

Composition Chimique Et Influence De Différents Tweens Sur Le Pouvoir Antimicrobien Des Huiles Essentielles De *Ocimum Gratissimum*, *Ocimum Basilicum*, *Laurus Nobilis* Et *Melaleuca Quinquenervia*

Jacob Bonou, Msc.

Université d'Abomey-Calavi, Laboratoire de Microbiologie et des
Technologies Alimentaires, Bénin.
Ministère de la Santé, Laboratoire National de Contrôle de Qualité des
Médicaments et Consommables Médicaux, Bénin.

F. Baba-Moussa, PhD

Université d'Abomey-Calavi, Laboratoire de Microbiologie et des
Technologies Alimentaires, Bénin.
Ministère de la Santé, Laboratoire National de Contrôle de Qualité des
Médicaments et Consommables Médicaux, Bénin.

Pacôme Agossou Noumavo, PhD

Université d'Abomey-Calavi, Laboratoire de Microbiologie et des
Technologies Alimentaires, Bénin.
Université d'Abomey-Calavi, Laboratoire de Biologie et de Typage
Moléculaire en Microbiologie, Bénin.

Hélène Ahouandjinou, Msc.

Université d'Abomey-Calavi, Laboratoire de Microbiologie et des
Technologies Alimentaires, Bénin.
Ministère de la Santé, Laboratoire National de Contrôle de Qualité des
Médicaments et Consommables Médicaux, Bénin.

Kifouli Adéoti, PhD

Université d'Abomey-Calavi, Laboratoire de Microbiologie et des
Technologies Alimentaires, Bénin.

Idermine Métognon, Bsc.

Université d'Abomey-Calavi, Laboratoire de Microbiologie et des
Technologies Alimentaires, Bénin.
Ministère de la Santé, Laboratoire National de Contrôle de Qualité des
Médicaments et Consommables Médicaux, Bénin.

Koffi Akpagana, PhD

Université de Lomé, Laboratoire de Botanique, Togo.

Moudachirou Mansourou, PhD

Université d'Abomey-Calavi,
Laboratoire de Pharmacognosie et des Huiles Essentielles, Bénin

Joachim Djimon Gbénou, PhD

Université d'Abomey-Calavi,
Laboratoire de Pharmacognosie et des Huiles Essentielles, Bénin

Fatiou Toukourou, PhD

Université d'Abomey-Calavi,
Laboratoire de Microbiologie et des Technologies Alimentaires, Bénin

Lamine Baba-Moussa, PhD

Université d'Abomey-Calavi,
Laboratoire de Biologie et de Typage Moléculaire en Microbiologie, Bénin

doi: 10.19044/esj.2016.v12n27p162 [URL:http://dx.doi.org/10.19044/esj.2016.v12n27p162](http://dx.doi.org/10.19044/esj.2016.v12n27p162)

Abstract

This study aimed firstly to determine the chemical composition, Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of essential oils extracted from *Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Laurus nobilis* and *Melaleuca quinquenervia* collected from Benin (West Africa) on five oral microorganisms (*Micrococcus luteus* ATCC 10240, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Proteus mirabilis* ATCC 24974, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Candida albicans* IP 4872), and secondly to assess the influence of different tweens on antimicrobial potential of four oils against previous microorganisms. Using Clevenger apparatus, oil extraction was performed by steam distillation and the chemical compositions was determined by chromatography. The antimicrobial activity of different oils was evaluated according to microdilution method using ELISA microplates. From this study, Tween 60 proved best to others tweens (20, 40 and 80) by ensuring proper dispersion and distribution of oils. With tween 60, *O. basilicum* essential oil proved the most effective of the four oils with the lowest MIC (0.078 mg/ml) and CMB (0.078 mg/ml) and is effective on all oral germs tested. Chemical screening of these species revealed the presence of several compounds among which thymol (30.62%), para-cymene (25.25%) and gamma-terpinolene (24.24%) (*O. gratissimum*); methyl-chavicol (85.92%) (*O. basilicum*); eugenol (42.50%), myrcene (28.09%) (*L. nobilis*) and beta-ocimene (29.62%), alpha-pinene (12.11%) and viridiflorol (11.85%) (*M. quinquenervia*).

Keywords: Essential oil, medicinal plant, antimicrobial activity, tween, Benin

Résumé

La présente étude visait d'une part à déterminer la composition chimique, la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentrations Minimale Bactéricide (CMB) des huiles essentielles extraites de *Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Laurus nobilis* et *Melaleuca quinquenervia* d'origine béninoise (Afrique de l'Ouest) sur cinq germes bucco-dentaires (*Micrococcus luteus* ATCC 10240, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Proteus mirabilis* ATCC 24974, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Candida albicans* IP 4872), et d'autre part à évaluer l'influence de différents tweens sur le potentiel antimicrobien des quatre huiles sur les dits germes. Ainsi, grâce à un appareil de type Clevenger, l'extraction des huiles a été effectuée par hydrodistillation et leur composition chimique a été déterminée par chromatographie. L'activité antimicrobienne des huiles a été évaluée par la méthode de microdilution dans des microplaques ELISA. Au terme de cette étude, le tween 60 s'est révélé meilleur aux autres (20, 40 et 80), car assure une bonne dispersion et diffusion des essences. Avec le tween 60, l'huile essentielle de *O. basilicum* s'est révélée la plus efficace des quatre huiles, car elle présente les plus faibles CMI (0,078 mg/ml) et CMB (0,078 mg/ml) et est efficace sur tous les germes bucco-dentaires testés. Le screening chimique de ces essences a révélé la présence de plusieurs composés dont les majoritaires sont: thymol (30,62%), para-cymène (25,25%) et gamma-terpinolène (24,24%) pour *O. gratissimum*; méthylchavicol (85,92%) pour *O. basilicum*; eugénol (42,50%), myrcène (28,09%) pour *L. nobilis* et bêta-ocimène (29,62%), alpha-pinène (12,11%) et viridiflorol (11,85%) pour *M. quinquenervia*.

Mots clés: Huile essentielle, plante médicinale, activité antimicrobienne, tween, Bénin

Introduction

L'utilisation thérapeutique des vertus des plantes pour le traitement des maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité. De nos jours, la médecine traditionnelle occupe une place importante malgré les progrès de la médecine moderne. Au Bénin, plus de 80% de la population ont recours à la médecine traditionnelle pour leurs besoins de soins de santé (Sekousounon, 2012). Ainsi, le marché mondial des plantes médicinales est estimé actuellement à plus de 60 milliards de dollar US par an (Bourkhiss et al., 2007).

Avec les nouvelles techniques d'identification et de caractérisation des molécules organiques, plus de 25 à 50% des médicaments prescrits de nos jours ont pour principes actifs les molécules bioactives des plantes

médicinales (Akibou Osséni, 2014). En Afrique en général et au Bénin en particulier, l'exploration des principes actifs des végétaux à usage thérapeutique connaît un regain d'intérêt ces dernières années. La valorisation des ressources végétales naturelles devient une préoccupation nécessaire et importante pour la participation à la recherche de nouvelles molécules médicamenteuses (Moukimou et al., 2014). Ces plantes sont utilisées sous forme de décocté, macéré, infusé ou aussi sous forme d'huiles essentielles. Ces huiles essentielles sont d'utilisation facile et sont souvent efficaces pour la plupart (Quenum, Baloîtcha, & Olurémi, 2003).

Ainsi, plusieurs travaux de recherche relatifs à l'extraction des huiles essentielles de différentes espèces végétales et l'évaluation de leur pouvoir antimicrobien ont été effectués au Bénin. Malheureusement, peu de travaux ont porté sur l'efficacité ou l'influence des tensioactifs couramment utilisés sur l'activité antimicrobienne des essences végétales.

Dans le présent travail, nous nous sommes proposé d'étudier l'influence de certaines molécules tensioactives (tween 20, 40, 60 et 80) sur les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles extraites de quatre plantes médicinales que sont *Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Laurus nobilis* et *Melaleuca quinquenervia* d'origine béninoise (Afrique). Pour ce faire, les essences naturelles des plantes sélectionnées ont été extraites, leur screening chimique a été effectué, puis l'influence des différents tweens sur la Concentration Minimales Inhibitrices (CMI) et la Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) des essences en étude sur cinq germes d'importance clinique a été évalué.

Matériel et Méthodes

Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des plantes médicinales suivantes: *Ocimum gratissimum*. (Lamiaceae), *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae), *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) et *Melaleuca quinquenervia* (Cav) S.T. Blak (Myrtaceae). Ces plantes sont fréquemment utilisées en pharmacopée traditionnelle par la population de la zone d'étude, dans le traitement des affections bucco-dentaires.

La récolte des feuilles de *O. gratissimum* a été faite à Kansoukpa dans le département de l'Atlantique. Celles de *O. basilicum*, de *L. nobilis* et de *M. quinquenervia* ont été respectivement collectées dans les villes de Porto Novo, Djèrègbe et de Adjarra dans le département de l'Ouémé (Figure 1). Les deux départements sont caractérisés par un climat de type Sub-équatorial avec deux saisons pluvieuses (mars à juillet et septembre à novembre) et deux saisons sèches (juillet à septembre et novembre à mars). La température et la pluviométrie moyennes sont respectivement de 27 °C et

1.200 mm. La collecte des plantes a eu lieu dans les matinées du 12 au 20 Mai 2015.

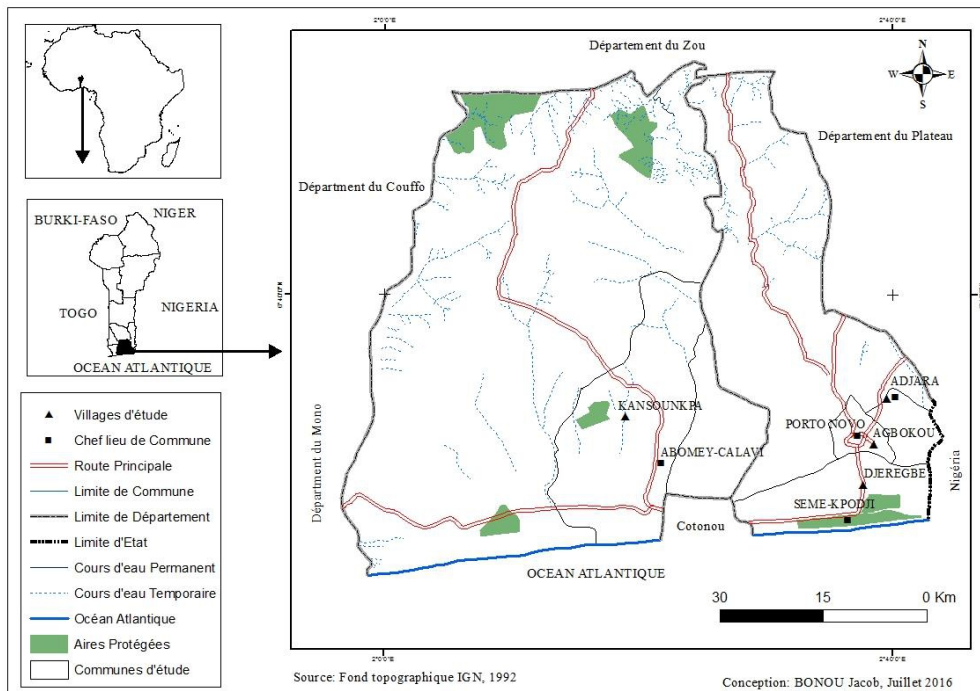


Figure 1: Sites de collecte du matériel végétal.

Microorganismes

Quatre souches bactériennes dont deux à Gram positif (*Micrococcus luteus* ATCC 10240 et *Staphylococcus aureus* ATCC 29213) et deux à Gram négatif (*Proteus mirabilis* ATCC 24974 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) et une levure (*Candida albicans* IP 4872) ont été utilisées dans cette étude. Elles ont été obtenues du Laboratoire de Biologie et de Typage Moléculaire en Microbiologie, de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université d'Abomey-Calavi (Bénin) et du Laboratoire National de Contrôle de Qualité du Ministère de la santé du Bénin. Elles sont conservées dans du bouillon Muller Hinton additionné de glycérol (10%) à -20 °C.

Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger comme décrite par Clevenger (1928). Les huiles essentielles récupérées sont pesées et le rendement en huile de chaque extraction est calculé suivant la formule décrite par Mazari et al. (2010).

Etude *in vitro* de l'activité antimicrobienne et antifongique des huiles

La sensibilité des germes en étude (*M. luteus*; *S. aureus* ATCC 29213; *P. mirabilis* ATCC 24974; *P aeruginosa* ATCC 27853; *C. albicans* IP 4872) aux différentes huiles essentielles a été évaluée par la technique de microdilution utilisant les microplaques de 96 puits (Yayi-Ladekan et al., 2011).

Détermination de la concentration minimale inhibitrice des extraits d'huiles

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est la plus petite concentration pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu. La détermination de la CMI des différents extraits a été faite par microdilution et se déroule en plusieurs étapes.

Préparation d'émulsion d'huile essentielle

Dans un tube à essai, 3920 µl du bouillon Mueller Hinton (pour les bactéries) ou Sabouraud (pour les champignons) ont été mélangés avec 80 µl d'huile essentielle. A ce mélange a été ajouté 5% de différentes concentrations de tweens (20, 40, 60 et 80). En effet, les tweens sont des tensioactifs qui permettent de solubiliser les huiles essentielles dans l'eau. Le mélange (MH, huile et tweens) est ensuite homogénéisé pour constituer l'émulsion d'huile essentielle de concentration 20 mg/ml.

Préparation de la suspension microbienne

Les précultures des différentes souches ont été centrifugées à 10.000 rpm pendant 10 mn. Après centrifugation, les culots bactériens obtenus ont été resuspendu dans du bouillon Mueller Hinton (bactéries) ou Sabouraud (levure) et ajustées à une unité de densité optique à 600 nm pour obtenir une concentration de 10^8 UFC/ml à l'aide d'un spectrophotomètre (BioMATE 3S, Thermo scientific). Les suspensions ainsi obtenues ont été diluées à une concentration de 10^6 UFC/ml pour les bactéries et 10^7 UFC/ml pour *C. albicans*.

Préparation de la microplaque

Neuf-cent-cinquante (950) microlitres de bouillon Mueller Hinton ou Sabouraud ont été répartis dans tous les puits de la plaque. Cinquante (50) microlitres de la solution d'huile essentielle à 20mg/ml ont été ajoutés dans chacun des puits de la première colonne puis 950 µl dans chacun des puits de la troisième colonne à raison d'une huile par rangée. Ensuite, des dilutions successives à partir de la troisième colonne de puits en puits, rangée par rangée, de façon à avoir une série de dilutions de raison 2 ont été réalisées. Tous les puits à l'exception de ceux de la première colonne ont été

ensemencés avec 50 µl d'un inoculum bactérien. Deux puits témoins ont été réalisés: le premier contenait le milieu de culture plus huile essentielle (950 µl + 50 µl) et le second le milieu de culture plus la suspension microbienne (950 µl + 50 µl).

La microplaque est recouverte et incubée à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries ou à 27 °C pendant 48 h pour *C. albicans*. La lecture a été fait par comparaison entre puits témoin et puits test.

Détermination de la concentration minimale bactéricide des extraits d'huiles

La détermination de Concentration Minimale Bactéricide (CMB) des extraits d'huiles essentielles s'est effectuée conjointement à celle de la CMI. Elle a été déterminée par ensemencement de tous les puits en partant de la CMI vers les concentrations les plus élevées sur milieu gélosé Mueller Hinton (bactéries) ou Sabouraud (levure) et incubés à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries et 48 h pour la levure. A l'observation, la plus faible concentration de l'extrait qui ne laisse survivre la bactérie (absence de croissance) correspond à la Concentration Minimale Bactéricide (CMB).

Détermination du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

Le rapport CMB/CMI de chaque huile essentielle informe sur le pouvoir antimicrobien (bactéricidie ou la bactériostase) des dites huiles sur les germes étudiés. En effet, lorsque ce rapport est inférieur ou égal à 4, l'huile est dite bactéricide alors que s'il est supérieur à 4, l'huile est dite bactériostatique.

Screening chimique des huiles essentielles

Deux analyses chromatographiques ont été réalisées pour chaque huile avec un chromatographe en phase gazeuse à régulation électronique de pression de type HEWLETT PACKARD (série HP5870), de marque DELSI IGC 121C équipé d'une colonne capillaire CP WAX 52 CB (25 m de longueur et 0,3 mm de diamètre intérieur), doté d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) réglé à 250 °C et alimenté par un mélange de gaz H₂/air. Il est muni d'un injecteur split-splitless réglé à 240 °C. Le mode d'injection est split (rapport de fuite: 1/60=1ml/min débit : 30 ml/min sous une pression de 1 bar). Le gaz vecteur utilisé est l'azote avec un débit de 1 ml/min.

La température de la colonne est programmée de: palier isotherme à 50 °C pendant 5 min puis gradient de 2 °C/min pendant 85 minutes jusqu'à une température finale de 220 °C. L'appareil est piloté par un système informatique de type "DELL". L'identification des constituants a été réalisée en se basant sur leurs indices de Kovats (IK) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (série HP5772). Il

s'agit d'un détecteur de masse quadripolaire HEWLETT PACKARD (HP) de type 5970 avec ionisation par impact électronique (70eV), équipé d'une colonne capillaire non polaire (DB-1) en silice fondue de 25 m de long et 0,23 mm de diamètre intérieur. Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 0,9 ml/min. Le palier isotherme est de 1 min à 60 °C puis le gradient est de 3 °C/min jusqu'à 180 °C. Le volume d'huile injectée est de 1 µl.

Traitement des données

Un masque de saisie a été conçu sous le logiciel Epi-data version 3.1. Il incluait les différents microorganismes, les tweens et les huiles essentielles en étude. L'importation de ce masque dans le tableur Microsoft Excel (version 2007) a permis de générer les tableaux et les figures sur la base des données moyennes. La carte présentant les localités où les plantes ont été collectées a été réalisée par le logiciel ArcMap version 9.2.

Résultats

Rendement et composition chimique des huiles essentielles

Le tableau 1 présente le rendement moyen en huile essentielle des différentes espèces végétales en étude. Le rendement le plus élevé en huile essentielle a été obtenu avec *M. quinquenervia* (3,20%) et le plus faible avec *L. nobilis* (0,34%).

Tableau 1: Rendements moyens en huile essentielle de *O. gratissimum*, *O. basilicum*, *L. nobilis* et *M. quinquenervia*.

Espèce végétale	Famille	Rendement (%)
<i>Ocimum gratissimum</i>	Lamiaceae	0,92
<i>Ocimum basilicum</i>	Lamiaceae	0,70
<i>Laurus nobilis</i>	Lauraceae	0,34
<i>Melaleuca quinquenervia</i>	Myrtaceae	3,20

Le résultat du screening chimique des huiles essentielles est présenté dans le tableau 2. De l'analyse de ce tableau, il en ressort que la plupart des constituants majoritaires identifiés sont des composés oxygénés. Il s'agit de thymol, para cymène, gamma terpinolène (*O. gratissimum*); de méthyl chavicol (*O. basilicum*); de eugénol, myrcène (*L. nobilis*) et de bêta-ocimène, alpha pinène et viridiflorol (*M. quinquenervia*). En thème de diversité chimique, on notera que l'huile essentielle de *M. quinquenervia* ayant le rendement le plus élevé, renferme plus de composés chimiques (9) que les trois autres espèces végétales (4 à 6).

Tableau 2: Principaux composants chimiques des huiles essentielles extraites de *O. gratissimum*, *O. basilicum*, *L. nobilis* et *M. quinquenervia*.

Espèce végétale	Principaux composés	Total (%)
<i>Ocimum gratissimum</i>	Thymol (30,62%), para-cymène (25,25%), gamma-terpinolène (24,24%), alpha-thujène (7,60%) et myrcène (6,56%).	94,27
<i>Ocimum basilicum</i>	Méthyl-chavicol (85,92%), trans-alpha-bergamotène (3,71%), para-méthoxy-cinnamaldehyde (2,03%) et 1,8-cinéole (2,01).	93,67
<i>Laurus nobilis</i>	Eugénol (42,50%), myrcène (28,09%), chavicol (10,21%), limonène (6,00%), linalol (4,95%) et 1,8-cinéole (2,87%).	94,62
<i>Melaleuca quinquenervia</i>	Béta-ocimène (29,62%), alpha-pinène (12,11%), viridiflorol (11,85%), bêta-caryophyllène (10,62%), 1,8-cinéole (8,56%), alpha-terpinéol (7,81%), viridiflorène (6,32%), bêta-pinène (4,21%) et (E)-nérolidol (3,88%).	94,98

Influence des différents tweens sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles sur quelques germes bucco-dentaires

La figure 2 présente l'effet combiné des huiles et des tweens sur la croissance microbienne des cinq germes bucco-dentaires en étude. L'analyse de la Figure 2a montre que les valeurs de CMI et de CMB de toutes les huiles à l'exception de *M. quinquenervia* sur *P. aeruginosa* décroissent de tween 20 au tween 60. Les valeurs de CMB et CMI obtenues avec le tween 80 sont pareilles à celles obtenues avec le tween 60. Signalons qu'avec les tweens 20 et 40, l'huile essentielle *M. quinquenervia* est restée inactive sur *P. aeruginosa*. Son activité antimicrobienne n'a été constatée qu'avec les tweens 60 et 80 avec la CMB la plus élevée (5 mg/ml). Sur *P. aeruginosa* (tween 60), les plus petites CMI (0,156 mg/ml) et CMB (0,156 mg/ml) ont été obtenues avec l'huile de *O. basilicum*.

D'une façon générale, on retiendra que les CMI et CMB des huiles en étude décroissent de tween 20 au tween 60 et que les dites valeurs demeurent constantes de tween 60 au tween 80. Ainsi, avec le tween 60, la plus faibles CMI (0,078 mg/ml) et CMB (0,078 mg/ml) de *P. mirabilis* et *S. aureus* ont été obtenues avec l'huile essentielle de *O. basilicum*. Sur *M. luteus* la plus faible CMI (0,078 mg/ml) est obtenue aussi avec les huiles essentielles de *O. basilicum*, *O. gratissimum*, et *L. nobilis*, alors que la plus petite CMB (0,078 mg/ml) est obtenue avec les essences de *O. basilicum*, *O. gratissimum*. Enfin, sur *C. albicans*, la plus faible CMI (0,078 mg/ml) a été enregistrée avec les huiles de *O. basilicum* et *O. gratissimum*, pendant que le plus faible CMB (0,078 mg/ml) est obtenue avec *O. basilicum*.

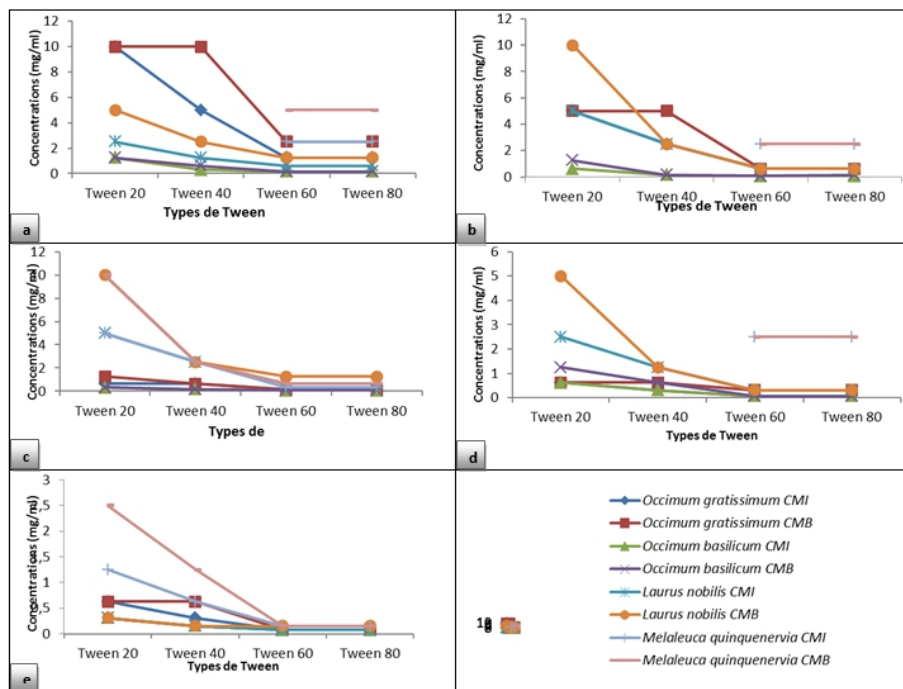


Figure 2 : Influence des différents Tweens sur les CMI et les CMB des huiles essentielles sur *P. aeruginosa* (a), *P. mirabilis* (b), *S. aureus* (c), *C. albicans* (d) et *M. luteus* (e).

Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

Le tableau 3 montre le rapport CMB/CMI de chaque huile essentielle sur les germes étudiés. De l'analyse de ce tableau, il ressort à l'exception de l'activité de *O. gratissimum* sur *C. albicans* que toutes les huiles ont une propriété bactéricide ($CMB/CMI \leq 4$) sur les cinq germes bucco-dentaires en étude. Par contre, *O. gratissimum* a une action bactériostatique ($CMB/CMI > 4$) sur *C. albicans*.

Tableau 3 : Rapports CMB/CMI des huiles essentielles obtenues avec le tween 60.

Espèces végétales	CMB/CMI				
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
<i>Ocimum gratissimum</i>	2	1	1	1	4
<i>Ocimum basilicum</i>	1	1	1	1	1
<i>Laurus nobilis</i>	2	1	2	2	1
<i>Melaleuca quinquenervia</i>	2	1	1	2	1

Il est tout au moins important de signaler que les différentes solutions de tweens (5%), à elles seules ne présentent aucune activité antimicrobienne

vis-à-vis des microorganismes tests (Tableau 4), à l'exception de tween 80 (*M. luteus*).

Tableau 3: Activité antimicrobienne des différents tweens (5%) sur les germes bucco-dentaires.

Tweens	Microorganismes				
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
Tween 20	-	-	-	-	-
Tween 40	-	-	-	-	-
Tween 60	-	-	-	-	-
Tween 80	-	-	+	-	-

(+) : positif ; (-) : négatif

Discussion

Le rendement le plus élevé en huile essentielle a été obtenu avec *Melaleuca quinquenervia* (3,20%) et le plus faible (0,34) avec *Laurus nobilis* (Tableau 1). Cette variation de rendement peut être due aux aptitudes intrinsèques des espèces végétales à produire de l'huile essentielle, mais aussi aux conditions climatiques et pédologiques des sites de collecte du matériel végétal.

L'évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Laurus nobilis* et *Melaleuca quinquenervia* sur les cinq germes bucco-dentaires en étude a conduit à des résultats très intéressants. En effet, parmi les bactéries testées, celles à Gram négatif (*P. aeruginosa* et *P. mirabilis*) se sont révélées plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries à Gram positif (*M. luteus*, *S. aureus*). L'organisation architecturale de la paroi cellulaire des bactéries Gram positives est moins complexe que celle des bactéries Gram négatives. Cette complexité réside dans le fait que la membrane externe des bactéries Gram négatif est hydrophile et peut bloquer la pénétration de composés hydrophobes dans la membrane cellulaire cible (Ouattara et al., 2008). Cette différence structurale rend ainsi les bactéries Gram positif plus sensibles à l'action des huiles essentielles (Kalemba, & Kunicka, 2003). La sensibilité plus marquée des bactéries Gram positif vis-à-vis des composés des huiles essentielles avait été aussi observée par d'autres auteurs (Kalemba, & Kunicka, 2003).

L'analyse de la figure 2 relative à l'influence des différents tweens sur les CMI et les CMB des huiles essentielles sur les différents germes révèle de façon générale, que les CMI et les CMB des quatre huiles varient en fonction des tweens (20, 40, 60 et 80). Quel que soit l'huile essentielle mixée avec le tween, les valeurs de CMI et de CMB décroissent de tween 20 au tween 60 mais restent constantes du tween 60 au tween 80. De plus, avec les tweens 20 et 40, l'huile essentielle de *M. quinquenervia* est restée

inactive sur *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* et *C. Albicans* alors qu'avec le tween 60 on obtient des valeurs de CMI d'environ 2,5 mg/ml sur les mêmes germes dans les mêmes conditions. Des travaux antérieurs ont montré que la nature ainsi que la concentration d'un agent émulsifiant peuvent influencer l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle (Bencheqroun et al., 2012). En effet, la structure amphiphile des tweens 60 et 80 leurs permet de bien se disposer aussi bien à l'interface de la phase hydrophile que celle de la phase hydrophobe formant ainsi des films moléculaires (Nogarede & Amram, 1983) induisant une bonne dispersion des essences dans les milieux liquides et leurs bonne diffusion dans les milieux gélosés (Kpavode, 2005).

Par ailleurs, les résultats du tableau 4 montrent que le tween 80 (5%) inhibe l'activité microbienne de *M. luteus*. Ainsi, sa substance active (Polyoxyéthylènesorbitanne monoooléate) présente donc un effet inhibiteur de la croissance de *M. Luteus*. Bien que présentant de bons résultats, l'utilisation de ce tween pourrait avoir une action synergique avec certaines huiles essentielles faussant ainsi les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles. Il ressort de ces observations que le tween 60 présente les meilleures caractéristiques.

Dans la présente étude, les résultats obtenus avec le tween 60 diffèrent de ceux obtenus par Kpavode (2005) qui montraient que *M. quinquenervia* n'a pas d'effet antimicrobien sur certains germes notamment *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *C. albicans*. Le même constat est fait pour l'huile essentielle de *L. nobilis*. Ces différences pourraient s'expliquer par le fait que les huiles essentielles testées n'ont pas la même composition chimique. Elles peuvent également s'exprimer par la différence de tween utilisé.

Au nombre des microorganismes en étude, *M. luteus* s'est révélé le plus sensible aux huiles essentielles, alors que *P. aeruginosa* s'est révélé le plus résistant. Cette résistance de *P. aeruginosa* a été prouvée par Chouitah et al. (2011). Ainsi, avec le tween 60, la plus faibles CMI (0,078 mg/ml) et CMB (0,078 mg/ml) de *P. mirabilis* et *S. aureus* ont été obtenues avec l'huile essentielle de *O. brasiliicum*. Sur *M. luteus* la plus faible CMI (0,078 mg/ml) est obtenue aussi avec les huiles essentielles de *O. brasiliicum*, *O. gratissimum*, et *L. nobilis*, alors que la plus petite CMB (0,078 mg/ml) est obtenue avec les essences de *O. brasiliicum*, *O. gratissimum*. Enfin, sur *C. albicans*, la plus faible CMI (0,078 mg/ml) a été enregistrée avec les huiles de *O. brasiliicum* et *O. gratissimum*, pendant que le plus faible CMB (0,078 mg/ml) est obtenue avec *O. brasiliicum*. D'une façon générale, on retiendra que l'huile essentielle de *O. brasiliicum* est la plus efficace, même si toutes les huiles (4) sont pourvues d'activité bactéricide (Tableau 3).

Pour mieux comprendre les différents profils antimicrobiens des quatre huiles, on a procédé au screening chimique des dites huiles, car une huile essentielle peut comporter plus de soixante composants différents dont

le composant majeur peut constituer plus de 85% (Knobloch et al., 1989). Il ressort de ce screening que les huiles essentielles en étude n'ont pas de ressemblance chimique. Certaines sont riches en thymol, para-cymène, gamma-terpinolène (*O. gratissimum*), d'autres en méthyl-chavicol (*O. basilicum*), en eugénol et myrcène (*L. nobilis*), en bêta-ocimène, viridiflorol, bêta-caryophyllène et 1,8-cinéole (*M. quinquenervia*) (Tableau 2). On remarque également que l'huile la plus efficace (*O. basilicum*) contient majoritairement du méthyl-chavicol (85,92%), qui serait le principal composé antimicrobien de cette huile. La forte activité antimicrobienne de cette huile essentielle avait été aussi constatée par Bassolé et al. (2010). En effet, le Méthyl-chavicol, appelé aussi couramment l'Estragol, fait partie de la famille des méthyl-éthers. C'est un composant essentiel des huiles de Basilic et d'Estragon souvent utilisé en parfumerie mais aussi comme arômes alimentaires et dans certaines liqueurs. Le Méthyl-chavicol est surtout reconnu pour ses puissantes propriétés antihistaminiques, antispasmodiques et antibactériennes.

Au nombre des composants majoritaires, notons la présence du Thymol et de l'eugénol. L'importance du thymol dans l'activité antibactérienne de l'huile essentielle *O. gratissimum* a été soulignée par Oussou et al. (2010). En effet, en testant l'huile essentielle de *O. gratissimum* brute fractionnée sur quelques entérobactéries, les auteurs suscités ont constaté que la fraction contenant majoritairement de composés oxygénés, notamment le thymol, est plus active que les autres fractions. En fait, le thymol (de la famille des Phénols monoterpéniques), est un composé aromatique particulièrement présent dans le thym. Il entre dans la composition de différents médicaments grâce à ses propriétés antibactérienne, antiseptique et antifongique. On le retrouve par exemple en traitement contre les aphtes, les irritations de la gorge et les piqûres d'insecte. Quant à l'eugénol (de la famille des Propénylphénols), il est très couramment utilisé pour ses vertus antiseptique et analgésique et est ainsi utilisé dans le domaine dentaire pour la fabrication de bains de bouche et de pâtes gingivales contre les affections buccales. On peut également le retrouver dans des pommades servant à décongestionner les bronches en cas de rhume ou de bronchite.

Conclusion

Cette étude montre que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles peut être influencée par le type de tensioactif utilisé. Parmi les quatre tensioactifs évalués (20, 40, 60 et 80), le tween 60 présente les meilleurs caractéristiques, car assure une bonne dispersion et diffusion des essences. L'huile essentielle de *O. basilicum* est la plus efficace des quatre huiles (*O. gratissimum*, *O. basilicum*, *L. nobilis* et *M. quinquenervia*), car

elle présente les plus faibles CMI et CMB et est efficace sur tous les germes bucco-dentaires testés. Cette huile essentielle est composée majoritairement de méthyl-chavicol (85,92%). Signalons tout de même que les trois autres huiles sont aussi pourvues d'activité bactéricide.

References :

- Akibou Osséni, M. L., Agbangnan, D. C. P., Bossou, A., Yédomonhan, H. P., Félicien Avlessi, Sohounhloué, K. C. D. (2014). Radical scavenging activities and study of volatile compounds of three plants used in traditional medicine in Benin: *Anchomanes difformis*, *Parkia biglobosa* and *Polyalthia longifolia*. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 9 (4), 1609-1619.
- 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 Monoterpene Alcohols Alone and in Combination. *Molecules*, 15, 7825-7839.
- Bencheqroun, H. K., Ghanmi, M., Satrani, Aafi, A., & Chaouch, A. (2012). Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc. *Bulletin de la société Royale des sciences de Liège*, 81, 4-21.
- Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., Ouhssine, M., & Chaouch, A. (2007). Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *tetraclinis artacula* (vahl) au Maroc. *Afrique Science*, 3(2), 232-242.
- Calixto, J. B. (2005). "Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: A personal view". *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 131-134.
- Clevenger, J. F. (1928). Apparatus for volatile oil determination: description of New Type Clevenger. *American Performance Essential Oil Review*, 467–503.
- Chouitah, O., Meddah, B., Aoues, A., & Sonnet, P. (2011). Chemical composition and Antimicrobial Activities of the Essential Oil from *Glycyrrhiza glabra* Leaves. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 14 (3), 284-288
- Kalemba, D., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10, 813-829.
- Knobloch, K., Pauli, A., Iberl, B., Weigand, H., & Weis, N. (1989). Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research*, 1, 119-128.

- Kpavode, L. (2005). Contribution à l'étude des propriétés antimicrobiennes d'huiles essentielles extraites de plantes médicinales béninoises. *Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université d'Abomey Calavi, Bénin.*
- Mazari, K., Bendinerad, N., Benkhechi, Ch., & Fernandez, X. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L and *Cupressus sempervirens*. *Medicinal Plants Research*, 4(10), 959-964.
- Nogarede, A., & Amram, H. (1983). Les tensioactifs. *Actual. Pharm.*, 204, 93-95.
- Osseni Akibou, M. L., Agbangnan, D. C. P., Bossou, A., Yédomonhan, H. P., Avlessi, F., & Sohounhloué, K. C. D. (2014). Activité antiradicalaires et étude des composés volatils de trois plantes de la médecine traditionnelle du Bénin: *Anchomanes difformis*, *Parkia biglobosa* et *Polyathia longifolia*. *International Journal of Innovation and Applied Studie*, 9(4), 1609-1619.
- Ouattara, S., Kra, M. K. A., Kporou, E. K., & Guede-Guina, F. (2008). Evaluation de l'activité antifongique des extraits de *terminalia ivorensis* (tekam2) sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. *Revue Ivoirienne des Sciences et Technologies*, 12, 205-214.
- 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 Journal of Scientific Research.*, 40, 50-59.
- Quenum, R. O. A., & Baloïtcha Olurémi, D. R. (2003). Contribution to the study of antimicrobial properties of extracts of *Lantana camara* L. and *Hyptis suaveolensis* Poit *Ocimum gratissimum* L. on five coetaneous germs tropism. Dissertation study of Master, University of Abomey- Calavi, Benin.
- Sekousounon, S. (2012). Evaluation de la qualité microbiologique des phytomédicaments améliorés vendus dans les officines de pharmacie de la ville de Cotonou (Bénin). *Thèse de pharmacie, Université d'Abomey Calavi, Bénin.*
- Yayi-Ladekan, E., Kpoviessi D. S. S., Gbaguidi, F., Kpadonou-Kpoviessi, B. G. H., Gbénou J., Jolival, C., Moudachirou, M., Accrombessi, G. C. & Quetin-Leclercq, J. (2011). Variation diurne de la composition chimique et influence sur les propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle de *Ocimum canum* Sims cultivé au Bénin. *International Journal of Biology and Chemistry Sciences*, 5 (4), 1462-1475.