

Évaluation de l'activité antimicrobienne l'huile essentielle de la lavande (*Lavandula stoechas*)

Manel Lina Djendi¹, Chahrazed Benzaid¹, Karima Bouguerra² et Mahfoud Djebien²

¹Laboratoire de Chimie Organique Appliquée (LCOA)- Université Badji Mokhtar -Annaba

²Faculté de médecine - Université Badji Mokhtar -Annaba. BP 12, 23000 Annaba, Algérie.

| Article Info | Résumé |
|---|---|
| <p>Article history:</p> <p>Received 30/04/2023 Revised 31/05/2023/ Accepted 04/06/2023</p> | <p>La multi-résistance microbienne pose de grands problèmes pour la santé publique. À cet effet, il ne reste que peu d'agents antimicrobiens effectifs contre certains microbes multi-résistants. Ce qui a pour conséquence majeure la recherche de nouveaux produits antimicrobiens. Cette étude vise l'évaluation de l'activité antimicrobienne l'huile essentielle de la <i>Lavandula stoechas</i> largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne. Ainsi, des tests de sensibilité sur des microorganismes ont été effectués sur quatre souches bactériennes cliniques multi résistantes (<i>Escherichia coli</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>) et une levure (<i>Candida albicans</i>) en utilisant la technique des disques. Les résultats révèlent que l'huile essentielle extraite à partir des fleurs de <i>Lavandula stoechas</i> exerce une importante activité vis-à-vis d'<i>Escherichia coli</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i> une activité inhibitrice modérée sur la croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>staphylococcus aureus</i>, tandis qu'avec la levure <i>Candida albicans</i> une résistance est observée. Ces résultats démontrent que l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i> est une source prometteuse d'agents antimicrobiens, qui peut être adoptée à des fins thérapeutiques.</p> |
| <p>Mots clés :</p> <p><i>Lavandula stoechas</i> ; résistance microbienne ; huile essentielle ; activité antimicrobienne.</p> | |
| <p>Corresponding Author : cbenzaid@gmail.com</p> | |

1. INTRODUCTION

La résistance aux antibiotiques est aujourd'hui un problème majeur de santé publique. L'augmentation de la résistance aux antibiotiques se traduit dans la pratique hospitalière par une augmentation de temps de séjour, la morbidité et de la mortalité ; ainsi que par l'apparition de microorganismes résistants à l'ensemble des antibiotiques disponibles, et ce par la création d'un mécanisme de protection [1]. Le fait que le nombre de microorganismes multi-résistants augmente, surgit une grande inquiétude que plusieurs antibiotiques deviendront inefficaces. D'où la nécessité de développement de nouveaux agents antimicrobiens [2].

L'utilisation thérapeutique des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité [3]. En effet, il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales [4].

Les *Lavandula* (un genre de la famille des Lamiacées), composées de 39 espèces et d'une large gamme de 400 cultivars, sont parmi les plantes les plus populaires récoltées pour la production d'huiles essentielles utilisées dans de nombreuses applications comme l'industrie alimentaire, cosmétique et de la parfumerie et sont surtout en aromathérapie, ou l'inhalation de leurs composés volatils soulagerait les symptômes du stress, de l'épuisement, des migraines, de l'anxiété, de l'insomnie et de la dépression [5].

Les huiles essentielles de *Lavandula* sont obtenues à partir de deux espèces principales : *L. angustifolia* mill. et *L. stoechas* L. L'huile essentielle de *L. angustifolia* est souvent utilisée dans l'industrie du parfum [4], tandis que l'huile essentielle de *L. stoechas* est principalement utilisée comme agent thérapeutique [6]. Les huiles essentielles de *Lavandula* présentent également des propriétés antimicrobiennes, anticholinestérasiques et antioxydantes, ce qui a conduit à leur utilisation en tant qu'ingrédients actifs dans les produits de traitement de la peau et pour la production de biopesticides [7]. D'où l'intérêt que porte notre étude à cette plante omniprésente dans la flore endémique algérienne en voulant évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (HE) dans le but d'une éventuelle exploitation thérapeutique.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel végétal et extraction

La plante de *Lavandula stoechas* a été récoltée au mois de mars et d'avril de l'année 2021 en montagne de l'Edough-Séraïdi ; situées à l'ouest de la wilaya d'Annaba- Algérie. L'identification de l'espèce a été confirmée par Laboratoire de Recherche en Biologie Végétale et Environnement (LBVE), à l'université Badji Mokhtar-Annaba.



Figure 1. Photographie de *Lavandula stoechas*
(Benzaid, Ch. Mont Edough-Annaba-

<http://www.maplandia.com/algeria/annaba/seraidi/>)

Les parties aériennes ont été cueillies, soigneusement lavées et séchées à l'abri de l'humidité et de la lumière. Une fois séchées, on a procédé à l'extraction de l'huile essentielle à partir des fleurs par hydro distillation sous micro-ondes sans solvant organique (ESSAM) selon la technique utilisée par Lucchensi Marie-Elisabeth [8] avec quelques modifications.

Elle consiste à placer le matériel végétal dans un ballon au sein d'un four micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant. Le chauffage interne de l'eau contenue dans la plante permet d'en dilater ses cellules et conduit à la rupture des glandes et L'HE ainsi libérée est évaporée avec l'eau de la plante.

Ce procédé a été mené sur 125g de fleurs de lavande, la puissance de chauffe des microondes est de 500W et le débit de vapeur est de 25 g/min. lors de l'extraction. Le rendement de la plante en huile essentielle a été évalué à l'issue de cette expérimentation avec la formule $R = (PB / PA) \times 100$, ou PB : la masse d'H.E obtenue. PA : la masse de la matière végétale sèche.

2.2. Matériel biologique

Les microorganismes utilisés dans cette étude sont consignés dans le tableau 1. Ce sont des isolats cliniques fournis par le service de réanimation chirurgicale du centre hospitalo- universitaire d'Annaba.

Tableau 1. Microorganismes utilisés

| Souche | Famille | Gram | Provenance |
|-------------------------------|---------------------------|-------|--|
| <i>Escherichia coli</i> | <i>Enterobacteriaceae</i> | Gram- | Dispositifs médicaux (sonde urinaire, cathéter) de patients hospitalisés en réanimation chirurgicale |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Enterobacteriaceae</i> | Gram- | |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Pseudomonaceae</i> | Gram- | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Staphylococcaceae</i> | Gram+ | |
| <i>Candida albicans</i> | <i>Saccharomycetaceae</i> | / | |

2.3. Préparation des milieux et des solutions

- Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés dans cette étude sont :

- Le milieu gélose Mueller-Hinton (MH) : pour l'ensemencement et l'étude de l'activité antibactérienne.
- Le milieu gélose Sabouraud : pour l'ensemencement et l'étude de l'activité antifongique

2.4. Évaluation de l'activité antimicrobienne :

• Préparation de l'inoculum

À partir d'une culture pure jeune de 18 à 24h sur le milieu d'isolement approprié, on prépare une suspension microbienne dont la densité optique est ajustée à 0,08 à 0,1 à 600 nm, correspondant à (10^8 UFC/mL) Mc Farland.

- **Méthode de diffusion sur disque**

Pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'HE, nous avons adopté la méthode de diffusion appelée aussi aromagramme sur milieu gélosé en utilisant des disques de papier wattman n°6 stériles [9].

1. 100µl de la suspension microbienne sont étalés en surface de la gélose par la méthode d'inondation.
2. De façon aseptique, nous prélevons un disque qui sera ensuite imbibé avec 10µl d'HE et déposé sur la surface de la gélose (MH) et Sabouraud puis incubé à 37°C à l'étuve pendant 24 heures pour les bactéries et 48 heures pour les levures.
3. Pour le contrôle positif, on a utilisé des disques de Ceftriaxone pour les bactéries et des disques imbibés avec l'amphotéricine B (fungizone. ®) pour les levures.

L'expérience est répétée en triplicatas pour chaque espèce microbienne.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

L'Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle des fleurs de *Lavandula stoechas* de la région de Séraïdi -Annaba par hydrodistillation a fourni une huile d'un aspect : liquide limpide. Couleur : jaune pâle. Odeur : une odeur âcre caractéristique, avec un rendement de 1.83%.

Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur milieu Muller Hinton et Sabouraud été évaluée en mesurant le diamètre des zones claires encore appelées zones d'inhibition avec une règle exprimée en millimètre. Les résultats sont regroupés dans les tableaux suivant :

Tableau 2. Activité antifongique de l'Huile essentielle

| Souche fongique | Diamètres des zones d'inhibition | |
|-------------------------|----------------------------------|-----------------|
| | HE | Amphotéricine B |
| <i>Candida albicans</i> | R | R |

HE : Huile essentielle R : résistant

Tableau 3. Activité antibactérienne de l'Huile essentielle

| Souches bactériennes | Diamètres des zones d'inhibition | |
|-------------------------------|----------------------------------|-------------|
| | HE | Ceftazidime |
| <i>Escherichia coli</i> | 17mm | 24mm |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 20mm | 12mm |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 12.5mm | 22.5mm |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 13.5mm | 40mm |

HE : Huile essentielle

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition (DZI) et peuvent être symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'huile essentielle [10]

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14mm
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 14 à 19mm
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm

Les résultats présentés dans le tableau 2 montrent que *Candida albicans* a présenté une résistance nette contre l'HE de *Lavandula stoechas* extraite à partir des fleurs. Nos résultats ne corroborent pas avec les études réalisées où la levure *Candida albicans* présente une grande sensibilité à cette HE. [11,12,13].

Tandis que les résultats présentés dans le tableau 3 montrent que l'HE de *Lavandula stoechas* extraite à partir des fleurs exerce une activité inhibitrice modérée de la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* et *staphylococcus aureus* et une importante activité vis-à-vis de la souche d'*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, nos résultats sont similaires à d'autres [11] qui ont constaté que les huiles essentielles de *L. stoechas* produit des diamètres de zone d'inhibition contre les mêmes espèces testées dans notre étude.

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle peut être attribuée principalement à son constituant majoritaire ainsi que la nature des souches microbiennes [11], par exemple les alcools terpéniques qui sont particulièrement actifs contre les cellules microbiennes car ils sont solubles dans des microorganismes [14]. De plus, possèdent une activité bactéricide plutôt que bactériostatique [15].

En se référant aux résultats présentés dans le tableau 2, on remarque que *Candida albicans* est résistante à notre HE et l'amphotéricine B (fungizone. ®). Cette résistance est probablement due à l'influence de plusieurs facteurs tels que, la résistance de la souche fongique testée, la nature et la concentration l'huile essentielle utilisée [16].

Nous avons remarqué qu'il n'y a pas une différence de sensibilité entre les bactéries à Gram+ et à Gram-. Ceci est en contradiction avec la majorité des travaux antérieurs [11,17,18,19]. Ces derniers confirment que les Gram+ sont plus sensibles à l'action antimicrobienne des l'HE que les Gram-. En fait, les Gram- possèdent une résistance intrinsèque aux agents biocides, qui est en relation avec la nature de leur paroi bactérienne [11].

Les mécanismes probables du pouvoir antimicrobien de l'HE de *L. stoechas* contre les bactéries sont basés sur le contact direct de ses composés hydrophobes avec la membrane cellulaire, et son pouvoir de répartir les phospholipides en les rendant plus perméables ce qui pourrait causer des dommages structuraux ou une rupture complète des membranes cellulaires et des pertes de nutriments [20].

En revanche, de rares publications rapportent qu'il n'existe aucun lien apparent, ni aucune corrélation entre l'activité anti microbienne de l'HE et la nature de la paroi bactérienne [21].

CONCLUSION

La thérapie via les plantes médicinales constitue une mine infaillible pour la santé publique où la diversité en propriétés biologiques est attribuée à une gamme extraordinaire de molécules bioactives. L'évaluation in vitro l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* montre une activité antibactérienne agissant sur les bactéries à Gram + et les bactéries à Gram-. Les résultats obtenus constituent une justification scientifique de l'usage traditionnel des plantes médicinales et confirment la pertinence de la phytothérapie dans le traitement des maladies évitant ainsi le phénomène de la résistance aux antibiotiques.

REFERENCES

- [1] Muller, A., Patry, I., Talon, D., Cornette, C., Lopez-Lozano, J. M., Plésiat, P. & Bertrand, X. (2006). Mise en place d'un outil informatisé de surveillance de la résistance bactérienne et de la consommation antibiotique dans un centre hospitalier universitaire. *Pathologie Biologie*, 54(2), 112-117.
- [2] Pan, L., de Blanco, E. J. C. et Kinghorn, A. D. (2009). Les produits naturels d'origine végétale comme pistes pour la découverte de médicaments. *Produits naturels d'origine végétale : synthèse, fonction et application*, 547-567.
- [3] Benkhniq, O., Zidane, L., Fadli, M., Elyacoubi, H., Rochdi, A., & Douira, A. (2010). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Acta botánica barcinonensis*, 191-216.
- [4] Nemudzhvadi, V., & Masoko, P. (2014). *In vitro* assessment of cytotoxicity, antioxidant, and anti-inflammatory activities of *Ricinus communis* (*Euphorbiaceae*) leaf extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014.
- [5] Kazemina, M., Abdi, A., Vaisi-Raygani, A., Jalali, R., Shohaimi, S., Daneshkhah, A. & Mohammadi, M. (2020). L'effet de la lavande (*Lavandula stoechas* L.) sur la réduction de la douleur du travail : une revue systématique et une méta-analyse. *Médecine complémentaire et alternative fondée sur des données probantes*, 2020.
- [6] Insawang, S., Pripdeevech, P., Tanapichatsakul, C., Khruengsai, S., Monggoot, S., Nakham, T. & Panuwet, P. (2019). Essential oil compositions and antibacterial and antioxidant activities of five *Lavandula stoechas* cultivars grown in Thailand. *Chemistry & biodiversity*, 16(10), e1900371.
- [7] Sahinler, S. Ş., Yilmaz, B. S., Sarikurkcü, C. & Bektaş, T. E. P. E. (2022). The importance of *Lavandula stoechas* L. in pharmacognosy and phytotherapy. *International Journal of Secondary Metabolite*, 9(3), 360-376.
- [8] Lucchesi, M. E., Chemat, F. & Smadja, J. (2004). Extraction micro-ondes sans solvant de l'huile essentielle à partir d'herbes aromatiques : comparaison avec l'hydrodistillation conventionnelle. *Journal of Chromatography a*, 1043(2), 323-327.
- [9] Hussain, A. I., Anwar, F., Chatha, S. A. S., Jabbar, A., Mahboob, S. & Nigam, P. S. (2010). Rosmarinus deFiCinalis Huile essentielle : antiproliférative, antioxydante et antibac-activités teriales. *Journal brésilien de microbiologie*, 41, 1070-1078.
- [10] Ponce, N. M., Pujol, C. A., Damonte, E. B., Flores, M. L. & Stortz, C. A. (2003). Fucoidans de l'algue brune *Adenocystis utricularis* : méthodes d'extraction, activité antivirale et études structurales. *Carbohydrate Research*, 338(2), 153-165.
- [11] Ez zoubi, Y., Bousta, D. & Farah, A. (2020). A Phytopharmacological review of a Mediterranean plant: *Lavandula stoechas* L. *Clinical Phytoscience*, 6, 1-9
- [12] Bachiri, L., Echchegadda, G., Ibibjijen, J. & Nassiri, L. (2016). Étude phytochimique et activité antibactérienne de deux espèces de Lavande Autochtones Au Maroc : « *Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L. ». *European Scientific Journal*, 12(30), 313-333.

- [13] Domingues, J., Goulão, M., Delgado, F., Gonçalves, J. C., Gonçalves, J. & Pintado, C. S. (2023). Essential Oils of Two Portuguese Endemic Species of *Lavandula* as a Source of Antifungal and Antibacterial Agents. *Processes*, 11(4), 1165.
- [14] Filippi, J. J., Lanfranchi, D. A., Prado, S., Baldovini, N. & Meierhenrich, U. J. (2006). Composition, enantiomeric distribution, and antibacterial activity of the essential oil of *Achillea ligustica* All. from Corsica. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(17), 6308-6313.
- [15] Lawrence, B. M., Hogg, J. W., Terhune, S. J. & Pichitakul, N. (1972). Essential oils and their constituents. IX. The Oils of *Ocimum sanctum* and *Ocimum basilicum* from Thailand. *Flavour ind.*3(1) :47-49
- [16] Nikaido, H. (1996). Pompes d'efflux multi médicaments de bactéries à Gram négatif. *Journal of bacteriology*, 178(20), 5853-5859.
- [17] Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M. & Polissiou, M. (2005). Activités antimicrobiennes et antioxydantes de l'huile essentielle et de divers extraits de *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food chemistry*, 90(3), 333-340.
- [18] Gilles, M., Zhao, J., An, M. & Agboola, S. (2010). Composition chimique et propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles de trois espèces d'*eucalyptus australiens*. *Food Chemistry*, 119(2), 731-737.
- [19] Cummins, C. S. & Harris, H. (1956). La composition chimique de la paroi cellulaire chez certaines bactéries à Gram positif et sa valeur possible en tant que caractère taxonomique. *Microbiology*, 14(3), 583-600.
- [20] Pieroza, K.M. (2009). Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils of salvia L. species; *Ciênc. Tecnol. Aliment*, Campinas, 29(4) : 764-770, out. -dez.
- [21] Zaika, L. L. (1988). Épices et herbes : leur activité antimicrobienne et leur détermination 1. *Journal of food safety*, 9(2), 97-118.