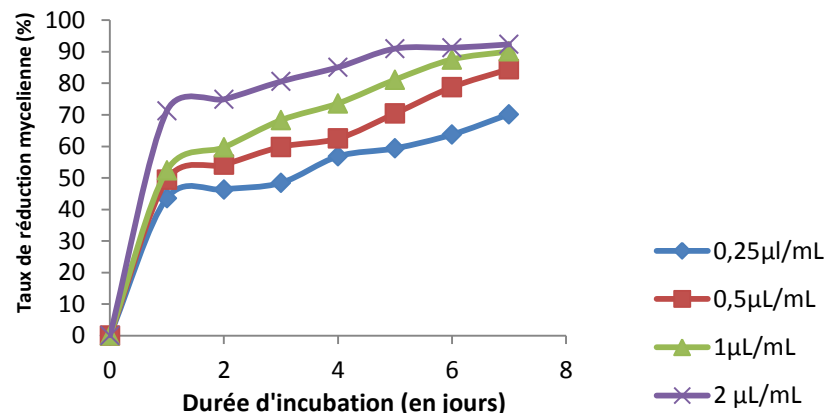


Figure 44: Réduction de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Ocimum basilicum*

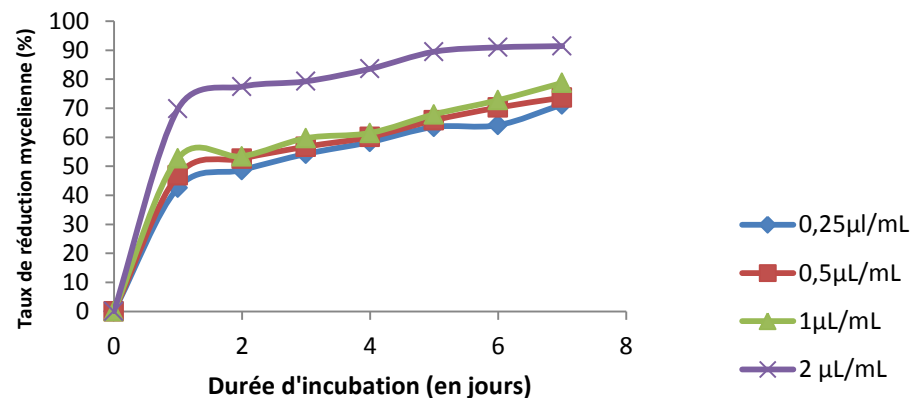


Figure 45: Réduction de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Ocimum basilicum*

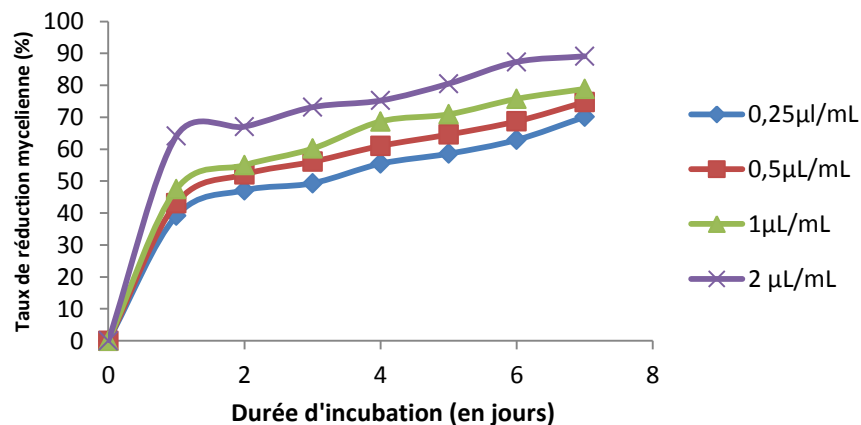


Figure 46: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus ochraceus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Ocimum basilicum*

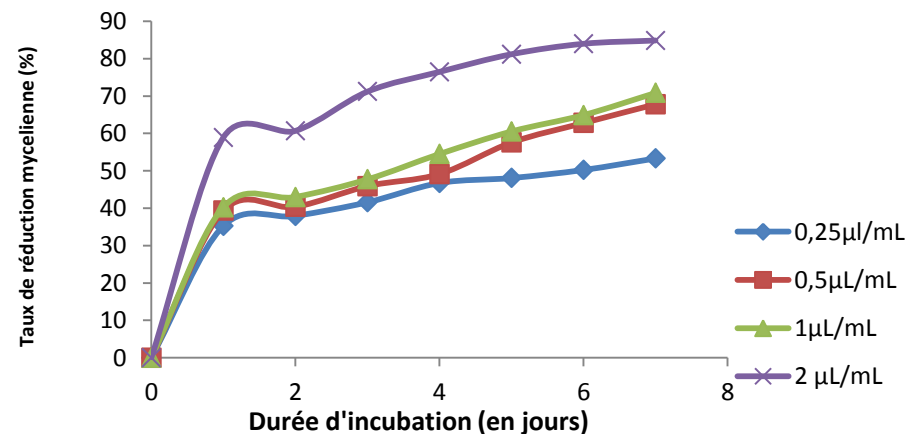


Figure 47: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus parasiticus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Ocimum basilicum*

L'huile essentielle extraite des feuilles de *Ocimum basilicum* est fongicide sur *Fusarium oxysporum* et *Penicillium digitatum* à la concentration de 2 µL/mL à compter du 5^{ème} jour pour les deux moisissures. Elle est fongicide sur les deux souches d'*Aspergillus* (*ochraceus* et *parasiticus*) à la concentration de 2 µL/mL à compter du 5^{ème} et 6^{ème} jour de contact. Mais elle reste fongistatique sur toutes les souches à toutes les autres concentrations testées.

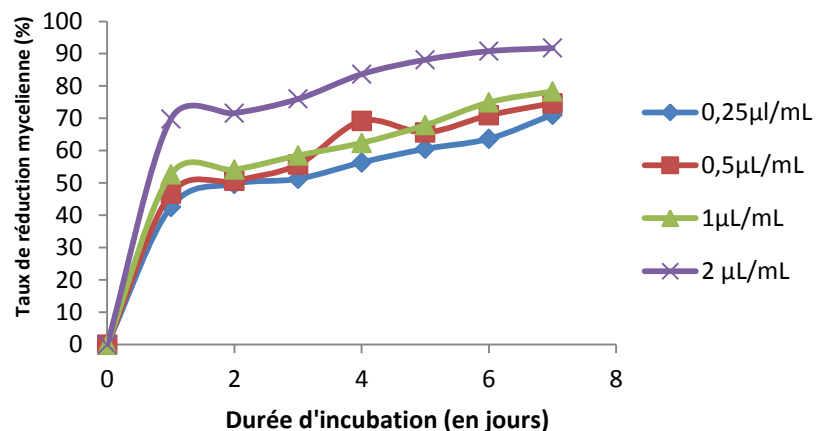


Figure 48: Réduction de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Lippia multiflora* de Savalou

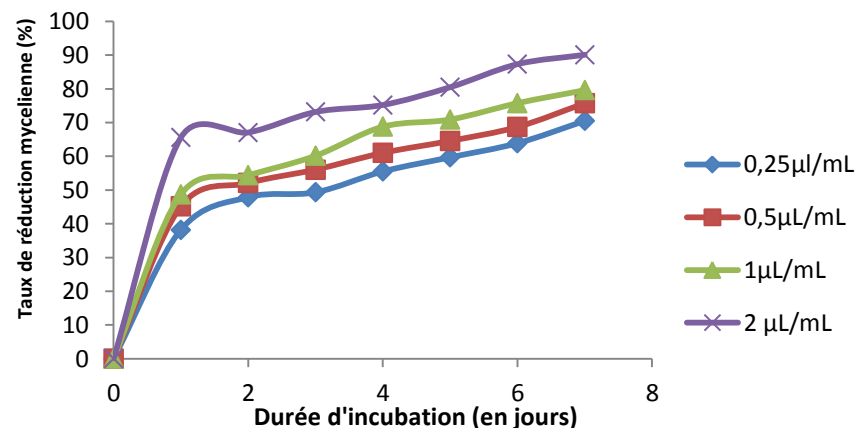


Figure 49: Réduction de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Lippia multiflora* de Savalou

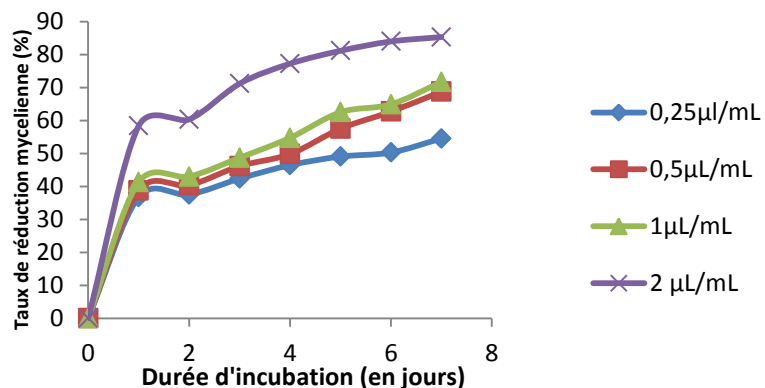


Figure 50: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus ochraceus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Lippia multiflora* de Savalou

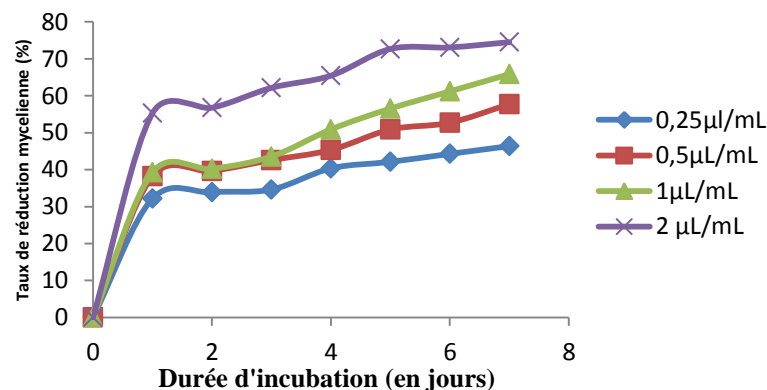


Figure 51: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus parasiticus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Lippia multiflora* de Savalou

L'huile essentielle extraite des feuilles de *Lippia multiflora* de Savalou est fongicide à la concentration de 2 μL/mL à compter du 5^{ème} jour pour *Fusarium oxysporum*, *Penicillium digitatum* et *Aspergillus ochraceus*. Elle est fongistatique à toutes les autres concentrations testées sur toutes les 4 souches.

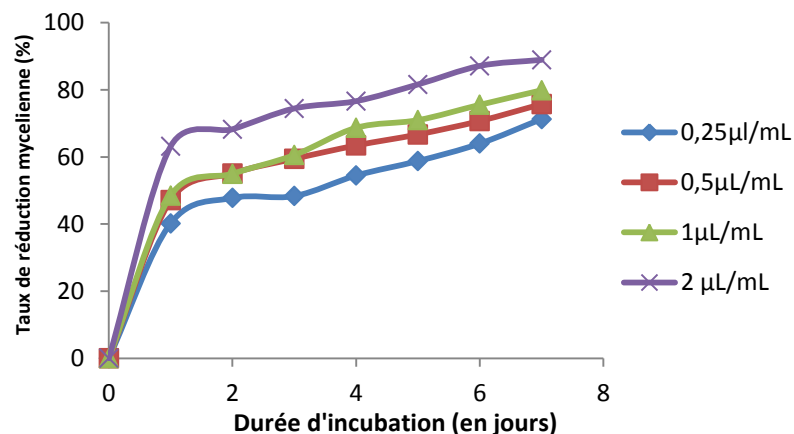


Figure 52: Réduction de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Lippia multiflora* de Pèrère

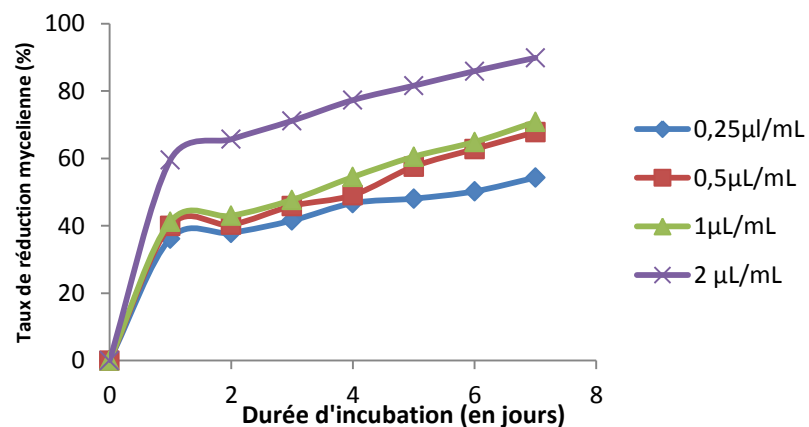


Figure 53: Réduction de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Lippia multiflora* de Pèrère

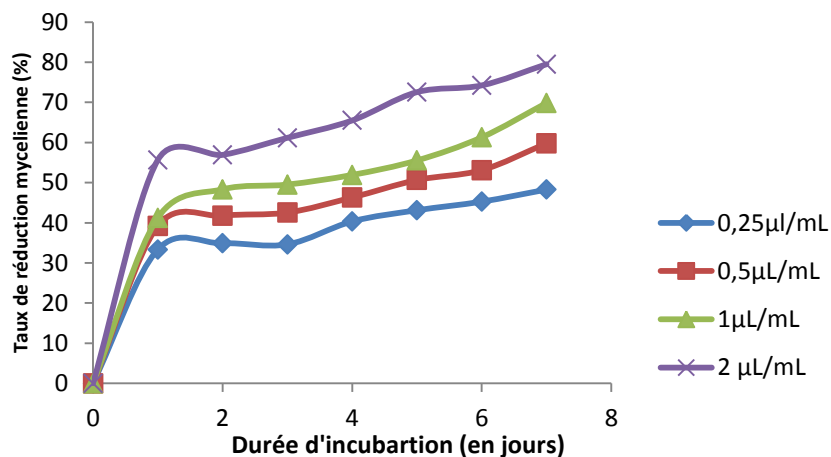


Figure 54: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus ochraceus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Lippia multiflora* de Pèrère

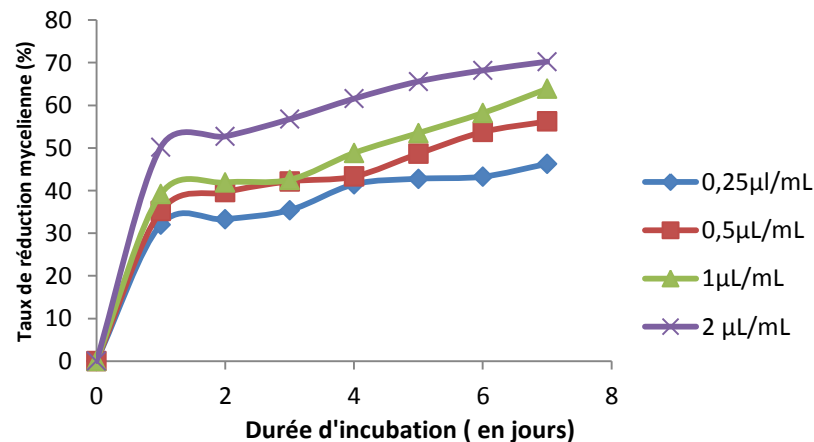


Figure 55: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus parasiticus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Lippia multiflora* de Pèrère

L'huile essentielle extraite des feuilles de *Lippia multiflora* de Pèrère est fongicide à la concentration de 2 μL/mL sur *Fusarium oxysporum* et *Penicillium digitatum* à compter du 5^{ème} jour de contact. Elle est fongistatique *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus parasiticus* à toutes les concentrations testées.

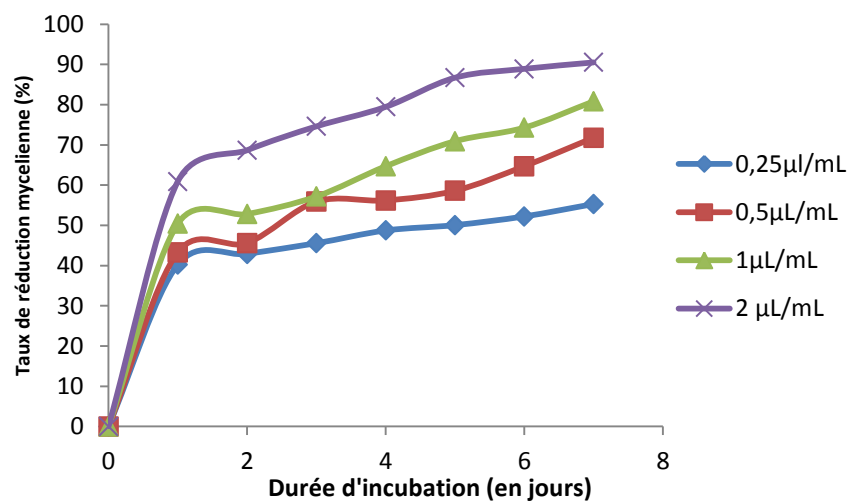


Figure 56: Réduction de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Cymbopogon giganteus*

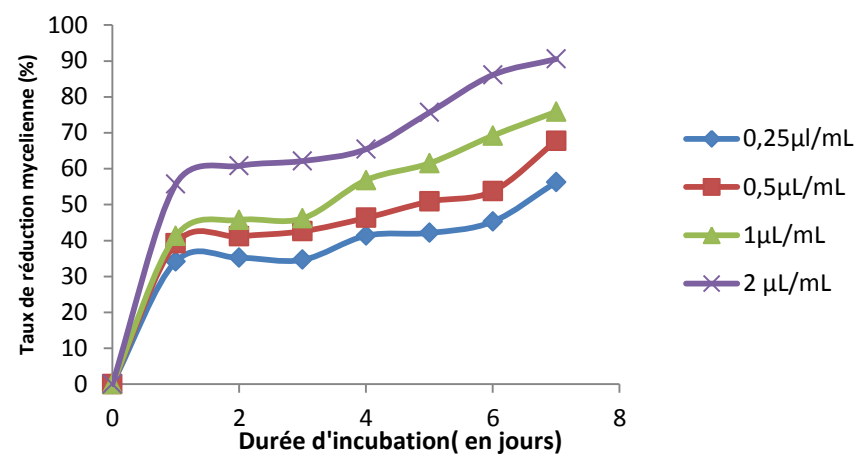


Figure 57: Réduction de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Cymbopogon giganteus*

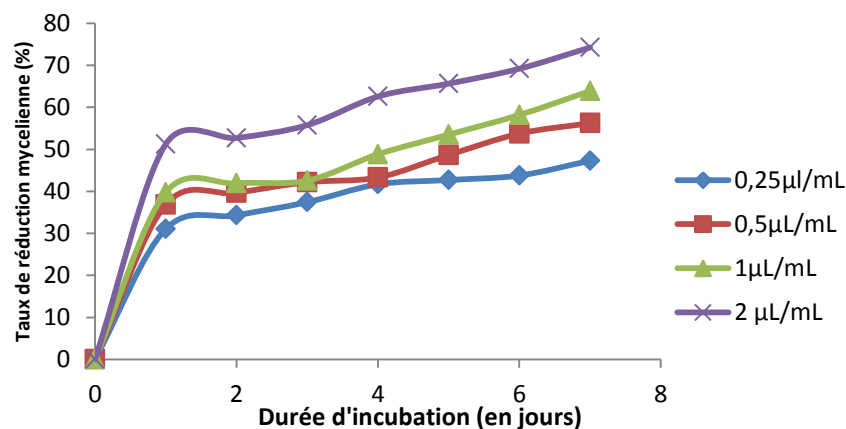


Figure 58: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus ochraceus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Cymbopogon giganteus*

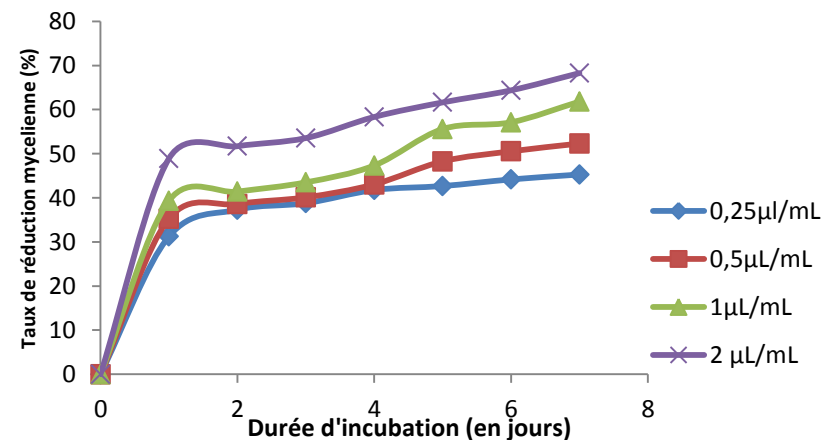


Figure 59: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus parasiticus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Cymbopogon giganteus*

L'huile essentielle extraite des feuilles de *Cymbopogon giganteus* est fongicide à 2µL/mL à compter du 5^{ème} jour de contact sur *Fusarium oxysporum* et à compter du 6^{ème} jour de contact sur *Penicillium diatatum*. Mais, elle reste fongistatique à toutes les concentrations testées sur *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus parasiticus*.

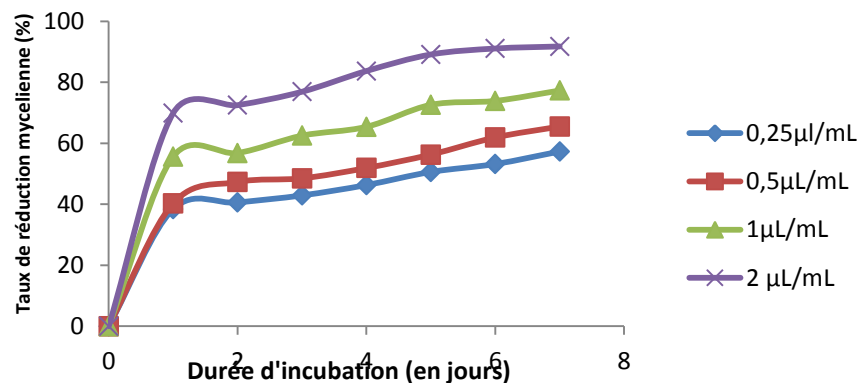


Figure 60: Réduction de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Cymbopogon citratus*

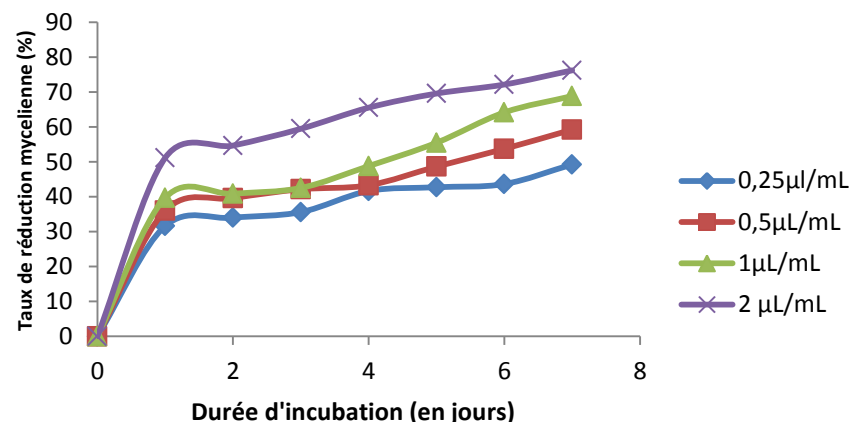


Figure 61: Réduction de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Cymbopogon citratus*

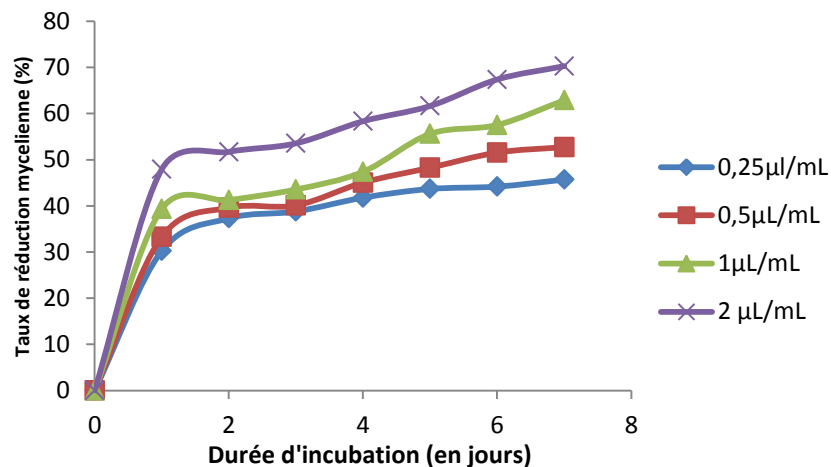


Figure 62: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus ochraceus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Cymbopogon citratus*

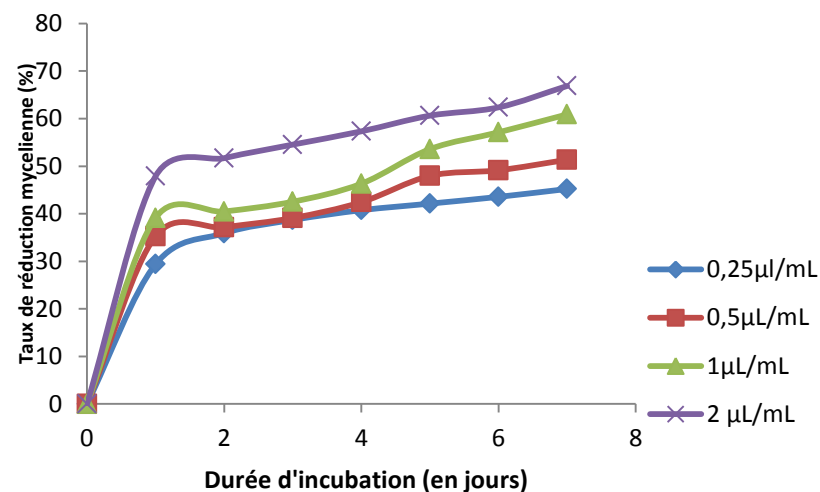


Figure 63: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus parasiticus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Cymbopogon citratus*

L'huile essentielle extraite des feuilles de *Cymbopogon citratus* est fongicide à 2µL/mL sur *Fusarium oxysporum* après 5 jours de contact. Cependant, elle reste fongistatique sur toutes les autres souches (*Penicillium digitatum*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus*) à toutes les concentrations testées.

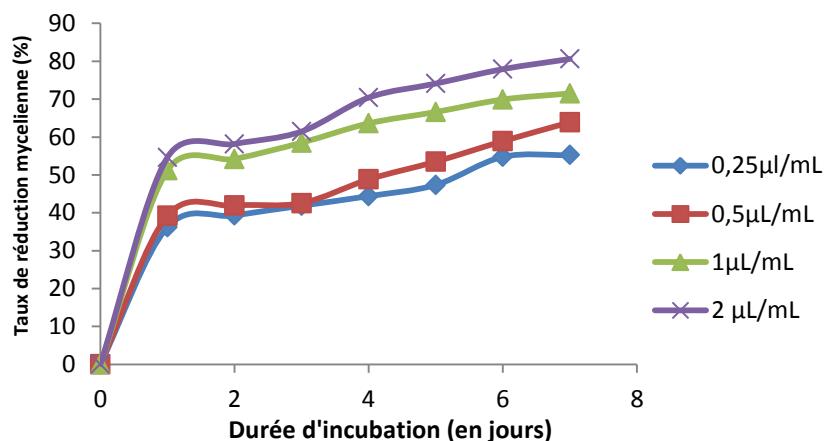


Figure 64: Réduction de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Mentha piperita*

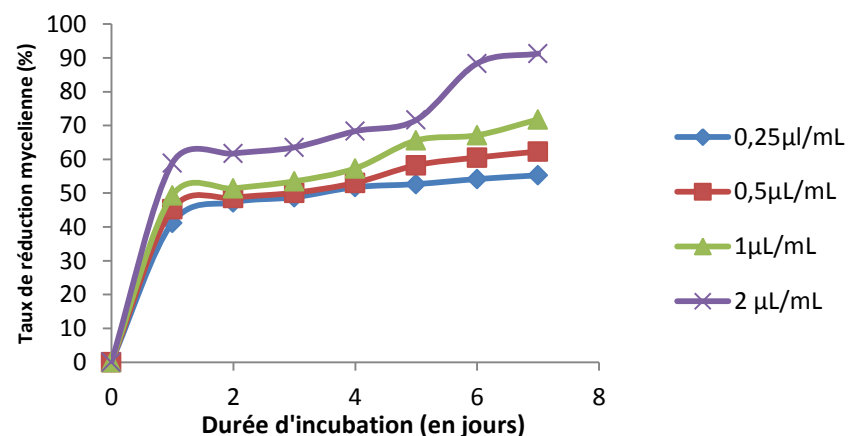


Figure 65: Réduction de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Mentha piperita*

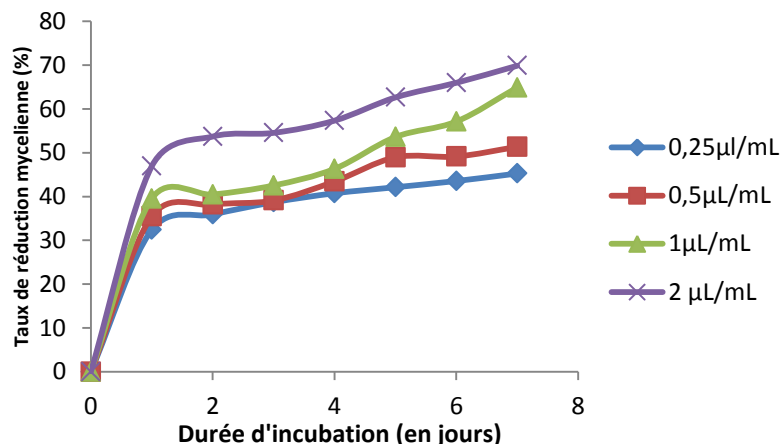


Figure 66: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus ochraceus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Mentha piperita*

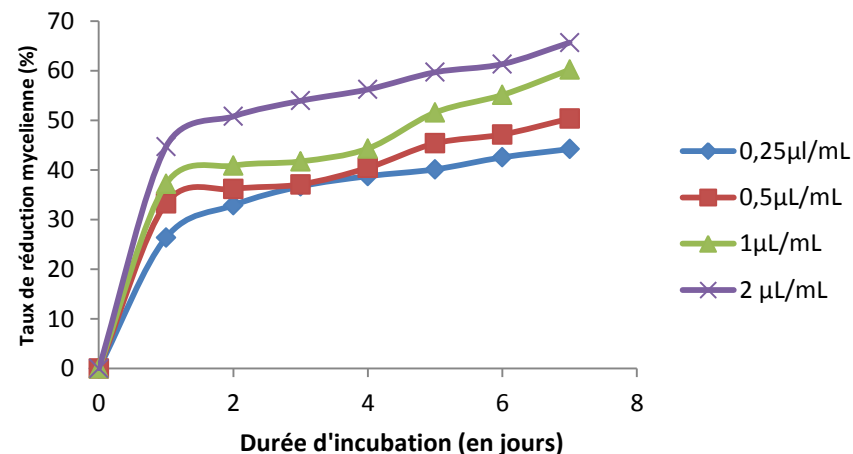


Figure 67: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus parasiticus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Mentha piperita*

L'huile essentielle extraite des feuilles de *Mentha piperita* est fongicide à 2 µL/mL sur *Penicillium digitatum* à compter du 6^{ème} jour de contact. Mais, elle est fongistatique à toutes les autres concentrations testées sur toutes les 4 souches de moisissures.

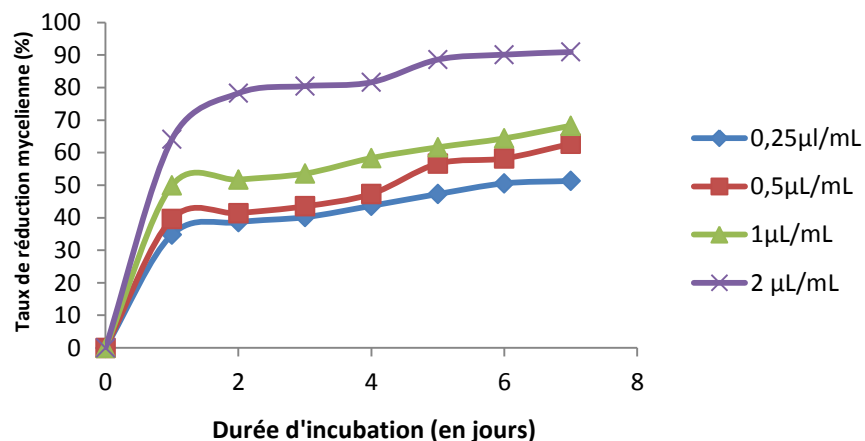


Figure 68: Réduction de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Cinnamomum zeylanicum*

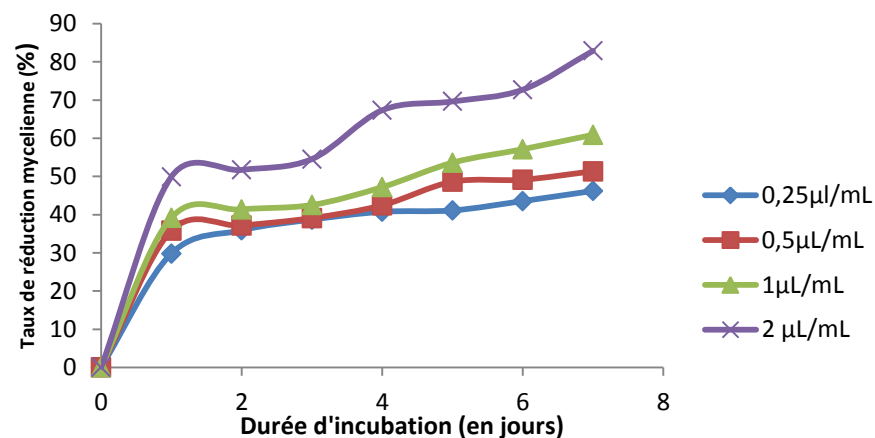


Figure 69: Réduction de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Cinnamomum zeylanicum*

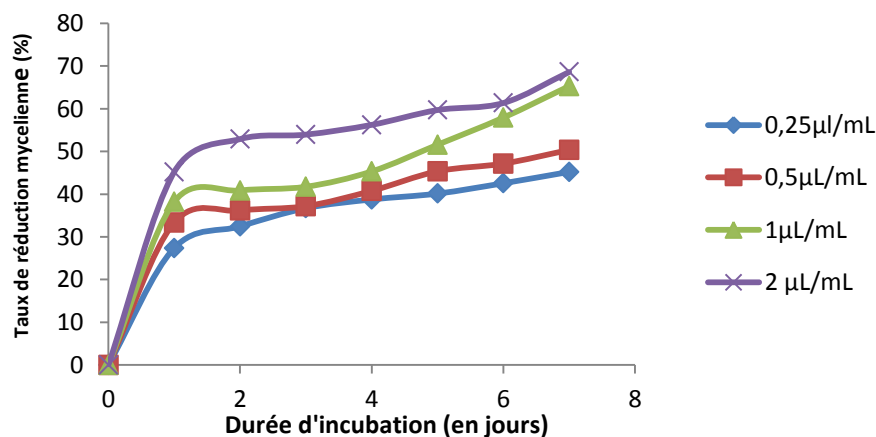


Figure 70: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus ochraceus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Cinnamomum zeylanicum*

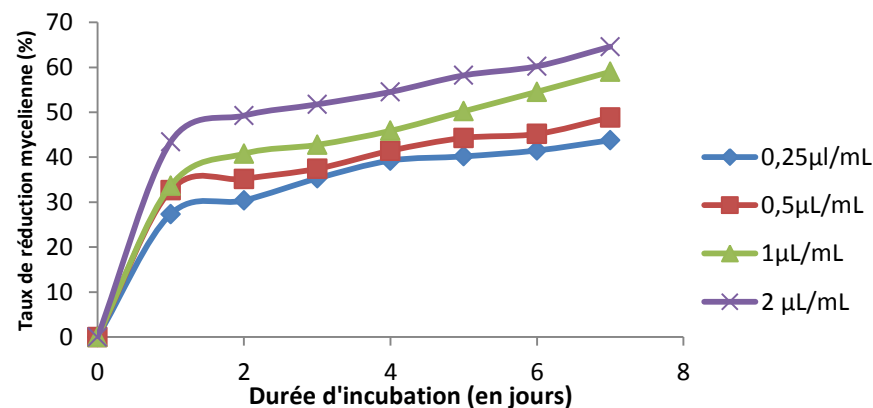


Figure 71: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus parasiticus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Cinnamomum zeylanicum*

L'huile essentielle extraite des feuilles de *Cinnamomum zeylanicum* est fongicide à 2 µL/mL sur *Fusarium oxysporum* à compter du 5^{ème} jour, sur *Penicillium digitatum* après 6 jours de contact. Mais l'HE est fongistatique sur les souches testées aux concentrations plus faibles.

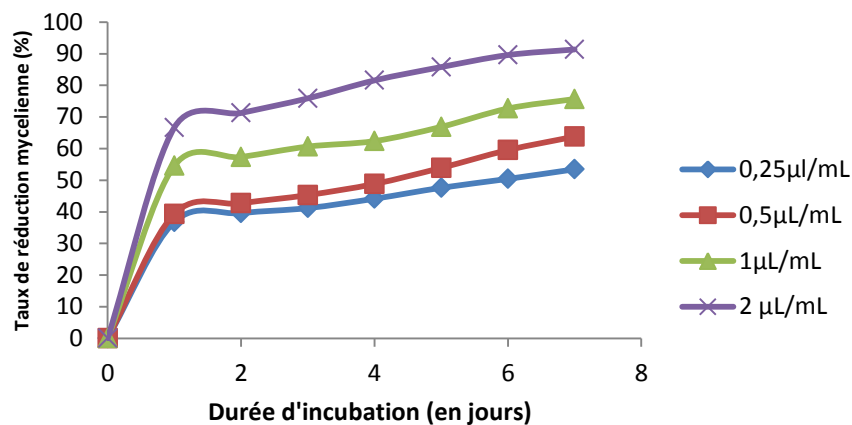


Figure 72: Réduction de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* en fonction de différentes concentrations d'HE des fruits de *Xylopia aethiopica*

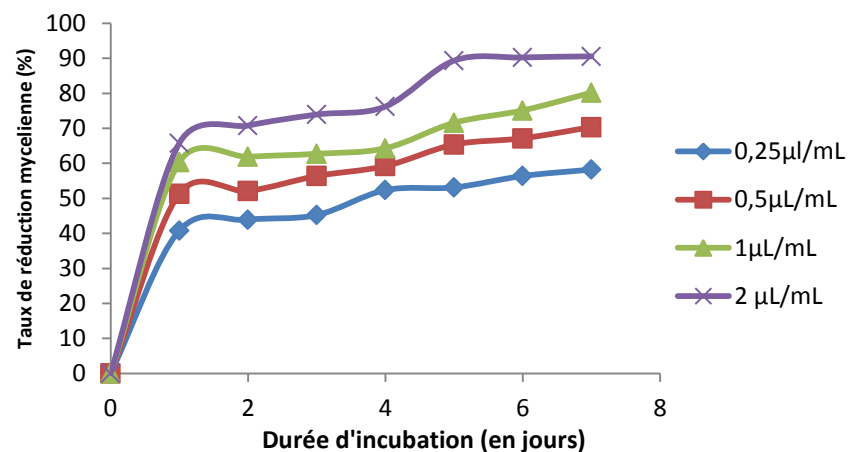


Figure 73: Réduction de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations d'HE des fruits de *Xylopia aethiopica*

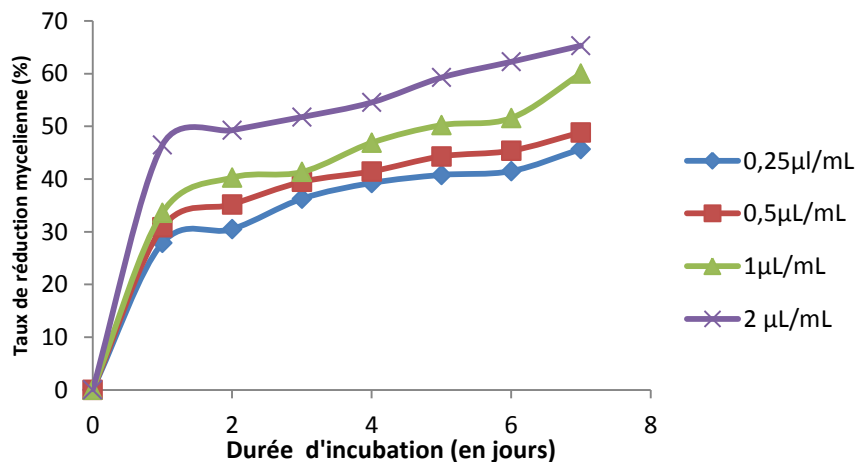


Figure 74: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus ochraceus* en fonction de différentes concentrations d'HE des fruits de *Xylopia aethiopica*

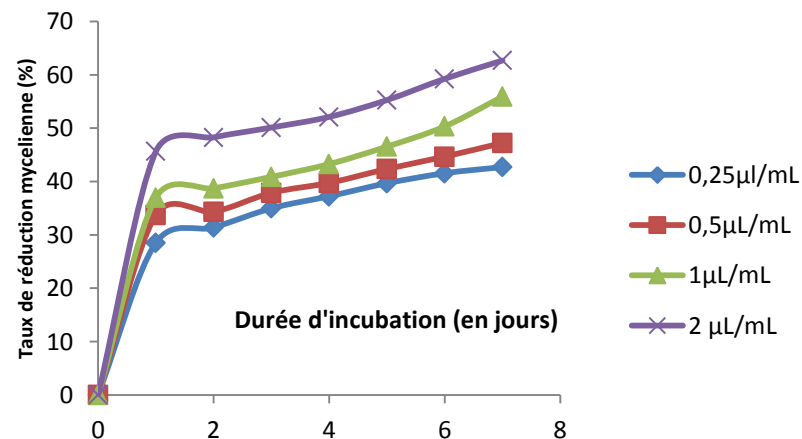


Figure 75: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus parasiticus* en fonction de différentes concentrations d'HE des fruits de *Xylopia aethiopica*

L'huile essentielle extraite des fruits de *Xylopia aethiopica* est fongicide à la concentration de 2 µL/mL à compter du 5^{ème} jour de contact sur *Fusarium oxysporum* et *Penicillium digitatum*. Elle reste cependant fongistatique aux autres concentrations testées sur *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus parasiticus*.

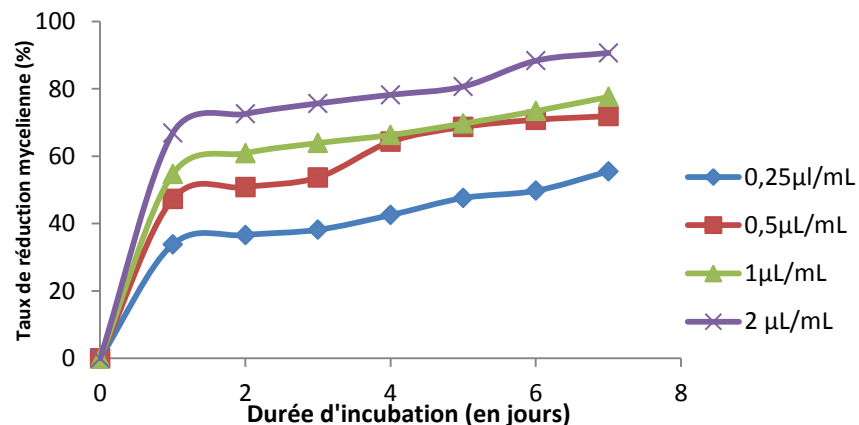


Figure 76: Réduction de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* en fonction de différentes concentrations d'HE des feuilles de *Xylopiya aethiopica*

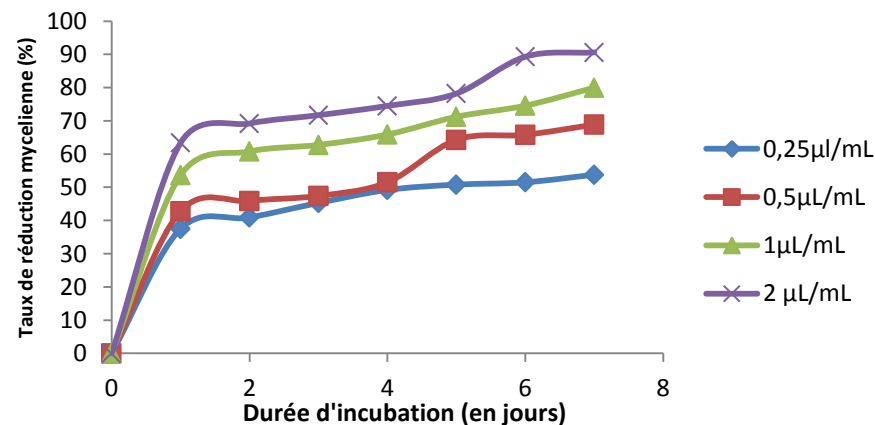


Figure 77: Réduction de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations d'HE des feuilles de *Xylopiya aethiopica*

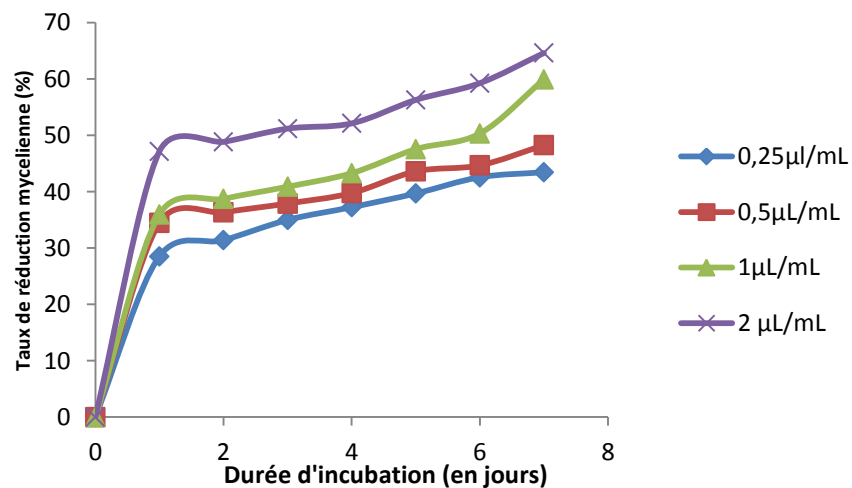


Figure 78: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus ochraceus* en fonction de différentes concentrations d'HE des feuilles de *Xylopiya aethiopica*

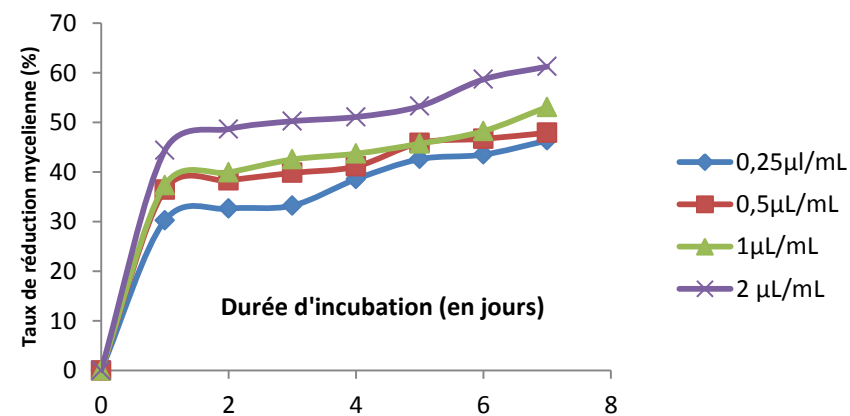


Figure 79: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus parasiticus* en fonction de différentes concentrations d'HE des feuilles de *Xylopiya aethiopica*

L'huile essentielle extraite des feuilles de *Xylopiya aethiopica* est fongicide à 2 µL/mL à compter du 6^{ème} jour de contact sur *Fusarium oxysporum* et *Penicillium digitatum*. Cependant, elle reste fongistatique à toutes les concentrations testées sur *Aspergillus ochraceus* et surtout *Aspergillus parasiticus*.

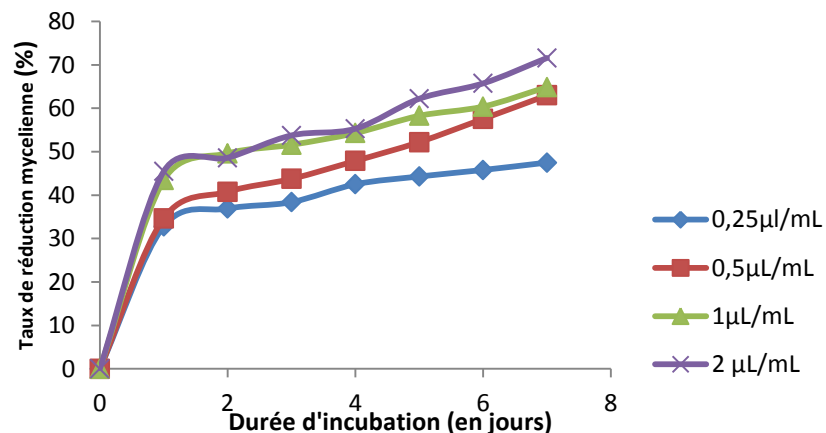


Figure 80: Réduction de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Lippia rugosa* de Gbégourou

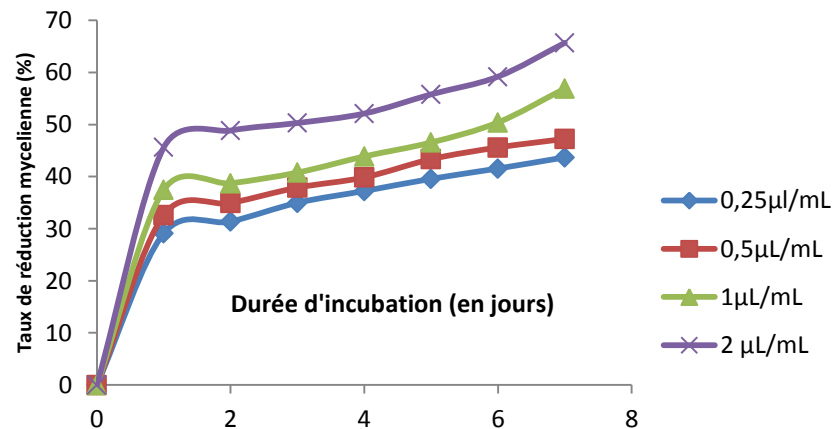


Figure 81: Réduction de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Lippia rugosa* de Gbégourou

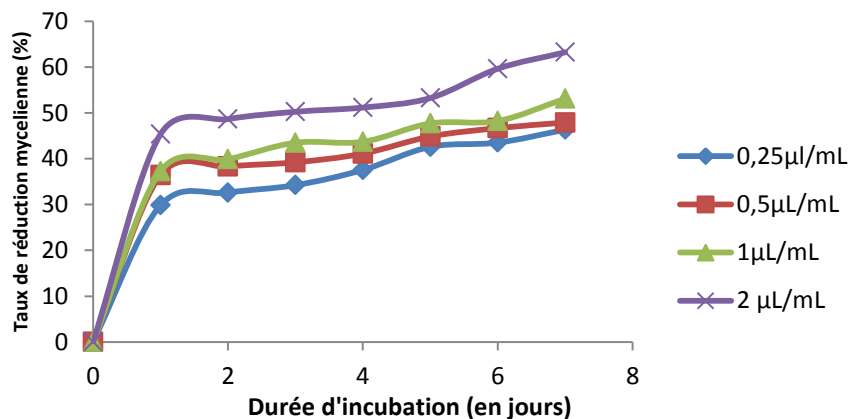


Figure 82: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus ochraceus* en fonction de différentes concentrations d'HE *Lippia rugosa* de Gbégourou

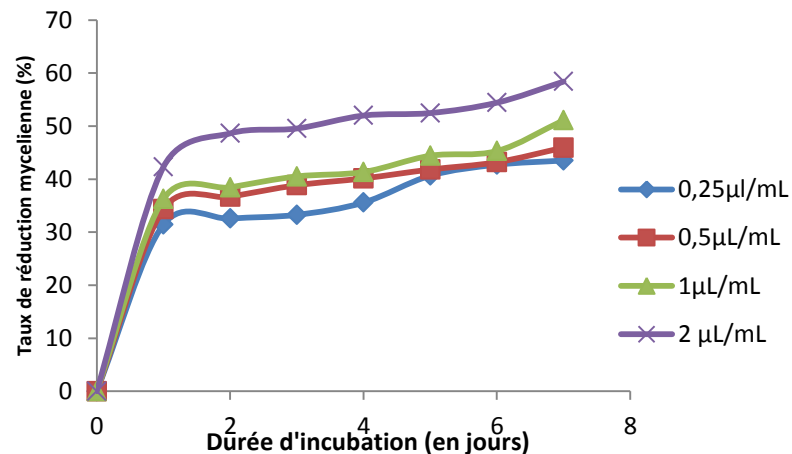


Figure 83: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus parasiticus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Lippia rugosa* de Gbégourou

L'huile essentielle extraite des feuilles de *Lippia rugosa* de Gbégourou possède une activité fongistatique contre les 4 souches (*Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium oxysporum* et *Penicillium digitatum*) à toutes les concentrations testées.

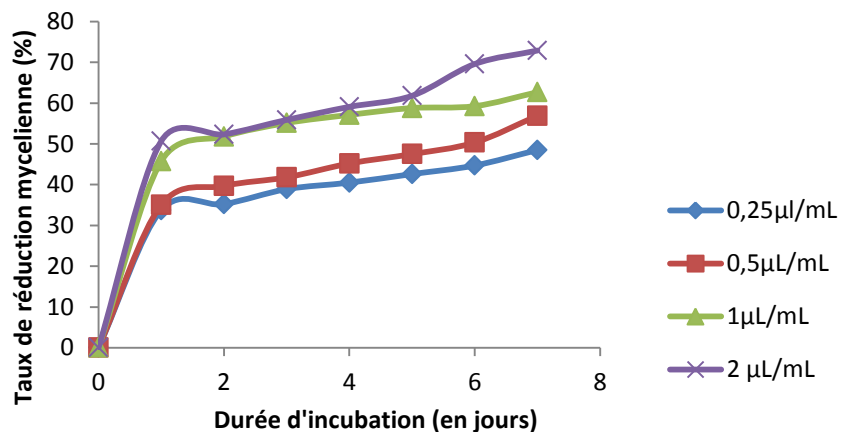


Figure 84: Réduction de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Lippia rugosa* de N'Dali

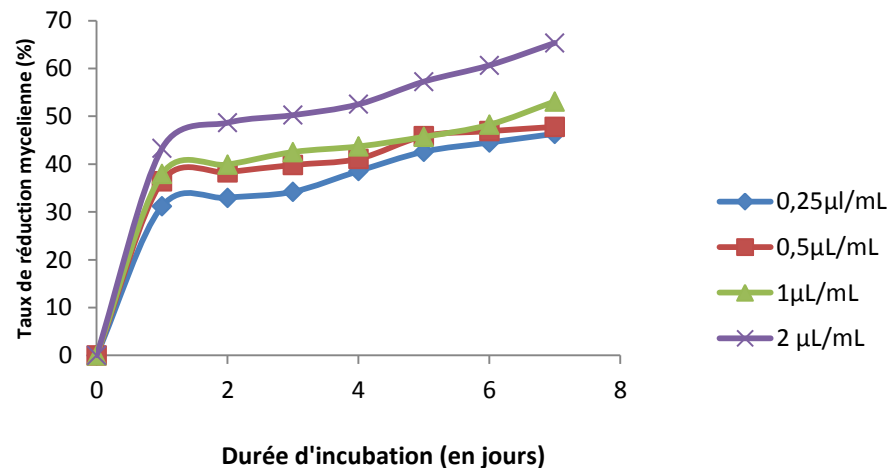


Figure 85: Réduction de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Lippia rugosa* de N'Dali

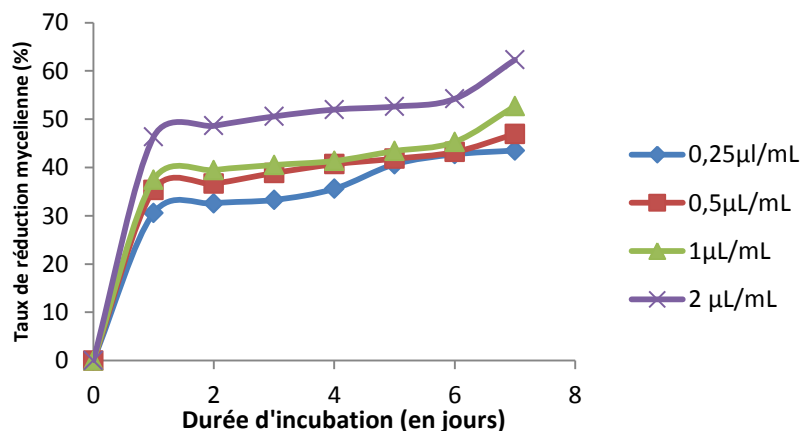


Figure 86: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus ochraceus* en fonction de différentes concentrations d'HE *Lippia rugosa* de N'dali

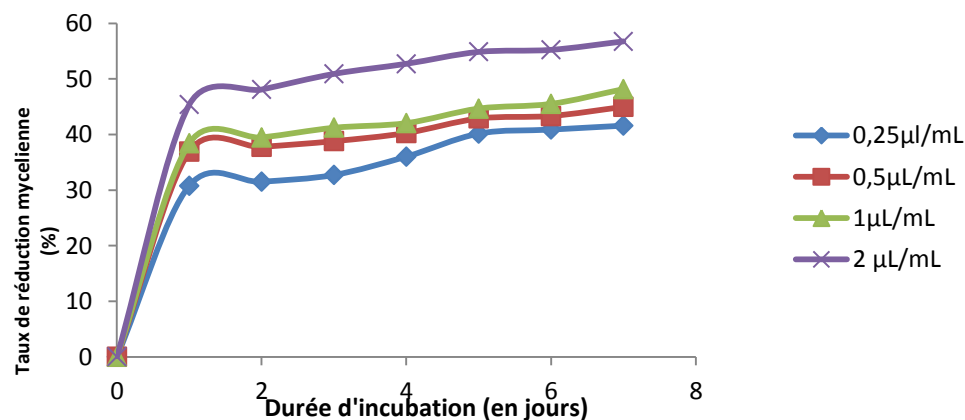


Figure 87: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus parasiticus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Lippia rugosa* de N'Dali

L'huile essentielle extraite des feuilles de *Lippia rugosa* de N'dali possède une activité fongistatique contre les 4 souches expérimentées (*Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium oxysporum* et *Penicillium digitatum*) à toutes les concentrations testées.

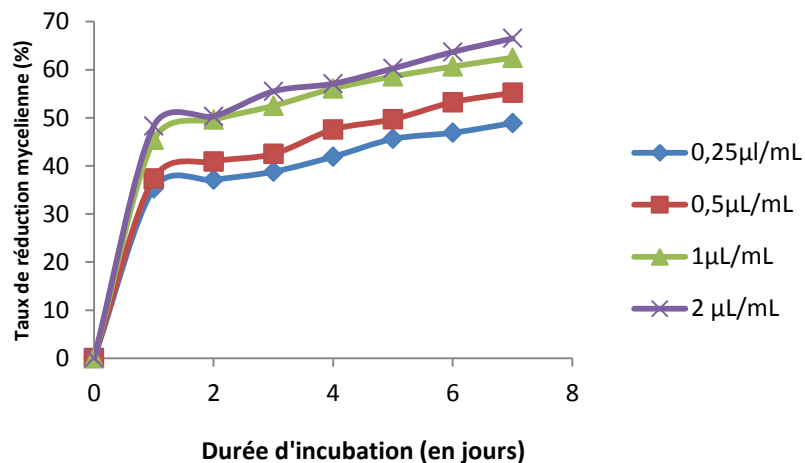


Figure 88: Réduction de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Crassocephalum rubens*

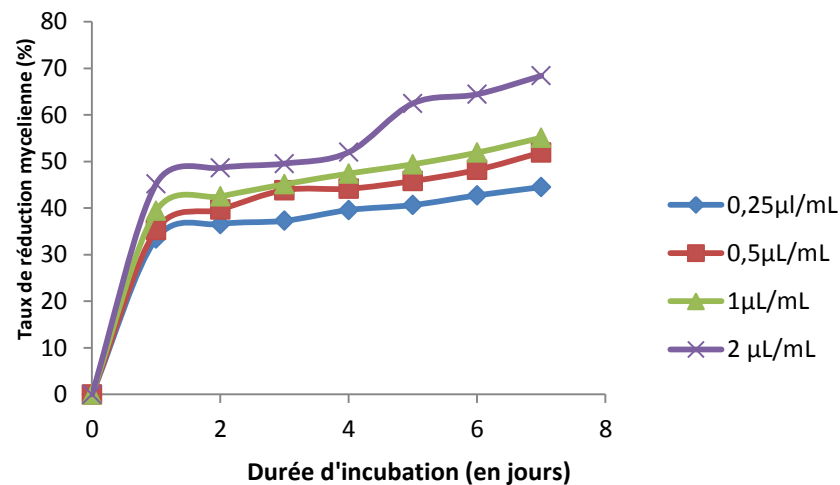


Figure 89: Réduction de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Crassocephalum rubens*

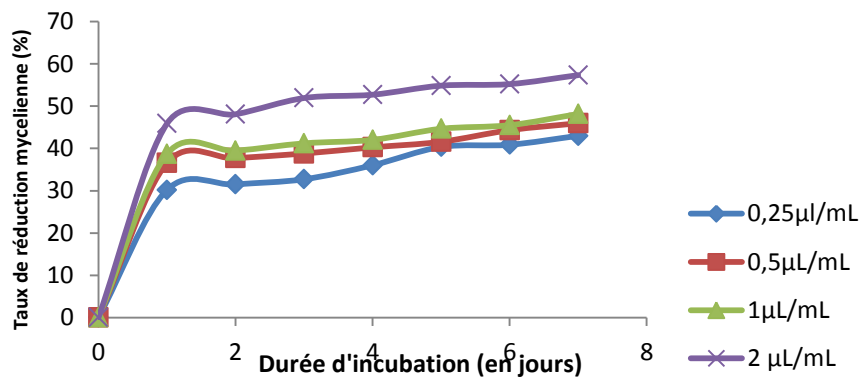


Figure 90: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus ochraceus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Crassocephalum rubens*

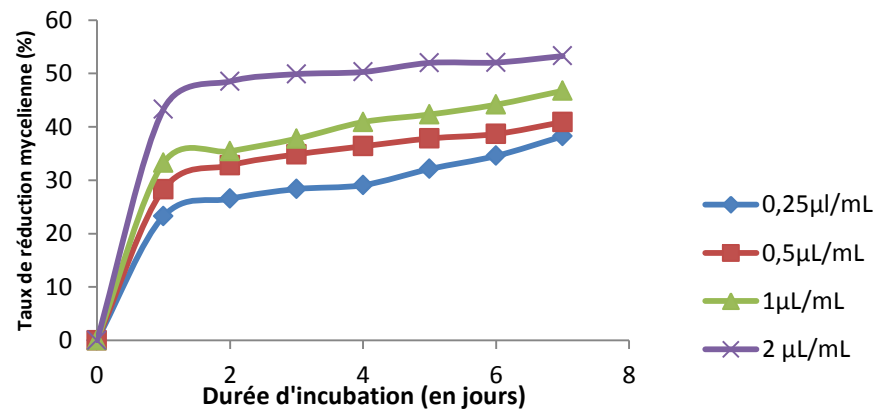


Figure 91: Réduction de la croissance mycélienne de *Aspergillus parasiticus* en fonction de différentes concentrations d'HE de *Crassocephalum rubens*

L'huile essentielle extraite des feuilles de *Crassocephalum rubens* est fongistatique à toutes les concentrations testées sur toutes les souches expérimentées

4.3. Discussion

Les plantes étudiées à savoir *Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Mentha piperita* (Lamiaceae), *Lippia multiflora*, *Lippia rugosa* (Verbenaceae), *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon giganteus* (Poaceae), *Pimenta racemosa*, *Syzigium aromaticum* (Myrtaceae), *Xylopi aethiopica* (Annonaceae), *Crassocephalum rubens* (Asteraceae) et *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae) interviennent d'une manière ou d'une autre dans les préparations culinaires et/ou médicamenteuses des populations du Bénin. Elles ont été pour la plupart récoltées dans diverses régions du territoire national et sur différentes structures pédologiques hormis *Syzigium aromaticum* dont les fruits ont été achetés et extraits. *Cinnamomum zeylanicum* est récolté à Calavi après avoir été transplanté de l'Université de Kumassi (Ghana). Les compositions chimiques déterminées traduisent la détection des unes et des autres de substances naturelles bioactives signalées dans la littérature. Il s'agit de composés terpéniques (monoterpènes et sesquiterpènes hydrogénés et oxygénés), de composés aromatiques, de composés aliphatiques et de certaines substances chimiques non identifiées.

En abordant les compositions chimiques, l'HE de *Ocimum gratissimum* que nous avons analysée au BENIN avec ses trente et un composés, dont les majoritaires sont le thymol (43,4%), le p-cymène (12,26%) et le γ -terpinène (12,11%), possède les mêmes composés majoritaires que celle analysée par Alitonou en 2006 au BENIN, cependant elles sont de différents chémotypes. Notre HE est de chémotype thymol-p-cymène tandis que celle de Alitonou est de chémotype thymol- γ -terpinène avec l'appartenance en proportion relativement importante de l' α -thujène (8,2%) et du myrcène (6,4%). Cette composition de notre HE se rapproche de celle analysée par Kanko en 2010 en République de Côte d'Ivoire dont les composés majoritaires sont le thymol (43,1%), le γ -terpinène (20,5%) et le p-cymène (6,4%), mais elles ne sont pas de même chémotype. Pourtant cette composition diffère fondamentalement de celle proposée par Oussou (2010) lors du fractionnement de l'HE de *Ocimum gratissimum* de Côte d'Ivoire dont la fraction G1 (ressemblant à celle de notre HE avec un chémotype thymol-p-cymène respectivement 34,5% et 25,7%) est différente de la fraction G41 avec pour chémotype terpinéol-4-ol-linalol respectivement présents en proportion 40,7% et 27,2%. On y trouve également de l'octanal à un taux de 20,5%. Elle est également différente de celle identifiée par Yayi 1998 qui a pour chémotype le γ -terpinène (37,4%) – thymol (19,7%).

L'HE de *Ocimum basilicum* objet de notre étude est majoritairement constituée de linalol (20,0%), d'estragol (30,7%) et d'eugénol (20,7%) et est de même chémotype que celle

analysée par Kanko en 2010 en Côte d'Ivoire dont les composés majoritaires sont le linalol (47,2%), l'estragol (22,7%) mais les deux huiles essentielles n'ont pas les mêmes composés majoritaires. A la place de l'eugénol (20,7%) de l'HE de *Ocimum basilicum* du BENIN, l'HE de *Ocimum basilicum* de Côte d'Ivoire affiche le p-cymène (13,7%). Celle analysée par Bassolé en 2010 au Burkina-Faso affiche plutôt un chémotype linalol (57,0%) – eugénol (19,2%) qui ne renferme pas d'estragol mais exhibe la possession de l' α -cadinol (3,2%) et du trans- α -Bergamotène (2,7%) et est similaire à la catégorie II décrite par Yayi, 1998 qui possède le même chémotype.

L'HE de *Mentha piperita* du BENIN a pour composés majoritaires le menthol (46,7%) et le néo-menthol (8,26%) alors que celle analysée au Burkina-Faso par Bassolé a pour composés majoritaires le menthol (39,3%), le menthone (25,2%), le menthofuran (68%), l'acetate de menthyl (6,7%) et l'iso-menthone (5,3%). Le chémotype identifié au BENIN est le menthol-néo-menthol alors que celui du Burkina est le menthol-menthone qui se rapproche dans la composition de celui de Belgrade analysé par Marina Sokovie (2007) constitué du menthol (37,4%), de l'acétate de menthyle (17,4%) et du menthone (12,7%).

Les activités antibactériennes de l'HE de *Mentha piperita* sont peu prononcées à les comparer à celles des deux autres HE, celles de *Ocimum basilicum* et *Ocimum gratissimum* qui possèdent respectivement du linalol, du méthyl-chavicol et de l'eugénol pour la première, du thymol, du p-cymène et du γ -terpinène pour la seconde alors que les composés de l'HE de *Mentha piperita* essentiellement du menthol et le néomenthol exhibent des activités antimicrobiennes moins prononcées que l'eugénol, l'estragol, le thymol, le linalol et le p-cymène. Les Concentrations Minimales d'Inhibition (CMI) calculées avec les HE de *M. piperita*, de *O. basilicum* et de *O. gratissimum* les révèlent (tableau XXII). Galluci, 2009 cité par Bassolé *et al.* (2010) n'a observé aucune activité antimicrobienne du menthol alors que selon Inouye, 2001, l'HE de *Mentha piperita* et le menthol se sont révélés très actifs contre une variété de microorganismes du Japon appartenant au tractus respiratoire appelés Multi-Drug Résistant c'est-à-dire microorganismes résistants à plusieurs médicaments.

Les composés terpéniques en général et ceux à structure phénolique tels que l'eugénol, le thymol et l'estragole sont hautement actifs contre les microorganismes testés tels que *E. coli*, *S. aureus*, *Streptococcus faecalis*, *S. typhimurium* selon Bassolé (2010). Dormans et Deans (2000) ont montré le rôle du groupement hydroxyl dans les structures phénoliques en termes d'activités antimicrobiennes du méthyl-chavicol, du linalol au p-cymène et au γ -terpinène respectivement. Le thymol et le méthyl-chavicol sont hydrophobiques et à ce titre perturbent

la membrane externe des bactéries Gram négatif, relachant les lipopolysaccharides et augmentent ainsi la perméabilité de la membrane cytoplasmique. L'HE de *Lippia multiflora* de Pèrèrè renferme quatorze composés dont le majoritaire est le linalol (91,9%) alors que celle de *Lippia multiflora* de Savalou exhibe vingt composés dont les majoritaires sont le 1-8cinéol (50,6%), l' α -terpinol (13,7%) et le sabinène (14,4%). Le chémotype de l'HE de *Lippia multiflora* de Pèrèrè est Linalol-Germacrène D alors que celui de l'HE de *L. multiflora* de Savalou est le 1-8cinéol-sabinène. Le chémotype de l'HE de *Lippia multiflora* de Pèrèrè est exceptionnel car affiche un chémotype décrit par Kanko en 1999 et classé dans le groupe I celui des monoterpènes acycliques à linalol qu'on retrouve au Nigeria, au Kenya, au Bénin et au Togo. Le chémotype de l'HE de *L. multiflora* de Savalou est classé selon Kanko, 1999 dans le groupe III celui des monoterpènes cycliques ou bicycliques représentés par le 1-8cinéole et associé à d'autres composés comme l' α -terpinol et le sabinène comme se présente ce chémotype. Ce dernier est proche de celui identifié par Avlessi (2005) et Alitonou en 2006 seulement l'HE de *L. multiflora* de Savalou que nous avons analysée ne comporte que 0,3% de linalol alors que dans les deux compositions précédentes de Avlessi et Alitonou du Bénin, le linalol a été identifié en proportion relativement élevée à savoir, 10,9%.

Aucun des deux chémotypes identifiés à savoir celui de Pèrèrè et celui de Savalou ne ressemble au 1^{er} chémotype déterminé par Menut, 1995 au Bénin qui est représenté par du myrtenol (27,1%)-linalol (11,9%)-1-8cinéole (11,6%) fait probablement lié à la structure pédologique sur laquelle le prélèvement de la plante a été fait.

Les HE de *Lippia rugosa* récoltées au Nord-Bénin, à savoir Gbégourou et dans N'Dali à Binassi présentent les chémotypes suivants respectivement : Germacrène D (43,5%)-Z- β -caryophyllène (16,4%) et Germacrène D-(43,5%)-trans- β -caryophyllène (17,4%). On retrouve dans le 1^{er} chémotype de l' α -cadinol (6,5%) du carotol (4,8%) et dans le 2nd chémotype du thymol (2,8%) et du linalol (0,6%). La seule HE de *Lippia rugosa* à laquelle on a pu comparer nos deux chémotypes à structures sesquiterpéniques est celle analysée au Cameroun par Tatsadjieu, 2009 qui est majoritairement constituée de monoterpènes oxygénés (88,9%) dont le géraniol (51,5%), le nérol (18,6%), le géraniol (10,4%) et le linalol (4,6%). Le présent chémotype est donc géraniol-nérol.

Les HE de *Lippia rugosa* de Gbégourou et de Binassi bien qu'ayant une structure sesquiterpénique (sesquiterpènes hydrogénés : Germacrène D (Z- β) caryophyllène pour l'une et Germacrène D-trans- β -caryophyllène pour l'autre) ont eu une activité fongistatique sur les quatre Deuteromycètes testés à savoir *Fusarium oxysporum*, *Penicillium digitatum*,

Aspergillus ochraceus et *Aspergillus parasiticus* à la concentration de 2µl/ml de l'HE de *Lippia rugosa* de Gbegourou, les taux de réduction mycélienne des deux souches d'*Aspergillus* testées à savoir *A. ochraceus* et *A. parasiticus* après 4 jours ne dépassent pas 60%. Les études précédentes sur la même plante effectuées au Cameroun par Tatsadjieu, 2009 et qui a opéré de la même manière que la nôtre pour les tests antifongiques (Billeberck, 2001, Mohammedi, 2010) ont montré qu'à une concentration de 1000ppm (1µl/ml) de l'HE de *Lippia rugosa* du Cameroun, la croissance mycélienne de *Aspergillus flavus* reste pratiquement nulle depuis le 1^{er} au 8^{ème} jour alors qu'à une concentration en dessous de 0,8µl/ml (800ppm) l'HE n'empêche pas la croissance mycélienne de *Aspergillus flavus*.

De manière sélective, les deux HE de *Lippia rugosa* de Gbegourou et de Binassi ont une activité fongicide sur *Candida albicans*. Celle de Gbegourou est fongicide sur *Candida albicans* à 7040 ppm alors que celle de Binassi l'est à 1960 ppm. Elles sont toutes deux bactéricides sur *E. coli* ATCC 25922 aux concentrations de 3,52mg/ml et 3,92mg/ml respectivement et sur *S. aureus* ATCC 25923. Ces différences observées quant aux activités antimicrobiennes (antifongique) pour ce qui est des concentrations de l'HE sont en relation avec les compositions chimiques de l'une et des autres : l'HE de *Lippia rugosa* de Cameroun est de structure monoterpénique et ses composés majoritaires sont des monoterpènes oxygénés (88,9%) par opposition aux deux HE de la même plante analysée au BENIN. L'une et l'autre sont de structure sesquiterpénique : celle de Gbegourou est composée de sesquiterpènes hydrogénés (72,0%), de sesquiterpènes oxygénés (16,5%), des monoterpènes hydrogénés (3,9%) et l'eugénol (1,1%) un composé aromatique et celle de Binassi est composée de sesquiterpènes hydrogénés (72,8%), de monoterpènes hydrogénés (9,9%), de composés aromatiques (6,6%) et de sesquiterpènes oxygénés (4,6%). La composition plus variée de l'HE de *Lippia rugosa* de Binassi a conféré à cette HE le caractère fongicide sur *Candida albicans* à la concentration de 1960ppm en particulier les composés aromatiques tels que le thymol qui possèdent une activité antifongique (Guo *et al.*, 2009). Diallo (2000) rapporte que les substances antifongiques présentent une hydrophobie élevée, les plus actives portent des fonctions polaires hydrophiles (OH, COOH, NH₂, NO₂) le thymol en est un. Le seul composé aromatique tel que l'eugénol détecté dans l'HE de *Lippia rugosa* de Gbegourou l'a été sous forme de trace (1,1%), ce qui pourrait justifier une absence de réactivité en faveur d'une activité fongicide sur *Candida albicans*. Cependant le rôle des composés terpéniques en particulier les monoterpènes et sesquiterpènes a été évoqué dans les activités antimicrobiennes (Morris, 1979, Cakir, 2004). Les mécanismes d'action de ces composés et leurs effets sur la membrane cellulaire en termes d'interférence sur les fonctions

membranaires (transport d'électron, synthèse des acides nucléiques, synthèse des protéines, sécrétion d'enzymes et coagulation du contenu cytoplasmique) serait à l'origine de ce caractère antimicrobien (Marino, 2001 ; Burt, 2004 ; Bajpai, 2008). Ce qui explique leur activité inhibitrice sur *E. coli* ATCC 25922 et sur *S. aureus* ATCC 25923 (0,44mg/ml et 0,49mg/ml respectivement pour *E. coli* ATCC 25922 d'une part et 0,64mg/ml et 0,88mg/ml respectivement pour *S. aureus* ATCC 25923 d'autre part).

Par ailleurs l'HE de *Lippia multiflora* de Savalou à composition plus variée en monoterpènes oxygénés (1-8cinéole et α -terpinol) et monoterpènes hydrogénés (sabinène, α -pinène, β -pinène et myrcène) semble être plus inhibitrice sur *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 avec des CMI respectivement de 0,64mg/ml et 0,64mg/ml que l'HE de *Lippia multiflora* de Pèrèrè à composition en monoterpènes oxygénés, majoritairement le linalol en proportion élevée (91,9%) dont les CMI pour les deux souches précédentes sont respectivement 1,92 mg/ml et 1,92 mg/ml cependant les deux HE possèdent un pouvoir antibiotique contre *S. aureus* ATCC 25923 et un pouvoir antifongique relatif et différentiel contre les souches de *Aspergillus ochraceus*, *A. parasiticus*, *Fusarium oxysporum* et *Penicillium digitatum*. Les deux HE restent fongistatiques sur les souches d'*Aspergillus* (*ochraceus* et *parasiticus*) mais l'HE de *Lippia multiflora* de Savalou est fongicide sur *Penicillium digitatum* et *Fusarium oxysporum* à une concentration de 2 μ l/ml (2000ppm) à partir du 4^{ème} jour de contact.

Les HE à composés monoterpéniques oxygénés telles que celles des Poaceae, *Cymbopogon citratus* (geraniol 41,3%, neral 33,0%, géraniol 6,6%) et *Cymbopogon giganteus* (trans p 2(8) menthadien-1-ol, trans p 1(7) menthadien-2-ol, cis p 2,8menthadien1-ol, cis 1(7)8 menthadien 2-ol) d'une part, et celle extraite des feuilles de *Xylopiya aethiopica* (terpinen-4-ol 30%, myrtenol 9,1%, 1-8cineole 5,3%) d'autre part sont relativement actives à la fois sur les bactéries testées *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 10231, *Enterococcus faecalis* d'une part avec les CMI respectives de 0,64 mg/ml, 1,07 mg/ml et 2,14 mg/ml 0,27mg/ml, 0,55 mg/ml et 0,32 mg/ml et 0,13 mg/ml, 0,13 mg/ml, 0,13 mg/ml et 0,32 mg/ml et sur les champignons filamenteux d'autre part. L'HE de *Cymbopogon citratus* est fongicide sur *Fusarium oxysporum* à 2 μ l/ml et est fongistatique sur *Penicillium digitatum*, *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus parasiticus* à la même concentration au moment où celle de *Cymbopogon giganteus* est fongicide à compter du 5^{ème} jour de contact sur *Fusarium oxysporum* et *Penicillium digitatum* à la concentration de 2 μ l/ml alors qu'elle est fongistatique à la même concentration sur les deux souches d'*Aspergillus*.

Celle extraite des feuilles de *Xylopiya aethiopica* suit la même allure que les deux précédentes quant aux tests antifongiques. Les huiles essentielles extraites des feuilles de *Pimenta racemosa* et des fruits de *Syzygium aromaticum* contiennent pour l'une de l'eugénol, du myrcène et du méthyl-chavicol et pour l'autre de l'eugénol, d'acétate d'eugénol (60,4%), 10% et du trans- β -caryophyllène (24,0%).

L'eugénol selon Burt (2004) est impliqué dans l'inhibition de la production des amylases et des protéases par *Bacillus cereus* et aussi dans la détérioration de la paroi cellulaire et dans une large mesure dans la lyse de la cellule bactérienne. Le groupement hydroxyl contenu dans cette substance naturelle favorise la liaison aux protéines, empêchant ainsi l'activité enzymatique chez certains Gram- comme *Klebsiella* spp, *Enterobacter aerogenes* selon Wendakoon et Sakaguchi (1995) particulièrement les décarboxylases dans la dégradation des acides aminés chez les entérobactéries (Lysine décarboxylase, Ornithine décarboxylase et Adénine dihydrolase). Les deux huiles essentielles semblent détenir un potentiel antibiotique contre tous les microorganismes testés en particulier *Escherichia coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 10231, cependant l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* est plus effective contre *Salmonella typhi* (pouvoir antibiotique (p.a) = 2,0), *Klebsiella pneumoniae* (p. a = 2,0), *Bacillus subtilis* et *Clostridium* sp (p.a = 2,0). L'activité antifongique semble plus prononcée pour ces deux huiles contre les quatre souches de Deutéromycètes testées (*A. parasiticus*, *A. ochraceus*, *P. digitatum* et *F.oxysporum*). L'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* à la concentration de 1000 ppm (1 μ L/mL) est fongicide pour les 2 *Aspergilla* à compter du 4^{ème} jour de contact et aussi longtemps qu'elle reste en contact avec les souches, une concentration de 0,25 μ L/mL (250 ppm) est fongicide au 7^{ème} jour de contact sur les quatre souches, fait en liaison avec la possession du groupement hydroxyl libre de l'eugénol. Ces résultats sont en concordance avec ceux rapportés par Chami *et al.* (2005) pour ce qui est des propriétés antifongiques de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* et pour ses propriétés antibactériennes (Caï et Wu, 1996 ; Friedman *et al.*, 2002 ; Kalemba et Kunicka, 2003). Du point de vue de sa composition chimique, nos résultats indiquent que cette huile essentielle est dominée par des structures chimiques aromatiques de type p-menthane et correspond à celle décrite par Politeo *et al.* (2010) pour l'huile essentielle extraite des graines de *Syzygium aromaticum* de la Croatie. Ce fait corrèle également avec les résultats des comptes de viabilité effectués sur *E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Candida albicans* ATCC 10231 qui ont montré l'effectivité du potentiel antibactérien de ces huiles essentielles, lesquelles après 40 mn de contact ont réduit le nombre d'UFC/mL de cellules viables de près de 75%

différemment de leur nombre initial au temps $t = 0$ minute. Il en est de même également pour l'huile essentielle de *Cymbopogon giganteus* et dans une moindre mesure de celle de *Cymbopogon citratus*, lesquelles plutôt s'illustrent par leur possession de molécules de type monoterpènes et sesquiterpènes oxygénés pour l'une du citral (géraniol et néral) et pour l'autre du trans-p-2menthadien-1-ol, du cis-p-2,8 menthadien-1-ol, du trans-p-1(7), 8 menthadien-2-ol du cis 1(7), 8 menthadien-2-ol.

L'huile essentielle extraite des fruits de *Xylopiya aethiopica* renferme de β -pinène (38,9%), du vélérianol (7,7%), du myrténal (7,4%) et de l'élémol (5,1%), la même huile essentielle analysée au Bénin par de SOUZA et al (1997) indiquant la présence de sabinène (36,1%), du 1-8 cinéole (12,8%) et du terpinen-4-ol montre qu'au Bénin, il existe deux chémotypes, celui à β -pinène-vélérianol et celui à sabinène-1-8 cinéole. Quant à l'huile essentielle extraite des feuilles de cette plante, nos résultats révèlent la présence du terpinen-4-ol (30,8%), du sabinène (14,7%), du myrténol (9,1%), du γ -terpinène (6,2%), de l' α -pinène (5,3%), du 1-8 cinéole (5,3%) et du β -pinène (4,7%), ceux de Alitonou sur la même huile essentielle extraite des feuilles en 2004 au BENIN exhibant la présence de p-cymène (16,0%), de sabinène (12,6%), de terpinen-4-ol (11,3%), de β -élémane (10,6%), de limonène (7,9%) et le β -pinène (7,1%) nous permettent d'affirmer qu'également au Bénin, nous retrouvons deux chémotypes de cette huile essentielle, celui à terpinen-4-ol-sabinène et celui au p-cymène-sabinène. Les études antérieures sur les propriétés antimicrobiennes de ces huiles essentielles n'ayant pas été faites au Bénin se sont plus appesanties sur celles faites par Chalchat *et al.* (1997) sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite des fruits de *Xylopiya aethiopica* contre *Klebsiella pneumoniae*, sur celles de Asekun et Adeniyi (2004) sur la même huile essentielle extraite au Nigéria et de celles de Tatsadjieu *et al.* (2003) sur celle du Cameroun pour leurs activités antimicrobienne et antifongique mais aucune de ces études n'a calculé avec précision (méthode de microdilution) les concentrations minimales d'inhibition et pouvoir antibiotique contre certains microorganismes pathogènes et altérants des aliments. Selon nos résultats, les deux huiles essentielles extraites des fruits et des feuilles sont très actives sur *Candida albicans* (CMI = 0,27 mg/mL et 0,13 mg/mL). Cette grande activité sur ce champignon unicellulaire est imputable à la fraction hydrocarbonée, observation faite par Noudogbessi (2009) et confirmée par nos études (monoterpènes hydrogénés respectivement 42,1% et 46,6% pour l'huile essentielle extraite des feuilles et des fruits de la plante). Les précédentes huiles essentielles extraites des feuilles et fruits de *Xylopiya aethiopica* détiennent des activités fongistatiques sur les souches de *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus*

parasiticus et fongicides à compter du 4^{ème} au 7^{ème} jour sur celles de *Fusarium oxysporum* et *Penicillium digitatum* à la concentration de 2 µL/mL (2000 ppm). Selon Smith *et al.* (2001), l'utilisation des extraits volatils dans la conservation des denrées alimentaires devient de plus en plus notoire. Plusieurs études récentes rapportent les activités antimicrobiennes exhibées par les huiles des plantes et surtout le rôle joué par les composés terpéniques (monoterpènes et sesquiterpènes) dans cette activité antimicrobienne. L'huile essentielle extraite des feuilles de *Crassocephalum rubens* contient majoritairement des monoterpènes hydrogénés dont le limonène (48,8%), le myrcène (30,7%), le E(β)-ocimène (7,4%), l'α-thujène (4,8%) mais la présence des monoterpènes oxygénés (E-nérolidol, l'oxyde de caryophyllène et de E-bisabol-1-ol) pourraient contribuer à la synergie d'activité biologique entre les composés majoritaires et minoritaires de cette huile. Ce dernier fait corrèle avec les CMI calculées sur les différentes souches testées qui varient de 0,54 mg/mL à 4,38 mg/mL. Les souches les plus sensibles sont les Gram+ (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* β-hémolytante) par rapport aux Gram- qui sont moins sensibles (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi*) et la levure *Candida albicans* qui est pratiquement résistante à l'activité de cette huile essentielle (CMI = 4,38 mg/mL). Généralement, les huiles essentielles possédant les plus fortes activités antibactériennes contre les pathogènes et altérants des aliments renferment un pourcentage élevé de composés phénoliques (Dorman et Deans, 2000 ; Lambert *et al.*, 2001) et leurs actions se résument à des disfonctionnements de la membrane cytoplasmique, une distorsion du flux de la force électronique du proton, du transport actif et de la coagulation du contenu cellulaire (Denyer et Hugo, 1991 ; Davidson, 1997). Néanmoins, la structure chimique des composés de l'huile essentielle influence son mode d'action et son activité antimicrobienne. Le limonène possédant un groupement alkyl est plus actif que le p-cymène et confirme les observations de Dorman et Deans qui révèlent le dysfonctionnement des enzymes telles que les ATPases localisées sous la membrane cytoplasmique. L'huile essentielle extraite des feuilles de *Crassocephalum rubens* contenant un fort taux de limonène (48,8%) semble être active sur tous les microorganismes Gram+ et Gram-. Les molécules hydrogénées lipophiles s'accumuleraient dans la lumière des lipides de la membrane et porteraient atteinte à l'interaction protéine-lipide. Cette interaction directe des composés lipophiliques avec les parties hydrophobiques de la protéine est possible (Burt, 2004). Notre principal chémotype identifié dans l'huile essentielle de *Crassocephalum rubens* est constitué de 94,5% de molécules hydrogénées lipophiliques.

Les mécanismes d'action de ces composés et leurs effets sur la membrane cellulaire et la paroi sont connus. Leur influence sur la perméabilité cellulaire en termes d'interférences sur les fonctions membranaires (transport d'électrons, synthèse des aminoacides et acides nucléiques et sécrétion d'enzymes) serait à l'origine de ce caractère antimicrobien selon Morris *et al* (1979) et Cakir *et al.* (2004). Pourtant, les sensibilités sont relatives et spécifiques selon que les souches soient Gram+ ou Gram-, fait essentiellement lié à la composition de la paroi bactérienne. Les Gram- dont la paroi contient des lipopolysaccharides et les phospholipides, structures hydrophobiques ralentissant la pénétration de l'extrait volatil lui aussi hydrophobe et son accumulation dans la membrane cellulaire (Bajpai, 2008) empêchant ainsi l'éclatement du cytoplasme et la libération de son contenu, sous l'action des composés terpéniques présents dans les extraits. De ce fait, les Gram+ sont plus sensibles à l'effet des huiles essentielles que les Gram-.

CONCLUSION GENERALE

La présente étude menée sur les huiles essentielles extraites des feuilles de *Ocimum gratissimum*, *Mentha piperita*, de *Lippia multiflora* (Savalou et Pèrerè), *Lippia rugosa* (Gbegourou et N'dali), de *Cymbopogon citratus* et *Cymbopogon giganteus*, de *Pimenta racemosa*, de *Xylopiya aethiopica*, de *Crassocephalum rubens* et de *Cinnamomum zeylanicum* d'une part et des graines de *Xylopiya aethiopica* et de *Syzygium aromaticum* d'autre part, nous a permis de déterminer leurs compositions chimiques différentes : l'HE de *Ocimum gratissimum* est majoritairement composé de thymol, de γ -terpinène et de p-cymène, l'HE de *Ocimum basilicum* constituée d'estragole, de linalol, d'eugénol, celle de *Mentha piperita* de menthol, de neomenthol, de 1-8-cinéole et de mentyl-acétate, l'HE de *Lippia multiflora* de Pèrerè de linalol, et de germacrène D, celle de *Lippia multiflora* de Savalou composée du 1-8-cinéole, de sabinène et de α -terpinol, les HE de *Lippia rugosa* (de Gbegourou et de N'dali) constituées de sesquiterpènes dont le Germacrène-D le Z- β -caryophyllène et de l' α -cadinol pour celle de Gbégorou et de germacrène D, du trans- β -caryophyllène et du thymol pour celle de N'dali ; l'HE de *Cymbopogon citratus* est majoritairement composée de myrcène de néral, de geraniol et de geranial et l' HE de *Cymbopogon giganteus* est constituée de limonène, de trans-p-2(8) (menthadien-1-ol, de trans-p- 1(7)8 menthadien-2-ol, de cis-p-2,8 menthadien-1-ol, de cis 1(7) 8 menthadien-2-ol. L'HE de *Xylopiya aethiopica* extraite des feuilles est majoritairement constituée de α -pinène, de sabinène, du 1-8 cinéole, du γ -terpinène, du terpinèn-4-ol et du myrtenol et celle extraite des fruits de la même plante affiche les composés suivants : β -pinène, myrténal, vélérianol, élémol. L'HE de *Crassocephalum rubens* est majoritairement composée de limonène, de myrcène, de l' α -thujène et du E(β)-ocimène, celle de *Syzygium aromaticum* de l'eugenol, du trans β -caryophyllène et de l'acétate d'eugenol. Les différentes HE investiguées sont composées de molécules à structures terpéniques qui agissent isolément ou par effet de synergie des composés majoritaires et minoritaires qu'elles contiennent sur les différentes bactéries et champignons isolés des aliments consommés au BENIN. Les pouvoirs antibiotiques déterminés sur chacune d'elles, les HE qu'elles que soient leurs compositions agissent différenciellement sur les souches microbiennes isolées et de la présente étude, il ressort que les Gram⁺ sont plus sensibles à leur effet que les Gram⁻.

Les comptes de viabilité effectués sur les souches *E.coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et *C. albicans* ATCC 10231 montrent que tous les HE inhibent ces souches mises en contact avec elles au bout de 100 minutes en réduisant leur quanta d'au moins 80%. Il est clair que les différentes activités exhibées sur les microorganismes isolés de nos substrats alimentaires nous autorisent à envisager la formulation à partir d'elles d'antimicrobiens naturels pour la conservation des aliments de grande consommation au BENIN. Toutefois, nous voudrions par la même occasion, formuler au terme de ce travail, autres perspectives scientifiques suivantes :

- l'évaluation de la cytotoxicité des plantes étudiées
- l'utilisation des techniques de cytométrie de flux et de séquençage des acides nucléiques en vue de déterminer les sites des dommages causés par les huiles essentielles sur les microorganismes testés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Abad, M.J., Ansuategui, M., Bermejo, P., 2007. Active antifungal substances from natural sources. *ARKIVOC*, 7: 116-145.
2. Abed, K.F., 2007. Antimicrobial Activity of Oils of some Medicinal plants from Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 14(1) : 53-60.
3. Adjanohoun, E.J., Ahyi, A.M.R., Ake, A., 1988. Médecine traditionnelle et pharmacopée : Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Congo. Rapport présenté à l'A.C.C.T. Paris. France. p. 605.
4. Agnani, H., Makani, T., Akagah, A., Menut, C., Bessière, J.M., 2005. Volatile constituents and antioxidant activity of essential oils from *Lippia multiflora* Moldenke, growing in Gabon. *Flav. Fragr. J.*, 20 : 34-38.
5. Ahoussi, E.D., Sessou, P., Wotto, V.D., Yèhouenou, B., Kinsoudé, E., Kpatinvoh, B., Soumanou, M., Sohounhloué, D., 2010. Mise au point d'une technologie de production d'une boisson locale Africa drink à base d'huiles essentielles de menthe verte et poivrée. *Bulletin d'information de la SOACHIM*, 7 : 39-53
6. Ajayi, I.A., Jonathan, S.G., Adewuyi, A., Oderinde, R.A., 2008. Antimicrobial Screening of the Essential Oil of Some Herbal Plants from Western Nigeria. *World Applied Sciences Journal*, 3 : 79-81.
7. Akujobi, C.O., Ogbulie, J.N., Njoku, H.O., 2010. The extract of *Ocimum gratissimum* on the dehydrogenase activities to clinical isolates of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Agricultural Technology*, 6(1): 57-65.
8. Alitonou, G. A., 2006. Huiles essentielles extraites de plantes aromatiques d'origine béninoise. Etude chimique, évaluation biologique et applications potentielles. Thèse de Doctorat des Universités d'Abomey-Calavi et Montpellier II, 283p.

9. Anand, A.K., Mohan, M., Haider, S.Z., Sharma, A., 2011. Essential Oil Composition and Antimicrobial Activity of three *Ocimum* Species from Uttarakhand (India). *Int. J. of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(3).
10. Anjorin, S.T., Ugwu, N.H., 2011. Growth characteristics, phytochemicals and mineral composition of *Ocimum gratissimum* applied with Albit bioproduct. *Agric. And Biology J. of North America*, 2(4) : 693-697.
11. ASCP Susceptibility Group. 1997. United States geographic bacteria susceptibility patterns. *Diagn. Microbiol. Infect Dis.* 35: 143-151.
12. Asekun, O.T., Adeniyi, B.A., 2004. Antimicrobial and Cytotoxic activities of the fruit essential oil of *Xylopiya aethiopica* from Nigeria – *J. of Fitoterapia*, 75 : 368-370.
13. Ash, C.F.G. Priest, M. D. Collins. 1993. Molecular identification of rRNA group 3 bacilli (Ash, Farrow, Wallbanhs and Collins) using a PCR probe test leauwenhoel 64: 253-260.
14. Avlessi, F., Alitonou, G., Sohounhloué, D., Menut, C., Bessière, J.M., 2005. Aromatic plants of Tropical West Africa. Part XIV : Chemical and biological investigation of *Lippia multiflora* Moldenke essential oil from Bénin. *J. Essential Oil Res.*, 17 : 405-407.
15. Ayedoun, M.A., Sohounhloué, D.K., Menut, C., Lamaty, G., Bessière, J.M., 1997. Composition chimique des huiles essentielles de deux espèces de *Cymbopogon* du Bénin exploitables industriellement. *Bulletin africain « Bioressources-Energie-Développement-Environnement »*, 8 : 4-6
16. Baba-Moussa, F., Koumaglo, K., Ayedou, K., Akpagana, K., Moudachirou, M., Bouchet, P., 1997. Activités antifongiques d'huiles essentielles extraites au Bénin et au Togo. *Cryptogamie, Mycol*, 18 : 165-168.

17. Bajpai, K.V., Dung, N.T., Kwon, J.O., Kang, S.C., 2008. Analysis and the potential application of essential oil and leaf extracts of *Silene Americana* L. to control food spoilage and food-borne pathogens *Journ. Food Techn*, 227 : 1613-1620.
18. Barnham, M. T., J. Thornton, K. Lange, 1983. Nephritis caused by *Streptococcus zooepidemicus* (Lancefield Group C) *lancet* 2: 945-948.
19. Bassolé, I.H.N., Lamien-Meda, A., Bayala, B., Tirogo, S., Franz, C., Novak, J., Nebié, R.C., Dicko, M.H., 2010. Composition and Antimicrobial Activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. Essential Oils and Their Major Monoerpene Alcohols Alone and in Combination. *Molecules*, 15 : 7825-7839.
20. Bassolé, I.H.N., Ouattara, A.S., Nebié, R., Ouattara, C.A.T., Kaboré, Z.I., Traoré, S.A., 2003. Chemical composition and antibacterial activities and *Lippia chevaleri* and *Lippia mutiflora* from Burkina Faso. *Phytochemistry*, 62 : 209-212.
21. Bettelheim, K. A. 1992. The genus *Escherichia* p. 2696-2736. In A. Ballows, H. G. trüper, M. Durorkin, W. Harder, K. H. Schleifer (ed) *The Prokaryotes* 2nd ed Springer Verlag K. G. Berlin Germany.
22. Borone, D.R. Y. Liu, Z. J. Zhao.,D.L Bacilkwill., G.R.Drake, T.O.Stevens., H.C, Aldrich, 1995. *Bacillus Infernus* sp. Nov. an Fe (III) and Mn (IV) anacrobe from the deep terrestrial subsurface *Int.J.Syst. Bacteriol* 45: 441-448.
23. Bouquet, A., 1967. Inventaires des plantes médicinales et toxiques du Congo. Mémoire O.R.S.T.O.M., Brazzaville-Congo. p. 34.
24. Bouquet, A., 1969. Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo. Mémoire O.R.S.T.O.M., n°36, Brazzaville-Congo. p. 282.

25. Brenner, F. W., R. G. Villar, F. J. Anguls, R. Taure, B. Swaminathan. 2000. Salmonella nomenclature *J. Clin. Microbiol* 38: 2465-2467.
26. Brown, D. F. J. 2011. Detection of methicillin-oxacillin resistance in Staphylococci. *J. Antimicrob. Chemother.* 48: (Suppl. 81): 65-70.
27. Burt, S., 2004. Essential oils : Their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Int. J. of Food Microbiology*, 94 : 223-253.
28. Cabroche, S., Leclèvre, V., Pupin, M., Koucherou, G., Jacques, Ph., 2010. Density of monomers in nonribosomal peptides towards the prediction of origin and biological activity. *Journal of bactériology*, 5143-5150 DOI10.1128/JB00315-10
29. Cai L., Wu, C.D. (1966) Compounds from *Sysigium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. *J.Nat. Prod.* 59: 987-996
30. Cakir, A., Kordali, S., Zengin, H., Izumi, S., Hirata, T., 2004. Composition and antifungal activity of essential oils isolated from *Hypericum hissoifolium* and *Hypericum heterophyllum*. *Flav. Frag. J.*, 19(1) : 62-68.
31. Carlderone R. A., L. Linehan, E. Wadsworth et A. L. Sandberg. 1998. Identification of C3d receptors on *Candida albicans*. *Infect. Immun.* 56: 252-258.
32. Cato, E. P., E. Stackebrandt. 1989. Taxonomy and phylogeny p 1-26 In N. P. Minton and D. J. Clarck (Ed). *Clostridia*; Plenum Press New-York, N-T.
33. Cavassini, M., A. wenger, K. Jatou, D. S. Blanc, J. Bille. 1999. Evaluation of MRSA-Screen a simple anti PBP2a slide latex agglutination kit, for rapid detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* *J. Clin. Microbial.* 37: 1591-1594.
34. Centers for Disease Control and Prevention 2001. *Salmonella* surveillance: Annual summary 2000. Centers for diseases Control and prevention, Atlanta, Ga.

35. Chalchat, J.C., Garry, R.P., Menut, C., Lamaty, G., Malhuret, R., Chapineau, J., 1997. Correlation between chemical composition and antibacterial activity activity of some african essential oils. *J. Essent. Oil Res.*, 9(1) : 67-75.
36. Chambers, H. F. 1988. Methicillin-resistant Staphylococci; *Clin. Microbial. Rev.* 1: 173-186.
37. Chang, S. T., Wang, S. Y., Wu, C. L., Chen, P. F., Kuo, Y. H., 2000. Comparison of the antifungal activity of candinane skeletal sesquiterpenoids from Taiwana (Taiwania cryptomerioides Hayata) heartwood, *Holzforschung* 54, 241-245.
38. Charyalertsak, S., T. Sirisanthana, O. Saeng wonloey ., K. E. Nelson, 2001. Clinical presentation and risk behaviors of patients with acquired immunodeficiency syndrome in Thailand.1994-1998 regional variation and temporal trends *Clinic. Infect. Dis.* 32: 955-962.
39. Cimon,B., J. Carrere., J.P. Chazalette, J.F. Vinatia, D.Chabasse, J. P. Bouchara, 1999. Chronic airway colonization by *Penicillium emersoni* in patient with cystic fibrosis. *Med. Mycol* 37: 291-293.
40. Collins M. D., P. A. Lawson, A Willems, J. J. Cordoba, J. Fernandez-Garayzabal, P. Garcia, J. Cai, H. Hippe, J. A. Farrow, 1994. The phylogeny of the genus *Clostridium* proposal of five new genera and eleven new specis combinations *Int. J. Syst. Bacterial.* 44: 812-826.
41. Corvec, S., 2009. Anatomie fonctionnelle bactérienne. Laboratoire de Bactériologie, UFR de Médecine-Nantes.
42. Dalton,C. B., E. D. Mintz, J. G. Wolls, C. A. Bopp, R. V. Tauxe. 1999. Out breaks of enterotoxinogenie *Escherichia coli* infection in American adults, a Clinical and epidemiologic profile. *Epidemiol Infection.* 123: 9-16.

43. De Billerbeck, V.G., Rogues, C.G., Bessière, J.M., Fonvieille, J.L, Dargent. R. 2001. Effect of *Cymbopogon nardus* (L) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* . Canadian J. Microbiol. ,47:9-17
44. De Hoog, G. S., J. Guarro, J. Gene et M. J. Figueras, 2000. Atlas of Clinical Fungi, Central Bureau Voor Schimmelcultures, Baam, The Netherlands.
45. Denyer, S.P., Hugo, W.B., 1991b. Mechanisms of antibacterial action a summary In : Denyer, S.P., Hugo, W.B. (Eds) Mechanisms of action of chemical biocides Blakwell. Oxford : 331-334.
46. Derwich, E., Benziane, Z., Boukir, A., 2010. GC/MS Analysis and Antibacterial activity of the Essential Oil of *Mentha pulegium* Grown in Morocco. Res. J. of Agric. And Biological Sci., 6(3) : 191-198.
47. Dolore, G.E., Doyle, 2001. *Escherichia coli* in diarrhea disease. Ann. Int. Med. , 247 : 81-90.
48. Domsch, K. H., W. Gams., T. H. Anderson, 1980. Compendium of soil Fungi. IHW. Verlag, Eching, Germany. (Reprinted in 1993).
49. Downes, E. P., K. Ito., (Ed). 2001. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 4th Ed. American Public Health Association, Washington, DC.
50. Duca, E., G. Teodorovici, C. Radu, A. Veta P. Talasman-Niculescu, E. Bennescu, C. Feldi, V. Rosca, 1969. A new nephritogenic *Streptococcus*. J. Hyg. Camb.67 :691-698.
51. Dwong, T. A., 1996. Infection due to *Penicillium* mark an emerging pathogen review of 155 reported cases *Clinic Infect. Dis.* 23: 125-130.

52. Edmond, M. B., S. E. Wallace, D. K. McClish, M. A. Pfaller, R. N. Jones, R. P. Wenzel. 1999. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three year analysis. *Clin. Infect. Dis.* 29: 239-244.
53. El-Badry, A.A., Al-Ali, K.H., El-Badry, Y.A., 2010. Activity of *Mentha longifolia* and *Ocimum basilicum* against *Entamoeba histolytica* and *Giardia duodenalis*. *Sci. Parasitol*, 11(3) : 109-117.
54. Ewing, W. H. 1986. Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co. Inc., New-York, N-Y.
55. Faleiro, L., Miguel, G.M, Guerrero, C.A., Brito, J.M.C, 1999. Antimicrobial activity of essential oils of *Rosmarinus officinalis*, *Thymus mastichina* (L) L. spp *mastichina* and *Thymus albicans* in: Proceedings of the second WOCMAP congress on medicinal and aromatic plants. Part 2. Pharmacognosy, pharmacology, phytomedicine, toxicology Mendoza-Argentina.
56. FAO : Food and Agriculture Organization (Organisation des Nations-Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture), 2010. Revue annuelle pour la nutrition et la sécurité alimentaire dans le monde "Rapport synoptique pour la disponibilité alimentaire", 69 p. Rome-Italie.
57. Farber, J.M., 2000. Present situation in Canada regarding *Listeria monocytogenes* and ready-to-eat seafood products. *Int. J. Food Microbiol*, 62 : 247-251.
58. Faria, T.J., Ferreira, R.S., Yassumoto, L., Pinto de Souza, J.R., Ishikawa, N.K., Barbosa, A.M., 2006. Antifungal Activity of Essential Oil Isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against Phytopathogenic Fungi. *Brazilian Archives of Biology and Technology and Int. J.*, 49 (6) : 867-871.
59. Fischer, W., Rosel, P., Kock, H.U., 1981. Effect of alanine ester substitution and

other structural features of lipoteichoic acids on their inhibitory activity against autolysins of *Staphylococcus aureus* *J. Bacteriol.* 146: 467-475.

60. Fortina, M. G. R Pukall, P. Schumann, D. Mora, C. Paroni, P. L. Maanachini, E. Stackebrandt, 2001 *Ureibacillus* gen. nov, a new genus to accommodate *Bacillus thermosphaericus* . Emeridation of *Ureibacillus thermosphaericus* and description of *Ureibacillus terrenus* sp. Nov. *Int. J. Syst. Erol. Microbiol.* 51: 447-455.
61. Galluci, M.N., Oliva M., Casero, C., Dambolena, J., Luna, A., Zygodlob, J., Demoa, M. 2009. Antimicrobial combined action of terpenes against the food-borne microorganisms, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. *Flavour. Frag. J.* 24,348-354.
62. Gilmore , B. J, E. M. Retsinas, J. S. Lorenz, M . K. Hosteter. 1988. An C3b receptor on *Candida albicans* structure, function, and correlates for pathogenicity. *J . Infect Dis* 157: 38-46.
63. Golovacheva, R.S., G. I Karavaiko, 1978. A new genus of thermophilic spore-forming *Bacteria sulfobacillus* *Microbiologia* 47: 658-665.
64. Gorbach, S. L. 1998. *Clostridium perfringens* and other clostridia p. 1925-1933 in S. L. Gorbach, J. G. Bartlett and N. R. Blacklow (Ed) *Infectuous Diseases*, 2nd Ed. W. B. Saunders Company, Philadelphia, Pa.
65. Gouollaly, T., Nkounkou, L.C., Mahmout, Y., Ouamba, J.M., Abena, A.A., Chalchat, J.C., Figueredo, G., 2010. Variation in the chemical composition of the essential oils of different organs of domesticated *Lippia multiflora* Moldenke. *Afr. J. of Biotechnology*, 9(41) : 7009-7013.
66. Griffin, P. M., P. S. Mead., S. Sirapalasingan. 2002. *Escherichia coli* O: 157 H: 7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli* p. 627-642. In. M. J. Blaser, J. I. Ravdin, H. B. Greedberg, R. L. Guerrant (ed) *Infections of the Gastro intestinal Tract* 2nd ed. Lipprincott Willams & Wilkins, New-York, N-Y.

67. Grosjean, J., Clavé, D., Archambaud, M., Pasquier, C., 2011. Bactériologie et virologie pratique de Boeck, 2^e Edition révisée. 114-116.
68. Guarro, J., J. Gene., 1995. Opportunistic fusarial infections in humans. *Eur. J. Clin. Microbiol Infect. Dis.* 14: 741-754.
69. Guiraud, J., Galzy, P., 1980. L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires collection Génie Alimentaire. Les Editions de l'usine : 230.
70. Gustafson, K. S., G. M. Vercelloti, C. M. Bendel et M. K. Hosteter. 1991. Molecular mimicry in *Candida albicans* *J. Clin. Investig* 87: 1896-1902.
71. Hadfield, T. L., M. B. Smith, R. E. Winn, M. G. Rinaldi, C. Guerra. 1987. Mycoses caused by *Candida lusitanae* *Rev. Infect. Dis.* 9: 1006-1019.
72. Hajjar, J., 2008. Environnement hospitalier et infection associés au soin. Services d'Hygiène et d'épidémiologie, valence, 43pages.
73. Hall, J. D., L. M. McCroskey, B. J. pincomb C. L. Hatheway. 1985. Isolation of an organism resembling *Clostridium baratii* which produces type F botulinum toxin from an infant with botulism. *J. Clin. Microbiol.* 21: 654-655.
74. Hart, C. A., S. K. Rao. 1999. Donovanosis *J. Med. Microbiol.* 48: 707-709.
75. Hazen, K. C., D. L. Brewner, M. H. Riesselman, J. E. Cutter, M. A. Jutila. 1991. Differential adherence of hydrophobic and hydrophilic *Candida albicans* yeast cells to mouse tissues. *Infect. Immun.* 59: 907-912.
76. Hazen, K. C. 1995. New and emerging yeast pathogens. *Clin. Microbiol. Rev.* 8: 462-478.
77. Hazen, K. C., Glee, 1995 cell surface hydrophobicity and medically important fungi *curr Top Med. Mycol* 6: 1-37.

78. Hecht D. W., MH. Malmay, F. P. Tally. 1989. Mechanism of restance and resistance transfer in anaerobicbacteria p. 755-769 In S. M. Finegold and W. L. George (ed) Anaerobic Infections in humans Academic Press, Inc. new-york, N-Y
79. Helal, G.A., Sarhan, M.M., Abu Shahla, A.N.K., Abou El-Khair, E.K., 2006. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils Against Micoorganisms Deteriorating Fruit Juices. Mycobiology, 34(4) : 219-229.
80. Heyndrick, M., L. Libbe., M. Vancaneyt, K. Kersters, P.De Vos G. Forsyth, N.A. Logan, 1998. Virgibacillus a new genus to accommodate *Bacillus pantothenicus*. Emended description of *Virgibacillus pantothenicus*. *Int. J. Syst. Bacteriol* 48: 99-106.
81. Hohmann, E. L. 2001. Nontyphoidal salmonellosis *Clin. Infct. Dis.* 32: 263-269
82. Horner, W. E, A. Helbling, J. E. Salvaggio et S. B. Lehrer, 1995. Fungal allergens. *Clin. Microbiol. Rev.* 8: 161-179.
83. Inouye, S., Yamaguchi, H., Takizawa, T. 2001. Screening of the antibacterial effect of a variety of essential oils on respiratory tract pathogens, using a modified dilution assay method. *J. Inf. Chemotherapy* 7:251-254.
84. Iwen, P. C., S.R. Tarantolo, D. A. Sutton, M. Rinaldi., S. H. Hinrichs, 2000. Cutaneous infection caused by *Cylindrocarpou lichenicola* in a patient with acute myclogenous leukemia *J. Clin. Microbiol.* 38: 3375-3378.
85. Iwen, P.C., M. E. Rupp, A.N. Langnas, E. C Reed et S. H. Hinrichs, 1998. Invasive pulmonary aspergillosis due to *Aspergillus terreus*. 12-year experience and review of the literature *Clin. Infect. Dis* 26: 1092-1097.
86. J. Rimaldi, M. G. 1993. Biology and pathogenicity of *Candida* species p. 1-20. In

- G. P. Bodey (ed) *Candidiasis: pathogenesis. Diagnosis and treatment* 2nd Ed. Raven Press; New-York. N-Y.
87. Janda, J. M., S. L. Abbott. 1998. *The Enterobacteria* lippincott. Raven, Philadelphia Pa.
88. Jernigan, J. A., D. S. Stephens, D. A. Ashford, C. Omenaca, M. S. Topiel, M. Galbraith, M. Tapper, T. L. Fisk, S. Zaki, T. Popovic, R. F. Meyer, C. P. Quinn, S. A. Harper, S.K. Fridkin, J. J. Sejvar, C. W. Shepard, M Mc Connell, J. Guarner, W. J. Shieh, J. M. Malecki, J.L. Gerberding, J. M. Hughes et B.A. Perkins, 2001. Bioterrorism-related inhalational anthrax. The first 10 cases reported in the United States *Emerg. Infect Dis* 7: 933-944.
89. Johnson, J. L., B. S. Francis. 1975. Taxonomy of the clostridia ribosomal ribonucleic acid homologies among the species. *J. Gen. Microbiol.* 88: 229-244.
90. Jones, R. N., K. C. Kluger, M. A. Pfaller, P. L. Ninokur, SENTRY Surveillance Group North America. 1999. Characteristics of pathogens causing urinary tract infections in hospitals in North America: results from the SENTRY antimicrobial surveillance program. 1997. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 35: 55-63.
91. Judicial Commission of the International Committee on Systematic Bacteriology. 1999. Rejection of *Clostridium purificum* and conservation of *Clostridium botulinum* and *Clostridium sporogenes*-Opinion 69. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49 (PartI): 339.
92. Kalimba, D., Kunicka, A., (2003) Antibacterial and antifungal properties of essential oil. *Curr Med Chem.* 10: 813-829.
93. Kamagaju, L., Koumaglo, K., Agbonon, A., Nkurunziza, J.P., Kabera, J., Senyanzobe, J.M.V., 2006. Etude chimique des huiles essentielles de *Lippia multiflora* Moldenke et de *Cymbopogon giganteus* chiov. du Togo. UNR-Etudes

Rwandaises, 12 : 5-14

94. Kane, J., R. Summerbill., Sigker., S. Kraijden., G. Land., 1997. Laboratory Handbook of Dermatophytes. Star Publishing Co, Belmont, Calif.
95. Kanko, C., 1995. Contribution à l'étude phytochimique de *Lippia multiflora* (Verbenaceae). Thèse de Doctorat 3^{ème} cycle. Université de Cocody-Abdjan. p. 233.
96. Karioti, A., Ladjipavlou-Litina, D., Mensah, M.L.K., Fleicher, T.C., Skaltsa, H., 2004. Composition and antioxidant activity of the Essential oils of *Xylopiya aethiopica* (Dun A.Rich (Annonaceae leaves, Stem bark, Root Bark, and fresh and dried fruits, growing in Ghana. *J. Agric. Food Chem.*, 52 : 8094-8098.
97. Kaufman, L., P. G. Standard., M. Julbert. D. Kraft, 1997. Immunohistologic identification of *Aspergillus* spp and other heyclinic fungi by using polyclonal fluorescent antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 35: 2206-2209.
98. Kaya, I., Yigit, N., Benli, M., 2008. Antimicrobial Activity of Various Extracts of *Ocimum basilicum* L. and Observation of the Inhibition Effect on Bacterial Cells by use of Scanning Electron Microscopy. *Afr. J. Trad. CAM.*, 5(4) : 363-369.
99. Keita, A., Abena, A.A., Ouamba, J.M., Ouattara, S., 1996. Constituants chimiques de l'huile essentielle de thé de Gambie : *Lippia chevaleri* et/ou *Lippia multiflora* Moldenke. *Rev. Méd. Pharm. Afr.*, 10(1) : 35-39.
100. Khan, R., Islam, B., Akram, M., Shakil, S., Ahmad, A., Ali, S.M., Siddiqui, M., Khan, A.U., 2008. Antimicrobial Activity of Five Herbal Extracts Against Multi Drug Resistant (MDR) Strains of Bacteria and Fungus of Clinical Origin. *Molecules*, 13: 1.
101. Kharclori, N., G. P. Bodey, 1991. Infections in hematological malignancies p 363-424. In E.J Freireich and H. Kantarjian (Ed) *Therapy of hematopoetic Neoplasia.*

Marcel Dekker, Inc New York. N. Y.

- 102.** Kitahara, M., F. Takamine, T. Imamura, Y. Benno. 2000. Assignment of Eubacterium sp. VPI 12708 and related strains with high bile acid 7 alpha dehydroxylating activity to *Clostridium scindens* and proposal of *Clostridium hylemonae* sp. nov., isolated from human faeces Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 50: 971-978
- 103.** Kitahara, M., F. Takamine, T. Imamura, Y. Benno. 2001. *Clostridium horanomis* sp. nov., a human intestinal bacterium with bile acid 7 alpha dehydroxylating activity Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 51: 39-44.
- 104.** Kloos, W.E., 1986. Ecology of human skin Coagulase Negative Staphylococci. Almogrist and Wiksell International Stockholm Sweden.
- 105.** Kloos, W.E., K.H. Schleifer and E.Götz, 1991. The genus *Staphylococcus* p 1369-1420 In A. Ballows, H.G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder and K.H. Schleifer (Ed) The prokaryotes 2nd Ed Springer- Verlag, New York, NY.
- 106.** Kloos, W.E. 1998. *Staphylococcus* p 577-632 in L. Collier, A. Ballows and M. Sussman (Ed) Topley and Wilsons. Microbiology and Microbial Infection Vol2 9th Ed. Edward Arnold, London, UK.
- 107.** Koba, K., Poutouli, P.W., Raynaud, C., Chaumont, J.P., Sanda, K., 2009. Chemical composition and antimicrobial properties of different basil essential oils chemotypes from Togo. Bangladesh J. Pharmacol, 4 : 1-8.
- 108.** Kokai-Kun, J. F., B. A. Mc Clane. 1997. The *Clostridium perfringens* enterotoxin p. 325-357 In J. I. Rood, B. A. Mc Clane I. G. Songer, R. W. Titball (ed) The Clostridia Molecular Biology and Pathogenesis Academic Press New-York, N-Y.
- 109.** Krulder, J.W., R. W. Brimicombe, P. W. Wijermans., W. Gans., 1996. Systemic *Fusarium nygamai* infection in a patient with lymphoblastic non-Hodgkins lymphoma. Mycoses 39: 121-123.

110. Kumar, S., Wahab, N., Warikoo, R., 2011. Bioefficacy of *Mentha piperita* essential oil against dengue fever mosquito *Aedes aegypti* L. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine : 85-88.
111. Kurtzman, C.P., J.W. Fell (Ed). 1998. The Yeasts, a taxonomic study, 4TH Ed Elsevier, New York, N-Y.
112. Kwon-Chung K. J., D. Lehman C. Good, P.T. Magee, 1985.genetic evidence for role of extracellular proteinase in virulence of *Candida albicans* Infect. Immun. 49G: 571-575.
113. Kwon-Chung, K. J., J. E.. Bennett. 1992. Medical mycob Lea α Febiger, Philadelphia, Pa.
114. Lamaty, G., Menut, C., Bessière, J.M., Ouamba, J.M., Silou, T., 1990. 2-methy-6-methylene-7-octen-4-one, a constituent of *Lippia multiflora* essential oil. Phytochemistry, 29(2) : 521-522.
115. Lass-Florl, C., P. Rath., D. Niedewveser, G. Kofler, R. Wurzner, A. Krezy et M. P. Dierich, 2000. *Aspergillus terreus* infections in haematological malignancies molecular epidemiology suggests association with in hospital plants. *J. Hop. Infect.* 46: 31-35.
116. Lee, S.J., Umamo, K., Shibamoto, T., Lee, K.G., 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. Food Chemistry, 91 : 131-137.
117. Lever, M., H. Jansens, D. Ursi, J. Verhoerver, H. goossena. 1995. Rapid detection of methicillin resistance in coagulase negative staphylococci by commercially available fluorescence test. *J. Clin. Microbiol.* 33: 2183-2185.
118. Leyral, G., Vierling, E., 1997. Microbiologie et toxicologie des aliments doin Editeurs 2^{ème} Edt : 272.

119. Leyral, G., Vierling, E., 2001. Microbiologie et toxicologie des aliments doin Editeurs 3^{ème} Edt : CRDP d'Aquitaine, page 30.
120. Liu, S. M., T. Way., M. Rodrigues, S. M. Steidl. 2000. Effects of intra vitreal corticosteroids in the treatment of *Bacillus cereus* endophthalmitis Arch Ophthlmlol.118: 803-806.
121. Livermose, D. M. 1995. β -Lactamase in laboratory and clinical resistance. *Clin. Microbiol. Rev.* 8/ 557-584.
122. Looney, W.J. 2000. Small colony variants of *Staphylococcus aureus*. Br. J. Biomed Sc. 57:317-322.
123. Lorber, B., 2000. Gas gangrene and other Clostridium associated diseases p 2549-2561 In G.L.Mandell, J. E. Bennett, R. Dolin (ed) Mandell Douglas and Bennett's Principles and Prectius of Infectious Diseases 4th ed Vol 2 Churchill Livingston
124. Marino, M., Bersani, C., Comi, G., 2001. Importance measurements to study the antimicrobial activituy of essential oils from lamiaceae and Compasitae. Int. J. Food. Mcrobiol, 67 : 187-195.
125. Massoti, V. J., Gaydou, E.M., Dherbomez, M., Letoumeuk, T., 1998. Phytochemical and antimicrobial studies on *Xylopiia aethiopica*. Fitoterapia, 69 (J) : 461-462.
126. Matasyoh, L.G., Matasyoh, J.C., Wachira, F.N., Kinyua, M.G., Thairu Muigai, A.W., Mukiyama, T.K., 2008. Antimicrobial Activity of Essential Oils of *Ocimum gratissimum* L. from different populations of Kenya. Afr. J. Trad. CAM, 5 (2) : 187-193.
127. McCroskey, L. M., C. L. Hatheway, B. A. Wood Kiff, J. A. Greenberg. P. Jurgenson. 1991. Type F. botulism due to neurotoxicogenic *Clostridium baratii* from

an unknow source in an adult *J. Clin. Microbiol* 29: 2618-2620.

128. Mead, P. S., L. Slutsker, Dietz, L. F. McCaig, J. S. Bresee, C. Shapiro, P. M. Griffin, R. V. Tauxe 1999. Food related illines and death in the United States *Emerg. Infect. Dis.* 5: 607-625.
129. Menut, C., Lamaty, G., Sohounhloué, D.K., Dangou, J., Bessiere, J.M., 1995. Aromatic Plants of Tropical West Africa. III. Chemical Composition of Leaf Essential Oil of *Lippia multiflora* Moldenke from Benin. *J. Essent. Oil Res.*, 7.
130. Mermin, J. H., J. M. Tournes, M. Gerber, N. Dolan, E. D. H. Mintz, R. V. Taure, 1998. Typhoid fever in the United States 1985-1994. Changing risk of international traravel and irecreasing antimicrobial resistance *Arch. Intern. Mad* 158: 633-638.
131. Miall, L. S., N. T. Mc Ginkey, K. G. Brownlee and S. p. Conway. 2001. Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in cystic fibrosis. *Arch. Dis child* 84: 160-162.
132. Miller, S. I., E. L. Hohmann, O. A. Pegues.1995. Salmonella (including Salmonella typhi), p. 2013-2033. InGL Mandell, J. E. Bennett and R. Dublin (ed) Principles and Practices of Infections Diseases. Churchill Livingtone Inc. New-York. N-Y.
133. Mohammedi Zora. (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Hencen. Thèse pour l'obtention du diplôme de magistère en Biologie algérienne. 105p.
134. Mongomene, J. Z. 1979. Epidemiology of *Klebsiella* and hospital-associated infections *Rev. Infect. Dis.* 1: 736-753.
135. Morris, J.A., Khettry, A., Seitz, E.W., 1979. Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils. *J. Am. Oil Chem Soc.*, 56 : 595-603

136. Murray, P.R., Baron E.J., Jorgensen, J.H. Pealler, A .M., Yolken R.H. 2003. Clinical Microbiology 8th Edition.
137. Nakamura, C.V., Ueda-Nakamura, T., Bando, E., Melo, A.F.N., Cortez, D.A.G., Filho, B.P.D., 1999. Antibacterial Activity of *Ocimum gratissimum* L. Essential Oil. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 94(5) : 675-678.
138. Nakatomi, Y., Sugiyama. 1998. A rapid latex agglutination assay for the detection of penicillin binding protein 2; *Microbiol Immunol.* 42: 793-743.
139. Nataro, J. P., J. B. Kaper. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli* *Clin. Microbiol. Rev.* 11/ 192-201.
140. National committee for Clinical laboratory Standards 2001. Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Document M100-S10. National Committee for Clinical laboratory Standards Wayne Pa.
141. Nazina, T. N., T. P. Tourova., A. B. Poltarau, E. V. Novikorei, A. A. Grigoryan, A E Ivanova., M. Lysenko., V. V. Petrunyaka, G. A. Osipov., S. S. belyaev, M. V. Ivanov., 2001. Taxonomic study of aerobic thermophilic bacilli: descriptions of *Geobacillus subterraneus* gen. nov. and *Geobacillus uzenensis* sp. Nov. from petroleum reservoirs and transfer *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermotenulatus*, *Bacillus thermoleovarans*, *Bacillus kaustophilus*, *Bacillus thermoglucosidasius*, *Bacillus thermodenitrificans* to *Geobacillus* as *Geobacillus stearothermophilus*, *Geobacillus thermocatenulaties*, *Geobacillus thermoleovorans*, *Geobacillus kautophilus*, *Geobacillus thermoglucosidasius*, *Geobacillus thermodenitrificans*. *Int. Syst. Erol. Microbiol.* 51: 433-446.
142. Negishi, H. I, Matsuda, T., Okuyawa K., Sutoh, S. Y. Fujioka S. Fujimoto, 1998, *Staphylococcus aureus* causing chorioamnionitis and fetal death with intact membranes at term. A case report *.J.Reprod. Med.* 43: 397-400.

143. Nguéfack, J., Lekagne Dongmo, J.B., Dakole, C.D., Leth, V., Vismer, H.F., Torp, J., Guemdjom, E.F.N., Mbeffo, M., Tamgue, O., Fotio, D., Amvam Zollo, P.H., Nkengfack, A.E., 2009. Food preservative potential of essential oils and fractions from *cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against mycotoxigenic fungi. *Int. J. of Food Microbiology*, 131 : 151-156.
144. Nguéfack, J., Leth, V., Lekagne-Dongmo, J.B., Torp, J., Amvam Zollo, P.H., Nyasse, S., 2008. Use of Three Essential Oils as Seed Treatments Against Seed-borne Fungi of Rice (*Oryza sativa* L.). *American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci.*, 4(5) : 554-560.
145. Niimura, Y. E. Koh, F. Yanagida, K. I. Suzuki, K. Komagata, M. Kozaki, 1990. *Amphibacillus xylanus* gen. nov., sp. Nov., a facultatively anaerobic spore-forming Xylan digesting bacterium which lacks cytochrome quinone and catalase. *Int. J. Syst. Bacteriol* 40: 297-301.
146. Nóbrega de Almeida, R., Agra, M.de.F., Maior, F.N.S., Pergentino de Sousa, D., 2011. Essential Oils and Their Constituents : Anticonvulsant Activity. *Molecules*, 16 : 2726-2742.
147. Noudogbessi J.P., Etudes chimiques et activités biologiques d'extraits de végétaux aromatiques d'origine béninoise. Thèse de doctorat unique UAC et Université Blaise Pascal Clermont-Ferrand. (2009) 329p.
148. Nwinyi, O.C., Chinedu, N.S., Ajani, O.O., Ikpo, C.O., Ogunniran, K.O., 2009. Antibacterial effects of extracts of *Ocimum gratissimum* and piper guineense on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Afr. J. of Food Science*, 3(1) : 22-25.
149. Odds, F.C. 1988. *Candida and Candidosis*. 2nd Ed. Baillière Tindal, London, UK
150. Oladimeyi, F.A., Orafidiya, O.O., Ogunniyi, T.A.B., Adewunmi, T.A., 2000. Pediculocidal and scabicide properties of *Lippia multiflora*. *J. Ethnopharmacol.*

72 : 305-311.

151. Olsen, S. J., L. C. MacKinnon, J. S. Goulding, N. H. Been, L. Slutsker, 2000. Surveillance for food borne disease out breaks United States, 1993-1997. *Morb. Mortal. Wkly Rep. eDC Surveill Summ* 49: 1-62.
152. Orafidiya, L.O., Fakoya, F.A., Agbani, E.O., Iwalewa, E.O., 2005. Vascular Permeability-Increasing Effect of the Leaf Essential Oil of *Ocimum gratissimum* Linn as a Mechanism for its Wound Herling property. *Afr. J. Trad. CAM*, 2(3) : 253-258.
153. Oussou, K.R., Yolou, S., Boti, J.B., Guessennd, K.N., Kanko, C., Ahibo, C., Casanova, J., 2008. Etude Chimique et Activité Antidiarrheique des Heuiles Essentielles de Deux Plantes Aromatiques de la Pharmacopée Ivoirienne. *European J. of Scientific Res.*, 24(1) : 94-103.
154. Oussou, K.R., Yolou, S.F., Tue Bi, B., Kanko, C., Boti, J.B., Ahibo, C., Casanova, J., 2010. Etude Chimique Bio-Guidée de L'huile Essentielle de *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae). *European J. of Scientific Res.*, 40(1) : 50-59.
155. Owolabi, M.S., Ogundajo, A., Lajide, L., Oladimeji, M.O., Setzer, W.N., Palazzo, M.C., 2009. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Lippia Multiflora* Moldenke from Nigeria. *Rec. Nat. Prod.*, 3(4) : 170-177.
156. Pascual, M.E., Slowing, K., Carretero, E., Sanchez, M.D., Villar, A., 2001. *Lippia* : Traditional uses, chemistry and pharmacology : a Review ». *J. Ethnopharmacol.*, 76 : 201-214.
157. Patterson, D. L., V. L. Yu. 1999. Editorial response extended- spectrum β -Lactamases: a call for improved detection and control. *Clin. Infect. Dis.* 29: 1419-1422.
158. Pechère, JC., Acar, J., Armengaud, M., Grenier, B., Moellering, Jr.R., Sande, M.,

- Waldvogel, F., Zinner, S., 1994. Les Infections 3^{ème} Edt. Paris Malvine : 198p.
- 159.** Pedroso, R.B., Ueda-Nakamura, T., Dias Filho, B.P., Cortez, D.A.G., Cortez, L.E.R., Morgado-Diaz, J.A., Nakamura, C.V., 2006. Biological Activities of Essential Oil Obtained from *Cymbopogon citratus* on *Crithidia deanei*. Acta Protozool., 45 : 231-240.
- 160.** Pelissier, Y., Marion, C., Casadebaig, J., Milhau, M., Kone, D., Lokou, G., Nanga, Y., Bessière, J.M., 1994. A chemical, bacteriological, toxicological and clinical study of essential oil of *Lippia multiflora*Moldenke. 6 : 623-630.
- 161.** Phelan, J. A., B. R. Sltzman, G. H. Friedland, R. S. Klen. 1987. Oral findings in patients, with acquired with immuno deficiency syndrome Oral Surg. 64: 50-56.
- 162.** Politeo, O., Jukic, M., Milos, M., 2007. Chemical Composition and antioxidant capacity of free volatile aglycanes from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. Food Chemistry, 101 : 379-385.
- 163.** Popoff, M. T., J. Bockemuhl, F. W. Brenner, L. L. Ghesling. 2001. Supplement 2000 (n° 44) to Kauffmann White scheme. *Res. Micribiol.* 152: 907-909.
- 164.** Poschum, R. A. Fischer, U. Uuman. 2000. Expression of putative virulence factors by clinical isolates of *Klebsiella planticola*. *J. Med. Microbiol* 49: 115-119.
- 165.** Prakash, B., Shukla, R., Singh, P., Mishra, P.K., Dubey, N.K., Kharwar, R.N., 2011. Efficacy of chemically characterized *Ocimum gratissimum* L. essential oil as an antioxidant and a safe plant based antimicrobial against fungal and aflatoxin B₁ contamination of spices. Food Res. Int. 44 : 385-390.
- 166.** Prescott, Harley, Klein, Sherwood, Woolverton, Microbiologie de Boeck, 2010. 3^{ème} Edt, 1088 pages.
- 167.** Proctor, R. A. C. Peters. 1998. Small colony variants in Staphylococcal infections: diagnostic and therapeutic implantations. *Clin. Infect. Dis.* 27: 419-423.

- 168.** Proctor, R. A., B. Kahl, C. von Eiff, P. E. Vandaux, D. P. Lew, G. Peters. 1998. Staphylococcal small-colony variants have novel mechanisms for antibiotic resistance *Clin. Infect. Dis.* 27: (Suppl 1): S68-S74.
- 169.** Proctor, R.A., and G. Peters. 1998. Small colony variants in *Staphylococcal* infections diagnostic and therapeutic implications. *Clin Infect. Dis* 27: 419-423.
- 170.** Qadri, S. M. H., Y. Ueno, H. Imambacus, E. Almodowr. 1994. Rapid detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* by Crystal MRSA ID System. *J. Clin. Microbiol.* 32: 1830-1832.
- 171.** Rahman, A., Kang, S.C., 2009. In vitro control of food-borne and food spoilage bacteria by essential oil and ethnal extracts of *Lonicera japonica* Thunb. *Food Chemistry*, 116 :670-675.
- 172.** Raina, V.K., Srivastava, S.K., Aggarwal, K.K., Symasundar, K.V., Kumar, S., 2001. Essential oil composition of *Syzygium aromaticum* leaf from Little Andaman, India. *Flavour fragr. J.*, 16 : 334-336.
- 173.** Ratjen, F., G.Comes, K. Paul., H. G. Posselk, T.O. Wagner, K. harms, and the German Board of the European Registry for cystic Fibrosis (ERCF). 2001. Effect of continuous antistaphylococcal therapy on rate of *Pseudomonas aeruginosa* acquisition in patients with cystic fibrosis. *Pediatr. Pulmonol.* 31: 13-16.
- 174.** Reddy, K.R.N., Reddy, C.S., Muralidharan, K., 2009. Potential of botanicals and biocontrol agents on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* infecting rice grains. *Food Control*, 20 : 173-178.
- 175.** Reeves, M. W., G. M. Evins, A. A. Heiba, B. D. Plikaytis J. J. Farmer III. 1989. Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other Salmonellaeas

shown by multilocus enzyme electrophoresis and proposal of *Salmonella bongoricomb* nov. *J. Clin. Microbiol.* 27: 313-320.

- 176.** Reichling, J., Schnitzler, P., Suschke, U., Saller, R., 2009. Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties- an Overview. *Forsch Komplementmed*, 16 : 79-90.
- 177.** Richards, M. J., J. R. Edwards, D. H. Culver, R. P. Gaynes. 1999. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States, *Crit. Care Med.* 27: 887-892.
- 178.** Rohrer, M., M. Tschierske, R. Zbinder, B. berger-buchi. 2001. Improved methods for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 20: 267-270.
- 179.** Sahouo, G.B., Tonzibo, Z.F., Boti, B., Chopard, C., Mahy, J.P., N'guessan, Y.T., 2003. Anti-Inflammatory and Analgesic Activities : Chemical Constituents of Essential Oils of *Ocimum gratissimum*, *Eucalyptus citriodora* and *Cymbopogon giganteus* Inhibited Lipoxygenase L-1 and Cyclooxygenase of PGHS. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.*, 17(2) : 191-197.
- 180.** Sajjadi, S.E., 2006. Analysis of the Essential Oils of two cultivated Basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. *DARU*, 14(3).
- 181.** Saliu, B.K., Usman, L.A., Sani, A., Muhammad, N.O., Akolade, J.O., 2011. Chemical Composition and Antibacterial (Oral Isolates) Activity of leaf Essential Oil of *Ocimum gratissimum* L. Grown in North Central Nigeria. *Int. J. of Current Res.*, 3 (3) : 22-28.
- 182.** Schlievert, P. M., K. N. Shands, B. B. dan, G. P. Schmid, R. D. Nishimura, 1981. Identification and characterization of an exotoxin from *Staphylococcus aureus* associated with toxic shock syndrom. *J. Infect. Dis.* 143: 509-516.

183. Shafique, M., Khan, S.J., Khan, N.H., 2011. Study of Antimicrobial Activity of Sweet Basil (*Ocimum basilicum*) Essential Oil. *Pharmacologyonline*, 1 : 105-111.
184. Shandera, W. X., C. O. Tacket, P. A. Blake. 1983. Food Poisoning due to *Clostridium perfringens* in the United States *J. Infect. Dis* 147: 187-170.
185. Sherman, S. E. Klan B. A. M. Clane. 1994. *Clustridium perfringens* type A enterotoxin inducas tissue damage and fluid accumulation to rabbit ileum *J. Diarrhocal Dis Rev.* 12: 200-207.
186. Shida, O.,H. Takagi., K. kadowaki., K. komagata, 1996. Proposal for two new genera, *Brevibacillus* gen. nov. and a new *Bacillus* gen. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46:939-946.
187. Sikkema, J., De Bront, J.A.M., Poolman, B., 1995. Mechanims of membrane toxicity of hydrocarbons. (1995) *Microbiological Reviews*, 59(2) : 201-222.
188. Silva, N.C.C., Fernandes, J.A., 2010. Biological properties of medicinal plants : a review of their antimicrobial activity. *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 16(3) : 402-413.
189. Simić, A., Soković, M.D., Ristić, M., Grujić-Jovanović, S., Vukojević, J., Marin, P.D., 2004. The Chemical Composition of some Lauraceae Essential Oil and their Antifungal Activities. *Phytother. Res.*, 18 : 713-717.
190. Slifkin, M., L. P. merkov, S. A. Kreuz berger, C. Engwall M. Pardo. 1971. Charactezation of CO₂ dependent microcology variants of *Staphyloccus aureus*. *Am. J. Clin. Pathol.* 56: 584-592.
191. Slutsker, L., A. A. Ries, K. D. Greene, J. G. Wells, L. Hutwagner, P. M., Griffin. 1997. *Escherichia coli* O/ 157 H7 diarrhea in the United Stadtes. Chemical and epidemiologie features. In the *Ann. Intern. Med.* 126: 505-513.

192. Smith-Palmer, A., Stewart, J., Fyfe, L., 2001. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18 : 463-470.
193. Sohounhloué, D.K., Dangou, J., Gnancadja Houenon, J., Gnomhossou, B., 1995. Etude de la composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Clausena anista* (WILLD.) OLIV. (RUTACEAE) du Bénin. *Annales de l'université de Ouagadougou*, B(III).
194. Sohounhloué, D.K., Dangou, J., Gnomhossou, B., Garneau, F.X., Gagnon, H., Jean, F.I., 1996. Leaf Oils of Three *Eucalyptus* Species from Benin : *E. torellina* F. Muel, *E. citriodora* Hook. And *E. tereticornis* Smith. *J. Essent. Oil Res.*, 8 : 111-113.
195. Soković, M., Marin, P.D., Brkić, D., van Griensven, L.J.L.D., 2007. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of Ten Aromatic Plants against Human Pathogenic Bacteria. *Food Global Science Books*.
196. Soll, D. R., 1992. High frequency switching in *Candida albicans*. *Clin. Microbiol. Rev* 5: 183-203.
197. Spring S., W. Ludurig, M. C. Marquez, A. Ventose, K. H. Schleifer, 1996. *Halobacillus* gen. nov. with descriptions of *Halobacillus litoralis* sp. Nov. and *Halobacillus trueperi* sp. Nov. and transfer of *Sporosarcina halophila* to *Halobacillus halophilus* comb. Nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46: 492-496.
198. Stevens D. L., B. M. Laine, J. E. Mitten. 1987. Comparison of single and combination antimicrobial agents for prevention experimental gas gangrene caused by *Clostridium perfringens*. *Antimicrob. Agents Chemother* 31 : 312-316.
199. Stevens, D. L., K. A. Maier, B. M. Laine *et al.* 1987. Comparison of Clindamycin, rifampin tetracycline metronidazole and *Penicillium* for efficacy in prevention of experimental gas gangrene due to *Clostridium perfringens* *J. Infect. Dis.* 155: 220-

224.

- 200.** Suzuki, K.,M. Goodfellow, A.G. O'Donnell. 1993. Cell envelopes and classification. p 195-250 In M. Goodfellow and O'Donnell (Ed) handbook of New Bacteriol. Systematics. Academic Press London, UK.
- 201.** Talalaj, S., Bissangou, M.F., Ouamba, J.M., 1997. Valorisation chimique de quelques espèces aromatiques et médicinales du Congo : *Ageratum conyzoides* L., *Chromolaena odorata* King et Robinson, *Hyptis suaveolens* Poit et *Lippia multiflora* Moldenke. Pharm. Méd. Trad. Afr., 9 : 70-80.
- 202.** Tatsadjieu, L.N., Essia Ngang, J.J., Ngassoum, M.B., Etoa, F.X., 2003. Antibacterial and antifungal activity of *Xylopiya aethiopica*, *Monocloria myristica*, *Xanthoxylum xanthoxyloides* and *Xanthoxylum liprieurii* from Cameroun. Fitoterapia, 74 : 469-472.
- 203.** Tatsadjieu, N.L., Dongmo, P.M.J., Ngassoum, M.B., Etoa, F-X., Mbofung, C.M.F., 2009. Investigations on the essential oil of *Lippia rugosa* from Cameroon for its potentiel use as antifungal agent against *Aspergillus flavus* Link ex. Fries. Food Control, 20 : 161-166.
- 204.** Thomas, S.R., K. M. Gyi., H. Gaya., M. E. Hudson. 1998, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, impact at national cystic fibrosis centre J. Hosp. Infect. 40:203-209.
- 205.** Threlfall, E. J., L. R. Ward. 2001. Decreased susceptibility to ciprofloxacin in *Salmonella enterca sentype Typhi* , United Kingdo Emerg. Infect. Dis. 7: 448-450.
- 206.** Tierno, P.M., Jr , and B.A. Hanna, 1989. Ecology of toxic shock syndrome toxin I by materials of medical interest. *Rev. Infect. Dis.* 11 (Suppl1): S 182-S186.
- 207.** Tomar, U.S., Daniel, V., Shrivastava, K., Panwar Mangal, S., Pant, P., 2009. Comparative Evaluation and Antimicrobial Activity of *Ocimum basilicum* LINN.

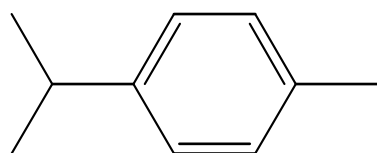
- (Labiatae). Journal of Global Pharma Technology.
208. Touzel J. P., M. O. Donohue, P. Debeire, E. Samain, C. Breton aerobic thermophilic Xyla-degrading bacterium isolated from soil. *Int. Syst. Evol. Microbiol.* 50: 315-320.
209. Tronchin G., J.P. Bouchara, V. Anneix, R. Robert et J. M. Senet. 1991. Fungal cell adhesion molecules in *Candida albicans*. *Eur . J. Epidemiol* 7 : 23-33.
210. Turnbull P. C. B., P. J. Jackson, K. K. Hill, A. B. Kolst, P. Keim, D. J. Beecher. 2002. Longstanding taxonomic enigmas with the *Bacillus cereus* group are on the verge of being resolved by far-reaching molecular developments. Forecasts on the possible outcome by an ad'hoc team p. 23-36 In. R. C. W. Berkely, M. Heyndrieck, N. A. Logan and P. de Vos (Ed). *Application and Systematics of Bacillus and Relatives*. Blackwell Science, Oxford, united Kingdon.
211. Turner, J.C., A. Fox., K. Fox, C. Addy, C.Z. Garrison, B. Herron, C. Brunson et G Betcher 1993. Role of Group C beta-hemolytic *Streptococci* in pharyngitis epidemiologic study of clinical features associated with isolation of Group C *Streptococci*. *J. Clin. Microbiol.* 31:808-811.
212. Twum-Danso, K. C. Grant, S. A. Al Suleiman, S. Abdel-Khader, M. S. Al-Awami, H. Al-Breiki, S. Taha, A. A. Ashoor, L. Wosornu. 1992. Microbiology of post-operative wound infection: a prospective study of 1970 wounds. *J. Hosp. Infect.* 21: 29-37.
213. Upadhyay, R.K., Dwivedi, P., Ahmad, S., 2010. Screening of Antibacterial Activity of Six Plant Essential Oils Against Pathogenic Bacterial Strains. *Asian Journal of Medical Sciences*, 2(3) : 152-158.
214. Wain, M., B. J. Tindall, P. Schumann, K. Ingvorsen. 1999. *Gracilibacillus* gen. nov. with description of *Gracilibzcellus halotobians* gen. nov./ transfer of *Bacillus dipsosauricto Gracilibacillus dipsosauri* conib. Nov. as *Salibacillus salivigens* comb. Nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49: 821-831.

215. Wallis, J. C. Leon, F. Alvarez-Lerma. 1997. Nosocomial bacteremia in critically ill patients: a multi-center study evaluating epidemiology and prognosis *Clin. Infect. Dis.* 24: 387-395.
216. Welch, D. F. 1991. Applications of cellular fatty acid analysis. *Clin. Microbiol. Rev.* 4: 422-438.
217. Wendakoon, C.N., Sakaguchi, M. 1993. Combined Effect of Sodium chloride and cloveon and biogenic amine formation of *Enterobacter aerogenes* in mackerel muscle extract. *J. Food Protect.* 56, 410-413.
218. Whiley, R.A., L.M.C. Hall, J.M. Hardie, D. Beighton. 1999. A study of small colony beta- haemolytic. Lancefield Group C *Streptococci* within the anginosus group: description of *Streptococcus constellanus* sub sp pharyngis sub sp nov, associated with the human throat and pharyngitis. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49: 1443-1449.
219. WHO, 2002. Food safety and Food-borne illness. World health organization Fact Sheet 237 revised January Geneva.
220. Wingard J. R., T. D. Dick, W. G. Merz, G. R. Sandford R. Saral, W. H. Burns 1982. Difference in virulence of clinical isolates of *Candida tropicalis* and *Candida albicans* in mice *Infect Immun.* 37: 833-836.
221. Wingard, J. R., W. G. Merz, M. G. Rinaldi, T. R. Johnson, J. E. Karp, R. Saral. 1991. Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole N. *Engl. J. Med.* 325: 1274-1277.
222. Wisotzkey, J. D., P. Justshuk, Jr., G. E. Fox, G. Deinhard, K. Poralla. 1992. Comparative sequence analyses on the 16S rRNA (rDNA) of *Bacillus cycloheptanicus* and proposal for creation of a new genus *Alicyclobacillus* gen nov. *Int. J. Syst. Bacteriol* 42: 263-269.

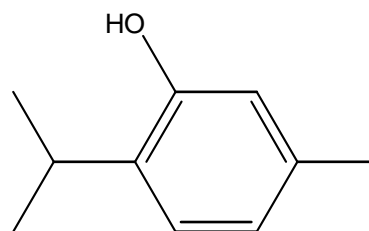
223. Zaitsev, G. I. V. Tsitko, F. A. Rainey, Y. A. Trotsenko, J. S. Uotila, E. Stackebrandt, M. S. Salkinoja-Salonen. 1998. New aerobic ammonium dependent obligately oxalotrophic bacteria: description of *Ammoniphilus oxalivorrans* gen. nov., sp. Nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48; 151-163.
224. Zyani, M., Mortabit, D., El Abed, S., Remmal, A., Koraichi, S.I., 2011. Antifungal activity of Five Plant Essential Oils against wood decay isolated from an old house at the Medina of Fez. *Int. Res. J. of Microbiol.*, 2(3) : 104-108.

ANNEXES

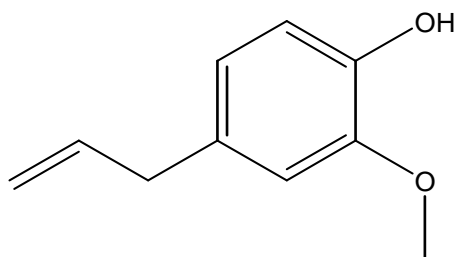
Annexe 1 : Structure chimique de quelques molécules isolées de nos huiles essentielles



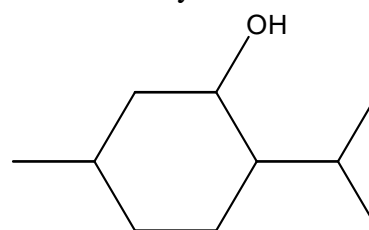
para-cymène



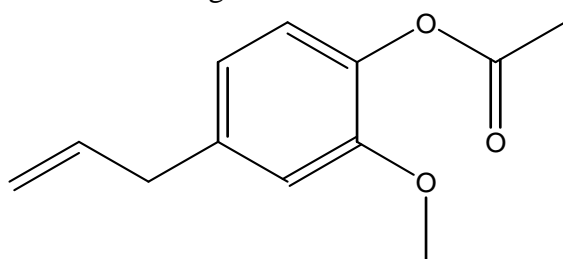
thymol



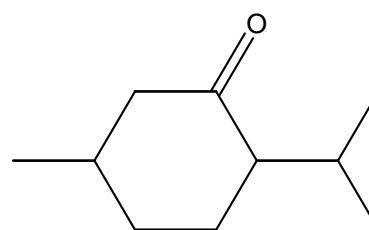
eugénol



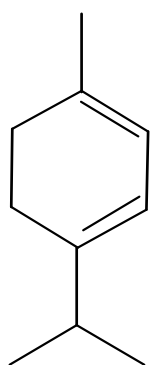
menthol



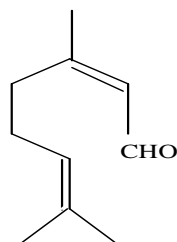
eugénol acétate



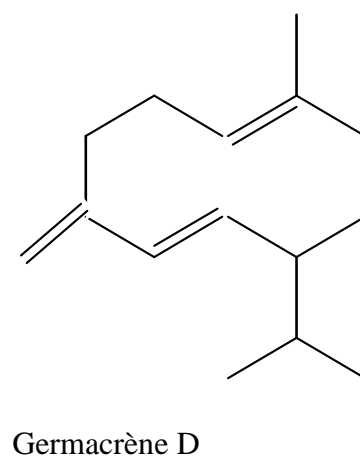
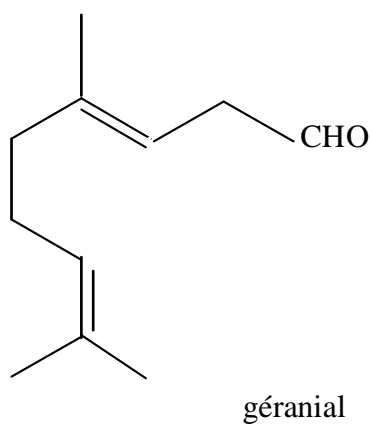
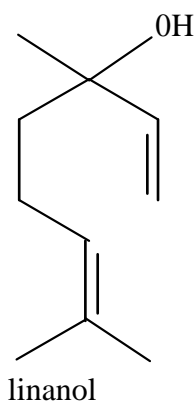
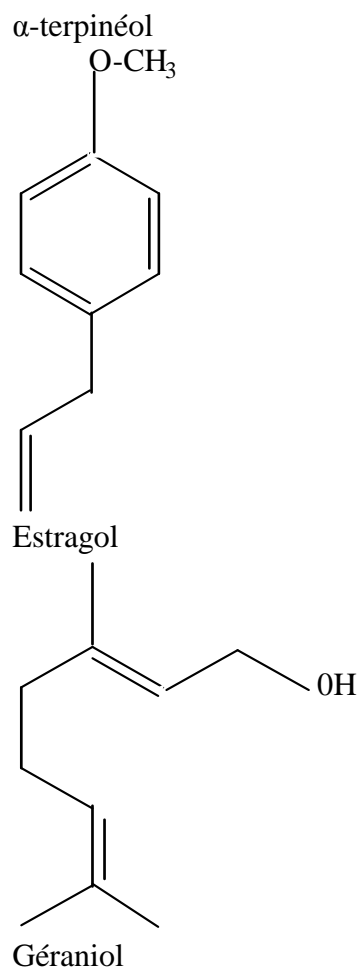
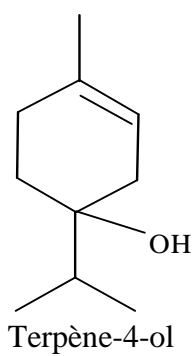
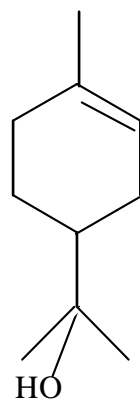
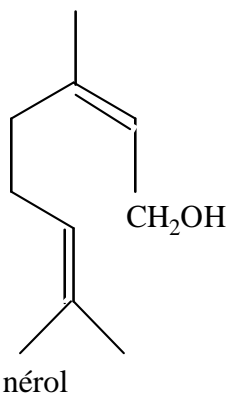
-menthone

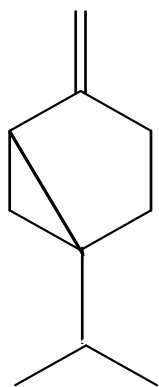


α -terpinène

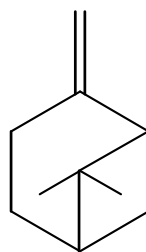


néral

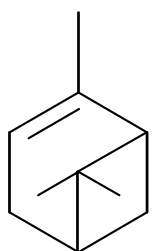




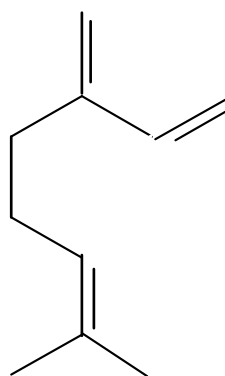
sabinène



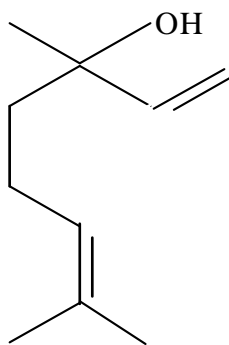
β-pinène



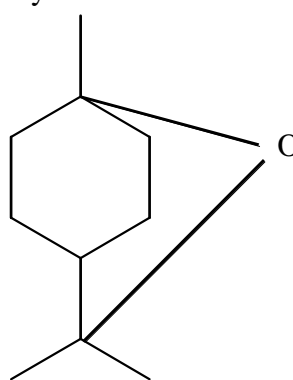
α-pinène



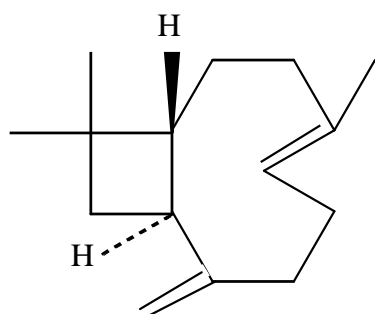
Myrcène



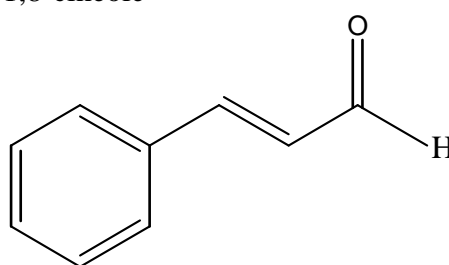
linalol



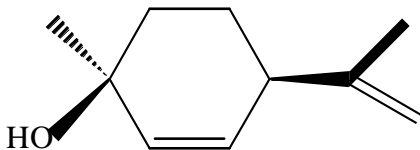
1,8-cinéole



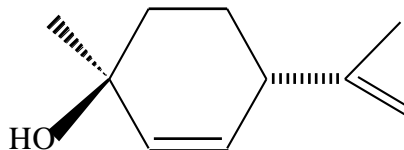
β-caryophyllène



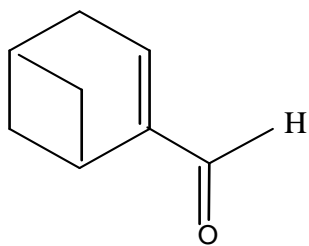
Aldéhyde cinnamique



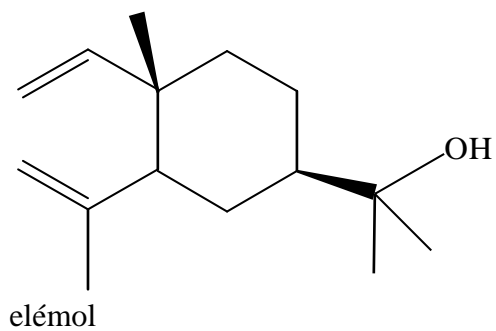
cis-p-mentha-2,8-dienol



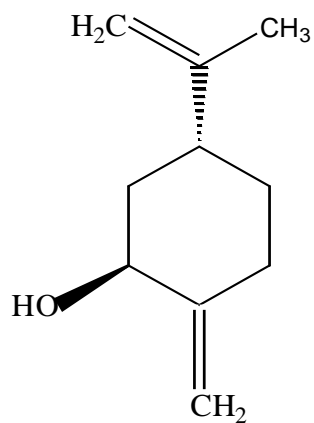
Trans-p-mentha-2,8-dienol



myrténal



élémol



Trans isocarvéol

Annexe 2 : Publications

1.- Etude chimique et activités antimicrobiennes d'extraits volatils des feuilles et fruits de *Xylophia aethiopica* (DUNAL) A. Richard contre les pathogènes des denrées alimentaires. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie* (2010) 029 : 19-27

2.- Chemical study and antimicrobial activities of volatile extracts from fresh leaves of *Crassocephalum rubens* (Juss & Jack) S. Moore against food-borne pathogens. *Scientific Study & Research* (2010) 11(3), 343-351

3.- Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils (EO) extracted from leaves of *Lippia rubosa* A. Chev against foods pathogenic and adulterated microorganisms. *African Journal of Microbiology Research* (2012) 6(26), 5496-5505

4.- Chemical composition and antimicrobial activities of *Cinnamomum zeylanicum* Blume dry leaves essential oil against food-borne pathogens and adulterated microorganisms. *ISCA-Journal of Biological Sciences* (2012) in press.