

N° d'Ordre :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire

De fin d'études pour l'obtention du diplôme de **Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie (S.N.V)

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Intitulé du thème :

**Étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle
de la plante médicinale *Mentha rotundifolia.L* vis-à-vis
des souches pathogènes**

Présenté par : M^{elle} Laledj Ikram

M^{elle} Laledj Radia

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : M ^{me}	Chama.Z	(M.C.B/UDL/SBA)
Examineur : M ^{me}	Zemri. K	(M.C.A/ UDL/SBA)
Promoteur : M ^{elle}	Kanoun. K	(M.C.A/ UDL/SBA)
Co-Promoteur : M ^{elle}	Bouyakoub. N	(Doctorant/ UDL/SBA)

Année universitaire 2019 - 2020

Session : « Septembre »

Remerciements

Nos remerciements vont tout premièrement au bon Dieu le tout puissant pour la santé, la volonté et la patience qu'il nous a donné durant toutes ces années d'études.

*Notre gratitude s'adresse à **M^{me} Kanoun. K** pour son encadrement, son orientation, ses conseils et la disponibilité qu'elle nous a témoignée pour nous permettre de mener à bien ce travail.*

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements aux membres de jury

***M^{me} Zemri . K et M^{me} Chama. Z**, d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.*

*Un grand merci à notre co-encadreur **M^{elle} Bouyakoub. N** de sa présence, ses conseils et son soutien inconditionnel.*

Un remerciement spécial à nos parents pour leur présence, leur confiance, leur soutien constant et leurs encouragements.

Nous profitons aussi de cette occasion pour adresser nos remerciements à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers.

En tout premier lieu, je remercie le bon dieu, le tout puissant, de m'avoir donné la force, la santé pour dépasser toutes les difficultés.

À mes chers parents

À ma très chère maman

Je vous remercie pour tout le soutien, l'amour et l'encouragement que vous m'avez porté depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours, que dieu vous garde pour moi.

À mon cher père

Pour le lourd sacrifice afin de voir sa famille unie et heureuse, il a donné sa belle vie pour tous les moments.

Merci à vous d'être toujours présent pour faire mon bonheur, que dieu vous garde pour moi.

*À mon binôme et ma sœur **RADIA***

*À ma sœur **ILHEM** et ma tante **RAHMA***

*À mon frère **MOHAMED** et mes chères **SALIMA** et **IMENE** et à tous ce qui m'ont soutenue et encouragée.*

*À M^{elle} **Bouyakoub Nesrine** pour son aide et sa présence durant la réalisation de ce travail.*



IKRAM

Dédicace

*On dit « les mots s'envolent, seuls les écrits restent »
C'est pour cela que je vous écris ces petits mots.*

Au nom de dieu le tout puissant, je dédie ce modeste travail

À ceux que j'aime du fond de mon cœur, à qui je dois la vie et qui n'ont cessé, à aucun moment, de me soutenir et de m'encourager par leurs prières et leurs sacrifices : Mes cher parents

À ma mère,

Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir.

Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte.

En témoignage, je t'offre ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée.

À mon père,

L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect.

Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que dieu te préserve et te procure santé et longue vie.

À mes sœurs et mon frère qui ont toujours été présent pour moi.

Merci pour votre encouragement et confiance.

*À ma source de joie et de bonheur, mon soutien moral, ma tante **RAHMA**.*

*À M^{elle} **Bouyakoub Nesrine** pour sa fidélité, sa gentillesse et sa serviabilité.*

Enfin, À ma famille et toutes les personnes que j'aime.

RADIA

المنتجات ذات الأصل الطبيعي ' المشتقة من النباتات الطبية ' مثل : الزيوت الأساسية المستخدمة في الطب التقليدي ' يمكن اعتبارها بديلا علاجيا جيدا .

الهدف من هذا العمل الحالي هو اختبار القوة المضادة للبكتيريا للزيت العطري لنبات يستخدم على نطاق واسع من قبل سكان المنطقة الغربية للجزائر. النعناع المستدير (المتمرسات) ' مقابل السلالات المسببة للأمراض.

تم استخلاص الزيت العطري الأخضر ذو الرائحة القوية من الجزء العلوي للنبات مثل الأوراق و السيقان عن طريق التقطير المائي, و يجب حساب المحصول لاحقا لمعرفة الكمية المستردة, ثم يتم الاحتفاظ بالأخير عند 4 درجات مئوية في زجاجات محكمة الإغلاق.

أظهرت نتائج التصوير العطري التي تم الحصول عليها من الباحثين أن العديد من الجراثيم المسببة للأمراض لديها حساسية عالية تجاه المخفف و قد لوحظت مناطق مثبتات ملحوظة.

الكلمات المفتاحية : زيت عطري , المتمرسات , التقطير المائي , نشاط مضاد للجراثيم

Résumé

Des produits d'origine naturelle, issus de plantes médicinales, tels que : les huiles essentielles, utilisées en médecine traditionnelle, peuvent être considérées comme une bonne alternative thérapeutique.

Le but de ce présent travail est de tester *in-vitro* le pouvoir antibactérien d'huile essentielle d'une plante largement utilisée par les habitants de la région d'ouest Algérien ; *Mentha rotundifolia*, vis-à-vis des souches pathogènes.

L'huile essentielle qui est de couleur verte et à forte odeur issue de la partie aérienne de feuilles et de tiges, a été extraite par l'hydrodistillation ; un calcul de rendement devrait être réalisé par la suite, pour connaître la quantité récupérée, l'huile obtenue est conservée à 4 °C dans des flacons hermétiques.

Les résultats de l'aromatogramme des différents chercheurs obtenus ont montré que, plusieurs germes pathogènes présentent une grande sensibilité à l'HE dilué et des zones d'inhibitions remarquables ont été observées.

Mots clés : *Mentha rotundifolia* .L, Huile essentielle, Hydrodistillation, Activité antibactérienne.

Abstract

Products of natural origin, derived from medicinal plants, such as: essential oils, used in traditional medicine, can be considered as a good therapeutic alternative.

The aim of this work is to test in vitro the antibacterial power of an essential oil of a plant widely used by the inhabitants of the western Algerian region; *Mentha rotundifolia. L.*, against pathogenic strains.

The green-coloured, strongly smelling essential oil from the aerial part of the leaves and stems was extracted by hydrodistillation and a yield calculation was then made to determine the quantity recovered, which was then stored at 4°C in airtight bottles.

The results of the aromagram of the various researchers obtained show that several pathogenic germs are highly sensitive to diluted EO and remarkable areas of inhibition have been observed.

Keywords: *Mentha rotundifolia .L.*, Essential oil, Hydrodistillation, Antibacterial activity.

Table des matières

Remerciements	II
Dédicace.....	III
Résumé.....	IV
Abstract.....	V
ملخص.....	VI
Liste des tableaux	VII
Liste des figures	VIII
Liste des abréviations.....	IX

Introduction	1
--------------------	---

Partie Bibliographique

Chapitre I : *Mentha rotundifolia* . L

1. Les plantes médicinales	2
1.1. Définition.....	2
2. Généralités sur les Lamiacées	3
3. Présentation du genre <i>Mentha</i>	4
3.1. Description botanique.....	4
3.2. La répartition de la menthe dans le monde.....	5
3.3. Les principales espèces du genre <i>Mentha</i>	5
4. Présentation de <i>Mentha rotundifolia</i> . L.....	6
4.1. Description botanique de <i>Mentha rotundifolia</i> .L	7
4.2. Classification botanique « <i>Mentha rotundifolia</i> . L»	8
4.3. Composition chimique	9
4.4. Utilisation de la plante	9
4.4.1. En médecine traditionnelle	9
4.4.2. Usage alimentaire.....	9

4.5. Critères de choix des plantes.....	10
--	-----------

Chapitre II : Huiles Essentielles

1. Définition.....	11
2. Répartition et localisation	11
3. Propriétés des huiles essentielles.....	11
4. Composition chimique	12
5. Facteurs influençant la composition et le rendement des HE.....	12
5.1. Les facteurs intrinsèques	12
5.2. Les facteurs extrinsèques	13
6. Rôles des HES chez les plantes	13
7. Activités biologiques des HES.....	13
7.1. Activité anti-infectieuse	13
7.2. Activité anti-inflammatoire	14
7.3. Activité antioxydante	14
7.4. Activité antibactérienne.....	14
8. Techniques d'extraction	15
8.1. Hydrodistillation.....	15
8.2. Entraînement à la vapeur d'eau	16
9. Conservation.....	16
10. Emplois des HES	16
10.1. En pharmacie.....	16
10.2. En Parfumerie et cosmétologie.....	17
10.3. En agroalimentaires.....	17

Chapitre III : Antibiorésistance

1. Antibiotiques.....	18
1.1. Définition.....	18
1.2. Histoire d'antibiotique.....	19
2. Antibiorésistance.....	19
2.1. Définition.....	19
2.2. Support génétique de la résistance.....	19
2.3. Lutter contre la résistance aux antibiotiques.....	20
2.4. Place des plantes médicinales dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques.....	20

Chapitre IV : Matériel et Méthodes²³

1. Objectif du travail.....	22
2. Matériel.....	22
2.1. Matériel biologique.....	22
2.1.1. Matériel végétale.....	22
2.1.2. Souches bactériennes testées.....	23
2.2. Matériel non biologique.....	23
3. Méthodes.....	24
3.1. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation.....	24
3.2. Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Mentha rotundifolia</i>	25

Chapitre V : Résultats et Discussions

1.1. Analyse des articles.....28

Conclusion

Références Bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation.

ATB : Antibiotique.

BN : Bouillon Nutritif.

CHU : Centre Hospitalo- Universitaire.

CMI : Concentration Minimale d’Inhibition.

DO : Densité Optique.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

E. coli : *Escherichia coli*.

GN : Gélose Nutritive.

HE : Huile Essentielle.

HD : Hydrodistillation.

INRS-IAF : Institut National de la Recherche Scientifique –Institut Armand Frappier.

MHE : Masse d’Huile Essentielle.

MH : gélose Muller –Hinton.

MS : Masse de la matière végétale sèche.

nm : nanomètre.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

ORL : Oto-Rhino-Laryngologie.

RESALA : Recherche en Sciences Appliquée Alimentation.

RHE : Rendement d’Huile Essentielle.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

UFC/ml : Unité Formant Colonie par millilitre.

Liste des figures

Figure.01 : Quelques genres des plantes de la familles des lamiacées .	3
Figure.02 : <i>Mentha rotundifolia</i> .L.	4
Figure. 03 : Aire des répartitions de la menthe dans le monde	5
Figure. 04 : <i>Mentha rotundifolia</i> (menthe à feuilles rondes) .	7
Figure. 05 : Caractéristique botanique de <i>Mentha rotundifolia</i> .L	8
Figure. 06 : Méthode d'hydrodistillation	15
Figure. 07 : Extraction des HES par distillation à la vapeur d'eau	16
Figure. 08 : Différentes formes d'antibiotiques	18
Figure .09 : <i>Mentha rotundifolia</i> fraîche.	22
Figure .10 : <i>Mentha rotundifolia</i> sèche.	22
Figure.11 : Préparation du mélange dans le ballon	24
Figure.12 : Montage d'hydrodistillation (Clevenger).	25

Liste des tableaux

Tableau. 01: Classification botanique de <i>Mentha rotundifolia</i> .L.....	8
Tableau.02: Composition chimique de l'huile essentielles de la plante <i>Mentha rotundifolia</i>	9
Tableau.03: Différents matériels de laboratoire	23
Tableau. 04: Zones d'inhibition de la croissance (mm) montrant l'activité antibactérienne d'huile essentielle Algérienne de <i>Mentha rotundifolia</i> .L.....	28
Tableau.05: Évaluation de l'activité antibactérienne (mm) de l'huile essentielle de <i>Mentha rotundifolia</i> .L en Algérie	Error! Bookmark not defined.
Tableau .06 : Évaluation de l'activité antibactérienne (mm) de l'huile essentielle de <i>Mentha rotundifolia</i> .L du Maroc	29
Tableau.07: Évaluation de l'activité antibactérienne (mm) de l'huile essentielle de <i>Mentha rotundifolia</i> .L en Tunisie.....	29

Introduction

Introduction général

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribué aux métabolites secondaires, qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique, possédant un très large éventail d'activités biologiques (**Zeghad, 2009**).

Selon l'OMS près de 80% de populations dépendent de la médecine traditionnelle, la plupart des plantes sont utilisées depuis l'antiquité comme, remèdes pour le traitement de diverses maladies, parce qu'elles contiennent des composants riches en principes thérapeutiques (**Moutinho, 2013**).

En effet, l'émergence de la résistance microbienne aux divers antibiotiques préoccupent les spécialistes en médecine, le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable, pour lutter contre les phénomènes de la résistance bactérienne qui est devenue un réel problème de santé publique (**Hemaiswarya et al., 2008**).

Aujourd'hui, les plantes aromatiques constituent une source essentielle de substance bioactifs à des activités biologiques divers (antioxydantes, antibactérienne...etc.); elles possèdent un rôle considérable, grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles dans des secteurs très divers, principalement en aromathérapie pour leurs emplois curatives, ainsi qu'en cosmétique, en parfumerie et dans l'agroalimentaire pour leurs propriétés organoleptiques et antioxydantes (**Hussain et al., 2010**).

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à la plante *Mentha rotundifolia.L*, cette plante médicinale appartient à la famille des lamiacées ; l'une des plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antimicrobien et antioxydant (**Hussain et al., 2010**).

C'est une plante riche en métabolites secondaires et plus spécifiquement en huile essentielle, qui présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition que de leur rendement (**El Arch et al., 2003**).

Notre travail est structuré en deux parties :

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur trois chapitres :

- Chapitre1 : porte sur la description botanique de la plante médicinale étudiée.
- Chapitre2 : est réservé à des généralités sur les huiles essentielles.
- Chapitre 3 : est consacrée à l'antibiorésistance.

La deuxième partie du travail est expérimentale, composée de deux chapitres :

- Chapitre 4 : représente le matériel et les méthodes à réaliser
- Chapitre 5 : illustre une analyse de quelques articles

Enfin, ce manuscrit est achevé par une conclusion générale.



Partie
Bibliographique

Chapitre I

Mentha rotundifolia .L

1. Les plantes médicinales

1.1.Définition

On appelle plantes médicinales ou pharmaceutiques, toute plante qui a été séchée ou traitée selon plusieurs méthodes, et employée dans la préparation des médicaments (Thurzova, 1978).

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité, elles sont des usines chimiques naturelles, produisant des substances actives biochimiques :les alcaloïdes, les huiles essentielles, les flavonoïdes et les tanins, et les mettent à la disposition de l'homme, qui peut en faire usage pour sa santé et satisfaire ses besoins vitaux (Schauenberg *et al.*, 1997).

Malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement (Tabuti *et al.*, 2003).

Elles sont impliquées dans différents secteurs sous formes de principes actifs, des huiles, des extraits, des solutions aqueuses ou organiques, ou même telles qu'elles sont (Iserin *et al.*, 1996).

Elle contient, au niveau de ses organes, un ou plusieurs principes actifs utilisables à des fins thérapeutiques. En fait, il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont de drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (El haykle ,1993).

Environ 35000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé, par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important, malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Abbou, 1995).

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme.

1.2.Utilisation des plantes médicinales

Pendant longtemps, les plantes ont été utilisées uniquement en nature, sous forme de tisanes ou de poudres, maintenant beaucoup sont présentées en gélules, mais il existe de nombreuses formes d'utilisation des plantes médicinales.

Les plantes médicinales qui possèdent une activité pharmacologique pouvant conduire à des emplois thérapeutiques, et cela grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain (Naghibi, 2005).

Elles sont utilisées en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétologie, ainsi que dans la confection de boissons, soit à l'état naturel, soit en préparation galénique, soit encore sous forme de principes actifs, comme matière pour l'obtention de médicaments (Mebarki, 2010).

Les plantes aromatiques constituent une catégorie à part, par le fait qu'elles élaborent des substances volatiles, odorantes, caractéristiques appelées huiles essentielles (Verdrager, 1978).

Ces plantes, connus depuis l'antiquité, sont généralement utilisées en médecine traditionnelle comme agents antibactériens, antifongiques et antioxydants (Bruneton, 1999).

2. Généralités sur les Lamiacées

La famille des Lamiacées (Labiées) du Latin (Labia) lèvre signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres (Naghbi *et al.*, 2005), elle comprend environ 6970 espèces réparties en 240 genres plus ou moins cosmopolites (Meyer *et al.*, 2004).

Elles sont le plus souvent des plantes herbacées, annuelles ou vivaces aromatiques, des sous-arbrisseaux et rarement des arbres ou des lianes ; en général les feuilles sont opposées sans stipules (Abedini, 2013).

Les fleurs pentamères sont bilabiées, à corolle irrégulière, possédant quatre étamines dont deux sont longues et deux sont courtes (Meyer *et al.*, 2004).

Les Lamiacées comportent des espèces comme des condiments (ex. sauge, thym, basilic, menthe, ... etc.). (Figure.01) le montre, cette famille est une source très importante riche en huiles essentielles, qui sont utilisées dans l'aromathérapie, la parfumerie et l'industrie des cosmétiques (Abedeni, 2013).



Figure.01 : Quelques genres des plantes de la famille des lamiacées (Leplat, 2017).

3. Présentation du genre *Mentha*

La Menthe, du nom latin *Mentha*, fait partie des plantes vivaces, herbacées indigènes et très odorantes, appartenant à la famille des Lamiacées ou Labiacées (Benayad,2008).Sa couleur est verte et sa récolte se réalise de manière annuelle.

Les Menthes conservent depuis l'antiquité une infinie diversité d'emplois, et occupent une large place dans les utilisations thérapeutiques, elles fortifient tout le système nerveux en jouant le rôle d'un stimulant et un sédatif diffusible (Edrissi, 1982).

Les menthes sont faciles à reconnaître par leurs odeurs, elles sont difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires, d'origine hybride qui les relie (Benayad,2008).

Une présentation sur la (Figure.02) de la plante *Mentha rotundifolia L* qui appartient au genre *Mentha*.



Figure. 02: *Mentha rotundifolia L* (Benayad, 2008).

3.1. Description botanique

Le genre « *Mentha* » appartient à l'une des plus importantes familles dans le monde végétal (Talahagcha, 2008).

Les menthes se développent sur un sol léger et humide, leurs racines préfèrent être à l'ombre et leurs tiges au soleil. Ce sont généralement caractérisées par une tige carrée, des feuilles persistantes opposées et dentées ; des racines longs stolons, qui se ramifient sous la

terre et donnent naissance à de nouveaux pieds, elles sont très odoriférantes, en raison de l'huile essentielle qu'elles contiennent .Elles atteignent une hauteur variante de quelques centimètres à près d'un mètre, selon les espèces. En été, les fleurs regroupées en épis ronds ou allongés, de couleur lilas, blanche ou rose, qui attirent les abeilles (Anton, 2005).

3.2.La répartition de la menthe dans le monde

La plupart des menthes sont originaires de l'Europe et de l'Asie. Cependant, en suivant les flux de migration, les menthes sont présentes sur la quasi-totalité des continents (Yvan, 1997). Une répartition de la menthe dans le monde sur la (Figure.03).

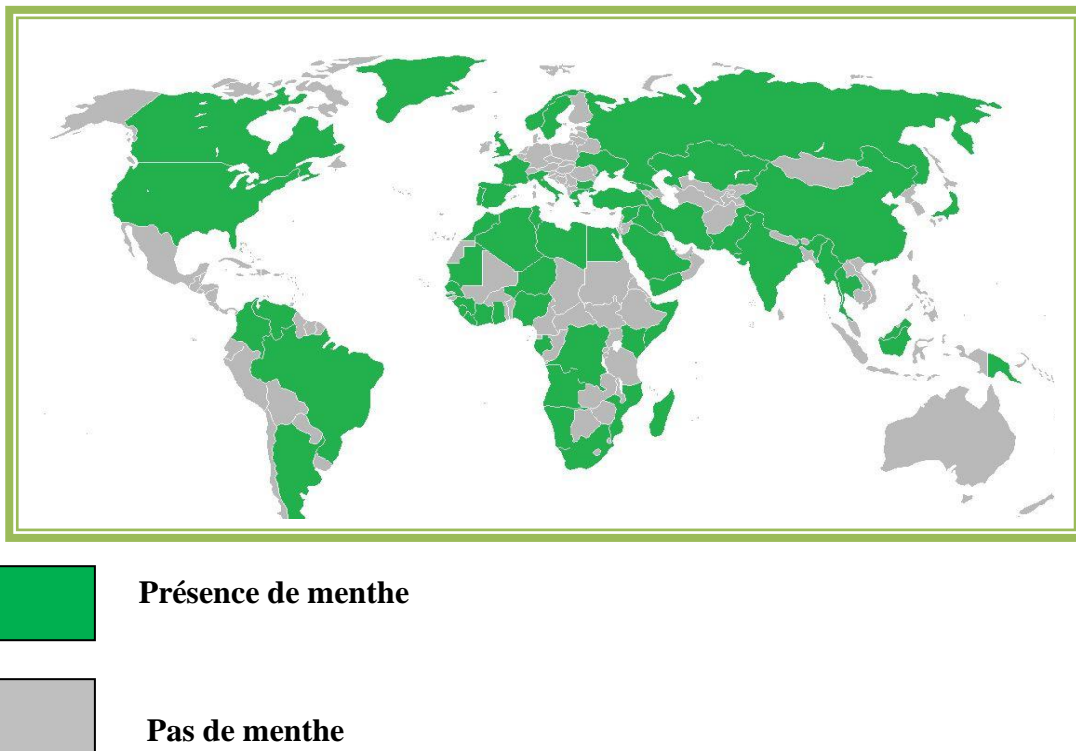


Figure. 03 : Aire des répartitions de la menthe dans le monde (Yvan, 1997).

3.3. Les principales espèces du genre *Mentha*

Comporte plusieurs espèces de menthe :

- Menthe vert « *Mentha viridis* ».
- Menthe poivrée « *Mentha piperita* ».
- Menthe pouliot « *Mentha pulegium* ».

- Menthe à feuilles rondes « *Mentha rotundifolia* ».
- Menthe aquatique « *Mentha aquatica* ».
- Menthe des champs « *Mentha arvensis* ».
- Menthe java « *Mentha javanica* ».
- Menthe du canada « *Mentha canadensis* ».
- Menthe crépue « *Mentha spicata* ».
- Menthe bergamote « *Mentha citrata* ».

Dans notre étude nous nous intéressons à l'espèce *Mentha rotundifolia* connu sous le nom vernaculaire français «menthe à feuilles rondes», en arabe «Timarssat», au Maroc «Timija» ou «la menthe en épi» (El Arch *et al.*, 2003).

4. Présentation de *Mentha rotundifolia* .L

Ce sont des plantes aromatiques très utilisées en médecine traditionnelle, dans les préparations culinaires, les confiseries, en cosmétique et en parfumerie (Bineau, 2002). *Mentha rotundifolia* croît dans les zones humides près des cours d'eau en basse et moyenne montagne (El Arch *et al.*, 2003).

Elle pousse sous les bioclimats semi-arides et humides à variantes chaudes et tempérées au tour du bassin méditerranéen (Derwich *et al.*, 2010).

L'ensemble de la plante est couvert de poils denses et blanchâtres, qui la rendent douce au toucher, comme toutes les menthes, elle dégage une forte odeur caractéristique qui chez cette plante rappelle l'odeur de la pomme (Benayad, 2008).

Mentha rotundifolia .L, dont le nom vernaculaire est « Timarssat » en langue arabe, est un hybride de *Mentha longifolia* et de *Mentha suaveolens* (Bineau, 2002). Alors que d'autres références disent que, *Mentha rotundifolia* .L et *Mentha suaveolens* correspondent à la même espèce (Teisseire, 1991).



Figure. 04 : *Mentha rotundifolia* (menthe à feuilles rondes) (photo originale, Laledj et Bouyakoub, 2020) .

4.1.Description botanique de *Mentha rotundifolia .L*

- Cette espèce est une plante vivace vigoureuse de 25 à 80 cm de hauteur, avec une fleur de 5 mm de long (**Benayad, 2008**), la floraison commence de Juillet à Septembre (**Benbouali, 2006**).
- Feuilles ovales, arrondis, crépues, gaufrées, brièvement pétiolées, fleurs en épis compact.
- Petites fleurs blanches ou roses, en épi terminal cylindrique puis conique au sommet et serrées, colle à lobes plus ou moins égaux.
- Velu à 5 dents et 4 étamines saillantes (**Beauquesne et al., 1980**).



Figure.05 : Caractéristique botanique de *Mentha rotundifolia .L* (Sahnoune, 2018).

4.2. Classification botanique « *Mentha rotundifolia . L* »

La classification botanique de la plante *Mentha rotundifolia .L* a été présentée dans le (Tableau.01).

Tableau .01 : Classification botanique de *Mentha rotundifolia .L* (Iserin *et al.*, 1997).

Embranchement	Phanérogames
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Gamopétales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>Mentha rotundifolia .L</i>

4.3.Composition chimique

L'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* est composée de plusieurs substances chimiques, mentionnées en pourcentage dans le (Tableau.02).

Tableau .02 : Composition chimique de l'HE de *Mentha rotundifolia* (Benayad, 2008).

Composé	Pourcentage (%)
Menthone	3,34
Pulégone	17,61
Pipéritone	9,18
Pipéritène	33,03

4.4.Utilisation de la plante

4.4.1. En médecine traditionnelle

Cette espèce est utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement des douleurs gastriques, des diarrhées, des refroidissements et des affections respiratoires (Lahsissene *et al.*, 2009).

Les abcès et les furoncles sont traités par les feuilles écrasées, ou bien par la décoction des feuilles; cette dernière préparation en bain de bouche, diminuent les douleurs dentaires (Boukef, 1986).

4.4.2. Usage alimentaire

Mentha rotundifolia est également utilisée en culinaire dans les boissons (alcools, liqueur, sirop et vinaigre), les condimentaires (grillades, salade, accompagnement des viandes et des légumes), les desserts (accompagnement des fruits, glaces et aromatise les confitures), les sauces et les pains. Son feuillage frais ou sec est également utilisé pour aromatiser le thé (Benazzouz *et al.*, 2012).

4.5.Critères de choix des plantes

Nous avons choisi l'espèce végétale : *Mentha rotundifolia* de la famille des Lamiacées pour sa grande importance dans la médecine traditionnelle et sa biodiversité dans notre région.

- Le choix de plante s'est basé sur une étude bibliographique.
- Abondance de ces plantes dans notre région.
- Utilisation traditionnelle dans le traitement des maladies d'origine microbienne.
- La non toxicité des plantes, vu qu'elles sont utilisées dans les préparations culinaires et dans les tisanes.
- Leurs richesses en substances aromatique, les huiles essentielles et les polyphénols. **(Sahnoune, 2018).**

Chapitre II

Huiles Essentielles

1. Définition

Les HE sont des composés liquides très complexes provenant des plantes aromatiques botaniquement définies (**Benayad, 2013**), elles concentrent l'essence de la plante; autrement dit son parfum. Il s'agit de substances odorantes, volatiles, de consistance huileuse très concentrées (**Lardry et al., 2007**).

Selon L'AFNOR (2006), l'HE est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur soit par l'hydrodistillation, elle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques (**Degryse et al., 2008**).

Les nouvelles techniques utilisent des pressions et/ou des températures élevées; leur extraction s'effectue par expression à froid et par l'hydrodistillation; l'entraînement à la vapeur d'eau et d'autres méthodes d'extraction ont été également mises au point comme l'hydrodiffusion pulsée et l'extraction aux fluides (**Leblalta, 2018**). L'extraction nécessite une très grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelques millilitres d'HE (**Nogaret, 2008**).

2. Répartition et localisation

Les HE sont rencontrées dans diverses familles botaniques, elles sont largement répandues dans le monde végétal et se trouvent en quantité acceptable, chez environ 2000 espèces, répartie en 60 familles (**Richter, 1993**).

Elles sont stockées sous forme des microgouttelettes dans les glandes des plantes (**Anonyme .01**), on les trouve aussi dans les fleurs, les fruits, les feuilles, les racines, les graines et les écorces de nombreux végétaux (**Anonyme.02**).

3. Propriétés des huiles essentielles

Les HE possèdent en commun un certain nombre de propriétés physico-chimiques malgré leurs différences de constitution :

- Ce sont généralement des liquides à la température ordinaire.
- Elles sont généralement incolores ou jaune pâle, quand elles viennent d'être préparées; il existe cependant une exception, comme l'huile essentielle à azulène qui est de coloration bleue.
- Leur densité est le plus souvent inférieure à l'unité de l'eau, seules trois HE officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau; ce sont les huiles essentielles de cannelle, de Giroflier et de Sassafras.
- Peu soluble dans l'eau, elles lui communiquent cependant leur odeur; elles sont solubles dans les alcools, solubles dans les huiles fixes et dans la plus part des solvants organiques.

- Elles sont très altérables, sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas).
- Elles ont tendance à se polymériser, en donnant lieu à la formation de produits résineux, elles sont de conservation limitée (**Paris et al., 1986**).

4. Composition chimique

La composition des huiles essentielles est très complexe, ce sont des mélanges fortement variables et analysables, ces constituants appartiennent de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par, les origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpénoides (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane ;elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation, mettant en jeu des constituants non volatils (**Guinoisseau, 2010**).

5. Facteurs influençant la composition et le rendement des HE

Plusieurs critères s'imposent tels que, le nom précis du segment de la plante extraite, le pays d'origine, le mode de culture, le moment de la récolte, la méthode d'extraction et de conservation, qui sont autant de facteurs influençant la qualité des HE (**Fellah et al., 2006**).

Parmi ces facteurs on distingue deux types ; intrinsèques et extrinsèques :

5.1. Les facteurs intrinsèques

❖ Le cycle végétatif

Des variations importantes peuvent se produire au cours des cycles végétaux ,autant que le rendement et la composition en HE (**Garnero, 1991**).

❖ L'organe producteur

Tous les organes de mêmes espèces peuvent renfermer l'HE, dont la composition peut varier selon sa localisation (**Slimane, 2002**).

❖ L'origine botanique

Toutes les plantes ne sont pas aromatiques et même quand elles le sont, les constituants sont variables, tant dans leur nature que dans leur proportions (**Saidj, 2006**).

❖ Le Chémotype

Le chémotype d'une HE est très important en aromathérapie, il permet de procéder à une classification de chaque huile, selon des connaissances botaniques précises et surtout d'obtenir des produits hautement qualitatifs sélectionnés en fonction de critères optimaux (**Deschepper ,2017**).

5.2. Les facteurs extrinsèques

➤ Les conditions climatiques et environnementales

La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la pluviométrie et les conditions édaphiques (composition du sol), influencent la composition des huiles essentielles (Fellah *et al.*, 2006).

6. Rôles des HES chez les plantes

Les HES ont des fonctions multiples dans la nature, actuellement, qu'elles aient un rôle écologique, car dans les régions désertiques, elles conservent l'humidité autour de la plante, ce qui empêche la température d'augmenter d'une manière excessive, pendant le jour et de baisser au cours de la nuit (Belaiche, 1979).

En effet, il a été établi qu'elles exercent des interactions sur les végétaux et sur les animaux, ainsi elles constituent un moyen de communication, certaines essences attirent les insectes et favorisent la pollinisation tandis que, d'autres servent à la défense des plantes contre des prédateurs (les herbivores, les insectes, les micro-organismes) (Bruneton, 1993).

7. Activités biologiques des HES

Les HE ont de nombreuses activités biologiques telle que: l'activité antimicrobienne, antioxydante, anti-tumorale, anti inflammatoire...etc.(Lahlou, 2004).

Des recherches scientifiques ont démontrés que les HE pouvaient inhiber la croissance aussi bien des bactéries et des levures (Duarte *et al.*,2005), que des moisissures pathogènes et opportunistes (De Billerbeck *et al.*, 2002),elles sont très efficaces contre les germes résistants aux antibiotiques, c'est le cas du Staphylocoque doré qui est sensible à l'HE du thym, d'origan et de sarriette (Caillet *et al.*,2007).

Certaines HES telles que celles de l'ail et du curcuma, présentent une activité anti tumorale intéressante; celles-ci sont particulièrement mise en évidence dans le cas du cancer de la prostate et du glioblastome (Fogang *et al.*, 2014).

7.1. Activité anti-infectieuse

Les HE anti- infectieuses sont très appréciés pour leur effet purifiant et désinfectant; leur large spectre de propriétés anti- infectieuses permet de lutter contre tous les types d'infections bactériennes (Cardenas, 2016).

La plupart des HES possèdent un pouvoir anti-infectieux, certaines sont plus riches en principes actifs purifiants, par exemple: l'HE de bergamote est un puissant bactéricide, qu'il est conseillé de l'utiliser en inhalation en cas d'infection bactérienne, et aussi l'HE de bois de rose a un effet plus doux, notamment en application cutanée, pour soulager les infections bactériennes ORL ou broncho-pulmonaires (Cardenas,2016).

7.2.Activité anti-inflammatoire

L'aspirine est la molécule anti-inflammatoire la plus connue, actuellement l'aromathérapie joue un rôle utile dans la production d'HES qui sont important pour lutter contre l'inflammation (Cardenas, 2017).

C'est le cas de l'HE de gaulthérie, elle convient particulièrement pour la prise en charge des douleurs articulaires à caractère inflammatoire, comme les blessures sportives ou les rhumatismes, et aussi contre les foulures, la lavande, la menthe poivrée ou encore la sauge sclarée, et le romarin aussi considérés comme plante possédant un pouvoir anti-inflammatoires (Cardenas, 2017).

Les compresses, les massages dans une huile de support, les bains aromatiques, constituent les principaux modes d'application, mais on trouve aussi des préparations prêtes à l'emploi, sous forme de pommades aux HES pour les traumatismes. Ces préparations intègrent souvent une base de camphre, traditionnellement connu pour son action anti-inflammatoire (Cardenas, 2017).

7.3.Activité antioxydante

Elles sont également utilisées pour préserver les aliments des effets toxiques des oxydants (Miguel, 2012). Certaines sont même plus efficaces que les antioxydants synthétiques (Hussain *et al.*, 2010).

Des études de RESALA de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation, des HES directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...,ect),ou l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers); contribue à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (Caillet *et al.*, 2007).

7.4.Activité antibactérienne

Les HE sont efficaces sur les bactéries Gram positives, que sur les bactéries Gram négatives, car ces dernières paraissent moins sensibles à leur action, que les bactéries Gram positives (Reynolds, 1996). Par exemple l'HE de *Lavandula* qui est beaucoup plus active contre *Enterococcus faecalis* et *Bacillus subtilis*, que sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Cette résistance est attribuée à la présence des lipopolysaccharides dans la paroi cellulaire, qui constitue une barrière pour l'HE (Bezic *et al.*, 2013).

8. Techniques d'extraction

La méthode choisie pour l'extraction des HE doit être la plus efficace, qui donnerait une huile de très bonne qualité avec un rendement élevé et un cout économique faible, il existe diverses méthodes d'extraction, celle la plus utilisée est l'hydrodistillation. L'extraction des HES peut être réalisée à partir des fleurs, des feuilles, des racines ou encore des graines de la plante (Benallou *et al.*, 2018) .

L'obtention des HE fait appel à plusieurs méthodes :

8.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est une méthode la plus employée pour extraire les HES, cette méthode consiste à immerger directement la partie de la plante à extraire dans l'eau chauffée jusqu'à l'ébullition pendant 3 heures. L'eau et la molécule aromatique, du fait de leurs différences de densités, se séparant en une phase aqueuse et une phase organique : **l'huile essentielle** (Benallou *et al.*, 2018) .

La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation, la durée de la distillation influe non seulement sur le rendement, mais également sur la composition de l'extrait. Afin de traiter des matières premières pour lesquelles, il est difficile d'extraire l'HE ou pour les essences difficilement entraînaibles ; l'hydrodistillation à pression élevée représente une bonne alternative (Lucchesi, 2005). Le montage de cette méthode, a été illustré dans la (Figure.06) selon (Benallou *et al.*, 2018) .

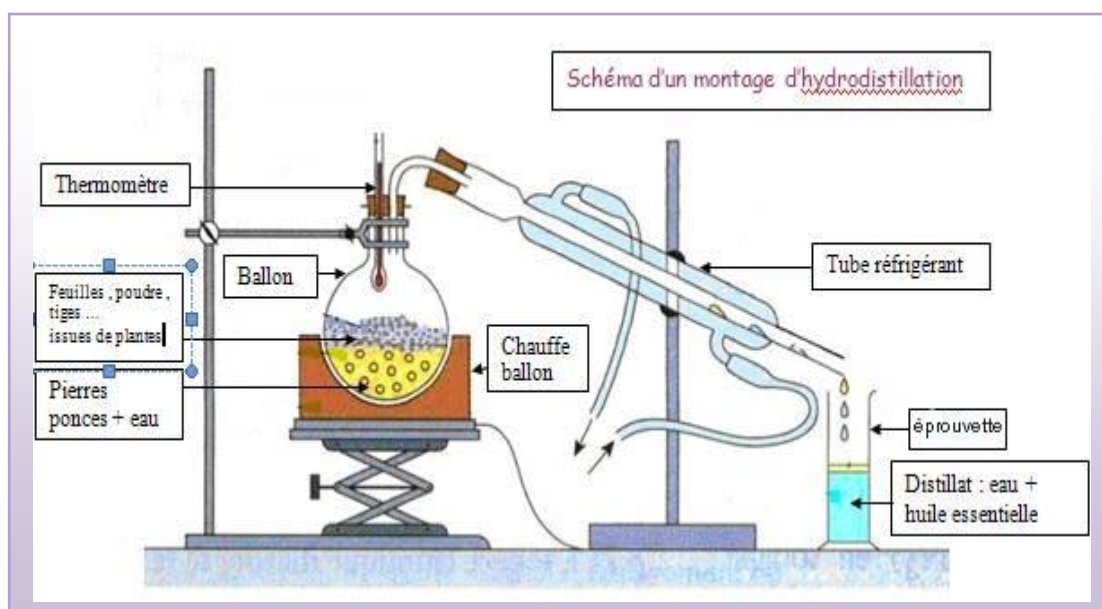


Figure. 06: Méthode d'hydrodistillation (Benallou *et al.*, 2018) .

8.2. Entrainement à la vapeur d'eau

C'est une méthode ancienne et très répandue pour l'extraction des HE à partir des plantes aromatiques, elle est simple dans son principe et utilise un équipement peu coûteux.

Elle se présente sous trois (03) variantes: l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodiffusion (Silou *et al.*, 2004). la (Figure.07) montre le montage d'extraction des HE par distillation à la vapeur d'eau .

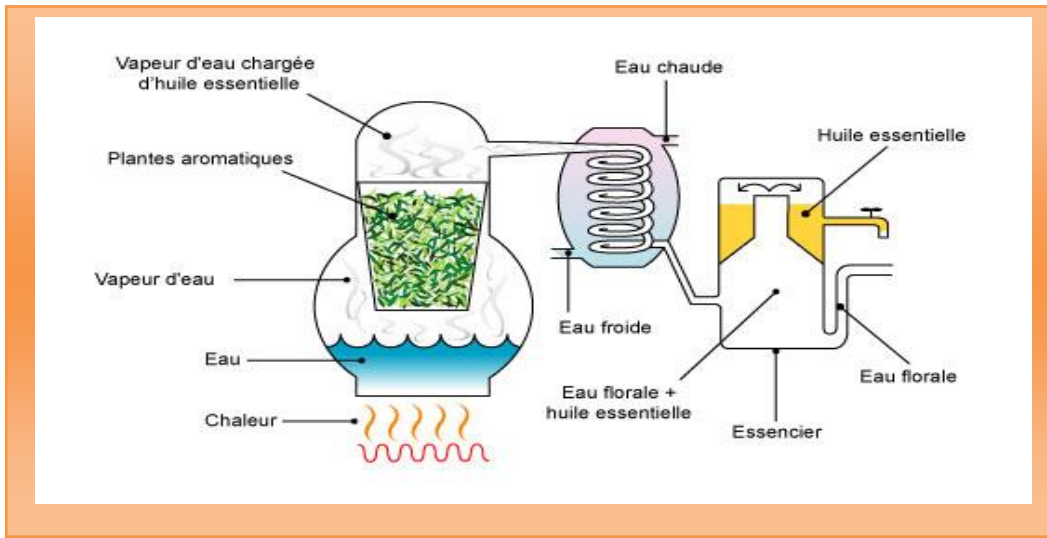


Figure.07 : Extraction des HES par distillation à la vapeur d'eau (Benallou *et al.*, 2018) .

9. Conservation

Les HE sont des substances sensibles et très délicates, ce qui rend leur conservation difficile et obligatoire dans le but de limiter les risques de dégradation, ces dernières peuvent modifier leurs propriétés, si bien sûr elles ne sont pas enfermées dans des flacons opaques à l'abri de la chaleur et de la lumière (Valnet, 2000). Elles peuvent être conservées également au froid et à une température proche de 4°C (Burt, 2004).

10. Emplois des HES

10.1. En pharmacie

Les drogues à l'HE peuvent être utilisées:

- Pour leur action physiologiques:
 - En nature (Menthes, Verveine, Camomille).
 - Pour l'extraction de l'essence : l'usage est externe ou interne.
- Pour l'isolement de certains constituants: eugénol, anéthol, pinènes,...etc.

- Comme excipients de nombreux médicaments : adjuvants ou aromatisants (**Bruneton, 1999**).

10.2. En Parfumerie et cosmétologie

Le secteur d'hygiène et d'industrie des cosmétiques sont également des consommateurs, la majorité des produits cosmétiques contiennent une quantité de l'HE comme élément parfumant et aussi élément assurant une odeur agréable (**Bruneton, 1999**).

De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines HES constituent des " bases" de parfums irremplaçables; par exemple: Rose, Jasmin,...etc.

10.3. En agroalimentaires

Les HE sont de plus en plus utilisées dans la conservation des denrées alimentaires et cela grâce à leur activité antimicrobienne à large spectre sans dénaturer le goût (**Kurita et al., 1982**).

Chapitre III

Antibiorésistance

1. Antibiotiques

1.1. Définition

Les antibiotiques sont des substances chimiques naturelles, ou de synthèse utilisées pour traiter les infections bactériennes (cystite, pneumonie, angine bactérienne...ect). Il existe plusieurs familles d'antibiotiques, chacune étant efficace contre une bactérie ou un groupe restreint de bactéries. Ils ont pour effet d'inhiber ou de tuer des micro-organismes de manière ciblée, à l'exception des virus, sur lesquels ils sont sans effet. Ces substances fonctionnent soit en bloquant la croissance de la bactérie, soit en la détruisant (Lebrun, 2017).

Les antibiotiques existent sous forme de médicaments à prise orale (comprimés, gélules, sachets et sirops), de pommade ou d'injections intramusculaire ou intraveineuse comme le montre la (Figure.08) ci-dessous (Lebrun, 2017).



Figure. 08 : Différentes formes d'antibiotiques (Hobson *et al.*, 2019) .

1.2. Histoire d'antibiotique

L'antibiotique a été découvert fortuitement par **Alexander Fleming** en **1928**, sa culture de bactéries avait été bloquée par la contamination d'un champignon qui produit la pénicilline. Mais la production industrielle de la pénicilline ne débutera pas avant 1942 (**Lévi, 2006**).

La découverte des antibiotiques a permis de sauver des millions de vie, en traitant des infections jusque-là incurables: la tuberculose, la pneumonie, la septicémie,...etc. Ses bénéfices sont aujourd'hui menacés par le développement de résistances aux antibiotiques (**Lebrun, 2017**).

2. Antibiorésistance

2.1.Définition

L'antibiorésistance provient de l'absence de cibles de l'antibiotique sur une bactérie, de la sélection ou de l'acquisition de compétences de résistance portées par des fragments de matériel génétique (**Lévi, 2006**).

La résistance aux antibiotiques est un phénomène naturel chez les bactéries face aux antibiotiques, qui sont initialement des molécules produites par d'autres micro-organismes.

Le vrai problème de l'antibiorésistance concerne le malade dont l'infection ne peut être traitée correctement, parce que la bactérie responsable de la contamination est résistante à plusieurs antibiotiques (**Lemaoui et al., 2017**).

Il est donc indispensable de prendre en compte toute la chaîne de la problématique pour étudier au mieux les moyens de prévention; il faut connaître les compétences de protection du malade lui-même (l'immunité, l'intégrité physique...,ect) ainsi que l'origine de la souche de bactérie résistante (l'air, l'eau, le matériel médical, l'alimentation, le transport par le malade lui-même...,ect) et les conditions de sa contamination (la douche, le bain, les contacts cutané-muqueux...,ect) (**Lévi, 2006**).

Le développement de l'antibiorésistance est un phénomène planétaire grave qui est lié à l'augmentation de la quantité d'antibiotiques utilisés dans le monde, aussi bien en médecine humaine que vétérinaire (**Lévi, 2006**).

2.2.Support génétique de la résistance

On distingue deux types de résistance selon leur origine :

- **La résistance naturelle**

C'est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien), mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au

sein d'une même espèce ou entre espèces différentes). Par exemple, le germe *Pseudomonas aeruginosa* n'est jamais sensible à l'ampicilline (Lozniewski *et al.*, 2010).

- **La résistance acquise**

Quand les bactéries sont soumises à des traitements antibiotiques, elles finissent par développer des résistances contre des antibiotiques, auxquelles elles étaient auparavant sensibles : on parle de « **résistance acquise** ». Cette dernière est moins stable, se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien, elle résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie (Lozniewski *et al.*, 2010).

2.3. Lutter contre la résistance aux antibiotiques

Aujourd'hui, les progrès qu'on croyait avoir réalisés dans la lutte contre les bactéries sont anéantis par la résistance aux antibiotiques. Ce phénomène est devenu alarmant, pouvant conduire à des problèmes de prise en charge et d'impasse thérapeutique pour le traitement des patients.

L'OMS a publié récemment un rapport portant sur la résistance aux antimicrobiens dont la résistance aux antibiotiques. Selon l'OMS, ce phénomène est qualifié de « problème de santé publique et une grave menace qui touche tous les pays ».

La maîtrise de la résistance aux antibiotiques passe par deux étapes : une meilleure utilisation des antibiotiques, pour réduire la pression de sélection et par des mesures de prévention pour limiter la transmission bactérienne (Lemaoui *et al.*, 2017).

- **Meilleure utilisation des antibiotiques**

Pour que les antibiotiques restent efficaces, c'est-à-dire pour limiter l'apparition des bactéries résistantes, quelques principes d'utilisation sont mis en place : la bonne molécule, à la bonne dose, et pour la bonne durée, il existe également des tests de diagnostic rapides qui permettent d'aider au diagnostic d'une infection bactérienne et éviter des traitements antibiotiques inutiles (si les tests diagnostiques sont négatifs) (Lemaoui *et al.*, 2017).

- **Des mesures de prévention de la transmission**

L'hygiène des mains et respect des précautions d'hygiène sont les principales mesures, pour limiter la transmission des bactéries résistantes, comme non résistantes (Lemaoui *et al.*, 2017).

2.4. Place des plantes médicinales dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques

Les plantes synthétisent plus de 100000 petites molécules dotées pour la plupart d'une activité d'antibiotique. En général, cette activité est inférieure à celle exercée par les antibiotiques d'origine microbienne (Lewis et Ausubel, 2006).

Les concentrations requises pour exercer une activité antimicrobienne sont donc plus élevées pour les molécules isolées de plantes, que pour celles issues de bactéries et de champignons.

En effet, une molécule phytochimique est considérée comme « antimicrobienne » si elle inhibe la croissance des micro-organismes pour des CMI variant de 100 µg/ml et 1000 µg/ml. Pour les ATB d'origine microbienne, des CMI, variant de 0.01 µg/ml à 10 µg/ml, suffisent à générer une activité inhibitrice (**Tegos *et al.*, 2002**).

Les plantes ont développé plusieurs stratégies pour contrôler les infections bactériennes. La synthèse d'un grand nombre de molécules faiblement actives, plutôt que de puissants antibiotiques, en fait partie. Elle semble d'ailleurs utilisée pour diminuer la pression sélective, qui favorise le développement des résistances (**Guinoiseau, 2010**).



Partie
Expérimentale

Chapitre IV

Matériel et Méthodes

1 Objectif du travail

L'objectif principal de notre travail était de mettre en évidence un éventuel effet antibactérien des HE de la partie aérienne de notre plante *Mentha rotundifolia* .L, afin de tester leur activité antibactérienne vis-à-vis des souches pathogènes.

2 Matériel

2.1 Matériel biologique

Ce travail devrait être effectué au laboratoire de Microbiologie Générale à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et au laboratoire de Phytochimie au niveau de Département de Pharmacie de la Faculté de Médecine Taleb Mourad, Université Djillali Liabés de Sidi-Bel-Abbès.

2.1.1 Matériel végétale

Dans cette étude, le matériel végétal (feuilles, tiges et fleurs) de *Mentha rotundifolia*, a été récoltée dans la région de Maghnia (Wilaya de Tlemcen), durant les périodes de floraison (Septembre – Octobre 2019).

Les feuilles ont été nettoyées, lavées avec l'eau de robinet et séchées à l'ombre et à l'air libre pendant 15 jours. Après séchage, les échantillons ont été conservés dans des sacs en papiers, pour éviter l'humidité et fournir l'obscurité en mentionnant la date de la récolte.



Figure .09 :*Mentha rotundifolia* fraîche (photo originale, Laledj et Bouyakoub 2020).



Figure .10 :*Mentha rotundifolia* sèche (photo originale, Laledj et Bouyakoub 2020).

2.1.2 Souches bactériennes testées

Les souches bactériennes qui devraient être testées devraient être fournies par le Laboratoire Central des Analyses Biologiques, de CHU de Sidi- Bel- Abbés et la sélection devrait être portée sur la base de leur importance dans le domaine clinique d’une part (infections...etc.) et d’autre part pour tester le potentiel antibactérien des HE de *Mentha rotundifolia*.

Les bactéries qui devraient être testées pour déterminer l’activité antibactérienne d’HE de *Mentha rotundifolia* sont les suivants :

- **Bactérie à Gram (-) :** *Escherichia coli*.
- **Bactérie à Gram (+) :** *Staphylococcus aureus*.

2.2 Matériel non biologique

Tableau.03 : Différents matériels de laboratoire.

Appareillages	Verreries	Réactifs	Milieux de cultures	Autres
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Balance électronique ▪ Bain marie ▪ Bec benzène ▪ Anse de platine ▪ Autoclave ▪ Etuve ▪ Agitateur ▪ Rotavapeur ▪ Plaque chauffante ▪ Vortex ▪ Micropipette 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bécher ▪ Tube à essais ▪ Pipette pasteur ▪ Fiole ▪ Erlenmeyer ▪ Flacon ▪ Entonnoir ▪ Boîtes de pétrie ▪ Ballon en Verre ▪ Lame, lamelle ▪ Réfrigérant ▪ Fiole jaugée ▪ Pipette graduée 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Eau distillée ▪ NaCl ▪ DMSO 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Gélose Muller Hinton ▪ Gélose Chapman ▪ Gélose nutritive ▪ Gélose Hecktoen ▪ Bouillon nutritif 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Papier filtre Wattman N°3 ▪ Disques d’ATB

3 Méthodes

3.1 Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

Nous avons utilisé un montage d'hydrodistillation de type Clevenger.

Mode opératoire

1) Préparation de matériel et l'hydrodistillation

- Après le nettoyage du système, 50 g de la partie aérienne de notre plante *Mentha rotundifolia* a été placée dans un ballon de 1L, rempli d'eau (2/3 du volume du ballon), qui est relié à un Clevenger et soumis à l'ébullition, pendant 4 heures à une température de 100°C, les vapeurs formées montent le long de la colonne, en entraînant avec elle les huiles essentielles (Hamzaoui, 2004).



Figure.11 : Préparation du mélange dans le ballon (photo originale, Laledj et Bouyakoub 2020).

- Ces vapeurs sont condensés dans un réfrigérant, le condensat (l'hydrolat + huile essentielle), a été récupéré dans une ampoule à décanter.
- L'huile essentielle a été obtenue par une simple décantation, est conservée à 4 °C dans des flacons en verre brun, pour la préserver de l'air et de la lumière, ces opérations permettent de pallier la dégradation de certains constituants, et contribuent à l'inhibition de toutes activités responsables de sa dénaturation.

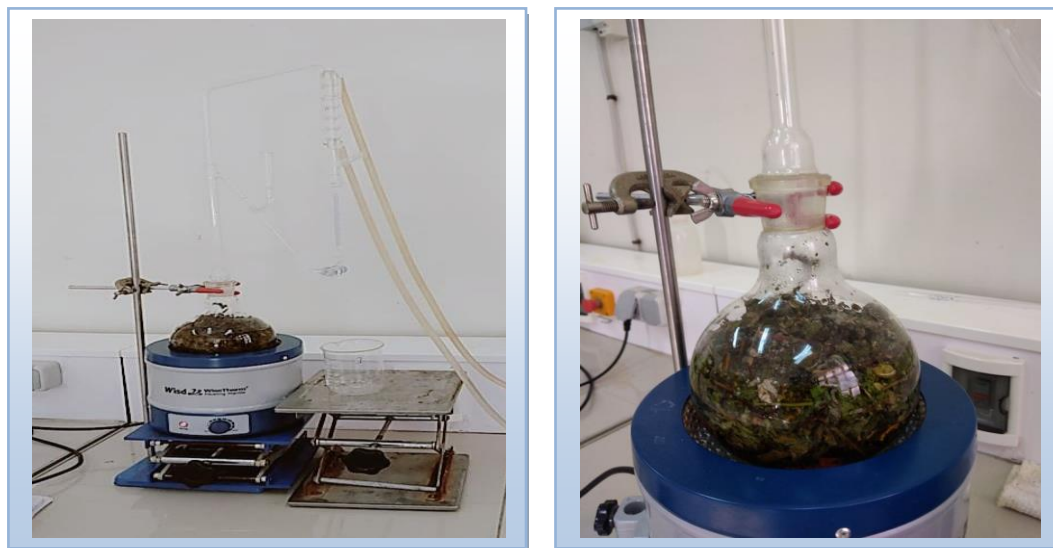


Figure.12: Montage d'hydrodistillation (Clevenger) (photo originale, Laledj, 2020).

2) Détermination du rendement

Le rendement en huile essentielle (**RHE**), est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction (**MHE**) et la masse de la matière végétale utilisée (**MS**). Le rendement est exprimé en pourcentage (%), et calculé par la formule suivante:

$$RHE = (MHE / MS).100$$

RHE : le rendement de l'huile essentielle (%).

MHE : la masse d'huile essentielle récupérée en (g).

MS : la quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en (g).

3.2 Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia*

1) Choix et origine des souches testées

Le choix des bactéries devrait être porté sur deux souches fréquentes en pathologie humaine, elles devraient être fournies par le Laboratoire Central des Analyses Biologiques de CHU de Sidi-Bel-Abbès. Ces souches sont : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

2) Milieux de culture utilisés

Les milieux de culture qui devraient être utilisés sont les suivants :

- Bouillon nutritive (BN).
- Gélose nutritive (GN).
- Gélose Muller-Hinton (MH).
- Gélose Chapman.
- Gélose Hecktoen.

3) Préparation de la pré-culture

La revivification des souches devrait être effectuée par ensemencement de la souche bactérienne dans le bouillon nutritif, après incubation pendant 24h à 37°C (**Benazzouz et al., 2012**).

Un deuxième repiquage devrait être réalisé dans des boîtes de Pétri, contenant de la gélose nutritive (GN), ou des milieux sélectifs tout dépend du germe testé, puis incubées à 37°C pendant 18h (**Benazzouz et al., 2012**).

4) Préparation de l'inoculum

L'inoculum de chaque souche devrait être préparé à partir d'une culture jeune, en bouillon nutritif de 18h, les colonies qui devraient être bien isolées devraient être raclées à l'aide de l'anse de platine puis déchargées dans 10 ml d'eau physiologique stérile de façon à avoir des suspensions de 10^8 UFC/ml de bactéries (**Benazzouz et al., 2012**).

La suspension bactérienne devrait être ensuite homogénéisée. Son opacité devrait être équivalente à 0,5 Mc Farland où à une DO de 0,08 à 0,10 à 625 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique s'il est trop fort (**Baser et Buchbauer, 2010**).

5) Procédures expérimentales

La gélose Mueller-Hinton devrait être coulée en boîte de Pétri avec une épaisseur de 4 mm. Les géloses devraient être ensuite pré-séchées. Ces dernières devraient être préalablement ensemencés par écouvillonnage avec la suspension bactérienne, dans ce cas là l'écouvillon stérile devrait être trempé dans la suspension bactérienne puis essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum (**Benazzouz et al., 2012**).

Après en frottant l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée (le frottement devrait se faire de haut en bas, en stries serrées cette opération devrait être répétée deux fois).

6) Dépôts de disques

La méthode d'aromatogramme est la technique qui devrait être choisie pour déterminer l'activité antibactérienne des huiles essentielles des plantes, elle consiste à utiliser des disques de papier Watman N°3 stérile de 6 mm (**Boukartaba et al., 2019**).

Ces derniers doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer, les disques une fois découpés devraient être stérilisés.

Une série de dilutions (25%, 50%,75%) de l'huile essentielle dans le (DMSO) devrait être réalisée, puis chaque disque devrait être imprégné de 100 µl d'huile de différentes concentrations, et quelques disques devraient être imprégnés de 100 µl d'huile pure et de DMSO (témoin négatif) (**Bekhechi et al., 2008**).

7) Réalisation de l'antibiogramme

À l'aide d'un pince stérile, les disques devraient être déposés à la surface de gélose inoculée, les boîtes de Pétri devraient être fermées et maintenues à la température ambiante (sur la paillasse) pendant 15 minutes, puis incubées 18h à 37°C (**Choi, 2006**).

Après l'incubation, l'effet d'HE se traduit par l'apparition d'un halo clair autour du disque correspondant à l'absence de la croissance (**Hanif et al., 2011**). Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (**Choi, 2006**).

Les diamètres des zones d'inhibition devraient être mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle (**Paun, 2013**).

Chapitre V

Résultats et Discussions

1. Analyse des articles

Nous avons analysé des articles récents, représentant l'étude de l'activité antibactérienne des HE de la partie aérienne de la plante *Mentha rotundifolia* .L, récoltées de plusieurs pays méditerranéens (Algérie, Tunisie et Maroc).

Ces études suggèrent que l'HE de cette plante médicinale utilisée, pourrait être efficace vis-à-vis des souches pathogènes et multi-résistantes.

Certains chercheurs (**Brahmi et al., 2016**) ont montré que, le rendement d'huile essentielle obtenue à partir de *Mentha rotundifolia* .L, récoltée au niveau de la région de Smaoun, localité algérienne (Béjaia, Algérie), était de 0.49g /100g ; ce dernier a une activité antibactérienne appréciable contre les bactéries à Gram positif, avec un diamètre d'inhibition allant jusqu'à 20 mm pour *Staphylococcus aureus*.

Tableau .04 : Zones d'inhibition de la croissance (mm) montrant l'activité antibactérienne d'huile essentielle Algérienne de *Mentha rotundifolia* .L (**Brahmi et al., 2016**).

<i>Souches testées</i>	<i>Zones d'inhibitions de la croissance (mm)</i>			
	(1/1 v/v)	(1/2 v/v)	(1/5 v/v)	(1/10 v/v)
<i>E. coli</i>	11.0 ±1.0	7.6±0.6	7.6±1.1	7.3± 0.6
<i>B. subtilis</i>	19.6 ±0.6	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0
<i>S. aureus</i>	20.0±1.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0
<i>Klebsiella pneumonie.</i>	8.0±0.0	7.6±0.6	7.3±0.6	6.3±0.6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7.0±0.0	7.0±0.0	7.0±0.0	7.0±0.0

(1/1 v/v) : HE non diluées / (1/2, 1/5, 1/10 v/v) : HE diluées par le DMSO.

Par ailleurs, les travaux de (**Ladjel et al., 2011**) en Algérie ont déduit que, les souches bactériennes testées comme (*Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*, *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis*), ont possédé des diamètres d'inhibitions dans l'ordre suivant : 11, 10, 24, 22 mm, avec un rendement d'huile essentielle de la plante *Mentha rotundifolia* .L, obtenue par hydrodistillation, arriver à 0,8% .

Tableau .05 : Évaluation de l'activité antibactérienne (mm) de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* .L en Algérie (**Ladjel et al., 2011**).

<i>Souches bactériennes testées</i>	<i>Zones d'inhibitions (mm)</i>
<i>Enterobacter</i>	10
<i>Escherichia coli</i>	24
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
<i>Proteus mirabilis</i>	22

D'autre part, les chercheurs suivant (Derwich *et al.*, 2010), ont rapporté que, le produit qui a été obtenue par la technique d'hydrodistillation, extrait à partir de la partie aérienne de la plante *Mentha rotundifolia.L* du Maroc a possédé un effet antibactérien contre les souches suivantes : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* avec des diamètres des zones d'inhibitions suivants : 45 mm et 34 mm respectivement.

Tableau.06 : Évaluation de l'activité antibactérienne (mm) de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia. L* du Maroc (Derwich *et al.*, 2010).

<i>Souches testées</i>	<i>Zones d'inhibitions (mm)</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	34
<i>Staphylococcus intermedius</i>	31
<i>Escherichia coli</i>	45
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
<i>Bacillus subtilis</i>	14
<i>Streptococcus mutans</i>	9
<i>Micrococcus luteus</i>	6
<i>Proteus mirabilis</i>	5
<i>Klebsiella pneumonia</i>	19

Les résultats de (Riahi *et al.*, 2013) en Tunisie, ont confirmé ceux obtenus par (Derwich *et al.*,2010), qui ont illustré une efficacité très remarquable de l'HE de *Mentha rotundifolia. L* du Maroc contre les deux souches précédents : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* avec des diamètres d'inhibitions respectivement de 34 et 24 mm, cela peut être expliquer par que ces souches ont été sensibles au HE de cette plante.

Tableau.07 : Évaluation de l'activité antibactérienne (mm) de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia .L* en Tunisie (Riahi *et al.*, 2013).

<i>Souches bactériennes testées</i>	<i>Zones d'inhibitions (mm)</i>
<i>Escherichia coli</i>	34
<i>Salmonella typhimurium</i>	31
<i>Staphylococcus aureus</i>	24
<i>Bacillus cereus</i>	23

Conclusion

Conclusion générale

Dans les pays du monde entier, les traditions obligent les populations de s'orienter vers la médecine traditionnelle, basée sur l'utilisation des plantes médicinales.

Actuellement ces plantes chargent plusieurs recherches à cause de leurs richesses en métabolites secondaires, et aussi par leurs effets thérapeutiques.

Notre travail devrait être réalisé pour l'étude de l'activité antibactérienne d'HE d'une plante très connue en Algérie c'est : *Mentha rotundifolia.L.*

Cette étude nous a permis en premier lieu de maîtriser des techniques de base pour l'extraction d'huile essentielle ; la partie aérienne de *Mentha rotundifolia .L.*, soumise à l'extraction par la méthode d'hydrodistillation sur un appareil appelé le Clevenger.

À partir des résultats obtenus au cours de notre étude, on peut conclure et prédire que l'huile essentielle du *Mentha rotundifolia.L.*, pourrait servir comme base de lutte biologique contre les germes responsables des maladies infectieuses et pourrait être de ce fait, une alternative aux antibiotiques.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

Abedini A (2013) Évaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens Poit.* (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes, Université Lille Nord de France, Pp210.

Afnor (2006) Huiles essentielles, Echantillonnage et méthodes d'analyse (Tome1) Monographies relatives aux huiles essentielles. (Tome 2.Volumes 1et 2).

Aghel N, Yamini Y, Hadjiakhoondi A, et al (2004) Super critical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium L* essential oil. Talanta, Pp407-411.

Abbou F (1995) Plantes médicinales et aromatiques dans le monde arabe ; L'agriculture et la fabrication de plantes médicinales dans le monde arabe.Institution arabe pour les études et publication, Pp : 2-22.

(Anonyme. 01) Encyclopédie.

(Anonyme. 02) Encarta.

Anton R, Annelise L (2005) Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Lavoisier, édition Tec &Doc.

Avril M , Charpentier P , Marguilis A, et al (1992) Regression of primary melanoma with metastases . Pp 1377-1381 .

Beauquesne L, Pinkas M, Torck M, et al (1980) Plantes médicinales des régions tempérées.Pp : 108-109.

Brahmi F , Adjaoud A , Marongui B , et al (2016) Composition chimique et activités antimicrobiennes ,insecticides et antioxydantes *in vitro* des huiles essentielles, de *Mentha Pulegium .L et Mentha rotundifolia .L* huds growing in Algeria.

Bineau M S (2002) Aromathérapie, Biogassendi.

Benayad N (2008) Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales Marocaines , moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Mémoire, Université Kasdi Merbah, Ourgla.

Benbouali M (2006) Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de *Mentha rotundifolia* et *Thymus vulgaris*. Mémoire de magister, Université Hassiba Ben Bouali, Chlef.

Références Bibliographiques

Bezić N, Kremer D, Jozić K, et al (2013) Investigation of Chemical Compounds, Antioxidant and Antimicrobial Properties of *Teucrium arduini* .L. (Lamiaceae) Current Drug Targets 14 (9) : 1006-1014.

Boukef M K (1986) Médecine traditionnelle et pharmacopée , les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. A.C.C.T, Tunisie, Pp 350.

Bruneton J (1999) Pharmacognosie , phytochimie et plantes médicinales. Ed. Tech & doc, Lavoisier, Paris.

Boukartaba H , Hammoum K (2019) Étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*. L .

Benazouz A , Hamdane A (2012) Étude et analyse des plantes médicinales algériennes : *Mentha pulegium* , *Mentha rotundifolia* et *Mentha spicata*. L .

Beneteaud E(2011) Les techniques d'extractions. comité français du parfum.

Belaiche P (1979) Traité de polythérapie et d'aromathérapie, l'aromatogramme. Maloine tome1, Paris.

Benallou F , Tefret I (2018) Caractérisation et l'étude de l'effet thérapeutique de la plante *Atriplex Halimus* (Algérie) .

Bruneton J (1993) Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentons. 2eme Ed, Lavoisier, Paris-France.

Burt S(2004) Essential oils, their antibacterial properties and potential applications in foods. Int. J. Food Microbiol 94: Pp 223-253.

Baser K H C, Buchbauer G (2010) Handbook of essential oils, Science Technology and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America, 994Pp.

Bekhechi C , Atik-Bekkara F , Abdelouahid D E (2008) Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. Phytothérapie 6 : Pp 153-159.

Références Bibliographiques

- Caillet L (2007)** Les huiles essentielles, leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. (*RESALA*), *INRS-Institut Armand-Frappier*, Pp :1-8.
- Cardenas J (14 décembre 2017)** Propriétés des huiles essentielles. *Le doctissimo*.
- Cardenas J (2016)** Propriétés des huiles essentielles. *Le doctissimo*.
- Choi Y M, Noh D O, Cho S Y (2006)** Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT*. 39 : Pp 756-761.
- Carip C (2008)** Taxonomie et pathogénie bactérienne .Ed *Lavoisier Tec and Doc*, Paris, Pp 110-122.
- Derwich, Benziane Z, Taouil R, et al (2010)** Comparative essential oil composition of leaves of *Mentha rotundifolia* and *Mentha pulegium* a traditional herbal medicine in Morocco. *American Eurasian Journal of Sustainable Agriculture* 4(1): 47-54.
- Duarte M C, Figueira G M, Sartoratto A, et al (2005)** Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. *J Ethnopharmacol*, 97(2): 305-311.
- De Billerbeck G, Roques C, Vanière P, et al (2002)** Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Hygiène*, 10(3) : 248-251.
- Degryse AC, Delpla I, Voinier M A (2008)** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement-IGS- EHESP*, 87Pp.
- Edrissi A(1982)** Thèse De Troisième Cycle: Étude Des Huiles Essentielles de quelques espèces *Salvia, Lavandula* et *Mentha* du Maroc. *Faculté des Sciences de Rabat, Maroc*, Pp 18-22.
- El Arch M, Satrani B, Farah A, et al (2003)** Composition chimique et activités antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc. *Acta Botanica Gallica* 50(3): 267-274.
- Egan AJF, Vollmer W(2013)** The physiology of bacterial cell division. *Ann N Y Acad Sci* 1277: 8–28.

Références Bibliographiques

El haykle M (1993) Plantes médicinales et aromatiques deuxième édition, installation connaissance D'Alexandrie. Pp13-134.

Fisher K, Phillips C (2008) Potentiel antimicrobial uses of essential oils in food. Trends Food Sci. Technol, 19: 156-164.

Fellah S ,Mehrez R, Manef A (2006) Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia Officinalis.L* ,Cueillie dans deux Régions Différents de la Tunisie .

Fogang H, Maggi F, Tappondjo A, et al (2014) *In vitro* Biological Activities of Seed Essential Oils from the Cameroonian Spices *Afrostyrax lepidophyllus* MILDBR. And *Scorodophloeus zenkeri* Harms Rich in Sulfur-Containing Compounds .Chemistry & Biodiversity , 11(1):161-9 .

Garnero J(1991) Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed. Encyclopédie des médecines naturelles. Paris. France, 2-20 Pp.

Guinoiseau E(2010) Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat, Université de Corse, Pp114.

Hussain A I (2010) Characterization and biological activities of essential oils of some species of Lamiaceae. *PhD*, University of agriculture's, 257Pp.

Hamzaoui N (2004) Extraction et analyse d'huiles essentielles d'*Armoise blanche* Algérienne. Magister, U.S.T.H.B.

Hobson C A , Bonacorsi S , Tenailon O , et al (2019) La chimiothérapie anticancéreuse peut influencer sur la résistance aux antibiotiques .Université de Paris, Hôpital Robert Debré, Service de Microbiologie, F-75019 Paris, France.

Hanif M A, Al-Maskari M Y , Al-Maskari A , et al (2011) Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of unexplored *Omani basil*. Journal of Medicinal Plants Research, 5(5): 751–757Pp .

Hemaiswarya S,Kruthiventi A , Doble M (2008) Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases .

Références Bibliographiques

Iserin P, Masson M, Restellini J P , et al (1995) Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation, soin. *Larousse-Bordas*.

Jeff L, Wayne L(2008) Collaboré avec les bactéries et autre micro-organisme. Ouvrage réalisé par le studio graphique des éditions du Rouergue Achevé d'imprimer sur les presses de Tipostampa. AS 5778, chapitre 3, 44Pp.

Kim N S, Lee D S (2002) Comparison of different extraction methods the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatograph mass spectrometry. *Journal of Chromatography*. 98: 31-47. Labiateac family .Paper presented at VII international congress of essential oils (Cannes) ,Pp118-123.

Kurita, K (1982) Systematic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils componements. *Agric. Biol. Chem* , Pp 46-159-165.

Lahsissene H, Kahouadji A, Tijane M,et al (2009) Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). *Lejeunia*, N° 186.

Lardry J-M, Haberkorn V(2007) L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev* 61 : 14-7.

Leblalta A (2018) Activités insecticide et antifongique des extraits et de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* (Linné, 1762). Université Ferhat Abbas Sétif, Faculté de S-N-V , Pp195.

Lahlou M (2004) Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research* 18: 435-448Pp.

Le minor L, Veron M(1982) Bactériologie médicale. *Médecine-science Flammario* , Pp10-51.

Lévi Y(2006) Inquiétudes sur la présence d'antibiotiques et de bactéries antibiorésistance dans les eaux. *Environnement, Risques & Santé* ,265 Pp.

LebrunAnne-Laure(2017) Antibiotiques. FIGARO .Lucches (2005),méthodes d'extraction des huiles essentielles, *agronomie.info*.

Références Bibliographiques

Lozniewsk A, Rabaud C, (Juillet 2010) Résistance Bactérienne Aux Antibiotiques. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Infections associées aux soins, CCLIN Sud-est. Nancy.

Lucchesi M E (2005) Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles.

Leplat M (27 juin 2017) Le Romarin *Rosmarinus Officinallis .L .*, une lamiacée médicinale de la garrigue provençale . Faculté de pharmacie de Marseille.

Lemaoui C ,Badi A , Layaida H , et al (2017) Stratégies actuelles de lutte contre la résistance aux antibiotiques .

Lewis K, Ausubel F M, (2006) Prospects for plant-derived antibacterials. Nature Biotechnology, 24(12) : Pp 1504-1507.

Ladjel S , Gherraf N , Hamada M (2011) Effet antimicrobien des huiles essentielles de la plante médicinale algérienne *Mentha rotundifolia .L.*

Messail I B (1995) Botanique, systématique des spermaphytes. OPU (Ed).Alger, 91Pp.

Meyer S, Reeb C, Bosdeveix R, et al (2004) Botanique Biologie et Physiologie Végétales.Editions Maloine, Paris.

Miguel M G (2012) Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. *Flavour. Fragr.J25*: 291-312Pp.

Mebarki N(2010) Extraction de l'huile essentielle *thymus fontanesii* et application a la formation d'une forme médicale antimicrobienne. Mém mag: Université Mentouri de Constantine. Algérie ,119Pp.

Moutinho C (2013) Antispasmodic activity of aqueous extracts from *Mentha piperita* native from Trás-osMontes region (Portugal). Int. J. Indig. Med. Plants 29(1): 1167-1174.

Nogaret-Ehrhart A-S(2008) La phytothérapie se soigner par les plantes.Ed. Eyrolles, Paris.

Références Bibliographiques

Naghibi F, Mosaddegh M, Ghorbani A (2005) Labiatae Family in Folk Medicine in Iran, from Ethnobotany to Pharmacology.

Oulymata G (2007) Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification.

Paris M, Hurabielle M (1986) Abrégé de Matière médicale, pharmacognosie.

Paun G, Zrira S (Septembre 2013) « Chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of essential oils from Moroccan aromatic herbs », romaine de chimie .

Richter G(1993) Métabolisme des végétaux phytologie et biochimie presse pollychimiques . Universitaires, Romandes, Pp292.

Riahi L , Elferchichi M , Ghazghazi H , et al (2013) Phytochimie , activité antioxydantes et antimicrobiennes des huiles essentiels de *Mentha rotundifolia* .L en Tunisie .

Reynold J E, Martindale K B (1996) the extra pharmacopoeia 31st edition. Published by the council of *royal pharmaceutical* society of Great Britain, London 885: 255-260 Pp.

Slimane Z(2002) Contribution l'évolution des écorces de fruits de certaine rutacée.

Saidj F (2006) Extraction de l'huile essentielle de thym: *Thymus numidicus kabylica*. Thèse de magistère en Technologie des hydrocarburés. Département génie des procédés chimiques et pharmaceutiques. Université M'Hamed Bougara Boumerdes.

Sahnoune H(2008) Étude de l'extraction d'huile essentielle à partir d'une plante *Mentha rotundifolia* .L de la région d'Ain -Defla.

Silou T, Loubaki L, Malanda M, et al (2004) Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* grâce à un plan factoriel complet. 65(2):219-223.

Références Bibliographiques

Thurzova L(1978) Les plantes santé qui poussent autour de nous. Ed: Elsevier Séquoia Bruxelles 4-268Pp.

Tabuti J R S, Lye K A, Dhillion S (2003) Traditional herbal drugs of bulamogi, Uganda ; plants use and administration .Jethnopharmacol, 19-44Pp.

Talahagcha Kh ,KASSA S (2008) Extraction et caractéristiques organoleptiques et chimiques de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* (Menthe pouliot).D.E.S en biologie.

Tegos G, Stermitz F R, Lomovskaya O, et al, (2002) Multidrug Pump Inhibitors Uncover Remarkable Activity of Plant Antimicrobials. Antimicrobial Agents and Chemotherapy,. 46(10): Pp3133-314.

Teisseire P J (1991) Chimie des substances odorantes .Ed: Lavoisier / TEC et DOC ,Pp 480.

Vokou D, Kokkini S , Bessiére J , et al (1988) *Origanum onites* (Lamiaceae) in Greece distribution, volatile oil yield, and composition. *Econ. Bot*, 42(3) : 483-487Pp.

Verdrager J(1978) Ces médicaments qui nous viennent des plantes, Ou les plantes médicinales dans les traitements modernes. Paris Maloine S.A éditeur, Pp 12-15.

Valnet J (2000) Aromathérapie. Ed. Maloine S. A.alteration of *Saccharomyces cerevisiae*. Phytother. Res. 19(5): 405-8.

Yvan T(1997) Pharmacologie 8ème Edit. *Masson*. Paris Milan Barcelone, 388Pp.

Zeghad N(2009) Étude de contenu polynolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*thymus vulgaris* et *Rosamariuns officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Université Mentouri Constantine.

Annexes

Caractérisation de quelques germes étudiés

Escherichia coli

Généralités

Le genre *Escherichia* comprend plusieurs espèces, dont seul *E. coli* (colibacille) est potentiellement pathogène pour l'homme (Carip , 2008).

E. coli est une bactérie commensale du tube digestif, capable de fermenter le glucose et le lactose, sa présence dans le sol rend l'eau et les aliments impropres à la consommation et l'utilisation. Il représente l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie, ou il participe à la « barrière » intestinale. La colonisation d'*E. Coli* du tube digestif commence dès les premières heures après la naissance et le rythme de division, qui lui permet de garder pendant toute la vie de l'individu (Carip , 2008).

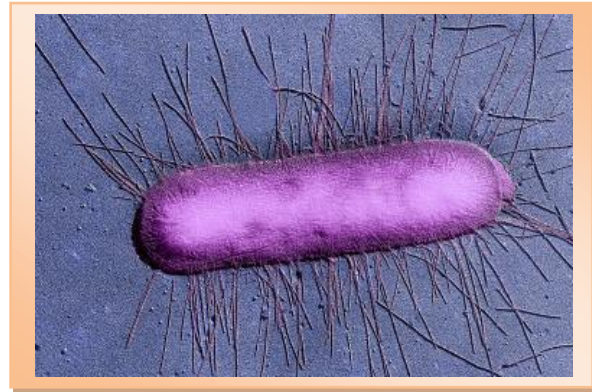
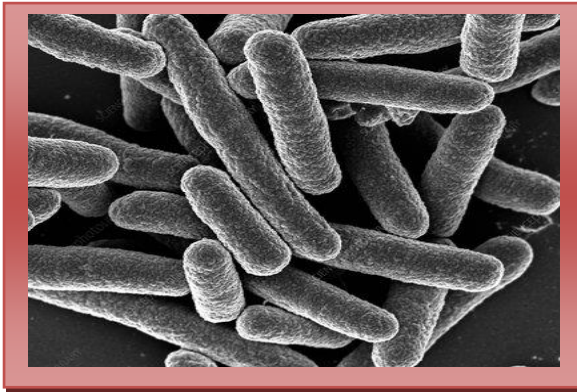
Classification

Annexe.01 : Classification d'*Escherichia coli*

Règne	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacterales
Famille	Enterobactériaceae
Genre	Escherichia
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

Caractéristiques morphologiques et culturales

Escherichia coli ou colibacille fait partie des Entérobactéries, c'est une bactérie fine et allongée à extrémités arrondies, bacille à Gram négatif, aéro-anaérobie facultatif, asporulée, mesurant 2 à 4 μ de long sur 0,4 à 0,6 μ de large, mobile grâce à une ciliature péritriche. Ce germe non exigeant se développe facilement sur milieux ordinaires (GN) (Oulymata, 2007).



Annexe. 02: Aspects microscopique d'*Escherichia coli*.

Résistance aux antibiotiques

Les souches d'*Escherichia coli* sont généralement sensibles aux antibiotiques actifs sur les bacilles Gram négatif : amino-pénicillines, céphalosporines, quinolones, aminosides, triméthoprine-sulfaméthoxazole. Néanmoins cette sensibilité doit toujours être vérifiée par un antibiogramme (Avril *et al.*, 1992).

Staphylococcus aureus

Généralité

Le *Staphylococcus aureus* est une bactérie qui se présente sous la forme de coque, c'est-à-dire arrondie et groupée. Il s'agit en fait d'un agent pathogène dont le mode de développement est différent des autres (il se développe en amas).

La bactérie est présente dans la flore cutanée du règne animal en général, se trouve dans l'eau, la muqueuse du nez, les aliments y compris sur les outils que nous manipulons au quotidien (en cas de contamination exogène). Lorsqu'elle est à des proportions normales, il n'y a pas d'infection, mais lorsque la bactérie franchit les barrières de défense, elle cause des dommages à votre organisme.

La bactérie *Staphylococcus doré* est très souvent indexée dans le cadre des infections associées aux soins hospitaliers. Elle représente plus de 15 % de cas d'infection nosocomiales, sorte de maladie qu'un patient contracte lors de son passage à l'hôpital.

Classification

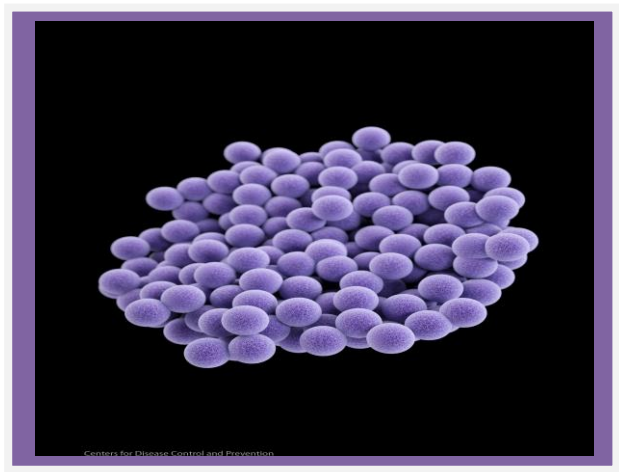
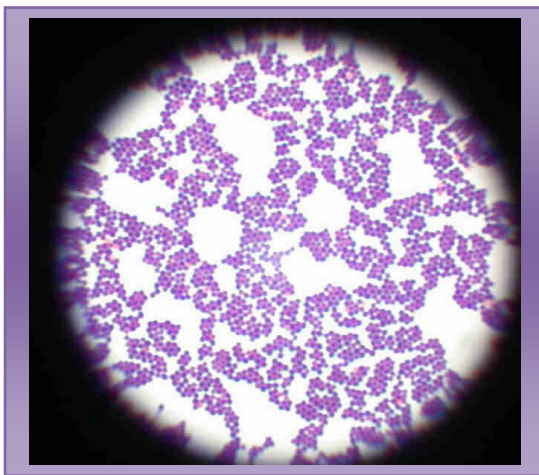
Annexe.03: Classification de *Staphylococcus aureus*

<i>Règne</i>	<i>Bacteria</i>
<i>Embranchement</i>	<i>Firmicutes</i>
<i>Classe</i>	<i>Bacilli</i>
<i>Ordre</i>	<i>Bacillales</i>
<i>Famille</i>	<i>Staphylococcaceae</i>
<i>Genre</i>	<i>Staphylococcus</i>
<i>Espèce</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

Caractéristiques morphologiques et cultureux

Les Staphylocoques sont des cocci de 0,1 à 1 μm de diamètre appartenant au genre des *Staphylococcus*, le *Staphylocoque doré* est une bactérie à Gram positif. Ils se présentent isolés, en diplocoques, ou en amas réalisant l'aspect caractéristique d'une grappe de raisin. Ils sont dépourvus de capsule donc la cellule bactérienne est immobile.

Ce sont des germes qui ne forment pas de spores. Ils se développent facilement, en aérobiose ou en anaérobiose, sur la plupart des milieux usuels, des milieux sélectifs, hyper salés ou contenant du tellurite de potassium, facilitent leur isolement à partir des prélèvements plurimicrobiens.



Annexe. 04: Aspects microscopique de *Staphylococcus aureus*.

Résistance aux antibiotiques

Lorsqu'il s'agit d'un commensal parmi les plus fréquents de notre flore normale, *Staphylococcus aureus* est un pathogène redoutable qui a su développer des résistances à chaque nouvel antibiotique.

S. aureus est un pathogène dont le fort pouvoir d'adaptation permet la survie grâce à l'acquisition successive de gènes de résistance aux antibiotiques, de mécanismes de régulation de la croissance en présence d'antibiotiques et de facteurs de virulence particuliers. Certains de ces aspects semblent intriqués et leur complexité n'est, à ce jour, pas résolue.

