

ÉTUDE COMPARATIVE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES HUILES ESSENTIELLES DE OCIMUM AMERICANUM VAR. AMERICANUM ET DE OCIMUM BASILICUM L. EN VUE DE LEUR UTILISATION COMME CONSERVATEUR ALIMENTAIRE

Issa COULIBALY¹, Sékou BOUARE¹, Amadou H. DICKO², Jean Noël KEITA³, Drissa SAMAKE⁴

1. Laboratoire de Chimie Organique et de Substances Naturelles – Département de Chimie Organique – Université des Sciences Techniques et de Technologie de Bamako, Mali
2. Laboratoire de Microbiologie – Département de Production et Santé Animale – Faculté d'Agronomie et de Médecine Animale – Université de Ségou, Mali
3. Centre d'Expertise et de Recherche Appliquée pour le Développement– Université de Ségou, Mali
4. Centre National de Recherche Scientifique et Technologiques du Mali

Résumé

De la famille des *Lamiaceae*, le genre *Ocimum* est rencontré partout dans le monde. Il s'agit d'un genre aromatique, alimentaire et endémique du Mali à travers deux espèces à savoir *Ocimum americanum* et *Ocimum basilicum*. Notre travail consiste donc à évaluer les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles de ces deux plantes. Les huiles essentielles ont été extraites par entraînement à la vapeur d'eau à partir des organes aériens séchés de ces plantes. L'activité antimicrobienne a été étudiée sur une bactérie Gram(-) (*Escherichia coli*), une bactérie Gram(+) (*Staphylococcus aureus*) et un champignon (*Aspergillus flavus*). L'aromatogramme a permis d'évaluer la sensibilité de ces souches microbiennes et les concentrations minimales inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) et fongicide (CMF) ont été déterminées. Les rendements d'extraction sont de 0,88% pour *Ocimum americanum* et de 0,86% pour *Ocimum basilicum*. Au test de sensibilité, l'huile essentielle de *Ocimum americanum* a provoqué un diamètre d'inhibition moyen de 6,33 mm contre *A. flavus*, de 17,83 mm contre *S. aureus* et 6 mm contre *E. coli*. Tandis que celle de *Ocimum basilicum* a provoqué un diamètre d'inhibition moyen de 45 mm contre *A. flavus*, de 20,50 mm contre *S. aureus* et 13,83 mm contre *E. coli*. Les effets antimicrobiens de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* ne sont pas persistants dans le milieu d'après les CMI et CMB obtenues, tandis que celle de *Ocimum basilicum* présente des effets bactériostatiques et fongistatiques contre les germes étudiés. Au regard des résultats obtenus, nous pouvons conclure que *Ocimum*

basilicum est efficace dans la conservation alimentaire et constitue donc une alternative efficace aux antimicrobiens chimiques nuisibles à la santé humaine.

Mots clés : *Ocimum americanum* ; *Ocimum basilicum* ; Huile essentielle ; activité antimicrobienne.

Abstract

From the *Lamiaceae* family, the genus *Ocimum* is found all over the world. It is an aromatic, food and endemic genus of Mali through two species namely *Ocimum americanum* and *Ocimum basilicum*. Our work therefore consists in evaluating the antimicrobial properties of the essential oils of these two plants. The essential oils were extracted by steam distillation from the dried aerial organs of these plants. The antimicrobial activity was studied on a Gram (-) bacterium (*Escherichia coli*), a Gram (+) bacterium (*Staphylococcus aureus*) and a fungus (*Aspergillus flavus*). The aromatogram was used to assess the sensitivity of these microbial strains and the minimum inhibitory (MIC), bactericidal (MBC) and fungicidal (MFC) concentrations were determined. The extraction yields are 0.88% for *Ocimum americanum* and 0.86% for *Ocimum basilicum*. In the sensitivity test, the essential oil of *Ocimum americanum* caused an average inhibition diameter of 6.33 mm against *A. flavus*, 17.83 mm against *S. aureus* and 6 mm against *E. coli*. While that of *Ocimum basilicum* caused an average inhibition diameter of 45 mm against *A. flavus*, 20.50 mm against *S. aureus* and 13.83 mm against *E. coli*. The antimicrobial effects of the essential oil of *Ocimum americanum* are not persistent in the medium according to the MIC and MBC obtained, while that of *Ocimum basilicum* presents bacteriostatic and fungistatic effects against the germs studied. In view of the results obtained, we can conclude that *Ocimum basilicum* is effective in food preservation and therefore constitutes an effective alternative to chemical antimicrobials harmful to human health.

Keywords: *Ocimum americanum*; *Ocimum basilicum*; Essential oil; antimicrobial activity.

Introduction

Rencontré partout dans le monde, le genre *Ocimum* représente un groupe important de plantes aromatiques de la famille des *Lamiaceae* (Başer & Gerhard, 2010 et Bhattachariya et al., 2012). Selon Crovic-Stanko et al., (2016) et Ryan & Wyk, (2021), le genre est caractérisé par un haut degré de polymorphisme, ce qui explique, d'une part, l'existence d'une multitude d'espèces et de variétés et, d'autre part, la confusion rencontrée dans la littérature concernant la taxonomie des espèces du genre *Ocimum*. Regroupant au moins 60 espèces et plusieurs variétés à travers le monde (Mondello et al., 2002 ; Dossoukpevi et al., 2016 ; Tangpao et al., 2018 et Ryan & Wyk, 2021), le genre *Ocimum* représente une importante source d'huile essentielle utilisée aussi bien dans la médecine traditionnelle qu'en industries : alimentaire, parfumerie, cosmétique et pesticide (Koba, Poutouli, et al., 2009 ; et Tangpao et al., 2022). Des *Ocimum sp.* sont également utilisés en médecine traditionnelle pour différentes applications dans beaucoup de pays africains et asiatiques (Dabire et al., 2011). Ils sont aussi utilisés, d'après Trongtokit et al., (2005) ; Kang et al., (2009) et Kacaniova et al., (2022)

comme répulsif contre les moustiques *Aedes* et *Culex*. Les deux (2) espèces rencontrées au Mali sont *Ocimum americanum* et *Ocimum basilicum*.

Ocimum americanum est une plante suffrutescente, presque glabre, de 30 à 40 cm de haut, mais pouvant atteindre 50 cm en culture. Les tiges quadrangulaires, sont ramifiées et forment des boules compactes en teinte vert-clair. Les feuilles denticulées, minces ovales, cunées à la base acuminées au sommet (Izabela et al., 2021). Elle est très connue de plusieurs ethnies puisqu'elle pousse de façon spontanée derrière les habitations. En effet, elle possède plusieurs appellations à travers le pays à savoir « Sou colan » en **Bamanankan**, « Goungoumè » en **Sarakolé**, « Kodjini » en **Sénoufo**, « Kôdji » en **Minianka**, « Sasafe » en **Tamasheq**, « Funfoi anor » en **Samôgô**, « Goungouméyé » en **Poulare**, « Lakaka » en **Sonrhäi** et « Koïra gabou » en **Songhoïe**. La figure 15 représente la photographie d'une plante de *O. americanum* dans la ville de Bamako. Plante herbacée également et pouvant atteindre 40 à 60 cm de hauteur, *Ocimum basilicum* est originaire d'Asie méridionale, d'Iran et du Moyen-Orient. Connue dans toutes les régions du Mali, cette plante possède par contre une seule appellation qui est « sou colan » puisqu'il s'agit d'une plante cultivée dans des jardins et commercialisées sur les marchés locaux.

L'huile essentielle du genre *Ocimum* a été très étudiée à travers le monde. En effet, en étudiant la composition chimique de l'huile essentielle de *O. americanum*, Shadia & Omer, (2007) ont trouvé que celle-ci ayant un rendement compris entre 0,175% et 0,253% était composé majoritairement de eugénol (28,46%), suivi de méthyl chavicol (17,34%), et de terpénool (15%). Au Burkina Faso, Djibo et al., (2004) a obtenu un rendement moyen de 1,46% en huile essentielle de *Ocimum americanum* dont la composition était dominée par 1,8-cinéole.

Quant aux études sur la composition de l'huile essentielle de *Ocimum basilicum*, les résultats rapportés montrent l'existence de plusieurs chemotypes de *Ocimum basilicum*. En Afrique de l'ouest, on peut citer les chemotypes à linalol et à estragole au Bénin (Kpodekon et al., 2013 et Dossoukpevi et al., 2016), au Mali (Henri et al., 2010) et en Côte d'Ivoire Tonzibo et al. (2000) cité par Ngom et al. (2012), les chemotypes à linalol/eugénol, à estragole et à α -terpinéol au Burkina Faso (Abdoul Dorosso Samaté, 2002 et Nébié et al., 2010), les chemotypes à estragole, à linalol/t-anéthole, à t-anéthole mis en évidence au Togo (Koba et al., 2009). Les Figure 1 et Figure 2 représentent des photographies de ces plantes prises dans des jardins et aux alentours des habitations à Bamako.

Ce travail consiste donc à étudier les propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des parties aériennes de deux (2) espèces de *Ocimum* à savoir *Ocimum americanum* et *Ocimum basilicum* récoltées à Bamako au Mali contre des microorganismes incriminés dans la contamination des aliments en vue de leur utilisation comme conservateur alimentaire.



Figure 1 : Plante de *Ocimum americanum* L. à Bamako



Figure 2 : Plante de *Ocimum basilicum* à Bamako

1. Matériel et Méthodes

1.1. Extraction de l'huile essentielle des parties aériennes de *Ocimum americanum* et de *Ocimum basilicum*

1.1.1. Matériel végétal

Nos travaux ont porté sur les organes aériens de *O. americanum* et *O. basilicum* récoltés dans la ville de Bamako.

1.1.2. Matériel et méthodes d'extraction

L'extraction des huiles essentielles des organes aériens de *Ocimum americanum* et de *Ocimum basilicum* a été réalisée par entraînement à la vapeur d'eau au laboratoire au Laboratoire de Chimie Organique et Substances Naturelles de la Faculté des Sciences et Techniques (FST) de Bamako. Elle a été réalisée à partir des échantillons de 200g des parties aériennes séchées à l'abri du soleil au laboratoire et a duré 4 heures. Le rendement a été obtenu selon la formule suivante.

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Poids (g) de l'huile essentielle}}{\text{Poids du matériel végétal sec}}$$

1.2. L'étude de l'activité microbienne

1.2.1. Les souches microbiennes

L'étude a concerné parmi les pathogènes fréquemment impliqués dans la contamination, l'altération et la fermentation des denrées alimentaires, une souche de bactéries à Gram positif *Staphylococcus aureus* et une souche de bactéries à Gram négatif *Escherichia coli* et une souche fongique *Aspergillus flavus*. Ces souches nous ont été fournies par le Laboratoire de

Recherche en Microbiologie et Biotechnologie Microbienne (LaboREM-Biotech) de la FST de Bamako.

Avant leur utilisation, les bactéries sont activées dans un bouillon nutritif, la gélose Nutrient Agar et incubées pendant 48 heures à 37 °C. Afin d'obtenir un nombre initial de cellules d'environ 10⁶ UFC/mL, la suspension bactérienne est diluée dans l'eau physiologique. Quant à la souche fongique, elle a été activée sur le milieu SABOURAUD à 37 °C pendant 5 jours, temps nécessaire pour obtenir une quantité importante de colonies chez les champignons.

1.2.2. Choix des milieux de culture

Pour étudier les activités antibactériennes des huiles essentielles des plantes étudiées, nous avons utilisé comme milieu de culture Muller Hinton Agar (MHA).

En ce qui concerne le test d'activité antifongique, le milieu utilisé reste le SABOURAUD.

1.2.3. Étude de la sensibilité microbienne aux huiles essentielles extraites des parties aériennes de *Ocimum americanum* et de *Ocimum basilicum*

Dans cette étude, nous avons utilisé la méthode sur disques pour déterminer le pouvoir antimicrobien de notre huile essentielle. Pour ce faire, un (1) mL de la suspension microbienne représentant 10⁶ UFC/mL a été ensemencé en profondeur dans les boîtes de Pétri. Vingt (20) mL de gélose Muller Hinton Agar pour les bactéries et de SABOURAUD pour *Aspergillus flavus* ont été ajoutés et l'ensemble remué afin d'obtenir un mélange homogène dans la boîte de Pétri. Après solidification, des disques de papier filtre (Wattman n°40) de 6 mm de diamètre ont été imprégnés individuellement dans 15 µL d'huile essentielle, puis posés (en raison de 3 disques par boîte) sur la gélose. Les boîtes de Pétri sont déposées à 37 °C pendant 48 heures pour incubation à la fin de laquelle nous avons mesuré le diamètre de halo clair (constituant la zone d'inhibition) obtenu autour des disques. Ce diamètre incluant celui de disque est mesuré en mm. Selon Ponce et al. (2003), cette sensibilité est classée par le diamètre des halos d'inhibition : non sensible (-) pour les diamètres inférieurs à 8 mm ; sensible (+) pour les diamètres compris entre 8 et 14 mm ; très sensible (++) pour les diamètres compris entre 15 et 19 mm et extrêmement sensible (+++) pour les diamètres supérieurs à 20 mm.

Le test a été effectué trois fois pour chaque souche microbienne.

1.2.4. Recherche de la concentration minimale ayant un effet sur les souches microbiennes étudiées

Cette méthode permet de savoir la nature de l'activité antibactérienne (bactériostatique, bactéricide fongistatique ou fongicide) de l'huile essentielle, par estimation des Concentrations Minimales Inhibitrices, Bactéricides et fongicides. Il s'agit d'une méthode de dilution d'agar rapportée par Mayachiew & Devahastin (2008). Nous avons utilisé les mêmes milieux de culture qu'au test de sensibilité. La technique d'ensemencement utilisée consiste à couler les suspensions microbiennes en profondeur. Ainsi une série de tubes à essai ont été répartie à partir desquels un (1) mL de l'*inoculum* microbien de chaque isolat a été versé en profondeur dans les boîtes de Pétri sur lequel nous avons coulé vingt (20) mL de milieu de culture et remué afin d'obtenir un mélange homogène.

Ensuite, une dilution en cascade de l'huile essentielle est effectuée aux rapports de 1/1, 1/5, 1/10, 1/20 et 1/30 avec du diméthylsulfoxyde (DMSO). Le choix sur ce réactif est basé sur le fait que le témoin de DMSO testé n'a exercé aucun pouvoir antimicrobien. Après solidification de la gélose, des disques (2 disques par boîte) de 6 mm imprégnés de 15 µL prélevés de chaque concentration ont été déposés sur la surface de la gélose et les boîtes de Pétri ont été placées à l'étuve à 37 °C pendant 48 heures pour incubation. Les traitements ont été répétés 3 fois. Les diamètres d'inhibition ont été mesurés selon la méthode décrite par Ponce *et al.* (2003).

1.2.5. Expressions des résultats

Comme au test de la sensibilité microbienne, un halo translucide autour du disque traduit l'absence de la croissance microbienne. Ce diamètre (exprimé en mm) est mesuré à l'aide d'une règle (y compris le diamètre de disque de 6 mm) selon la méthode décrite par Rasooli *et al.*, (2008).

Les microbes montrant une sensibilité à l'huile essentielle de l'étude sont sélectionnés pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI), bactéricides (CMB) et fongicides (CMF).

Ainsi les boîtes de Pétri dont les concentrations ayant montré une absence totale de la croissance bactérienne ont été sélectionnées pour déterminer les concentrations minimales inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB).

Le rapport CMB/CMI nous a permis de déterminer les pouvoirs bactéricide et bactériostatique des huiles essentielles étudiées. Lorsque ce rapport est supérieur à 4, l'huile essentielle possède un pouvoir bactériostatique, et bactéricide quand il est inférieur ou égal à 4.

En ce qui concerne *Aspergillus flavus*, après 2 à 5 jours d'incubation, les premiers tubes dont l'inhibition est totale (en les comparant aux témoins) sont réensemencés dans des boîtes de Pétri. Le suivi de la croissance est effectué pendant 1 à 4 jours à une température de 30 °C. Lorsqu'il y a une reprise de la croissance mycélienne, la concentration est dite fongistatique (CMFs), en revanche, s'il n'y en a plus, elle est appelée fongicide (CMFc). Les CMFs et CMCf ont été exprimées en µg/mL.

L'huile essentielle est dite fongicide lorsque le rapport CMCf/CMFs est inférieur à 4, par contre, lorsque ce rapport est supérieur ou égal à 4, elle est dite fongistatique.

1.2.6. Traitements statistiques

Les données obtenues ont été saisies sous le tableur Excel 2017 et analysées ensuite par le logiciel SPS. En effet, les moyennes et écarts-types des tests sont calculés à travers les méthodes statistiques classiques (statistiques descriptives, analyses de variance).

2. Résultats

2.1. Rendement en huile essentielle des plantes étudiées.

Nous rappelons que les huiles essentielles ont été extraites des organes aériens de *Ocimum americanum L. var amercicanum* avec un rendement de 0,88% et celles de *Ocimum basilicum L.* avec un rendement de 0,86%.

2.2. Tests de l'activité antimicrobienne

2.2.1. Étude de la sensibilité microbienne aux huiles essentielles de *Ocimum americanum* et de *Ocimum basilicum* par la méthode de disques

La sensibilité de trois germes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus flavus*) vis-à-vis des huiles essentielles des plantes étudiées a été mise en évidence grâce à la technique de diffusion sur disques. Sur les Figure 3 et Figure 4, nous pouvons observer les images d'illustration indiquant des halos d'inhibition des microbes testés par les huiles essentielles étudiées.

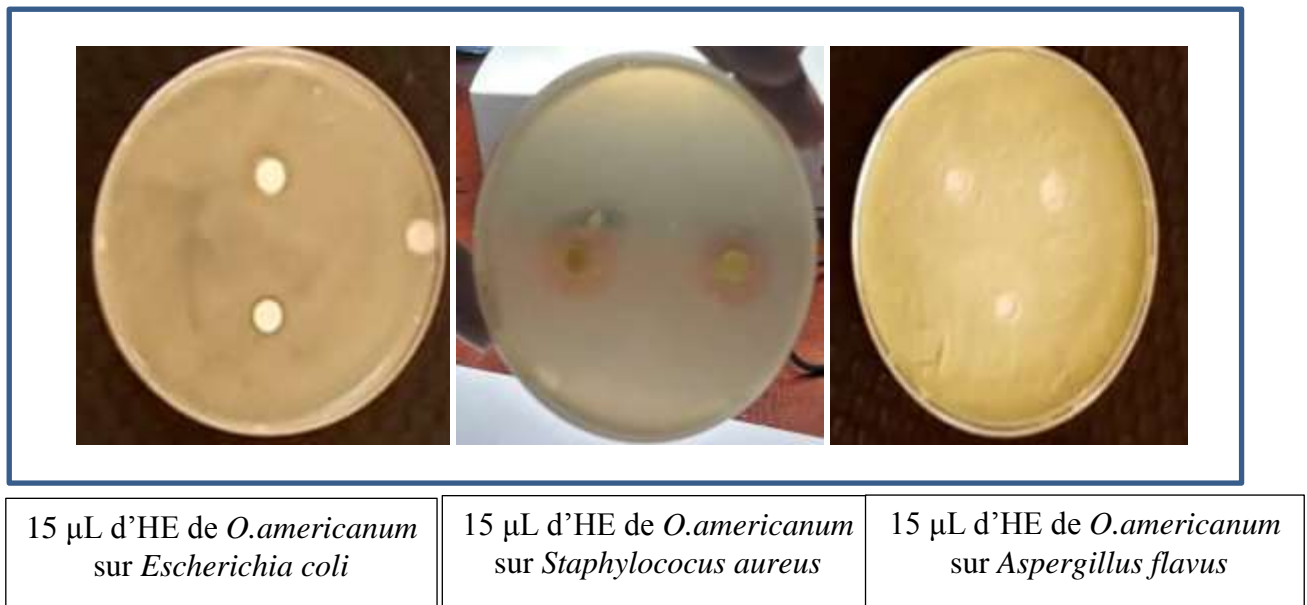


Figure 3 : Inhibition des souches microbiennes par l'huile essentielle de *Ocimum americanum*.

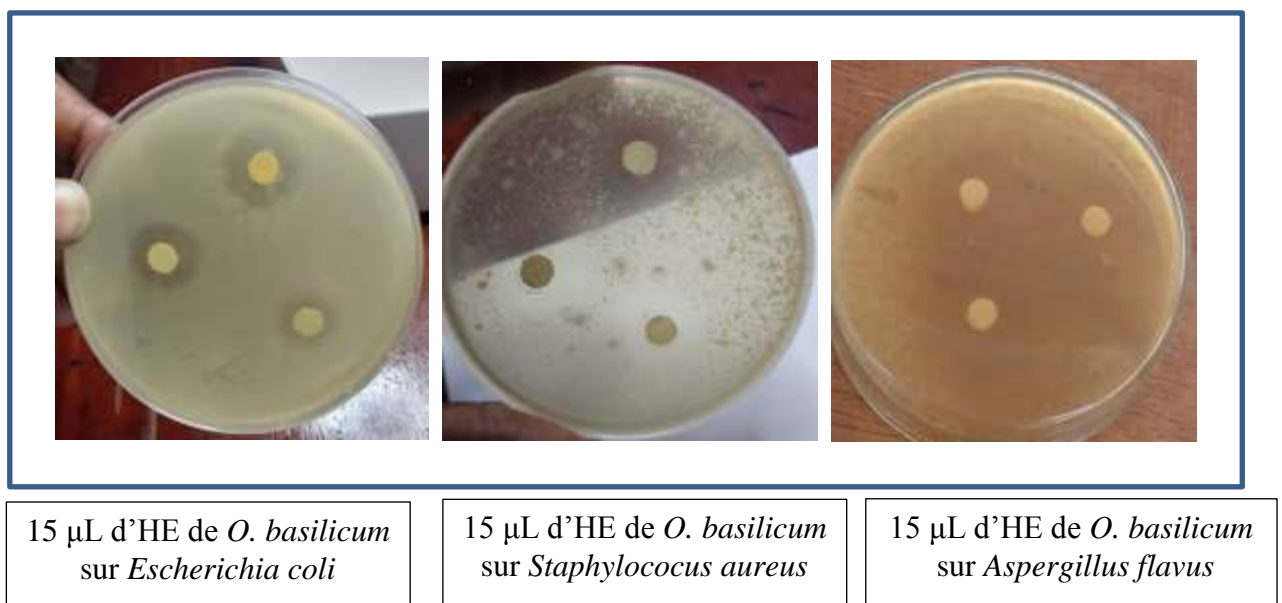


Figure 4 : Inhibition des souches microbiennes par l'huile essentielle de *Ocimum basilicum*.

Les résultats des inhibitions des microbes par les huiles essentielles de l'étude sont mentionnés dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Diamètres moyens d'inhibition (en mm, incluant le diamètre du disque (6 mm)) des germes obtenus par les huiles essentielles étudiées.

Huiles essentielles	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>Ocimum americanum</i>	6	17,83	6,33
<i>Ocimum basilicum</i>	13,83	20,50	45,00

Nous constatons dans le Tableau 1 que l'huile essentielle de *Ocimum americanum* présente une action inhibitrice limitée vis-à-vis des germes testés. Par contre celle de *Ocimum basilicum* présente une action inhibitrice efficace contre tous les germes testés. En effet, *Escherichia coli* a développé une très grande résistance face aux actions antimicrobiennes de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* car la valeur de diamètre d'inhibition obtenue est nulle. Ce qui signifie que ce germe est insensible aux actions antimicrobiennes de l'huile essentielle de cette plante. Cette huile essentielle a par contre provoqué une zone d'inhibition de plus de 17 mm face à *Staphylococcus aureus*. Ce résultat signifie que ce germe est très sensible aux actions antibactériennes de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* testée. Avec 6,33 mm de diamètres d'inhibition de *Aspergillus flavus*, l'huile essentielle de *Ocimum americanum* s'est montrée moins efficace face à cette levure. Cependant *Escherichia coli* est moins sensible aux actions antibactériennes de l'huile essentielle de *Ocimum basilicum*, alors que *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus flavus* sont extrêmement sensibles aux actions antimicrobiennes de cette huile essentielle.

2.2.2. Détermination des Concentrations minimales Inhibitrices (CMI), Bactéricides (CMB) et Fongicides (CMFc)

Les diamètres des zones d'inhibition des microorganismes étudiés sous l'effet de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* sont représentés sur la Figure 5. Après 24 heures d'incubation nous avons observé que l'huile essentielle de *Ocimum americanum* a provoqué des zones d'inhibition de la croissance des bactéries testées à toutes les concentrations. On note aussi qu'aucune concentration de cette huile essentielle n'a inhibé le champignon étudié. En effet, lorsque cette huile essentielle est utilisée à 100% contre *Escherichia coli* on note un diamètre inférieur à 6 mm, alors qu'aux proportions inférieures de cette même huile essentielle on note des diamètres d'inhibition compris entre 8 mm et 10 mm. Ce résultat montre que l'huile essentielle de *Ocimum americanum*, à forte dose, n'a pas d'effet sur la croissance de *Escherichia coli*. L'huile essentielle de *Ocimum americanum* utilisée à 10% contre *Staphylococcus aureus* a provoqué une zone d'inhibition de 6 mm de diamètre. Alors que cette huile essentielle a provoqué des diamètres d'inhibition compris entre 8 mm et 10 mm aux doses de 100%, 20% et 5%. Par contre lorsque cette huile essentielle est utilisée à 3,34%, elle a provoqué une zone d'inhibition de 14 mm. Nous avons cependant noté une absence totale d'inhibition de *Aspergillus flavus* testé dans cette étude par l'huile essentielle de *Ocimum americanum* à toutes les doses testées. Ce résultat montre que dans cette étude

l'huile essentielle extraite des organes aériens de *Ocimum americanum* récoltés à Bamako possède des actions antibactériennes mais elle est non efficace contre les champignons.

Sur la Figure 6 on note les diamètres des halos d'inhibition des microbes testés par l'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *Ocimum basilicum* après 24 heures d'incubation. En effet, *E. coli* de l'étude est sensible aux effets antibactériens de l'huile essentielle de *O. basilicum* récolté à Bamako à toutes les doses car les diamètres d'inhibition obtenus sont tous supérieurs à 8 mm. On note que lorsque cette huile essentielle est utilisée à 100%, on obtient un diamètre d'inhibition supérieur à 15 mm expliquant la grande sensibilité de ce germe aux actions antibactériennes de cette huile essentielle. Ce résultat montre que *Escherichia coli* est sensible voire très sensible aux actions antibactériennes de l'huile essentielle de *Ocimum basilicum* de Bamako aux concentrations testées. En ce qui concerne *Staphylococcus aureus*, on note également des diamètres d'inhibition, compris entre 8 mm et 12 mm, de cette bactérie sous l'effet de cette même huile essentielle aux doses testées. Le plus grand diamètre est enregistré lorsque l'huile essentielle est utilisée à 100% contre la bactérie. Ce résultat montre que plus la concentration de l'huile essentielle est élevée, plus elle est active contre *S. aureus*. Quant à la souche de *A. flavus*, on note des zones d'inhibition inférieures à 5 mm de diamètre aux proportions de 3,34% et de 5% de l'huile essentielle étudiée. Par contre des zones d'inhibition de 14 mm à la proportion de 10%, de 18 mm à la proportion 20% et de 40 mm à la proportion de 100% de l'huile essentielle sont observées face à *Aspergillus flavus* testé dans cette étude. Ce résultat montre également que plus la dose de l'huile essentielle des organes aériens de *Ocimum basilicum* récoltés à Bamako est élevée, plus elle inhibe la croissance de *A. flavus*.

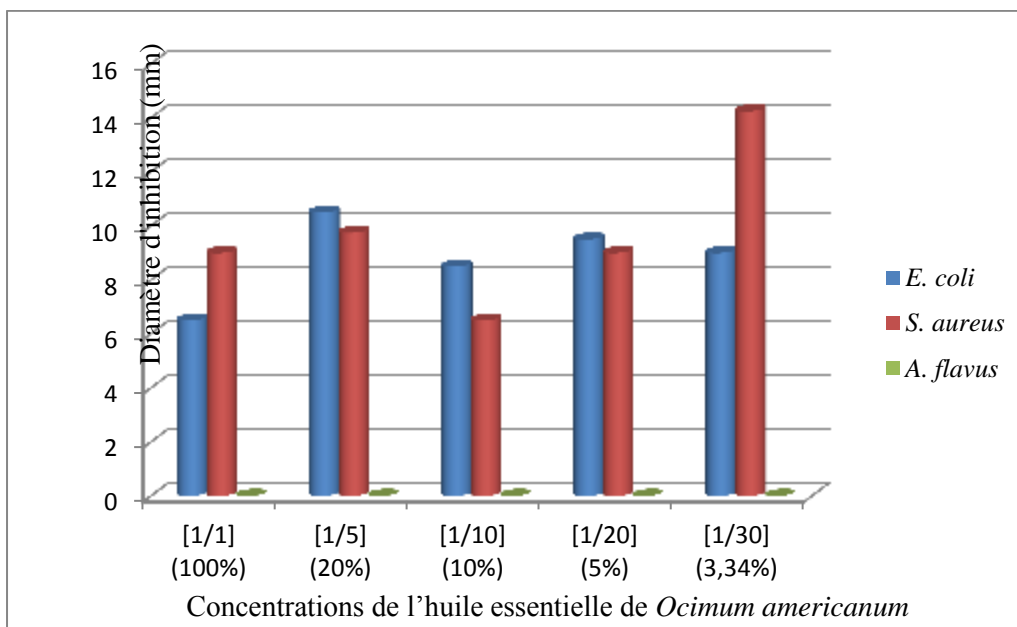


Figure 5 : Diamètre d'inhibition (en mm) des microorganismes testés par différentes concentrations de l'huile essentielle de *Ocimum americanum*.

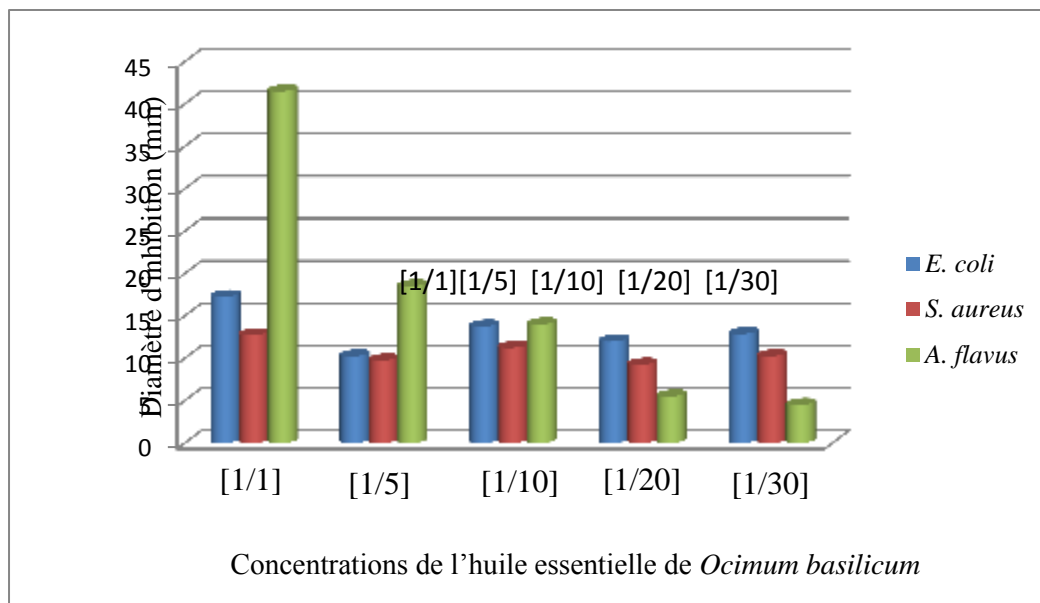


Figure 6 : Diamètre d'inhibition (en mm) des microorganismes testés par différentes concentrations de l'huile essentielle de *Ocimum basilicum*.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI), bactéricides (CMB) et fongicides (CMF) obtenues suite à ces dilutions sont présentées dans le Tableau 2.

Tableau 2: Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI), Bactéricides (CMB) et Fongicides (CMF) des huiles essentielles de *Ocimum americanum* et de *Ocimum basilicum* vis-à-vis des microbes testés.

Concentrations (V_{DMSO}/V_{HE})	Souches microbiennes								
	<i>E. coli</i>			<i>S. aureus</i>			<i>A. flavus</i>		
Huile essentielle	CMI ($\mu\text{L}/\mu\text{L}$)	CMB ($\mu\text{L}/\mu\text{L}$)	CMB/ CMI	CMI ($\mu\text{L}/\mu\text{L}$)	CMB ($\mu\text{L}/\mu\text{L}$)	CMB/ CMI	CMI ($\mu\text{L}/\mu\text{L}$)	CMF ($\mu\text{L}/\mu\text{L}$)	CMFc/ CMFs
<i>O. americanum</i>	1/10	-	-	1/20	-	-	-	-	-
<i>O. basilicum</i>	1/5	1/1	5	-	-	-	1/10	1/1	10

Dans le Tableau 2 on note des CMI uniquement au niveau des bactéries avec l'huile essentielle de *Ocimum americanum* alors qu'on note des CMI et CMB au niveau de *E. coli* et des CMFs et CMFc au niveau de *A. flavus* avec celle de *Ocimum basilicum*.

En effet, avec les bactéries testées, nous enregistrons des CMI avec l'huile essentielle de *O. americanum* à 10% sur *Escherichia coli* et à 5% sur *Staphylococcus aureus*, tandis qu'on note une absence totale de CMB au niveau de ces bactéries et une absence de CMFs et CMFc au niveau de la levure testée. Par contre avec l'huile essentielle de *Ocimum basilicum*, on note une CMI à 20% et une CMB à 100% dont le rapport CMB/CMI donne 5. Ce résultat montre que cette huile essentielle est bactériostatique contre *Escherichia coli*. Cependant aucune CMI ou CMB de cette huile essentielle n'est enregistrée contre *Staphylococcus aureus*. En ce qui

concerne la levure étudiée, aucune CMFs ou CMFc n'est enregistrée avec l'huile essentielle de *Ocimum americanum*, par contre on note une CMFs à 10% et une CMFc à 100% dont le rapport CMFc/CMFs donne 10. Ce résultat montre que l'huile essentielle de *Ocimum basilicum* est fongistatique contre *Aspergillus flavus*.

3. Discussion

3.1. Rendements des huiles essentielles des plantes étudiées

Les rendements obtenus suite à l'extraction des huiles essentielles des plantes investiguées ont montré des différences par rapport à la bibliographie. En effet, le rendement d'extraction de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* est inférieur aux rendements trouvés par Djibo et al., (2004) au Burkina Faso et Mondello et al., (2002) en Italie. Celui de l'huile essentielle des parties aériennes de *Ocimum basilicum* est inférieur aux rendements trouvés par Ngom et al., (2014) au Sénégal et Dabire et al., (2011) au Burkina Faso et supérieur au résultat des travaux de Ntonga et al., (2012) au Cameroun.

Ces écarts sont cependant attribués à plusieurs facteurs dont entre autres la période de récolte, le stade de développement de la plante, la nature du sol, la géographie, les pratiques culturales voire les techniques d'extraction.

3.2. Étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

Les résultats obtenus montrent que l'activité antimicrobienne est fonction du germe ciblé. Ce qui confirme la classification établie par Ponce et al., (2003), à la lumière de laquelle nous pouvons dire que tous les germes choisis dans cette étude sont sensibles aux actions antimicrobiennes des huiles essentielles étudiées.

Cependant *Escherichia coli* a opposé une certaine résistance vis-à-vis de l'huile essentielle de *Ocimum americanum*, contrairement à l'huile essentielle de *Ocimum basilicum* qui a été moyennement active sur ce germe. *Staphylococcus aureus* s'est montré très sensible aux actions antibactériennes de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* et extrêmement sensible face à celle de *Ocimum basilicum*. Par contre, *Aspergillus flavus* a également opposé une résistance à l'huile essentielle de *Ocimum americanum* et a par contre montré une sensibilité extrêmement élevée face à l'huile essentielle de *Ocimum basilicum*. Ces résultats montrent que les huiles essentielles de l'étude possèdent des effets inhibiteurs contre les souches microbiennes testées.

En plus nous avons remarqué une sensibilité plus élevée chez *S. aureus* qui est une bactérie à Gram positif par rapport à *E. coli*, bactérie à Gram négatif. Cette sensibilité plus marquée des Gram positif par rapport aux Gram négatif vis-à-vis des huiles essentielles testées a été soulignée dans plusieurs études antérieures (Moreira et al., 2005 et Du et al., 2011). Selon Widad & Selwa, (2017), cette grande résistance des bactéries Gram (-) est liée en partie à la complexité de la paroi cellulaire de ces bactéries qui contient une double membrane, contrairement à la structure membranaire simple des bactéries à Gram (+).

L'activité antimicrobienne des essences étudiées vis-à-vis des trois germes testés est due aux constituants terpéniques et aux dérivés du phénylpropane qu'elles contiennent. Ainsi,

l'Eugenol, constitue le composé majoritaire des essences étudiées (Ouis, 2015 et Mokhtari et al., 2019). Les propriétés antimicrobiennes de ce composé sont en partie liées à ses caractères lipophiles menant à l'accumulation au niveau des parois bactériennes, perturbant ainsi le fonctionnement et la perméabilité des membranes cellulaires, la dégradation de la paroi cellulaire (Helander et al., 1998), l'altération de la membrane cytoplasmique, et l'épuisement de la force motrice des protons.

3.3. Détermination des Concentrations minimales Inhibitrices (CMI), Bactéricides (CMB) et Fongicides (CMFc)

Nous avons remarqué que dans le Tableau 2, les valeurs des CMI obtenues varient selon les souches microbiennes. En effet, des CMI ont été enregistrées au niveau des bactéries étudiées avec l'huile essentielle de *Ocimum americanum*. Par contre aucune CMFs n'a été enregistrée au niveau du champignon de l'étude. Le fait que la CMI enregistrée au niveau de *Staphylococcus aureus* (1/10 soit 10%) soit inférieur à celle de *Escherichia coli* (1/20 soit 5%) explique la résistance de cette dernière bactérie face aux actions antibactériennes de cette huile essentielle. Ce résultat confirme ceux de plusieurs travaux antérieurs qui ont montré que l'huile essentielle de *Ocimum americanum* est active contre des bactéries à Gram (-) comme *E. coli* et des bactéries à Gram (+) notamment le genre *Staphylococcus* (Vidhya et al., 2019; Manikandan et al., 2020 ; Ali et al., 2021 et Ali et al., 2022). Ces mêmes auteurs ont testé positivement cette huile essentielle contre les genres *Candida* et *Aspergillus* qui font partie des champignons fermentaires des denrées alimentaires. Ces données sont en contradiction avec nos résultats où aucune concentration testée n'a donné une CMFs avec le germe étudié. Ce résultat montre que l'huile essentielle des organes aériens de *Ocimum americanum* de Bamako est bactériostatique et sans effet majeur sur les champignons.

Avec l'huile essentielle extraite des organes aériens de *Ocimum basilicum* des jardins de Bamako, nous avons une CMI à la proportion de 1/5 et une CMB à la proportion de 1/1 dont le rapport a donné 5. Ce résultat démontre donc le pouvoir bactériostatique de cette huile essentielle. Cependant avec *Staphylococcus aureus*, on enregistre une CMI et CMB aux valeurs nulles. Ce résultat démontre donc la résistance de cette bactérie face aux actions inhibitrices de l'huile essentielle de *Ocimum basilicum*. Ces résultats sont contraires à ceux de Moreira et al. (2005) et Du et al. (2011). En ce qui concerne l'espèce fongique testée dans cette étude, nous avons enregistré une CMI à la proportion de 1/10 et une CMF à celle de 1/1 dont le rapport nous a donné 10. Ce résultat explique donc le pouvoir fongistatique de cette huile essentielle contre ce germe. Ces résultats confirment ceux de plusieurs autres antérieurs dont notamment ceux de Inouye et al., (2007) et Faiza et al., (2018), qui ont souligné la forte activité des huiles essentielles sur les champignons filamenteux, les protozoaires et les mites.

Conclusion

Les résultats de l'aromatogramme indiquent que l'huile essentielle de *Ocimum americanum* var. *americanum* possède une action inhibitrice efficace vis-à-vis des bactéries à gram positif de cette étude en l'occurrence le *Staphylococcus aureus* et très peu efficace voire nulle contre les germes *Aspergillus flavus* et *Escherichia coli*. Ceux de la détermination de CMI et CMB ont montré que cette huile essentielle ne détruit pas totalement les germes présents dans un milieu et en plus ses effets antimicrobiens ne sont pas persistants. Les résultats de

l'aromatogramme ont par contre montré une action antimicrobienne très efficace de l'huile essentielle de *Ocimum basilicum* vis-à-vis des germes étudiés. Ceux de la détermination des CMI et CMB ont montré que cette huile essentielle est bactériostatique et fongistatique.

Au regard de ces résultats, on peut conclure que l'huile essentielle de *Ocimum basilicum* est efficace dans la conservation alimentaire puisqu'elle empêche le développement des bactéries et des champignons responsables de l'altération des aliments, par conséquent cette huile essentielle constitue une alternative efficace aux antimicrobiens chimiques nuisibles à la santé humaine.

Références bibliographiques

Abdoul Dorosso Samaté. (2002). *COMPOSITIONS CHIMIQUES D'RUILES ESSENTIELLES EXTRAITES DE PLANTES AROMATIQUES DE LA ZONE SOUJANIENNE DU BURKINA FASO: VALORISATION*. Université de Ouagadougou.

Ali, H. M., Nguta, J. M., Mapenay, I. O., Musila, F. M., Omambia, M., & Matara, D. N. (2021). Ethnopharmacological uses, biological activities, chemistry and toxicological aspects of *Ocimum americanum* var. *americanum* (Lamiaceae). *The Journal of Phytopharmacology*, 10(1), 56–60. <https://doi.org/10.31254/phyto.2021.10111>

Ali, H., Nguta, J., Musila, F., Ole-mapenay, I., Matara, D., & Mailu, J. (2022). Evaluation of Antimicrobial Activity , Cytotoxicity , and Phytochemical Composition of *Ocimum americanum* L . (Lamiaceae). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, 11 p. <https://doi.org/10.1155/2022/6484578>

Başer, K. H. C., & Gerhard, B. (2010). Handbook of essential oils. In *Technology and Applications*, (Second Edi). <https://doi.org/10.1201/b19393>

Bhattachariya, D., Adhikari, S., Biswas, A., Bhumali, A., Ghosh, P., & Saha, S. (2012). *Ocimum* Phytochemicals and Their Potential Impact on Human Health. *Phytochemicals in Human Health Species*, 26 p. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88555>

Crovic-Stanko, K., Petek, M., Grdisa, M., Pintar, J., Bedekovic, D., Custic, M. H., & Stovic, Z. (2016). Medicinal Plants of the Family Lamiaceae as Functional Foods – a Review. *Czech Journal of Food Sciences*, 34(5), 377–390. <https://doi.org/10.17221/504/2015-CJFS>

Dabire, C., Nebie, R. H. C., Belanger, A., Nacro, M., & Sib, F. S. (2011). Effet du séchage de la matière végétale sur la composition chimique de l'huile essentielle et l'activité antioxydante d'extraits de *Ocimum basilicum* L. *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 5(3), 1082–1095. <http://indexmedicus.afro.who.int>

Djibo, A. K., Samaté, A. D., & Nacro, M. (2004). Composition chimique de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* Linn., syn. *O. canum* Sims du Burkina Faso. *Comptes Rendus Chimie*, 7, 1033–1037. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2003.12.029>

Dossoukpevi, R., Ahanhanzo, C., Gbaguidi, F., Agbangla, C., Agbidinokoun, A., & Cacaï,

- G. (2016). Incidence des plantes régénérées in vitro sur les huiles essentielles de deux espèces de *Ocimum* cultivées au Bénin. *Journal of Applied Biosciences*, 99(1), 9441–9449. <https://doi.org/10.4314/jab.v99i1.10>
- Du, W., Avena-bustillos, R. J., Hua, S. S. T., & Mchugh, T. H. (2011). Antimicrobial volatile essential oils in edible films for food safety. *Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*, 1124–1134.
- Faiza, B., Cherifa, C., Mohamed, H., & Mohamed, N. (2018). COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE D'HUILE ESSENTIELLE EXTRAITE DE THYMUS GUYONII DE NOE D'AFLOU - ALGÉRIE. *BOULAGHMEN et Al. Revue Agrobiologia*, 8, 853–862.
- Helander, I. M., Alakomi, H., Mattila-sandholm, T., Pol, I., Smid, E. J., Gorris, L. G. M., & Wright, A. Von. (1998). Characterization of the Action of Selected Essential Oil Components on Gram-Negative Bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 8561(98), 3590–3595. <https://doi.org/10.1021/jf980154m>
- Henri, I., Bassolé, N., Lamien-meda, A., Bayala, B., Tirogo, S., Franz, C., Novak, J., Nebié, R. C., & Dicko, M. H. (2010). Composition and Antimicrobial Activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. Essential Oils and Their Major Monoterpene Alcohols Alone and in Combination. *Molecules*, 15, 7825–7839. <https://doi.org/10.3390/molecules15117825>
- Inouye, S., Uchida, K., Nishiyama, Y., Hasumi, Y., Yamaguchi, H., & Abe, S. (2007). Combined Effect of Heat , Essential Oils and Salt on the Fungicidal Activity against *Trichophyton mentagrophytes* in Foot Bath. *Jpn. J. Med. Mycol*, 48, 27–36.
- Izabela, J.-M., Shanaida, M., Hudz, N., & Wieczorek, P. P. (2021). Phytochemical and Pharmacological Evaluation of the Residue By-Product Developed from the *Ocimum americanum* (Lamiaceae) Postdistillation Waste. *Foods*, 10, 11.
- Kacaniova, M., Galovicova, L., Borotova, P., Vukovic, N. L., Vukic, M., & Kowalczewski, P. L. (2022). Assessment of *Ocimum basilicum* Essential Oil Anti-Insect Activity and Antimicrobial Protection in Fruit and Vegetable Quality. *Plants*, 11, 14 p.
- Kang, S., Kim, M., Seo, D., Noh, D., Yang, J., Yoon, C., & Kim, G. (2009). Comparative Repellency of Essential Oils against *Culex pipiens pallens* (Diptera : Culicidae). *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 52(4), 353–359. <https://doi.org/10.3839/jksabc.2009.063>
- Koba, K., Poutouli, P. W., Raynaud, C., Chaumont, J.-P., & Sanda, K. (2009). Chemical composition and antimicrobial properties of different basil essential oils chemotypes from Togo. *A Journal of the Bangladesh Pharmacological Society*, 4(1), 1–8. <https://doi.org/10.3329/bjp.v4i1.998>
- Kpodekon, T. M., Boko, K. C., Mainil, J. G., Farougou, S., Sessou, P., Yehouenou, B., Gbenou, J., Duprez, J.-N., & Bardiau, M. (2013). *Journal de la Société Ouest-Africaine*

de Chimie 18 ème Année, Juin 2013, N° 035 Composition chimique et test d'efficacité in vitro des huiles essentielles extraites de feuilles fraîches du basilic commun (*Ocimum basilicum*) et du basilic tropical (*Ocimum g.* *Journal de La Société Ouest-Africaine de Chimie*, 035, 41–48.

- Manikandan, D. B., Sridhar, A., Sekar, R. K., Perumalsamy, B., Veeran, S., Arumugam, M., Karuppaiah, P., & Ramasamy, T. (2020). Green fabrication, characterization of silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Ocimum americanum* (Hoary Basil) and investigation of its in vitro antibacterial, antioxidant, anticancer and photocatalytic reduction. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 104845. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104845>
- Mayachiew, P., & Devahastin, S. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *Food Science and Technology*, 41(7), 1153–1159. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.07.019>
- Mokhtari, K. E. L., Brouzi, A. E. L., Kouali, M. E. L., & Talbi, M. (2019). Extraction and composition of the essential oil of *Ocimum basilicum* collected in Morocco. *JOURNAL OF ANALYTICAL SCIENCES AND APPLIED BIOTECHNOLOGY*, 1(2), 45–48. <https://doi.org/10.48402/IMIST.PRSM/jasab-v1i2.18974>
- Mondello, L., Zappia, G., Cotroneo, A., Bonaccorsi, I., Chowdhury, J. U., Yusuf, M., & Dugo, G. (2002). Studies on the essential oil-bearing plants of Bangladesh. Part VIII. Composition of some *Ocimum* oils *O. basilicum* L. var. *purpurascens*; *O. sanctum* L. green; *O. sanctum* L. purple; *O. americanum* L., citral type; *O. americanum* L., camphor type. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(5), 335–340. <https://doi.org/10.1002/ffj.1108>
- Moreira, M. R., Ponce, A. G., Del Valle, C. E., & Roura, S. I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT - Food Science and Technology*, 38(5), 565–570. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.012>
- Nébié, R. H. C., Dabire, C., & Belanger, A. (2010). Nouveau chémotype de l'huile essentielle de basilic acclimaté au Burkina Faso. *International Journal of Biological Sciences*, 4(5), 1801–1807.
- Ngom, S., Diop, M., Mbengue, M., Faye, F., Kornprobst, J. M., & Samb, A. (2014). Composition chimique et propriétés antibactériennes des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* et d'*Hyptis suaveolens* (L.) Poit récoltés dans la région de Dakar au Sénégal. *Afrique SCIENCE*, 10(4), 109–117. <http://www.afriquescience.info>
- Ngom, S., Faye, F. D., Diop, M., Kornprobst, J. M., & Samb, A. (2012). Composition chimique et propriétés physico-chimiques des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* et d'*Hyptis suaveolens* (L.) Poit. récoltés dans la région de Dakar au Sénégal. *Bulletin de La Société Royale Des Sciences de Liège*, 81, 166–175. <http://popups.ulg.ac.be/0037-9565/index.php?id=3945>
- Ntonga, P. A., Belong, P., Tchoumboungang, F., Fils, E.-M. B., & Fankem, H. (2012).

Composition chimique et effets insecticides des huiles essentielles des feuilles fraîches d'*Ocimum canum* Sims et d'*Ocimum basilicum* L. sur les adultes d'*Anopheles funestus* ss, vecteur du paludisme au Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, 59, 4340–4348.

OUIS, N. (2015). *Etude chimique et biologique des huiles essentielles de Coriandre, de Fénoûil et de Persil*. Université d'Oran 1.

Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7), 679–684. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4)

Rasooli, I., Fakoor, M. H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., & Rezaei, M. B. (2008). Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum coticum* L. essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 122(1–2), 135–139. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.048>

Ryan, D. R., & Wyk, B.-E. Van. (2021). The Botanical, Chemical and Ethnobotanical Diversity of Southern African Lamiaceae. *Molecules*, 26, 59 p.

Shadia, E. A. E.-A., & Omer, E. (2007). Chemical Composition of *Ocimum americanum* Essential Oil and Its Biological Effects Against, *Agrotis ipsilon*, (Lepidoptera : Noctuidae). *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 3(6), 740–747.

Tangpao, T., Charoimek, N., Teerakitchotikan, P., Leksawasdi, N., Jantanasakulwong, K., Rachtanapun, P., Seesuriyachan, P., Phimolsiripol, Y., Chaiyaso, T., Ruksiriwanich, W., Jantrawut, P., Van Doan, H., Cheewangkoon, R., & Sommano, S. R. (2022). Volatile Organic Compounds from Basil Essential Oils: Plant Taxonomy, Biological Activities, and Their Applications in Tropical Fruit Productions. *Horticulturae*, 8(2), 20 p. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8020144>

Tangpao, T., Chung, H. H., & Sommano, S. R. (2018). Aromatic profiles of essential oils from five commonly used Thai basil. *Foods*, 7(11), 1–13. <https://doi.org/10.3390/foods7110175>

Tonzibo, Z. F., N'Guessan, Y. T., & Chalchat, J.-C. (2000). Composition chimique des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* L. de Côte d'Ivoire. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.*, 09, 19–26.

Trongtokit, Y., Rongsriyam, Y., & Komalamisra, N. (2005). Comparative Repellency of 38 Essential Oils against Mosquito Bites. *Phytotherapy Research*, 19, 303–309. <https://doi.org/10.1002/ptr.1637>

Vidhya, E., Vijayakumar, S., Rajalakshmi, S., Kalaiselvi, S., & Pandiyan, P. (2019). Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Ocimum americanum* L extracts against pathogenic microorganisms. *Acta Ecologica Sinica*, 7 p. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2019.09.001>

Widad, R., & Selwa, R. (2017). *Etude de la sensibilité de quelques souche d'espèce*

Escherichia coli et quelques bactéries à Gram positif aux 10 molécules d'aurones synthétisés et l'étude de l'activité antibactérienne d'huile essentiel de *Thymus vulgaris*.