

Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale : *Salvia officinalis* L. sur quelques entérobactéries pathogènes

Salah Benkherara, Ouahiba Bordjiba & Ali Boutlelis Djahra

Laboratoire de Biologie Végétale et Environnement, Faculté des Sciences, Département de Biologie, Université Badji Mokhtar, BP 12, Annaba 23000, Algérie.

Accepté le : 01/09/2011

ملخص:

إن بروز الكائنات المجهرية الممرضة يطرح حاليا مشكلا للصحة العمومية و بصفة جد مقلقة. في الواقع إن مقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية تجعل العلاج الإستدوائي غير فعال في بعض الأحيان وتستوجب البحث عن عوامل ضد جرثومية جديدة. إن اللجوء إلى النباتات الطبية يمثل واحدة من أهم السبل الواجب استغلالها، ولهذا الغرض نحن معنيون بدراسة النشاط ضد البكتيري لأوراق نبات (*Salvia officinalis* L.) لمنطقة شمال شرق الجزائر. في هذه الدراسة تطرقنا إلى استخلاص وتعريف الزيوت الطيارة و كذا تقييم القدرة ضد البكتيرية لهذه الزيوت تجاه بعض الأنواع البكتيرية الممرضة (entérobactéries). بينت النتائج المتحصل عليها أن هذه الزيوت المستخلصة مكونة من تسعة عشر مركبا وأن أكثرها نسبة هو التوجون (α - et β -thujone). وكشفت نتائج الاختبار ضد البكتيري أن تثبيط نمو هذه الكائنات يتغير حسب النوع البكتيري وكذا تركيز المستخلص النباتي. وعموما فقد أظهرت هذه الزيوت نشاطا تثبيطيا جد هام حيث أن أقطار التثبيط المتحصل عليها تفوق في غالبها تلك المسجلة في حالة وجود المضاد الحيوي. هذه النتائج هي جد واعدة وتحمل تأكيدا علميا للاستعمال الواسع لهذا الصنف النباتي وبهذا فان تأثير المركبات النباتية المستخلصة بإمكانه مزاحمة تأثير المضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية : نشاط ضد بكتيري - زيوت طيارة - *Salvia officinalis* L. - *Entérobactéries* - شمال شرق الجزائر ي .

Résumé

L'émergence de microorganismes pathogènes, pose actuellement un problème de santé publique particulièrement préoccupant. En effet, la résistance des germes aux antibiotiques rend quelques fois le traitement thérapeutique inefficace et impose la recherche de nouveaux agents antimicrobiens. Le recours aux plantes médicinales constitue alors une des plus intéressantes pistes à explorer ; c'est dans cette perspective que nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antibactérienne des feuilles de la Sauge officinale (*Salvia officinalis* L.) de la région du nord-est Algérien. Dans cette étude, nous avons procédé à l'extraction et l'identification des huiles essentielles ainsi que l'évaluation de leur pouvoir antibactérien vis-à-vis de quelques entérobactéries pathogènes. Les résultats obtenus ont démontré que l'huile essentielle isolée est formée de dix-neuf (19) composés terpéniques avec une prédominance de la thujone (α - et β -thujone). D'une manière générale, les huiles essentielles obtenues ont un pouvoir antibactérien intéressant sur les germes étudiés. Les zones d'inhibition enregistrées dépassent le plus souvent celles provoquées par l'antibiotique utilisé. Ces résultats sont prometteurs et apportent une validation scientifique quant à l'usage massif de cette espèce. Ainsi l'effet des substances naturelles extraites des plantes médicinales pourraient bien rivaliser celui des antibiotiques.

Mots clés : *Activité antibactérienne - Huiles essentielles - Salvia officinalis* L. - *Entérobactéries - Nord-Est algérien.*

Abstract

The emergence of pathogen microorganisms is currently a public health concern. Indeed, the resistance of germs to antibiotics makes sometimes the therapeutic treatment inefficient and requires the search for new antimicrobial agents. The use of medicinal plants is then one of the most interesting paths to explore; it is in this perspective that we were interested to study the antibacterial activity of leaves of Sage (*Salvia officinalis* L.) in north-eastern Algeria. In this study, we performed the extraction and identification of essential oils and the evaluation of their antibacterial activity against some pathogen Enterobacteriaceae. The results showed that the isolated essential oil is composed of nineteen (19) terpene compounds with a predominance of thujone (α - and β -thujone). The antibacterial tests revealed that growth inhibition depends on the bacterial species and the concentration of the tested product. In general, the obtained essential oils have an interesting antibacterial power against all studied germs. The recorded inhibition zones most often exceed those caused by the used antibiotic. These results are promising and provide a scientific validation to the massive use of this species. Thus the effect of natural substances extracted from medicinal plants may well rival that of antibiotics.

Auteur correspondant : salahbn07@yahoo.fr

Keywords: *Antibacterial activity - Essential oils - Salvia officinalis* L. - *Enterobacteriaceae - North-East algeria.*

1. INTRODUCTION

L'utilisation des plantes pour se soigner date de la préhistoire et tous les peuples ont cette vieille tradition. Malgré les efforts des chimistes dans la synthèse de nouvelles molécules, plus de 25 % des médicaments prescrits dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes [1]. Cependant, en tant que source de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale [2].

Selon l'O.M.S, plus de 22000 espèces végétales ont été inventoriées comme plantes médicinales [3]. Leur usage a eu un déclin avec le développement de la chimie de synthèse, toutefois les effets indésirables des médicaments ont ravivé l'intérêt des scientifiques pour les plantes médicinales. C'est ainsi que de nouvelles recherches ont vu le jour, notamment de l'espoir de traiter certaines maladies infectieuses par les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques, ce qui est de plus en plus fondé du fait de l'apparition de résistante des germes aux antibiotiques. Il est connu depuis l'Antiquité que les huiles essentielles isolées des espèces végétales présentent une activité antiseptique non négligeable. Elles sont utilisées dans de nombreux domaines : pharmacie, cosmétique, agro-alimentaire... À la fin du XIX^{ème} et au début du XX^{ème} siècle, plusieurs travaux scientifiques relataient de l'action antiseptique de plusieurs huiles essentielles [4] telles que celles de l'Origan d'Espagne, Thym (*Thymus vulgaris*), Cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*), Sarriette (*Satureia montana*), Girofle (*Eugenia*

caryophyllata), Pin (*Pinus sylvestris*), Cajeput (*Melaleuca leucadendron*), Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), Lavande (*Lavandula officinalis*), Myrte (*Myrtus communis*), Géranium rosat (*Pelargonium graveolens*). Ces huiles sont douées de propriétés antimicrobiennes à des degrés divers et reconnues depuis longtemps ; ce sont des propriétés antifongiques [5, 6, 7, 8], antivirales [9], antiparasitaires [10] et également des propriétés insecticides [11, 12]. Les huiles essentielles qui présentent une bonne activité antibactérienne sont aussi de bons antifongiques [13, 14].

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à une espèce végétale très répandue dans le bassin méditerranéen et très utilisée pour ses innombrables vertus thérapeutiques. Il s'agit de *Salvia officinalis* L. ou Saugé officinale. C'est une espèce de la famille des Lamiacées, de 30 à 60 cm de hauteur, de tiges formant des rameaux quadrangulaires dressés et velus, aux feuilles ovales et allongées, gris verdâtre en raison d'une pubescence cotonneuse sur la face inférieure, ont une odeur aromatique caractéristique et de petites fleurs bleu-violettes qui s'épanouissent en juin ou juillet [15, 16]. L'objectif est de vérifier la spécificité de cette espèce végétale sur le plan antiseptique et notamment l'activité antibactérienne des huiles essentielles sur quelques entérobactéries pathogènes qui sont : *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* 12, *Escherichia coli* 1554, *Escherichia coli* 1429, *Escherichia coli* ATCC 25922.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériels utilisés

Le matériel végétal utilisé est constitué des feuilles de l'espèce : *Salvia officinalis* L. ou Sauge officinale. Les échantillons ont été récoltés au niveau du Parc National d'El-Kala (P.N.E.K) au nord-est algérien, tôt le matin et au moment de débourrement de la plante. Le matériel microbiologique ayant fait l'objet de cette étude est constitué de cinq entérobactéries pathogènes responsables d'infections plus ou moins graves. Elles proviennent d'un laboratoire d'analyses médicales situé à la wilaya d'Annaba. La gélose Mueller-Hinton (pH = 5,7) est le principal milieu de culture utilisé. Afin de comparer l'effet antibactérien des huiles essentielles extraites avec celui des antibiotiques, on a utilisé la rifampicine à 5 µg/ml [*Rifampicine (5 µg/ml), lot : 070531*]. C'est un antibiotique qui inhibe l'activité de l'ARN polymérase – ADN dépendante dans les cellules sensibles. Il est constitué de 50 mg d'isoniazide et 300 mg de pyrazinamide et possède une activité excellente sur les germes à Gram positif : *Staphylocoques* et *Entérocoques* [17, 18, 19].

2.2 Méthodes suivies

2.2.1 Extraction et identification des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles est effectuée par entraînement à la vapeur d'eau avec une prise d'essai de matière sèche de l'ordre de 5 à 50 g, portée à ébullition pendant 3h avec une vitesse de distillation de 2 à 4 ml par minute [20].

L'analyse des huiles essentielles extraites est faite à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse de type Shimadzu équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et muni d'une colonne capillaire en silice fondue de type QP20 10C25 FS-OV1701 de 25 m de longueur, 0,25 mm de diamètre interne et 0,25 µm d'épaisseur de film. La

température de la colonne est programmée de 60 à 200° C à raison de 3° C/ min pendant 13 minutes. La température de l'injecteur est fixée à 240° C et celle de détecteur (FID) à 250° C. Le débit de gaz vecteur (Hélium) est fixé à 1.5 ml/min. Le volume de l'échantillon injecté est 0,1 µl de l'huile pure diluée à 10 % dans l'hexane.

Les composés de l'huile essentielle sont identifiées par leurs indices de rétention sur la colonne (L'indice de rétention est calculé par rapport aux temps de rétention d'une série d'alcane linéaire (C9 –C28)) et par la comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des composés chimiques répertoriés dans une bibliothèque commerciale (ov.17/ GCMS Rcal time analysis). Le pourcentage de chaque composé est déterminé à partir des aires de pics sans tenir compte des facteurs de correction en supposant que tous les constituants ont des coefficients de réponse voisins.

2.2.2. Activité Antibactérienne

L'activité antibactérienne est réalisée par la méthode de l'aromatogramme, c'est une technique de laboratoire identique à celle de l'antibiogramme. Ce dernier sert à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques.

L'aromatogramme est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles essentielles. C'est l'équivalent d'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par les huiles essentielles [21, 22].

Principe de la méthode :

C'est une méthode de mesure *in vitro* de l'effet antibactérien de ou des substances actives extraites (principes actifs) qui consiste à déterminer le spectre d'activité de ces composés sur des espèces

bactériennes pour essayer de vérifier la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes vis-à-vis de ces principes naturels.

Un disque (6 mm de diamètre) imprégné du produit à tester (HE pure, HE au 1/2, HE au 1/4) est placé sur une gélose (4 mm d'épaisseur ; dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre) préalablement inoculée avec la souche, s'humidifie et le produit diffuse radialement du disque dans la gélose en formant ainsi un gradient de concentration. Après une incubation de 18 à 24 heures à une température de 37 °C, si le produit est toxique pour l'espèce bactérienne, il se forme un halo ou une zone autour du disque. Plus grande est cette zone, plus l'espèce est sensible. Des disques témoins (Eau distillée stérile) et des disques de comparaison (Antibiotique) sont inclus dans les essais. Chaque essai a été réalisé en triplicata avec trois disques dans chaque boîte.

Suspensions bactériennes :

A partir des cultures bactériennes préalablement réactivées sur milieu Mueller-Hinton à une température de 37 °C pendant 24 heures, des suspensions bactériennes sont préparées dans de l'eau physiologique stérile et homogénéisées de façon à obtenir une concentration de l'ordre de 10^6 à 10^8 C.F.U/ ml. Après ensemencement des bactéries, les disques imprégnés du produit à tester sont appliqués.

3. RESULTATS

3.1. Extraction et identification des huiles essentielles

Une teneur moyenne de l'ordre de 1,52 ml pour 100 g de drogue végétale correspond à un taux de 1,52 % d'huiles essentielles (Tab. 1). Ces huiles sont de densité plus importante que celle de l'eau, d'un aspect liquide limpide fluide et mobile, de couleur jaune pâle et odeur agréable.

Tableau 1. Teneurs (ml) en huiles essentielles des feuilles de *Salvia officinalis* L.

Essai	Ess.1	Ess.2	Ess.3
Teneur	1,32	1,36	1,88
Teneur moyenne	1,52 ml		

Le profil du chromatogramme obtenu lors de l'identification des huiles essentielles (Fig. 1) a révélé la présence de dix-neuf composés terpéniques.

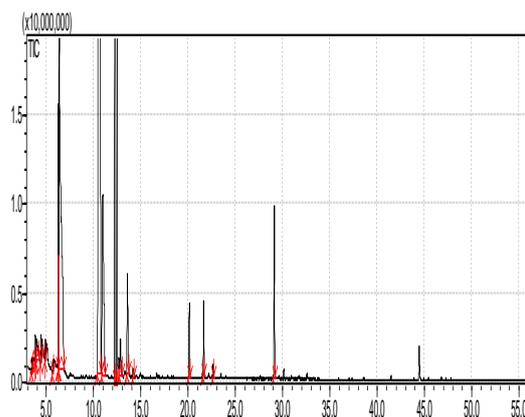


Figure 1. Profil de chromatogramme obtenu par CG / SM de l'huile essentielle isolée.

D'après le temps de rétention, la surface du pic de l'échantillon et la superficie du pic de l'étalon, nous avons pu identifier la nature de ces différents composés dont le plus abondant est l' α -Thujone (36,74 %), suivi du Cinéole (22,97 %), du Camphre avec une teneur moindre (11,34 %). Le β -Thujone vient en 4^{ème} position avec uniquement un pourcentage de 8,81 %.

On note également la présence de composés terpéniques non négligeables avec une teneur comprise entre 2,94 et 3,81 % tels que le Bornéol, la β -Humulène, l'Eucalyptol et le L-Camphre. Le reste des composés identifiés ont des teneurs relativement faibles avec des valeurs comprises entre 0,20 % pour le D-Limonène et 1,54 % pour le Caryophyllène (Tab. 2).

Tableau 2. Composés terpéniques identifiés par CG/SM de l'huile essentielle obtenue.

N pic	(TR)	S (%)	Composé
1	3,460	0,22	α -Pinène
2	3,822	0,41	Camphène
3	3,951	1,06	Ocimène
4	4,409	0,37	β -Pinène
5	4,859	0,25	β -Myrcène
6	5,667	0,20	D-Limonène
7	6,253	3,27	Eucalyptol
8	6,345	22,97	Cinéole
9	10,525	36,74	α -Thujone
10	10,950	8,81	β -Thujone
11	12,247	11,34	Camphre
12	12,435	3,81	L-Camphre
13	12,816	1,10	β -Linalool
14	13,560	2,94	Bornéol
15	14,166	0,25	α -terpénol
16	20,106	1,54	Caryophyllène
17	21,617	1,34	α -caryophyllène
18	22,638	0,23	α -longipinène
19	29,112	3,15	β -Humulène

TR : temps de rétention, S : Superficie

3.2. Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites face aux différentes souches bactériennes étudiées à travers les tests *in vitro*, a montré une énorme hétérogénéité dans les résultats obtenus (Fig. 2). Les souches bactériennes testées ont réagi plus ou moins bien selon la concentration du produit végétal extrait. Généralement, les concentrations les moins élevées ont provoqué un effet inhibiteur plus important de la majorité des souches. Ces huiles semblent être plus efficaces que l'antibiotique utilisé. Parmi toutes les concentrations utilisées, les HE diluées au 1/4 semblent plus efficaces par rapport aux autres concentrations vis-à-vis des germes étudiés avec des zones d'inhibition comprises entre 19,35 et 29,96 mm de diamètre.

De l'ensemble des résultats obtenus, la souche *Escherichia coli* 1429 a montré une grande sensibilité sous l'action des huiles essentielles et de l'antibiotique avec une

moyenne d'inhibition de l'ordre de 30 mm de diamètre. Cependant, la souche de référence *Escherichia coli* ATCC 25922 et la souche *Escherichia coli* 12 ont réagi de façon plus ou moins insensible vis-à-vis des huiles essentielles alors qu'elles sont complètement résistantes à l'antibiotique. Concernant la souche *Proteus mirabilis*, elle n'a montré aucune différence dans le degré de sensibilité par rapport aux autres souches d'*Escherichia coli* sauf qu'elle est très sensible face à l'antibiotique utilisé.

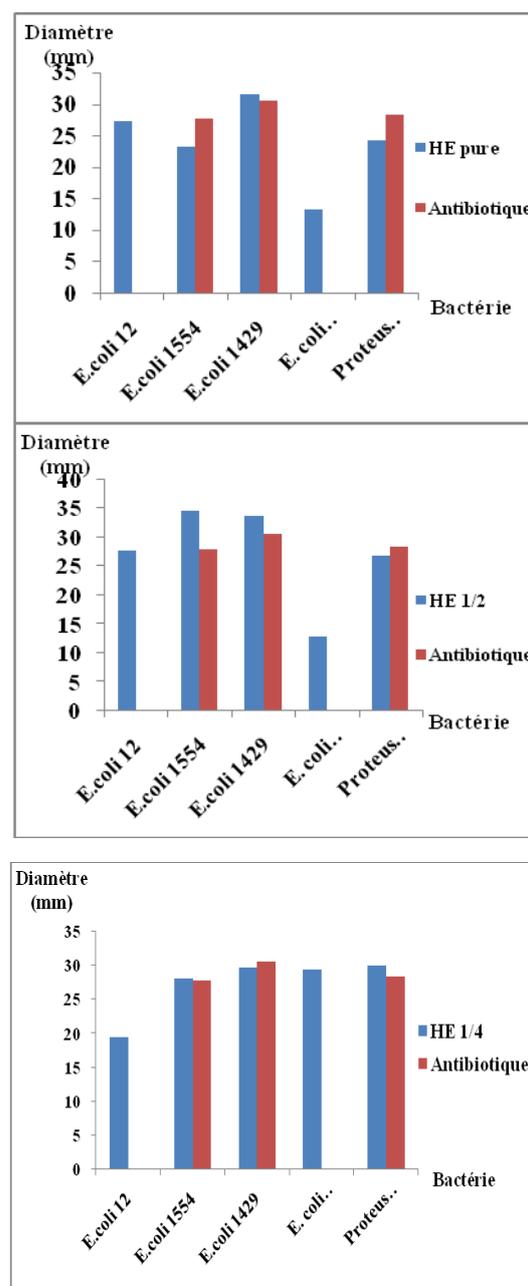


Figure 2. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance des bactéries vis à vis des produits testés.

4. DISCUSSION

A travers l'étude phytochimique des feuilles de l'espèce végétale *Salvia officinalis* L. et à partir de l'extraction, la séparation et l'identification des huiles essentielles ; l'espèce s'est révélée très riche en substances volatiles avec un rendement de l'ordre de 1,52 % et un chémotype formé de dix-neuf composés terpéniques dont le plus abondant est la thujone (mélange α - et β - thujone).

A la lumière de ces résultats et par comparaison avec d'autres recherches, des résultats plus ou moins similaires ont été obtenus sur la même espèce végétale dont les rendements d'huiles essentielles varient entre 1 et 2,5 % et avec environ 60 % de thujone (mélange composé α - et β - thujone) [23]. Cependant, dans un autre travail réalisé sur la Sauge officinale de l'Espagne, l'auteur a montré la présence d'un chémotype à différents composés terpéniques avec une prédominance de Camphre (11 à 36 %), suivi de Cinéole (11 à 25 %) et très peu de thujone (< 0,5 %) [16]. Cette divergence dans les résultats explique le rôle que peuvent jouer les facteurs environnementaux et climatiques sur la composition biochimique et sur la qualité de l'extrait de l'espèce végétale.

Des tests de l'activité antibactérienne évaluée, il ressort que les huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. sont très efficaces contre toutes les bactéries testées et plus particulièrement à la concentration $\frac{1}{4}$. Les meilleurs résultats sont constatés envers des souches d'*Escherichia coli* que celle de *Proteus* qui ne joue qu'occasionnellement un rôle pathogène.

Ces résultats meilleurs et cet effet positif de ces substances naturelles contre les bactéries a été signalé par de nombreux travaux notamment ceux réalisés sur cinq huiles essentielles de l'Origan et de Thym qui ont provoqué des propriétés bactériostatiques et bactéricides les plus fortes, suivi de celles de Laurier et de Clou

de girofle sur *Escherichia coli* sous des températures variables [24]. Dans ce même contexte, les huiles essentielles de Clou de girofle et d'Origan en particulier le Thymol et l'Eugénol ont provoqué la lyse cellulaire des bactéries associée à une rapide mortalité sur *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* [25]. Par ailleurs, l'efficacité thérapeutique du Carvacrol et de l'Eugénol, deux composants phénoliques d'huiles essentielles, a été affirmée contre la Candidose buccale induite de façon expérimentale chez des rats avec un système immunitaire déprimé [26].

Une investigation récente réalisée sur l'activité des huiles essentielles isolées de plantes de l'Origan et de Laurier, a signalé un pouvoir inhibiteur sur des bactéries Gram (+) et Gram (-) entre autre l'inhibition du développement de la souche *Escherichia coli* [27]. On cite encore des recherches très récemment publiées sur six huiles essentielles obtenues à partir de plantes cultivées dans la région Provence-Alpes-Côte d'Azur : *Lavandula latifolia* et *Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* et *Thymus zygis* où les trois dernières présentent la meilleure activité antibactérienne vis-à-vis des souches d'*Escherichia coli* [28], ainsi que d'autres travaux réalisés sur les germes nosocomiaux des infections hospitalières dont l'auteur a évoqué l'efficacité d'une trentaine d'huiles essentielles réputées pour leur activité antimicrobienne sur les souches bactériennes telles que *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* [29]. De même, les huiles essentielles isolées d'une Lamiacée *Ocimum gratissimum* ont provoqué une forte inhibition de la croissance de la souche *Escherichia coli* ATCC 25922 qui a fait également l'objet de notre étude [30]. Ces mêmes huiles essentielles ont fortement inhibé la croissance des bactéries isolées à partir des pus des malades hospitalisés [31].

D'ailleurs, nos résultats sont comparables avec ceux obtenus concernant l'effet des huiles essentielles extraites des feuilles de *Lippia multiflora* L. où la puissance antibactérienne sur quelques entérobactéries a été démontrée [32].

L'activité biologique des principes actifs entre autre celle des huiles essentielles est liée à leur Chémotype c'est-à-dire la ou les molécules biologiquement actives et majoritairement présentes, leur composition ou les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcool, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques car une huile essentielle contient souvent 50 à 100 molécules biochimiques différentes. Le plus souvent, l'action des huiles essentielles est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides.

Cette activité antibactérienne de substances naturelles s'explique par la lyse des membranes bactériennes. Les huiles essentielles, flavonoides, alcaloïdes voire même les tanins pourraient induire une fuite d'ions potassium au niveau de la membrane et par voie de conséquences des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort.

5. CONCLUSION

En guise de conclusion, il semble que la Sauge officinale ou *Salvia officinalis* L. est une espèce végétale de nature aromatique dont les huiles essentielles extraites de ses feuilles sont constituées de dix-neuf composés terpéniques avec une prédominance de la thujone (α - et β -thujone).

De l'activité antibactérienne évaluée, il ressort que les huiles essentielles possèdent un pouvoir antibactérien important sur les germes pathogènes étudiés. L'inhibition de la croissance varie en fonction de l'espèce bactérienne et de la concentration du produit testé. De toutes les souches testées,

quatre d'entre elles se sont montrées très sensibles vis-à-vis de ces substances naturelles qui sont : *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* 12, *Escherichia coli* 1554 et *Escherichia coli* 1429. Seule la souche de référence *Escherichia coli* ATCC 25922 qui a été moyennement résistante aux différentes concentrations d'huiles essentielles alors qu'elle est complètement résistante à l'antibiotique utilisé. Cette activité antibactérienne est due à la richesse des huiles essentielles en substances inhibitrices ; il s'agit probablement des phénols qui sont doués d'une forte activité antibactérienne. La puissance de cette activité prouve de plus en plus l'efficacité de ces substances face à ces bactéries pathogènes. D'autre part, de nombreuses bactéries ont récemment développé une résistance à la plupart des antibiotiques. De ce fait, nous pensons que les principes actifs isolés de diverses plantes médicinales pourraient présenter une alternative intéressante à l'utilisation des antibiotiques.

Enfin, il est intéressant d'extraire les autres principes actifs de la plante et de tester leur pouvoir antibactérien sur un large panel de souches bactériennes et fongiques devenues à l'heure actuelle multirésistantes aux antibiotiques.

REFERENCES

- [1] Ibrahim D., Osman H., 1995. Antimicrobial activity of cassia alata from Malaysia, *J. Ethnopharmacol.*, Vol. 45, 151-156.
- [2] Cowan M.M., 1999. Plants products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Review*, Vol. 12, 564-582.
- [3] Duraffourd C., Lapraz J.C., Chemli R., 1997. La plante médicinale de la tradition à la Science. Ed. Grancher. Paris, p.538-539.
- [4] Bertrand G., 1983. Le goménol, *Bull Gén de Thér Ann Inst Pasteur*, 153-154.

- [5] Azzouz M.A., Bullerman L.R., 1982. Comparative antimycotic effects of selected herbs and spices, plant components and commercial antifungal agents, *J. Food Protect.*, Vol. 45, 1248-1301.
- [6] Akgul A., Kivanc M., 1988. Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some food borne fungi, *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 6, 263-268.
- [7] Jayashree T., Subramanyam C., 1999. Antiaflatoxic activity of eugenol is due to inhibition of lipid peroxidation, *Letters in Applied Microbiology*, Vol. 28, 179-183.
- [8] Mari M., Bertolini P., Pratella G.C., 2003. Non-conventional methods for the control of post-harvest pear diseases, *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 94, 761-766.
- [9] Bishop C.D., 1995. Antiviral activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Maiden and Betche) Cheel (tea tree) against tobacco mosaic virus, *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 7, 641-644.
- [10] Pessoa L.M., Morais S.M., Bevilacqua C.M.L., Luciano J.H.S., 2002. Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. And *eugenol* against *Haemonchus contortus*, *Veterinary Parasitology*, Vol. 109, 59-63.
- [11] Konstantopoulou I., Vassilopoulou L., Mavragani-Tsipidou P., Scouras Z.G., 1992. Insecticidal effects of essential oils: A study of the effects essential oils extracted from eleven Greek aromatic plants on *Drosophila auraria*, *Experientia*, Vol. 48, 616-619.
- [12] Karpouhtsis L., Pardali E., Feggou E., Kokkini., Scouras Z.G., Mavragani-Tsipidou P., 1998. Insecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 46, 1111-1115.
- [13] Pellecuer J., Roussel J.L., Andary C., 1973. Propriétés antifongiques comparatives des essences de trois Labiées méditerranéennes : Romarin, Sarriette et Thym, *Travaux de la Société de pharmacie de Montpellier* 3, 584-585.
- [14] Pellecuer J., Allegrini J., Buochberg S., 1974. Etude in vitro de l'activité antibactérienne et antifongique de l'essence de *Satureia montana*, *J. Pharm. Belg* 2., 137-144.
- [15] Lacoste S., 2006. Les plantes qui guérissent. Ed. LEDUC.S. Paris. 331-332.
- [16] Fleurentin J., 2008. Plantes médicinales : Traditions et thérapeutique. Ed. OUEST – France. 92-93.
- [17] Ganescu I., Bratulescu G., Lilea B., Ganescu A., 2002. Anions complexes du chrome en analyse et le contrôle des médicaments, détermination de la Rifampicine, *Acta. Chim. Slov.*, Vol. 49, 339-340.
- [18] Couraud S., Girodet B., Vuillermoz S., Vincent M., 2006. Thrombopénie immunoallergique à la rifampicine, à propos d'un cas Rifampin induced thrombocytopenia, *Revue Française d'Allergologie*, Vol. 46, 656-658.
- [19] Yala D., Merad A.S., Mohamedi D., Ouar Korich M.N., 2001. Résistance Bactérienne Aux Antibiotiques, *Médecine du Maghreb*, Vol. 91, 12-13.
- [20] Bruneton J., 1999. Pharmacognosie : Phytochimie. Plantes Médicinales. Ed. TEC & DOC., Paris, 239-243.
- [21] Belaïche P., 1979. Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie, Tome 1. Ed. Maloine. Paris, 136-138.
- [22] Girault M., Bourgeon J., 1971. Les cahiers de biothérapie, Vol. 29, d'après <http://fr.wikipedia.org/wiki/Aromatogramme>.

- [23] Brieskorn C.H., 1991. Seine inhaltsstoffe und sein therapeutischer wert, *Z. Phytotherapie.*, Vol. 12, 61-69.
- [24] Burt S.A., 2003. Antibacterial activity of select plant essential oils against *Escherichia Coli* O 157: 47, *Lett. Appl. Microbial.*, Vol. 36, 162-167.
- [25] Rhayour K., 2003. Mechanism of bactericidal action of Oregano and Clove essential oils and their phenolic major components in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*, *Journal of essential oil research*, 60-62.
- [26] Chami F., Chami N., Bennis S., Bouchikhi T., Remmal A., 2005. Oregano and Clove essential oils induced surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae*, *Phytother. Res.*, Vol. 19, 405-408.
- [27] Ohno T., Kila M., Yamaoka Y., Imamura S., Yamamoto T., Mitsufuji S., Kodama T., Kaschima K., Imanishi J., 2003. Antimicrobial activity of essential oils against *Helicobacter pylori*, *Helicobacter*, Vol. 8, 207-215.
- [28] Kaloustian L., Chevalier J., Mikail C., Martino M., Abou L., Vergnes M.F., 2008. Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne, *Phytothérapie*, 160-164.
- [29] Ezzaoui S., 2007. Action bactéricide des huiles essentielles sur des bactéries multirésistantes responsables des infections nosocomiales, Thèse de doctorat biologie, Univ Mohamed V, Rabat, Maroc, 210p.
- [30] Oussou K.R., Yolou S., Boti J.B., Guessennd K.N., Kanko C., Ahibo C., Casanova J., 2008. Etude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la Pharmacopée Ivoirienne, *European Journal of Scientific Research*, Vol. 24, 94-103.
- [31] N'dounga M. , Ouamba J.M., 1997. Antibacterial and antifungal activities of essential oils of *Ocimum gratissimum* and *O. basilicum* from Congo, *Fitoterapia*, Vol. 68, 191-192.
- [32] Pelissier Y., Kone D., Loukou Y., Marion C., Nanga Y., Casadebaig J., 1998. Etude chimique, toxicologique, bactériologique et clinique de l'huile essentielle de *Lippia multiflora* Mold, *EPPOS.*, 735-747.