

ORIGANUM VULGARE L : ETUDE BOTANIQUE, EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE ET ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE

Meklid Sonia, Ben Moussa Mohammed Tahar

Université Mostapha Ben Boulaid Batna 2, département de pharmacie, laboratoire de pharmacognosie
soniameklid@gmail.com

I

Introduction

- ✓ L'intérêt porté à la phytothérapie ne cesse de croître dans la plupart des pays développés.
- ✓ Parmi ses branches l'aromathérapie qui est l'utilisation d'huiles essentielles, issues de la sécrétion naturelle élaborée dans les différentes parties de la plante, pour la prévention et le traitement de certains symptômes et pathologies.
- ✓ Parmi les plantes riches en huiles essentielles l'origan *Origanum vulgare* L., Lamiaceae qui est traditionnellement utilisé dans le traitement des affections respiratoires et dermatologiques.

II

Matériel et méthodes

❖ **Etude botanique:**

Les feuilles d'origan *Origanum vulgare* L. Lamiaceae ont été apportées d'un herboriste et son identité a été confirmée par les examens botaniques macro et microscopiques

✓ **Montage de la poudre**

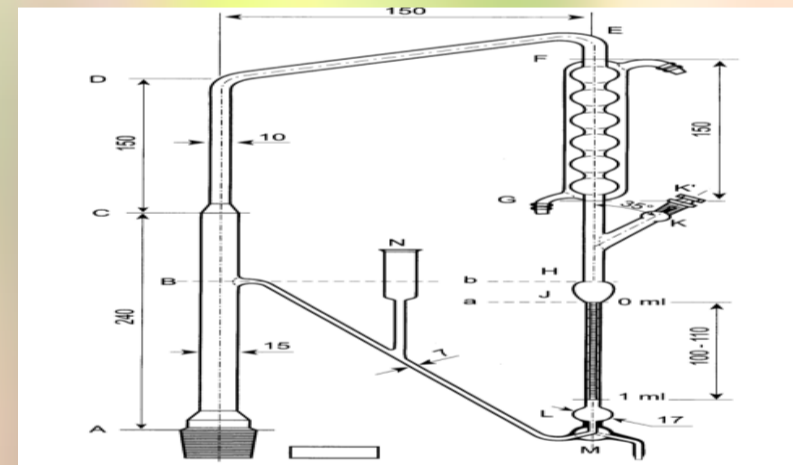
- Sur une lame porte objet, on dépose une goutte d'eau
- A l'aide d'une pince, on prélève une petite quantité de poudre et on la délaye dans l'eau, sur la lame, jusqu'à ce que la poudre soit mouillée.
- On recouvre d'une lamelle en appuyant légèrement avec le doigt.
- On observe au Gx10 et Gx40.

✓ **Montage de la coupe**

- Sur une coupe aussi fine que possible, on fait agir successivement : l'hypochlorite de Sodium dilué (20mn), Hydroxyde de Sodium à 5% (30s), d'acide acétique dilué (30s), vert d'Iode (1 m), le carmin (15m)
- chaque étape est suivie d'un lavage à l'eau distillée sauf celle d'acide acétique
- On introduit la coupe entre lame et lamelle additionnée d'une goutte d'eau distillée
- on observe au Gx10 et Gx40.

❖ **Extraction de l'huile essentielle**

- faite par un appareil normalisé de la pharmacopée européenne dont le principe est l'entraînement à la vapeur d'eau



❖ **CCM de HE**

- Solution à examiner: on dissout 0,2 g d'huile essentielle d'origan dans 10 mL de toluène.
- Solution témoin: on dissout 0,15 g de thymol dans 5 mL de toluène.
- Plaque: plaque au gel de silice pour CCM.
- Phase mobile: acétate d'éthyle, toluène (5:95 V/V).
- Dépôt: 20 µL, en bandes.
- Développement: sur un parcours de 9 cm.
- Séchage: à l'air.
- Détection: on pulvérise de la solution d'aldéhyde anisique et on chauffe la plaque à 100-105 °C pendant 5-10 min tout en l'observant, à la lumière du jour

❖ **Etude bactériologique:**

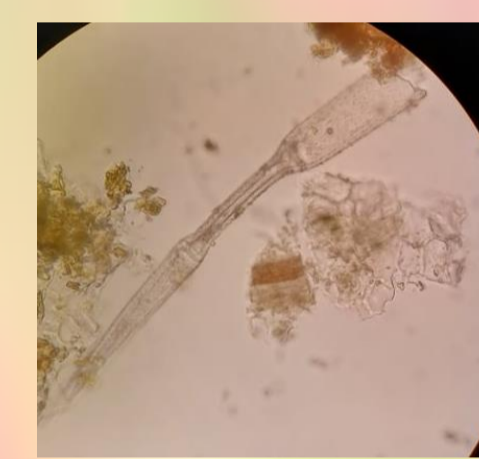
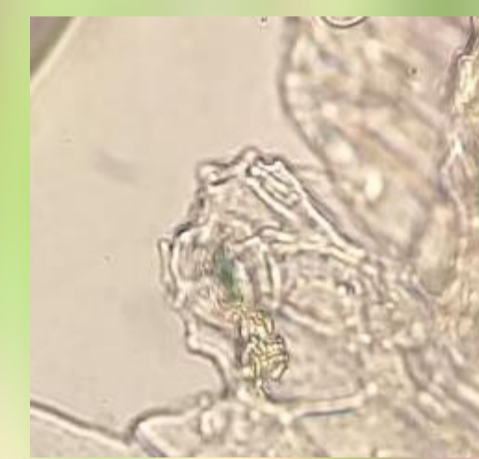
- Les bactéries choisies sont de type ATCC: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*
- La préparation d'inoculum bactérien est effectuée après plusieurs étapes. Initialement, les échantillons maintenus congelés ou réfrigérés doivent être activés dans un milieu MH liquide. Après 6 à 8 heures à 35 °C, une aliquote est transférée dans un milieu de MH. Après 24 h à 35 °C, les colonies de culture axénique peuvent être mises en suspension dans 5 mL de solution saline stérile (8,5 g / L de NaCl) et mesurées à l'aide d'un densitomètre 0,5 McFarland (correspondant à $1 \cdot 10^8$ UFC / mL)
- Le milieu de culture est constitué de Muller Hinton liquide avec 0.5% tween 80.
- La technique est généralement réalisée dans des plaques en U avec 96 puits, 20 µL de l'huile essentielle est ajouté dans le premier puits qui contient 170 µL de bouillon Mueller-Hinton (tween 80 : 0.5%) les autres puits contiennent déjà 95 µL Mueller-Hinton (tween 80 : 0.5%)
- Après homogénéisation du premier puits 95 µL du mélange du premier puits est transféré au deuxième puits et ainsi de suite, les 95 µL du dernier puits sont éliminés.
- À la fin 5 µL d'une suspension bactérienne de $3,5 \times 10^7$ CFU / mL sont ajoutés à chaque puits.
- Les résultats sont lus après une période d'incubation de 24 / 35 °C.
- La valeur CMI est la concentration la plus faible du produit naturel qui inhibe visuellement la croissance microbienne.
- A partir des tubes sans croissance visible, 10 µL de solution sont retirés et étalés sur gélose Mueller-Hinton et incubés pendant encore 24 h / 35 °C pour déterminer la concentration bactéricide minimale (CMB). L'absence d'unités formant des colonies (ou une croissance inférieure à 0,1% de l'inoculum initial) indique que les huiles essentielles sont bactéricides
- Pour chaque souche bactérienne 2 essais ont été fait

III

Résultats et discussion

❖ **Etude botanique:**

- L'étude microscopique de la coupe et la poudre des feuilles d'origan a montré la présence de :
 - Deux types des poils sécréteurs, les uns de type lamiaceae, à 12 cellules (1), les autres peu abondants à tête unicellulaire et pied bi ou tricellulaire (2),
 - Deux types des poils tecteurs: les uns sont pluricellulaires (3), les autres sont unicellulaires coniques (4)
 - Des stomates diacytiques (5)



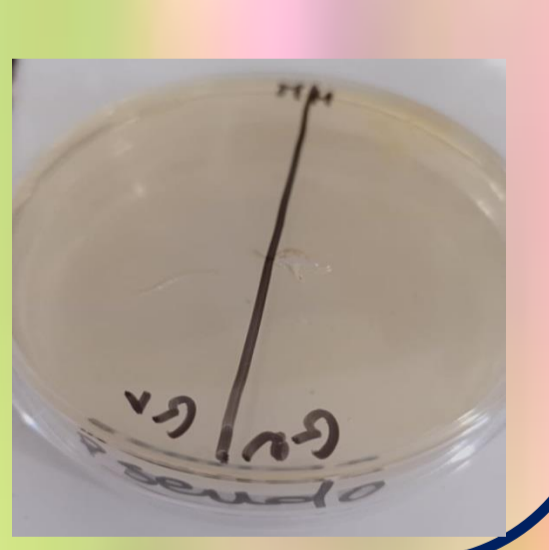
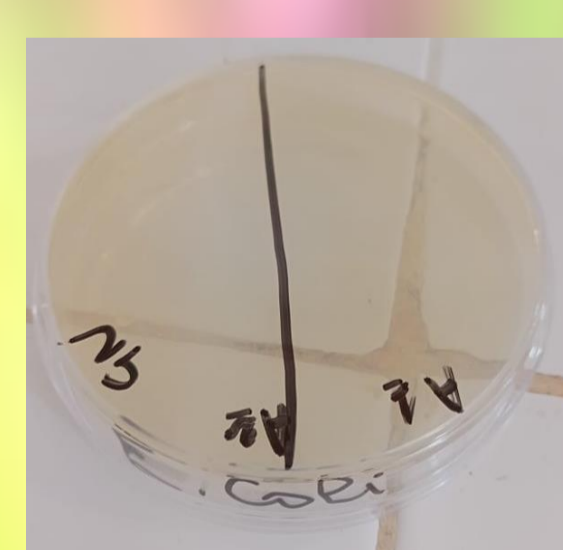
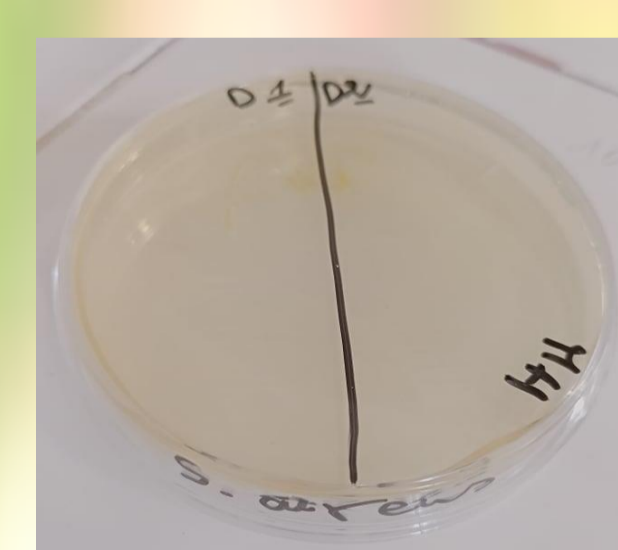
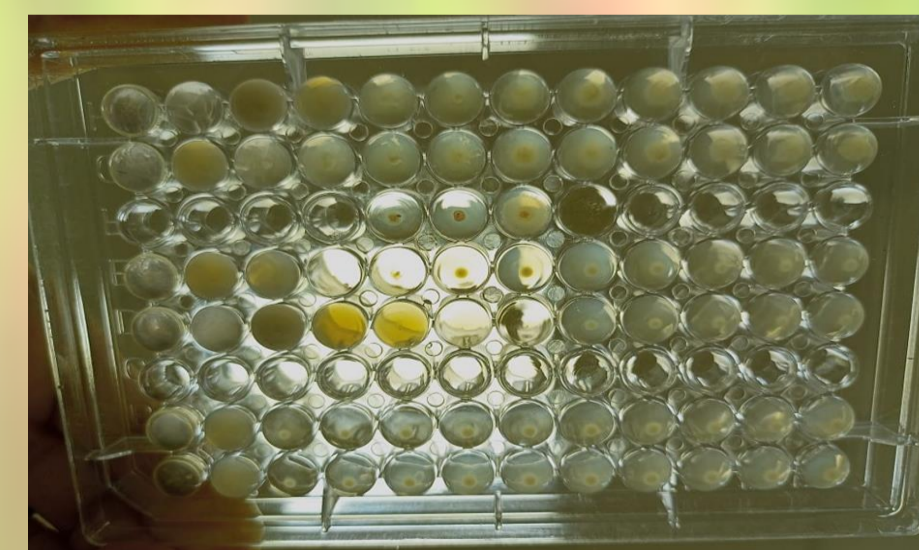
❖ **Extraction de l'huile essentielle et CCM**

- Le rendement d'extraction: 25,6% (masse/volume)
- La CCM a permis d'identifier quatre taches majoritaires, essentiellement le thymol (Rf=0,58) et le carvacrol (Rf=0,5)



❖ **Etude bactériologique**

- *Staphylococcus aureus*: CMI=CMB=2,25 µg/ml
- *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*: CMI=CMB=9 µg/ml



IV

Conclusion :

- L'huile essentielle d'origan possède un effet antibactérien surtout sur les bactéries Gram positif comme *Staphylococcus aureus* ce qui explique son utilisation dans le traitement des infections dermatologiques

References

- H Wagner, S Bladt, Plant drug analysis, Edition Springer 2^e édition
- Institute CaLS. standardization of sensitivity tests with antimicrobials by disc diffusion. Guideline 2003;M2-A8(CLSI, Wayne, PA).
- Eloff JN. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. Planta medica. 1998.
- PHARMACOPÉE EUROPÉENNE 7^e ÉDITION publiée le 15 juillet 2010