



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCCEN

MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : Chimie des Produits Naturels

Par :

Mme LOUKILI Nabila

Sur le thème

Les huiles essentielles et leurs expérimentations en milieu hospitalier

Soutenu publiquement le **19 juin 2023** à Tlemcen devant le jury composé de :

Mr ARRAR Zohein	Professeur	Université de Tlemcen	Président
Mr DIB Mohammed El Amine	Professeur	Université de Tlemcen	Encadrant
Mme TABET ZATLA Amine	Professeure	Université de Tlemcen	Examinatrice
Mr BENSALD Okkacha	Professeur	Université de Tlemcen	Co-encadrant
Mme KRID Meryem	Maitre assistante	CHU de Tlemcen	Examinatrice
Mr BENDAHDANE Mohammed	Docteur	Centre I2E	Expert
Fawzi			

Année Universitaire : 2022 ~ 2023

Dédicaces

Ce travail n'est fait qu'à la volonté d'Allah, mon créateur et mon maître.

Je dédie mon travail de mémoire aux être les plus chers de ma vie **Papa & Maman.**

Aucune dédicace, ni remerciements ne sauraient exprimer ma considération, mon respect et mon amour éternel pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation. Vous avez toujours été pour moi une source de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour.

Je suis très heureuse de partager la joie de ma réussite avec vous. Puisse Dieu, le tout puissant, vous accorder santé, bonheur, longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

A mes chères sœurs **Sara & Nadia** pour leurs encouragements et soutien moral.

A mon cher mari

Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont tu as toujours fait preuve. Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux, ton soutien m'a permis de réaliser mon rêve.

A mon fils Mourad, ma raison de vivre,

Remerciements

Au terme de ce projet, je tiens à remercier sincèrement Dieu, pour sa miséricorde et
Pour nous avoir accordée courage pour réaliser ce travail.

Je tiens à remercier mon encadrant **Pr DIB Mohammed El Amine**, pour son aide durant toute la période du travail. Pour l'orientation, la confiance, la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon part. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Je tiens à écrire « merci » pour **Dr ACHIRI Radja**, pour votre disponibilité tout au long de mon mémoire. Merci de m'avoir consacré du temps, pour vos conseils si précieux, votre gentillesse, patience, humanité et surtout vos encouragements moraux.

Je remercie Mr **Saïd GHALEM**, directeur de laboratoire des substances naturelles et bioactives, pour son accueil au sein de laboratoire LASNABIO.

J'exprime ma profonde reconnaissance au Professeur **ARRAR Zoheir** qui m'a fait l'honneur de présider le jury. Mes vifs remerciements sont adressés aux membres de jury: Professeur **TABET ZATLA Amina**, **Mme KRID Meryem** qui ont accepté d'évaluer mon travail.

Mes sincères remerciements pour **Dr Samia BELLIFA & Dr Ibrahim BENAMAR**, pour leurs aides et disponibilité.

Je tiens à remercier l'ensemble du personnel du laboratoire pour leur convivialité, Surtout **Kheira** pour sa disponibilité.

Je tiens également à remercier les professeurs du Département de chimie qui ont participé à ma formation.

Mes remerciements pour **Pr SARI HASSOUN Zakaria**, **Mme BERBAR Wafaa** et **Mme LACHACHI Wassila** pour leurs conseils et leur guide tout au long du chemin.

Merci à toute l'équipe du centre de l'étudiant I2E.

Finalement, je tiens à exprimer ma sincère gratitude à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Liste des Abréviations

AFNOR : L'Association Française de Normalisation.

AFSSPS : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

CPG : Chromatographie en phase gazeuse.

CPG-SM : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

E.C : *Escherichia coli*.

GC : Gas chromatography.

GC-MS : Gas Chromatography- Mass Spectrometry.

HE : Huile Essentielle.

IC : Ionisation Compact.

IE : Ionisation Electronique.

INs : Infections Nosocomiales.

K.P : *Klasiella pneumoniae*.

PAM : Plante Aromatique et Médicinale.

P.A : *Pseudomonas aeruginosa*.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

S1 : mélange de 50% HE d'origan + 50% HE de clou de girofle.

S2 : mélange de 50% HE d'origan + 50% HE de lavande.

S3 : mélange de 50% HE de clou de girofle + 50% HE de lavande.

S.A : *Staphylococcus aureus*.

UFC/MI : Unités Formants Colonies par Millilitre.

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

VRS : Virus Respiratoire Syncytial.

Sommaire

Table des matières

Introduction générale

Chapitre I : Partie bibliographique

I. Les plantes aromatiques et médicinales.....	5
II. Généralités sur les huiles essentielles.....	6
II.1 Historique.....	6
II.2 Définition des huiles essentielles.....	6
II.3 L'analyse des HEs.....	6
II.3.1 La chromatographie en phase gazeuse CPG.....	6
II.3.2 Chromatographie en phase gazeuse/ Spectrométrie de Masse (CPG/SM).....	7
II.4 Composition chimiques des HEs.....	7
II.4.1 Les terpènes.....	8
II.5 Les propriétés générales des huiles essentielles.....	8
II.5.1 Propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques.....	8
II.5.2 Propriétés antivirales.....	9
II.5.3 Propriétés antiparasitaires.....	9
II.6 Toxicité des huiles essentielles.....	9
III. Les infections nosocomiales.....	9
III.1 Définition.....	9
III.2 Agents responsables des infections nosocomiales.....	10
III.2.1 Bactéries.....	10
III.2.2 Virus.....	10
III.2.3 Champignons.....	10
IV. Les plantes médicinales et aromatiques étudiées.....	10
IV.1 <i>Syzygium aromaticum</i>	10
IV.1.1 Description botanique.....	10
IV.1.2 Usage traditionnelle.....	11
IV.2 <i>Origanum vulgare L.</i>	11
IV.2.1 Description botanique.....	11
IV.2.2 Usage traditionnelle.....	11
IV.3 <i>Lavandula officinalis</i>	11
IV.3.1 Description botanique.....	11
IV.3.2 Usage traditionnelle.....	12
Chapitre II : Résultats et discussions	
Résultats et Discussions : Partie chimique.....	14

I. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles.....	14
II. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Syzygium aromaticum</i>, <i>Origanum vulgare L</i> et <i>Lavandula officinalis</i>	14
II.1 Composition chimique de l'huile essentielle des clous de <i>Syzygium aromaticum</i>...	15
II.1.1 Extraction et rendement.....	15
II.1.2 Composition chimique de l'huile essentielle.....	15
II.2 Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>Origanum vulgare L</i>	16
II.2.1 Lieu de récolte et rendement.....	16
II.2.2 Composition chimique de l'huile essentielle.....	16
II.3 Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>Lavandula officinalis</i>.....	17
II.3.1 Lieu de récolte et rendement.....	17
I. Introduction.....	19
II. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles dans un système fermé	19
III. Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles dans un système fermé	20
IV. Discussions.....	21
Chapitre III : Matériels et méthodes	
I. Provenance et identification des espèces étudiées.....	25
II. Procédés d'extraction des huiles essentielles	25
III. Calcul de rendement.....	26
IV. Condition CPG-SM.....	26
V. Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique.....	26
V.1 Méthode de détermination de l'activité antibactérienne et antifongique des vapeurs des huiles essentielles dans un système fermé.....	26
Conclusion	
Références	
Annexe	

Liste des tableaux

Tableau 1 : Familles botaniques les plus courantes pour la production des HEs.	5
Tableau 2 : Les caractéristiques organoleptiques des HEs des plantes étudiées.	14
Tableau 3 : Lieux de récoltes, répartition géographique et rendement en huile essentielle de L. officinalis, S. aromaticum et O. vulgare	14
Tableau 4 : Composition chimique de l'huile essentielle de Syzygium aromaticum.	15
Tableau 5 : Composition chimique de l'huile essentielle de Origanum vulgare.	16
Tableau 6 : Composition chimique de l'huile essentielle de Lavandula officinalis	18
Tableau 7 : Enumération et la réduction microbienne après traitement avec différentes huiles essentielles en phase gazeuse.	19
Tableau 8 : Enumération et la réduction fongique après traitement avec différentes huiles essentielles en phase gazeuse.	21

Liste des figures

Figure 1 : Quelques exemples des composants des huiles essentielles.....	8
Figure 2 : Photo original des clous de <i>Syzygium aromaticum</i>	15
Figure 3 : Photo original des parties aériennes de <i>Origanum vulgare</i> L.	16
Figure 4 : Photo original des parties aériennes de <i>Lavandula officinalis</i>	17
Figure 5 : Réduction Microbienne du traitement avec l'huile essentielle gazeuse (log CFU/mL)	20
Figure 6 : Réduction Fongique du Traitement avec les HE gazeuse (Log cfu/ml).	21
Figure 7 : Montage d'hydrodistillation Clevenger (photo originale).....	25
Figure 8 : Détermination de l'activité antimicrobienne des vapeurs de l'huile essentielle dans un système fermé.....	27
Figure 9 : Quelques étapes de l'étude de l'activité antibactérienne.....	28
Figure 10 : Quelques étapes de l'étude de l'activité antifongique.	29

Introduction générale

Introduction générale

L'Algérie possède une abondance de plantes aromatiques et médicinales dans sa flore, offrant un large éventail de possibilités d'utilisation dans divers secteurs tels que la parfumerie, la cosmétique, l'agroalimentaire et la pharmacie. Ces plantes se distinguent par leurs qualités olfactives et thérapeutiques exceptionnelles.

En effet, les reliefs montagneux du nord de l'Algérie abritent une biodiversité exceptionnelle, notamment des forêts d'une grande diversité. Ces ressources naturelles constituent une matière première précieuse qui mérite une étude approfondie tant sur le plan scientifique que sur le plan économique [1].

Les huiles essentielles, obtenues à partir des plantes aromatiques, sont utilisées depuis longtemps en aromathérapie. Ces essences végétales se caractérisent par leur concentration, leur complexité et leur volatilité, ainsi que par leurs propriétés olfactives distinctes. Ces précieuses substances renferment une variété de principes actifs et sont largement appréciées pour leurs vertus thérapeutiques. De plus, il est intéressant de les inclure dans plusieurs domaines et de tirer parti de leur utilité dans la lutte biologique contre diverses affections, organismes nuisibles et agents fongiques... etc [2].

Généralement, les huiles essentielles présentent une composition chimique complexe, avec la présence d'environ 20 à 60 constituants bioactifs différents. Dans certains cas, l'huile essentielle peut être caractérisée par 2 ou 3 principaux constituants, qui représentent entre 20 et 70% de sa concentration totale, tandis que d'autres constituants sont présents en traces [3].

À la fin du XIXe et au début du XXe siècle, de nombreux travaux scientifiques ont été menés pour évaluer l'activité antiseptique de différentes essences naturelles [4,5]. Depuis lors, l'usage des huiles essentielles a significativement augmenté, devenant une alternative importante aux antibiotiques dans le traitement des maladies infectieuses, y compris les infections nosocomiales [6,7].

Les infections hospitalières, également connues sous le nom d'infections nosocomiales, affectent plus de 1,4 million de patients dans le monde. En Algérie, ces infections suscitent de grandes préoccupations et soulèvent de nombreuses questions en raison du déficit d'hygiène et du non-respect des mesures préventives. Elles entraînent aussi des coûts financiers considérables [8].

Les infections nosocomiales sont généralement provoquées par des agents pathogènes tels que les Cocci Gram positif et les bacilles Gram négatif. Parmi les bactéries responsables des

Introduction générale

infections nosocomiales, les *staphylocoques* Gram positif sont très répandus dans l'environnement naturel, notamment dans le sol, l'eau et l'air. Ils sont souvent impliqués dans les infections des plaies opératoires et les infections cutanées superficielles qui surviennent dans les établissements de santé. Parmi les différentes catégories des bactéries responsables des infections nosocomiales, on trouve les entérobactéries qui sont des bacilles Gram négatif, comme *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Morganella* et *Salmonella*. On retrouve également des bacilles Gram négatif bien connus dans les milieux hospitaliers, tels que les *Pseudomonas* et les bactéries apparentées. Par exemple, *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie fréquemment associée aux infections nosocomiales [9].

L'objectif principale de cette étude est d'explorer l'activité antibactérienne et antifongique des trois plantes aromatiques et médicinales : *Origanum vulgare*, *Lavandula officinalis* et *Syzygium aromaticum* ou en combinaisons entre ces plantes afin de trouver de nouveaux agents antibactériens et antifongiques pour lutter contre les infections nosocomiales liées à l'environnement hospitalier ou liées aux soins. Cette étude se déroulera en trois parties distinctes, comprenant une recherche bibliographique, une analyse chimique, ainsi qu'une évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles et de leurs mélanges croisés issues des trois espèces végétales.

Le chapitre I est une revue bibliographique sur les plantes aromatiques et médicinales, en mettant l'accent sur la définition des huiles essentielles et leurs méthodes analyses, ainsi que sur leurs propriétés biologiques. Une description des infections nosocomiales et les agents responsables de ces infections. Une description botanique et ethnographique des plantes étudiées en mettant en évidence leur utilisation traditionnelle.

Le chapitre II est divisé en deux parties distinctes. La première partie concerne l'aspect chimique des trois espèces sélectionnées, dans laquelle nous exposons les résultats obtenus concernant les caractéristiques organoleptiques, les rendements et les lieux de récolte des plantes. La deuxième partie de ce chapitre est dédiée à l'aspect biologique de l'étude. Nous présentons les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles individuelles, ainsi que leurs combinaisons. Nous analysons les données obtenues et proposons une discussion approfondie sur ces résultats, mettant en évidence les éventuelles interactions entre les différentes plantes et leurs effets sur l'activité antimicrobienne et la possibilité de leurs utilisations dans le milieu hospitalier.

Introduction générale

Le chapitre III présente les informations sur la provenance des espèces végétales et des souches utilisées, les procédés d'extraction des huiles essentielles, le calcul des rendements, ainsi que la caractérisation chimique des huiles essentielles testées. Il décrit également les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antifongique et antibactérienne des huiles essentielles, en fournissant des détails sur les protocoles expérimentaux et les tests spécifiques utilisés.

Chapitre I : Partie bibliographique

Partie bibliographique

I. Les plantes aromatiques et médicinales

Tout au long de l'histoire des civilisations, les plantes aromatiques et médicinales ont toujours revêtu une importance cruciale dans divers domaines tels que l'alimentation, la médecine et même la composition des parfums. Selon les récits historiques, les Chinois ont été les précurseurs dans l'utilisation des plantes aromatiques et médicinales pour traiter et prévenir les maladies, pratiquant ainsi la phytothérapie ou la pharmacopée. De même, les peuples africains ont depuis des millénaires exploités les bienfaits de ces dernières, tirant parti de leurs propriétés pour soigner divers maux [10]. Parmi les 800 000 plantes végétales identifiées, il est estimé que seulement 10 % ont la capacité de synthétiser des essences. Ces espèces particulières sont couramment désignées sous le terme de « plantes aromatiques » [11].

Les huiles essentielles peuvent potentiellement se retrouver dans différents organes des plantes aromatiques. Elles sont souvent présentes dans les sommités fleuries, telles que la menthe, la lavande et le bergamotier, ainsi que dans les feuilles, comme la citronnelle, l'eucalyptus et le laurier. Plus rarement, on les trouve dans le bois, comme le bois de rose, les écorces, comme celle du cannellier, les racines, comme le vétiver, les fruits, tels que l'anis et diverses épices, les graines, comme la muscade, les rhizomes, notamment le curcuma et le gingembre, ainsi que dans les boutons floraux, comme le clou de girofle [12]. D'après Kaloustian (2012) [13], les plus courantes des familles botaniques productrices des HEs sont rapportées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Familles botaniques les plus courantes pour la production des huiles essentielles.

Famille Botanique	Espèces
<i>Abiétacées</i>	Pins, sapins, épicéa, cèdres...
<i>Apiacées</i>	Anis, fenouil, angéliques, coriandre...
<i>Astéracées</i>	Camomille, absinthe...
<i>Cupressacées</i>	Cyprès, genévrier...
<i>Lamiacées</i>	Romarins, menthes, origans, marjolaines, sarriettes, lavandes, thyms...
<i>Lauracées</i>	Cannelles, lauriers, ravensaras...
<i>Myrtacées</i>	Eucalyptus, giroflier, myrtes, teatree, niaouli, cajeput...
<i>Poacées</i>	Citronnelles, palmarosa, vétivers...
<i>Rutacées</i>	Citron, citron vert, mandarine, pamplemousse, orange amère, orange douce, bergamote

II. Généralités sur les huiles essentielles

II.1 Historique

Depuis la nuit des temps, l'être humain a exploité les huiles essentielles dans sa vie quotidienne pour différentes raisons, telles que le parfumage personnel, la purification de son environnement, l'aromatisation des aliments et même à des fins thérapeutiques. Un exemple éloquent est celui des ouvriers tanneurs et parfumeurs en France, qui étaient constamment en contact avec les principes odorants des plantes aromatiques et qui présentaient une résistance quasi-absolue lors des périodes d'épidémies [14].

II.2 Définition des huiles essentielles

Selon l'AFSSPS (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé) en 2008, les huiles essentielles sont des produits odorants, souvent complexes, obtenus à partir de matières premières végétales botaniquement définies. Leur extraction peut se faire par entraînement à la vapeur d'eau, distillation sèche ou par des procédés mécaniques appropriés sans chauffage. La séparation de l'huile essentielle de la phase aqueuse se fait généralement par des procédés physiques qui préservent sa composition.

D'autre part, l'Association Française de Normalisation (AFNOR) a défini en 2000 les huiles essentielles comme des produits obtenus soit par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau à partir de matières premières naturelles, soit par des procédés mécaniques à partir des fruits des agrumes de la famille des Citrus. Les procédés physiques sont utilisés pour séparer l'huile essentielle de la phase aqueuse.

II.3 L'analyse des HEs

L'analyse des huiles essentielles (HEs) peut être réalisée à l'aide de différentes techniques, telles que la chromatographie en phase gazeuse (CPG), la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM), la chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie sur colonne et la résonance magnétique nucléaire (RMN) [15]. Les huiles essentielles sont composées de plus de 60 composants différents, dont environ 85% sont des composés majoritaires, tandis que d'autres composés ne se trouvent qu'à l'état de traces [16].

II.3.1 La chromatographie en phase gazeuse CPG

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est largement utilisée comme technique d'analyse chromatographique en raison de ses nombreux avantages. Elle offre une grande polyvalence, une sensibilité élevée, une rapidité d'optimisation des nouvelles analyses et la possibilité d'automatisation [17].

Le principe de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) repose sur la migration différentielle des composants [18]. Lors de l'analyse, le mélange à étudier est vaporisé dans l'injecteur à l'entrée de la colonne, qui est la phase stationnaire. Il est ensuite transporté à travers cette colonne par un gaz vecteur, qui agit comme la phase mobile. La séparation des différents constituants du mélange se produit de manière séquentielle, les molécules étant libérées une à une après un certain temps en fonction de leur affinité et de leur solubilité dans la phase stationnaire [19,20].

La (CPG) est un outil puissant utilisé pour l'analyse des huiles essentielles ainsi que pour des molécules plus lourdes telles que les stéroïdes et les triterpènes. Elle est largement utilisée dans divers domaines de la chimie. Cependant, pour une identification formelle, la CPG seule peut ne pas être suffisante, à moins qu'elle ne soit associée à une technique spectroscopique supplémentaire [21].

II.3.2 Chromatographie en phase gazeuse/ Spectrométrie de Masse (CPG/SM)

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) est une technique avancée qui offre la possibilité de séparer les composés par CPG tout en identifiant les composés par spectrométrie de masse, en mesurant les rapports masse/charge [22]. Cette technique trouve de nombreuses applications dans des secteurs comme les carburants (pétrole), l'agroalimentaire, les sciences naturelles et médicolégales (cosmétiques et pharmaceutiques).

Après l'analyse réalisée par GC-MS, un chromatogramme est généré, accompagné d'une collection de spectres de masse correspondant à chaque pic chromatographique. Cette approche permet une identification précise de la plupart des composants du mélange qui a été préalablement séparé par la GC. À cette fin, les masses des spectres obtenus sont comparées à des spectres de référence contenus dans des bibliothèques informatisées contenant plusieurs milliers de composés [23]. De plus, afin d'obtenir des informations complémentaires, deux modes d'ionisation peuvent être utilisés : l'ionisation par impact électronique (IE) et l'ionisation chimique (IC) [24, 25].

II.4 Composition chimiques des HEs

La composition chimique des huiles essentielles peut varier d'un organe à un autre de la plante. Par exemple, dans le cas du citronnier, les essences extraites du fruit et de la fleur présentent des compositions chimiques différentes [26]. Cette variation peut être attribuée à plusieurs facteurs tels que les conditions climatiques, la nature du sol et la méthode d'extraction

utilisée. La composition des huiles essentielles est extrêmement complexe. Grâce aux méthodes analytiques avancées, plus de 3000 composants différents ont été identifiés dans les huiles essentielles, permettant leur détection, leur identification et leur quantification [27]. Les huiles essentielles sont principalement composées de polyphénols, de terpénoïdes, de stéroïdes et d'alcaloïdes, qui constituent les principales familles biochimiques présentes dans ces substances.

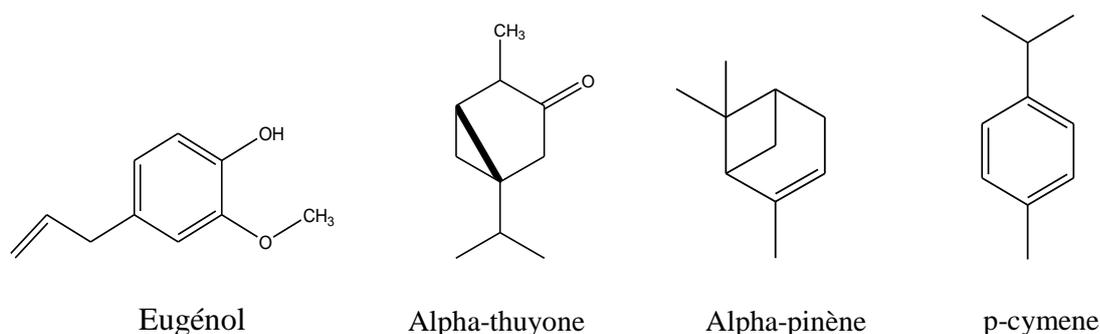


Figure 1 : Quelques exemples des composants des huiles essentielles.

II.4.1 Les terpènes

Les terpènes, qui font partie d'une vaste famille de composés, présentent une diversité de structures allant de simples chaînes hydrocarbonées linéaires à des cycles complexes [28]. Leur particularité réside dans leur structure, qui est constituée d'un squelette hydrocarboné composé de cinq atomes de carbone (C_5H_8), dérivé du 2-méthylbutadiène et appelé unité isoprénique [29].

II.5 Les propriétés générales des huiles essentielles

Les propriétés biologiques et thérapeutiques des huiles essentielles sont étroitement liées à leur composition chimique, leur structure biochimique ainsi qu'aux groupes fonctionnels et aux composants majoritaires tels que les alcools, les phénols ou les composés terpéniques... [30].

II.5.1 Propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques

Les huiles essentielles ont démontré leur efficacité en tant qu'agents désinfectants, révélant ainsi leur puissant pouvoir antiseptique. Des études nombreuses ont confirmé leur capacité à éliminer des micro-organismes résistants tels que le *staphylocoque* et le bacille de Koch responsables de la tuberculose. Les propriétés antifongiques des huiles essentielles, notamment celles de thym, d'origan et de lavande, se sont également révélées efficaces contre les champignons. Il convient également de noter que l'activité biologique des huiles essentielles demeure intacte dans le temps, ce qui renforce leur potentiel thérapeutique [31].

II.5.2 Propriétés antivirales

Les HEs ont des propriétés antivirales car les virus sont sensibles aux molécules aromatiques qu'elles contiennent. Elles inhibent la propagation des virus, renforcent le système immunitaire et favorisent l'élimination des sécrétions muqueuses. Leur utilisation permet de lutter efficacement contre certaines pathologies virales [32].

II.5.3 Propriétés antiparasitaires

La diffusion des huiles essentielles de citron, géranium, menthe et lavande dans l'air offre une protection contre les attaques d'insectes, notamment les moustiques [31]. Ces HEs sont appréciées pour leur capacité à repousser efficacement les insectes indésirables. En créant une barrière naturelle dans l'air, elles aident à prévenir les piqûres d'insectes et les désagréments qui en découlent. Cette méthode de protection est une alternative non toxique et agréable aux répulsifs chimiques traditionnels, offrant ainsi une solution plus naturelle pour éloigner les insectes.

II.6 Toxicité des huiles essentielles

La composition et la toxicité des HEs, d'après plusieurs scientifiques, sont relatives des familles biochimiques auxquelles elles appartiennent. Selon des études, la cytotoxicité des huiles essentielles peut différer en fonction du mode d'exposition, par exemple la toxicité du thym augmente lors d'une exposition en phase liquide et diminue lors d'une exposition en phase vapeur, alors que c'est l'inverse pour la lavande [33].

III. Les infections nosocomiales

III.1 Définition

Une infection nosocomiale (IN) se réfère à une infection contractée par un patient après son admission à l'hôpital, et qui apparaît dans un délai de 48 heures ou plus, entraînant des complications supplémentaires par rapport à sa maladie initiale. Avant l'avènement des antibiotiques, les INs étaient fréquentes et représentaient un risque de mortalité élevé. Cependant, grâce à la mise en place des mesures d'hygiène strictes, le nombre de ces infections a diminué. De plus, l'introduction des antibiotiques a considérablement réduit leur létalité.

Cependant, malgré les progrès réalisés, les infections nosocomiales persistent et continuent de représenter un danger pour les patients, pouvant compromettre les réussites médicales les plus prometteuses. Plusieurs facteurs contribuent au développement de ces infections, notamment l'environnement hospitalier (air, eau, poussière, nutrition) ainsi que les actes médicaux et les examens invasifs, qui favorisent la propagation des agents infectieux [34].

III.2 Agents responsables des infections nosocomiales

III.2.1 Bactéries

Parmi les agents responsables des INs, les bactéries jouent un rôle prépondérant. Il s'agit généralement des bactéries facultativement pathogènes telles que *Staphylococcus aureus*. Cependant, on rencontre également souvent des bactéries opportunistes telles que les entérobactéries, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter*, *Entérocoque*, qui présentent une bonne résistance à de nombreux antibiotiques. Ces souches pathogènes sont présentes dans les hôpitaux en tant que "flores hospitalières", contribuant ainsi à la propagation des INs [34,35].

III.2.2 Virus

Les INs peuvent également être causées par des virus, qui sont transmis notamment par le sang. Parmi ces virus, on trouve le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) responsable du sida, les virus des hépatites B et C, ainsi que des virus provoquant des infections respiratoires telles que le virus grippal, le VRS (virus respiratoire syncytial) qui touche principalement les jeunes enfants, les coronavirus humains et d'autres virus tels que l'adénovirus associé à la conjonctivite [34,36].

III.2.3 Champignons

Au fil des années, une augmentation significative des infections nosocomiales à champignons a été observée chez les patients immunodéprimés, et ces infections sont devenues de plus en plus fréquentes [34].

IV. Les plantes médicinales et aromatiques étudiées

IV. 1 *Syzygium aromaticum*

IV.1.1 Description botanique

L'arbre de Giroflier est un arbre tropical appartenant à la famille botanique des Myrtacées. Il est originaire d'Indonésie, du sud des Philippines, des îles Moluques, d'Afrique et d'Amérique du Sud, notamment dans les pays à climat tropical [37]. L'arbre de Giroflier commence à produire des clous à partir de sa cinquième année. Il faut attendre environ huit ans pour que la récolte devienne opérationnelle, mais sa production maximale n'est atteinte qu'à l'âge de vingt ans. Les vieux girofliers âgés de 75 à 80 ans peuvent produire environ 50 kg de clous frais par an [38]. Le moment de la cueillette est crucial, car si les clous sont cueillis trop tôt, ils n'auront pas synthétisé la majeure partie de leurs constituants. En revanche, si la cueillette est trop tardive, les clous risquent de perdre leurs pétales [39].

IV.1.2 Usage traditionnelle

Le clou de girofle est largement utilisé comme anesthésiant local, en particulier pour soulager les douleurs dentaires. Il possède également des propriétés anti-inflammatoires qui apaisent les douleurs musculaires. En outre, il est connu pour ses effets antidépresseurs, énergisants et sa capacité à combattre la fatigue [39].

IV.2 *Origanum vulgare* L

IV.2.1 Description botanique

Origan ou *Origanum* du latin, dérive du grec "origanon". En français, le terme est apparu au XIIIe siècle. Étymologiquement, il se compose de "oros" signifiant "montagne" et "ganos" signifiant "éclat" ou "aspect riant". Ainsi, "origan" peut être interprété comme signifiant "qui se plaît sur la montagne". Cette interprétation trouve sa justification dans le fait que l'origan abonde dans les montagnes méditerranéennes, ajoutant ainsi à leur beauté naturelle [40].

L'*Origanum vulgare*, une plante herbacée vivace de la famille des Lamiacées, présente une hauteur de 30 à 60 cm et dégage une odeur puissante lorsque ses feuilles et fleurs sont froissées. Elle est reconnaissable grâce à son parfum caractéristique et à sa saveur phénolée, épicée et chaleureuse, ce qui en fait une plante appréciée [41,42].

IV.2.2 Usage traditionnelle

L'huile essentielle d'origan est traditionnellement utilisée par voie orale pour traiter les troubles digestifs et la toux. Cependant, quand elle est utilisée localement, elle est réputée pour ses propriétés cicatrisantes et antiseptiques, permettant ainsi de traiter et de nettoyer les petites plaies [43].

IV.3 *Lavandula officinalis*

IV.3.1 Description botanique

Lavandula officinalis, également connue sous le nom de Lavande vraie, est une plante de la famille des Lamiacées. Elle pousse à l'état sauvage dans les régions méridionales, mais peut également être cultivée dans des zones plus septentrionales. Les petites branches de cette plante sont garnies de feuilles de couleur mauve pâle à violette à leurs extrémités. Il existe plus d'une centaine de variétés de cette plante, chacune ayant des propriétés diverses. Les termes latins *Lavandula angustifolia* Mill et *Lavandula officinalis* désignent la même plante [44].

La Lavande officinale est un arbuste ligneux en forme de buisson, atteignant généralement 1 m de hauteur. Ses feuilles linéaires sont d'un gris-vert et mesurent entre 3 et 5 cm de long. Sa tige est ligneuse. Les fleurs de la *Lavandula officinalis* sont bleues et regroupées en épis

légèrement lâches à l'aisselle de bractées ovales situées à l'extrémité des rameaux fertiles. Elles dégagent un arôme extrêmement aromatique [45].

IV.3.2 Usage traditionnelle

Lavandula officinalis possède des propriétés sédatives du système nerveux, antalgiques, hypotensives, cicatrisantes, sympatholytiques, antiseptiques, antispasmodiques et parasympholytiques [46]. Elle soulage les ballonnements, les indigestions et les coliques et elle est efficace dans le traitement de l'insomnie, de la dépression et des maux de tête. De plus, elle peut aider à soulager certains types d'asthme et à calmer les inflammations causées par les piquûres d'insectes [47].

Chapitre II : Résultats et Discussions

Résultats et Discussions : Partie chimique

Résultats et Discussions : Partie chimique

I. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

Les caractéristiques sensorielles des huiles essentielles issues des trois plantes étudiées ont été évaluées à l'aide des tests olfactifs, et les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 2 ci-dessous.

Tableau 2 : Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles des plantes étudiées.

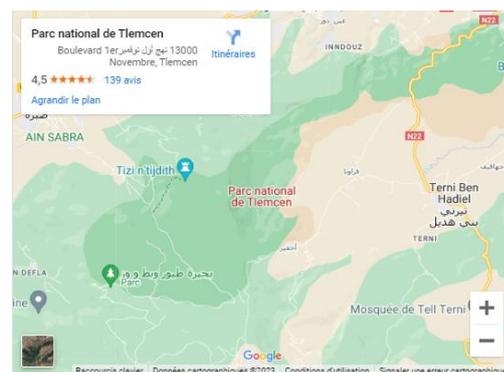
HE	Couleur	Odeur	Aspect
<i>L. officinalis</i>	Incolore	Aromatique et fraîche	Liquide limpide
<i>S. aromaticum</i>	Incolore	Epicée	Liquide plus ou moins visqueux
<i>O. vulgare</i>	Jaune pale	phénolée	Liquide limpide

II. Composition chimique de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*, *Origanum vulgare* L et *Lavandula officinalis*

Les données relatives au rendement des plantes, aux coordonnées GPS et aux altitudes sont recueillies et présentées de manière regroupée dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3: Lieux de récoltes, répartition géographique et rendement en huile essentielle de *L. officinalis*, *S. aromaticum* et *O. vulgare*

Plantes	Rendement (%)	Localité	Coordonnées GPS	Altitude (m)
<i>S. aromaticum</i>	4.09	/		
<i>L. officinalis</i>	2.6	Parc	34° 47' 55'' N	1022
<i>O. vulgare</i>	2.02	National	1° 26' 01'' W	



II.1 Composition chimique de l'huile essentielle des clous de *Syzygium aromaticum*

II.1.1 Extraction et rendement

L'extraction de l'huile essentielle de clou de girofle a été réalisée à l'aide d'un appareil d'hydrodistillation de type Clevenger pendant une durée de 6 heures. Cette méthode a permis d'obtenir une huile essentielle plus dense que son hydrolat, incolore et avec un rendement de 4,09 %.



Figure 2 : Photo original des clous de *Syzygium aromaticum*.

II.1.2 Composition chimique de l'huile essentielle

L'analyse par CPG et CPG-SM de l'huile essentielle obtenu à partir des clous de girofle a permis d'identifier quatre principales composantes représentant 88.2%. Leurs indices de rétention et leurs pourcentages d'abondance normalisés sont présentés dans le Tableau 4. Les quatre composés ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention et les spectres de masse par comparaison avec les données de la littérature. L'huile essentielle de racines du clou de girofle étaient principalement composées d'eugénol (59,4%), de E- β -caryophyllène (16,5%) et d'acétate d'eugényle (10,5%).

Tableau 4 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*.

No. ^a	Composés	<i>RI</i> _a ^b	<i>RI</i> _a ^c	<i>RI</i> _p ^d	<i>Clous de girofle</i>	Identification
1	Eugenol	1330	1332	2178	59,4	RI, MS
2	Eugenyl acetate	1463	1459	2598	10,5	RI, MS
3	E- β -Caryophyllene	1424	1418	1583	16,5	RI, MS
4	α -Humulene	1456	1456	1665	1,6	RI, MS
Total Identification %					88.2	

II.2 Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *Origanum vulgare L*

II.2.1 Lieu de récolte et rendement

L'huile essentielle d'origan a été obtenue par hydrodistillation via un appareil de type Clevenger, avec une durée d'extraction de 6 heures. Les parties aériennes de la plante ont été récoltées au mois d'octobre 2022 dans la région de Tlemcen, précisément dans le Parc National, dont les coordonnées géographiques sont approximativement 34° 51' 59" de latitude Nord et 1° 19' 10" de longitude Ouest. Les échantillons de la plante ont été soigneusement séchés dans un endroit aéré, sec et à l'abri de la chaleur. L'extraction a abouti à l'obtention d'une huile essentielle de couleur jaune pâle, avec un rendement de 2,02 % par rapport à la masse du végétal frais.



Figure 3 : Photo original des parties aériennes de *Origanum vulgare L*.

II.2.2 Composition chimique de l'huile essentielle

La composition chimique de l'huile essentielle est mentionnée dans le tableau 5. Un totale de 6 composés ont été identifiés. Les principaux composés de cette huile sont le carvacrol (72.6%) et le thymol (10.5%), deux composés phénoliques qui représente 83.1% de la composition totale.

Tableau 5 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Origanum vulgare*.

No. ^a	Composés	IRI _a ^b	RI _a ^c	RI _p ^d	Origan	Identification
1	α-Pinène	931	932	1023	2,6	RI, MS
2	β-Pinene	970	972	1108	2,1	RI, MS
3	1,8-Cineole	1020	1021	1205	0,2	RI, MS
4	Linalool	1078	1075	1280	2,5	RI, MS
5	Thymol	1268	1270	2189	10,5	RI, MS
6	Carvacrol	1278	1280	2196	72,6	RI, MS
Total Identification %					90,5	

II.3 Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *Lavandula officinalis*

II.3.1 Lieu de récolte et rendement

L'huile essentielle a été obtenue par hydrodistillation durant 6 heures dans un appareil de type Clevenger. Les parties aériennes de la plante ont été récoltées en décembre 2022 dans le Parc National, situé à une latitude de 34° 51' 59" Nord, une longitude de 1° 19' 10" Ouest et une altitude de 1022m. Après la récolte, les parties végétales ont été soigneusement séchées dans un environnement ambré, sec et à l'abri de la chaleur. Une huile essentielle incolore, dégageant une odeur aromatique et fraîche, a été obtenue à l'issue du processus d'extraction. Le rendement a été de 2.6%.



Figure 4 : Photo original des parties aériennes de *Lavandula officinalis*.

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de la lavande déterminée par CPG et CPG-SM nous a permis d'identifier 13 composés représentent 76.9% de la composition totale.

Tableau 6 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis*

No. ^a	Composés	IRI _a ^b	RI _a ^c	RI _p ^d	<i>Lavandula</i>	Identification
1	α-Pinène	931	932	1023	5.6	RI, MS
2	β-Pinene	970	972	1108	12.4	RI, MS
3	1,8-Cinèole	1020	1021	1205	22.8	RI, MS
4	Linalool	1078	1075	1280	8.5	RI, MS
5	Trans-pinocarveol	1125	1124	1658	5.1	RI, MS
6	Myrténal	1170	1172	1628	4.0	RI, MS
7	Pipéritone	1232	1229	1727	4.0	RI, MS
8	P-cymène-7-ol	1271	1264	2092	2.2	RI, MS
9	β-selinène	1483	1481	1717	2.3	RI, MS
10	Trans-Calamenéne	1512	1510	1810	2.9	RI, MS
11	β-Eudesmol	1644	1636	2222	2.6	RI, MS
12	α-Cadinol	1645	1640	2225	2.2	RI, MS
13	α-Bisabolol	1672	1668	2213	2.3	RI, MS
Total Identification %					76.9	

Les principaux composants de cette huile sont le 1,8-cinèole (22.8%), un monoterpène oxygéné, suivi de deux monoterpènes hydrocarbonés qui sont le β-pinene (12.4%) et le linalool (8.5%). D'autres composés à de faible pourcentage sont présent dans l'huile essentielle, il s'agit de α-pinène (5.6%), trans-pinocarveol (5.1%), myrténal (4%) et le pipéritone (4%). Cependant, les autres composés ne dépassent pas les 3% dans l'huile (Tableau 6).

Résultats et Discussions : Partie biologique

I. Introduction

En tant que source potentielle de molécules bioactives naturelles, les huiles essentielles ont commencé à attirer une large attention. Leur possibilité comme alternative antibactérien et antifongique est à l'étude. La recherche de nouvelles molécules s'est avérée nécessaire, car Les substances de synthèse présentent un certain nombre d'inconvénients et de restrictions d'usage dont il est prouvé qu'elles sont responsables d'effets indésirables. L'objectif de la présente étude est de déterminer le pouvoir antibactérien et antifongique des huiles essentielles de *Lavandula officinalis*, *Origanum vulgare* et *syzygium aromaticum* ainsi de leurs mélanges croisés en utilisant un système fermé.

II. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles dans un système fermé

L'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles de *Lavandula officinalis*, *Origanum vulgare* et *syzygium aromaticum* ainsi que celle de leurs combinaisons sur le plastique comme support a été évalué en mettant le point sur une mesure quantitative de l'action des vapeurs sur les souches pathogènes. Les résultats de l'évaluation du pouvoir antibactérien ont démontré que la concentration de 1/10 des huiles essentielles (*Lavandula officinalis*, *Origanum vulgare* et *Syzygium aromaticum*), ainsi que leurs combinaisons synergiques, a conduit à une éradication complète des bactéries à Gram négatif.

Tableau 7: Enumération et la réduction microbienne après traitement avec différentes huiles essentielles en phase gazeuse.

	N0 (Log cfu/ml)	Origan (Log cfu/ml)	C. girofle (Log cfu/ml)	Lavande (Log cfu/ml)	S1 (Log cfu/ml)	S2 (Log cfu/ml)	S3 (Log cfu/ml)
		EAT RMT	EAT RMT	EAT RMT	EAT RMT	EAT RMT	EAT RMT
K.P	7.50	1.20 6.30	1.00 6.50	1.49 6.01	1.28 6.22	0.95 6.55	1.04 6.46
E.C	7.60	0.00 7.60	0.00 7.60	0.00 7.60	0.00 7.60	0.00 7.60	0.00 7.60
P.A	7.50	0.00 7.50	0.00 7.50	0.00 7.50	0.00 7.50	0.00 7.50	0.00 7.50
S.A	7.80	2.99 4.81	3.19 4.65	3.15 4.65	3.31 4.49	3.53 4.27	4.13 3.67

N0 : nombre initiale ; **EAT** : Enumération Apres Traitement avec huile essentielle gazeuse ; **RMT** : Réduction Microbienne du traitement avec l'huile essentielle gazeuse ; **S1** : mélange (50%/50%) origan et clou de girofle ; **S2** : mélange (50%/50%) origan et lavande ; **S3** : mélange (50%/50%) clou de girofle et lavande ; **K.P** : *Klasiella pneumoniae*; **E.C** : *Escherichia coli*; **P.A** : *Pseudomonas aeruginosa*; **S.A** : *Staphylococcus aureus*

Cependant, aucune des huiles essentielles ni leurs combinaisons n'ont montré d'efficacité contre *Staphylococcus aureus*, une bactérie à Gram positif. Le tableau 7 et l'histogramme 1 (Fig 5) ci-dessus récapitule tous les résultats concernant les activités antibactériennes de toutes les huiles essentielles et leurs synergies sur les souches pathogènes utilisées.

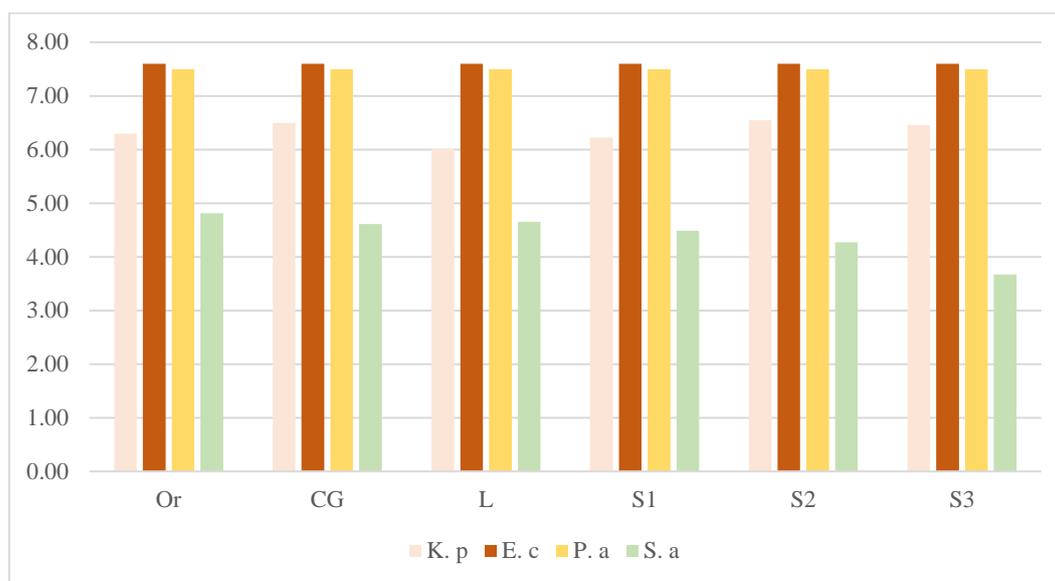


Figure 5 : Réduction Microbienne du traitement avec l'huile essentielle gazeuse (log CFU/mL)

III. Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles dans un système fermé

L'activité antifongique des HEs de *Lavandula officinalis*, *Origanum vulgare* et *syzygium aromaticum* ainsi que celle des combinaisons a été évaluée par une mesure quantitative de l'effet des vapeurs des huiles essentielles sur les souches fongiques dans un système fermé. D'après les résultats du tableau 8, le *Candida albicans* n'a pas une sensibilité similaire vis-à-vis les différentes HEs et leurs combinaisons. La concentration de 1/10 de l'huile essentielle de *Origanum vulgare* et de la combinaison « *Origanum vulgare* + *syzygium aromaticum* » était suffisante pour une inhibition totale de la croissance des champignons. En revanche, une activité antifongique remarquable a été observée pour les HEs de *Lavandula officinalis* et *syzygium aromaticum* et les combinaisons « *Origanum vulgare* + *Lavandula Officinalis* » et « *Lavandula Officinalis* + *Syzygium aromaticum* » à partir d'une concentration de 1/10. Le tableau 8 et l'histogramme (Fig 6) ci-dessous récapitule tous les résultats de l'activité antifongique de toutes les huiles essentielles et leurs combinaisons sur les champignons testés.

Résultats et Discussions : Partie biologique

Tableau 8: Enumération et la réduction fongique après traitement avec différentes huiles essentielles en phase gazeuse.

<i>N0</i> (Log cfu/ml)	Origan		C. girofle		Lavande		S1		S2		S3		
	(Log cfu/ml)		(Log cfu/ml)		(Log cfu/ml)		(Log cfu/ml)		(Log cfu/ml)		(Log cfu/ml)		
	EAT	RFT	EAT	RFT	EAT	RFT	EAT	RFT	EAT	RFT	EAT	RFT	
<i>Candida albicans</i>	5.00	0.00	5.00	2.12	2.88	1.30	3.70	0.00	5.00	2.26	2.74	2.39	2.61

N0 : nombre initiale ; **EAT** : Enumération Apres Traitement avec huile essentielle gazeuse (Log cfu/ml); **RFT** : Réduction Fongique du traitement avec l'huile essentielle gazeuse (Log cfu/ml); **S1** : mélange (50%/50%) origan et clou de girofle ; **S2** : mélange (50%/50%) origan et lavande ; **S3** : mélange (50%/50%) clou de girofle et lavande.

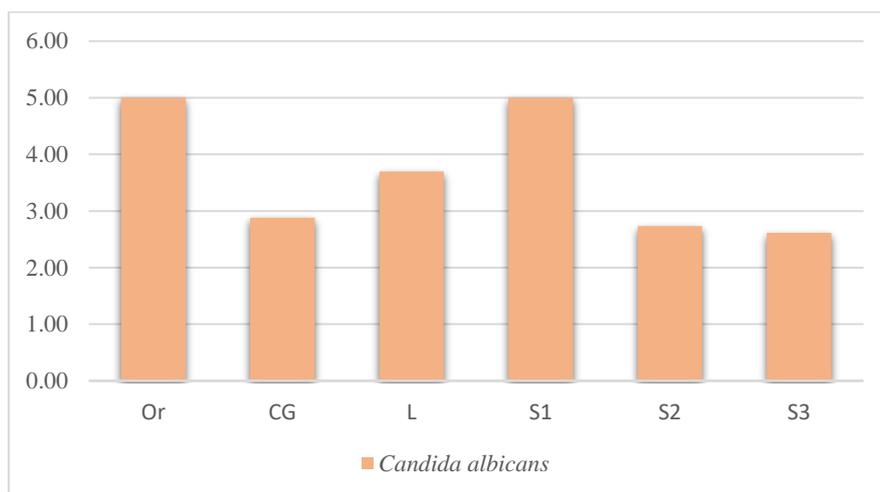


Figure 6 : Réduction Fongique du Traitement avec les HE gazeuse (Log cfu/ml).

IV. Discussions

Une comparaison des résultats révèle que les huiles essentielles de *Lavandula officinalis*, *Origanum vulgare* et *Syzygium aromaticum*, ainsi que leurs combinaisons synergiques (S1, S2 et S3), ont un effet bénéfique sur les souches bactériennes à Gram négatif telles que *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*, tandis qu'elles ont un effet limité sur la souche à Gram positif, *Staphylococcus aureus*.

Pour *Escherichia coli*, toutes les huiles essentielles ainsi que leurs synergies, utilisées à une concentration de 1/10, ont entraîné une inhibition de 7,60 log CFU/ml, démontrant ainsi leur

Résultats et Discussions : Partie biologique

pertinence contre cette souche bactérienne. De même, pour *Pseudomonas aeruginosa*, toutes les huiles essentielles, seules ou en combinaisons, utilisées à une concentration de 1/10, ont conduit à une éradication complète de cette souche avec une réduction microbienne de 7,50 log CFU/ml. En ce qui concerne *Klebsiella pneumoniae*, l'huile essentielle de *Origanum vulgare* a montré un effet inhibiteur de 6,30 log CFU/ml, l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* a entraîné une réduction de 6,50 log CFU/ml, et l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* a provoqué une réduction de 6,01 log CFU/ml. Les combinaisons synergiques, S1, S2 et S3, ont également montré des réductions microbiennes respectives de 6,22 log CFU/ml, 6,55 log CFU/ml et 6,46 log CFU/ml. Bien que ces réductions soient remarquables, elles ne sont pas totales, ce qui pourrait être dû à la concentration des huiles essentielles utilisées. Pour ce qui est de *Staphylococcus aureus*, la souche bactérienne à Gram positif, l'huile essentielle de *Origanum vulgare* a montré une réduction microbienne de 4,81 log CFU/ml, tandis que les huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* et de *Lavandula officinalis* ont entraîné une réduction de 4,65 log CFU/ml chacune. Les combinaisons synergiques S1, S2 et S3 ont montré des réductions respectives de 4,49 log CFU/ml, 4,27 log CFU/ml et 3,67 log CFU/ml.

L'activité des huiles essentielles, seules ou en combinaisons, est similaire pour toutes les souches bactériennes testées. Les résultats de l'évaluation de l'activité antifongique révèlent que l'huile essentielle de *Origanum vulgare* ainsi que la combinaison "*Origanum Vulgare* + *Syzygium aromaticum*" ont entraîné une inhibition de la croissance des espèces fongiques. L'analyse des résultats indique également qu'en présence de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis*, il y a eu une diminution significative du nombre de colonies fongiques par rapport au nombre initial, avec une réduction de 3,70 log CFU/ml. De même, l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* a montré une réduction de 2,88 log CFU/ml du nombre de colonies fongiques. Les combinaisons d'huiles essentielles "*Origanum vulgare* + *Lavandula officinalis*" et "*Lavandula Officinalis* + *Syzygium aromaticum*" ont également montré une activité antifongique, avec une réduction respective de 2,74 log CFU/ml et 2,61 log CFU/ml du nombre de colonies fongiques. En comparant les résultats obtenus, il est possible de constater que l'huile essentielle d'origan est deux fois plus efficace contre *Candida albicans* que les huiles essentielles de clou de girofle et de lavande. Par ailleurs, la combinaison des huiles essentielles "*Origanum vulgare* + *Syzygium aromaticum*" présente un effet similaire à celui de l'huile essentielle d'origan seule. Cependant, les combinaisons des huiles essentielles "*Origanum vulgare* + *Lavandula officinalis*" et "*Lavandula officinalis* + *Syzygium aromaticum*" semblent avoir un effet antagoniste, car la réduction de la croissance fongique observée après le

Résultats et Discussions : Partie biologique

traitement avec ces combinaisons est inférieure à celle observée avec les huiles essentielles individuelles.

Chapitre III : Matériels et Méthodes

I. Provenance et identification des espèces étudiées

Pour cette étude, les parties aériennes de *Lavandula officinalis* et *Origanum vulgare* ont été récoltées dans le Parc National de Tlemcen. En ce qui concerne les boutons floraux de *Syzygium aromaticum*, connus sous le nom de clou de girofle, sont importés directement depuis l'Indonésie. Ces boutons floraux de haute qualité sont disponibles sur le marché tout au long de l'année.

Le processus d'identification des trois plantes a été réalisé par le docteur KAZI TANI Choukri du département d'agronomie de l'université Aboubakr Belkaid de Tlemcen.

Pour évaluer le pouvoir antibactérien de nos huiles essentielles, nous avons sélectionné quatre souches de référence. Ces souches comprennent *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*. Afin d'évaluer l'activité antifongique des trois HEs et des trois combinaisons, nous avons utilisé une souche de *Candida albicans*. Nous avons choisi cette espèce en conséquence de plusieurs études décrivant des cas de pneumopathies nosocomiales causées par les *Candida* [48].

II. Procédés d'extraction des huiles essentielles

Nous avons mis une quantité de 122 g de *Lavandula officinalis*, 405 g de *Origanum vulgare* et 416 g de *Syzygium aromaticum* dans des ballons de 6L contenant un volume de 3L d'eau de robinet. Ceux-ci sont reliés à un réfrigérant qui permet à la vapeur d'eau contenant les molécules odorantes dégagées par l'éclatement des cellules végétales de se condenser. L'extraction commence dès que la première goutte tombe dans le collecteur et se poursuit pendant 6 heures. Les huiles essentielles obtenues ont été soigneusement conservées dans des piluliers en verre ambré, maintenus à une température constante de 4°C, à l'abri de la lumière pour préserver leur intégrité et équilibre.



Figure 7 : Montage d'hydrodistillation Clevenger (photo originale).

III. Calcul de rendement

Le rendement du procédé d'extraction d'une huile essentielle est le rapport entre la masse d'huile extraite et la masse de plante sèche ou fraîche traitée [49]. Le calcul du rendement se fait par la formule suivante :

$$r = \frac{m_{HE}}{m_{MV}} * 100$$

Où :

r : Rendement en huile essentielle (%), mHE : masse de l'huile essentielle, mMV : masse de la matière végétale.

IV. Condition CPG-SM

Les huiles essentielles ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse à l'aide d'un détecteur Perkin Elmer Turbo Mass (quadripôle) couplé à un Perkin Elmer Autosystem XL équipé d'un injecteur automatique et de deux colonnes (60 mx 0,22 mm D.I., épaisseur de film de phase 0,25 µm), polaire (Rtx-Wax) et non polaire (Rtx-1). L'énergie d'ionisation était de 70 eV, la température de la source d'ions était de 150 °C et la plage de masse avec laquelle les spectres de masse ont été acquis était de 35 à 350 Da. L'injection de l'échantillon s'est faite par un mode divisé avec un rapport de division de 1/807,8.

V. Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique

De nos jours, les huiles essentielles font l'objet d'une surveillance constante du fait de leur capacité à combattre avec efficacité les bactéries résistantes aux antibiotiques. En effet, ces huiles ont démontré leur activité contre des souches telles que *Streptococcus pneumoniae* résistant à la pénicilline, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, *Enterococcus sp* résistant à la vancomycine, ainsi que d'autres bactéries présentant une résistance aux traitements classiques. Cette propriété des huiles essentielles les rend d'autant plus pertinentes dans le contexte actuel de préoccupation croissante au niveau hospitalier face à la propagation des bactéries et des champignons [50,52].

V.1 Méthode de détermination de l'activité antibactérienne et antifongique des vapeurs des huiles essentielles dans un système fermé

Pour cette expérience, nous avons utilisé une boîte hermétique dans laquelle nous avons inoculé un organisme test. À l'intérieur de la boîte, nous avons placé un récipient contenant une solution diluée de l'huile essentielle. La boîte a été ensuite incubée à une température de 37°C pendant une durée de 24 heures. La configuration expérimentale est illustrée dans la figure ci-dessous (Fig 8).

Matériels et Méthodes

Une fois les 24 heures écoulées, nous avons procédé au prélèvement des bactéries restantes dans la boîte, que nous avons ensuite inoculées sur une boîte de Pétri contenant un milieu nutritif gélosé. Par la suite, la boîte de Pétri a été incubée à une température de 37°C pendant une période de 24 heures. Les résultats de la croissance des bactéries sont donnés dans les tableaux 7 et 8.

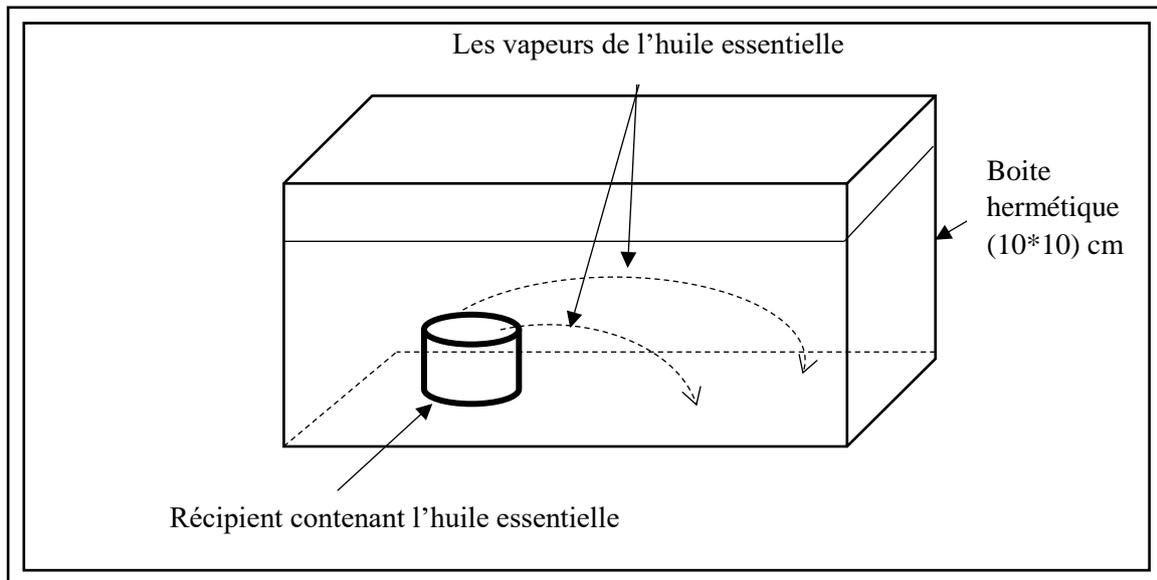


Figure 8 : Détermination de l'activité antimicrobienne des vapeurs de l'huile essentielle dans un système fermé.

Les boîtes hermétiques de dimensions appropriées utilisées dans cette étude ont été soumises à une stérilisation préalable par exposition aux rayons UV avant leur utilisation. Chaque boîte hermétique a étéensemencée avec l'une des souches bactériennes, à une densité optique (DO) approximative de 0,08 à 0,1, correspondant à une concentration d'environ 10^7 UFC/mL. Les boîtes ont été laissées à température ambiante pendant 60 minutes afin de favoriser l'adhérence des bactéries au support. À l'intérieur de chaque boîte, un récipient en plastique préalablement stérilisé par exposition aux rayons UV a été placé. Ce récipient contenait 0,5 mL d'une solution diluée d'huile essentielle dans l'éthanol à 96%. La dilution utilisée était de 1/10.

Les boîtes ont été incubées à une température de 37°C pendant une durée de 24 heures. Par la suite, afin de détacher les souches bactériennes adhérentes à la surface des boîtes, nous avons ajouté 4 mL d'eau distillée stérile, en quantité suffisante pour recouvrir toute la surface de la boîte. Les boîtes ont ensuite été placées dans un bain à ultrasons (WiseClean) pendant une

Matériels et Méthodes

période de 5 à 10 minutes, permettant ainsi de garantir le détachement complet des bactéries du support.

Un volume de 1 ml de la suspension bactérienne a été ensemencé en profondeur sur la gélose nutritive. Des mouvements circulaires ont été effectués afin de mélanger l'eau contenant les bactéries avec la gélose nutritive liquide, assurant ainsi une répartition homogène des bactéries dans le milieu de culture.

La lecture des résultats a été faite après incubation des boîtes de Pétri 24h à 37°C.



Figure 9: Quelques étapes de l'étude de l'activité antibactérienne.

➤ Etude de l'activité antifongique

De manière similaire, l'ensemble des manipulations a été effectué en garantissant la fiabilité et la précision des résultats obtenus. Les boîtes hermétiques utilisées dans cette étude ont été stérilisées au préalable par exposition aux rayons UV. À l'intérieur de chaque boîte hermétique, nous avons ensemencé la souche fongique *Candida albicans* à une densité optique (DO) approximative de 0,08 à 0,1, correspondant à une concentration d'environ 10^7 unités formant colonies par millilitre (UFC/mL). Les boîtes ont été laissées à température ambiante pendant une période de 60 minutes afin de favoriser l'adhésion des levures sur le support. À l'intérieur de chaque boîte, un récipient en plastique préalablement stérilisé par exposition aux rayons UV a été placé. Ce récipient contenait 0.5 mL d'une solution diluée d'huile essentielle dans de

Matériels et Méthodes

l'éthanol à 96%, avec une dilution de 1/10. Les boîtes ont été incubées à une température de 37°C pendant une durée de 24 heures.

Par la suite, afin de détacher les levures adhérees à la surface des boîtes, nous avons ajouté 4 mL d'eau distillée stérile, en quantité suffisante pour recouvrir toute la surface de la boîte. Les boîtes ont ensuite été placées dans un bain à ultrasons (WiseClean) pendant une période de 5 à 10 minutes, permettant ainsi de garantir le détachement complet des souches fongiques du support. Un volume de 1 mL de la suspension de levures a été ensemencé en profondeur sur la gélose Sabouraud, assurant ainsi une répartition homogène des levures dans le milieu de culture. La lecture des résultats a été effectuée après une incubation de 24 heures à une température de 37°C des boîtes à Pétri.



Figure 10 : Quelques étapes de l'étude de l'activité antifongique.

Conclusion

Conclusion

Les huiles essentielles sont largement reconnues pour leurs propriétés thérapeutiques antiseptiques, et bon nombre d'entre elles ont démontré leur efficacité contre les bactéries, les champignons, les virus et les parasites. À la suite de cette étude portant sur l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles de *Lavandula officinalis*, *Origanum vulgare* et *Syzygium aromaticum* ainsi que leurs combinaisons S1 « *Origanum vulgare* + *Syzygium aromaticum* », S2 « *Origanum vulgare* + *Lavandula officinalis* » et S3 « *Lavandula Officinalis* + *Syzygium aromaticum* », il est important de souligner que ces plantes jouissent d'une large utilisation en raison de leur intérêt dans la médecine traditionnelle à travers le monde, y compris en Algérie.

Les rendements obtenus à partir des espèces étudiées, à savoir *O. vulgare*, *S. aromaticum* et *L. officinalis*, ont été très satisfaisants. L'huile essentielle de *O. vulgare* se distingue par sa richesse en carvacrol, un composé phénolique aux propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes, lui conférant un intérêt particulier dans la recherche médicale. L'huile essentielle de *L. officinalis* présente une teneur élevée en linalool, un composé apprécié pour ses qualités aromatiques et souvent utilisé dans l'industrie des parfums et des cosmétiques pour ajouter une note agréable aux produits finis. Enfin, l'huile essentielle de *S. aromaticum* est notable pour sa concentration significative en eugénol, un composé connu pour ses propriétés analgésiques et antiseptiques, fréquemment employé dans diverses applications médicales, notamment pour soulager la douleur et prévenir les infections.

L'activité antibactérienne et antifongique de nos huiles essentielles a été évaluée en utilisant une méthode novatrice pour déterminer leur efficacité antimicrobienne dans un système fermé, basée sur les vapeurs d'huile essentielle. L'activité antibactérienne de nos huiles essentielles a été évaluée à une concentration de 1/10, démontrant leur capacité à inhiber la prolifération des bactéries à Gram négatif telles que *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, ainsi que *Klasiella pneumoniae*. Cependant, la bactérie à Gram positif *Staphylococcus aureus* s'est révélée résistante à toutes les huiles essentielles testées. Il convient de noter que les synergies des huiles essentielles utilisées dans cette étude ont démontré un pouvoir antibactérien similaire à celui des huiles essentielles individuelles.

L'huile essentielle d'origan ainsi que la combinaison d'origan et le clou de girofle ont démontré une efficacité antifongique significative contre l'espèce *Candida albicans*, en inhibant complètement la croissance des levures. En revanche, les huiles essentielles de clou de girofle et de lavande ont montré une sensibilité réduite vis-à-vis de cette même espèce. L'évaluation de l'activité antifongique a révélé que les combinaisons des huiles essentielles "origan + lavande"

Conclusion

et "clou de girofle + lavande" ont présenté des effets antifongiques antagonistes. Ces résultats peuvent être expliqués par les interactions synergiques entre les différents constituants biologiques majeurs et mineurs présents dans les huiles essentielles.

Les huiles essentielles d'origan et de clou de girofle présentent un large spectre d'activité antimicrobienne, ce qui les rend particulièrement utiles en tant que désinfectants dans les établissements de santé. Leur utilisation en diffusion est très efficace pour prévenir la propagation des germes pathogènes. Il est également possible de les combiner avec d'autres huiles essentielles afin d'améliorer leur parfum et leur effet lors de la diffusion.

La poursuite de cette recherche est essentielle, car de nombreux axes restent à explorer. Une étude approfondie de l'utilisation des huiles essentielles par diffusion serait particulièrement intéressante, compte tenu des nombreux avantages qu'elle présente par rapport aux autres méthodes de désinfection. Lorsque les huiles essentielles sont diffusées, leurs composés volatils se dispersent dans l'air, offrant ainsi une couverture étendue de l'environnement. Cette caractéristique s'avère extrêmement bénéfique dans les établissements de santé, où la propagation des germes pathogènes peut se faire par voie aérienne. De plus, la diffusion des huiles essentielles offre une action prolongée, car les molécules volatiles demeurent suspendues dans l'air pendant une période de temps, assurant une protection continue contre les agents pathogènes. Contrairement à d'autres méthodes de désinfection qui nécessitent des applications fréquentes, la diffusion permet une désinfection constante sans nécessiter d'interventions répétées.

Selon les enquêtes menées par la Fondation Gattefossé, plusieurs établissements hospitaliers en Europe (Allemagne, Suisse, Belgique) utilisent déjà les huiles essentielles en complément des traitements conventionnels. Cependant, dans d'autres pays, cette utilisation alternative reste encore exceptionnelle. L'intégration des huiles essentielles dans les protocoles hospitaliers est encore à un stade très préliminaire.

L'utilisation des huiles essentielles dans les services de gériatrie et d'oncologie des hôpitaux est plus répandue. Les professionnels de santé les diffusent ou les utilisent en fonction de leur expérience et toujours avec un accord écrit.

Cette utilisation présente plusieurs avantages significatifs. Tout d'abord, on observe une nette amélioration de l'état de santé des patients, ainsi qu'une meilleure qualité de sommeil et une réduction de l'anxiété, en particulier chez les personnes soumises à une chimiothérapie. Les huiles essentielles contribuent également à réduire les nausées, les vomissements post-

Conclusion

opératoires ou chimio-induits, et aident à réguler l'appétit. Chez les patients atteints de démence, comme ceux souffrant de la maladie d'Alzheimer, les huiles essentielles stimulent les fonctions cognitives. De plus, l'utilisation des huiles essentielles entraîne une diminution du stress et de la dépression chez les soignants, ce qui améliore leurs conditions de travail et favorise une meilleure prise en charge des patients [53,54,55].

En conclusion, l'utilisation des huiles essentielles par diffusion atmosphérique présente de nombreux avantages dans les établissements de santé. Cependant, il est important de prendre des précautions, notamment en limitant la concentration des huiles essentielles riches en aldéhydes terpéniques et en évitant les huiles essentielles potentiellement irritantes pour les muqueuses ou neurotoxiques. Des études plus détaillées sont nécessaires pour approfondir les connaissances sur l'utilisation des huiles essentielles dans les protocoles hospitaliers et maximiser leurs avantages tout en assurant la sécurité des patients et du personnel médical.

Par ailleurs, il est essentiel d'être vigilant lors de la diffusion d'huiles essentielles riches en aldéhydes terpéniques. Il est recommandé de ne pas dépasser une concentration de 20% au sein d'une synergie diffusée afin de limiter les risques d'irritation des muqueuses oculaires ou ophtalmiques. Les huiles essentielles considérées comme potentiellement irritantes pour les muqueuses, telles que celles riches en phénols (Origan compact, Sarriette des montagnes, Thym à thymol...) ou en aldéhydes aromatiques (Cannelle de Ceylan...), ainsi que les huiles essentielles contenant des cétones (Menthe poivrée...), potentiellement neurotoxiques, devraient généralement être évitées (ou exceptionnellement acceptées à une concentration maximale de 5% dans un mélange diffusé). Pour éviter les interactions entre les différentes huiles essentielles, il est recommandé de limiter la synergie à 3 ou 4 huiles essentielles, en veillant si possible à mélanger celles qui appartiennent à des familles biochimiques différentes.

En cas de sensibilité cutanée particulièrement allergique, il est conseillé de réaliser un test de sensibilité individuel au niveau du pli du coude. Ce test consiste à appliquer chaque huile essentielle en mélange et à observer l'absence de réaction après 48 heures avant toute utilisation plus étendue.

Il est important de noter que le point fort de cette étude sont :

- L'efficacité des composés volatils de nos huiles essentielles sur les micro-organismes présents dans l'air et l'inhibition de leur prolifération dans un milieu fermé.

Conclusion

- L'efficacité des différentes combinaisons des huiles essentielles sur des pathogènes résistants.
- La durée, la fréquence et les faibles concentrations pour une désinfection efficace

D'autre part, il est important de :

- Développer des protocoles d'utilisation optimisés dans le milieu hospitalier pour la diffusion des huiles essentielles, en prenant en compte des facteurs tels que la durée, la fréquence et la concentration nécessaires pour garantir une désinfection totale.
- Étendre les recherches à d'autres espèces de micro-organismes pathogènes présents dans l'environnement hospitalier, afin de déterminer l'efficacité des huiles essentielles dans leur élimination et d'élargir leur champ d'application.

Références

Références

- [1] Zhiri. A. aromathérapie un peu d'histoire. *Nutra news science. Nutrition, prévention et santé*. Volume 16, N°12. 2006, 6-7.
- [2] Paul. I. l'action des plantes médicinales, In encyclopédies des plantes médicinales: identification, préparations, soins. Larousse Bordas. 1997, 335.
- [3] Pandey. A.K, Singh. P, Tripathi. N.N. Chemistry and bioactivities of essential oils of some *Ocimum* species: an overview. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 4. 2014, 682-694.
- [4] Chamberland. M. Les essences au point de vue de leurs propriétés antiseptiques. *Annales de l'Institut Pasteur*. 1887,4-153.
- [5] Martindale. W.H. Essential oils in relation to their antiseptic powers as determined by their carbolic coefficient. *Perfum Essent Oil Res* 1. 1910, 96-266.
- [6] De Billerbeck. V.G, Roques. C.G, Vanière. P, et al. Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Hygiène. Revue officielle de la Société française d'hygiène hospitalière* 10. 2002, 51-248.
- [7] Tonneau. M. Infections nosocomiales : des huiles essentielles en prévention. *Santé magazine*. 375. 2007, 3-92.
- [8] Boulahouat. M, Aliziane. M.O. le cout économique et social des infections nosocomiales en Algérie. *Revue nouvelle économie*. 2020,411-430.
- [9] Hygis. N. hygiène hospitalière, collection azay. *Presses universitaire de Lyon*. 1988, 658.
- [10] Bruneton. J. Pharmacognosie - Phytochimie, Plantes médicinales. Editions Tec & Doc, *Editions médicales internationales*. 1999, 1120.
- [11] Degryse. A.C, Delpha. I, Voinier. M.A. Risques et Bénéfices Possibles des Huiles Essentielles. *Atelier santé environnement-IGS-EHESP*. France. 2008.
- [12] Bruneton. J. Pharmacognosie - Phytochimie, Plantes médicinales. 3ème éd. Ed. Tec & Doc. *Lavoisier*. Paris. 1999.
- [13] Kaloustian. J, Hadj-Minaglou. F. La Connaissance des Huiles Essentielles : Qualitologie et Aromathérapie : Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Collection Phytothérapie Pratique. *Springer-Verlag*. Paris. 2013.
- [14] Mouchem. F.Z. Contribution à l'étude des huiles essentielles de l'armoise blanche de trois localités de l'ouest algérien (Ras Elma, El Aricha et Mécheria) et leurs effets antimicrobiens. 2015.
- [15] Salzer. U.J, The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings. a critical review. *C.R.C Crit. Rev. Food Sci. Nutr* 9. 1997. 345-373.

- [16] Senatore. F. Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). *Journal of agricultural and food chemistry*. 44. 1996, 1327-1332.
- [17] Rouessac. F, Rouessac. A. Chemical analysis: modern instrumentation methods and Techniques. *John Wiley & Sons*. 2013.
- [18] Fernandez. X, Cabrol-Bass. D. Analyse des arômes. 2007.
- [19] Scimeca. D, Les plantes du bonheur: le coup de pouce des plantes contre tous les coups de blues. *Alpen Editions sam*. 2006.
- [20] Burgot. G, Burgot. J.L. Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications: méthodes chromatographiques, électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes thermiques. *Lavoisier*. 2011.
- [21] Baser. K.H.C, Buchbauer. G. Handbook of essential oils: science, technology, and applications. *CRC press*. 2009.
- [22] Soulimani. R, Younoss. C, Flémentin. I, Mortier. F, Misslin. R. Recherche de l'activité biologique de *Melissa officinalis* L sur le système nerveux de la souris in vivo et le duodénum de rats in vitro. *Plantes Médicinales et phytothérapie*. 1993, 77-85.
- [23] Stefanini. M.B, Ming. L.C, Marques. M.O.M, Meireles. M.A.M, Moura. L.S. Marchese. J.A. Seed productivity, yield and composition of the essential oil of fennel *Foeniculum vulgare* var. *dulcis* in the season of the year. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s. 2006, 86-90.
- [24] Samadi. N, Masoum. S, Mehrara. B, Hosseini. H. Application of linear Multivariate calibration techniques to identify the peaks responsible for the antioxidant activity of *Satureja hortensis* L. and *Oliveria decumbens* Vent. Essential oils by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography*. 2015, 75-81.
- [25] Thompson. J.D, Chalchat. J.C, Michet. A, Linhart. Y.B, Ehlers. B. Qualitative and quantitative variation in monoterpenoid occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *Journal of chemical ecology*. 2003, 859-880.
- [26] Baaliouamer. A. Analyse qualitative et semi-quantitative des huiles essentielles de Citrus provenant de la station de Boufarik. *Thèse doctorat d'Etat Es-science. Phys, USTHB*. 1987, 143.
- [27] Teuscher. E, Anton. R, Lobstein. A. Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc éditions. Paris. 2005.
- [28] Mansard. M. Le camphrier : étude botanique, chimique et biologique de ses huiles essentielles. *Thèse Doctorat. Université Lorraine*. Lorraine. Canada. 2016.

- [29] Bakkali. F, Averbeck. S, Averbeck. D, Idaomar. M. Biologicaeffects of Essential oils – A review. *Food Chemical and Toxicology*. 46. 2008, 446–475.
- [30] Florence. M. Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles: Etude de cas en maison de retraite. *Sciences pharmaceutiques*. 2012, 16.
- [31] Alessandra. M.B. Au cœur des huiles essentielles, In grand guide des huiles essentielles santé beauté bien être. *Hachette pratique*. 2000, 27-28.
- [32] Zhiri. A, Baudoux. S.D. Les huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. Inspir Développent, Luxembourg. 6.
- [33] Maihebiau. P. La nouvelle aromathérapie: biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. *Lausanne*. 1994, 635.
- [34] Kaysert. F, Bottger. E, Zinkernagel. R, Haller. J, Deplazes. P. Microbiologie médicale. 11eed. Allemande : Flammarion Médecine-Sciences. Alleman2008, 764.
- [35] Naucil. C, Vilde. J. Bactériologie médicale. 2e ed. Paris. 2005, 233.
- [36] Briand. Y. Aspects de la résistance bactérienne aux antibiotiques. *L'Harmattan*. Paris. 2012, 515.
- [37] Eric. P et al. Le giroflier à Madagascar : une « success story ». À l'avenir incertain, Bois et Forêts des Tropique. 2014, 35.
- [40] Rannoarisoa. K.M. Evolution historique et état des lieux de la filière girofle à Madagascar. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur Agronome. Antananarivo : Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques. 2012.
- [41] Barbalet. S. Le giroflier : historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle. Mémoire de fin d'étude Pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. *Université de LORRAINE*. 2015.
- [42] Dubois. J, Mitterand. H, Dauzat. A. Grand dictionnaire étymologique et historique du français. *Larousse*. Paris. 2005.
- [41] Arvy. M.P, Gallouin. F. Epices, aromates et condiments. *Ed. Belin*. Paris. 2003, 412.
- [42] Teuscher. E, Anton. R, Lobstein. A. Plantes aromatiques: Epices, aromates condiments et huiles essentielles. Ed. Tec & Doc. *Lavoisier*. Paris. 2004.
- [43] Brunetion. J. Pharmacognosie « phytochimie plant medecinales » 2ème édition. techet doc. *Lavoisier*. 1993, 416, 417, 418, 425, 426, 427.
- [44] Toninolli. F, Meglioli. V. Huiles Essentielles L'encyclopédie. *JUDENA. France*. 2013, 37-38,202.

- [45] Laib. I, Barkat. M. Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *lavandula officinalis*. - Institut de Nutrition, d'Alimentation et des Technologies Agroalimentaires. *Université de Constantine Mentouri. Algerie*. 2011, 89.
- [46] Magnan. B. LA LAVANDE UNE PLANTE PARMIS LES PLANTES. 2006.
- [47] Iris. S. Encyclopédie essentielle des plantes médicinales. 2011.
- [48] Azoulay. E, Mayaud. C, Schlemmer. B, Prélèvement pulmonaire positif à *Candida*: infection nosocomiale ou colonisation. *Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS*, 2001, 323-328.
- [49] MECHERNENE. B. Évaluation de l'activité antioxydante de quelques extraits de la racine de *Bryonia dioica*. 2014.
- [50] Fanaki. N. H, El-Nakeeb. M. A. Activité antimicrobienne de certains composants d'huiles essentielles contre des isolats cliniques multirésistants. *Alexandrie. Journal of Pharmaceutical Sciences*. 11. 1997, 149–153.
- [51] Nelson. R.R.S. Activités in vitro de cinq huiles essentielles végétales contre *Staphylococcus* résistant à la méthicilline *Enterococcus aureus* et *faecium* résistant à la vancomycine. *J. Antimicrobe. Chimimère* 40. 1997, 305–306.
- [52] Inouye. S, al. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *J. Antimicrob. Chemother*, 47. 2001, 565–573.
- [53] Fearrington. M.A, Qualls. B.W, Carey. M.G. Essential Oils to Reduce Postoperative Nausea and Vomiting. *Journal of Perianesth Nurs* (5). 2019, 1047-1053.
- [54] Karadag. E, Samancioglu. S, Ozden. D, Bakir. E. Effects of aromatherapy on sleep quality and anxiety of patients. *Nurs Crit Care* (2). 2017, 105-112.
- [54] Jimbo. D, Kimura. Y, Taniguchi. M, Inoue. M, Urakami. K. Effect of aromatherapy on patients with Alzheimer's disease. *Psychogeriatrics* (4). 2009, 9-173.

Annexe



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ابو بكر بلقايد- تلمسان -



Business Model Canevas

نموذج العمل

المؤطر:

الاسم: محمد الامين

اللقب: ديب

الطالبة:

الاسم: نبيلة

اللقب: لوكيلى

رمز المشروع: س35

اسم المشروع: تجربة الزيوت الاساسية في الوسط الاستشفائي

السنة الجامعية: 2023/2022

Business Modèle Canevas

1. Propositions de valeur



Le projet vise à explorer l'utilisation des huiles essentielles dans un contexte hospitalier, en mettant l'accent sur leur production et leurs combinaisons pour obtenir des propriétés antimicrobiennes et antifongiques efficaces. Ces huiles essentielles pourraient remplacer les produits désinfectants chimiques synthétiques en assainissant et en purifiant l'air par diffusion (phase gazeuse).

Nous proposons des produits pouvant servir de désinfectants de l'air par diffusion dans des environnements tels que les blocs opératoires, les salles de réanimation, les salles d'attente et les chambres des patients, où l'atmosphère est souvent chargée de germes pathogènes, de virus et de bactéries. De plus, ces produits peuvent également être utilisés en diffusion dans les services de psychiatrie pour aider à apaiser et détendre les patients.

Le projet vise à développer la production des huiles essentielles telles que l'huile essentielle de jasmin, de lavande, et d'autres, qui sont largement utilisées dans l'industrie cosmétique et pharmaceutique.

Sur le plan économique, la réalisation d'un tel projet contribuera largement à améliorer l'économie du pays même si d'une façon indirecte étant donné que les hôpitaux Algériens dépensent des millions de dollars pour traiter les malades des infections nosocomiales, ce qu'il faut savoir que le coût de la prise en charge d'un patient infecté coûte cinq fois plus cher qu'un patient non infecté. Ainsi, il contribue à la diminution d'importation de matière première chimique pour synthétiser les produits chimiques utilisés actuellement pour désinfecter les blocs opératoires et les établissements de santé en général, en le remplaçant par un produit naturel 100% Algérien.

Dans le contexte actuel où la prise de conscience environnementale est devenue primordiale, le concept biologique jouit d'une grande popularité sur le marché. La question environnementale est au cœur des préoccupations. Il est donc essentiel de prendre en compte les impacts environnementaux de toute entreprise, en particulier face au changement climatique et à ses effets. Notre projet s'inscrit précisément dans cette optique en privilégiant une production naturelle. C'est la raison pour laquelle nous avons fait le choix de nous orienter vers des méthodes respectueuses de l'environnement.

En plus des aspects mentionnés précédemment, ce projet pourrait jouer un rôle important dans le développement du secteur des huiles essentielles à l'échelle individuelle. Il pourrait également jouer un rôle essentiel en encourageant les agriculteurs à exploiter des terres marginalisées et ainsi les valoriser. Cela permettrait d'optimiser l'utilisation des ressources agricoles et d'ouvrir de nouvelles perspectives économiques pour les agriculteurs locaux.

2. Clients



Notre clientèle se compose de différents groupes de clients, dont le premier est constitué par les acteurs du secteur de la santé. En premier lieu, nous cibons les établissements de santé privés de la région de Tlemcen, tout en visant à étendre notre présence à l'ensemble du territoire national. De plus, nos produits peuvent également être utilisés dans les salles d'attente des cabinets médicaux, les pharmacies et les laboratoires d'analyses médicales.

Notre projet vise aussi le secteur de l'industrie cosmétique. Les huiles essentielles que nous produisons, telles que l'huile essentielle de lavande, romarin, menthe, etc., sont utilisées dans la composition de parfums, de shampoings, de crèmes antirides et anti-vergetures, de sérums capillaires et de soins pour le visage, entre autres. Ces huiles essentielles apportent des propriétés bénéfiques pour la peau, les cheveux et l'aromathérapie, offrant ainsi des alternatives naturelles aux produits cosmétiques traditionnels.

Notre clientèle comprend également des individus de plus de 18 ans, de différents sexes, qui sont intéressés par l'utilisation des huiles essentielles dans des préparations maison et des remèdes naturels, souvent inspirés des recettes traditionnelles. Ces personnes recherchent des solutions naturelles pour prévenir ou traiter certaines maladies. De plus, nos produits peuvent également être utilisés dans les salles de sport et les centres de massage (SPAs), où les huiles essentielles sont appréciées pour leurs propriétés relaxantes et apaisantes.

3- Relations



Notre relation avec les clients se déclinera en deux types : une relation de marketing industriel ou "Business to Business" (B to B) et une relation "Business to Customers" (B to C). Dans le cadre du marketing B to B, notre objectif est de mettre en place une stratégie de diversification des produits, en offrant des réductions de prix aux entreprises travaillant avec nous sur le long terme, ainsi que des flacons de plus grande contenance (100 mL). En revanche, dans le cadre

du marketing B to C, nous prévoyons de proposer des packs promotionnels, par exemple, en offrant une réduction de 50% sur le troisième flacon d'huiles essentielles acheté, en utilisant des flacons de petite contenance (10 mL).

4- Cannaux



Une fois nos produits finalisés, nous pourrons passer à leur commercialisation et à leur marketing en adoptant différentes approches adaptées aux segments de clients. Dans le cadre des relations B to B, nous prévoyons de nommer un délégué commercial dédié à chaque segment de clients, avec une stratégie de vente spécifique. Pour les établissements de santé tels que les hôpitaux, les cabinets médicaux, les laboratoires d'analyses médicales et les pharmacies, nous proposerons des produits à fort pouvoir désinfectant, répondant à leurs besoins spécifiques. Pour le segment des services de psychiatrie, nous proposerons des huiles essentielles réputées pour leurs propriétés relaxantes, apaisantes et calmantes. Dans le domaine de l'industrie cosmétique, notre objectif est de proposer des huiles essentielles aux multiples vertus cosmétiques et thérapeutiques, offrant des fragrances agréables et des notes différentes. En outre, pour les hôtels et les auberges, nous proposerons des huiles essentielles aux senteurs fraîches et aromatiques pour créer une atmosphère agréable.

Nous prévoyons également de mettre en place des activités de relations publiques, telles que la participation à des foires, des salons, des événements et des conférences de presse. Ces initiatives nous permettront de promouvoir nos produits, d'établir des contacts avec de potentiels partenaires commerciaux, d'interagir avec le public cible et de renforcer notre visibilité sur le marché.

Dans le cadre de notre relation B to C, notre objectif est d'être omniprésent tout au long du parcours d'achat de notre public cible. Pour cela, nous utiliserons des publications sur les réseaux sociaux tels que Facebook, Instagram et TikTok. Nous prévoyons également de créer un site web convivial où les clients pourront facilement passer commande de nos produits. Ce site comprendra des fiches techniques détaillées pour chaque produit, fournissant des informations sur les vertus thérapeutiques, les modes d'utilisation et quelques recettes d'utilisation. En outre, notre stratégie inclura la collaboration avec des influenceurs sur les réseaux sociaux pour promouvoir nos produits à travers des publicités ciblées.

5- Partenaires clés



Dans la phase de préparation des matières premières, notre projet impliquera des partenaires clés, notamment les agriculteurs et le parc national. Nous collaborerons avec les agriculteurs pour cultiver et récolter les plantes aromatiques dont nous avons besoin pour produire nos huiles essentielles. Le parc national jouera également un rôle important en fournissant un accès aux ressources naturelles nécessaires à notre projet.

Dans l'étape concernant le remplissage et l'emballage des produits, nous aurons besoin de partenaires spécialisés dans la production d'emballages et de packaging. Nous envisageons de collaborer avec des producteurs d'emballages tels que le laboratoire « Prochima », qui sera en mesure de fournir des emballages adaptés à nos produits. Ce partenaire pourra également nous aider dans la caractérisation chimique des huiles essentielles et l'étiquetage approprié, garantissant ainsi la conformité réglementaire et la sécurité des produits.

Parmi nos partenaires clés dans notre future entreprise, nous prévoyons d'inclure un délégué commercial. Ce délégué commercial jouera un rôle essentiel dans le développement de nos relations commerciales, en établissant des liens solides avec nos clients et en promouvant nos produits. Son expertise et son engagement contribueront à assurer la croissance de notre entreprise et à atteindre nos objectifs de vente.

ANADE (Agence Nationale d'Appui et de Développement de l'Entreprise) est un partenaire clé pour notre projet en ce qui concerne les financements. Nous prévoyons de collaborer avec l'ANADE pour bénéficier de leur expertise en matière de soutien financier et de développement d'entreprise. Grâce à cette collaboration, nous pourrions explorer les différentes options de financement disponibles, obtenir des conseils sur la gestion financière de notre entreprise et accéder à des ressources supplémentaires pour soutenir notre croissance. La participation de l'ANADE renforcera notre capacité à mettre en œuvre notre projet avec succès.

6- Activités clés



Dans le schéma ci-dessous, vous trouverez une représentation du processus de production de notre entreprise, depuis la première étape de la récolte ou de l'achat de la matière première jusqu'à l'étape finale de la production de l'huile essentielle.

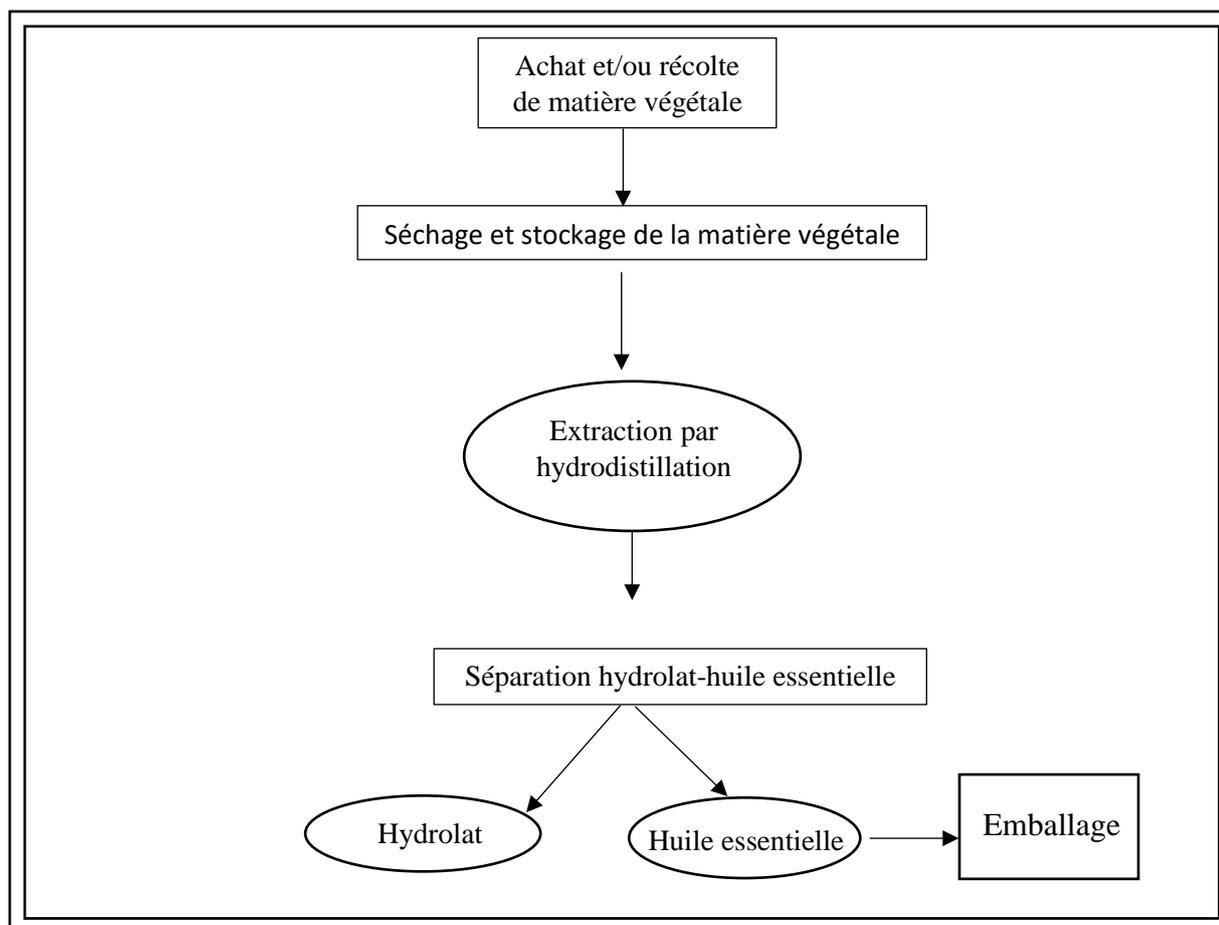


Figure 1 : Processus de production de l'entreprise.

La phase de récolte ou d'achat de la matière première est d'une importance capitale, car la qualité et la productivité de notre production en dépendent. En effet, pour obtenir un produit de qualité supérieure, il est essentiel d'utiliser dès le départ des plantes aromatiques de haute qualité. La sélection rigoureuse et l'approvisionnement en matières premières de qualité garantissent que notre huile essentielle sera également de la plus haute qualité. Nous accordons une attention particulière à cette étape afin de fournir des produits finaux qui répondent aux normes les plus élevées en termes de pureté, de composition et d'efficacité.

Le processus de séchage de la matière végétale est effectué dans un environnement approprié, à l'abri de la chaleur, dans un endroit sec et à l'abri de la lumière directe. Cette étape est essentielle pour préserver les propriétés et la qualité des plantes aromatiques. De même, le stockage des plantes séchées est réalisé dans des conditions optimales, en évitant l'exposition à la lumière, afin de maintenir leur intégrité et leur potentiel thérapeutique. Ces mesures de conservation garantissent que les plantes restent intactes et préservent leurs propriétés

bénéfiques jusqu'à leur utilisation ultérieure dans le processus de production d'huiles essentielles.

Après avoir préparé la matière végétale, nous procédons à l'extraction des huiles essentielles. Cette étape est réalisée par hydrodistillation, où la matière végétale est placée dans des alambics d'une capacité allant de 50 à 1500 litres.

Le "vase florentin" est le récipient utilisé pour recueillir les huiles essentielles lors de la distillation, permettant ainsi de séparer l'hydrolat de l'huile essentielle. Après cette étape, l'huile essentielle est transférée vers l'emballage approprié. Parallèlement, nous mettons en place des stratégies publicitaires pour accroître notre visibilité et promouvoir nos produits sur différents canaux. Enfin, nous procéderons à la vente de nos produits finis, en mettant l'accent sur la satisfaction de notre clientèle et en fournissant des solutions naturelles et de haute qualité pour répondre à leurs besoins.



7- Ressources clés

Dans le cadre du fonctionnement de l'entreprise, il est essentiel de distinguer trois types de ressources clés indispensables :

7.1 Ressources matériels

Pour assurer le bon fonctionnement de notre entreprise, nous devons disposer de divers moyens matériels indispensables :

Tout d'abord, le distillateur est un équipement essentiel pour réaliser le processus d'extraction des huiles essentielles. Il permet de produire des huiles de haute qualité à partir de la matière végétale.

Ensuite, nous avons besoin d'un grand local d'une superficie de 500 mètres carrés, qui sera aménagé en plusieurs espaces dédiés à différentes étapes de notre activité, tels que la production, le stockage, l'emballage, etc.

Un véhicule sera également nécessaire pour assurer le transport des matières premières, des produits finis et pour faciliter la logistique de l'entreprise.

Étant donné que l'eau joue un rôle crucial dans notre activité, nous aurons besoin de réservoirs d'eau pour stocker de grandes quantités d'eau. Cette ressource sera utilisée à plusieurs fins,

notamment pour la consommation de l'alambic, le refroidissement et le nettoyage du matériel et du local. Des pompes à eau seront nécessaires pour maintenir une pression adéquate dans les circuits de circulation.

Enfin, un équipement informatique comprenant des ordinateurs, des imprimantes et des bureaux sera essentiel pour gérer les opérations administratives, la gestion des stocks, la communication avec les clients, et toutes les tâches liées à la gestion de l'entreprise.

Ces moyens matériels constituent des éléments clés qui nous permettront de mener nos activités de manière efficace et de garantir la qualité de nos produits.

7.2 Ressources humaines

L'organisation de notre entreprise nécessitera la présence de différentes personnes clés pour assurer son bon fonctionnement :

Tout d'abord, en tant que gérant, j'aurai la responsabilité générale de superviser toutes les opérations de l'entreprise, de prendre des décisions stratégiques et de veiller à ce que les objectifs soient atteints.

Ensuite, nous aurons besoin d'un technicien qualifié qui sera chargé de la manipulation et du remplissage des alambics, ainsi que de la mise en marche des équipements nécessaires à la production des huiles essentielles.

Pour développer notre présence sur le marché et établir des relations commerciales solides, nous aurons également deux délégués commerciaux. Leur rôle consistera à prospecter de nouveaux clients, à entretenir des relations avec nos partenaires commerciaux et à promouvoir nos produits auprès des différents segments de clients.

De plus, nous aurons besoin de deux ouvriers responsables de l'emballage et du packaging des produits finis. Ils devront s'assurer que les huiles essentielles sont conditionnées de manière adéquate, étiquetées correctement et prêtes à être expédiées.

Enfin, un agent polyvalent sera chargé d'assister dans diverses tâches, telles que la gestion des stocks, l'entretien du local et du matériel, ainsi que le soutien administratif général de l'entreprise.

La collaboration de ces membres de l'équipe contribuera à la réussite de notre entreprise en assurant une gestion efficace des opérations, une production de haute qualité et une présence commerciale solide sur le marché.

7.3 Ressources financières

Les ressources financières jouent un rôle essentiel dans la rémunération du travail humain et dans la couverture des coûts liés aux ressources matérielles. Elles sont nécessaires pour assurer le bon fonctionnement de l'entreprise et garantir sa productivité. Les moyens de production sont d'une grande importance car ils permettent de mettre en œuvre notre projet de manière efficace. Ils englobent les équipements, les outils et les infrastructures nécessaires pour mener à bien nos activités et atteindre nos objectifs. Ainsi, ces ressources matérielles jouent un rôle clé dans la productivité et la réussite globale de notre entreprise.

8- Structure des coûts

La mise en place d'un projet de développement implique des investissements, et il est important de décrire la nature et les coûts de ces investissements. Dans le cadre de notre entreprise, plusieurs immobilisations seront nécessaires pour assurer son bon fonctionnement. Ces immobilisations comprennent :

- Location d'un local : Le loyer mensuel est estimé à 50 000 DA, soit un coût annuel de 600 000 DA.
- Distillateur avec chaudière : Le coût estimé pour l'acquisition de cet équipement est de 2 500 000 DA.
- Véhicule : Nous estimons le coût d'achat d'un véhicule à 3 000 000 DA.
- Matériels informatiques : Le coût estimé pour l'acquisition d'un micro-ordinateur et d'une imprimante est de 55 000 DA.
- Bureau : Le coût estimé pour l'ameublement d'un bureau est de 10 000 DA.
- Réservoirs d'eau : Trois réservoirs d'une capacité de 2000 litres sont estimés à 32 000 DA, soit un total de 96 000 DA pour les trois.
- Pompes à eau : Deux pompes à eau sont estimées à 30 000 DA, soit un total de 60 000 DA pour les deux.
- Plomberie : Les travaux d'installation d'eau pour les réservoirs et l'extracteur sont estimés à 100 000 DA.
- Autres aménagements : Le coût estimé pour les différents autres aménagements (Tables, chaises, support...etc) est de 200 000 DA

Annexe

Il est important de noter que ces estimations sont fournies à titre indicatif et peuvent varier en fonction des fournisseurs, des négociations et des spécificités du marché local. Une analyse plus approfondie des coûts devra être réalisée pour obtenir des chiffres précis et actualisés.

En ce qui concerne les frais mensuels, voici une estimation des différents coûts :

Location du local : Le coût mensuel est de 50 000 DA, soit 600 000 DA par an.

Salaires des employés :

Un chimiste est estimé à 30 000 DA par mois.

Deux délégués commerciaux sont estimés à 40 000 DA chacun par mois.

Deux ouvriers responsables de l'emballage sont estimés à 28 000 DA chacun par mois.

Un agent polyvalent est estimé à 28 000 DA par mois.

Frais d'eau, d'électricité et de gaz : Estimés à 10 000 DA par mois.

Coûts d'emballage : Les flacons de 10 mL sont estimés à 60 DA chacun, tandis que les flacons de 100 mL sont estimés à 100 DA chacun.

Veillez noter que ces estimations sont fournies à titre indicatif et peuvent varier en fonction des accords de salaire, des fluctuations des prix des matières premières et des coûts énergétiques. Une analyse plus détaillée des coûts spécifiques de l'entreprise devra être effectuée pour obtenir des chiffres précis et actualisés

Annexe

Tableau 1 : Récapitulation des immobilisations.

Equipements	Montant (DA)
Distillateur	2 500 000
Véhicule	3 000 000
Local	600 000/an
Matériels informatique : - Ordinateur	
-Imprimante	65 000
- Bureau	
Trois réservoirs d'eau	96 000
Deux pompes à eau	60 000
Installation et plomberie	100 000
Autres aménagements	200 000
Total	6 621 000

D'après les estimations, il faudra disposer d'un budget total de 6 621 000 DA pour mettre en place les moyens matériels nécessaires à la production et à la vente des huiles essentielles

9- Revenus

En ce qui concerne la capacité de production de l'entreprise, voici les informations disponibles :

Annexe

Tableau 2 : Estimation de nombre et nature des clients avec les quantités prises par semaine et par mois.

Nombre et nature des clients	Quantité (mL /semaine)	Quantité (mL/mois)
3 établissement de santé privé	300	1200
10 Cabinets médicaux	100	400
5 laboratoires d'analyses médicales	100	400
5 hôtels ou auberges	100	400
Industrie cosmétique	200	800
Individus	200	800
Total	1000	4000

Annexe

Tableau 3 : Prix et rendement en huile essentielle de chaque matière végétale.

Quantité de MV	Prix de MV (DA)	Rendement en HE (mL)	Prix unitaire (DA/1mL)	Prix de (DA/10mL)
1 Kg clou de girofle	4000	40	100	1000
1 Kg origan	700	20	35	350
1Kg lavande	1100	30	36.6	366

Tableau 4 : Coûts, prix de vente et marge pour chaque produit.

Le prix et les frais/ 10mL	HE de clou de girofle (DA)	HE de lavande (DA)	HE de l'origan (DA)
Prix de vente concurrent	1 800	1 300	1 500
Prix de vente estimé par notre entreprise	1 780	1 280	1 480
Cout HE net	1000	366	350
Frais des salaires	385	385	385
Frais de loyer	125	125	125
Frais Eau/électricité/gaz	25	25	25
Frais d'emballage	60	60	60
Prix de revient des HEs	1595	961	945
La marge	185	319	535

Business Model Canevas

<p>Partenaires clés</p>  <ul style="list-style-type: none"> -Agriculteur. -Parc National. -Délégué commercial. -Producteur d'emballage (labo PROCHIMA) -Fournisseur de Diffuseur des HE. -L'ANADE. 	<p>Activités</p>  <ul style="list-style-type: none"> -Récolte et/ou achat de matière végétale. -Production de l'HE. -Emballage et stockage. -Publicité et Vente du produit. 	<p>Propositions de valeur</p>  <ul style="list-style-type: none"> -Production des huiles essentielles qui remplacent des produits désinfectant chimiques dans les établissements de santé (blocs opératoires, chambres de malade et salles d'attentes) -Diminuer l'importation des produits chimiques. -Utilisation des HE dans l'industrie cosmétique et pharmaceutique. -Utilisation des HE dans le service de psychiatrie. -Diminuer le taux des infections nosocomiales 	<p>Relation</p>  <ul style="list-style-type: none"> -Réduction de prix pour les entreprises (longue durée) -Des pack d'HE. 	<p>Clients</p>  <ul style="list-style-type: none"> -Etablissements de santé privé de la région de Tlemcen. -Cabinets Médicaux, laboratoires d'analyse médicale, pharmacies. -Industrie cosmétique (Venus, Abusaad..) -Hôtels et auberges. -Clients Individus. 					
<p>Ressources clés</p>  <ul style="list-style-type: none"> -Matière végétale. -Extracteur. -Local, réservoirs d'eau, pompes à eau, matériel informatique. -Véhicule. -Personnel (6 personnes) 		<p>Canaux</p> <ul style="list-style-type: none"> -Délégué commercial. -Relation publique. -Réseaux sociaux. -Site Web. -Influenceur. 							
<p>Coûts</p>  <p style="font-weight: bold; font-size: 1.2em;">6 621 000 DA devisé en :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Extracteur : 2 500 000DA -Véhicule : 3 000 000DA -Loyer du local 600 000DA/an -Matériels informatique : 65 000DA -trois réservoirs d'eau 2000L: 32 000DA Soit 96 000DA pour les trois. -Deux pompes à eau estimé à 30 000DA. Soit 60 000DA pour les deux. -La plomberie (installation d'eau pour les réservoirs et l'extracteur) estimé à 100 000 DA. -Autres aménagements : 200 000 DA 					<p>Revenus</p>  <ul style="list-style-type: none"> Flacons 10mL HE de clou de girofle -prix de vente 1 780DA. -Cout complet du flacon avec HE 1 595DA. -Marge: 185DA. Flacons de 100mL de HE de clou de girofle -Prix de vente 17 800DA -Marge : 1 780DA Flacons 10ml HE de lavande: -prix de vente 1 280DA. -cout complet du flacon avec HE 961DA -Marge: 319DA Flacons 100ml HE de lavande -Prix de vent 12 800DA - Marge :3 190DA Flacons 10mL HE d'origan -prix de vente 1 480 DA - cout complet du flacon avec HE 945DA -Marge : 535DA Flacons 100MI HE d'origan -prix de vente 14 800DA - Marge: 5 350 DA <p style="font-weight: bold; font-size: 1.2em;">Chiffre d'affaires : 138 497DA/mois →1661 964 DA/ an</p>				

