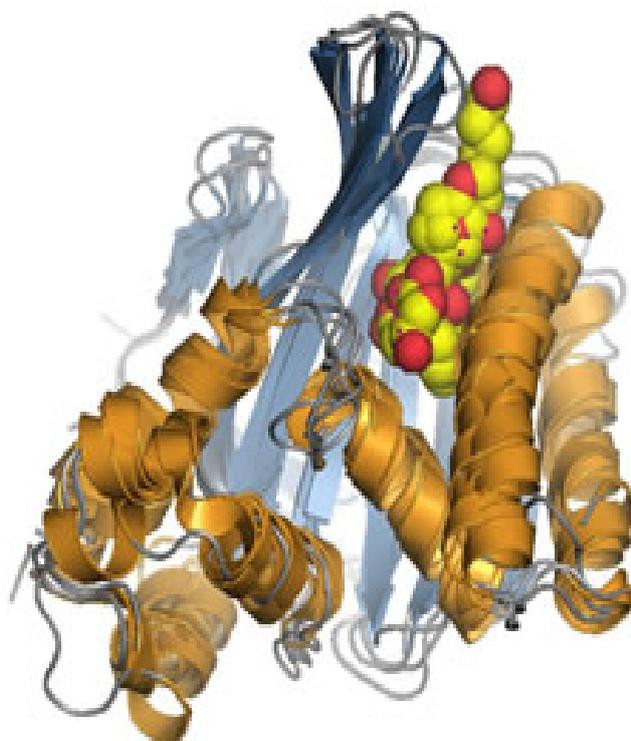


PhytoChem & BioSub Journal

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

ISSN 2170 - 1768



PCBS Journal

Volume 8 N° 4

2014

Special: 4th *Phytochem & BioSub Conference* (4th *PCBS*)
& 1st *Algerian Days on Natural Products* (1st *ADNp*)

Evaluation du potentiel antimicrobien de l'huile essentielle d'absinthe (*Artemisia absinthium* L.) sur *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*

Zahia SEBKHI⁽¹⁾, Zahra AYOUNI⁽¹⁾, Mouloud ARKOUB⁽¹⁾ & Farida CHADER⁽²⁾

(1) Laboratoire d'entomologie du complexe biomédicale
Université Mouloud Mammeri, TiziOuzou, Algérie.

(2) Laboratoire de microbiologie, filiale biotique
Saidal, Gue de Constantine, Algérie.

Received: Special 4^o PCBS & 1stADNp - December 1, 2, 2013

4^o Phytochem & BioSub Conférence (4^o PCBS) & 1st Algerian Days on Natural Products (1st ADNp)

Corresponding author Email zahia_sebkhi@yahoo.fr

Copyright © 2014-POSL

DOI:10.163.pcbjsj/2014.8.4.236

Abstract. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle des feuilles et des inflorescences de l'absinthe (*Artemisia absinthium* L.) et son association avec un antibiotique de synthèse, le Primazol fort a été évaluée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé contre des souches pathogènes référencées: deux bactéries *Staphylococcus aureus* (ATCC6538), *Bacillus subtilis* (ATCC9392) et une levure *Candida albicans* (ATCC24433). Les résultats obtenus ont montré des activités variables selon la souche microbienne. En effet, l'huile essentielle de l'absinthe s'est avérée plus efficace contre *Bacillus subtilis* comparativement à *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*. La nature de l'activité exercée par cette huile est bactéricide sur *Bacillus subtilis*, bactériostatique vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et fongistatique à l'égard de *Candida albicans*. L'association de cette huile essentielle avec un antibiotique de synthèse, le Primazol fort a révélé un effet synergique sur *Bacillus subtilis*, ce qui suggère l'usage de cette huile comme agent antiseptique ou complément thérapeutique et d'envisager leurs applications dans des domaines pharmaceutiques et agronomiques.

Key Words: huile essentielle, *Artemisia absinthium* L., antimicrobien, antibiotique, synergie

INTRODUCTION

Ayant une position géographique privilégiée, l'Algérie possède une flore extrêmement riche et variée représentée par 4125 plantes vasculaires inventoriées réparties en 123 familles botaniques [1]. Cette richesse et cette originalité font que l'étude de la flore d'Algérie présente un intérêt scientifique fondamental dans le domaine de la valorisation des substances naturelles.

L'émergence récente de la résistance aux antibiotiques, à travers toutes les souches microbiennes pathogènes, a profondément troublé le milieu médical exprimant ainsi un besoin urgent pour de nouvelles substances antimicrobiennes, notamment d'origine végétale. C'est dans ce cadre que nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antibiotique des feuilles et des sommités fleuries de l'absinthe, une plante réputée pour son usage en médecine traditionnelle et ses vertus thérapeutiques diversifiées (anti-infectieuse, antispasmodique, emménagogue, analgésique...etc.).

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal et extraction de l'huile essentielle

L'absinthe (*Artemisia absinthium*) est un sous arbrisseau vivace de la famille des Astéracées [2], c'est l'une des plus anciennes plantes médicinales connues et utilisées dans la thérapeutique depuis les temps les plus reculés[3].

Les feuilles et les sommités fleuries d'*Artemisia absinthium* (Asteracées) ont été récoltées en aout 2007 dans un endroit naturel « Thaâwinte iharqane », une région de la forêt d'Akfadou, wilaya de Bejaia. L'huile essentielle de cette plante a été extraite par la méthode d'hydrodistillation.

2. Microorganismes testés

Les souches pathogènes testées ont été fournies par le laboratoire de microbiologie du groupe SAIDAL (filiale biotique), ayant les références suivantes: *Staphylococcus aureus*, ATCC 6538 ; *Bacillus subtilis*, ATCC 9392 et *Candida albicans*, ATCC 24433.

3. Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne

Pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle testée nous avons appliqué la technique de diffusion sur gélose qui consiste à déposer la substance à tester (l'huile essentielle, l'antibiotique et le mélange des deux) sur un disque en papier buvard absorbant, à l'aide d'une micropipette sur une boîte de petri contenant la géloseensemencée par la culture à étudier. Cette substance diffuse sur la surface de la gélose à partir du disque et un gradient décroissant s'établit tout autour.

Après la lecture des résultats, un prélèvement sur la zone d'inhibition de chaque pathogène a été repiqué sur une nouvelle gélose. Après incubation à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 25°C pendant 48-72h pour la levure, des observations à l'œil nu des boîtes de pétri ont été effectuées pour déterminer la nature de l'activité antibiotique de l'huile essentielle.

4. Etude statistique

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'absinthe ont fait l'objet d'une analyse de la variance avec un seuil de signification de 5%, cette dernière est basée sur les valeurs du test F observées et les probabilités en utilisant le logiciel (STAT-BOX).

RESULTATS ET DISCUSSION

1 Présentation des résultats relatifs à l'effet de l'huile essentielle de l'absinthe

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'absinthe obtenus par mesure des diamètres d'inhibitions de la croissance des microorganismes sont reportés dans le tableau I, qui illustre bien l'action de cette huile essentielle sur la croissance microbienne.

Tableau I: Diamètres des zones d'inhibition en fonction de la variation des doses de l'huile essentielle de l'absinthe (*Artemisia absinthium* L.) en mm.

Doses (µl) Souches	D1= 1	D2=1,75	D3=3,5	D4=7	D5=14	Témoins
<i>S. aureus</i>	0	7,51±0,24	9,2±0,28	11,24±0,17	13,42±0,18	0
<i>B. subtilis</i>	6,67±0,17	7,38±0,21	8,29±0,28	12,09±0,46	16,36±1,15	0
<i>C. albicans</i>	0	0	8,29±0,20	11,51±0,37	13,56±0,26	0

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de l'absinthe présente une activité antibactérienne et antifongique importante, puisque des faibles doses entraînent l'inhibition des pathogènes testés. Cette activité serait induite par l'action des composés majeurs comme la thuyone, l'acétate de *trans*-sabinène et le *cis*-époxyocimène. Cette hypothèse a été également émise par BEN SASSI et al [4] pour expliquer l'efficacité des composés majeurs de l'huile essentielle de *Chrysanthemum trifurcatum* sur *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus hominis* et *Escherichia coli*.

En plus des composés majoritaires, les composés minoritaires tels que 1,8-cinéole et eugénol peuvent contribuer à l'activité antibactérienne et antifongique de cette huile essentielle. Il est cependant probable que ces composés minoritaires agissent d'une manière synergique avec les autres composés, ce qui montre que l'efficacité d'une huile essentielle tient à l'intégralité de ses composés [4 ; 5].

BEN SASSI et ses collaborateurs [4] ont mis en évidence la sensibilité de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* vis à vis de 1,8 cinéole.

La dose minimale d'inhibition relative à *Bacillus subtilis* est inférieure à 1µl, ce qui montre que l'huile essentielle de l'absinthe présente un effet antibiotique plus puissant sur ce germe que sur *Staphylococcus aureus* avec une dose minimale d'inhibition supérieure à 1µl. Ceci pourrait s'expliquer par la sensibilité de *Bacillus subtilis*. Ces résultats sont en accord avec les travaux menés par KUMAR et al [6] ; OYEDJI et al [7] ayant mis en évidence la sensibilité de ce germe aux huiles essentielles de quelques espèces d'Eucalyptus (*E.globulus*, *E.saligna*, *E.alba*), ainsi que les résultats obtenus par [8] en testant l'huile essentielle du basilic (*Ocimum gratissimum*) et CIMANGA et al [9], ayant testé les huiles essentielles de quinze plantes médicinales de Congo.

Concernant *Candida albicans*, la dose minimale inhibitrice est supérieure à 1,75 µl, donc il est moins sensible que les deux autres pathogènes. En effet, l'activité bactérienne de cette huile est plus prononcée que son effet antifongique. Cela pourrait être dû à ce que la levure soit plus évoluée que les bactéries [10]. AMARA et CHERIFI [11] dans une étude comparable à la notre, ont trouvé que *Candida albicans* est plus sensible à l'huile essentielle de deux genres de fenouil (*Foeniculum* et *Ridolfia*).

D'autres parts, la résistance de l'espèce *Candida albicans* à l'huile essentielle de l'absinthe est en accord avec d'autres études tel que celle de YANG et al [12] qui ont montré l'absence totale d'inhibition de ce germe par l'huile essentielle des feuilles de *Chamaecyparis obtusa*.

2. Présentation des résultats relatifs à l'association de l'huile essentielle d'absinthe avec l'antibiotique de synthèse

Les résultats de l'association des deux agents antimicrobiens sur les pathogènes testés sont illustrés dans le tableau II.

Tableau II: Diamètres des zones d'inhibition de l'association de l'huile essentielle (HE) et de l'antibiotique de synthèse (AS) en mm.

Agents antimicrobiens Pathogènes	HE d'absinthe	AS (Primazol)	HE + AS
<i>S. aureus</i>	7,5	24,8	28,3
<i>B. subtilis</i>	6,7	7,5	18,4
<i>C. albicans</i>	8,3	0	9,7

Les diamètres des zones d'inhibition obtenues à partir de l'association des deux agents antimicrobiens chez *Staphylococcus aureus* sont inférieurs à la somme des diamètres obtenu par chacun des deux agents antimicrobiens. Cependant, chez *Bacillus subtilis*, les diamètres obtenus sont supérieurs à ceux obtenus par l'huile essentielle et l'antibiotique séparément. Concernant *Candida albicans*, cette association n'a révélé presque aucune différence.

D'après ces résultats, on constate que l'association des deux agents antimicrobiens a exercé un effet synergique sur *Bacillus subtilis*, un effet antagoniste sur *Staphylococcus aureus* et reste indifférente sur *Candida albicans*. Il est probable que ces résultats soient dûs à la différence entre les agents pathogènes, notamment leur capacité à résister aux agents antimicrobiens.

La synergie résultante de la combinaison entre le Primazol et l'huile essentielle de l'absinthe peut être due au blocage de la pompe efflux de cet antibiotique par les terpènes, l'une des voies de résistance de *Bacillus subtilis* aux antibiotiques. Ceci explique l'augmentation des diamètres des zones d'inhibition lors de cette association. Cette hypothèse a été également émise par GIBBONS et al [13] en testant l'huile essentielle de *Lycopus europaeus* associée avec le Tetracycline sur *S. aureus*.

La synergie entre les huiles essentielles et les antibiotiques de synthèse a été prouvé par SCHELZ et al [14] en associant l'huile essentielle de la menthe poivrée avec quatre antibiotiques différents (ampicilline, oxytétracycline, érythromycine et gentamycine) contre quelques agents pathogènes.

3. Détermination de la nature de l'activité antibiotique

Les résultats des tests de la détermination de la nature de l'activité antibiotique de l'huile essentielle de l'absinthe sur les pathogènes étudiés sont représentés dans la figure 1.

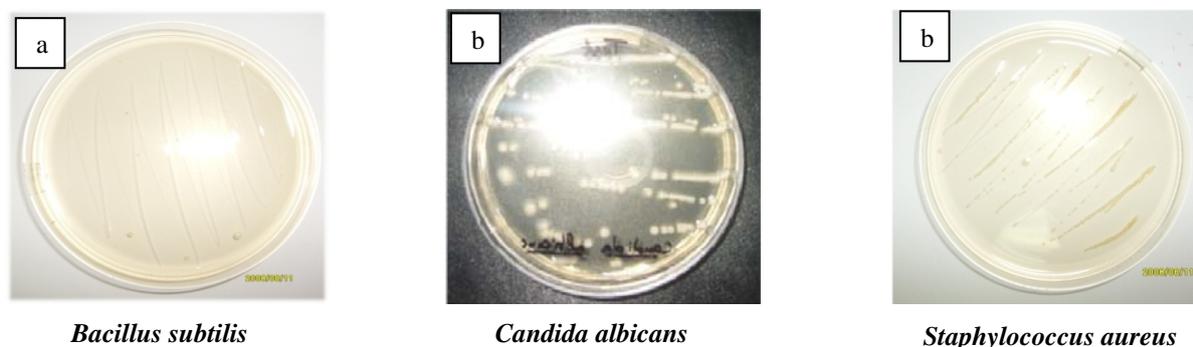


Figure1: Photographies montrant la nature de l'activité antibiotique de l'huile essentielle de l'absinthe
 (a) Absence de développement de colonies ; (b) développement de quelques colonies.

La figure 1 montre qu'il y'a développement de quelques colonies de *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* après repiquage, contrairement à *Bacillus subtilis* où on observe l'absence de développement des colonies de ce germe.

Cette étude révèle que l'effet de l'huile essentielle de l'absinthe est fongistatique à l'égard de *Candida albicans*, ce qui est en accord avec les résultats de ALITONOU [15] qui a testé l'huile essentielle de *Lantana camara* sur *Candida albicans*, il est bactéricide sur *Bacillus subtilis*, ce qui a été expliqué par la sensibilité de ce germe. Concernant *Staphylococcus aureus* cette huile a un effet bactériostatique. Des résultats similaires ont été obtenus par OUSSOU [16] en testant l'huile essentielle de basilic (*Ocimum gratissimum*).

CONCLUSION

Cette étude sur l'huile essentielle de l'absinthe, *Artemisia absinthium*, ne représente qu'une infime contribution à un programme de recherche sur la valorisation des huiles essentielles dans le domaine de la santé publique.

L'évaluation qualitative de l'effet antibiotique a montré que *Artemisia absinthium* a exhibé un puissant effet antimicrobien, vis-à-vis des souches testées, notamment *Bacillus subtilis* ATCC 9392 avec une zone d'inhibition de 16,35 mm.

Au cours de ce travail, nous avons également démontré que l'association entre l'huile essentielle et l'antibiotique révèle un effet synergique uniquement sur *Bacillus subtilis* (18,4 mm).

La nature de l'activité antibiotique de l'huile essentielle diffère d'une souche à une autre, elle est bactéricide sur *Bacillus subtilis*, bactériostatique sur *Staphylococcus aureus* et fongistatique sur *Candida albicans*.

Les données résultantes de ce travail suggèrent que l'absinthe possède des principes actifs à propriétés antibactérienne et antifongique importantes, ce qui appuie l'utilisation traditionnelle de cette plante dans le traitement de maladies infectieuses.

References Bibliographiques

- [1] KAABECHE M., Biodiversité floristique et plantes médicinales en Algérie, Recueil des résumés du symposium international sur le médicament de phytothérapie et plantes médicinales, Université Mentouri de Constantine, 25pp, (2007).
- [2] REYNAUD J., La flore du pharmacien., Ed. TEC & DOC, 37-39 pp, (2002).
- [3] SCHAUBENBERG P., Guide des plantes médicinales, Ed. Ferdinaud, Paris , 206- 207 pp, (2006).
- [4] BEN SASSI H., SKHIRI F.H., CHRAIEF I., BOURGOUGON N., HAMMAMI M. et AOUNI M., Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oil of (Tunisian) *Chrysanthemum trifurcatum* (Desf.) Batt. and Trab. Flowerheads, *C.R.Chimie*, 11, 324-330pp,(2008)
- [5] LAHLOU M., Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy research*, 18, 435-448pp, (2004).
- [6] KUMAR A., SHAMAVID., SING A.K., KAMALA. et SING H., Antimicrobial properties of different *Eucalyptus* oils, *Fitoterapia* , 59,141-144pp, (1988).
- [7] OYEDEJI A. O., EKUNDAYO., OLAWORE O N., ADENIY B A. et KOENIG W.A., Antimicrobial activity of essential oils of *Eucalyptus* species growing in Nigeria, *Fitoterapia*, 70 , 526-528pp, (1999).
- [8] THOMAS O.O., Re-examination of the antimicrobial activity relationship of *Eucalyptus* essential oils, *Plantes médicinales et phytothérapie* , 26,331-339 pp,(1989).
- [9] CIMANGA K., KAMBU K., TONA L., APERS S., BRUYNE T D., HERMANS N.,TOTTI J.PIETERS L. et VLIENTINCK ., Correlation between chemical composition and antibacterial

- activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Republic of Congo, *Journal of Ethnopharmacology* ,79, 213-220 pp,(2002).
- [10] HEMAISWARYA S., KRUTHIVENTI A.K. et DOBLE M., Synergism between products and antibiotics against infectious diseases, *Phytomedicine*, 15, 639-655pp , (2008).
- [11] AMARA S. et CHERIFI O., Contribution à l'étude de l'effet antibiotique de l'huile essentielle de deux genres de fenouil (*Foeniculum* et *Ridolfia*) sur trois pathogènes : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, Mémoire d'ingénieur. Institut d'agronomie U.M.M.T.O , 78 P,(2007).
- [12] YANG J.K., CHOI M.S., SEO W.T., RINKER D.L., HAN S.W. et CHEONG G.W., Chemical composition and antimicrobial activity of *Chamaecyparis abtusa* leaf essential oil. *Fitoterapia* , 78,149-152 pp,(2007).
- [13] GIBBONS S., OTUWATUYI M., VEITCH N.C. et GRAYA. L., Bacterial resistance modifying agents from *Lycopus curopacus*, *Phytochemistry* ,62, 83-87 pp, (2003).
- [14] SCHELZ Z., MOLNAR J. et HOHMANN J., Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils, *Fitoterapia* ,77, 279-285pp, (2006).
- [15] ALITONOU G., AVLESSI F., BOKOSSA I., AHOUSSOU E., DANGOUE J. et SAHOUNHLOUE D.C.K., Composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle de *Lantana camara*. *L.C.R, Chimie* ,7 ,1101-1105 pp ,(2004).
- [16] OUSSOU K.R., KANKO C., GUESSEND N., YOLOU S., KOUKOUA G., DOSSO M., N'GUESSAN Y .T., FIGUEREDO G. et CHALCHAT J.C., Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de côte d'Ivoire, *C.R. Chimie* 7 ,1081-1086 pp, (2003).

PhytoChem & BioSub Journal

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

ISSN 2170 - 1768



*PCBS
Journal*



Edition LPSO

Phytochemistry & Organic Synthesis Laboratory
<http://www.pcbsj.webs.com> , Email: phytochem07@yahoo.fr