



Evaluation de l'activité bactériostatique d'huile essentielle de *la Lavandula Officinalis* vis-à-vis des souches d'origine clinique résistantes aux antibiotiques (Evaluation of the bacteriostatic activity of the essential oil of *Lavandula Officinalis* towards of the original strains resistant to antibiotics clinic)

N. Chahboun^{1,2*}, A. Esmail^{1,3}, H. Abed¹, M. Barrahi¹, R. Amiyare¹, M. Berrabeh⁴ H. Oudda², M. Ouhssine¹

¹ Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Qualité (LABEQ), Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, BP 133, 14000 Kenitra, Maroc.

² Laboratoire de procédés de séparation, Département de chimie, faculté des sciences, université Ibn Tofaïl 133, 14000 Kenitra, Maroc.

³ Department of medical microbiology, Faculty of Science, Ibb University, Ibb, Yemen.

⁴ Laboratoire du Chimie du Solide Minéral et Analytique, Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Mohammed 1er, Oujda, Morocco

Received 14 Nov 2014, Revised 15 Feb 2015, Accepted 15 Feb 2015

*Corresponding author: E-mail: chahboun.nabila@gmail.com

Abstract

The yield, chemical composition and antibacterial activity of essential oil extracted from *Lavandula officinalis* leaves growing in Morocco were studied. The average content of essential oil from the leaves of this species is 1.12% relative to the dry matter. Fifty-three compounds were identified by GC / MS; 3-benzylsulfonyl-2,6,6-trimethylbicyclo(3.1.1) heptane(23.61%), Linalyl phenyl acetat (15.98%), Campholen aldehyd (9.17%), Borneol (9.3%), Eucalyptol (7.77%) and gamma Caldinen(11.64%) are the main chemical compounds of this oil. A strong inhibited activity against seven microorganisms is obtained.

Keywords: Essential oil, *Lavandula officinalis*, chemical composition antibacterial activity, Morocco

Résumé

Le rendement, la composition chimique et les propriétés antibactériennes de l'huile essentielle extraite de *Lavandula Officinalis* du Maroc ont été étudiés. La teneur moyenne en huile essentielle des feuilles de cette espèce est de 1.12% par rapport à la matière sèche. Cinquante trois composés ont été identifiés par GPC/MS ; 3-benzylsulfonyl-2,6,6-trimethylbicyclo (3.1.1) heptane (23.61%), Linalyl phenyl acetat (15.98%), %, Campholen aldehyd (9.17%), Bornéol (9.3%), Eucalyptol (7.77%) et gamma Caldinen (11.64%) , constituent les principaux composés chimiques de cette huile. Une forte activité inhibitrice vis-à-vis des microorganismes utilisés à été enregistrée.

Mots clés : Huile essentielle, *Lavandula Officinalis*, composition chimique, propriétés antibactérienne, Maroc.

1. Introduction

Depuis leur découverte, les antibiotiques ont été le principal moyen de défense dans le traitement des infections bactériennes. Cependant, leurs effets sont désormais menacés parce que leur utilisation aveugle a déclenché un phénomène de résistance aux antibiotiques [1], et dans de nombreux cas, ceux-ci n'agissent simplement plus. La résistance aux antibiotiques est un mécanisme naturel et prévisible qui se réfère à une situation où un antibiotique qui aurait normalement dû arrêter le développement d'un certain type de bactéries n'est plus capable de le faire [2].

Aujourd'hui où la résistance des germes aux antibiotiques devient de plus en plus préoccupante, les huiles essentielles (HE) montrent leur efficacité.

Les huiles essentielles sont des produits complexes, contenant pour la plupart plus d'une centaine de constituants (phénols, alcools, aldéhydes, esters, terpènes, cétones). Elles sont issues de plantes dites aromatiques et médicinales (PAM) [3-6].

Ces plantes (PAM) sont employées, soit sous leur forme naturelle comme aromate et en pharmacopée traditionnelle, soit pour en extraire les principes actifs recherchés par les industries pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires.

La lavande est l'une des plantes médicinales la plus utilisée au Maroc pour ses vertus thérapeutiques, elle existe à l'état naturel dans le Rif, le Moyen Atlas et le Haut Atlas.

La Lavande est un sous-arbrisseau de la famille des Labiées, Le genre se compose d'environ 28 espèces, qui sont dans la plupart d'origine méditerranéenne. Ce sous-arbrisseau est à tige et feuilles persistantes, il peut atteindre une longueur de 1 mètre, étroit vert pâle, s'étend du gris bleuâtre profond au vert à brun pâle, fleurs de couleur bleu – violet. D'autres variétés sont à fleurs blanches et roses [7,8]. L'ensemble de la plante est très aromatique comprenant fleurs et feuilles

La Lavande est employée comme expectorant, antispasmodique, désinfectant des plaies, contre les problèmes dermatiques, possède des propriétés antimicrobiennes et anti-carcinogènes, sédatif, antidépresseur, antioxydant, anti-inflammatoire et insecticide. [7-10]

Notre objectif dans ce travail est d'étudier l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la Lavande sur la croissance des souches bactériennes qui sont à l'origine de plusieurs infections (urinaire, intestinale, respiratoire, etc...).

2. Matériel et méthodes

1.2. Matériel végétal

La plante "Lavandula officinalis" a été récolté durant la période d'été, le matériel végétal a été lavé au laboratoire et séché à l'obscurité dans un endroit bien aéré, à la température ambiante. Les feuilles isolées du reste de la plante se sont conservées dans des sacs propres dans un endroit aéré.

2-2. Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydro-distillation dans un appareil de type Clevenger [11]. Trois distillations ont été réalisées par ébullition pendant 3h de 200g de matériel végétal avec un volume de 1L d'eau distillée dans un ballon de capacité 2L surmonté d'une colonne de 60cm de hauteur reliée à un réfrigérant. Le rendement en huile essentielle a été déterminé par rapport à la matière sèche. Après récupération, l'huile essentielle a été stockée à 4°C à l'obscurité en présence de sulfate de sodium anhydre.

2.3. Analyse chromatographique

L'huile essentielle est analysée en utilisant la chromatographie en phase gazeuse (Trace GC ULTRA) couplée à un spectre de masse (Polaris Q MS à trappe ionique), équipé d'une colonne capillaire VB-5 (Methylpolysiloxane à 5% phényle) le gaz vecteur est l'Hélium, la Température du four est programmée à 200°C pendant 6min augmentée jusqu'à 300°C avec une vitesse de 20°C/min pendant 10min.

2.4. Microorganismes étudiés

Dans cette étude, les microorganismes utilisés sont : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus Vulgaris*, Entérocoque, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* et *klebsiella pneumonia*, les souches choisies au cours de cette étude sont à l'origine de plusieurs infections (urinaire, intestinale, respiratoire, etc...) [12,13]. Ces germes présentent généralement une résistance aux antibiotiques, elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance.

2.5. Procédure microbiologique

2.5.1. Méthode de diffusion sur les disques stériles

Nous avonsensemencé par inondation une gélose Muller-Hinton avec une souche bactérienne en bouillon nutritif de titre connu. Puis nous avons organisé les disques stériles sur la gélose. Ces disques sont formés par des papiers filtre stérilisés de 6 mm de diamètres. Ces disques seront imbibés par des solutions d'huile

essentielle. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, des zones d'inhibition apparaissent autour de ces disques stériles. Les essais sont répétés trois fois.

2.5.2. La méthode de dilution en série

Une mise en émulsion de l'huile essentielle a été préalablement réalisée grâce à une solution d'agar agar à 0,2 % [14,15] ; étant donné que cette huile n'est pas miscible à l'eau et donc aux milieux de culture. Elle permet d'obtenir, dans le milieu une répartition homogène des composés à l'état dispersé et augmenter au maximum le contact germe/composé. L'huile essentielle est diluée d'abord au 1/10 dans la solution agar agar. Des quantités de cette dilution ont été ajoutées aux tubes à essais contenant la gélose nutritive pour les bactéries. Ils sont ensuite stérilisés, refroidis à 45°C et versés dans des boîtes de pétri. Les concentrations finales en huiles essentielles sont 1/100, 1/250, 1/500, 1/1000 et 1/5000 (V/V). Des témoins contenant le milieu de culture plus la solution d'agar agar à 0,2 % seule, sont également préparés. L'ensemble se fait par stries à l'aide d'une anse de platine calibrée afin de prélever le même volume d'inoculum. Ce dernier se présente sous forme de bouillon de culture de 24 heures pour les bactéries. La température d'incubation est de 37°C pendant 24h. Chaque essai est répété trois fois afin de minimiser l'erreur expérimentale.

3. Résultats et Discussion

3.1. Rendement

Le rendement moyen en huile essentielle, extraite des fleurs de *Lavandula officinalis* est de 1.12% obtenu d'une prise d'essai de 200g constituée par des feuilles sèches.

Les résultats obtenus par LAIB et al. (2012) [16] et MOHAMMEDI et al. (2011)[17] indiquent que les fleurs sèches de la lavande provenant de deux régions d'Algérie présentent des teneurs en huile essentielle respectivement 1.36% et 2.01%. Ces variations de teneurs peuvent être dues à plusieurs facteurs notamment le degré de maturité des fleurs de *Lavandula officinalis*, l'interaction avec l'environnement (type de climat, sol), le moment de la récolte et la méthode d'extraction. [18]

3.2. Composition chimique

L'analyse de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* par chromatographie en phase gazeuse couplée d'un spectre de masse, a permis d'identifier 53 composés terpéniques (Tableau 1).

Les composants majeurs de cette huile sont : 3-Benzylsulfonyl-2, 6,6-trimethylbicyclo(3.1.1)heptane (23.61%), Linalyl phenyl acetat (15.98%), Campholen aldehyd (9.17%), Bornéol (9.3%), Eucalyptol (7.77%) et gamma Caldinen (11.64%).

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par Verma et al. [19] ils ont analysé la composition des fleurs de *Lavandula officinalis* cultivées à Uttarakand (Inde), ils ont identifié 37 composés mono terpéniques : les composés majeurs étaient : Linalyl acétate (47,56%), Linalool (28,06%), lavandulyl acétate (4,34%) et α -terpinéol (3,7%). Kulevanova et al. [20] qui ont étudié la composition chimique des huiles essentielles des fleurs de *Lavandula officinalis* collectées de la montagne de KOZJAK (MACEDONIA). Ils ont trouvé 32 constituants avec une dominance de Linalool (25,7%), Linalyl acétate (23,2%) et lavandulyl acétate (12,4%) avec une dominance des composants mono terpéniques et la présence des hydrocarbures sesquiterpéniques et ses dérivés oxygénés.

Tous ces travaux montrent que la composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *Lavandula officinalis* cultivée dans de nombreuses régions du monde, présente une prédominance des composés mono terpéniques dans la plupart des cas mais avec des teneurs différentes.

Cette différence de composition est due probablement à diverses conditions notamment l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le lieu de séchage, la température, et la durée de séchage, les parasites et la méthode d'extraction [21-24].

3-3. Activité antibactérienne

Il s'agit de déterminer le diamètre d'inhibition selon la méthode de diffusion sur les disques stériles. Nous avons testé l'effet anti de l'huile essentielle de la lavande, sur sept souches bactériennes.

Les résultats expérimentaux présentés dans le Tableau 2 montrent que l'huile essentielle de la lavande extraite est active sur toutes les souches à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*.

Tableau 1: Composition chimique de l'huile essentielle de *Lavandula Officinalis* du Maroc.

Constituants	Temps de rétention	%
α pinène	8.06	0.22
Camphène	8.53	0.23
Γ -terpinène	9.48	0.40
Bicyclo (3. 1.1) hept-2-ene, 2.4.4trimethyl	10.16	0.13
Δ^3 -carène	10.70	0.04
Benzène, 1-méthyle-4-(1-méthylethyl)	11.26	0.17
Eucalyptol	11.46	7.77
Cis ocimene	11.81	0.34
Trans ocimene	12.20	0.09
1,4-cyclohexadiene, 1-méthyle-4-(1-méthylethyl)	12.48	0.06
Myrtenol	12.96	0.05
Cyclohexane, 1-méthyle-4-(1-méthylethyl)	13.54	0.27
3-Benzylsulfonyl-2, 6,6-triméthylbicyclo(311) heptane	14.26	23.61
Thujyl alcool	14.54	0.95
Santolina triene	14.86	0.25
Campholène aldéhyde	15.51	9.17
3-carène-10-al	16.10	0.06
Bornéol	16.37	9.03
Trans Sabinène hydrate	16.70	0.70
ξ terpenyl acétate	17.23	4.58
5-méthyle-3-(1-méthylvinyl)-1,4-Hexadiene	17.75	0.17
Isobornyl formate	18.38	0.27
Nerol	18.59	0.38
2,6-Dimethyl-3,5,7-octatriene-2-ol, ,E,E-	18.81	0.13
Caryophyllene	18.98	0.11
Linalyl phenylacétate	19.56	15.98
Bornyle acétate	20.39	0.37
Bicyclo(221) heptane, 7,7-diméthyle-2-méthylène	20.65	0.52
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl	22.02	0.07
Irone	22.51	0.04
Santolina triene	23.05	1.31
5-méthyle-3-(1-méthylvinyl)-1,4-Hexadiene	23.73	1.60
Trans Caryophyllene	24.66	0.83
Elemene	25.22	0.04
Germacrene D	26.01	0.06
Naphtalène	26.57	0.12
Azulène	27.25	0.05
δ .3-Carene	27.37	0.08
Germacrene-D	27.57	1.01
1S,Cis-Calamenene	27.81	0.21
Caryophyllene oxide	28.66	0.07
Junipene	29.09	0.04
[No name]	29.41	0.09
Caryophyllene oxide	29.54	1.43
α -Guaiene	30.14	0.08
Toreyol	30.48	1.02

Isoledene	30.77	0.05
Γ-Cadinène	31.28	11.64
Cadino	31.60	0.59
Isolongifolene	31.83	0.12
Calarene epoxide	32.07	0.10
Azulène, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7,8-octahydro-14-diméthyle-7(1-méthylethyl)	32.43	3.19
Spiro(27)dec-4-en1,1,5,6,6,9,9-heptamethyl-10-méthylen	43.03	0.08

Les autres souches se comportent différemment avec des diamètres compris entre 10 et 25mm. La plus grande zone d'inhibition est observée dans le cas de *Proteus Vulgaris*, suivi par les souches d'*Enterobacter*, *Acinetobacter* et *Staphylococcus aureus*. Ces espèces sont donc les plus sensibles à cette huile. L'activité antimicrobienne de cette huile essentielle est due principalement à sa richesse en constituants suivants: L'eucalyptol, le camphre, le bornéol et les esters. En effet, tous ces composés sont connus pour leurs propriétés antimicrobiennes.

Tableau 2: Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *lavandula Officinalis*. (Zones d'inhibition en mm).

Gram negative	Zones d'inhibition en mm
- <i>Escherichia coli</i>	10
- <i>Enterobacter</i>	21
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–
- <i>Acinetobacter baumannii</i>	20
- <i>klebsiella pneumonia</i>	12
- <i>Proteus Vulgaris</i>	25
Gram positif	Zones d'inhibition en mm
- <i>Staphylococcus aureus</i>	20

Les résultats, obtenus par la méthode de dilutions en série sont réunis dans le tableau 3. Cette méthode montre que l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* présente une activité antibactérienne importante sur les souches testées, Cependant, les microorganismes étudiés n'ont pas manifesté la même sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle utilisée. Avec *Staphylococcus aureus* et *Acinetobacter baumannii*, nous avons constaté une grande sensibilité par rapport à *Proteus* et Entérocoque face à l'huile essentielle étudiée. Il est à noter également qu'*Escherichia coli* et *klebsiella pneumonia* ont présenté la même vulnérabilité à cette essence. *Proteus* est inhibé à partir de la concentration de 1/10.

Tableau 3: Activités antibactérienne de l'huile essentielle de la lavande cueillie au Maroc.

	1/10	1/25	1/50	1/100	1/200	1/300	1/500	T
Bactéries								
<i>E. coli</i>	–	–	–	+	+	+	+	+++
<i>Proteus Vulgaris</i>	–	+	+	+	+	+	+	+++
<i>Entérocoques</i>	–	–	–	+	+	+	+	+++
<i>Staphylocoques</i>	–	–	–	–	+	+	+	+++
<i>Klebsiella</i>	–	–	–	+	+	+	+	+++
<i>Acinetobacter B</i>	–	–	–	–	+	+	+	+++

T : témoin; (-) : inhibition ; (+) : croissance

Conclusion

Le présent travail a visé la détermination du rendement, de la composition chimique et des propriétés antibactériennes de l'huile essentielle de la lavande cultivée au Maroc.

L'analyse des huiles essentielles par CPG/SM montre que les composés majoritaires dans la phase organique des huiles essentielles de lavande sont benzylsulfonyle-2,6,6-triméthylbicyclo(31.1%)heptane(23.61%), Linalyl phenyl acetat (15.98%), C Campholen aldehyd (9.17%), Bornéol (9.3%), Eucalyptol (7.77%) et gamma Caldinen (11.64%). L'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle sur les bactéries gram positif et les bactéries gram négatif, a montré la présence d'une activité antibactérienne surtout contre *Acinetobacter baumannii* et le *Staphylococcus aureus*.

L'activité antimicrobienne observée est due essentiellement à la richesse de l'huile en constituants suivants : L' α -pinène, le camphre, le bornéol et les esters. Ces composés sont connus pour leurs propriétés antimicrobiennes.

Références

1. Lozniewski A., Rabaud C., Résistance aux antibiotiques, juillet 2010 CCLIN Sud-Est
2. Acar J.F., Moulin G., *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 25 (2006) 775-792.
3. Maihebiau P. La nouvelle aromathérapie: biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. JAKIN., Lausanne. (1994).
4. Tahri M., Imelouane B., Amhamdi H., Fauconnier M-L., Elbachiri A., *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (3) (2015) 666-672.
5. Sliti S., Ayadi S., Kachouri F., Khouja M.A., Abderrabba M., Bouzouita N., *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (3) (2015) 743-748.
6. Thell., Ksouri A., Dob T., Belkebir A., Krimat S., Chelghoum C., *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (3) (2015) 784-791.
7. Chu C.J., Kemper, K.J. Lavender (*Lavandula* spp.). Longwood Herbal Task Force. Boston. (2001).
8. Allaby M. The Concise Oxford Dictionary of Botany, Oxford University Press. y First edition., New York. (1992).
9. Esiyok D., Ötles S., Akcicek E. *Asian Pac. J. Cancer P.* 5 (2004) 334-339.
10. Gören A. C., Topçu G., Bilsela G., Bilsela M., Aydoğmus Z. et Pezzuto J. M. *Z. Naturforsch.* 57c (2002) 797-800.
11. Simard S., M. Hachey J., Colin G.J. *J. Mill. Wood Techn.* 8 (1988) 561-573.
12. Lu C.H., Chang W.N., Chuang Y.C., Chang H.W. *J. Hosp. Infect.* 40 (1998) 27-33.
13. Chang S.C., Hsieh W.C. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 36 (2000) 107-112
14. Remmal A., T-Elaraki A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettayibi M. *J. Essent. Oil Res.* 5 (1993) 179-184.
15. Satrani B., Farah A., Fechtal M., Talbi M., Blaghen M., Chaouch A. *Ann. Fals. Exp. Chim.* 956 (2001) 241-250.
16. Laib I. *Nature & Technologie* 7 (2012) 44-52.
17. Mohammedi Z., Atik F. *Nature & Technologie* 6 (2011) 34-39.
18. Botton B., Bertron A., Fevere M., Gauthier S., Guph D., Plarpent J., Reymond P., Sanglier J.J., Vaysser Y., Veau S. *Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle.* Ed: Masson collection biotechnologies., Paris. (1990).
19. Verma R.S., Laiq U., Rahman S., Chandan S., Chanotiya K., Rajesh Chauhan K.A., Yadav A., Singh A. *J. Serb. Chem. Soc.* 75 (3) (2009) 343-348.
20. Kulevanová S., Stetkov G., Ristic M. *Bull. Chem. Technol. Macedonia* 19 (2) (2000)165-169.
21. Svoboda K.P., Hampson J.B. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti inflammatory and other related pharmacological activities. Ed: Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland. (1999).
22. Bernath J., Danos B., Hethelyi E. *Herba Hung.* 30 (1991) 35-46.
23. Fellah S., Romdhane M., Abderrabba M. *J. Soc. Alger. Chim.* 16(2) (2006) 193-202.
24. Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M. B., Taghizadeh M., Alipoor A.S., Rasooli I. *Food Chem.* 102 (2007) 898-904.

(2015); <http://www.jmaterenvironsci.com>