

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عمار تليدجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOuat

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES

قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Biochimie Appliquée*

### THEME

---

**Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de l'espèce *Mentha aquatica* L.**

---

#### Présenté par

- DJOUBAR Amani
- DJOUBAR Maria
- LAGGOUN Meriem

#### Devant le jury composé de :

M. SIFI Ibrahim	MCA (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Président
Mme AOUISSI Hadjer	MCB (École Normale Supérieure, Laghouat)	Examinatrice
Mme EL HOUITI Fatiha	MCA (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Rapporteur
Mme NEBAG Halima	MCB (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Co-Rapporteur

**Soutenu publiquement le: 25 /06/2023.**

## **Résumé**

Les plantes médicinales constituent une source riche en métabolites secondaires diversifiés, dotées d'une application commerciale dans les domaines pharmaceutiques et biomédicaux.

Ce travail a pour but l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites de plantes médicinales de la famille des *Lamiaceae* : *Mentha aquatica* collectées de trois régions différentes de Djelfa. L'extraction des huiles essentielles de la partie aérienne de *Mentha aquatica* a été réalisée par Hydro distillation. Les teneurs en huiles essentielles de *Mentha aquatica* d'El Idrissia 1, El Idrissia 2 et Douis sont respectivement 2,034 %, 2,21 % et 2,54 %.

L'activité antimicrobienne des trois extraits a été testée vis-à-vis de plusieurs souches bactériennes et fongiques par la méthode de diffusion sur milieu gélosé et celle des dilutions sur milieu liquide. D'après les résultats obtenus les plantes possèdent une activité antibactérienne prometteuse vis-à-vis de l'ensemble des bactéries sauf pour *Pseudomonas aeruginosa*, dont la plus importante est enregistrée chez l'extrait d'El Idrissia 1, et un pouvoir antifongique très élevé contre *Candida albicans* 26 et *Candida albicans* 10 avec des zones d'inhibition qui varie de 45 à 50 mm. Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice des différents extraits ont montré un large éventail de valeurs jusqu'à 3,30 mg/ml.

**Mots clés :** *Mentha aquatica*, huile essentielle, activité antibactérienne, activité antifongique.

## Abstract

Medicinal plants are a rich source of diversified secondary metabolites, with commercial application in the pharmaceutical and biomedical fields.

The purpose of this work is to study the antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants of the *Lamiaceae* family : *Mentha aquatica* collected from three different regions of Djelfa. The extraction of essential oils from the aerial part of *Mentha aquatica* was carried out by Hydro distillation. The essential oil contents of *Mentha aquatica* from El Idrissia 1, El Idrissia 2 and Douis are 2,034%, 2,21% and 2,54% respectively.

The antimicrobial activity of the three extracts was tested against several bacterial and fungal strains by the method of diffusion on agar medium and that of dilutions on liquid medium. Based on the results obtained the plant has a promising antibacterial activity vis-à-vis the set of bacteria except for *Pseudomonas aeruginosa*, the most important of which is recorded in the extract of El Idrissia 1, and a very high antifungal power against *Candida albicans* 26 and *Candida albicans* 10 within inhibition zones which varies from 45 to 50 mm. The values of the minimum inhibitory concentration of the different extracts showed a wide range of values up to 3,30 mg/ml.

**Keywords :** *Mentha aquatica*, Essential oil, antibacterial activity, antifungal activity.

## ملخص

تعد النباتات الطبية مصدرًا غنيًا من المستقلبات الثانوية، لها تطبيقات تجارية في المجالات الصيدلانية والطبية الحيوية. الغرض من هذا العمل هو دراسة النشاط المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية المستخرجة من النباتات الطبية من العائلة الشفوية *Mentha aquatica*: التي تم جمعها من ثلاث مناطق مختلفة من الجلفة. تم استخراج الزيوت الأساسية من الجزء العلوي من *Mentha aquatica* عن طريق التقطير المائي. مردودية الزيوت الأساسية لـ *Mentha aquatica* في الإدريسية 1 والإدريسية 2 ودويس هي %2,034 و %2,21 و %2,54 على التوالي.

تماختبار النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات الثلاثة ضد العديد من السلالات البكتيرية والفطرية عن طريق طريقة الانتشار على وسط جيلوزي والتمديدات على وسط سائل. بناءً على النتائج التي تم الحصول عليها، فإن النبات لديه نشاط واعد ضد أغلب السلالات باستثناء *Pseudomonas aeruginosa*، وأهمها مسجل في مستخلص El Idrissia 1، وقوة عالية جدًا مضادة للفطريات ضد السلالات الفطرية *Candida albicans* 26 و *Candida albicans* 10 مع مناطق تثبيط تتراوح من 45 إلى 50 ملم. كما تظهر قيم الحد الأدنى للتركيز المثبط نطاقًا واسعًا من القيم يصل إلى 3,30 ملغم/مل.

**الكلمات المفتاحية:** *Mentha aquatica*، الزيت العطري، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات.

*Aux êtres les plus chers : Nos parents*

*À Nos chers frères...*

*À Nos sœurs...*

*À Nos amis...*

*À tous ceux qui ont une place  
importante dans Nos vie, Nous  
Vous aimons*

---

# Remerciement

---

*Nous tenons tout d'abord, à remercier Dieu le tout puissant pour nous avoir donné santé, force, courage et volonté de continuer nos études et de mener à bien ce modeste travail.*

*Nos vifs et sincères remerciements vont à Madame **El Houiti Fatiha**, pour avoir encadré et dirigé ce travail. Il s'agit pour nous un immense honneur de lui exprimer nos remerciements et notre gratitude pour ses connaissances apportées, sa disponibilité, ses conseils, ses orientations, sa modestie et pour l'intérêt bienveillant manifesté pour notre travail.*

*Nous remercions également notre co-encadreur **Mme Nebeg Halima**, d'avoir dirigé ce travail ; nous la remercions infiniment pour sa disponibilité permanente, ses orientations et ses conseils tout au long de cette recherche.*

*Nous adressons notre gratitude à **Dr SIFI Ibrahim** qui nous fait l'honneur de présider ce jury. Notre professeur, de qui nous avons beaucoup appris.*

*Nos remerciements les plus sincères sont, également, adressés à **Dr AOUISSI Hadjer**, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous remercions également **Melle ZEGRIRE Anfal**, de nous avoir orienté et conseillé tout au long de travail pratique.*

*Nous remercions vivement l'ensemble de nos enseignants au sein du département des sciences biologiques, ainsi que toute l'équipe du laboratoire et de la bibliothèque pour leurs disponibilités à notre égard.*

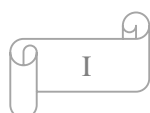
*Nous voudrions aussi remercier très chaleureusement nos familles pour le soutien moral et financier.*

*Nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*



# Table de Matière

<b>Liste des tableaux .....</b>	<b>III</b>
<b>Liste des figures .....</b>	<b>IV</b>
<b>Liste des abréviations.....</b>	<b>V</b>
<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
<b>Partie I : Étude Bibliographique.....</b>	<b>4</b>
I.1. Les huiles essentielles.....	4
I.1.1. Historique .....	4
I.1.2. Définition de l'huile essentielle.....	4
I.1.3. Rôles des huiles essentielles.....	5
I.1.4. Les techniques d'extraction des huiles essentielles.....	5
A. Distillation .....	5
A.1. Hydro distillation.....	5
A.2. L'entraînement à la vapeur d'eau .....	7
B. Expression à froid .....	7
C. Hydro diffusion.....	8
I.1.5. Activité antimicrobienne .....	9
I.2. les plantes médicinales aromatiques.....	10
I.2.1. Généralités sur la famille des lamiacées.....	10
I.2.2. Origine et distribution de la plante .....	10
I.2.3. Description botanique de la plante étudiée.....	11
I.2.4. Classification .....	12
I.2.5. Domaines d'utilisation .....	13
<b>Partie II : Matériels et Méthodes .....</b>	<b>15</b>
II .1. Matériels.....	15
II. 1.1. Matériel végétal .....	15
II. 1.1.1. Critères de sélection .....	15
II. 1.2. Les souches microbiennes utilisées .....	15
II.2. Méthodes expérimentales .....	17
II.2.1.1. Extraction par hydro distillation .....	17
II. 2.1.2. Procédé d'extraction .....	18
II. 2.1.3. Le calcul du rendement en huiles essentielles .....	19
II. 2.2. Evaluation de l'activité microbienne.....	20
II. 2.2.1. Test de l'activité microbienne.....	20
II. 2.2.1.1. Préparation des milieux de culture .....	21
II. 2.2.1.2. Préparation de l'inoculum .....	21
II. 2.2.1.3. L'ensemencement.....	22



II.2.2.1.4. Préparation des disques .....	23
II. 2.2.1.5. Incubation et lecture .....	24
II. 2.2.2. La méthode de micro dilution sur milieux liquide (Détermination des CMI et CMB) .....	25
<b>Partie III : Résultats et discussions.....</b>	<b>28</b>
III.1. Rendement de l'extraction .....	28
III.2. Résultats de l'activité antimicrobienne .....	30
III.3. Résultats de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur gélose .....	34
III.4. Les résultats de la Détermination de la CMI.....	45
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>50</b>
<b>Références .....</b>	<b>53</b>
<b>Annexe I .....</b>	<b>74</b>
<b>Annexe II.....</b>	<b>76</b>
<b>Annexe III .....</b>	<b>77</b>

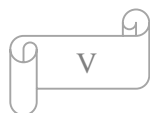
## Liste des tableaux

<b>Tableau 01:</b> Classification et les plusieurs noms de la plante étudiée .....	12
<b>Tableau 02:</b> Le rendement en (%) des différents extraits étudiés. ....	28
<b>Tableau 03:</b> Diamètre de zones d'inhibition en mm en présence de quelques antibiotiques. ....	32
<b>Tableau 04:</b> Résultats des diamètres d'inhibition en mm (moyenne $\pm$ l'écart type) del'activité antimicrobienne de l'HE de <i>mentha aquatica</i> L. ....	35
<b>Tableau 05:</b> Les concentrations minimales inhibitrices et les concentrations minimales bactéricides et fongicides des huiles essentielles de la menthe aquatique (en mg/ml). ....	45

## Liste des figures

<b>Figure 01 :</b> Schéma du procédé de la Hydro distillation (Chenni, 2016).....	6
<b>Figure 02:</b> Schéma du principe de la technique d'expression à froid (Jerry Louis, 2020).....	7
<b>Figure 03:</b> Schéma d'un appareillage de l'hydro diffusion (Chenni, 2016).....	8
<b>Figure 04:</b> Aire de répartitions de la menthe par le monde (Benomari, 2014). ....	11
<b>Figure 05:</b> Photo de Menthe aquatique (Photo prise le 4 mai 2023). ....	12
<b>Figure 06:</b> Référence des microorganismes testés. ....	16
<b>Figure 07:</b> Organigramme expliquant les principales étapes de notre travail. ....	17
<b>Figure 08:</b> Montage d'un hydro distillateur de type Clevenger (Rahmania, 2020).....	18
<b>Figure 09:</b> Organigramme expliquant les principales étapes de notre travail. ....	19
<b>Figure 10:</b> Schéma de la méthode de diffusion sur milieu gélose en utilisant des disques.....	21
<b>Figure 11:</b> Préparation de l'inoculum (Photo prise le 12 décembre 2022). ....	22
<b>Figure 12:</b> L'ensemencement (Photo prise le 12 décembre 2022). ....	23
<b>Figure 13:</b> L'ajout de différentes concentrations d'huile essentielles sur les disques. (Photo prise de 12 décembre 2022). ....	24
<b>Figure 14:</b> Principe de la méthode de diffusion par disque (Guinoiseau, 2010).....	24
<b>Figure 15:</b> Schéma de la méthode de micro dilution sur milieu liquide. ....	26
<b>Figure 16:</b> Comparaison entre les rendements en % des différents extraits.....	28
<b>Figure 17:</b> Effet neutre du DMSO sur les souches bactériennes étudiées.....	30
<b>Figure 18:</b> Effet neutre du DMSO sur les souches fongiques étudiées. ....	31
<b>Figure 19:</b> Effet des antibiotiques sur les souches microbiennes étudiées.....	33
<b>Figure 20:</b> Représentation graphique du test de sensibilité des souches microbiennes vis-à-vis des trois huiles essentielles testés ; <i>Mentha aquatica</i> .....	36
<b>Figure 21:</b> Effet de l'huile essentielle de <i>Mentha aquatica</i> de la région d'El Idrissia 1 sur la croissance des souches microbiennes. ....	40
<b>Figure 22:</b> Effet de l'huile essentielle de <i>Mentha aquatica</i> de la région d'El Idrissia 2 sur la croissance des souches microbiennes.....	42
<b>Figure 23:</b> Effet de l'huile essentielle de <i>Mentha aquatica</i> de la région de Douis sur la croissance des souches microbiennes.....	44
<b>Figure 24:</b> Détermination de la Concentration minimal inhibitrice des huiles essentielles de <i>Mentha aquatica</i> de la région d'El idrissia 1 et d'El idrissia 2 vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de micro-dilution. ....	47

**Figure 25:** Détermination de la Concentration Minimal Inhibitrice des huiles essentielles de *Mentha aquatica* de la région de Douis vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de micro-dilution..... 48





## Liste des abréviations

### A

**AFNOR** : Association française de normalisation.

**ATB** : Antibiotique.

**ATCC**: American Type Culture Collection.

**ATF** : Antifongique.

### C

**C<sub>0</sub>**: Concentration initiale.

**CMB** : Concentration minimale bactéricide.

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

**CMF** : Concentration minimale fongicide.

### D

**DMSO** : Diméthyle sulfo-oxyde.

**D** : Diamètre.

### E

**E** : Extrait.

### H

**HEs** : Huiles essentielles.

**HD** : Hydro distillation.

### I

**ISO** : Organisation internationale de normalisation.

**INT** : Iodonitrotetrazoliumchloride.

### M

**MH** : Muller Hinton.

### O

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

### P

**PAM** : Plante aromatique et médicinale.

### S

**SAB** : Sabouraud.

---

# *Introduction générale*

---

## Introduction générale

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'Homme. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples indique que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires (**Bouzouita et al., 2008**).

Les plantes médicinales et aromatiques constituent une source importante de molécules bioactives qui pourraient être exploitées dans la thérapie des maladies infectieuses (**Talbaoui et al., 2012**). Ces constituants sont classés en deux types de métabolisme primaire et secondaire. Les métabolites secondaires sont des produits à structures chimiques souvent complexes, très dispersés selon les espèces (**Fouché et al., 2001**).

La grande utilisation des antibiotiques en médecine pour lutter contre les microorganismes pathogènes ne sont pas totalement inoffensifs pour l'organisme et peuvent provoquer, de nombreux effets indésirables, Par conséquent. Il est nécessaire de rechercher de nouvelles molécules antimicrobiennes naturelles pour inhiber les diverses microorganismes pathogènes (**Rudramurthy et al., 2016**).

Aujourd'hui, environ 3000 huiles essentielles sont produites et utilisées par tout le monde dans des différents domaines (**Baser et Buchbauer, 2009**). Comme les industries cosmétiques et pharmaceutiques (**Ainane et al., 2019**). Les huiles essentielles sont des substances naturelles complexes, possédant des caractéristiques physicochimiques bien définies, et répondant à des critères de qualité qu'il faut connaître pour éviter tout risque de toxicité qui peut se révéler dangereuse pour la santé (**Haddouchi et Ben mansour, 2008**), contiennent des activités biologiques diverses telles que, antifongique, antibactériennes antioxydants et insecticides. Ces extraits de végétaux odorants sont l'objet de nombreuses recherches scientifiques dans le domaine médical et ils ont démontré leur efficacité pour le traitement de nombreuses pathologies. (**De Martino et al., 2009; Rios et al., 1988**).

Notre travail porte sur l'estimation du pouvoir antibactérien et antifongique des huiles essentielles de la partie aérienne de l'espèce *mentha aquatica* collectée de trois stations différentes, sur cinq souches bactériennes multi résistantes référencées (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus* et *Klebsiella*

*pneumonie*) et deux souches fongiques : *Candida albicans* 10, *Candida albicans* 26, afin d'effectuer une étude comparative.

Afin d'organiser notre travail, ce manuscrit a été septé en trois chapitres :

- ❖ Le premier chapitre présente principalement une étude bibliographique sur les plantes médicinales, et les activités biologiques.
- ❖ Le deuxième chapitre a été consacré à la présentation du matériel, et les protocoles expérimentaux utilisés. L'extraction des huiles essentielles, l'étude du pouvoir antimicrobien de nos extraits vis-à-vis différentes souches microbiennes par la méthode de diffusion sur milieu solide et l'estimation des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) par la méthode de micro dilution sur milieu liquide et la concentration minimale fongicide (CMF).
- ❖ Le troisième chapitre, présente l'ensemble de résultat obtenus et les discussions qui en découlent.

Nous terminons cette étude par une conclusion générale et des perspectives de recherche.

---

# *Étude bibliographique*

---

## Partie I : Étude Bibliographique

### I.1. Les huiles essentielles

#### I.1. Historique

Les huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, aromatiser les aliments ou même se soigner. La connaissance des huiles essentielles remonte à fort longtemps puisque l'homme préhistorique (**Robert, 2000 ; Piochon, 2008**). Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis les premières genèses (**Abdoulhoussein, 1990**).

Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. René-Maurice GATTEFOSSE a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés et ses résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches (**Besombes, 2008**).

À l'heure actuelle, plus de 3000 huiles essentielles sont connues. Près de cents d'entre-elles sont commercialisées dans les industries, pharmaceutiques, agronomique, alimentaire sanitaire, et cosmétiques (**Bakkali et al., 2008**).

#### I.1.2. Définition de l'huile essentielle

Les Huiles essentielles sont des composés naturels, complexes de métabolites secondaires, liquide, odorantes, volatiles, synthétisées par les plantes aromatiques et médicinales (PAM). Elles sont obtenues à partir de fleurs, de tiges, de feuilles, de bois, de bourgeons, de liège, de fruits et de racines (**Bakkali et al., 2008; Burt, 2004**).

Cette définition a été reprise par AFNOR et ISO : « L'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe frais de certains agrumes, soit par distillation. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (**ISO, 1997; AFNOR, 2000**).

Les huiles sont plus légères que l'eau (densité de l'ordre de : 0.750 à 0.990). Ces essences sont solubles dans l'alcool, l'éther, chloroforme, les huiles, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, mais insoluble dans l'eau (**Bardeau, 2009**). Elles sont généralement liquides à température ambiante, incolores ou jaunâtres, inflammables (**Li et al., 2014**).

### **I.1.3. Rôles des huiles essentielles**

Les huiles essentielles jouent un rôle important dans la protection des plantes comme éléments antibactériens, antivirales, antifongiques, insecticides et aussi contre des herbivores en réduisant leur appétit pour de telles plantes. Elles peuvent aussi attirer quelques insectes pour favoriser la dispersion du pollen et des graines (**Bakkali et al., 2008**).

Elles peuvent être considérées comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, et conservant l'humidité des plantes dans les climats désertiques (**Belaïche, 1979; Guignard et al., 1985**).

### **I.1.4. Les techniques d'extraction des huiles essentielles**

Plusieurs procédés sont appliqués pour l'obtention des huiles essentielles. Cependant, la distillation est sans doute le procédé le plus utilisé pour l'extraction des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques médicinales. (**Peyron, 1992**).

#### **A. Distillation**

La distillation est une méthode ancienne très utilisée pour extraire des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques. (**Whish, 1996 ; Masango, 2004**). Il est également considéré comme une technique de séparation basée sur la différence de densité entre un liquide et la vapeur engendrée (**Garnero, 1996**). Elle implique la condensation de la vapeur et la récupération des fractions liquides résultantes.

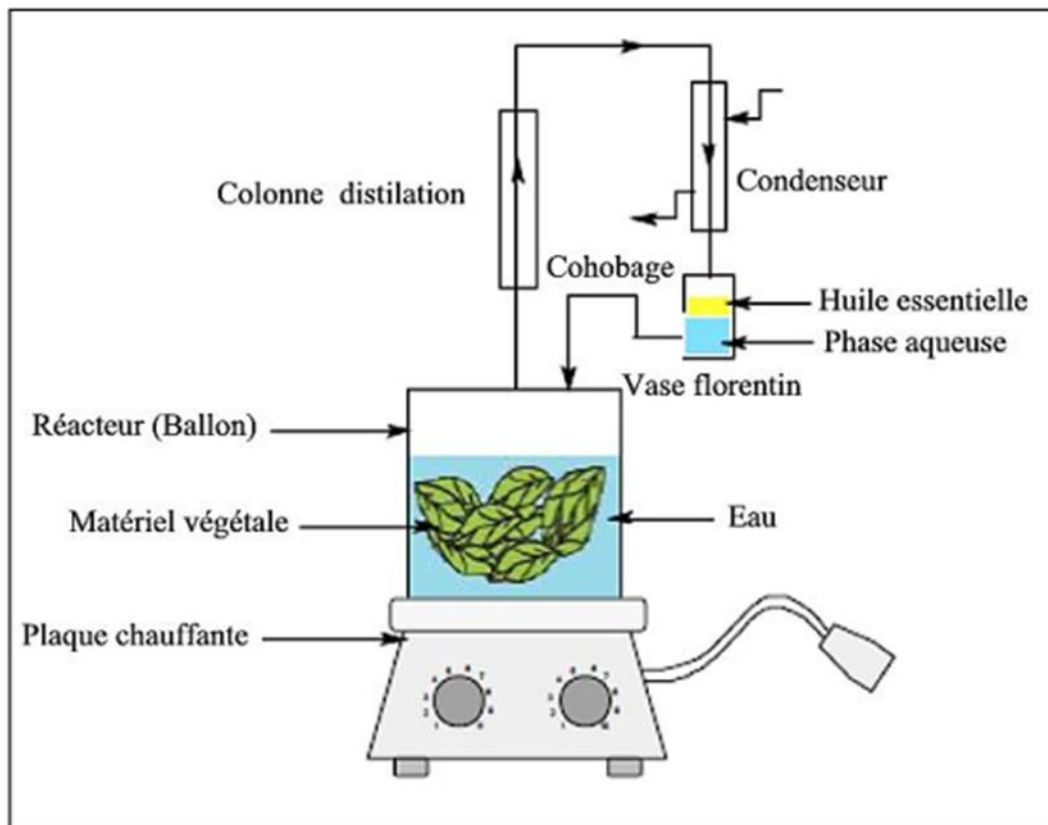
Il existe en effet deux différents procédés utilisant ce principe : l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydro distillation aussi.

#### **A.1. Hydro distillation**

L'hydro distillation (HD) est une méthode d'extraction efficace et à haut rendement. Elle consiste à immerger directement le matériel végétal dans un alambic (ballon) rempli d'eau distillé (**fig 01**). L'ensemble est ensuite, porté à ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des composés volatils. Ces composés volatiles forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique (**Asbahani et al., 2015**). Le mélange est ensuite

refroidi, condensé puis séparé par différence de densité en une phase aqueuse et phase organique qui constitue l'huile essentielle (**Fernandez et Chemat, 2012**).

Le système < Clevenger > permet le recyclage de la phase aqueuse du distillat. La durée d'extraction est généralement comprise entre trois et six heures selon le matériel végétal (**Seyed et al., 2018**).



**Figure 01** : Schéma du procédé de la Hydro distillation (**Chenni, 2016**).

## A.2. L'entraînement à la vapeur d'eau

Également parmi les méthodes les mieux adaptées pour obtenir des huiles essentielles de haute qualité. Cette technique est adaptée pour extraire les composants sensibles à la chaleur. (Seyed *et al.*, 2018).

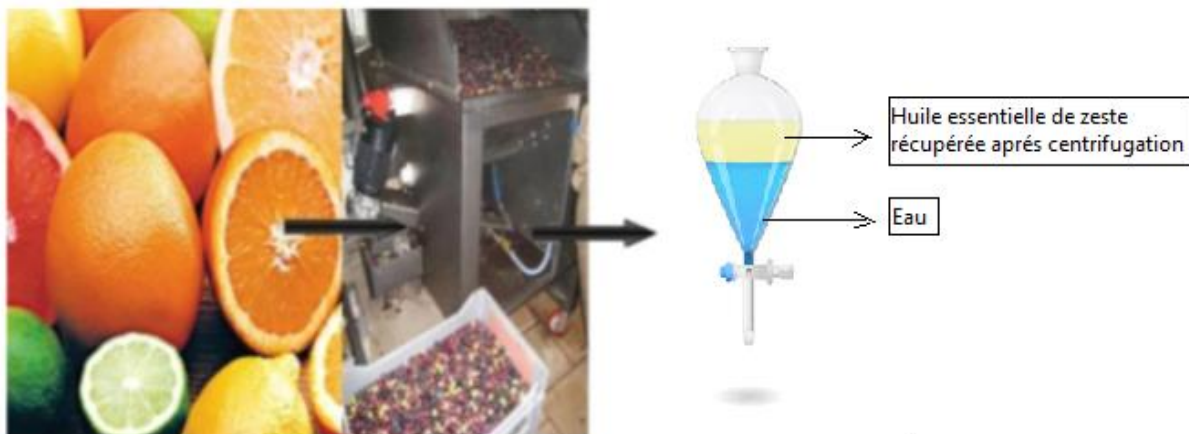
Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. Les vapeurs d'eau chargées en composés volatils sont ensuite condensées avant d'être décantées. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes, phase aqueuse et phase organique : l'huile et l'eau condensées que l'on appelle eau florale ou hydrolat (Belaiche, 1979).

Cette technique permet d'éviter des réactions lors du contact des constituants des huiles essentielles avec l'eau conduisant à des changements dans la composition finale de l'extrait (Nixon and McCaw, 2001).

## B. Expression à froid

L'extraction par expression est réservée à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes d'agrumes contenus dans les zestes (citron, orange). Ce sont des produits fragiles en raison de leur composition, on utilise ce procédé et l'un des rares processus qui ne modifie pas le produit résultant et totalement différent d'une distillation classique (Roux, 2008).

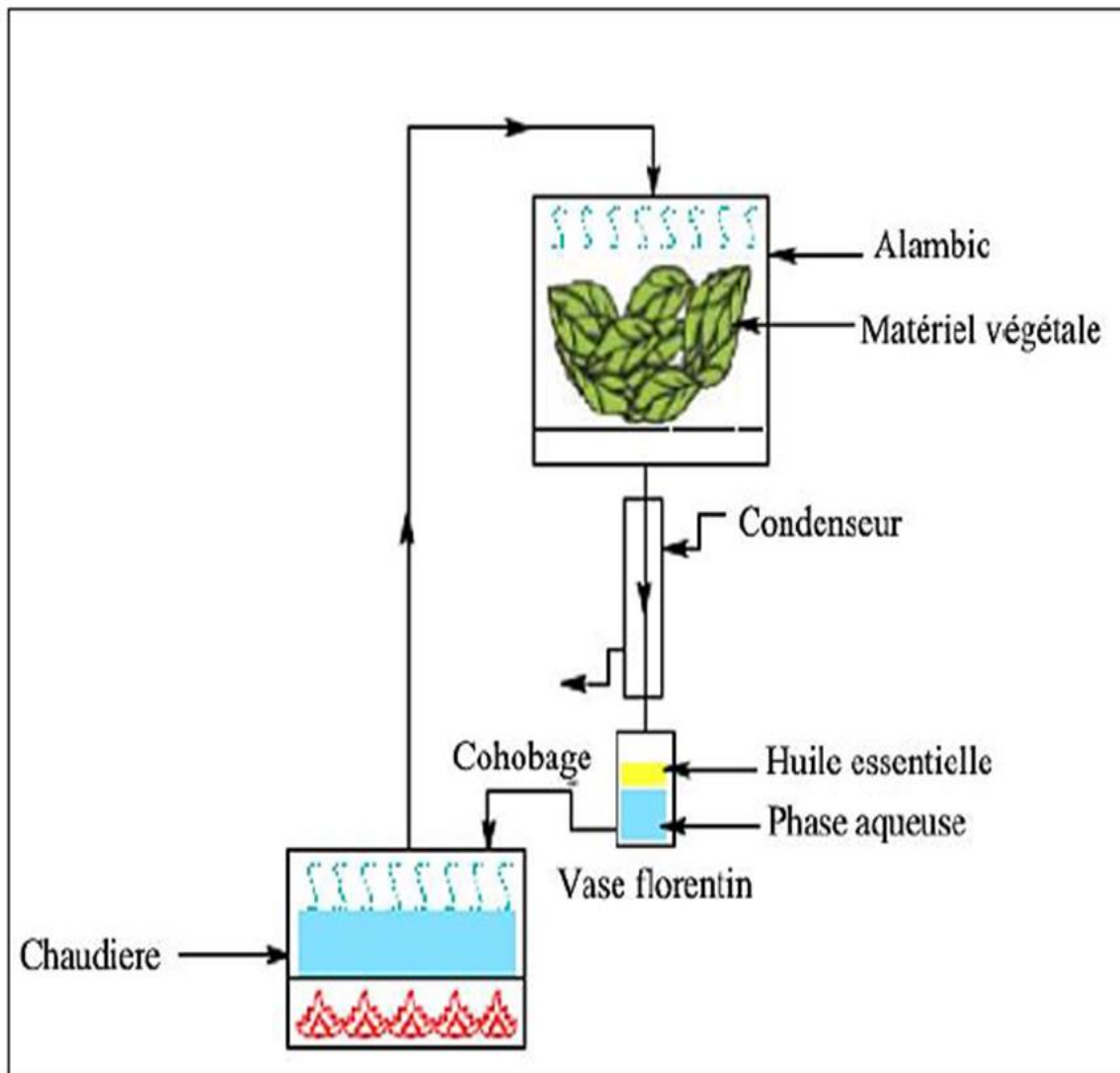
Le principe s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices (fig 02). L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau et reçoit tout le produit habituel de l'entraînement à la vapeur d'eau. (AFNOR, 2006).



**Figure 02:** Schéma du principe de la technique d'expression à froid (Jerry Louis, 2020).

### C. Hydro diffusion

L'hydro diffusion est une co-distillation descendante. Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau, à très faible pression (entre 0.02-0.15 Bar), du haut vers le bas, à travers la masse végétale (**fig 03**). Les composés obtenus par cette méthode sont qualitativement différents de ceux obtenus par la méthode classique. Ce procédé permet un gain de temps et d'énergie (**Buchbauer ; 2000 in Lahlou, 2004 ; Bruneton, 2009**).



**Figure 03:** Schéma d'un appareillage de l'hydro diffusion (**Chenni, 2016**).

### I.1.5. Activité antimicrobienne

#### ❖ Activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient être employés comme agents de protection contre les champignons phyto pathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (**Lis-Balchin, 2002**).

Selon **Voukou et al., (1988)**, les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des *Labiatae* : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc...

L'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques : Phénols>Alcools>Aldéhydes>Cétones>Ethers> Hydrocarbures. Parmi les aldéhydes aliphatiques, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actif (**Utree et al., 2002**).

Les composés phénoliques des huiles essentielles modifient la perméabilité cellulaire fongique en interagissant avec les protéines de la membrane. Cela provoque la déformation de la structure cellulaire, et perturbe la fonctionnalité aboutissant à la perte des macro molécules conduisant à une inhibition de la croissance fongique (**Pramila et al., 2012**).

#### ❖ Activité antibactérienne

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Elles ont une action sur les bactéries à Gram positif, Gram négatif et les entérocoques (**Raymond, 2005**).

Leur activité antibactérienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (**Sipailiene et al., 2006**) et à leur effet synergique (**Zhiri,2006**).

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Carson et al., 2002**).

Leur mode d'action dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (**Cox et al, 2000 ; Carson et al, 2002**).

Plusieurs études *in vitro* ont permis de déterminer l'activité antibactérienne des huiles essentielles contre diverses souches bactériennes, soit cliniques, soit de référence, en utilisant les méthodes de diffusion et les méthodes de dilution en gélose et en bouillon. **(El Menyiy et al., 2022)**

La technique de la diffusion sur disque en milieu gélosé est utilisée pour la détermination de l'activité antibactérienne des huiles essentielles.

## **I.2. les plantes médicinales aromatiques**

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui possèdent une activité pharmacologique pouvant conduire à des utilisations thérapeutiques, grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain. **(Bubulka, 2007).**

Plus spécifiquement, une plante aromatique et médicinale (PAM) est une plante qui contient suffisamment de molécules aromatiques dans un ou plusieurs de ses organes producteurs à savoir feuilles, fleur, fruit, graine, écorce etc. **(Iserin, 2001).**

### **I. 2. 1. Généralités sur la famille des lamiacées**

Elle s'appelle Lamiacées, d'après **Martinove (1820)**, et aussi, nommée *Labiatae*, d'après **Jassieu (1789)**. Cette famille comprend environ 260 genres et plus de 6500 espèces **(Spichiger et al., 2004)**. Ce sont des plantes à fleurs herbacées ou arborescentes très parfumées **(Silvant, 2014)**. 40% des espèces de la famille des *Lamiaceae* contiennent des composés qui possèdent des propriétés aromatiques **(Verse, 2007)**.

Leur aire de répartition est extrêmement étendue, avec une prépondérance dans les régions méditerranéennes. Cependant, les Lamiacées sont rares dans les régions arctiques et en haute montagne. C'est une famille exceptionnellement homogène : une Lamiacée est très facile à reconnaître **(Guignard, 2001)**.

### **I.2.2. Origine et distribution de la plante**

La menthe aquatique aussi connue sous le nom de baume d'eau, menthe rouge ou menthe à grenouille est originaire d'Europe, d'Afrique du nord et de l'est, d'Asie du Proche et Moyen-Orient **(fig 04)**, pousse dans les zones humides et lieux frais comme les marécages, les bords de fossés, de rivières ou d'étangs **(Bakri, 2021)**.





**Figure 05:** Photo de Menthe aquatique (Photo prise le 4 mai 2023).

#### I. 2.4. Classification

**Tableau 01:** Classification et les plusieurs noms de la plante étudiée Selon Tison *et al.*, 2014.

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Ordre</b>	<b>Lamiales</b>
<b>Embranchement</b>	<b>Spermaphytes</b>
<b>Sous embranchement</b>	<b>Angiospermes</b>
<b>Famille</b>	<b><i>Lamiaceae</i></b>
<b>Classe</b>	<b><i>Magnoliopsida</i></b>
<b>Sous classe</b>	<b>Astéridées</b>
<b>Genre</b>	<b>Menthe</b>
<b>Espèce</b>	<b><i>Mentha aquatica</i> L</b>
<b>Nom scientifique</b>	<b>Menthe aquatique</b>
<b>Nom Français</b>	<b>Menthe aquatique, menthe rouge</b>
<b>Nom anglais</b>	<b><i>aquatica</i> mint</b>
<b>Nom Latin</b>	<b><i>Mentha aquatica</i></b>
<b>Nom Arabe</b>	<b>النعناع المائي</b>

### I.2.5. Domaines d'utilisation

#### ✚ En phytothérapie

La menthe aquatique occupe une place privilégiée dans la phytothérapie digestive grâce à l'huile essentielle que renferment ses feuilles et qui lui confère un très grand pouvoir calmant des spasmes intestinaux. Elle est active aussi sur les crampes digestives et les nausées. Son action antispasmodique sur le colon est efficace en cas de diarrhée et de constipation (**Youcef, 1990 ; Iserin, 2001**).

Elle est utilisée pour soulager les maux de tête. Elle traite les parasites de la peau (démangeaisons cutanées) ainsi que l'inflammation des voies respiratoires et de la muqueuse buccale. Elle soulage les symptômes du rhume et de la toux, les douleurs rhumatismales musculaires et névralgiques (**Hammami ; Abdesselem, 2005**).

#### ✚ En cosmétique

Grace à ses propriétés antiseptiques et bactéricides, l'huile essentielle de la menthe est présente dans de nombreux traitements contre l'acné. C'est souvent l'un des composants des shampooings pour cheveux gras ou avec pellicules, ainsi que les dentifrices, des solutions buccales et des crèmes de massage. On peut l'utiliser en bain, en massage, en inhalation et en diffusion (**Huete, 2012**).

---

# Matériels et Méthodes

---

## Partie II : Matériels et Méthodes

Le travail expérimental a été réalisé au niveau du laboratoire de département de Biologie de l'Université Amar Thelidji, Laghouat. Où nous avons déterminé l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de la **Menthe aquatique**, de différentes régions.

### II .1. Matériels

#### II. 1.1. Matériel végétal

Notre travail a pour but d'évaluer les activités antimicrobiennes d'huile essentielle de la **Menthe aquatique** récoltées en novembre 2021, de la wilaya de Djelfa de trois la région d'El Idrissia 1, El Idrissia 2 et Douis. Nous avons commencé par l'extraction des huiles essentielles, ensuite par l'évaluation des activités biologiques de ces huiles (quelques tests d'évaluation d'un extrait d'El Idrissia 2 n'ont pas été effectués pour sa déficience).

#### II. 1.1.1. Critères de sélection

Cette étude a porté sur les parties aériennes (feuilles) de l'espèce *Mentha aquatica* L .Cette dernière a été choisie pour les raisons suivantes :

- Son usage thérapeutique traditionnel (Préparation des tisanes et autres), pour le traitement de maladies et d'infections microbiennes.
- Sa grande répartition, comme patrimoine botanique naturel dans de nombreuses régions du pays, plus particulièrement dans le nord Est Algérien.
- Ses richesses en substances aromatiques (HEs).

#### II. 1.2. Les souches microbiennes utilisées

Les souches microbiennes utilisées sont des souches de référence, American Type Culture Collection (ATCC), appartenant à différentes familles et à catégories différentes comme il est mentionné dans la figure ci-dessous (**fig 06**). Obtenues du laboratoire vétérinaire de Laghouat et du laboratoire de recherche de l'université de Tlemcen.

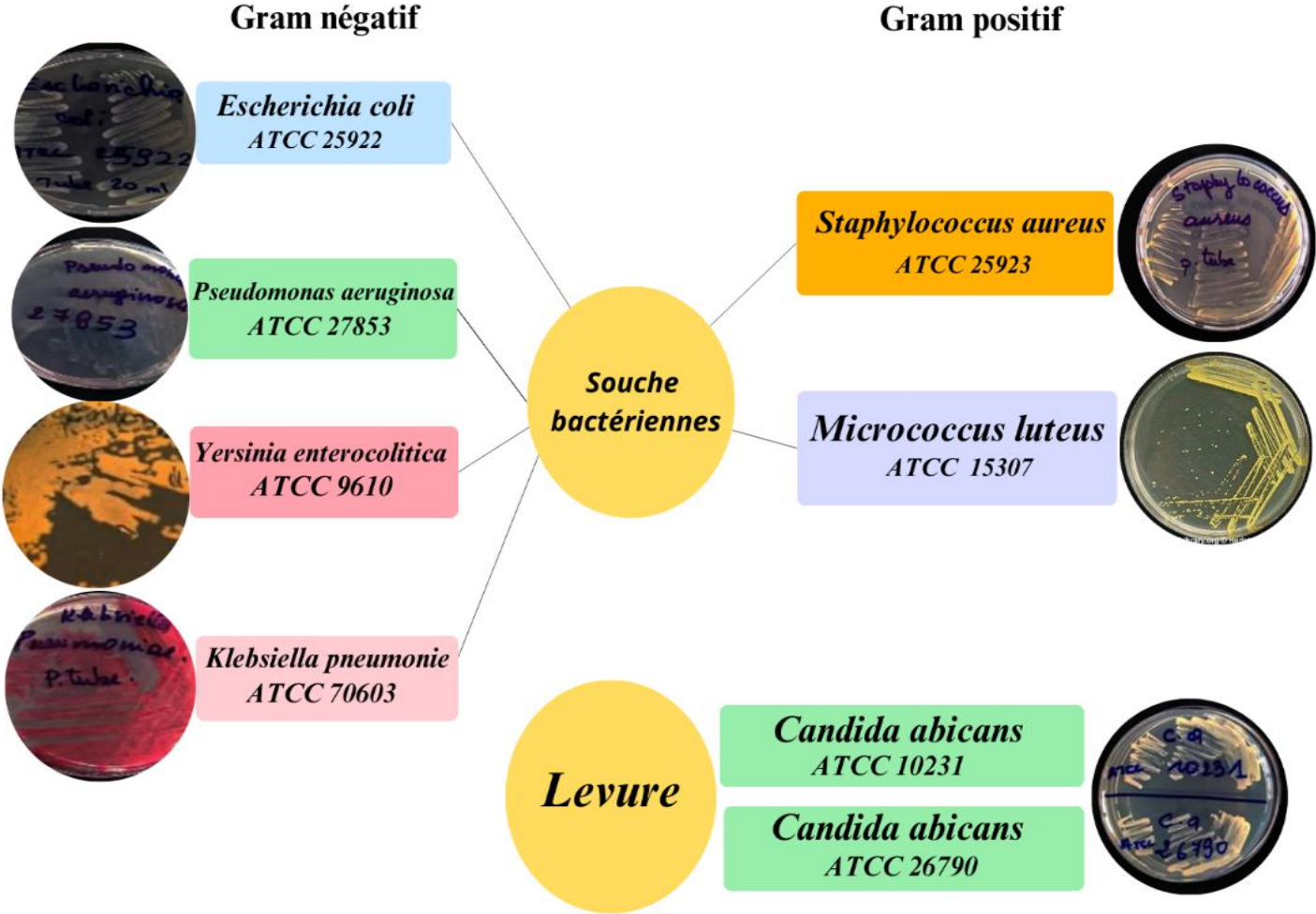
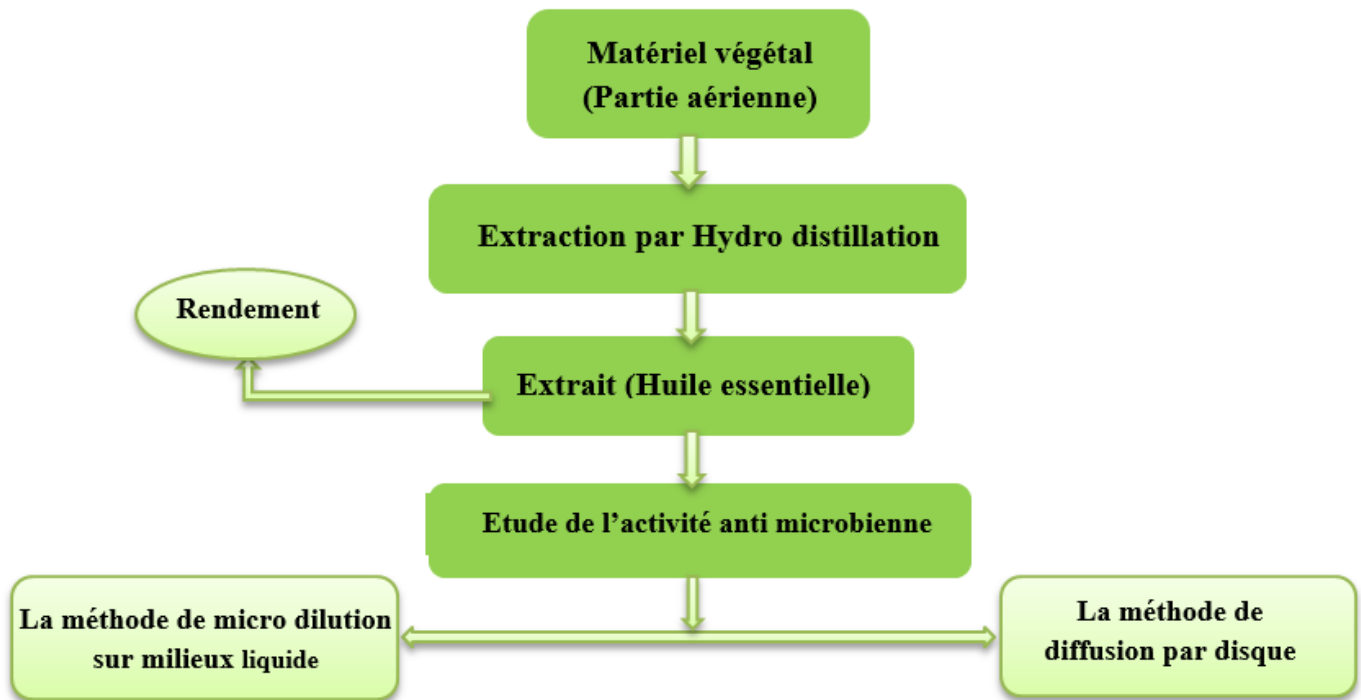


Figure 06: Référence des microorganismes testés.

## II .2. Méthodes expérimentales

L'ensemble du travail que nous avons mené dans cette étude se structure comme illustre l'organigramme ci-après (**fig 07**).

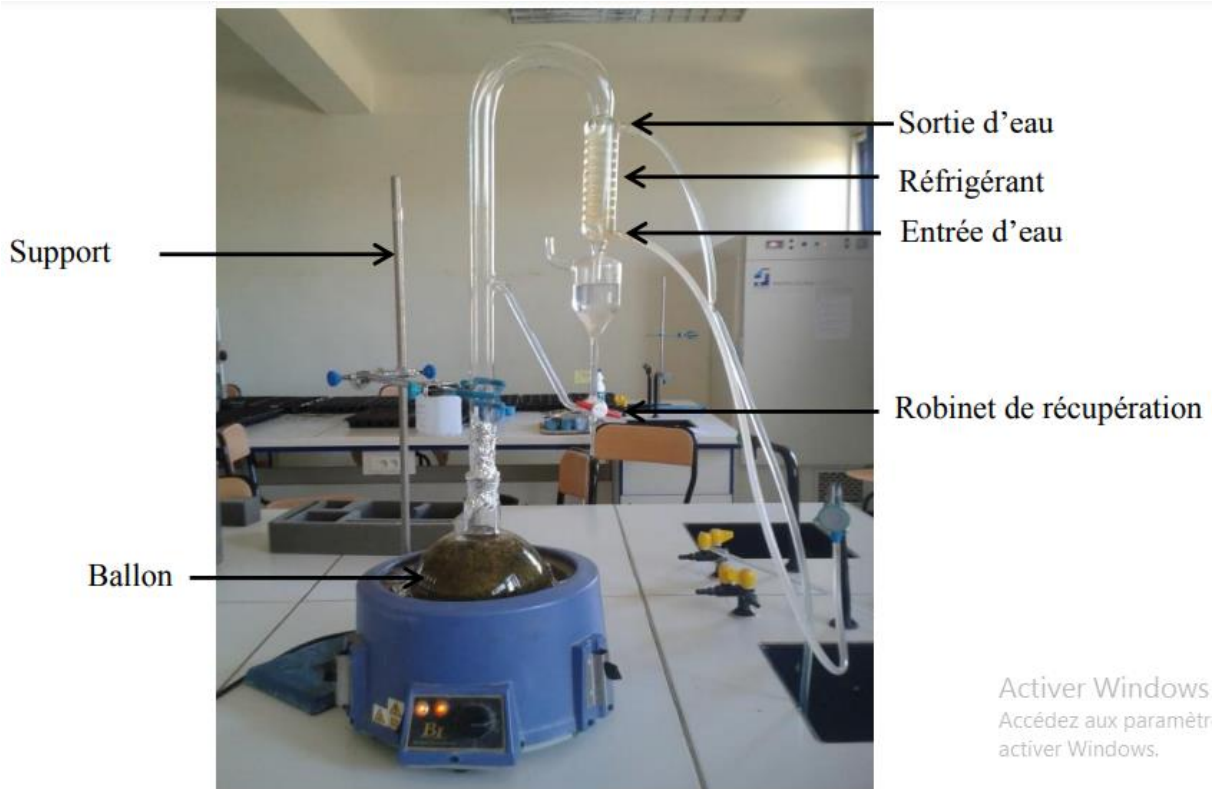
Après la récolte de la plante au mois de Novembre 2021, nous avons procédé à l'extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydro distillation. Par la suite, nous avons procédé à la détermination des activités antimicrobiennes.



**Figure 07:** Organigramme expliquant les principales étapes de notre travail.

### II .2.1.1. Extraction par hydro distillation

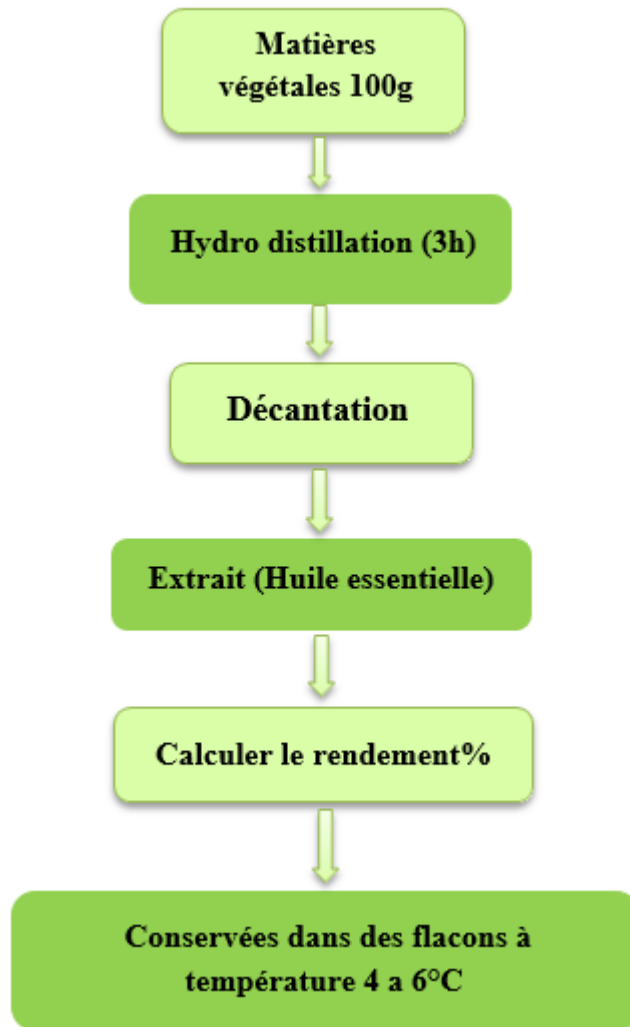
L'hydro distillation est la technique de référence dans l'étude des composés volatiles d'une plante dans le domaine de la recherche. Cependant une verrerie adaptée a été mise en place permettant à la fois la circulation en circuit quasi-fermé de l'eau sous forme aqueuse et gazeuse et la cohobation de l'huile essentielle. Ces phénomènes ont été rendus possibles à l'échelle du laboratoire grâce à l'utilisation d'un appareillage de type Clevenger (**fig 08**).



**Figure 08:** Montage d'un hydro distillateur de type Clevenger (**Rahmania, 2020**).

### II .2.1.2. Procédé d'extraction

L'opération consiste à immerger une masse de 100g de la plante sèche dans un grand ballon en verre de 250 ml contenant une quantité de 100 ml d'eau distillée sans remplir le ballon pour éviter le débordement lors de l'ébullition (**fig 09**). L'ensemble est porté à ébullition pendant environ 3 heures. Les huiles essentielles ainsi obtenus ont été récupérées puis traitées par un déshydratant : le sulfate de sodum anhydre, pour éliminer les traces d'eau susceptible dans les huiles récupérées.



**Figure 09:** Organigramme expliquant les principales étapes de notre travail.

### II .2.1.3.Le calcul du rendement en huiles essentielles

Les rendements d'extractions sont calculés selon la formule suivante :

$$\text{Rendement(\%)} : (\text{masse d'huile essentielle} / \text{masse de la matière végétale traité}) \times 100$$

#### ✓ Conservation

Les échantillons obtenus ont été conservés dans des flacons opaques bien scellés à température allant de 4 à 6°C, et ceci jusqu'à leurs utilisations.

## II. 2.2. Evaluation de l'activité microbienne

L'évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait organique a été réalisée par deux méthodes :

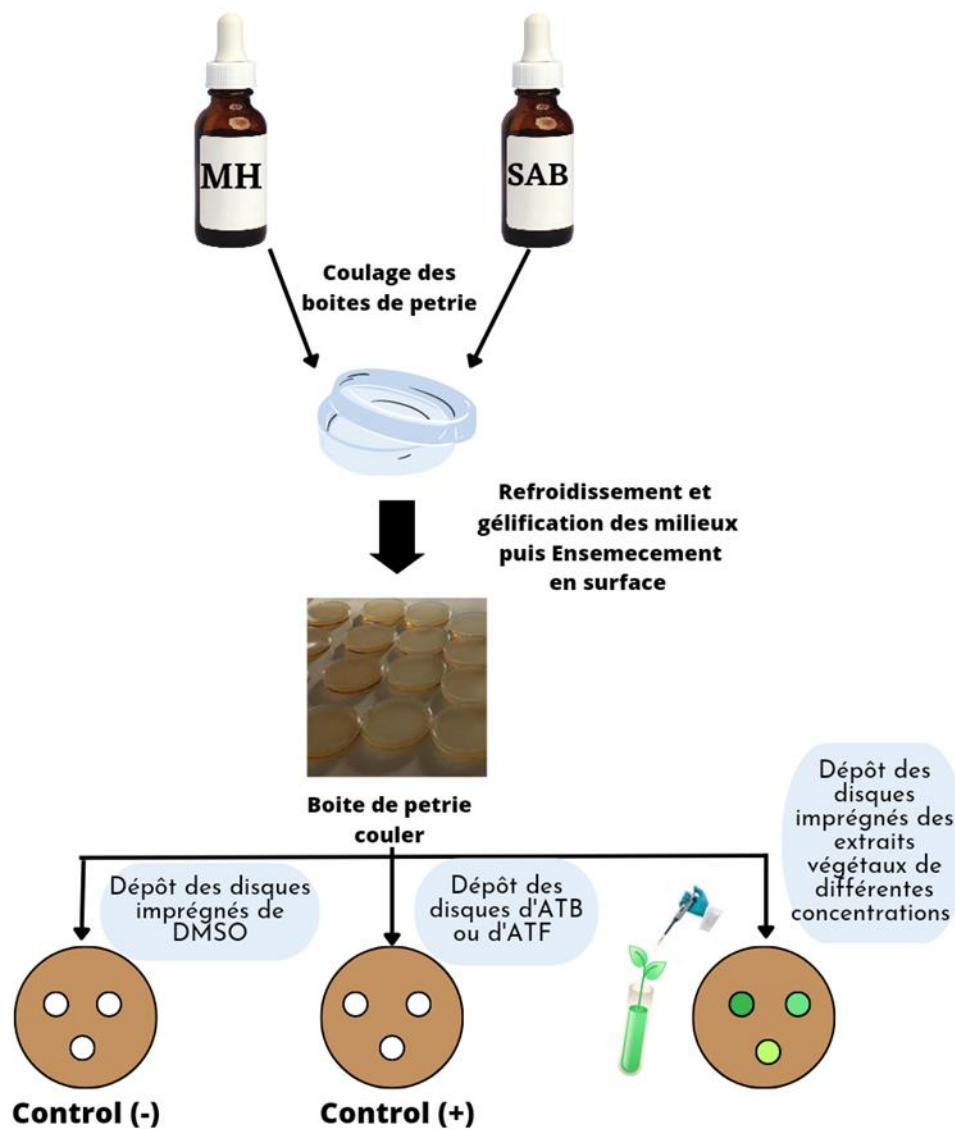
- La méthode de diffusion sur gélose.
- La méthode de micro dilution en milieu liquide pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB).

### II .2.2.1. Test de l'activité microbienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques stériles appelée méthode d'aromatogramme.

La gélose de Muller Hinton et Sabouraud stérile a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles, les boîtes ont été disposées sur une surface plane afin d'assurer une bonne uniformisation de la surface de la gélose (**fig 10**).

Le principe de cette méthode repose sur le pouvoir de diffusion des huiles essentielles sur milieu solide.



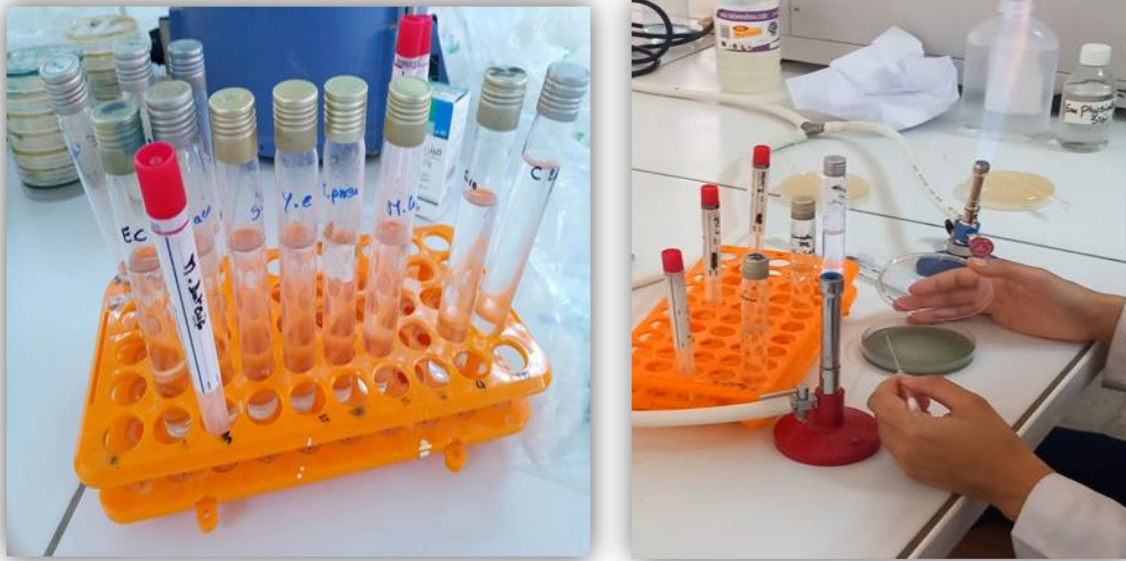
**Figure 10:** Schéma de la méthode de diffusion sur milieu gélose en utilisant des disques.

### II. 2.2.1.1. Préparation des milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour réaliser l'activité antimicrobienne sont : Mueller Hinton et Sabouraud (**Annexe II**).

### II .2.2.1.2. Préparation de l'inoculum

A partir des boîtes contenant les germes pathogènes fournis par Mme El Houiti Fatiha, nous avons préparé des suspensions microbiennes pour chaque espèce. À l'aide d'une pipette pasteur nous avons prélevé deux ou trois colonies pures et bien isolées. Ces dernières sont mises dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique stérilisé (**fig 11**). Après agitation au vortex, la densité optique de la suspension a été ajustée entre (0,05 à 0,1) à une longueur d'onde de 625nm l'équivalent de  $10^8$  UFc/ml pour les bactéries et  $10^5$  UFc/ml pour les champignons.



**Figure 11:** Préparation de l'inoculum (**Photo prise le 12 décembre 2022**).

### II. 2.2.1.3. L'ensemencement

L'ensemencement doit se faire juste après quelques minutes après la préparation de l'inoculum, et se fait selon les étapes suivantes :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement et en tournant sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose MH (pour les bactéries) et sur le milieu Sabouraud (pour les levures), de haut en bas. Nous avons répété l'opération trois fois en tournant la boîte de pétri 60° à chaque fois (**fig 12**).
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. les boites sont laissées pendant 15 à 20 min pour qu'elles sèchent et pour assurer une bonne diffusion avec des zones d'inhibition bien rondes.



**Figure 12:** L'ensemencement (Photo prise le 12 décembre 2022).

#### II. 2.2.1.4. Préparation des disques

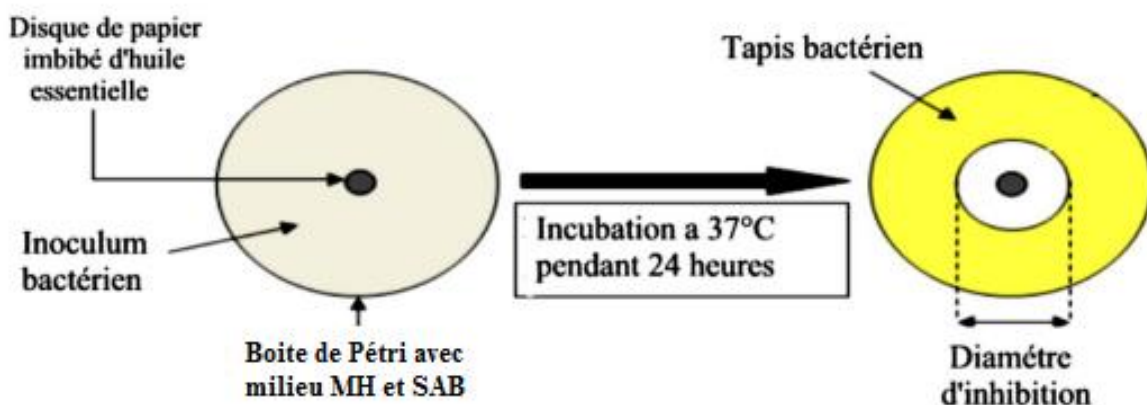
Des disques stériles de papier Whatman de 6 mm de diamètre sont placés aseptiquement (avec une pince stérilisée) à la surface du milieu solide (MH et SAB), dans les boîtes de pétri préalablement ensemencé avec une suspension microbienne. Ensuite, les disques sont imbibés à l'aide d'une micropipette (**fig 13**) par 10 $\mu$ l de différente concentration de l'HE allant de (0,948mg/ml, 0,474 mg/ml, 0,1896 mg/ml) ; (0.846 mg/ml, 0.423 mg/ml, 0.1692 mg/ml) ; (0.876 mg/ml, 0.438 mg/ml, 0.1752 mg/ml) de chaque extrait respectivement.



**Figure 13:** L'ajout de différentes concentrations d'huile essentielles sur les disques. (Photo prise de 12 décembre 2022).

#### II .2.2.1.5. Incubation et lecture

Après dépôt des extraits, les boîtes sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 h. nous avons fait la lecture des antibiogrammes à l'aide d'un pied à coulisse, l'effet des extraits et de l'antibiotique se traduit par l'apparition d'une zone transparente autour de disque correspondant à l'absence de la croissance bactérienne et fongique (**fig 14**).



**Figure 14:** Principe de la méthode de diffusion par disque (Guinoiseau, 2010).

### II. 2.2.2. La méthode de micro dilution sur milieux liquide (Détermination des CMI et CMB)

Cette méthode a pour objectif la détermination des CMI à partir d'une gamme de concentration de nos extraits dans le milieu de culture liquide. La micro dilution est réalisée dans des plaques ELISA de 96 puits en polystyrène pur de haute qualité hautement transparente (fig 15).

Les échantillons d'huile essentielle sont dissous dans 50% de diméthylsulfoxyde (DMSO) afin de préparer une solution mère, la solution ainsi obtenue est agitée au vortex pendant 3min de sorte à avoir une bonne homogénéisation.

Les suspensions (bactérienne sont ajustées de la même façon que celle décrite dans l'aromatogramme). Le volume utilisé pour l'ensemencement étant de 100 µl dans toute la plaque.

Les plaques à 96 puits ont été préparées en distribuant dans chaque puits 100 µL de MH (pour les bactéries) et SAB (pour les levures). Par la suite, 100µl de la solution mère ( $C_0$  (extrait1)=473.3 mg/ml ;  $C_0$  (extrait2)= 423 mg/ml ;  $C_0$  (extrait3) = 438 mg/ml) a été déposé dans les premiers puits des rangées de (A à H) puis des dilutions en série ont été faites de la colonne 1 à 6 à partir du premier puit pour les mêmes rangées.

Les puits de la colonne 7 à 12 contenant uniquement l'antibiotique de référence « Amoxicilline, Pénicilline » (10 mg) en poudre diluée dans 1ml d'eau distillée, et utilisé comme un contrôle positif colonne.

Après 24 h à 37°C, un volume de 40µl solution d'Iodonitrotetrazolium chloride (INT) est ajouté dans tous les puits.

La plaque est incubée pendant 5 à 30 minutes, jusqu'à ce qu'il y ait un changement de couleur. Les cellules viables réduisent le réactif à une couleur rose/violette, alors qu'aucun changement de couleur indique une inhibition de la croissance bactérienne et fongique (Mfengwana et Mashele.,2016).

Après avoir révélé la CMI, nous avons procédé à la détermination de la CMB. Cette dernière a été déterminée en repiquant les puits limpides sans croissance visible à l'œil nu (non colorés après l'ajout de l'INT) par ensemencement sur une boîte de pétrie gélosée. Après incubation pendant 24 heures, les boîtes où il n'avait pas eu de croissance microbienne correspondent aux concentrations des extraits qui représentent les CMB.

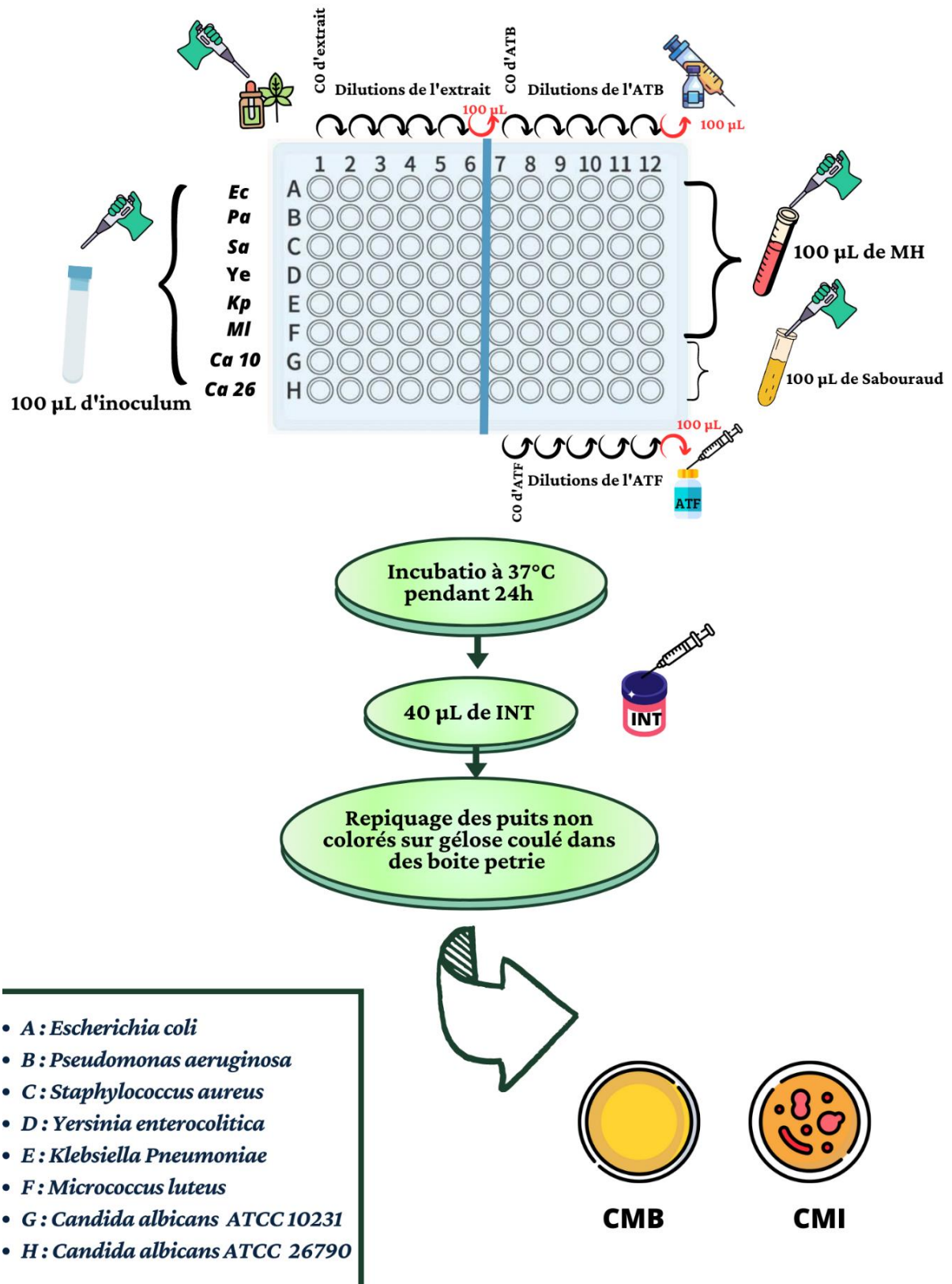


Figure 15: Schéma de la méthode de micro dilution sur milieu liquide.

---

## *Résultats et discussion*

---

## Partie III : Résultats et discussions

### III.1. Rendement de l'extraction

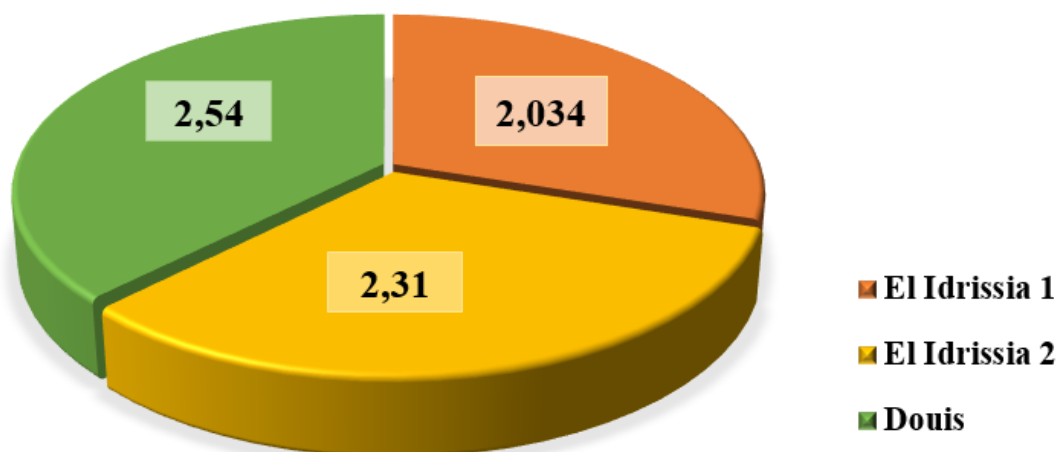
Le rendement en huiles essentielles extraites par la méthode d'hydro distillation de la partie aérienne de nos plantes (*M. aquatica*) est exprimé en pourcentage massique par rapport à la matière végétale.

Il est représenté dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 02:** Le rendement en (%) des différents extraits étudiés.

Extraits	Extrait 01	Extrait 02	Extrait 03
Rendement %	2.034	2.21	2.54

### RENDEMENT %



**Figure 16:** Comparaison entre les rendements en % des différents extraits.

D'après ce tableau, Les résultats ont donné des rendements variables entre 2.034% et 2.54 %, nous avons constaté que la partie aérienne de *M.aquatica* de Douis a donné un rendement élevé (2.54%) (m/m) par rapport à celle de *M.aquatica* de El Idrissia 2 et El Idrissia 1 (2.31%) (m/m) et (2.034) (m/m) respectivement (**fig 16**). Le rendement en huile essentielle des trois plantes varie peu et on peut considérer que cette plante est riche en huiles essentielles.

Ces rendements sont acceptables selon **Montes et al., (1986)**, ils rapportent que *Mentha pulegium* de provenance de Chili a un rendement en huile essentielle de 2,3%. Par ailleurs, **Sivropoulou et al., (1995)** ont obtenu une teneur en huile essentielle de *Mentha pulegium* récoltée dans trois stations en Grèce, variant de 1,6 à 2%. Egalement, **Derwich et al.,** ont défini pour un échantillon de Maroc un rendement de 1,66%. D'autres travaux ont déterminé le rendement de l'HE de *Mentha piperita* de la région d'El Hadjeb (Laghouat) varie entre 1,67% et 2% (m/m) (**Djaber et al., 2019**).

Ces rendements sont supérieurs à ceux rapporté par **Meziani (2015)**, il a révélé un rendement de 0,81 % pour l'huile essentielle de *Mentha aquatica* et **Benabdallah, (2017)**, a obtenu un rendement de 1% pour l *Mentha piperita* de la région d'El-Kala (El Tarf). Tandis qu'en Tunisie, **Soilhi et al., (2019)** ont obtenu un rendement égal à 1,7 %. Ce taux est très proche de celui déterminé par **Bengana (2018)** qui est de 1,67% pour la même espèce. De même, **Abadlia et al., 2014** qui ont déterminé une teneur de 0.64 % pour l'échantillon de *Mentha piperita* de la région de Tidis (Constantine).

Nos résultats pour la *M.aquatica* sont clairement similaires à ceux mentionnés par **Ben Ayad, (2008)** dans une étude sur la menthe marocaine.

**Derwich et al., 2010 et Ait-Ouazzou et al., 2012)** ont révélé une teneur en huile essentielle supérieure à celle de nos échantillons pour une valeur de 2,7%. Aussi, **Benabed et al., 2011** a obtenu une teneur de 1,46 % pour un échantillon de la région d'Aflou, **Beghidja et al., 2007** ont déterminé des rendements entre 1,16 et 2,19% pour des échantillons de *Mentha pulegium* de l'est algérien. Un taux plus fort de 3,25% a été déterminé pour un échantillon collecté dans la région de Kerman, en Iran (**Moghtader, 2013**).

D'après ces résultats, nous avons observé qu'il y a des différences de rendement en huile essentielle d'une région à une autre et au sein du genre. Selon **Kelen et Tep (2008)**, ces différences peuvent être expliquées par plusieurs facteurs la période de récolte, le climat, la zone géographique, l'organe utilisé, la période de séchage, l'âge du matériel végétal et la technique d'extraction.

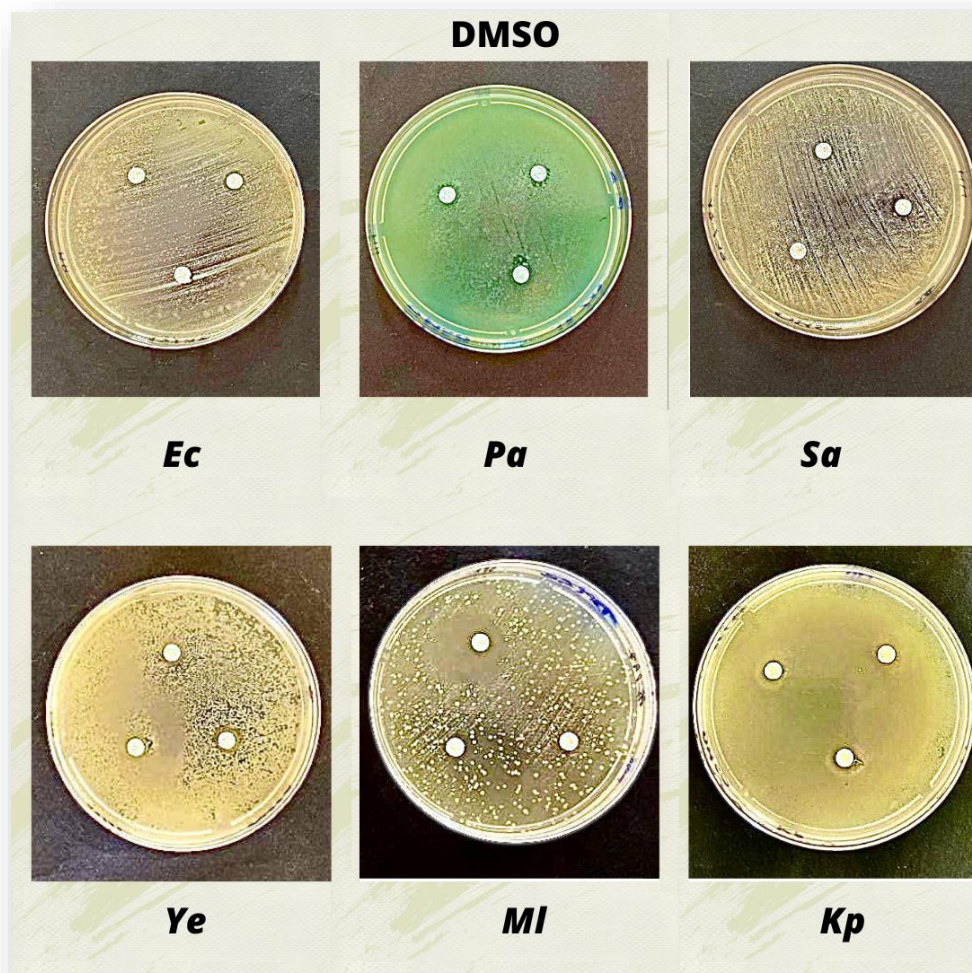
### III.2. Résultats de l'activité antimicrobienne

Les tests du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles des espèces du genre *Mentha* provenant de trois régions différentes, ont été réalisés par la méthode de l'aromatogramme.

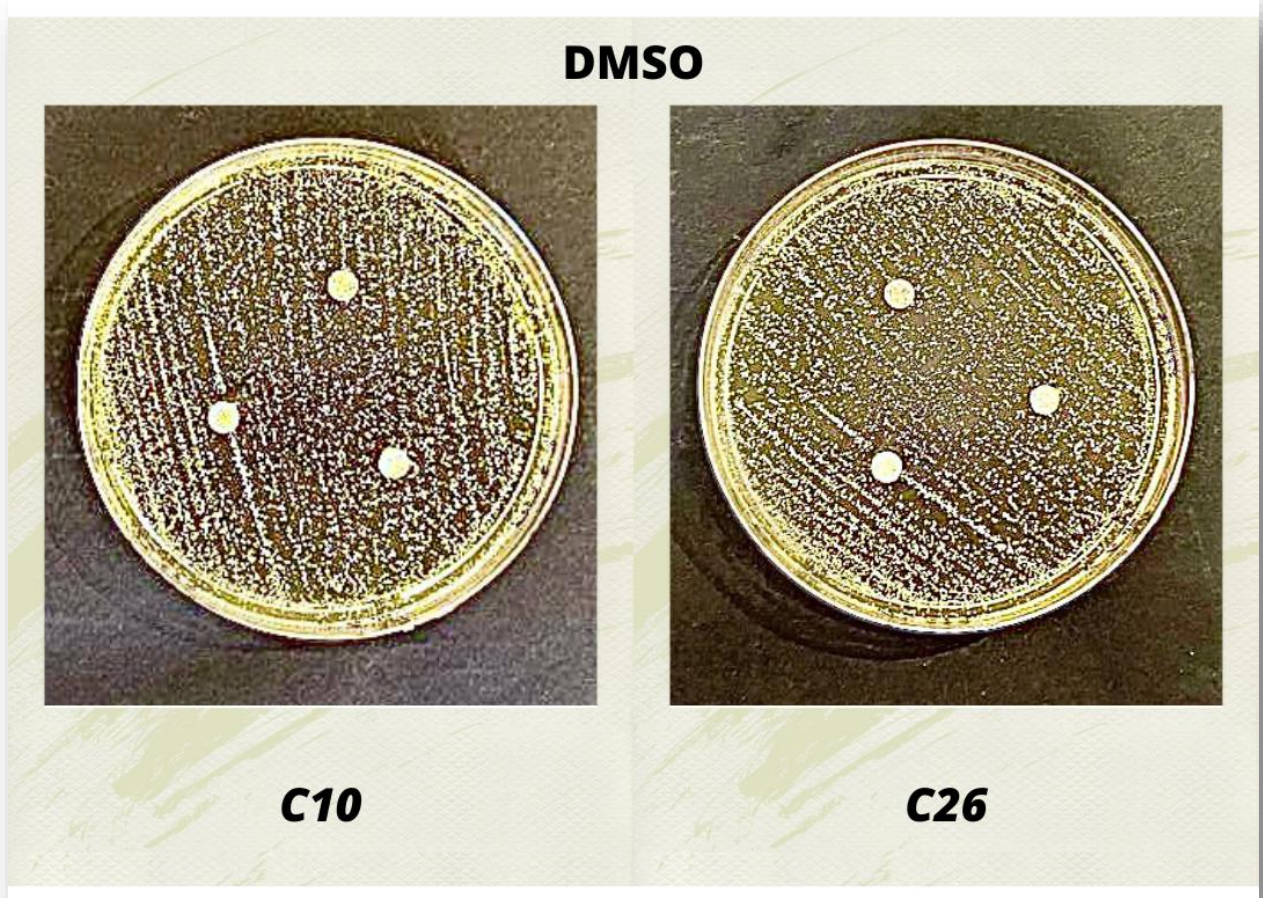
Par la suite, la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été estimée ; par la méthode de dilution sur milieu liquide.

#### ➤ Témoins négatifs réalisés avec le DMSO

Les résultats des témoins négatifs réalisés avec le DMSO sur les six souches bactériennes et deux souches levure testées pour l'activité antimicrobienne des HES de *Mentha aquatica* L. (**fig17, 18**) sont présentés ci-dessous :



**Figure 17:** Effet neutre du DMSO sur les souches bactériennes étudiées.



**Figure 18:** Effet neutre du DMSO sur les souches fongiques étudiées.

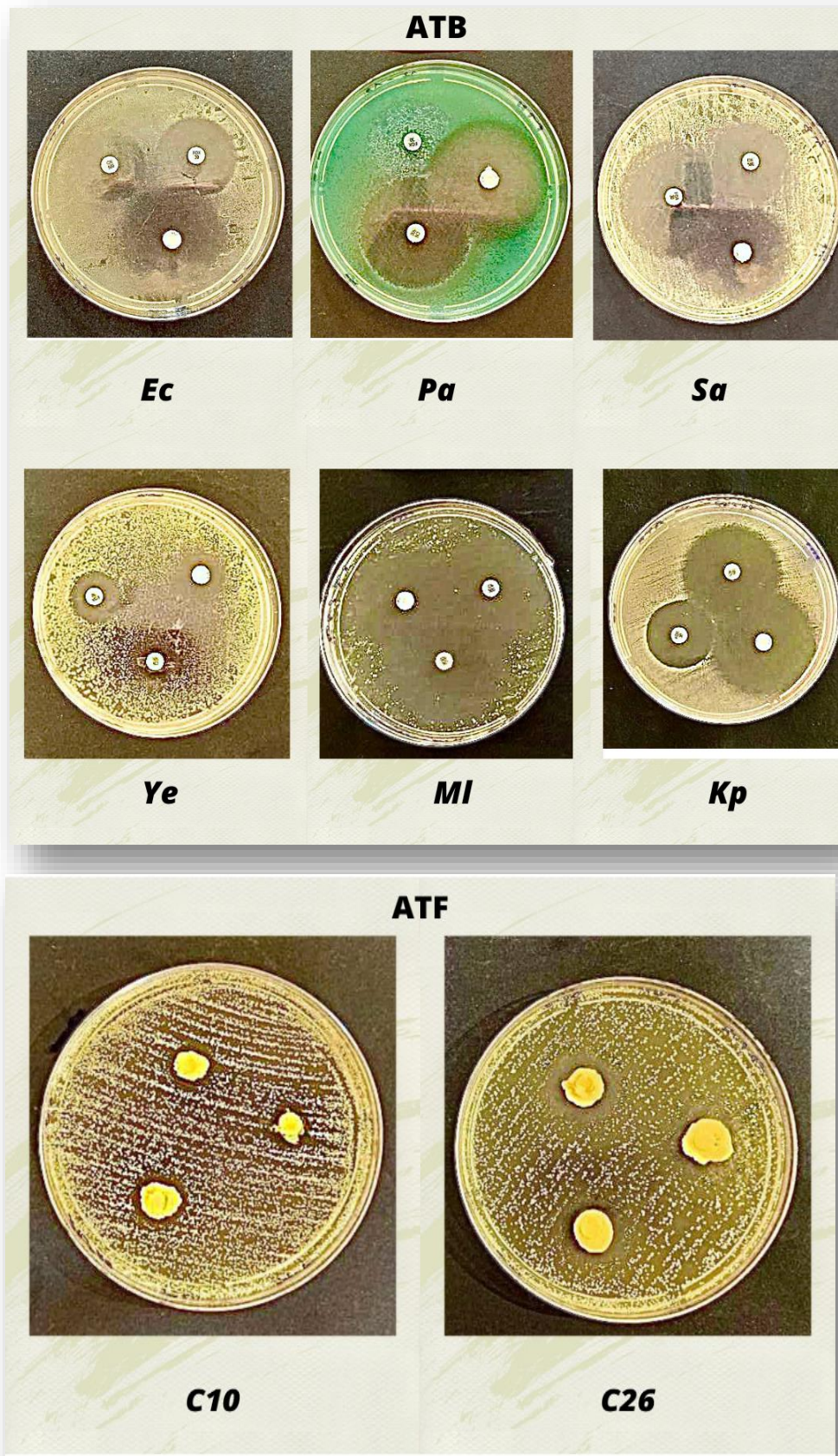
A partir de la figure ci-dessus nous déduisons que le DMSO n'a pas d'effet antimicrobien sur les souches testées donc ce dernier est inerte vis-à-vis des souches testées et nous pouvons l'utiliser comme émulsifiant.

➤ **Témoins positifs (antibiogramme)**

L'antibiogramme est réalisé dans le but de tester la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes et fongiques vis-à-vis des antibiotiques (témoin positif) (**fig 19**)

**Tableau 03:** Diamètre de zones d'inhibition en mm en présence de quelques antibiotiques.

Souches testées	diametre de la zone d'inhibition mm			
	Antibiotiques			Antifongiques
	Fox	CN	OF	FUNGi
<i>Escherichia coli</i>	25,5±0,5	23±0	35±2	
<i>Staphylococcus aureus</i>	39±1	26,5±0,5	33±1	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28±1	36±3	36,5±1,5	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	23,5±1,5	35,5±2,5	37,5±1,5	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	16,5±0,5	20±2	18,5±0,5	
<i>Micrococcus luteus</i>	24±4	39±1	34,5±0,5	
<i>Candida albicans</i> 10				
<i>Candida albicans</i> 26				18,3333±0,5773



**Figure 19:** Effet des antibiotiques sur les souches microbiennes étudiées.

Le (**Tableau 03**) reporte les valeurs, en millimètre, des zones d'inhibitions de la croissance des différentes souches étudiées.

Les résultats montrent que les huit antibiotiques possèdent des effets distincts sur les bactéries et champignon testées. Nous observons que les différentes souches bactériennes et fongiques réagissent différemment aux antibiotiques testés. D'après les résultats indiqués dans le (**Tableau03**), nous constatons que parmi les souches étudiées : *P. aeruginosa*, *E. coli*, *M. luteus*, *S. aureus* et *Klebsiella pneumoniae* se révèlent extrêmement sensibles vis-à-vis de la plupart des antibiotiques testés. La bactérie *Y. enterocolitica* est moins sensible aux antibiotiques testés. Alors que, *Candida albicans 26* est plus sensible au FUNGI par rapport à *Candida albicans 10*.

### III.3. Résultats de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur gélose

L'activité antimicrobienne des HEs de *M. aquatica* L. de trois régions, avec différentes concentrations ( $C_0$ , 1/2 et 1/5) a été estimée vis-à-vis des germes pathogènes : *S. aureus*, *M. luteus* (Gram+) ; *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Y. enterocolitica* (Gram-) et les deux levures *Candida albicans*, en termes de diamètre de zone d'inhibition autour des disques imbibés par ces HEs.

Ces diamètres entourant les disques sont alors mesurés, chaque zone claire, montre l'inhibition des germes pathogènes et donne une estimation du pouvoir antimicrobien des HEs utilisées.

Les résultats sont exprimés selon les niveaux d'activité :

- (-) **Résistant** ( $D < 8$ )
- (+) **Sensible** ( $8 > D > 14$ )
- (++) **Très sensible** ( $15 > D > 19$ )
- (+++) **Extrêmement sensible** ( $D > 20$ ) (**Ponce et al., 2003**).

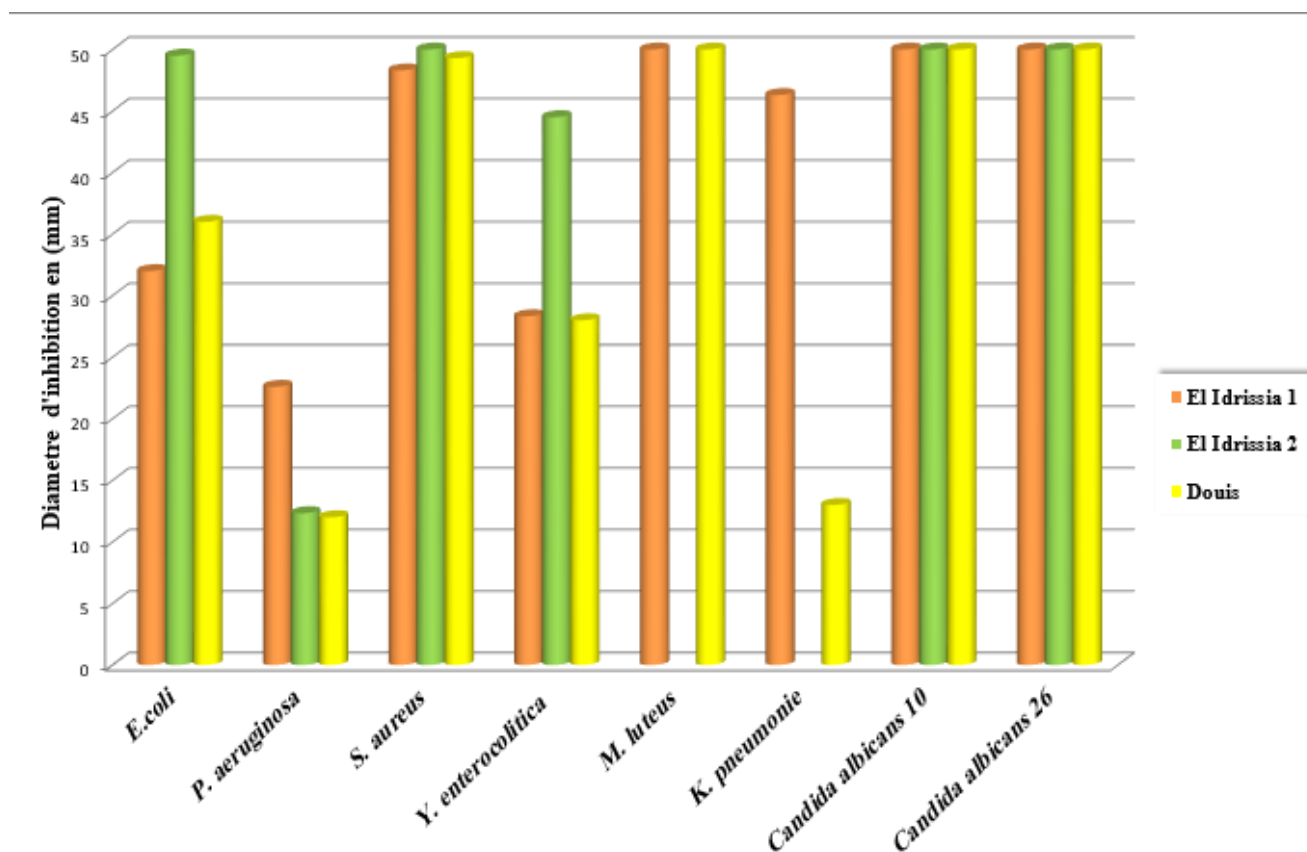
Les résultats des tests d'inhibition de l'activité microbienne sont regroupés dans le **tableau 4**.

	Extraits	Diamètres de la zone d'inhibition en (mm)								
		Extrait O1			Extrait O2			Extrait O3		
	Souches	C <sub>o</sub>	C1/2	C1/5	C <sub>o</sub>	C1/2	C1/5	C <sub>o</sub>	C1/2	C1/5
<b>Bactéries</b>	<i>Escherichia coli</i>	32±2 (+++)	21,5±2,5 (+++)	12±1 (+)	49,5±0,5 (+++)	28,6±2,51 (+++)	13,5±1,5 (+)	36±1 (+++)	29±1 (+++)	14±2 (+)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22,6±1,52 (+++)	15±2 (++)	7,3±0,5 (-)	12,3±1,52 (+)	10±1 (+)	5±1 (-)	12±2 (+)	8,33±1,52 (-)	7,6±1,52 (-)
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	28,3±1,89 (+++)	23,6±1,15 (+++)	14,5±0,5 (+)	44,5±0,5 (+++)	34±0 (+++)	11±1,73 (+)	28±1 (+++)	18,3±2,08 (++)	11,5±0,5 (+)
	<i>Klebsielle pneumoniae</i>	46,3±1,52 (+++)	16,6±1,15 (++)	13±1 (+)	/	/	/	13±1 (+)	11±1,73 (+)	10,6±0,57 (+)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	48,3±2,88 (+++)	44,5±1,5 (+++)	10±2 (+)	50±0 (+++)	47±2,64 (+++)	20,5±0,5 (+++)	49,3±1,15 (+++)	44±1 (+++)	15±1 (++)
	<i>Micrococcus luteus</i>	50±0 (+++)	50±0 (+++)	30,6±1,52 (+++)	/	/	/	50±0 (+++)	50±0 (+++)	32,3±2,30 (+++)
<b>Levures</b>	<i>Candida albicans 10</i>	50±0 (+++)	50±0 (+++)	29±1 (+++)	50±0 (+++)	50±0 (+++)	50±0 (+++)	50±0 (+++)	36,5±2,5 (+++)	12,5±0,5 (+)
	<i>Candida albicans 26</i>	50±0 (+++)	50±0 (+++)	45±0 (+++)	50±0 (+++)	50±0 (+++)	24,83±0,76 (+++)	50±0 (+++)	50±0 (+++)	31±1 (+++)

**Tableau 04:** Résultats des diamètres d'inhibition en mm (moyenne ± l'écart type) de l'activité antimicrobienne de l'HE de *mentha aquatica* L.

L'histogramme ci-dessous représente les moyennes des diamètres d'inhibitions de chaque extrait en fonction des souches étudiées, nous avons obtenus des diamètres des zones d'inhibition allant de 5 à 50 mm (fig 20).

Selon le tableau ci-dessus, nos résultats montrent que la concentration initiale ( $C_0$ ) est la plus active pour tous les extraits. Donc nos comparaisons sont par rapport à cette concentration.



**Figure 20:** Représentation graphique du test de sensibilité des souches microbiennes vis-à-vis des trois huiles essentielles testés ; *Mentha aquatica*.

Selon **Kalemba et Kunicka (2003)**, la sensibilité d'un microorganisme aux huiles essentielles dépend de la propriété de l'huile essentielle et du microorganisme lui-même. Il est bien connu que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries à Gram négatif. Plusieurs études testant l'activité inhibitrice des HE confirment ces résultats (**Poole, 2004 ; Burt, 2004 et Busatta et al., 2008**).

Les résultats de notre étude pour les huiles essentielles de *Mentha aquatica* des échantillons de Djelfa : El Idrissia 1 ; El Idrissia 2 ; Douis, ont montré une bonne activité sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, sauf pour *Pseudomonas aeruginosa* qui s'est montré la plus résistante lors de notre étude pour HEs de El Idrissia 2 et Douis. Également, *Klebsiella pneumoniae* résistante pour HE de Douis.

D'après l'histogramme et le tableau 04 nous avons constaté que l'HE de la menthe aquatique de El Idrissia 1 ; El Idrissia 2 ; Douis possèdent un fort pouvoir antimicrobien contre *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, et les deux levures *Candida albicans* 10 et *Candida albicans* 26, ainsi qu'une activité moyenne pour les autres souches (fig 21, 22,23).

Ces mêmes échantillons d'huiles essentielles de *mentha aquatica* ont révélé une activité antimicrobienne intéressante contre les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (Senatore et al., 2005).

Concernant l'activité de HE de *Mentha aquatica* L. d'El Idrissa 1 ; l'huile a réagi positivement sur l'ensemble des bactéries testées avec des diamètres d'inhibitions allant de 22,6 à 50mm. Les souches : *Micrococcus luteus* et *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae* sont les plus sensibles avec des diamètres d'inhibitions de 50mm, 48,30mm et 46,30mm respectivement.

Nos résultats coïncident avec ceux de Billerbeck (2007) ayant étudié l'activité antibactérienne d'un ensemble d'HE dont la menthe poivrée, elle est extrêmement active contre *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition supérieur à 40mm, mais *Pseudomonas aeruginosa* est juste sensible à cette HE.

Pour *Pseudomonas aeruginosa*, une faible sensibilité n'a été révélée vis-à-vis des deux dilutions d'HE testées, pour les deux régions El Idrissia 2 et Douis. Cette souche possède un potentiel de résistance très élevé contre l'action antimicrobienne de nos huiles. Ce comportement n'est pas surprenant car elle possède une résistance intrinsèque à une large gamme de biocides (Bekhechi et al., 2008 ; Billerbeck, 2007). Par contre une inhibition très significative a été observée pour *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* et *Escherichia coli* qui manifeste une sensibilité relativement élevée, ces trois espèces sont les plus sensibles.

Nos résultats sont en accord avec ceux de Yadegarinia et ses collaborateurs (2006), qui ont étudié l'activité de l'HE de la menthe poivrée sur trois germes (*Escherichia coli*,

*Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*). *Candida albicans* était le micro- organisme le plus sensible, qui a montré une grande vulnérabilité vis-à-vis de cette HE. Ces chercheurs ont suggéré la possibilité d'application de l'HE de la menthe poivrée dans le traitement des infections causées par *C. albicans* et *E. coli*.

Selon l'étude de (Monggoot *et al.*, 2016), sur les huiles essentielles de menthe poivrée slovaque. Ils ont montré une activité antibactérienne contre toutes les souches bactériennes sélectionnées. La plus sensible était la souche *E. coli* (10 mm). Le moins sensible était *K. pneumoniae* pour HE slovaque ( $7,0 \pm 0,6$  mm).

En effet, une comparaison entre les huiles essentielles de *Mentha aquatica* des trois stations (El Idrissia1, El Idrissia2, Douis) montre qu'elles sont toutes extrêmement efficaces contre les différents types des souches.

Globalement, nous avons remarqué que l'huile de Douisa une activité antimicrobienne faible par rapport à l'activité de l'HE d'El Idrissia 1 et El Idrissia 2 contre les souches testées.

Nous avons remarqué une petite différence dans les valeurs de diamètre d'inhibition sur les souches étudiées, cette variation de pouvoir microbien peut être due à la composition chimique de chaque extrait et à la différence régions.



**E 1 / *Escherichia coli***



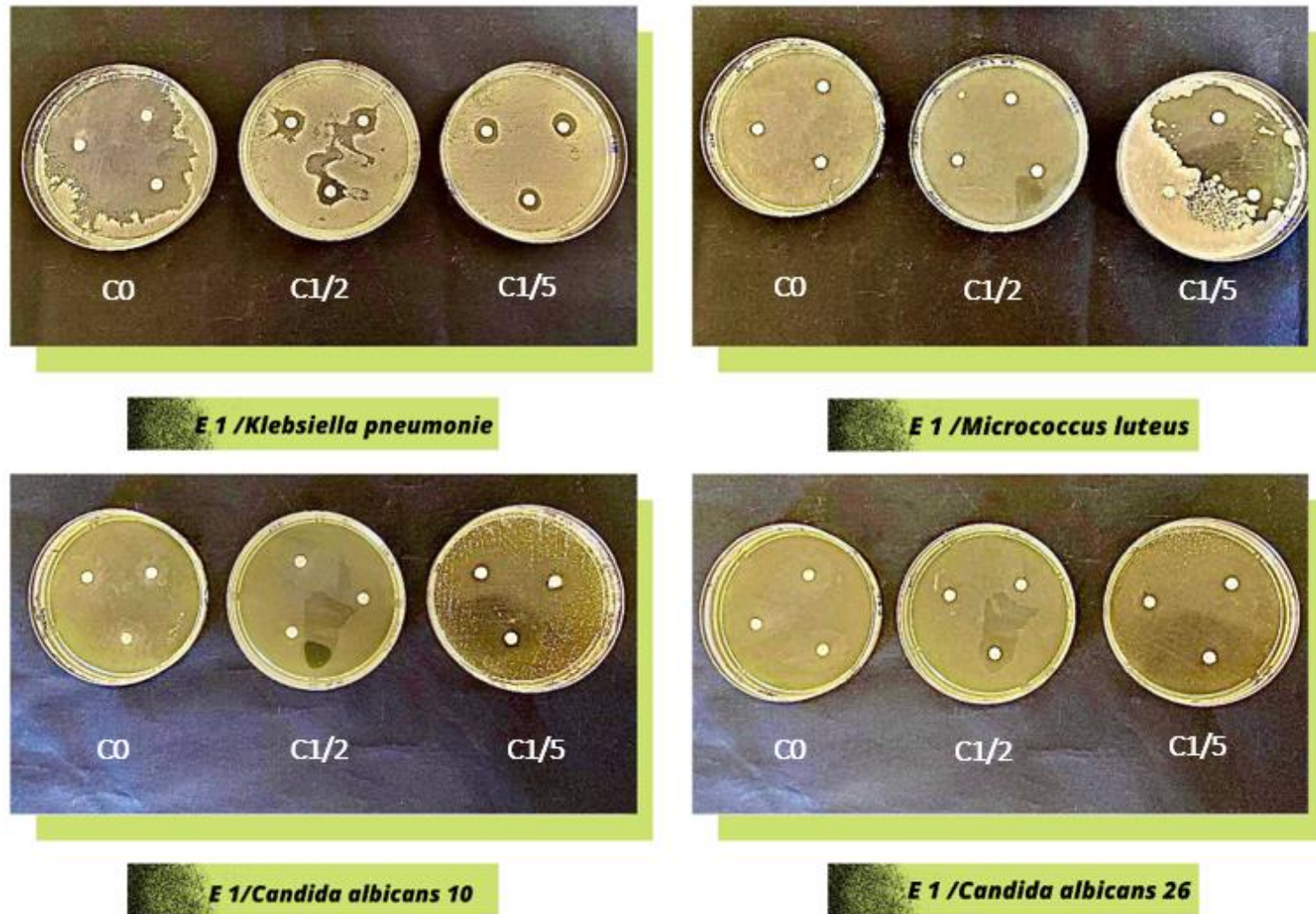
**E 1 / *Pseudomonas aeruginosa***



**E 1 / *Yersinia enterocolitica***



**E 1 / *Staphylococcus aureus***



**Figure 21:** Effet de l'huile essentielle de *Mentha aquatica* de la région d'El Idrissia 1 sur la croissance des souches microbiennes.



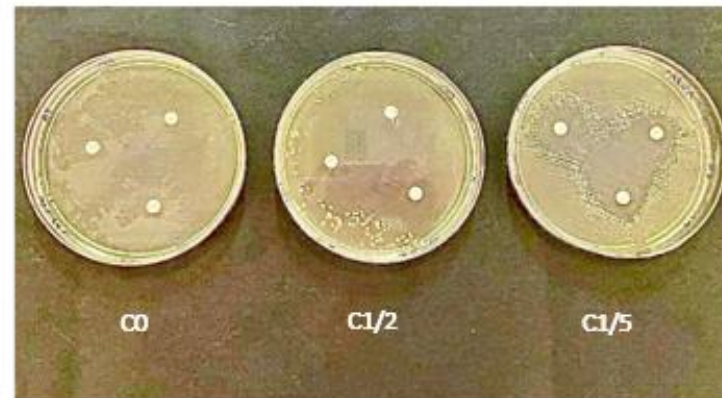
**E 2 / *Escherichia coli***



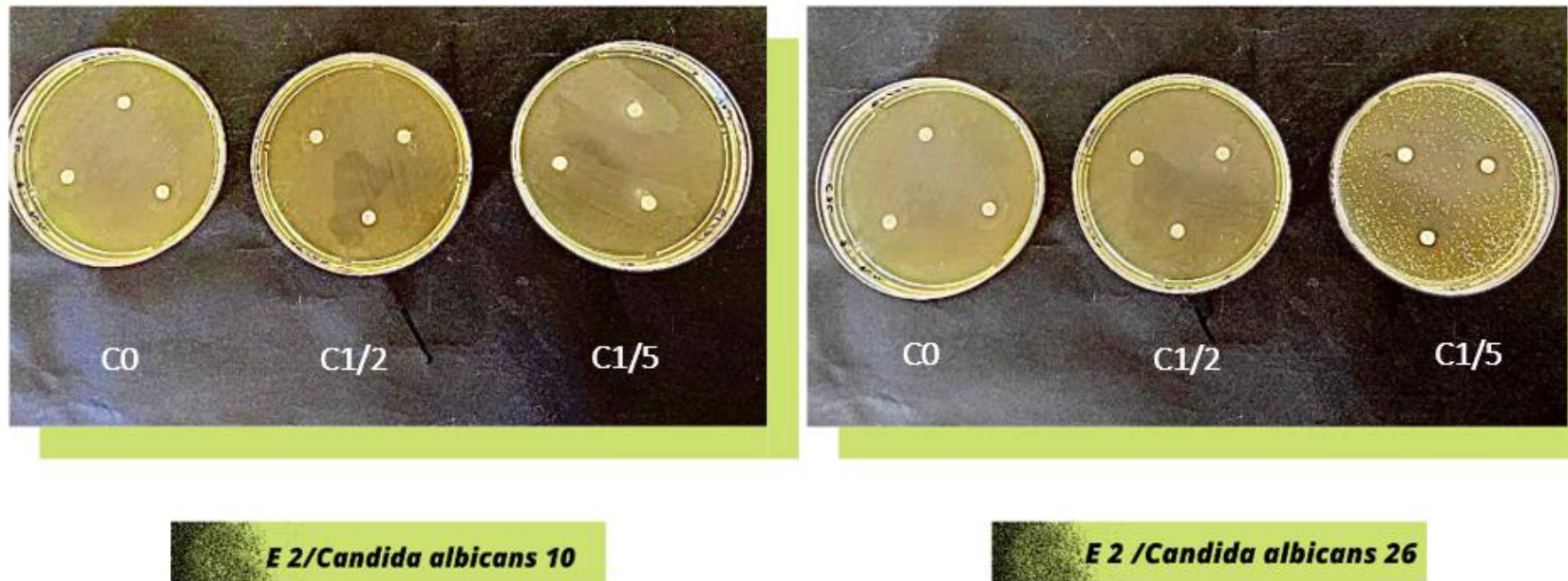
**E 2 / *Pseudomonas aeruginosa***



**E 2 / *Yersinia enterocolitica***



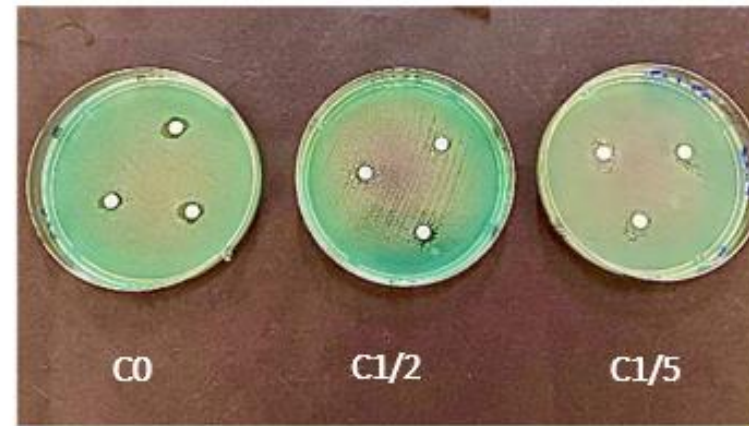
**E 2 / *Staphylococcus aureus***



**Figure 22:** Effet de l'huile essentielle de *Mentha aquatica* de la région d'El Idrissia 2 sur la croissance des souches microbiennes.



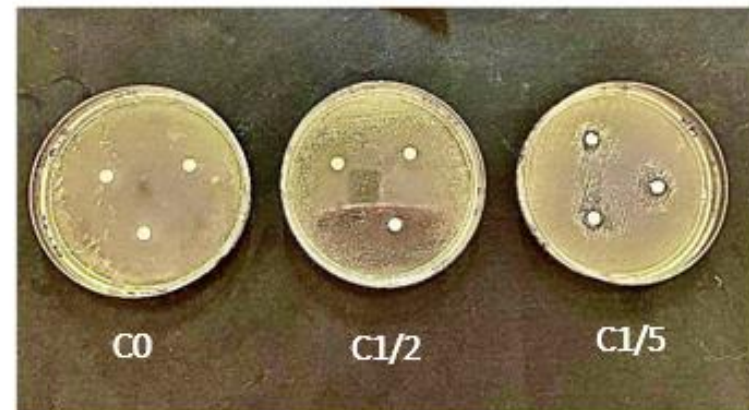
**E 3 / *Escherichia coli***



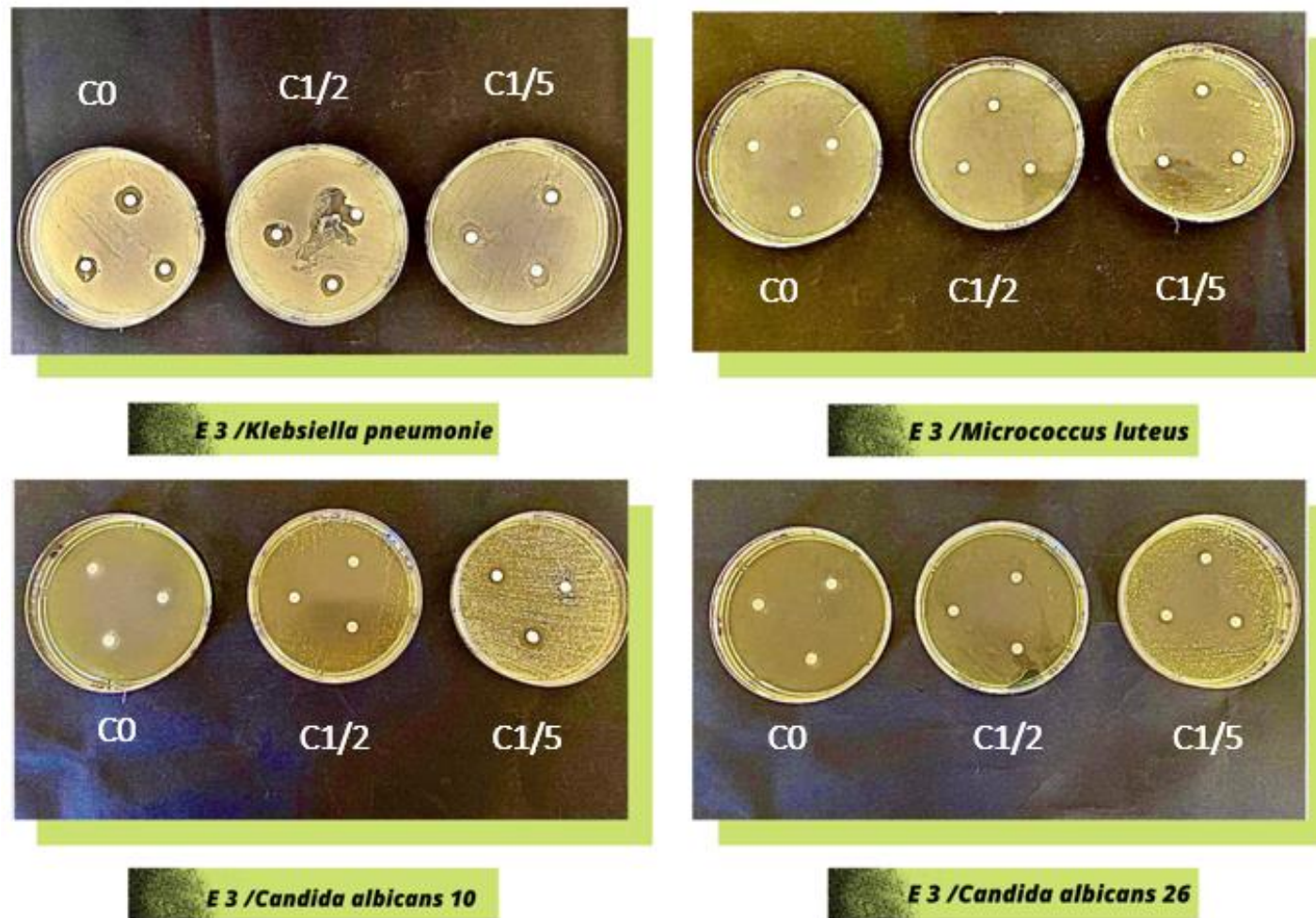
**E 3 / *Pseudomonas aeruginosa***



**E 3 / *Yersinia enterocolitica***



**E 3 / *Staphylococcus aureus***



**Figure 23:** Effet de l'huile essentielle de *Mentha aquatica* de la région de Douis sur la croissance des souches microbiennes.

### III.4. Les résultats de la Détermination de la CMI

Suite aux résultats prometteurs obtenus lors de la méthode de diffusion, il a été nécessaire d'affirmer l'activité antimicrobienne de nos huiles essentielles vis-à-vis des six souches microbiennes testées par la détermination de la CMI (concentrations minimales inhibitrice), la CMB (concentrations minimales bactéricide) et la CMF (concentration minimale fongicide), nous avons utilisé la méthode de micro dilution en milieu liquide (**Tableau 05**).

Le rapport CMB/CMI a été calculé afin de définir le caractère bactériostatique ou bactéricide des huiles essentielles (**fig 24, 25**).

**Tableau 05:** Les concentrations minimales inhibitrices et les concentrations minimales bactéricides et fongicides des huiles essentielles de la menthe aquatique (en mg/ml).

Bacterie	El Idrissia 1			El Idrissia 2			Douis 3		
	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
<i>E. coli</i>	7,39	14,79	2	26,42	52,87	2	3,42	6,84	2
<i>S. aureus</i>	59,16	118,32	2	13,12	26,43	2	109,5	219	2
<i>P. aeruginosa</i>	118,32	236,45	2	/	/		109,5	219	2
<i>Y. enterocolitica</i>	59,16	118,32	2	/	/		109,5	219	2
<i>K. pneumonie</i>	59,16	118,32	2	/	/		54,75	109,5	2
<i>M. luteus</i>	29,58	59,16	2	/	/		54,75	109,5	2
Champignon	CMI	CMF	CMF/CMI	CMI	CMF	CMF/CMI	CMI	CMF	CMF/CMI
<i>C. albicans 10</i>	29,58	59,16	2	3,30	6,60	2	6,84	13,68	2
<i>C. albicans 26</i>	29,58	59,16	2	/	/		13,68	27,37	2

D'après le tableau 05, nous observons que les valeurs de CMI varient d'une souche à une autre et d'un extrait à l'autre. Les CMI de **El Idrissia 1**, **El Idrissia 2** et **Douis** sont compris entre (7,39-118,32mg/ml), (3,30-26,43mg/ml) et (3,42-109,5mg/ml) respectivement.

Nous constatons que *Escherchia coli*, *Candida albicans* sont les micro-organismes les plus sensibles, par contre la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* s'est avérée la plus résistante, elle montre une valeur de CMI trop élevées définie par 118,32 mg/ml.

Plus la concentration nécessaire est élevée et plus la CMI est forte et moins le germe est sensible et chaque extrait sa CMI.

Selon les travaux effectués par **Satmi et Hossain (2016)**, l'HE essentielle de la menthe poivrée possède un important pouvoir antimicrobien contre *Escherchia coli* avec une CMI de 2,5 mg/ml. Ces résultats concordent avec les nôtre sur l'extrait de Douis, qui est d'une valeur de CMI estimée à 3,42mg/ml.

Nous avons noté que le pouvoir antifongique des différents extraits d'HE varie en fonction de la région de collecte. Les concentrations minimales inhibitrice varie de 3,30 à 29,58mg/ml, ont un large spectre d'action contre les candidas.

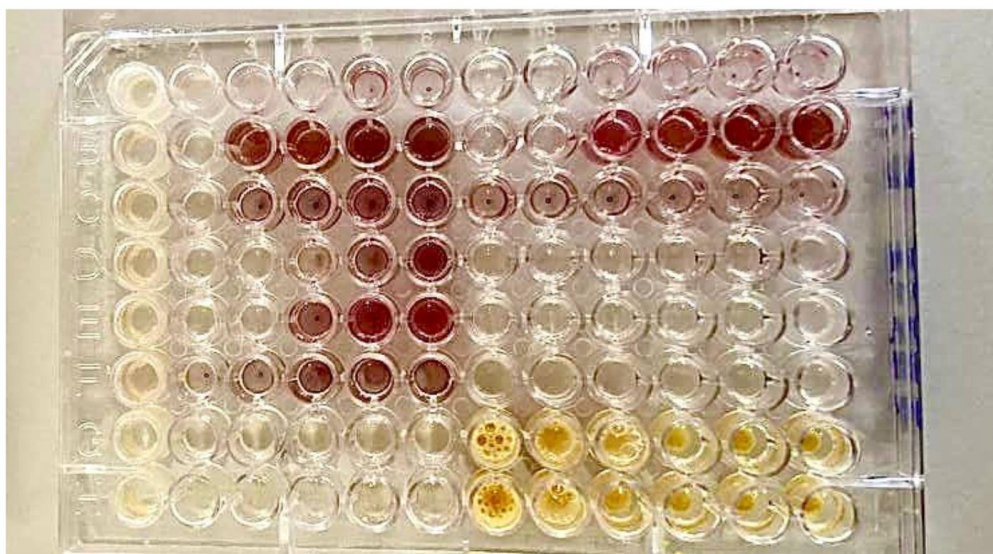
Selon l'étude réalisée par **Ismaili et al., (2014)**, l'évaluation de l'activité antifongique des HES de trois plantes aromatiques marocaine a montré une variation d'inhibition due à de nombreux facteurs, notamment la nature et la concentration de l'huile essentielle, ainsi que la souche fongique étudiée.

Afin d'évaluer l'activité de nos huiles essentielles en terme bactéricides ou bactériostatique, le rapport CMB/CMI a été calculé selon **Oussou et al., (2008)** : l'huile essentielle est considérée comme substance bactéricide si le rapport CMB/CMI est inférieur à 4 et bactériostatique si le rapport CMB/CMI est supérieur à 4. Les valeurs du rapport CMB/CMI sont illustrées dans le **Tableau 05**.

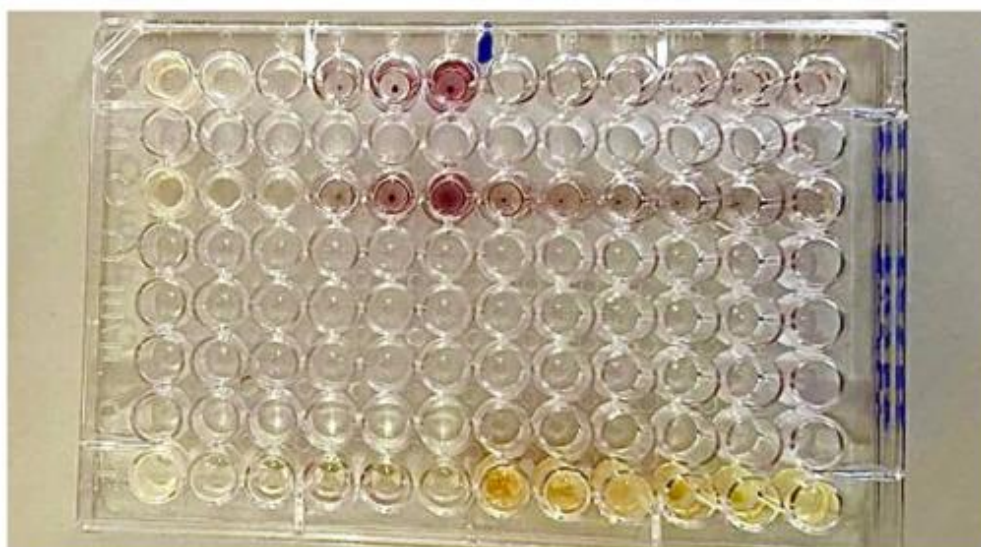
La totalité des résultats mentionnent que nos huiles sont dotées d'un pouvoir bactéricide sur les espèces bactériennes étudiées (le rapport CMB/CMI est inférieur à 4). Le pouvoir bactéricide ainsi que les différences observées pour les valeurs de CMI peuvent être expliqué par la présence de composés à activité antibactérienne dans ces huiles à différentes concentrations.

En effet, lorsque le rapport de l'activité CMF/CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égale à un ( $\leq 1$ ), cette dernière est qualifiée de substance fongicide et si le rapport CMF/CMI est supérieur à un ( $> 1$ ), alors elle est dite fongistatique (**Carson,et al., 2002**).

En conséquence, les extraits de cette plante peuvent être classés comme un agent antifongique (antifongistatique) puissant pour lutter contre certaines maladies, car le rapport CMF / CMI supérieur à 1.

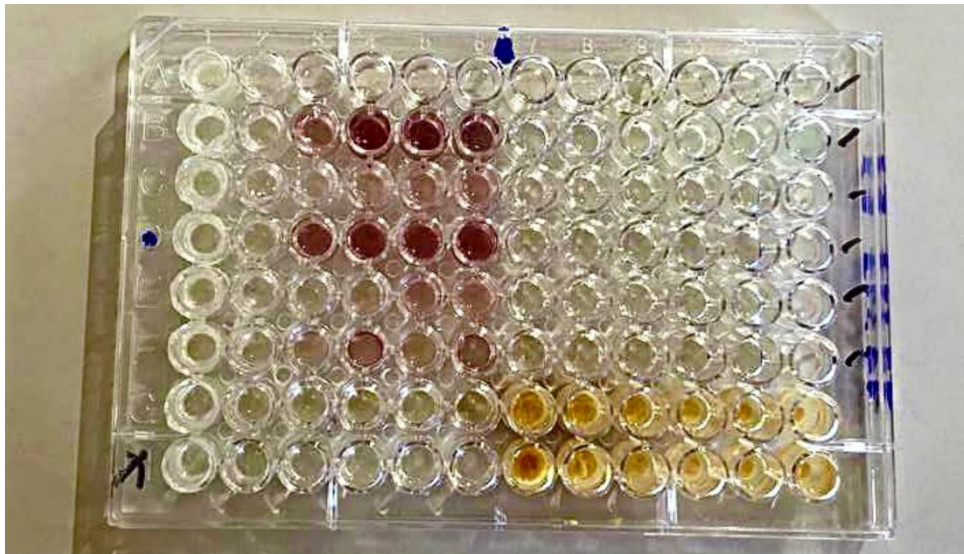


## El Idrissia 1



## El Idrissia 2

**Figure 24:** Détermination de la Concentration minimal inhibitrice des huiles essentielles de *Mentha aquatica* de la région d'El idrissia 1 et d'El idrissia 2 vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de micro-dilution.



## Douis

**Figure 25:** Détermination de la Concentration Minimal Inhibitrice des huiles essentielles de *Mentha aquatica* de la région de Douis vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de micro-dilution.

# *Conclusion et perspectives*

---

## Conclusion et perspectives

Vu l'émergence de la résistance microbienne aux antibiotiques des alternatives doivent être mises en place pour remédier à ce problème, les huiles essentielles sont dotées d'activités biologiques importantes et constituent un très bon moyen de lutte contre cette résistance.

Dans ce contexte notre travail a été réalisé afin de tester le pouvoir antimicrobien de trois huiles essentielles de la menthe aquatique (*Mentha aquatica* L.). Afin d'effectuer une étude comparative.

L'extraction des huiles essentielles des parties aériennes (tiges et feuilles) a été réalisée par la méthode d'hydro distillation en utilisant un appareil de type Clevenger, nous avons obtenu les rendements d'El Idrissia 1, El Idrissia 2 et Douis 2,034% 2,31% 2,54% respectivement.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de ces huiles essentielles par la méthode classique de diffusion en agar a été utilisée comme méthode approximative et les résultats sont ensuite complétés par la détermination des valeurs de CMI par la méthode de micro dilution en milieu liquide, la CMB à fin de déterminer l'effet bactériostatique ou bactéricide et CMF à fin de déterminer l'effet fongicide ou fongistatique.

Les résultats obtenus montrent que l'activité antimicrobienne des trois huiles essentielles varie selon la souche bactérienne ou fongique testée, mais aussi selon l'HE elle-même, nous avons constaté que les souches pouvaient montrer une sensibilité assez importante pour l'HE de la menthe aquatique.

En matière d'activité antimicrobienne, les huiles essentielles de l'espèce *Mentha aquatica* ont montré un effet prometteur vis-à-vis de toutes les souches bactériennes testées. La souche *Escherichia coli* était très sensible à l'HE d'El Idrissia 2 par rapport à l'HE de la Douis et d'El Idrissia 1. Ce dernier avait une activité respectable sur *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* alors que les autres extraits présentent une activité faible vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*.

L'huile essentielle de la menthe aquatique avait aussi une très forte activité antifongique contre *Candida albicans*.

De ce fait, nous avons constaté que nos huiles essentielles possèdent des activités assez importantes contre plusieurs souches bactériennes pouvant causer des maladies graves, leur effet antimicrobien est comparable à celui des antibiotiques synthétiques utilisés actuellement

pour lutter contre les maladies que peuvent causer ces microorganismes, donc ces HEs peuvent remplacer les antibiotiques synthétiques et leurs effets indésirables. Ces HEs peuvent aussi être utilisés comme conservateurs pour les aliments, en cosmétiques, et cela en respectant des concentrations bien précises.

Les résultats des CMI déterminées lors de ce travail montrent qu'à des concentrations basses, surtout sur l'*Escherichia coli* et de *candida albicans* 10, ce qui signifie que cette huile a une activité antimicrobienne élevée.

Dans les perspectives de ce travail, il serait intéressant :

- ✓ Développer les connaissances sur les plantes Algériennes, car chaque espèce peut être considérée comme un réservoir important de gène et une source pour la recherche des produits à intérêt pharmacologiques ;
- ✓ D'approfondir l'analyse de la composition chimique des différents extraits obtenus, afin d'identifier les espèces chimiques responsables de leurs activités biologiques ;
- ✓ De faire des études sur d'autres activités biologiques *in vitro* telles que les activités antioxydantes et anti-inflammatoires ;
- ✓ Évaluer l'activité cytotoxique de ces extraits sur les lignées cellulaires avec différentes concentrations ;
- ✓ Une étude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue globale sur l'activité antimicrobienne des extraits testés et cela a pour but de pousser la recherche vers une valorisation plus complète du secteur des plantes aromatiques à effet thérapeutique.

---

# *Références bibliographiques*

---

## Références

### A

- **Abadlia, M., & Chebbour, A. (2014).** étude des huiles essentielles de la plante mentha piperita et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires. *Mémoire présentée à l'université de costantine1, faculté de science et de la nature,(2013/2014).*
- **Abdoulhousen, N. (1990).** *Romarin officinal, Rosmarinus officinalis L.(Lamiaceae): études botanique, chimique, pharmacologique et domaines d'application* (Doctoral dissertation).
- **AFNOR, (2006).** Association française de normalisation .Recueil de normes françaises. Huiles essentielles. 2ieme édition.
- **AFNOR Association Française de Normalisation, (2000).** *Recueil des normes françaises "huiles essentielles"*. Monographies relatives aux huiles essentielles, Paris.
- **Ainane, T., Khammour, F., Merghoub, N., Elabboubi, M., Charaf, S., Ainane, A., ... & Cherroud, S. (2019).** Cosmetic bio-product based on cinnamon essential oil "Cinnamomum verum" for the treatment of mycoses: Preparation, chemical analysis and antimicrobial activity. *MOJ Toxicol*, 5(1), 5-8.
- **Ait-Ouazzou, A., Lorán, S., Arakrak, A., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., ... & Conchello, P. (2012).** Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of Mentha pulegium, Juniperus phoenicea, and Cyperus longus essential oils from Morocco. *Food Research International*, 45(1), 313-319.
- **Amine, I. L., Salord, H., Gille, Y., Roure, C., Tigaud, S., Bajou, T., ... & L'KASSMI, H. (2008).** Pseudomonas aeruginosa et résistance isolée à l'imipenème : clone émergent en milieu hospitalier?. *Les technologies de laboratoire*, 3(11).
- **Asbahani A E, Miladi K, Badri W, Sala M, Aït Addi EH, Casabianca H, El Mousadik A,Hartmann D, Jilale A, Renaud FNR, Elaissari A. (2015).** *Essential oils: from extraction to encapsulation. International Journal of Pharmaceutics*, 483(1-2): 220-243.

## B

- **Baird-Parker, A. C. (1962).** A classification of micrococci and staphylococci based on physiological and biochemical tests.
- **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- **Bakri, C. (2021).** La place de la phytoremédiation dans les techniques de dépollution des sols de l'ancienne mine de mercure d'Azzaba (Utilisation de la Menthe Aquatique) (Doctoral dissertation, Ecole Nationale Supérieure des Mines et de la Métallurgie. Amar Laskri. Annaba).
- **Bardeau, F., & Fesneau, M. (2009).** La Médecine aromatique : propriétés et utilisations des huiles essentielles végétales. R. Laffont.
- **Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2009).** Handbook of essential oils: science, technology, and applications. CRC press.
- **Beghidja, N., Bouslimani, N., Benayache, F., Benayache, S., & Chalchat, J. C. (2007).** Composition of the oils from *Mentha pulegium* grown in different areas of the East of Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*, 43, 481-483.
- **Bekhechi, C., Atik-Bekkara, F., & Abdelouahid, D. E. (2008).** Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d' *Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie*, 6(3), 153-159.
- **Belaiche, P. (1979).** *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme* Ed. Maloine. Paris (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat Faculté de médecine dentaire de Rabat).
- **Benabed, K. (2011).** Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de quelques plantes de la famille des Lamiaceae. Mémoire de magister. (p. 28). Laghouat-Alger : Université Amar Telidji – Laghouat faculté des sciences et des sciences de l'ingénierat département de biologie.
- **Benabdellah, A., & Chaabane, R. (2017).** *Etude écophysiological, développement et importance des plantes médicinales du genre Mentha dans le Parc National d'El-Kala (Nord-Est Algérie)* (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).
- **Benayad, N. (2008).** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. *Projet de thèse*

de Doctorat de l'Université Mohammed V-Agdal, 61.

- **Bengana , K. (2018 )**. Etude de l'activité anti oxydant et composition chimique des huiles essentielles de quelques plantes de la famille de lamiacee. Mémoire de master , université de Laghouat ,68p.
- **Berthelot, P., Grattard, F., Mallaval, F. O., Ros, A., Lucht, F., & Pozzetto, B. (2005)**. Épidémiologie des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathologie Biologie*, **53(6)**, 341-348.
- **Besombes, C. (2008)**. *Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques : applications généralisées* (Doctoral dissertation, Université de La Rochelle).
- **Bottone, E. J. (1997)**. *Yersinia enterocolitica: the charisma continues*. *Clinical microbiology reviews*, **10(2)**, 257-276.
- **Bouzouita, N., Kachouri, F., Ben Halima, M., & Chaabouni, M.M. (2008)**. Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la société chimique de Tunisie*, **10**, 119-125.
- **Bruneton, J. (2009)**. **Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème Edition, lavoisier. Paris. 1269p**
- **Busatta, C., Vidal, R. S., Popiolski, A. S., Mossi, A. J., Dariva, C., Rodrigues, M. R. A., ... & Cansian, R. L. (2008)**. Application of *Origanum majorana* L. essential oil as an antimicrobial agent in sausage. *Food microbiology*, **25(1)**, 207-211.
- **Benomari, F. Z. (2014)**. **CARACTERISATION CHIMIQUE ET ACTIVITES BIOLOGIQUES DES VOLATILS DE *Mentha aquatica* L. (DOMRANE) DE L'OUEST ALGERIEN** (Doctoral dissertation).

## C

- **Carson, C. F., Mee, B. J., & Riley, T. V. (2002).** Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on Staphylococcus aureus determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(6), 1914-1920.
- **Carson, C. F., & Riley, T. V. (2002).** Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of Melaleuca alternifolia. *Journal of applied bacteriology*, 78(3), 264-269.
- **Chémat, F., & Fernandez, X. (2012).** La Chimie des Huiles Essentielles : Tradition et Innovation. *Vuibert : Paris, France*.
- **Chenni, M. (2016).** Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic "Ocimum basilicum L." extraite par hydro-distillation et par micro-ondes. *Mémoire de doctorat, université d'Oran, 1.165p*
- **Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., & Wyllie, S. G. (2000).** The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil). *Journal of applied microbiology*, 88(1), 170-175.

## D

- **De Billerbeck, V. G. (2007).** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 5(5), 249-253.
- **De Martino, L., De Feo, V., & Nazzaro, F. (2009).** Chemical composition and in vitro antimicrobial and mutagenic activities of seven Lamiaceae essential oils. *Molecules*, 14(10), 4213-4230.
- **Djaber, M. I., Benlahbib, K., & Gourine, L. D. (2019).** Evaluation de l'activité antifongique de six huiles essentielles vis-à-vis de quelques formes spéciales de Fusarium oxysporum. *Mémoire de master, université Amar tlidji, Laghouat, 82p*.
- **Derwich E., Benziane Z., Boukir A., 2010,** GC/MS analysis and antibacterial activity of the essential oil of Mentha pulegium grown in Morocco. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6(3), 191-198.

## E

- **El Meniy, N., Mrabti, H. N., El Omari, N., Bakili, A. E., Bakrim, S., Mekkaoui, M., ... & Bouyahya, A. (2022).** Medicinal Uses, Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology of *Mentha spicata*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022.

## F

- **Fouché, G. J.,** Hambuckers, A., Marquet, A., & Angenot, L. *Plantes médicinales : de la plante au médicament. Observatoire du monde des plantes.*(Sart-tilman-liège) 2001.

## G

- **Garnero, J. (1996).** Phytothérapie-aromathérapie. *Encycl. Méd. Nat.*
- **Guignard, J. L. (2001).** Botanique systématique moléculaire 12e éd, Masson, Paris, 290p
- **Guinoiseau, E. (2010).** *Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action* (Doctoral dissertation, Université de Corse). 114p

## H

- **Haddouchi, F., & Benmansour, A. (2008).** Huiles essentielles, obtentions, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire*, 3(8).
- **Hammami, S., & Abdesselem, M. (2005).** *Extraction et analyse des huiles essentielles de la menthe poivrée de la région de Ouargla* (Doctoral dissertation, Thèse Ing Université Blida, Algérie). 69p
- **Hamze, M., Dabboussi, F., & Izard, D. (2004).** A 4-year study of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility to antibiotics (1998-2001) in northern Lebanon. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 34(7), 321-324.
- **Huete, A. (2012).** Huiles essentielles pour tous les jours-le bon réflexe. *Ed Artémis, Losange, Chamalières, France.* 223p.

## I

- **Il Edrissi, A. (1982).** *Etude des huiles essentielles de quelques Espèces Salvia, Lavandula et Mentha du Maroc. 1982* (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences de Rabat).
- **Ismaili, R., Lamiri, A., & Moustaid, K. (2014).** Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques marocaines (study of the antifungal activity of essential oils of three moroccan aromatic plants). *International Journal of Innovation Science and Research*, 12(2), 2351-8014.
- **Iserin, P.,(2001).** Larousse des Plantes Aromatiques et Médicinales. *Titre original: Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd Edition). Traduction: Vican V. Larousse, Londres.10p.*
- **Iserin, P., Masson, M., Restellini, J., Ybert, E., De Laage de Meux, A., Moulard, F., & Vican, P. (2001).** Larousse des plantes médicinales: identification. *préparation, soins. 2ème édition de VUEF.*

## J

- **Jerry Louis J.(2020).** *Les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles*, <https://nidoessentialoil.com/>, consulté , le 8 /05/ 2021

## K

- **Kalemba, D. A. A. K., & Kunicka, A. (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10(10), 813-829.
- **Kelen, M., & Tepe, B. (2008).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three Salvia species from Turkish flora. *Bioresource technology*, 99(10), 4096-4104.

## L

- **Lahlou, M. (2004).** Méthodes pour étudier la phytochimie et la bioactivité des huiles essentielles. *Recherche en phytothérapie*. 18 (6), 435-448.
- **Le Loir, Y., Gantier, M.(2009).** Staphylococcus aureus, Lavoisier ,ppxiii.
- **Lis-Balchin, M. (Ed.). (2002).** *Lavender: the genus Lavandula*. Taylor & Francis.37-40p

## M

- **Marceau, M. (2005).** Transcriptional regulation in Yersinia: an update. *Current issues in*

*molecular biology*, 7(2), 151-178.

- **Masango, P. (2004).** Cleaner production of essential oils by steam distillation. *Journal of Cleaner Production*, 13 :833-839.
- **Mfengwana, P. M. A. H., & Mashele, S. S. (2016).** Antimicrobial activity screening of *Philenoptera violacea* (Klotzsch) schrire and *Xanthocercis zambesiaca* (Baker) Dumaz-Le-Grand.
- **Morigane. (2007).** *Grimoire des Plantes polytechnique de toulouse*, 22-38p.
- **Moghtader, M. (2013).** In vitro antifungal effects of the essential oil of *Mentha piperita* L. and its comparison with synthetic menthol on *Aspergillus niger*. *African Journal of Plant Science*, 7(11), 521-527.
- **Montes, M., Valenzuela, L., Wilkomirsky, T., & Niedmann, C. (1986, January).** Determination of pulegone in the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Chile. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 44, No. 2, pp. 133-136).
- **Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Pfaller, M. A., & Landry, M. L. 619 (ed.). 2007.** Manual of Clinical Microbiology.

## N

- **Nixon, M., and McCaw, M., (2001).** The Compleat distiller. New Zealand: The Amphora Society

## O

- **OMS(Organisation mondiale de la santé).(2018).** (<https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>)
- **Organisation mondiale de la santé (2002)** Monographies sur les plantes médicinales sélectionnées. Volume 2. Genève. pp 188-199.
- **Oukil, N., & Meziani, H. (2015).** Étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Mentha aquatica* et *Origanum vulgare* seules et en association.
- **Oussou K. R., Yolou S., Boti J. B., Guessennd K. N., Kanko C., Ahibo C. et Casanova J., 2008.** Etude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. *European Journal of Scientific Research*. 24, 94-103.

## P

- **Peyron, L. (1992).** Techniques classiques actuelles de fabrication des matières premières naturelles aromatiques, Chapitre 10. *Cité In: Les arômes alimentaires. Coordinateurs*, 217-238.
- **Piochon, M. (2008).** *Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse.* Université du Québec à Chicoutimi.
- **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)
- **Poole, K. (2004).** Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clinical Microbiology and Infection*, 10(1), 12-26.
- **Pramila, R., Padmavathy, K., Ramesh, K. V., & Mahalakshmi, K. (2012).** *Brevibacillus parabrevis, Acinetobacter baumannii and Pseudomonas citronellolis- Potential candidates for biodegradation of low density polyethylene (LDPE).* *J Bacteriol Res*, 4(1), 9-14.

## R

- **Rahmania, F. (2020).** Effet de l'utilisation de l'huile essentielle de la menthe, SCIENCES AGRONOMIQUES, Laghouat.
- **Raymond, M. (2005).** *L'aromathérapie chez le nourrisson et le petit enfant* (Doctoral dissertation).
- **Robert, G. (2000).** Les sens du parfum. OEM.224p
- **Roux, D. (2008).** *Conseil en aromathérapie.* Wolters Kluwer France.187p
- **Rudramurthy, G. R., Swamy, M. K., Sinniah, U. R., & Ghasemzadeh, A. (2016).** Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. *Molecules*, 21(7), 836.

## S

- **Sayed Ahmad, B. (2018).** *Étude de l'agroraffinage de graines d'Apiaceae, Lamiaceae et Chenopodiaceae pour la production de molécules biosourcées en vue d'application en industrie cosmétique* (Doctoral dissertation).
- **Senatore, F., D'Alessio, A., Formisano, C., & Özcan, M. (2005).** Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of a 1, 8-cineole chemotype of

- Mentha aquatica* L. growing wild in Turkey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 8(2), 148-153.
- **Silvant, C. (2014).** *L'Aromathérapie: La nature au service de l'humanité*. Editions Publibook.
  - **Šipailienė, A., Venskutonis, P. R., Baranauskienė, R., & Šarkinas, A. (2006).** Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *Journal of Essential Oil Research*, 18(6), 698-703.
  - **Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., & Arsenakis, M. (1995).** Antimicrobial activity of mint essential oils. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 43(9), 2384-2388.
  - **Soilhi, Z., Rhimi, A., Heuskin, S., Fauconnier, M. L., & Mekki, M. (2019).** Essential oil chemical diversity of Tunisian *Mentha* spp. collection. *Industrial Crops and Products*, 131, 330-340.
  - **Spichiger, R. E., Vincent, V. S., Figeat, M., & Jeanmonod, D. (2004).** Botanique systématique des plantes à fleurs «une approche polygénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. 3ème Ed. press polytechniques et universitaire romandes Lausanne, Suisse, 328p.
  - **Straley, S. C., & Perry, R. D. (1995).** Environmental modulation of gene expression and pathogenesis in *Yersinia*. *Trends in microbiology*, 3(8), 310-317.
- T**
- **Talbaoui, A., Jamaly, N., Aneb, M., Idrissi, A., Bouksaim, M., Gmouh, S., ... & Bakri, Y. (2012).** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from six Moroccan plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(31), 4593-4600.
  - **Tison, J. M., & De Foucault, B. (2014).** FLORA GALLICA-FLORE DE FRANCE, Ed. Biotope (Mèze), 1196p.

## U

- **Ultee, A., Slump, R. A., Steging, G., & Smid, E. J. (2002).** Antimicrobial activity of carvacrol on rice. *Journal of food protection*, 63, 620-624.

## V

- **Veres, K. (2007).** Variability and biologically active components of some Lamiaceae species. *Acta Pharm. Hung*, 3P
- **Verheagen.Jon, (2017) :** Les Entérobactéries.
- **. Vokou, D., Kokkini, S., & Bessiere, J. M. (1988).** Origanum onites (Lamiaceae) in Greece: distribution, volatile oil yield, and composition. *Economic Botany*, 42, 407-412.

## Y

- **Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. (2006).** Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*, 67(12), 1249-1255.
- **Youssef, A.N (1990).** Dictionary of Medicinal plants, Libtairie du Liban 160p.

## W

- **Whish, J. P., & Williams, R. R. (1996).** Effects of post harvest drying on the yield of tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*). *Journal of Essential Oil Research*, 8(1), 47-51.

## Z

- **Zhiri Abdesselam. (2006).** *Natura News, Science, Nutrition, Prévention et Santé*.

---

# *Annexes*

---

## Annexe I

### ✓ Annexe I : Souches Bactérienne et Fongiques

- a) *Escherichia coli* : est un germe très courant dans le tube digestif de l'homme et des organismes à sang chaud. La majorité des souches sont inoffensives, contrairement à d'autres sont pathogènes, comme *E.coli* producteur de shigatoxines qui peuvent provoquer des maladies graves causés par des intoxications alimentaires. La contamination chez l'homme se fait principalement lors de l'ingestion des aliments contaminés tels que la viande hachée crue ou pas assez cuite, le lait cru, les légumes crus et les graines germées contaminés (OMS, 2018).
- b) *Staphylococcus aureus* : appelée également *Staphylococcus* doré, est une bactérie pathogène majeure pour l'homme. Elle est responsable de pathologies nosocomiales et épidémiques contractés en milieu hospitalier. Elle est retrouvée de façon constante sur la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux à sang chaud. Elle est donc considérée comme une cause des toxémies telles que le syndrome de choc toxique, l'intoxication alimentaire et les infections opportunistes. (Le Loir et Gantier, 2009; Bisognano, 2001).
- c) *Pseudomonas aeruginosa* : est considéré comme un germe pathogène opportuniste, peu ou pas virulente chez les personnes saines, il provoque préférentiellement des infections chez les personnes hospitalisés immuno déficientes ou fragilisées (Hamze *et al.*, 2004 ; Amine *et al.*, 2008). Après *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* présente le troisième germe responsable d'infection nosocomiale (Berthelot *et al.*, 2005). Il est très répandu notamment dans les milieux hospitaliers, elle peut également survivre et se multiplier dans des environnements humides même en absence de nutriments (par exemple, Siphons, éviers et certaines solutions antiseptiques).
- d) *Yersinia enterocolitica* : est un bacille Gram à négatif, de forme coccoïde, il est mobile à la température ambiante mais non mobile à 37 °C (Murray *et al.* 2007) .est un agent pathogène humain qui provoque un large éventail de syndromes gastro-intestinaux (Bottone1997). Pour infecter les humains, il doit s'adapter à l'environnement de l'hôte et la bactérie possède un certain nombre de facteurs de virulence qui l'aident à coloniser le

tractus intestinal et à résister aux mécanismes de défense de l'hôte (**Marceau 2005**), (**Straley et al.1995**).

- e) ***Klebsiella pneumoniae*** : sont des bacilles Gram à négatif facultatifs, retrouvés partout : dans le sol, eau et surtout dans l'intestin des animaux à sang chaud et l'homme. Elles comprennent un nombre très élevé de genres et d'espèces. Leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, la rapidité de leur multiplication, l'acquisition fréquente de mécanismes de résistance aux antibiotiques expliquent qu'elles soient les bactéries les plus souvent impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier. (**Verheagen, 2017**).
  
- f) ***Micrococcus luteus*** sont des coques Gram à positif, aérobies stricts, sont habituellement non mobiles. Il est une bactérie du sol, des poussières, de l'eau et de l'air. La bactérie peut aussi coloniser la bouche, de l'oropharynx et des voies respiratoires supérieures humaines. Bien que *M. luteus* n'est pas pathogène et est considéré comme un contaminant naturel, cette bactérie pourrait être un pathogène émergent engendrant des maladies nosocomiales chez des patients immunodéprimés (**Baird-Parker, 1962**).
  
- g) ***Candida albicans*** : Les candidoses  
C'est une levure commensale des muqueuses digestives et vaginales. Les infections à *Candida* sont appelées candidoses et il en existe deux catégories : les candidoses superficielles (des muqueuses, cutanées, des ongles) et les candidoses invasives.

## Annexe II

### Préparation des milieux de culture (MH/Sabouraud) solide et liquide.

#### ❖ Milieu Mueller- Hinton (solide)

38g de la poudre du milieu de culture a été dissout dans 1L d'eau distille chauffer en agitant jusqu à dissolution complète. Le milieu ainsi préparé est stérilisé à l'autoclave à la température 120°C pendant 20min.

#### ❖ Milieu Sabourand (solide)

65 g de la poudre du milieu de culture a été dissoute dans 1L d'eau distille chauffer en agitant jusqu à dissolution complète. Le milieu ainsi préparé est stérilisé à l'autoclave à la température 120°C pendant 20min.

#### ❖ Milieu Muller Hinton (liquide)

65g de la poudre du milieu de culture a été dissout dans 1L d'eau distillé. Chauffer en agitant jusqu'à dissolution complète. Le milieu ainsi préparé est stérilisé à l'autoclave à la température 120°C pendant 20min.

#### ❖ Milieu Sabouraud (liquide)

65g de la poudre du milieu de culture a été dissout dans 1L d'eau distillé. Chauffer en agitant jusqu'à dissolution complète. Le milieu ainsi préparé est stérilisé à l'autoclave à la température 120°C pendant 20min.



### Annexe III

#### Les antibiotiques et l'antifongique utilisé

Antibiotiques	Le Code	La dose
Céfoxitine	FOX	30 mg/ml
Gentamicine	CN	10mg/ml
Ofloxacin	OF	5mg/ml
Antifongique		
Amphotéricine b	FUNGI	40ml 10%

