
**L'EFFET ANTIBACTERIEN IN VITRO DE L'HUILE
ESSENTIELLE D'ORIGANUM COMPACTUM
VIS A VIS DE SOUCHES D'ORIGINE CLINIQUE**

**Samira Bouhdid ^a, Mohamed Idaomar ^a, Abdesselam Zhiri ^b,
Dominique Baudoux ^b, Nadia Senhaji Skli^a et Jamal Abrini^a**

^a *Laboratoire de Biologie Cellulaire Moléculaire, Département de biologie, Faculté des Sciences, Université Abdelmalek Essaadi, BP 2121 93002, Tétouan. E.mail:*

bsam1402@hotmail.com, abrini@fst.ac.ma

^b *PRANAROM INTERNATIONAL S. A. 37, Avenue des Artisans. B-7822, Ghislenghien, Belgique.*

Abstract: *Essential oils are frequently used for flavour and fragrance in the perfume, pharmaceutical, cosmetic and food industries. The antibacterial activity of the essential oil of Origanum compactum was tested (in solid and liquid media) against 16 clinical isolates. This oil showed a higher antibacterial activity against strains resistant to antibiotics.*

Key words: *essential oils, Origanum compactum, antibacterial activity, clinical strains.*

Résumé : *L'huile essentielle d'Origanum compactum est testée, en milieu solide et liquide, pour son activité antibactérienne contre 16 souches bactériennes isolées de malades souffrant pour la plupart d'infections urinaires. Cette huile a témoigné d'une forte action antibactérienne même vis à vis de souches multirésistantes aux antibiotiques.*

Mots clés : *huiles essentielles, Origanum compactum, activité antibactérienne, souches cliniques*

I. Introduction

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et surtout vers les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration de nouveaux médicaments.

Produites comme métabolites secondaires par les plantes aromatiques, les huiles essentielles sont toujours utilisées comme substances aromatisantes et parfumantes en parfumerie, industries alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire, en aromathérapie et en industrie alimentaire [1]. Différentes études récentes ont confirmé, *in vitro*, l'activité antimicrobienne de certaines huiles essentielles [2,3].

Origanum compactum, plante endémique du Maroc septentrional, est un condiment culinaire courant. Il est largement utilisé en médecine populaire en raison de ses multiples effets thérapeutiques. Il est préconisé, entre autres, dans le traitement des diarrhées, des infections respiratoires, cutanées et urinaires [4].

Ce travail est une étude fondamentale visant la détermination qualitative et quantitative de l'action antibactérienne *in vitro* de l'huile essentielle d'*Origanum compactum* vis à vis de souches provenant de malades souffrant pour la plupart d'infections urinaires.

II. Matériel et méthodes

II.1. Huile essentielle

L'huile essentielle testée dans ce travail est fournie par la société PRANAROM (Belgique). Elle est obtenue par distillation à la vapeur d'eau des sommités fleuries de la plante d'*Origanum compactum*.

II.2. Souches cliniques

Les isolats cliniques nous ont été fournis par les laboratoires d'analyses médicales SEKKAT et FASSI FEHRI, Tétouan, Maroc. Ils ont été isolés de patients souffrant pour la plupart d'infections urinaires.

II.3. Test antibactérien

II.3.1. Technique de diffusion en puits

Sur une couche basale du milieu MHA des petits cylindres en verre de 8 mm de diamètre, sont déposés. Un volume de 6 ml du milieu LB, contenant 0.8% d'Agar et maintenu en surfusion à 45°C, estensemencé par une culture fraîche de la bactérie indicatrice de telle sorte qu'on ait une concentration finale d'environ 10^6 UFC/ml. Après solidification, les moules cylindriques sont enlevés générant à leur emplacement des puits

qui seront remplis de 50 µl de l'huile essentielle à tester. Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 h.

II.3.2. Concentration minimale inhibitrice

Trois séries de dilutions doubles (1% à 0.0039%) de l'huile à tester sont préparées dans des tubes contenant un ml du milieu LB à 0.15% d'agar. Ces tubes sont inoculés à partir d'une culture bactérienne en phase exponentielle de croissance en vue d'obtenir une concentration cellulaire finale d'environ 10⁶ UFC/ml. Les tubes qui vont servir de contrôle ne contiennent pas d'huile essentielle. Le contrôle négatif est gardé à 4°C alors que le contrôle positif est incubé en même temps que les tubes contenant les différentes concentrations d'huile essentielle à 37°C pendant 18h. Passé ce temps d'incubation, la concentration minimale inhibitrice est déterminée et elle correspond à la plus petite concentration d'huile essentielle qui ne produit pas de croissance bactérienne. Pour aider à la détermination de la concentration minimale inhibitrice, 50 µl de la résazurine sont additionnés aux tubes qui sont réincubés à 37°C pendant 2h. La concentration minimale inhibitrice correspond à la plus petite concentration d'huile essentielle qui ne produit pas de changement de coloration de la résazurine.

II.3.3. Concentration minimale bactéricide

Un volume de 0.1 ml de tous les tubes qui ne montrent pas de turbidité ou de changement de coloration de la résazurine est subcultivé sur le milieu PCA et incubé à 37°C pendant 24h. La concentration minimale bactéricide correspond à la plus petite concentration de l'huile essentielle pour laquelle aucune subcroissance n'est observée.

III. Résultats

III.1. Test de sensibilité des souches cliniques à certains antibiotiques

Les résultats des antibiogrammes réalisés pour les isolats cliniques (par la méthode classique de diffusion en disques) sont représentés dans le tableau 1. On observe un nombre important de souches d'E.coli d'origine urinaire qui réagissent différemment aux antibiotiques testés, ce qui montre le caractère mutagène de ces souches qui leur permet d'acquérir la résistance aux antibiotiques. Parmi les souches étudiées existent ceux qui se montrent résistantes à plusieurs familles d'antibiotiques (par exemple E. coli F1 et Enterobacter S2). Les souches de Pseudomonas se révèlent multirésistantes.

III.2. Action de l'huile essentielle d'*Origanum compactum* sur les isolats cliniques

Sur le petit échantillon de souches cliniques récoltées on peut remarquer l'importante fréquence des souches d'E. coli qui constituent un vrai problème par les infections urinaires qu'elles occasionnent. Parmi ces dernières, E. coli F1 se montre résistante à plusieurs familles d'antibiotiques. Les diamètres des zones d'inhibition et les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides de l'huile essentielle d'*Origanum compactum* vis à vis des seize souches cliniques sont regroupées dans le tableau 2.

IV. Discussion

En milieu solide, l'action bactériostatique de l'huile essentielle pure d'*Origanum compactum* se traduit par l'apparition de zones d'inhibition autour des puits. Le diamètre de ces dernières diffère d'une bactérie à une autre et va de 11 mm à 37 mm. Le produit testé est sans aucun effet inhibiteur des trois souches de *Ps. aeruginosa* utilisées (Tableau 2).

En milieu liquide, à l'exception des souches de *Ps. aeruginosa* qui se montrent résistantes aussi bien à l'action bactériostatique que bactéricide de l'huile essentielle d'*Origanum compactum*, toutes les autres bactéries sont inhibées par cette huile à des concentrations inférieures ou égales à 0.125% (v/v) et tuées par des concentrations inférieures ou égales à 0.25% (v/v) (Tableau 2). Pour certaines bactéries l'action de l'huile essentielle est directement bactéricide (CMI=CMB), pour d'autres la concentration minimale capable de tuer l'inoculum est la double de celle susceptible de l'inhiber.

La résistance des souches de *Ps. aeruginosa* à l'huile testée n'est pas surprenante. En fait, cette bactérie possède une résistance intrinsèque aux agents biocides qui est en relation avec la nature de sa membrane externe. Cette dernière est composée de lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable aux composés hydrophobes. En présence d'agents perméabilisants de la membrane externe, des substances inactives contre *Ps. aeruginosa* deviennent actives [5].

L'importante action antibactérienne démontrée par l'huile essentielle d'*Origanum compactum* est en relation avec sa forte teneur en carvacrol et en thymol (30.53 et 27.5% respectivement). Ces composés phénoliques sont réputés avoir une grande action antibactérienne [6,7,8,9].

a sensibilité des souches médicales, même celles multi-résistantes aux antibiotiques (par exemple E. coli F1 et *Enterobacter* sp S2) (Tableau 1), à l'huile d'*Origanum compactum* suggère sa possible utilisation en thérapeutique comme alternative naturelle aux agents chimiothérapeutiques dont le spectre d'action est en réduction continue.

Tableau 1 : Profil de sensibilité des isolats cliniques aux antibiotiques

Familles d'antibiotique	P					C						
	AM C	AM X	ME C	IP M	OX F	CAZ	CF M	CR O	CT X	CX M	CF N	C N
E .coli F1	R						R	R		R		R
	I	R	S						S		S	
E. coli S1									S		S	
E. coli S5	S	R	S						S		S	
E. coli S11	I	R	R						S		I	
E. coli S12	S	I	S						S		S	
E. coli S14	S	S	S						S		S	
E. coli S15	S	R	S						S		S	
Ps. aeruginosa F2		R					R	R				R
Ps. aeruginosa S3		R	R	S			I		I		R	
Ps. aeruginosa S4	R	R	R	S			I			I	R	
Enterobacter S2	R	R							R			
Enterobacter agglomerans S6	R	R	R						S		R	
Enterococque S7		S			R I				S		R	
Enterococque S9		S			R				S		I	
Proteus mirabilis S10	R	R	R						S		I	
Proteus penneri S13	S	R	S						S		S	

P : pénicillines, C : céphalosporines, AMAC : aminosides-aminocyclinols, T : tétracyclines, M : macrolides, PP : polypeptides, S : sulfamides, N : nitrofuranes, Q : quinolones.
 R : résistante, I : intermédiaire, S : sensible.

AMAC			T		M		PP	S	N	Q		
AN	G	T	DO	TE	C	E	CS	S	F	CI	OF	NA
M	M	M			M			X	T	P	X	
			R					R		R	R	
	R	R					S	R	S	S		R
	R	I					S	S	R	R		R
	S	S					R	R	S	S		S
	S	S					R	R	R	S		R
	S	S					S	S	S	S		S
	S	S					S	R	S	S		S
			R				S	R		R	R	
	R	R					S	R	R	R		R
	S	S						R	R	S		R
	R	I		R			S	R	R	R		R
I	R	R					S	R	S	S		
	R	R					R	R	S	S		
	I				R		I	S	S	I		
	S	S					S	S	S	S		S
	S	S					R	S	R	S		S

Tableau 2: Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Origanum compactum* en milieux solide et liquide vis à vis de souches cliniques.

Isolats cliniques	Milieu solide	Milieu liquide	
	Diamètre de la zone d'inhibition ^a (mm)	CMI (%v/v)	CMB (%v/v)
Echerichia coli F1	20		
Echerichia coli S1	37	0.1250	0.1250
Echerichia coli S5	20	0.0625	0.0625
Echerichia coli S11	20	0.0625	0.0625
Echerichia coli S12	22	0.1250	0.2500
Echerichia coli S14	20	0.1250	0.2500
Echerichia coli S15	32	0.0625	0.125
Pseudomonas aeruginosa F2	0	>1	>1
Pseudomonas aeruginosa S3	0	>1	>1
Pseudomonas aeruginosa S4	0	>1	>1
Enterobacter sp S2	11	0.1250	0.1250
Enterobacter agglomerans S6	15	0.0625	0.0625
Enterococque S7	19	0.0625	0.0625
Enterococque S9	19	0.0625	0.0625
Proteus mirabilis S10	17	0.0312	0.0625
Proteus penneri S13	17	0.0625	0.1250

^a diamètre de la zone d'inhibition produite autour des puits par l'ajout de 50µl des dilutions de l'huile essentielle par puits. Les valeurs sont la moyenne de deux répétitions

CMI : Concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle d'*Origanum compactum*.

CMB : Concentration minimale bactéricide de l'huile essentielle d'*Origanum compactum*.

La densité bactérienne est de 10⁶ UFC/ml.

V. Références

- [1] D. Baudoux, L'aromathérapie: se soigner par les huiles essentielles. Edition Atlantica, 2000.
- [2] K. A. Hammer, C. F. Carson & T. V. Riley, Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *Appl. Microbiol*, 86:985-990, 1999.
- [3] S. Cassella, J. P. Cassella & I. Smith, Synergistic antifungal activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oils against dermatophyte infection, *The International Journal of Aromatherapy*, Vol 12: 2-15, 2002.
- [4] J. Bellakhdar, La pharmacopée Marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press. Paris, 1997.
- [5] C. M Mann, S. D Cox & J. L. Markham, The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), *Letters in appl. Microbiol*, 30:294-297, 2000
- [6] A. Ultee, L. G. M. Gorris & E. J. Smid, Bactericidal activity of carvacrol towards the food-borne pathogen *Bacillus cereus*, *Appl. Microbiol*, 85:211-218, 1998.
- [7] A. Ultee, E. P.W. Kets & E. J. Smid, Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*, *Appl. And Env. Microbiol*, 4606-4610, 1999.
- [8] K. Ettayebi, J. El Yamani & B. D. Rossi-Hassani, Synergistic effects of nisin and thymol on antimicrobial activities in *Listeria monocytogenes* and *Bacillus subtilis*, *FEMS Microbiology Letters*, 183:191-195, 1999.
- [9] A. Ultee, R. A. Slump, G. Steging & E.J. Smid, Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice, *J of Food Protection*, 620-624, 2000.