

Influence de la floraison sur la composition chimique et l'activité anti sinusite de l'huile essentielle des feuilles de *Diphasia klaineana* Pierre (Rutaceae) de Côte d'Ivoire

KONE Yacouba, BOUA BOUA Benson*, OUATTARA Zana, MAMYRBEKOVA-BEKRO Janat Akhanovna, BEKRO Yves-Alain

Laboratoire de Chimie Bio-organique et de Substances Naturelles (LCBOSN /www.labcbosn.com),
UFR-SFA, Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 02 (République de Côte d'Ivoire)

E-mail : koneyacoubasfa@gmail.com, zana150419@gmail.com, yvesalainb2014@gmail.com

Auteur correspondant email : bouayao@yahoo.fr,

Original submitted in on 19th October 2018. Published online at www.m.elewa.org/journals/ on 31st March 2019
<https://dx.doi.org/10.4314/jab.v135i1.1>

RESUME

Objectifs : Cette recherche vise à montrer l'impact de la floraison sur la composition chimique de l'huile essentielle (HE) des feuilles de *Diphasia klaineana* ainsi que sa propriété anti sinusite *in vitro*.

Méthodologie et résultats : Les huiles essentielles des feuilles de *Diphasia klaineana* avant la floraison (H₁) et pendant la floraison (H₂) ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) et leur propriété anti sinusite évaluée contre *Staphylococcus aureus* par la méthode de diffusion par disque. Ainsi 38 molécules ont été identifiées, représentant 89,17% et 94,10% des constituants respectivement de H₁ et H₂ avec 8 composés majoritaires dont le sabinène et le β-élémol. Les monoterpènes hydrocarbonés sont plus abondants dans H₁ (45,88%) que dans H₂ (34,61%). H₂ est plus riche en sesquiterpènes oxygénés (56,95%) que H₁ (38,36%). Seulement H₁ a une activité bactéricide contre *Staphylococcus aureus* avec une CMI= 1,25 mg/mL.

Conclusion et application des résultats : Les résultats obtenus ont montré d'une part une variabilité qualitative et quantitative de la composition chimique de HE des feuilles au cours du développement reproducteur de *Diphasia klaineana* : H₁ est plus riche en monoterpènes hydrocarbonés et H₂ est riche en sesquiterpènes oxygénés. D'autre part l'évaluation de l'activité antibactérienne sur *Staphylococcus aureus* a été conduite aux fins de suivre l'évolution de l'activité anti sinusite de des feuilles de *Diphasia klaineana* contre *Staphylococcus aureus* avant et pendant la floraison. Les résultats obtenus ont montré que seule l'huile essentielle des feuilles avant la floraison (H₁) a des propriétés bactéricides. En revanche, pour une meilleure prise en charge de la sinusite, les acteurs de la médecine traditionnelle doivent utiliser les feuilles de *Diphasia klaineana* avant la floraison en bain de vapeur.

Mots clés : *Diphasia klaineana*, floraison, huile essentielle, activité bactéricide

Effect of flowering on the chemical composition and anti-sinusitis activity of the essential oil of the leaves of *Diphasia klaineana* Pierre (Rutaceae) from Ivory Coast

ABSTRACT

Objective: this study aims to show the influence of flowering on the chemical composition of the essential oil of the leaves of *Diphasia klaineana* as well as on its anti-sinusitis property *in vitro*.

Methodology and Results: The essential oil of *Diphasia klaineana* leaves before flowering (H₁) and during flowering (H₂) were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and evaluated their anti-sinusitis property against *Staphylococcus aureus* by the disk diffusion method. So 38 constituents have been identified, representing 89.17% and 94.10% of the constituents respectively of H₁ and H₂ with 8 major compounds including sabinene and β -elemol. Hydrocarbon monoterpenes are more abundant in H₁ (45.88%) than in H₂ (34.61%). In contrast, H₂ (56.95%) is richer in oxygenated sesquiterpenes than H₁ (38.36%). In addition, only H₁ has a bactericidal activity against *Staphylococcus aureus* with a MIC = 1.25 mg / ml.

Conclusion and application of results: The results obtained showed on the one hand a qualitative and quantitative variability of the chemical composition of HE of the leaves during the reproductive development of *Diphasia klaineana*: H₁ is richer in hydrocarbon monoterpenes and H₂ is rich in oxygenated sesquiterpenes. On the other hand, the evaluation of the antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* was conducted to follow the evolution of the antisinusite activity of leaves of *Diphasia klaineana* against *Staphylococcus aureus* before and during flowering. The results obtained made it possible to identify the harvest period for the traditional treatment of sinusitis, which corresponds to the high content of hydrocarbon monoterpenes. Our work has thus made it possible to highlight the chemical composition of HE of the leaves of *Diphasia klaineana* never studied and to evaluate the antisinusite activity of HEs before and during flowering.

Keywords: *Diphasia klaineana*, flowering, essential oil, bactericidal activity

INTRODUCTION

Durant l'organogénèse, les métabolites secondaires des plantes peuvent varier qualitativement et quantitativement et partant leurs propriétés biologiques. Cette variation est la résultante de nombreux mécanismes métaboliques et physiologiques : biosynthèse, dégradation, transport, capacité d'accumulation et de bioconversion (Guignard et al, 1985). En effet, chez certains *Datura*, la floraison correspond à une brutale augmentation des alcaloïdes tropaniques (Guignard et al, 1985). Cependant, très peu d'études relatives à cet état physiologique sont réalisées sur les plantes médicinales de la Côte d'Ivoire. C'est pourquoi nous avons initié cette recherche aux fins de montrer l'impact de la floraison non seulement sur la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Diphasia klaineana* mais aussi sur sa propriété anti sinusite *in vitro* *Diphasia klaineana* Pierre

(Rutaceae) encore appelé *Vepris hernii*, *Vepris angolensis* ou *Diphasia angolensis* est un arbre haut de 16 m, distribué dans les sous-bois forestiers de la Côte d'Ivoire au Ghana. Les fleurs sont blanches, parfumées, et prisées par les abeilles, qui en font une source éventuelle de miel. Au Ghana, les brindilles sont mâchées comme un médicament de but non divulgué (http://plants.jstor.org/stable/10.5555/al.ap.upwta.4_1138, 2018). Le choix de cette plante se justifie par le fait qu'elle perde ses feuilles puis les renouvelle, produise des fleurs et des fruits d'une part et d'autre part, ses feuilles sont utilisées traditionnellement en bain de vapeur pour soigner la sinusite, maladie infectieuse (virale, bactérienne, fongique) fréquente en Côte d'Ivoire avec un taux de mortalité de 5,06% malgré l'antibiothérapie (Kouadio, 1991). Cette recherche se veut une étude phytochimique à application biologique.

MATERIEL ET METHODES

Investigation phytochimique : Le matériel végétal est constitué de feuilles de *Diphasia klaineana* (Figure 1) récoltées à Fengolo département de Madinani dans la région du Denguélé (Nord de la Côte d'Ivoire) avant la floraison en septembre 2017 et pendant la floraison en décembre 2017. Il a été identifié au Centre National de Floristique de l'Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan) puis séché dans une enceinte sous climatisation permanente à 18°C pendant 3 jours avant d'être soumis à une hydrodistillation.



Figure 1 : *Diphasia klaineana*

Extraction de l'huile essentielle : A l'aide d'un appareil de type Clevenger, une hydrodistillation continue de 9 heures des feuilles (905,2 g) de *Diphasia klaineana* avant la floraison et pendant la floraison a donné respectivement des huiles essentielles H₁ et H₂.

Analyse par GC-MS de H₁ et H₂ : Les analyses de H₁ et H₂ ont été effectuées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer auto system XL, doté d'un injecteur automatique et d'une colonne apolaire (Rtx-1) (60 m × 0,22 mm d.i; épaisseur du film 0,25 µm), couplé à un détecteur de masse Perkin Elmer TurboMass. Le gaz vecteur est l'hélium (1mL/mn), exerçant une pression en tête de colonne de 25 psi. La température de l'injecteur 250°C, celle du détecteur 280°C. La programmation de la température consiste en une élévation de 60° à 230 °C, à 2 °C/min, puis en un palier de 45 min à 230°C. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/50. La quantité d'échantillon injectée est de 0,2 µl. La détection se fait

par un analyseur à filtre quadripolaire. Les molécules sont bombardées par un faisceau électronique (70 eV). Les spectres de masse obtenus sur la gamme de masse 35-350 Da par impact électronique. La comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs bibliothèques de référence, a permis son identification à condition que la similitude des spectres, inconnus et référence, soit suffisante et que les indices de rétention soient identiques dans des conditions opératoires comparables (Tranchant, 1982).

Test anti sinusite *in vitro* : La souche bactérienne *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a été utilisée. Elle a été cultivée par repiquage sur gélose nutritive à l'obscurité pendant 24 h à 37 °C.

Détermination des diamètres des zones d'inhibition : Les diamètres des zones d'inhibition des différentes fractions de H₁ et H₂ ont été déterminés par la méthode de Hayes et Markovic (2002) à partir d'une culture de 24h (10⁵-10⁶ UFC/mL). L'ensemencement par inondation a été fait à partir de l'inoculum obtenu, en solubilisant une colonie de *Staphylococcus aureus* ATCC dans l'eau distillée stérile et la gélose. L'inoculum obtenu (1mL) est coulé dans des boîtes de Pétri contenant l'agar de Mueller Hinton. L'excès de l'inoculum a été par la suite aspiré, et les boîtes ont été séchées dans une étuve (37°C). Après 15 min de séchage, les puits ont été découpés à l'aide de pipettes pasteur (extrémité épaisse de 6 mm). Ensuite, chaque fraction d'HE (50 µL) et la gentamycine (50 µL) (témoin) ont été distribués dans chaque puits. Après diffusion, les cultures ont été incubées dans des étuves à 37 °C pendant 24 h. Les auréoles d'inhibition ont été mesurées par un pied à coulisse. L'activité est considérée nulle pour un diamètre de la zone d'inhibition inférieur ou égale à 8 mm ; faible pour un diamètre de la zone d'inhibition compris entre 8 et 14 mm, moyenne pour un diamètre de la zone d'inhibition compris entre 14 et 20 mm ; forte pour un diamètre de la zone d'inhibition supérieur ou égal à 20 mm.

Détermination de La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) : Un milieu constitué du bouillon Mueller Hinton stérile et d'une solution stérile de tween 80, a été réalisé afin d'obtenir dans le milieu, une répartition homogène des huiles essentielles (HE), et d'augmenter au maximum leur miscibilité dans le milieu. Pour la détermination de la CMI, 10 tubes à essai ont été utilisés. Les huit premiers ont servi à préparer des gammes de concentrations (50 ; 25 ; 12,5 ; 6,25 ; 3,12 ; 1,56 ; 0,78 et 0,39 mg/mL) de chaque HE ; les deux derniers contenant les témoins positif et

négatif. Dans les tubes à essai contenant chaque HE et le témoin positif, 10 µL de l'inoculum ont été introduits. Après 24h d'incubation des tubes à 37°C, la CMI correspondant à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne après 18 à 24 h de contact, a été déterminée (Elodie, 2010)

RESULTATS ET DISCUSSION

Rendement d'extraction et caractéristiques organoleptiques de H₁ et H₂ : Les huiles essentielles des feuilles avant la floraison (H₁) et pendant la floraison (H₂) ont une odeur aromatique, une couleur jaune et un aspect liquide. Comme valeur extractive, H₁ a 1,65% et H₂ a 1,53% (figure 2). Ces feuilles sont riches en huile essentielles eu égard les normes (0,15%) de AFNOR (2006). Toutefois, la floraison (H₂) fait chuter le rendement de 0,12%.

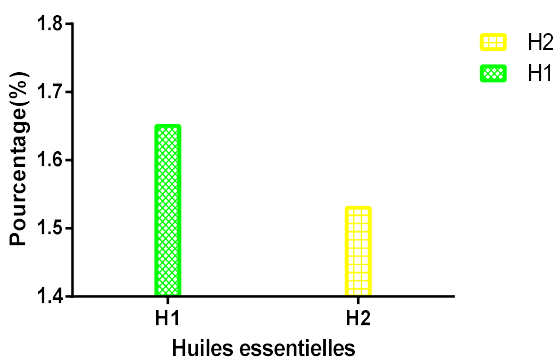


Figure 2 : Rendement des huiles essentielles de feuilles de *Diphasia klaineana* avant la floraison (H₁) et pendant floraison (H₂)

Détermination de La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) : Les gammes de concentrations utilisées pour la détermination de la CMI, ont servi pour mesurer la CMB. Des prélèvements ont été effectués dans le tube témoin et dans chacun des tubes sans culot bactérien, ensuite déposés « en strie » sur gélose MHA. Les boîtes ensemencées ont été incubées pendant 24 h à 37°C (Elodie, 2010).

Cette variation de rendement en fonction de période de récolte a été montrée dans d'autres études. C'est le cas d'*Artemisia herba alba* de la région de Guercif (au nord du Maroc) qui a un rendement de 0,86 % en avril pendant la période végétative, de 1,23 % en juin au début de la floraison et de 0,56 % en septembre pendant à la floraison (Ghanmi et al., 2010). Aychi (2014) a également montré que le rendement des HE des parties aériennes de *Daucus crinitus* récoltées dans la région forestière de Chelaida (environ 8 km au Nord Est de Tlemcen-Algérie) passe de 0,02% pendant la phase végétative (fin mars) à 0,05% au stade du début de floraison (mi-mai) et en pleine floraison (fin juillet) il est de 0,15%. Cette variation du rendement peut être attribuée à de nombreux facteurs, tels que les facteurs génétiques, le stade de développement et les conditions pédoclimatiques (Sangwan et al., 2001 ; Kim et Lee, 2004).].

Profils chromatographiques GC-MS de H₁ et H₂ : L'analyse de la composition chimique consignée dans le tableau 1, montre une variation qualitative et quantitative de H₁ et H₂. En effet, excepté la présence du Δ -élément dans H₂, 35 molécules ont été identifiées, représentant 91,30% et 89,17% des constituants respectivement de H₁ et H₂.

Tableau 1 : Composition chimique des fractions H₁ et H₂

| Composés identifiés | Indices de rétention | | Teneurs des composés (%) | |
|------------------------------|----------------------|-------|--------------------------|----------------|
| | IRAPOL | IRPOL | H ₁ | H ₂ |
| 1 α-thujène | 922 | 1012 | 0,27 | 0,17 |
| 2 α-pinène | 930 | 1010 | 0,67 | 0,51 |
| 3 camphène | 943 | 1058 | 0,11 | 0,09 |
| 4 sabinène | 965 | 1119 | 23,17 | 19,90 |
| 5 β-pinène | 970 | 1107 | 0,38 | 0,30 |
| 6 myrcène | 980 | 1155 | 3,76 | 2,87 |
| 7 α-terpinène | 1007 | 1174 | 0,34 | 0,12 |
| 8 p-cymène | 1009 | 1265 | 0,26 | 0,33 |
| 9 limonène | 1020 | 1195 | 3,16 | 2,46 |
| 10 (Z)-β-ocimène | 1023 | 1227 | 3,88 | 2,40 |
| 11 (E)-β-ocimène | 1036 | 1244 | 8,31 | 4,66 |
| 12 γ-terpinène | 1047 | 1239 | 0,65 | 0,26 |
| 13 sabinène hydrate trans | 1051 | 1457 | 0,12 | 0,08 |
| 14 terpinolène | 1077 | 1276 | 0,92 | 0,54 |
| 15 linalol | 1082 | 1540 | 0,40 | 0,45 |
| 16 allo ocimène | 1115 | 1367 | 0,07 | 0,03 |
| 17 terpinèn-4-ol | 1159 | 1594 | 1,32 | 0,98 |
| 18 α-terpinéol | 1170 | 1689 | 0,21 | 0,22 |
| 19 acétate de bornyle | 1265 | 1571 | 0,08 | 0,08 |
| 20 Δ-élément | 1331 | 1461 | 0,03 | Absent |
| 21 acétate de neryle | 1338 | 1718 | 0,08 | 0,09 |
| 22 acétate de geranyle | 1357 | 1748 | 0,17 | 0,23 |
| 23 methyl eugenol | 1365 | 2005 | 0,28 | 0,37 |
| 24 α-copaène | 1371 | 1481 | 0,06 | 0,07 |
| 25 β-élément | 1383 | 1579 | 0,33 | 0,38 |
| 26 (E)-caryophyllène | 1412 | 1585 | 0,68 | 0,80 |
| 27 α-humulène | 1445 | 1656 | 0,54 | 0,64 |
| 28 (E)-methyl isoeugenol | 1456 | 2162 | 0,16 | 0,21 |
| 29 γ-murolène | 1465 | 1675 | 0,05 | 0,06 |
| 30 germacrène D | 1470 | 1696 | 1,80 | 2,24 |
| 31 α-murolène | 1488 | 1711 | 0,15 | 0,16 |
| 32 Δ-cadinène | 1509 | 1743 | 0,53 | 0,52 |
| 33 β-elemol | 1530 | 2069 | 31,27 | 38,01 |
| 34 guaiol | 1579 | 2076 | 6,93 | 8,72 |
| 35 γ-épi edeusmol | 1602 | 2089 | 0,08 | 0,11 |
| 36 γ-eudesmol | 1612 | 2154 | 0,08 | 0,11 |
| Monoterpènes hydrocarbonés | | | 45,88 | 34,61 |
| Monoterpènes oxygénés | | | 2,89 | 2,74 |
| Monoterpènes totaux | | | 48,77 | 37,35 |
| Sesquiterpènes hydrocarbonés | | | 4,17 | 4,87 |
| Sesquiterpènes oxygénés | | | 38,36 | 46,95 |
| Sesquiterpènes totaux | | | 42,53 | 51,82 |
| Hydrocarbonés totaux | | | 50,05 | 39,48 |
| Oxygénés totaux | | | 41,25 | 49,69 |
| TOTAL | | | 91,30 | 89,17 |

IRAPOL : indice de rétention de la colonne apolaire ; IRPOL : indice de rétention de la colonne polaire ; H₁ : Fraction avant la floraison ; H₂ : Fraction pendant floraison.

Aussi, notons-nous une coprésence de 8 composés majoritaires. Parmi ceux-ci deux sont en proportion importante. Ce sont respectivement le β -Elemol (31,27% (H₁) ; 38,01% (H₂)) et le Sabinène (23,17% (H₁) ; 19,90% (H₂)). Les monoterpènes hydrocarbonés sont plus abondants dans H₁ (45,88%) que dans H₂ (34,61%). A contrario, H₂ est plus riche en

sesquiterpènes oxygénés (46,95%) que H₁ (38,36%). En somme, la floraison fait chuter la teneur des monoterpènes hydrocarbonés de 11,27% (figure 3A) et augmente celle des sesquiterpènes oxygénés à 18,59% (figure 3B). Cette différence serait la résultante de nombreux mécanismes métaboliques et physiologiques (Guignard et al, 1985).

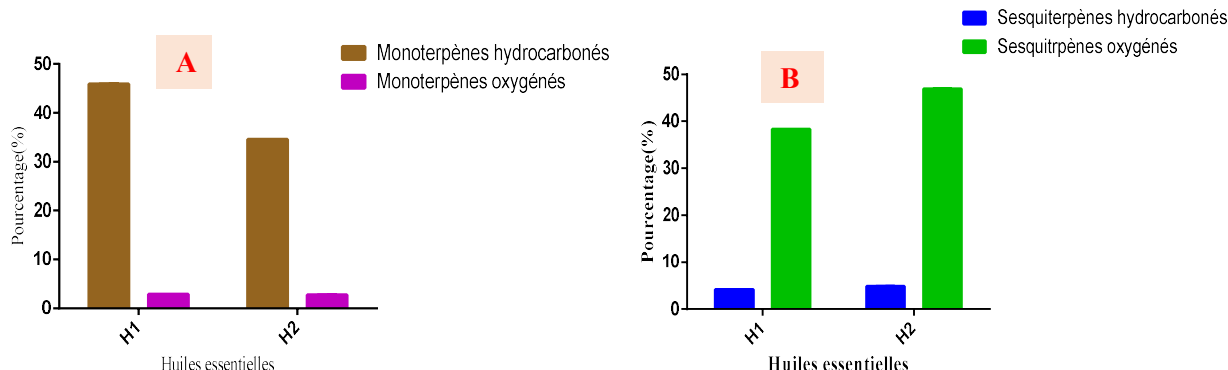


Figure 3 : Teneur des monoterpènes (A) et des sesquiterpènes (B) de H₁ et H₂

En comparant les compositions chimiques de H₁ et H₂ avec celles de certaines espèces de la même famille, on constate que les composés tels que β -pinène, α -pinène, α -thujène, limonène, γ -terpinène, terpinolène, linalol et terpinen-4-ol identifiés dans les feuilles fraîches de *Citrus sinensis* se retrouvent également dans les feuilles de *Diphasia klaineana* (Hamdani, 2015).Egalement myrcène, (Z)- β -Ocimène, β -Pinène et Caryophyllène font partie des composés identifiés dans *Agathosma ovata* par Olufunke (2016). Cependant

l'absence de Δ -élémente dans H₂, peut être due aux stades phénologiques ou à la période de récolte (Svoboda et Hampson, 1999 ; Tavares et al., 2008).

Activité anti sinusite in vitro de H₁ et H₂ : H₁ a inhibé la croissance des *Staphylococcus aureus* de 14 mm. Quant à H₂, aucune inhibition n'a été constatée. Les zones d'inhibition de H₁ étant supérieures ou égales à 8mm, ses paramètres antibactériens (CMB et CMI) et le rapport CMB/CMI ont été déterminés (tableau 2).

Tableau 2 : Paramètres de bactéricide CMI, CMB, CMB/CMI

| Souche | Fraction | CMI (mg/mL) | CMB (mg/mL) | CMB/CMI | Interprétation |
|---|----------------|-------------|-------------|---------|----------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | H ₁ | 12,5 | 25 | 2 | bactéricide |

La détermination des paramètres antibactériens ont montré le caractère bactéricide de H₁ sur les *Staphylococcus aureus*. En effet, selon Fauchere, lorsque le rapport CMB/CMI = 1, l'extrait est dit « bactéricide absolu », si le CMB/CMI \leq 2, l'extrait est dit « bactéricide », si le CMB/CMI > 2, l'extrait est dit simplement « bactériostatique » (Fauchere, 2002). La floraison diminue le caractère bactéricide de l'huile essentielle des feuilles. Cette activité pourrait être attribuée aux monoterpènes hydrocarbonés au regard de leur forte teneur dans H₁. En effet, des études précédentes ont montré que certains monoterpènes

hydrocarbonnés (présents dans la fraction H₁) tels que l' α -pinène, le terpinène, le sabinène ont montrés des activités antibactériennes contre *Staphylococcus aureus* (Dorman et Deans, 2000; Fauchere, 2002 ; AFNOR, 2006 ; Cao et al , 2009 ; Elodie, 2010 ; Jordan, 2013) Cependant *Staphylococcus aureus* est l'une des bactéries jouant un rôle important dans la survenue de la sinusite. Il est fréquemment rencontré chez les adultes (Dehesdin et Darmaillacq, 2000 ; Peytral et Chevalier, 2004). Selon les travaux de Amana et collaborateurs (2013) sur la sinusite maxillaire chronique, le *S. aureus* représentait 20,83% des

germes isolés après *Streptococcus pneumoniae* (27.78%). L'efficacité des feuilles de *Diphasia klaineana*

contre *Staphylococcus aureus* expliquerait donc leur utilisation dans le traitement traditionnel de la sinusite.

CONCLUSION

Cette étude est une première contribution scientifique à l'étude de la composition chimique et de l'évaluation de l'activité antisinusite contre *Staphylococcus aureus* de l'huile essentielle de des feuilles de *Diphasia klaineana* récoltées avant et pendant la floraison. L'analyse de ces huiles par CPG/SM a permis de mettre en évidence la variation quantitative et qualitative des composés par la diminution de la teneur des monoterpènes qui passe de 48,77% dans H₁ à 42,53% dans H₂ et l'augmentation de celle des sesquiterpènes qui passe de 37,35% dans

H₁ à 51,82% dans H₂ pendant la floraison. Quant à l'activité antisinusite contre *Staphylococcus aureus*, seule l'huile essentielle des feuilles avant la floraison (H₁) est douée de propriété bactéricide. Nous recommandons donc aux acteurs de la médecine traditionnelle d'utiliser les feuilles de *Diphasia klaineana* avant la floraison en bain de vapeur pour traiter la sinusite. Il serait souhaitable que les acteurs de la médecine traditionnelle utilisent les feuilles avant la floraison dans le traitement de la sinusite.

BIBLIOGRAPHIE

- AFNOR NFT 75-006, 2006. Publication huiles essentielles, normes ISO, normes : http://portailgroupe.afnor.fr/public_espacenormalisation/AFNORT75A/
- Amana B, Dagnra AY, Pegbessou E. Kpemissi E, 2013. Profil bactériologique des sinusites maxillaires chroniques suppurées d'origine nasale de l'adulte au CHU Tokoin de Lomé. Pan African Medical Journal, 16 (48).
- Ayachi AB, 2014. Etudes chimique et biologique des extraits de trois *Daucus* (*D. crinitus*, *D. muricatus* et *D. carota* ssp *hispanicus*) de la région de Tlemcen. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, Algérie, 171p.
- Cao L, Yong Si J, Liu Y, Sun H, Jin W, Li Z, Hong Z X, Le Pan R, 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of *Mosla chinensis* (Maxim). Food Chem., 115 :805-3801.
- Dehesdin D, Darmaillacq L, 2000. Ethmoïdites aiguës chez l'enfant. Oto-rhino-laryngologie. Éditions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, 10 : 20-440.
- Dorman HJD, Deans SG, 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol, 88 :308-316.
- Elodie G, 2010. Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse, Université de Corse-Pasquale Paoli, France, 143pp.
- Fauchere IL, Avril JL, 2002. Bactériologie générale et médicale. Editions ellipses : Paris.
- Guignard JL, Cosson L, Henry M, 1985. Abrégé de phytochimie, Masson éd., Paris, 224pp
- Ghanmi M, Satrani B, Aafi A, Isamili MR, Houti H, El Monfalouti HKH, Aberchane M, Harki L, Boukir A, Chaouch A, Charrouf Z, 2010. Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guercif Phytothérapie (Maroc oriental), 8 : 295 – 301.
- Hamdani FZ, 2015. Déterminisme moléculaire de l'activité antifongique des huiles essentielles extraites à partir des feuilles d'agrumes. Thèse, Université Hassiba Ben bouali de Clef, Algérie, 144p.
- Hayes AJ, Markovic B, 2002. Toxicity of Australian essential oil *Backhousia citriodora* (Lemon myrtle). Part 1. Antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity. Food Chem Toxicol. 40: 535-543.
- Jordan MJ, Lax V, Rota MC, Sotomayor JA, 2013. Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. Food Control, 30 (2): 463-468
- Kim NS, Lee DS, (2004). Headspace solid-phase microextraction for characterization of fragrances of lemon verbena (*Aloysia triphylla*) by gas chromatography-mass spectrometry, J Separat Sci, 27: 96-100.
- Kouadio A. 1991. Contribution à l'étude des sinusites et leurs complications. Thèse de médecine, Abidjan, 119pp.
- Peytral C, Chevalier E. 2004. Complications ophtalmologiques en pathologie oto-rhino-laryngologique EMC (Elsevier, Paris) ; Oto-rhino-laryngologie, 10 : 20-920.

- Sangwan NS, Farooqi AHA, Shabih F, Sangwan RS, 2001. Regulation of essential oil production in plants, *Plant Growth Regulation*, 34: 3-21.
- Svoboda KP, Hampson JB, 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and the other related. *Pharmacological activities. Oral Microbiology and Immunology*, 9 (4):202-208.
- Tavares AC, Gonçalves M.J, Cavaleiro C, 2008. Essential oil of *Daucus carota* subsp. *Halophilus*: composition, antifungal activity and cytotoxicity, *J Ethnopharmacol*, 119: 129-134.
- Tranchant J, 1982. *Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse*. Masson et Cie, Paris, 504 pp. (<http://plants.jstor.org/stable/10.5555/al.ap.upw.ta.4.1138>, consulté le 01/03/2018).