

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie

## Mémoire de Master

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Sciences biotechnologiques

Option : Biotechnologie microbienne



# Contribution à l'étude de l'effet antimicrobienne des huiles essentielles *Mentha pulegium et Laurus nobilis*

Présenté par :

Melle SADEK Salima

Devant le jury composé de :

Président : Melle. KANOUN Khedoudja (MCA, UDL-SBA)

Examinatrice : Mme. OURAMDANE Refka (MCB, UDL-SBA)

Encadreur : Mme. CHAMA Zouaouia (MCB, UDL-SBA)

Co-Encadreur : Mme. YUCEF Narimene (MAA, UDL-SBA)

Année Académique  
2020/2021

# **Remerciement**

**Je tiens en premier à remercier dieu le tous puissant de j'avoir donné le courage, la volonté, l'amour du savoir et surtout la patience pour pouvoir produire ce modeste travail.**

**Je remercie mon encadreur Mme CHAMA.Z pour son aide, ses orientations judicieux, ses qualités d'ordre et d'efficacité et pour l'élaboration de ce travail.**

**Je remercie le responsable du parcours Mr. ABBOUNI.B, je remercie le président de jury Mme. KANOUN et l'examineur Mme. OURAMDAN.**

**Je tiens à remercier tout les ingénieurs de laboratoires de l'université Djilali Liabes, faculté de science de la nature et de la vie.**

**Au Mme YUCEF.N et a tous les gens qui ma donner l'aide de prés et de loin.**



## **Dédicace**

**Je dédie ce modeste travail à :**

**La source de ma vie, mes chères parents Hamed et Fatima el Zohra qui m'ont soutenu moralement et durant mes études et toute ma vie.**

**Mes frères Oussama et Abdeslam, Ma grande mère Khadija et ma tante Mokhtaria et à tout les familles SADEK ; MEKKI ; et BAHLOULI qui m'a tenu toujours la main et m'encourager.**

**Mes adorables amies Ikram ; Zouaouia ; Madjda ; Nesrine ; et tout mes amies qui j'ai passé des moments de bonheur et de souvenir avec elles.**

**Les étudiants de promo 2020/2021 biotechnologie microbienne.**

**Salima**

## Résumé

L'usage extensif des agents antibactériens dans la médication humaine a conduit à l'apparition de souches microbiennes résistantes, d'où l'importance d'orienter les recherches vers des nouvelles molécules, où une bonne partie des recherches scientifiques s'oriente actuellement vers la voie de l'usage des extraits biologiques actifs des plantes médicinales, notamment vers les huiles essentielles.

Dans ce cadre l'objectif de ce travail est d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites de *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis* sur quelques espèces bactériennes pathogènes telles que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

L'extraction des huiles essentielles de plantes aromatiques : *Mentha pulegium*, *Laurus Nobilis* s'effectue par la technique d'hydrodistillation. Les résultats révèlent que *Mentha pulegium* et *Laurus Nobilis* présentent un rendement de 2,7% et 0,79% respectivement. Nos résultats indiquent que les deux huiles essentielle *Mentha pulegium* et *Laurus Nobilis* ont une faible activité vis à vis *Escherichia coli*, *Staphylocoques*, *Pseudomonas*, qui représentent des diamètres d'inhibition de 5mm ; 4mm et de 2 mm respectivement.

Les Bactéries *Escherichia coli* sont les plus sensibles à les 2 huiles est estimée la zone d'inhibition à 5mm ; et de 4mm, 2 mm contre les souches de *Staphylocoques*, et de *Pseudomonas* respectivement.

**Mots-clés :** Huiles essentielles, *Mentha pulegium*, *Laurus nobilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, activité antibactérienne.

## الملخص

أدى الاستخدام المكثف للعوامل المضادة للبكتيريا في العلاجات البشرية إلى ظهور سلالات جرثومية مقاومة، ومن هنا جاءت أهمية توجيه البحث نحو مركبات جديدة، حيث ان الكثير من الأبحاث العلمية تتجه حاليًا نحو استخدام المستخلصات البيولوجية النشطة للنباتات الطبية، وخاصة الزيوت الأساسية.

في هذا السياق، اهتمنا بدراسة النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية من النعناع البري وورق موسى على عدد من الأنواع البكتيرية «*Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, E. coli*».

فقط استعرضنا البكتيريا الضارة وآليات مقاومتها ثم قمنا بإجراء بحث على النبتة *Mentha* و *Laurus nobilis* و *pulegium*، حيث قمنا باستعراض أهم الخصائص و نشاطها المضاد للميكروبات.

كما أضفنا دراسة عن الزيوت الأساسية وطرق تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لاكتساب بعض المعرفة حول تقنيات الاستخلاص المختلفة وتقنيات التي يمكن استخدامها لدراسة التأثير المضاد للبكتيريا لمركب أو مستخلص بيولوجي. لاستخلاص الزيوت العطرية من النباتات العطرية *Mentha Pulegium* و *Laurus Nobilis* استخدمنا التقطير المائي ووجدنا عائدا بنسبة 2,7% و 0,79% على التوالي

فيما يتعلق بهذه الدراسة فإن الزيت العطري ' *Mentha pulegium* و *Laurus Nobilis* له فعالية منخفضة ضد بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, E. coli* هي الأكثر حساسية للزيتين ' و تقدر منطقة التثبيط ب 5مم و 4مم و 2مم ضد سلالات *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* على التوالي.

الكلمات الرئيسية: الزيوت الأساسية، النعناع البري و ورق موسى وورق موسى *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Escherichia coli* و *Laurus nobilis* و *Mentha pulegium*

## Abstract

The extensive use of antibacterial agents in human medication has led to the appearance of resistant microbial strains, hence the importance of orienting research towards new molecules, where much of the scientific research is currently moving towards the use of active biological extracts of medicinal plants, in particular towards essential oils.

In this present work, we investigated the antibacterial activity of essential oils of *Mentha pulegium* and *Laurus nobilis* on a few bacterial species: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*.

We presented the main bacteria pathogenic and their mechanisms of resistance. Then we did a research on the plants (*Mentha pulegium* & *Laurus nobilis*), where we cite work on the antibacterial activity of these plants and their property.

Then we added a study on essential oils and methods of evaluating antibacterial activity to gain some knowledge on the different extraction techniques and techniques that can be used for the study of the antibacterial effect of a compound or a biological extract.

The two essential oils *Mentha pulegium* & *Laurus nobilis* obtained by steam distillation. The yield of HE is about à 2,7% and 0,71% respectively.

The essential method aromagrammes shows that oil *Mentha pulegium* and *Laurus nobilis* from has low antimicrobial activity against *Staphylococcus*, *Pseudomonas* *Escherichia coli*. The *Escherichia coli* most sensitive of two oil with an inhibition zone of 5 mm; 4mm & 2mm against *Staphylococcus*, *Pseudomonas* respectively.

**Key words:** Essential oils, *Mentha pulegium*. *Laurus nobilis*. *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus*. *Pseudomonas aeruginosa*

## Liste des abréviations

**AFNOR** : Association Française de Normalisation.

**CPG** : chromatographie en phase gazeuse.

**DL50** : Dose Létale à 50%.

***E. coli*** : *Escherichia coli*.

**HEs** : huiles essentielles.

***M. pulegium*** : *Mentha pulegium*.

***P. aeruginosa*** : *Pseudomonas aeruginosa*.

***S. aureus*** : *Staphylococcus aureus*.

**SM** : spectromètre de masse.

**g** : Gramme.

**h** : Heure.

**IA** : Indice d'acide.

**IE** : Indice d'ester.

**Ip** : Indice de peroxyde.

**Is** : Indice de saponification.

**IR** : Infrarouge.

**ISO** : International Organisation for Standardisation.

**%** : Pourcentage.

**min** : Minute.

**ml** : millilitre.

**d** : la densité.

**cm** : centimètre.

**SBA** : Sidi Bel Abbes.

**ADN** : Acide dioxyde nucléotide.

**V** : Volume.

**°C** : Degré Celsius.

**%** : Pourcentage.

**[n]<sup>°D</sup>**: Indice de réfraction.

**PH** : Potentiel hydrogène.

**RHE** : Rendement en huile essentielle.

**mg** : Milligramme.

**M-H** : Mueller Hinton.

**mm** : Millimètre.

**S.m** : solution mère.

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Structure de la molécule d'isoprène .....	<b>6</b>
<b>Figure 2</b> : Structure Chimiques de quelques composés aromatiques.....	<b>7</b>
<b>Figure 3</b> : Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation.....	<b>10</b>
<b>Figure 4</b> : Principe schématisé de l'appareillage d'entraînement à la vapeur d'eau.....	<b>10</b>
<b>Figure 5</b> : Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne.....	<b>13</b>
<b>Figure 6</b> : Morphologie de <i>Mentha Pulegium</i> .....	<b>16</b>
<b>Figure 7</b> : Répartitions géographique de la Menthe par le monde.....	<b>17</b>
<b>Figure 8</b> : Répartition géographique de <i>Laurus nobilis L.</i> .....	<b>21</b>
<b>Figure 9</b> : Observation microscopique de coloration de Gram d' <i>Escherichia coli</i> .....	<b>23</b>
<b>Figure10</b> : Observation microscopique de coloration de Gram de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>25</b>
<b>Figure 11</b> : Observation microscopique de coloration de Gram de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	<b>26</b>
<b>Figure12</b> : Montage d'un hydrodistillateur type Clevenger.....	<b>32</b>
<b>Figure 13</b> : Préparation des différentes concentrations des HEs.....	<b>39</b>
<b>Figure14</b> : Préparation des disques d'HEs.....	<b>39</b>
<b>Figure15</b> : Préparation des suspensions bactériennes des souches pathogènes.....	<b>40</b>
<b>Figure16</b> : Préparation des suspensions bactériennes des souches pathogènes pour la centrifugation.....	<b>40</b>
<b>Figure 17</b> : Principe de la méthode de diffusion par disque(Aromatogramme).....	<b>41</b>
<b>Figure 18</b> : Application des disques (6 disque par boîte).....	<b>41</b>
<b>Figure 19</b> : Effet inhibiteur des HEs sur <i>l'E. coli</i> .....	<b>46</b>
<b>Figure 20</b> : Effet inhibiteur des HEs sur le <i>S.aurieus</i> .....	<b>47</b>

<b>Figure 21</b> : Effet inhibiteur des HEs sur le <i>P.aeruginosa</i> .....	<b>47</b>
<b>Figure 22</b> : Graphe représente l'Activité antibactérienne de <i>Mentha pulegium</i> sur les 3souches en présence des différentes concentrations.....	<b>48</b>
<b>Figure 23</b> : Graphe représente l'Activité antibactérienne de <i>Laurus nobilis</i> sur les 3souches en présence des différentes concentrations.....	<b>49</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01:</b> Morphologie de <i>Laurus nobilis</i> L.....	<b>21</b>
<b>Tableau 02 :</b> Taxonomie de <i>E .coli</i> .....	<b>23</b>
<b>Tableau 03 :</b> Taxonomie de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>25</b>
<b>Tableau 04 :</b> Taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	<b>27</b>
<b>Tableau05 :</b> Présentation des plantes employées pour l'extracti des huiles essentielles.....	<b>31</b>
<b>Tableau 06 :</b> transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés.....	<b>42</b>
<b>Tableau 07:</b> Caractères organoleptiques des HE.....	<b>43</b>
<b>Tableau 08 :</b> Résultats de l'aspect micro et macroscopique des souches bactériennes.....	<b>45</b>
<b>Tableau9 :</b> Mise en évidence de la production de l'oxydase et le catalase chez les trois souches.....	<b>46</b>
<b>Tableau 10:</b> Activité antibactérienne de <b>Mentha pulegium</b> sur les 3 souches en présence des différentes concentrations.....	<b>48</b>
<b>Tableau 11 :</b> Activité antibactérienne de <b>Laurus nobilis</b> sur les 3souches en présence des différentes concentrations.....	<b>49</b>
<b>Tableau12 :</b> Résultats de transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés.....	<b>50</b>

# ***TABLE DES MATIERES***

**Résumé**

المخلص

**Abstract**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction générale**

**Synthèse bibliographique**

## **Chapitre:**

I- Les plantes médicinales et la phytothérapie.....	3
II-Les plantes aromatiques .....	3
III-Généralités sur les huiles essentielles.....	4
III-1. Historique.....	4
III- 2. Définition d'huile essentielle.....	4
III- 3. Origine des huiles essentielles.....	4
III-4. Le rôle des huiles essentielles chez les plantes.....	5
III- 5. Localisation des huiles essentielles.....	5
III- 6. Composition chimique des huiles essentielles.....	5
III-7. La conservation des huiles essentielles .....	7
III-8. Domaines d'utilisation.....	7
III-9.Techniques d'extraction des huiles essentielles.....	9
III-10. Etude analytique et thérapeutique.....	11

III-11. Toxicité des huiles essentielles.....	14
---	----

### ChapitreII:

Monographie des 2 plantes utilisées.....	15
--	----

I. <i>Mentha pulegium</i> .....	15
---------------------------------	----

I-1. Historique.....	15
----------------------	----

I-2. Généralité.....	15
----------------------	----

I-3. Description botanique.....	16
---------------------------------	----

I-4. Systématique.....	16
------------------------	----

I-5. Origine et répartition géographique.....	17
---	----

I-6. Composition chimique.....	17
--------------------------------	----

I-7. Culture.....	18
-------------------	----

I-8. Propriété et usage.....	18
------------------------------	----

I-9. Toxicologie.....	19
-----------------------	----

I-10. Activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Mentha pulegium</i> .....	19
--	----

II- <i>Laurus nobilis</i> .....	20
---------------------------------	----

II-1. Description botanique.....	20
----------------------------------	----

II-2. Répartition géographique de <i>Laurus nobilis</i> L.....	21
--	----

II-3. Morphologie du le laurier.....	21
--------------------------------------	----

II-4. Composition chimique.....	22
---------------------------------	----

II-5. Usage et propriétés thérapeutiques.....	22
---	----

### ChapitreIII:

Les souches microbiennes.....	23
-------------------------------	----

I. <i>Escherichia coli</i> .....	23
----------------------------------	----

I.1. Généralités.....	23
I.2. Taxonomie.....	23
I.3. Pouvoir pathogène.....	24
II. Staphylococcus aureus.....	24
II.1. Généralités.....	24
II.2. Taxonomie.....	25
II.3. Pouvoir pathogène.....	25
III. Pseudomonas aeruginosa.....	26
III.1. Généralités.....	26
III.2. Taxonomie.....	27
III.3. Pouvoir pathogène.....	27

#### **ChapitreIV :**

Matériels et Méthodes.....	28
I- Objectif du travail.....	28
II- Mode opératoire.....	28
II-1. Matériels .....	28
II-2. Matériels biologique.....	30
II-3. Mode d'obtention des HES.....	30
II-4. Analyse des l'HE.....	33
II-5.Méthodes de recherche des souches bactériennes.....	34
II-6. Identification des souches bactériennes .....	37
II-7. Evaluation de l'activité antibactérienne des HES.....	38

## **Chapitre V :**

Résultats et discussion.....	<b>43</b>
1. Résultats.....	<b>43</b>
1.1. Analyse quantitative.....	<b>43</b>
1.2. Analyses qualitatives.....	<b>43</b>
1.3. Résultats de l'identification des souches bactériennes.....	<b>45</b>
1.4. Résultats de l'aromatogramme.....	<b>46</b>
Discussion.....	<b>51</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>53</b>
<b>REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>55</b>

***Introduction***  
***Générale***

## Introduction

Depuis leur découverte au début du XX<sup>ème</sup> siècle, les antibiotiques ont permis de grandes avancées en thérapeutique et contribué à l'essor de la médecine moderne. L'introduction et l'utilisation en clinique des premières classes d'antibiotiques ont considérablement réduit la mortalité imputable à des maladies autrefois incurables. L'efficacité de l'antibiothérapie dans le contrôle et la limitation de la dissémination des agents pathogènes a ainsi fait naître l'espoir de pouvoir éradiquer l'ensemble des maladies infectieuses. Malheureusement, l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques a mis un terme à cette vague d'optimisme [1]

De plus, l'usage extensif des agents antibactériens dans la médication humaine a conduit à l'apparition de souches microbiennes résistantes, d'où l'importance d'orienter les recherches vers des nouvelles molécules, où une bonne partie des recherches scientifiques s'oriente actuellement vers la voie de l'usage des extraits biologiques actifs des plantes aromatiques et médicinales, notamment vers les huiles essentielles [2]. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), 75 à 95% des populations rurales (particulièrement dans les pays en développement) font recours à la médecine traditionnelle faite en grande partie à base de plantes (OMS, 2003). Il a été prouvé qu'environ 20% des espèces végétales dans le monde possèdent des vertus thérapeutiques ou cosmétiques, car elles contiennent des molécules ou des principes actifs à différentes propriétés biologiques, qui trouvent leur application dans divers domaines (médecine, pharmacie, cosmétologie et agriculture, etc.) [3].

L'Algérie compte parmi les pays du bassin méditerranéen les plus riches en ressources phylogénétiques à intérêt aromatique et médicinal, vu la diversité de ses étages bioclimatiques. On dénombre plus de 300 espèces à usage thérapeutique ou aromatique existant parmi les 3 150 espèces végétales que compte notre pays [4].

Actuellement, les plantes aromatiques et médicinales possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles et leurs extraits dans la médecine et dans d'autres domaines d'intérêt économique.

Les huiles essentielles par exemple, également appelées huiles odoriférantes volatiles, sont des liquides huileux aromatiques extraits de différentes parties de plantes ; les feuilles, les écorces, les fleurs, les bourgeons, les graines, etc. [5]. Ces substances naturelles riches en composés antimicrobiens et antioxydants peuvent être utilisées pour résoudre de différents problèmes.

La menthe pouliot, connue sous le nom vernaculaire arabe de « fliyou », est largement utilisée en médecine populaire dans de nombreuses cultures [6]. Les parties aériennes fleuries de cette plante sont traditionnellement utilisées pour leurs propriétés antimicrobiennes, expectorantes, carminatives et antispasmodiques dans le traitement du rhume, la bronchite, la tuberculose, la sinusite, le choléra, les intoxications alimentaires, les flatulences et les coliques intestinales [7].

# Introduction générales

---

De baies de laurier (*Laurus nobilis* L., Lauraceae) est une espèce endémique de la région méditerranéenne, qui est cultivé dans de nombreux pays avec climat subtropicale tempéré.

De la famille des lauracées, *Laurus nobilis* fait partie des plantes spontanées de la région méditerranéenne, on le trouve sous forme d'arbre ou d'arbuste rustique au feuillage persistant. Il se couvre de petites fleurs crème au printemps. On le trouve dans les sols riches et humides mais bien drainés, dans une orientation ensoleillée et protégée du vent. Les régions côtières lui conviennent très bien tel que le Nord ou les régions de l'est de l'Europe. Elle est surtout cultivée pour ses caractéristiques condimentaires et médicinales [8].

**Les objectifs de ce travail sont tracés comme suit :**

- Extraction des huiles essentielles des deux plantes *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis*.
- Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles du *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis* vis à vis des bactéries pathogènes telles que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

*Synthèse*  
*Bibliographique*

## **I- Les plantes médicinales et la phytothérapie**

Une plante médicinale est une plante dont un des organes (feuille ou écorce) possède des vertus curatives, et quelquefois toxique selon son dosage .Au Moyen Âge, on parlait de « simples ».

Il existe une définition officielle des plantes médicinales : celles inscrites à la pharmacopée .Les plantes médicinales inscrites à la pharmacopée sont reconnues comme des médicaments.

La phytothérapie, c'est l'emploi de plantes ou de médicaments à base de plantes (poudres, préparation en ampoules, infusion....) pour soigner naturellement les différents maux du corps humain.

La phytothérapie est très certainement la meilleure approche pour prévenir mais aussi pour soigner la majorité de nos maux du quotidien.

L'efficacité d'un traitement de phytothérapie repose avant tout sur le choix des plantes qui le composent. Aussi, la qualité des plantes est-elle essentielle. Cette qualité s'obtient par une sélection rigoureuse de l'espèce, de la partie active de la plante (racine, sommité fleurie, tige, feuille, fruit) en veillant aux bonnes conditions de culture (exposition au soleil, sol, climat) et de période adéquate pour la cueillette.

## **II-Les plantes aromatiques**

Une plante aromatique utilisée en cuisine mais aussi en médecine douce pour son arôme et leur essence .Ces dernières sont les principes aromatiques de la plante, présentes dans diverses parties comme les feuilles, l'écorce, les fleurs et les fruits, les graines et les racines. Elles donneront l'huile essentielle par distillation. Environ 10% des plantes seulement sont aromatiques.

L'aromathérapie est une médecine qui utilise les vertus des huiles essentielles (en abrégé « H.E ») et des essences d'agrumes à des fins préventives ou curatives, pour maintenir l'équilibre physique, mental et spirituel.

Les plantes aromatiques utilisées en cuisine ont quasiment toutes des propriétés thérapeutiques, utiles pour notre santé. Mais les plantes médicinales sont utilisées par plus de 80% de la population mondiale, permettant de soigner ou de prévenir les maladies. Elles contiennent des principes actifs dans une partie de leurs tissus mais n'ont pas forcément une odeur caractéristique.

Certains sont toxiques telles qu'elles. Ce sont les simples de nos ancêtres.

## **III-Généralités sur les huiles essentielles**

### **III-1. Historique**

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. (Jésus-Christ) [9].

Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. 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. L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec l'ère arabe de la civilisation, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques.

Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. 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 ; ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches [10].

### **III- 2. Définition d'huile essentielle**

Une huile essentielle est un mélange naturel complexe de métabolites secondaires lipophiles, volatils, odorants et souvent liquides contenus dans des tissus végétaux spécialisés [11]. Selon la norme AFNOR NF'T 75-006, «l'huile essentielle désigne 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, soit par distillation sèche. Elle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques» [12].

L'huile essentielle ne contient pas de corps gras comme l'huile végétale [13].

### **III- 3. Origine des huiles essentielles :**

Les plantes vertes puisent l'eau et utilisent l'énergie solaire et le gaz carbonique présent dans l'air pour synthétiser les glucides, ce processus est appelé photosynthèse, il se déroule au niveau des feuilles, plus précisément au niveau des chloroplastes qui renferment la chlorophylle. Les produits issus de la photosynthèse sont (glucides, NADPH, ATP) constituent une source d'énergies, ils contribuent à la génération de nouvelles cellules, ils interviennent indirectement dans la biosynthèse de divers composés secondaires tels que les lipides, les hétérosides et les essences, ainsi les huiles essentielles font parties des résidus du métabolisme végétal [14].

## **III-4. Le rôle des huiles essentielles chez les plantes**

Dans la physiologie de la plante reste encore mal connu. Toutefois, Elles sont en général considérées comme des déchets du métabolisme ou des sous-produits de l'activité métabolique d'une plante [15]. Cependant plusieurs de leurs effets utiles ont été décrits telles que la réduction de la compétition des autres espèces de plantes (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines. Les huiles essentielles pourraient avoir un rôle attractif vis-à-vis des insectes, favorisant la pollinisation [16]. Certains auteurs affirment que les huiles essentielles jouent un rôle hormonal, régulateur et catalyseur dans le métabolisme végétal, assurant leur défense et aidant la plante à s'adapter à son environnement [17].

## **III- 5. Localisation des huiles essentielles**

Les HEs sont largement réparties dans le règne végétal ; certaines familles en sont particulièrement riches (labiées). Elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux : sommités fleuries (Menthe), écorces (cannelier), racines (vétiver), rhizomes (gingembre), fruits (Anis, fenouil, badianier)... dans une même plante, elles peuvent être présentes à la fois dans différents organes ; la composition des essences peut alors varier d'un organe à l'autre.

Les essences peuvent être localisées dans des cellules sécrétrices isolées (Lauracées), mais on les trouve le plus souvent dans des organes sécréteurs : poche sécrétrices schizogènes (rutacées), canaux sécréteurs (conifères, ombellifères), poils sécréteurs (labiées, composées) [18].

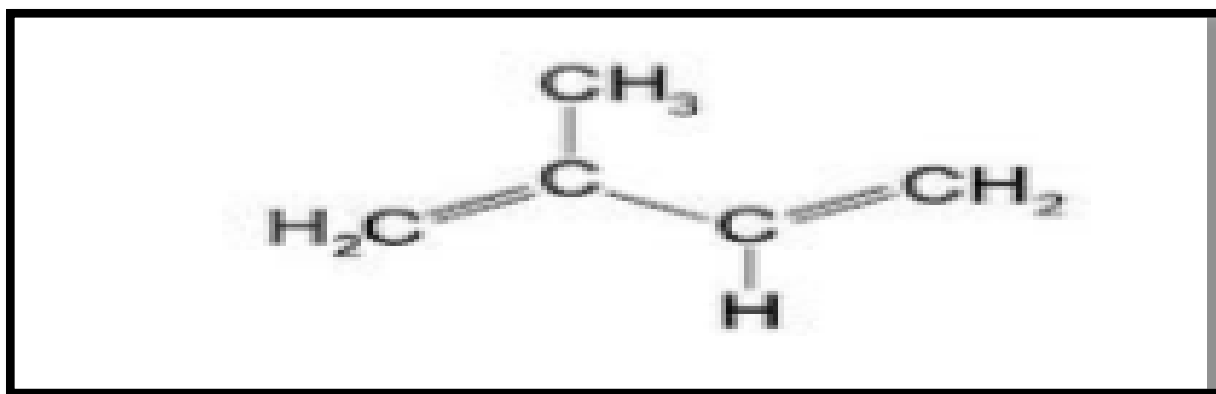
## **III- 6. Composition chimique des huiles essentielles**

Du point de vue chimique, les huiles essentielles sont constituées de mélanges extrêmement complexes. Les constituants des huiles essentielles peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes (composés terpéniques) et les phénylpropanoïdes [19]. Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils [18].

L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG). C'est la technique la plus utilisée, car elle permet de réaliser une analyse complète de plus d'une centaine de molécules chimiques que contient l'huile. Le spectromètre de masse (SM), que l'on associe souvent à la chromatographie (CPG-SM), permet lui d'obtenir la composition précise de l'huile essentielle [20]. La résonance magnétique nucléaire (RMN) peut également être utilisée pour identifier les constituants des huiles essentielles [21].

### **III- 6.1. Les composés terpéniques**

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandue dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone à la formule générale (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) reconnue par Wallach dès 1887 [22].



**Figure 1** : Structure de la molécule d'isoprène

Cet isoprène est à la base du concept de la « règle isoprénique » énoncée en 1953 par Ruzicka. Cette règle considère le diphosphate d'isopentényle (IPP), désigné sous le nom d'isoprène actif, comme le véritable précurseur de la molécule terpénique. Les systèmes enzymatiques responsables de cette conversion (IPP en composés terpéniques dans les trois compartiments : cytoplasmes, mitochondries et plastes) sont hydrosolubles ou membranaires.

Ces derniers permettent l'élongation de la chaîne isoprénique conduisant à tout l'éventail des composés terpéniques à 10, 15, 20 et 30 atomes de carbones [22]. Le terme « terpénoïde » définit l'ensemble des terpènes oxygénés et non oxygénés, alors que le terme « terpène » ne tient pas compte de la présence d'oxygène [11].

### \*Les monoterpènes

Les composés monoterpéniques sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> [23]. Ces composés peuvent être : monoterpènes acycliques (myrcène, ocimènes), monoterpènes monocycliques ( $\alpha$ - et  $\gamma$ -terpinène, p-cymène) et aux monoterpènes bicycliques (pinènes,  $\Delta^3$ -carène, camphène, sabinène). Selon Bruneton (1999), la réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions : alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes, phénols.

### \*Les sesquiterpènes

Ils comportent trois unités d'isoprène, leur formule est C<sub>15</sub>H<sub>24</sub> soit une fois et demie (sesqui) la molécule des terpènes [24]. Ils présentent une grande variété dans les structures conduisant à un nombre élevé de possibilités, ce qui a retardé l'élucidation de leurs structures [23]. Les sesquiterpènes peuvent être également, comme les monoterpènes, acycliques (farnésol), monocycliques (humulène,  $\alpha$ -zingibèrene) ou polycycliques (matricine, artéannuine,  $\beta$ , artémisinine). Ils renferment aussi des fonctions comme alcools (farnésol, carotol,  $\beta$ -santalol, patchoulol), cétones (nootkatone, cis-longipinane-2.7-dione,  $\beta$ -vétivone), aldéhydes (sinensals), esters (acétate de cédryle) [25].

## III-6.2. Les composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents que les précédents, ce sont très souvent des Allylphénols, Propénylphénols, Anéthol, Aisaldéhyde, Apiol, (Estragol), Eugénol, Safrole, Asarones, Cinnamaldéhyde, Cinnamyl alcohol. On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'authranilate de méthyle ; Les lactones dérivées des acides cinnamiques (les coumarines), étant, au moins pour les plus simple d'entre, entraînés par la vapeur d'eau [26].

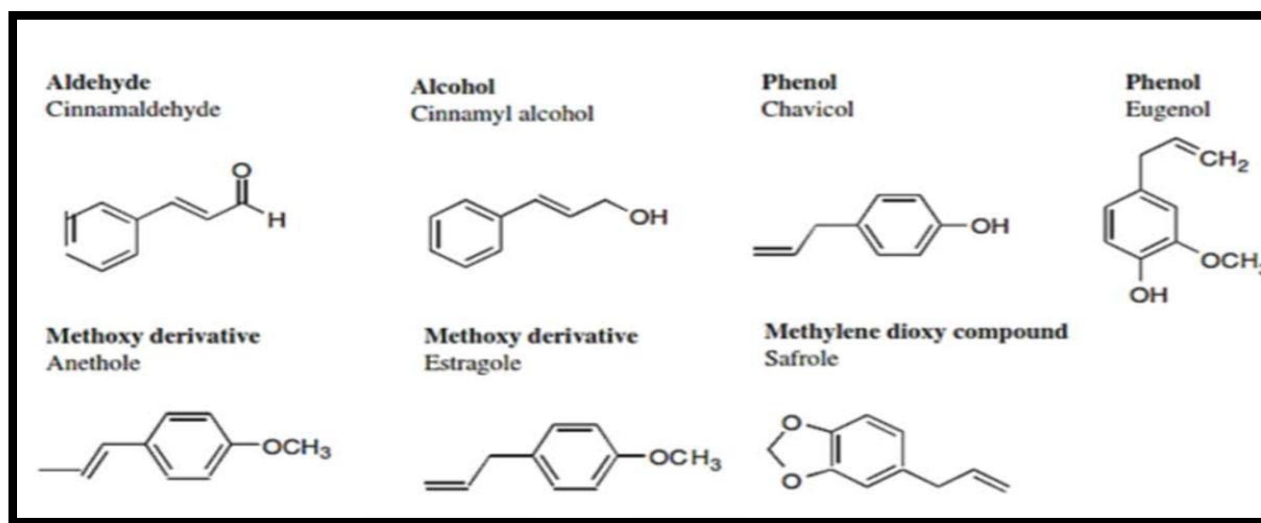


Figure 2 : Structure Chimiques de quelques composés aromatiques.

## III-6.3. Des composés d'origines diverses

Selon le mode de récupération utilisé, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraîné lors de l'hydrodistillation tels que : les carbures (linéaires et ramifiés, saturés ou non), acides (C<sub>3</sub> à C<sub>10</sub>), alcools, aldéhydes, esters acycliques, lactones..... [18].

## III-7. La conservation des huiles essentielles

A cause de leur évaporation rapide, leur sensibilité à l'air et à la lumière, les huiles essentielles doivent être conservées dans des flacons opaques et fermés hermétiquement [27]

## III-8. Domaines d'utilisation

### III-8.1. En pharmacie

L'importance des plantes aromatiques est indiscutable. Leur contenu en essence et la nature chimique des constituants de celle-ci les confèrent de grandes perspectives d'application. Ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médical et pharmaceutique. Les substances actives des plantes médicinales sont de deux types :

\*Les produits du métabolisme primaire (essentiellement des saccharides), substances indispensables à la vie de la plante se forment dans toutes les plantes vertes grâce à la photosynthèse.

\*Le second type de substances se compose des produits du métabolisme secondaire résultant essentiellement de l'azote [28].

## **III-8.2. Phytothérapies**

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les HEs pour traiter un certain nombre de maladies. Le terme aromathérapie vient du chimiste Français René-Maurice atte fosse, qui a utilisé l'HE de lavande pendant la première guerre mondiale pour soigner des blessures et des infections. Selon lui, la lavande était plus appropriée pour traiter les infections que plusieurs antiseptiques utilisés à cette époque. Cette spécialité préoccupe de plus en plus des médecins et des pharmaciens qui ont publié un nombre important d'ouvrages d'aromathérapie. Les HEs sont largement utilisés pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HEs ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries.

La listerine qui est une solution constituée d'HE de thymol et d'eucalyptol possède une grande activité bactéricide sur les microorganismes de la salive et de la plaque dentaire. Les huiles essentielles de thym et de romarin ont été utilisées pour soulager la fatigue, les maux de tête, les douleurs musculaires et quelques problèmes respiratoires [29].

## **III-8.3. En parfumerie et cosmétologie**

L'utilisation des HEs dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et antioxydante, tout en leur assurant leur odeur agréable [29].

## **III-8.4. En industrie alimentaire**

En industrie alimentaire, on cherche toujours à avoir une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure. Une nouvelle technique pour réduire la prolifération des micro-organismes réside par l'utilisation des HE. Les plantes aromatiques et leur HEs sont utilisés dans la conservation des denrées alimentaires. Parmi le groupe diversifié des constituants chimiques des HEs, le carvacrol, qui exerce une action antimicrobienne bien distinguée, est additionné à différents produits alimentaires en industrie agro-alimentaire. Ils y sont rajoutés pour rehausser le goût et pour empêcher le développement des contaminants alimentaires. Plusieurs travaux ont montré que les HEs de thym, d'origan, de cannelle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxigenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infections alimentaires [29].

Les huiles essentielles sont très utilisées dans les arômes alimentaires, que ce soit dans le secteur des arômes sucré ou salés. Dans le domaine des arômes salés, une place de choix revient évidemment aux huiles essentielles d'épices et d'aromates. Celles-ci sont également utilisées dans une moindre mesure

dans le domaine des arômes sucrés, dans lequel les huiles essentielles d'agrumes sont largement représentées [30].

## **III-9. Techniques d'extraction des huiles essentielles**

### **III-9.1. La distillation**

La distillation est un procédé qui utilise la nature volatile des composants aromatiques pour les séparer du reste de la plante. L'association à l'eau s'appuie sur la théorie des liquides mélangés mais non miscibles, découverte par Berthelot (1863), c'est l'azéotropisme. La distillation du mélange eau-essence végétale s'effectue à une température inférieure à 100°C à pression atmosphérique normale, minimisant les dénaturations de l'huile essentielle qu'une température supérieure ne manquerait pas de provoquer [31].

#### **III-9.1.1. Hydro-distillation**

L'hydro-distillation est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles. 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'huile essentielle est évaporée avec la vapeur d'eau. Ces derniers sont hétérogènes sont alors condensées à l'aide d'un réfrigèrent. Le distillat est ensuite récupéré dans un erlenmeyer (Figure : 3) [32].

L'eau et molécules aromatiques du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle [33]. 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.

#### **III-9.1.2. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau**

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles des plantes aromatiques. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter [34]. La vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle » (Figure 4).

Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique (l'huile essentielle).

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile [35].

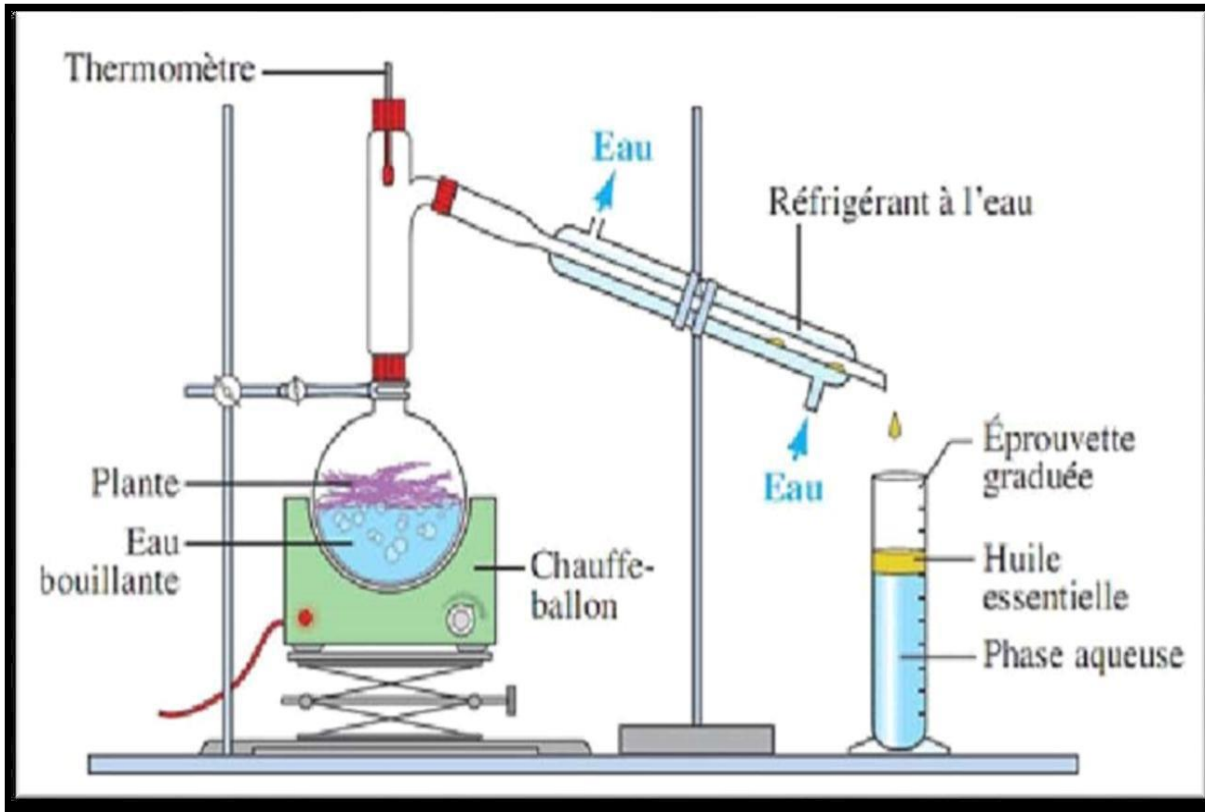


Figure 3: Principe schématisé de l'appareillage d'hydro-distillation.

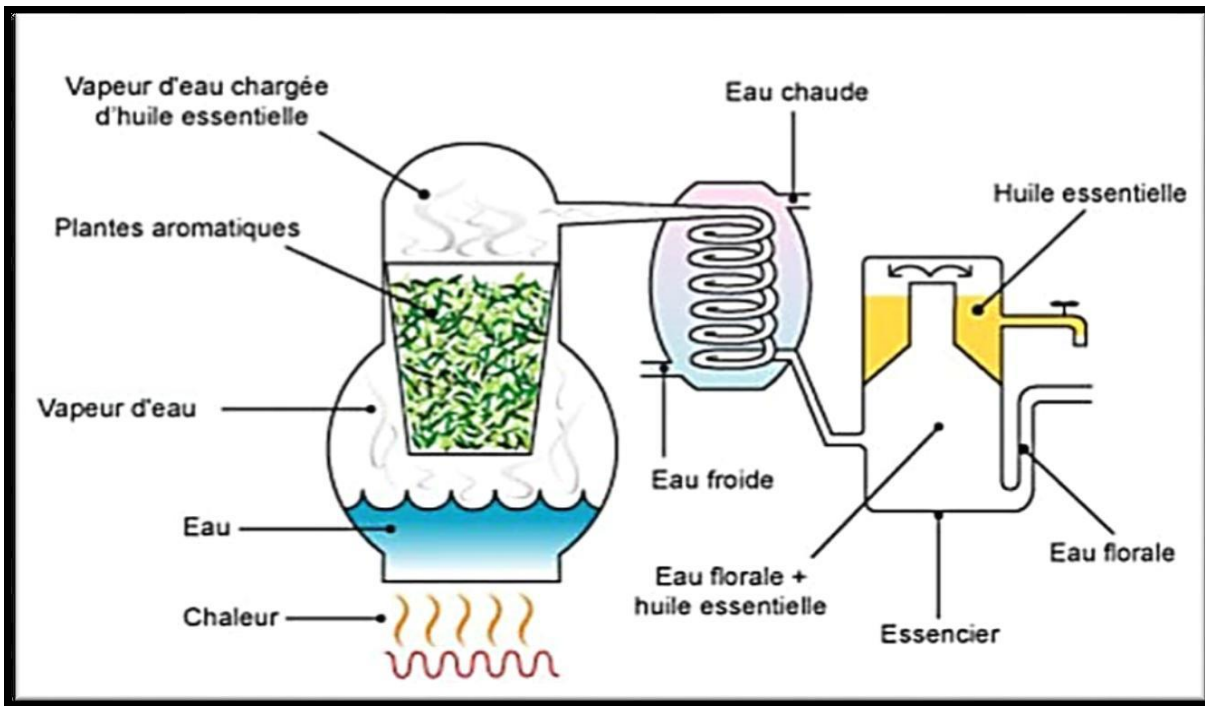


Figure 4 : Principe schématisé de l'appareillage d'entraînement à la vapeur d'eau.

## **III-10. Etude analytique et thérapeutique**

### **III-10.1. Contrôles physico-chimiques**

#### **III-10.1.1. Indice d'acide (IA)**

L'indice d'acide est défini comme le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides contenus dans un gramme d'huile essentielle, selon la réaction [36] :



#### **III-10.1.2. Indice d'ester (IE)**

Correspond au nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire pour saponifier les esters contenus dans un gramme d'HE, selon la réaction [36] :  $\text{RCOOR}' + \text{KOH} \rightarrow \text{RCOOK} + \text{R}'\text{OH}$

#### **III-10.1.3. Indice de peroxyde (IP)**

C'est un indicateur du degré d'oxydation des huiles essentielles. Il correspond au nombre de milliéquivalents de peroxyde par kilogramme d'échantillon [36].

#### **III-10.1.4. Indice de saponification (IS)**

Est défini comme le nombre de KOH nécessaire pour neutraliser l'acide libre et saponifier à chaud les esters de 1g de lipide [36].

#### **III-10.1.5. Densité relative**

La densité relative est le rapport de la masse d'un volume de liquide par la masse du même volume d'eau. La densité n'a pas d'unité, elle varie avec la température [36].

#### **III-10.1.6. Indice de réfraction**

La réfraction est le changement de direction subi par un rayon lumineux lorsqu'il passe d'un milieu optique donné (l'air) à un autre milieu (HE). L'indice de réfraction d'un milieu est le rapport entre la vitesse de la lumière dans le vide et dans la substance à analyser, il n'a donc pas d'unité [37].

#### **III-10.1.7. Miscibilité à l'éthanol**

Une huile essentielle est dite miscible à V volume et plus de l'éthanol de titre alcalimétrique déterminé à la température de 20°C, lorsque le mélange de 1 volume de l'huile essentielle avec V volumes de cet éthanol est limpide, et le reste après addition graduelle d'éthanol de même titre jusqu'à un total de 20 volumes [38].

#### **III-10.1.8. Détermination de pH**

Le potentiel hydrogène mesure l'activité chimique des ions hydrogènes H<sup>+</sup> en solution [39].

#### **III-10.1.2. Analyse chromatographique en phase gazeuse**

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique de séparation chromatographique reposant sur la distribution différentielle des espèces entre deux phases non miscibles, une phase stationnaire contenue dans une colonne et un gaz vecteur, comme phase mobile, qui traverse cette phase stationnaire. Elle est applicable aux substances, ou dérivés de substances, qui se volatilisent dans les conditions de température utilisées.

La CPG est fondée sur les mécanismes d'adsorption, de distribution de masse ou d'exclusion.

Un chromatographe en phase gazeuse est constitué de trois principales parties : l'injecteur, la colonne, le détecteur [40].

### **III-10.1.3. Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge**

La spectrophotométrie IR est généralement considérée comme une méthode autosuffisante pour vérifier l'identité des substances organiques non ionisées autres que les sels d'acides ou des bases organiques. Cette méthode nécessite toujours l'utilisation d'une substance de référence ou d'un spectre de référence [40].

### **III-10.2. Activités antimicrobiennes des huiles essentielles**

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est principalement liée à leur composition chimique, en particulier de leurs composés volatils majeurs. Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des HEs. Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des HEs ait son propre mécanisme d'action [41].

#### **III-10.2.1. Activité antibactérienne**

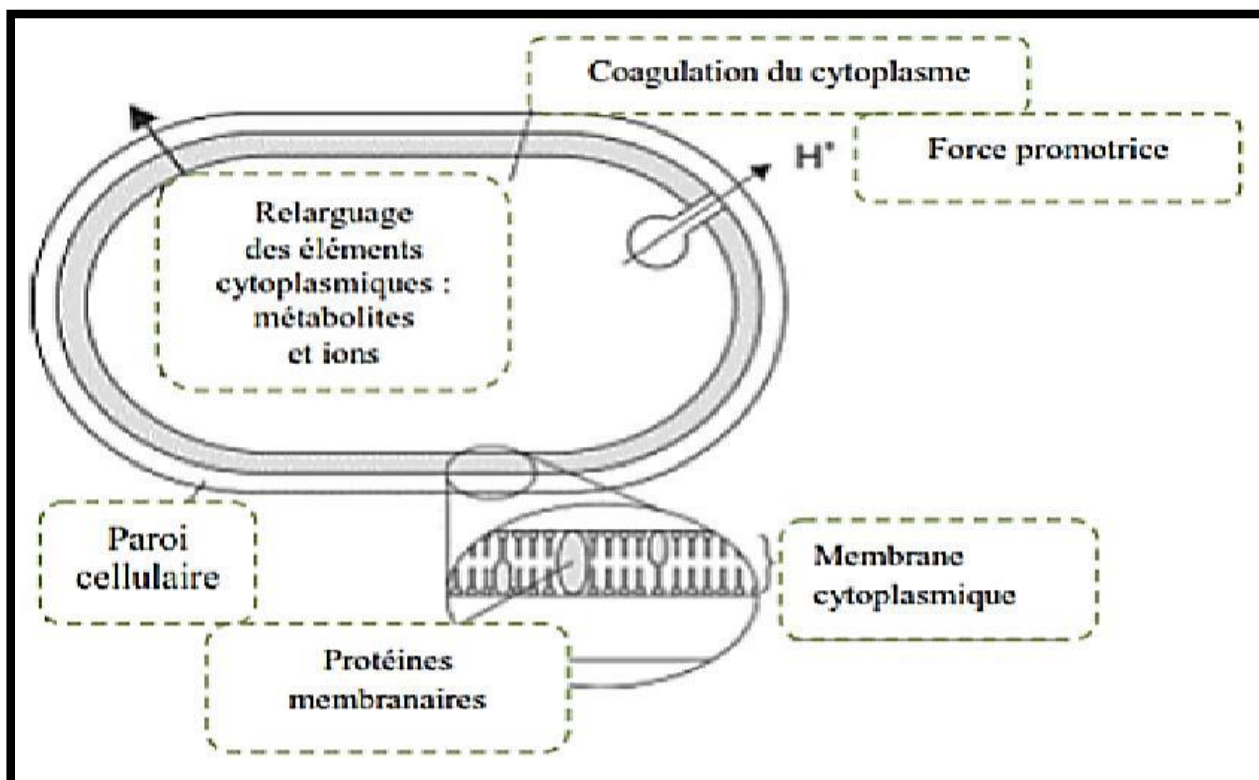
Les caractéristiques des huiles essentielles sont attribuées aux dérivés terpénoïdes et phénylpropanoïdes dont elles sont constituées. L'activité de ces molécules bioactives dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées [1]. Les terpènes ainsi que les flavonoïdes peuvent pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne et induire sa rupture. Le contenu cytoplasmique est déchargé à l'extérieur de la cellule impliquant sa destruction (Figure 5).

D'une manière générale, l'action des huiles essentielles se déroule en trois phases

\*Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.

\*Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.

\*Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.



**Figure 5:** Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne [42]

### III-10.2.2. Activité antifongique :

Dans le domaine phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire [43]

Les huiles essentielles agissent sur un large spectre de moisissure et de levure en inhibant la croissance des levures et la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures.

Le pouvoir antifongique est attribué à la présence de certaines fonctions chimiques dans la composition des huiles essentielles.

L'action antifongique de ces composées est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure [44]. En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures [45].

### III-10.2.3 Antioxydants

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques. Les antioxydants s'utilisent pour réduire l'oxydation du produit auquel ils sont mélangés. L'effet des antioxydants provient de deux mécanismes :

\_ Ils neutralisent les radicaux libres et empêchent les réactions en chaîne initialisées par ces derniers.

\_ Les antioxydants détruisent les hydroperoxydes (composés intermédiaires formant des radicaux libres en interrompant la liaison O-O), diminuant ainsi la vitesse de formation de radicaux libres [46].

### **III-11. Toxicité des huiles essentielles**

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels : "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme" [31], certaines huiles essentielles contenant des phénols, tels que le thym, la cannelle et le clou de girofle, devraient être employées avec prudence. La toxicité du foie peut se produire si les huiles essentielles sont utilisées à de fortes doses pendant un temps prolongé. Les cétones contenues dans l'armoise peuvent ainsi causer ce genre de problème [47].

En règle générale, les huiles essentielles ont une toxicité aiguë faible ou très faible par voie orale : une DL50 comprise entre 2 et 5g/kg pour la majorité des huiles couramment utilisées (eucalyptus, girofle, etc.) ou le plus fréquemment supérieure à 5 g/kg (camomille, citronnelle, lavande, etc.) ; d'autres ont une DL50 inférieure à 1g/kg. Tandis que la toxicité chronique est assez mal connue [48].

Les huiles essentielles peuvent provoquer : agitation, tremblements généralisés, coma, néphrite aiguë, ivresse, congestion cérébrale et pulmonaire, dépression du tonus sympathique, hallucination, spasmes musculaires etc. Dans certains cas la neurotoxicité de quelques huiles peut nécessiter l'hospitalisation.

En ce qui concerne leur cancérogénicité, il faut noter la présence de constituants "allyl et propénylphénols" de certaines huiles qui sont capables d'induire l'apparition de cancers [49].

# *Chapitre II*

## Monographie des 2 plantes utilisées

### I. *Mentha pulegium*

#### I-1. Historique

La menthe est l'une des plantes médicinales les plus célèbres que l'on connaît depuis longtemps. On a retrouvé en effet des feuilles de menthe séchées vieilles d'environ 3000 ans dans les pyramides égyptiennes. Tandis que les Grecs et les Hébreux s'en parfumaient, les Romains en glissaient dans leur vin et leurs sauces. Au Moyen Âge, on découvre vraiment ses vertus thérapeutiques soit en calmants, antiseptiques ou encore en anesthésiques, puisqu'elle est prescrite aux personnes souffrantes pour anesthésier la douleur.

Originaire d'Asie et de l'Europe médiévale, la menthe est un aromate connu pour sa prolifération rapide. Libérant un parfum très fort et agréable, elle embaumait les temples grecs et les demeures des Hébreux. Elle éloignait également les puces et assaisonnaient les mets [50].

#### I-2. Généralité

La *Mentha pulegium* Linné, 1753 appelée localement « Fliou » [51] et également appelée pouliot, pouliot royal, herbe aux puces, chasse puce, herbe de Saint Laurent ou frétille. Le nom de pulegium vient de latin de pulex, la puce car la plante a la propriété d'éloigner les puces [52].

Les Menthes désignent un genre de dicotylédones gamopétales, de l'ordre des Lamiales et de la famille des *Lamiacées*, La *Mentha* formée de près de 3500 espèces réparties sur 8 sous-familles, près de la moitié (47%) des *Lamiaceae* sont regroupées dans la sous-famille des *Nepetoideae* [53]. Au sein de la sous-famille des *Nepetoideae*, le genre *Mentha* est représenté par 18 espèces et environ 11 hybrides. L'hybridation intra spécifique est relativement aisée et rend la taxonomie particulièrement délicate.

Elle est toxique à forte dose et peut provoquer l'avortement. Cette plante a aussi la particularité d'être insecticide puisqu'elle a été déjà utilisée pour faire éloigner les insectes.

Le genre *Mentha*, est responsable d'environ 2000 tonnes d'huile essentielle dans le monde entier, ce qui en fait le deuxième genre producteurs des huiles essentielles les plus importantes, après le genre Citrus.

Parmi toutes les labiées (*Lamiaceae*), les Menthes se reconnaissent, en plus de leur odeur spéciale, à leurs fleurs très petites, à leurs corolles presque régulières à quatre lobes presque égaux et leurs quatre étamines également presque égales. Les menthes ne dépassant pas 1 m, à tiges quadrangulaires, à feuilles pétiolées ou sessiles, arrondies ou ovales, plus ou moins dentées, à fleurs presque régulières mauves, roses ou blanches. Les quatre parties des fruits sont ovoïdes, parfois verruqueuses, l'odeur est forte et agréable, plus ou moins fine, à tiges fortifiées terminées par les fleurs inflorescences en tête arrondie.

## I-3. Description botanique

C'est une plante de 10 à 30 cm de hauteur, à inflorescence formée de nombreux verticillés denses, feuillés et distants [54]. Sa saveur est fortement aromatique et son odeur est intense.

Les tiges à section carrée, sont plus ou moins dressées, verdâtres ou grisâtres, très ramifiées. Les feuilles, opposées et petites, sont ovales ou oblongues presque entières (légèrement dentelées ou crénelées) et munies d'un court pétiole.

Les fleurs, qui apparaissent en été, de Mai à fin Septembre, sont rose lilas, parfois blanches, et sont groupées à l'aisselle des feuilles en glomérules largement espacés le long de la tige. Chaque inflorescence, en cyme, est axillaire par une bractée foliacée. Elle englobe jusqu'à 30 fleurs. Deux pré feuilles, réduites, naissent à la base de chaque inflorescence. Le calice, persistant et finement velu, est en cloche. Il est faiblement bilabié, strié et à 5 dents subégales (les 2 dents inférieures sont plus étroites). La corolle est gamopétale formée de cinq pétales soudées. Le fruit est constitué de 4 akènes [55].



**Figure 6:** Morphologie de *Mentha Pulegium* [56].

## I-4. Systématique

D'après Quézel et Santa en 1963 et Guignard et Dupont en 2004, la classification systématique de la *Mentha pulegium* est la suivante

**Règne** Plantes

**Embranchement:** Phanérogames ou Spermaphytes

**Sous-embranchement:** Angiospermes

**Classe** Eudicots

**Sous-classe** Astéridées

**Ordre** Lamiales

**Famille** Lamiacées

**Genre** *Mentha* (Tourn.) L.

**Espèce** *Mentha pulegium* L.

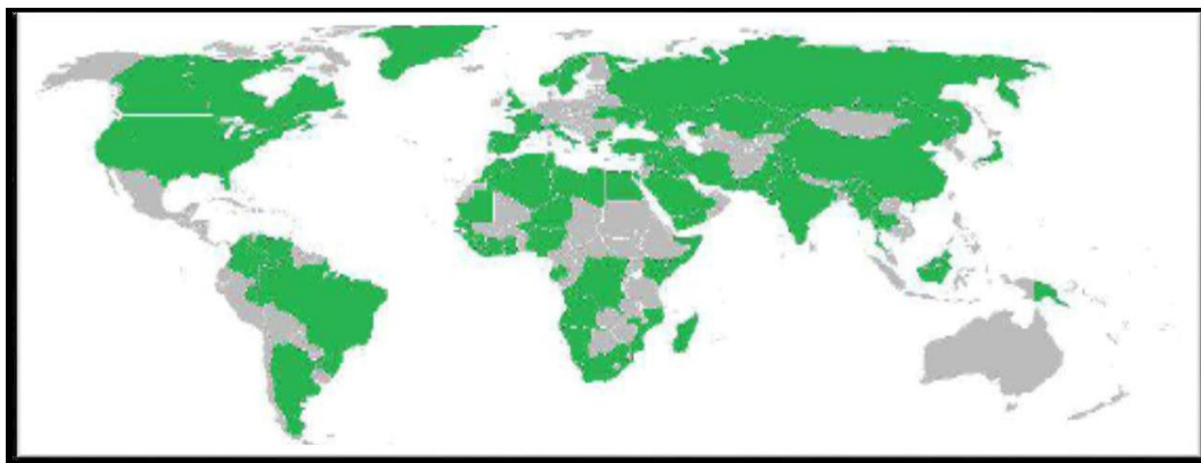
**Nom vernaculaire algérien :** fliyou; **Français :** La menthe pouliot.

## I-5. Origine et répartition géographique

Au départ, elle était d'origine méditerranéenne. Aujourd'hui, elle est répandue aussi en Europe de l'Ouest, du Sud et centrale, aux Canaries et à l'Ouest de l'Asie, ainsi qu'en Amérique. *M. pulegium*, est connue sous le nom de « Menthe pouliot ». Le nom de « pouliot » vient du latin *pulegium*, qui dérive de *pulex* : la puce ; la plante ayant la propriété d'éloigner les puces. Elle est fréquente dans les milieux humides, elle pousse sur des sols sablonneux, et acides, mais est très sensible au sel [57].

Elle est parfois cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles très aromatiques. Malgré son utilisation ancestrale pour aromatiser les sauces, les desserts et les boissons, son intérêt économique demeure limité.

- **Principaux pays producteurs :** Les Etats Unis, le Maroc et l'Espagne.
- **Principaux pays exportateurs :** Les parties aériennes sont peu commercialisées alors que l'huile essentielle est exportée par les Etats Unis [58].



**Figure 7 :** Répartitions géographique de la Menthe par le monde [59].

## I-6. Composition chimique

La Menthe pouliot contient une huile essentielle, du tanin, des matières celluloses et pectiques, du sucre etc. [60]. Les ingrédients de *Mentha pulegium* L. ont été soumis à un certain nombre d'études qui ont montré une différence de son peuple selon le domaine de la culture et elles ont quelques variations dans les composantes de divers pays. El-Ghorab a noté que l'huile de *M. pulegium* L. en provenance d'Egypte contient 43,5 % (pulegone), piperitone (12,2%), de Tunisie, (8 %) pulégone, isomenthone (11,3%).

### \*Huile essentielle

La menthe pouliot contient une huile essentielle. C'est un liquide jaunâtre, d'odeurs très fortes, solubles dans l'alcool, composées de 75 à 80% de pulégone liquide incolore d'odeur aromatique et de menthol de limonène lévogyre de dipentène, L'huile essentielle de *Mentha pulegium*. L est caractérisée par prépondérance de la (+)-pulegone (70-90%) accompagnée d'autres cétones mono terpéniques : isomenthone, menthone, piperténone [61].

\***Dérivés d'acides hydroxycinnamiques** :  $\approx 5\%$ , composés surtout d'acide rosmarinique ( $\approx 3\%$ ) [62].

\***Flavonoïdes** : diosmine, hesperidine [63].

\***Tanins** [64].

## **I-7. Culture**

La multiplication se fait par semis au printemps ou par division des racines réalisée en l'automne ou printemps. La plante préfère les sols humides, sablonneux et acides, mais est très sensible au sel [65].

## **I-8. Propriété et usage**

La menthe pouliot a surtout des vertus thérapeutiques, insecticide, que culinaire à cause de son goût plus amer, utilisée dans des cas différents ; nous procure une multitude de modes d'emploi et recettes. Il semble que dans le temps des anciens elle était méconnue, utilisée uniquement pour former des couronnes qu'ils portaient lors des cérémonies religieuses, par contre les chinois connaissaient ses propriétés calmante et antispasmodique, Hippocrate la considérait comme excitante alors que Pline à constater son effet antalgique [66].

### **I-8.1. Parasiticide**

On signale que les propriétés de la menthe pouliot sont dues aux principes actifs qu'elle renferme. La menthe pouliot constitue un des principaux moyens de lutte contre la vermine [67]. En la répandant (l'huile essentielle de notre menthe) dans l'air d'une pièce elle éloigne les parasites et insectes piqueurs. On en met dans les niches ou paniers des chiens, près des réserves à gains, de salaison et de fromages car l'odeur déplaît aux puces et aux petits rongeurs. On en brûle dans les locaux infestés par les puces, et on l'utilise aussi sous forme de lotion, sur le pelage des animaux domestique pour les débarrasser de ces nuisibles parasites [68].

### **I-8.2. Bactéricide**

Purifie l'eau dans les pays arabes, l'eau devient plus ou moins fraîche car elle est conservée dans des jarres parfois pendant plusieurs jours. L'ajout d'une poignée de feuilles de menthe permet d'enrayer le développement des bactéries en plus de rendre l'eau plus désaltérante [69].

### **I-8.3. Phyto-aromathérapie**

*Mentha pulegium* L est utilisée : fraîche, vapeur, en friction en coction, comme huile essentielle, ou en infusion, en décoction, en cataplasme, ou encore en compresse.

### **I-8.4. Utilisations médicinales traditionnelles**

Iranienne utilise généralement la plante *Mentha pulegium* L. contre les maladies infectieuses et trouve à être efficace contre ces problèmes sans aucune base scientifique pour expliquer cette action. L'augmentation de la résistance aux antibiotiques des agents pathogènes associés à des maladies infectieuses ainsi que des effets indésirables des antibiotiques a suggéré l'utilisation d'huile de *Mentha pulegium* L. comme antibiotique ou de remplacement. Une autre utilisation de cette plante est bien considérée comme un insectifuge, tant pour l'homme et des animaux domestiques. Toutefois, des

recherches supplémentaires sont nécessaires pour évaluer les valeurs pratiques de l'application thérapeutique [70].

### **I-8.5. Utilisations médicinales**

Un bon tonique digestif, il stimule les sucs digestifs, soulage les flatulences et les coliques : un bon remède pour les maux de tête et d'infections respiratoires mineures aidant à garder la fièvre et la congestion à vérifier ; un puissant stimulant à la muscle utérin encourageant la menstruation l'externe il peut être utilisé pour soulager les rhumatismes et compris la goutte [71].

### **I-8.6. Domaine de l'agriculture**

La menthe éloigne les pucerons, elle est donc utile pour protéger d'autre culture [72]. L'huile essentielle de la menthe pouliot a un effet insecticide [73].

### **I-8.7. Domaine de l'industrie**

On l'utilise surtout pour parfumer les savons et les détergents [74].

## **I-9. Toxicologie**

L'emploi des parties aériennes de la menthe pouliot en qualité de condiment et aux doses usuelles, ne présente aucun risque de toxicité ni aigue, ni chronique. L'HE est hépatotoxique à cause de sa teneur en pulégone. Des intoxications ont en effet été observées après ingestion de 5 g d'essence et des cas mortel sont signalés après absorption de 30 ml. L'emploi de la menthe pouliot pour la préparation de tisane d'agrément n'est pas recommandé (Anton, 2005)

## **I-10. Activité antibactérienne des huiles essentielles de *Mentha pulegium***

*Mentha pulegium* est considéré comme une espèce ayant des activités antimicrobiennes. Généralement, ses activités ont été associées à la composition chimique de cette plante.

Une étude réalisé par Radi et autre en 2019 sur l'effet antibactérien des huiles essentielles de *Satureja calamintha* (L.), *Lavandula multifida* L. et *Mentha pulegium* L., testés contre certaines souches multi-résistantes impliquées dans des infections nosocomiales, montré que celles à composé majoritaire, la pulégone (*Mentha pulegium* et *Satureja calamintha*), a une activité antibactérienne plus élevée que celles à carvacrol comme composé majoritaire.

En 2018, une étude ethnobotanique sur l'utilisation de *Mentha pulegium*, *Mentha piperita* et *Pelargonium graveolens* au nord du Maroc (Taounate) et évaluation de leur pouvoir antimicrobien contre *Staphylococcus epidermis* et *Acinetobacter baumannii* par la méthode de micro-dilution. Les résultats indiquent que les essences testées ont montré un effet antibactérien important avec une sensibilité plus élevé a été enregistré par *S. epidermis* (Gram positif) que *A. baumannii* (Gram négatif).

Une thèse soutenue par BOUHADDOUDA Nabila en 2016 sur l'activité antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*, les tests de l'activité antibactérienne sont exprimés sous forme de diamètres de zones d'inhibition par la méthode

de diffusion sur disque et la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de micro-dilution. Les résultats indiquent que les huiles essentielles ont été particulièrement efficaces contre toutes souches bactériennes testées.

Une étude comparative de l'activité antimicrobienne de trois espèces de *Mentha* : *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Mentha piperitales*. L'activité antibactérienne est exprimée sous

forme de diamètres de zones d'inhibition par technique de diffusion en puits. Le résultat a prouvé que l'activité varie en fonction de l'extrait et de la souche testée, où la plupart des souches Gram (+) se sont montrées sensibles vis-à-vis des différents extraits dans la plupart des cas.

## ***II-Laurus nobilis***

### **II-1. Description botanique**

La famille des lauracées comprend près de 2500 – 3000 espèces regroupées en environ 52 genres. Cette famille est presque présente dans toutes les parties du monde, avec une forte concentration dans les zones subtropicales et dans les régions tempérées. Et parmi ces espèces le laurier noble (*Laurus nobilis* L.) [75].

#### **II-1.1. Espèce *Laurus nobilis* L.**

Le laurier noble est un arbuste ou arbre aromatique de 2 à 10m de hauteur à croissance lente, et au tronc droit ramifié dès la base avec un sommet conique, et s'arrondissant en fil du temps.

L'écorce est noire à gris foncé et lisse. Ces branches remontent en oblique avec des jeunes pousses fines, glabres et brun rougeâtre dont les bourgeons sont étroits, verts rougeâtres et longs de 0,2 à 0,4cm [76].

#### **II-1.2. Position systématique du laurier noble**

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure :

**Règne** Végétale

**Sous règne** Plante vasculaire

**Embranchement** Spermaphytes

**Sous embranchement** Angiospermes

**Classe** Décotylédones

**Sous classe** Magnoliidae

**Ordre** Laurales

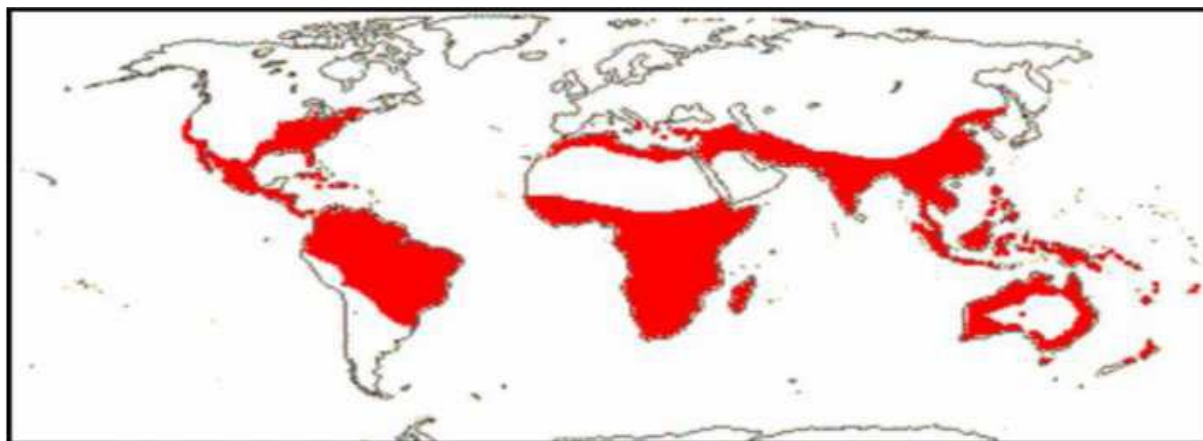
**Famille** Lauracées

**Genre** *Laurus*

**Espèce** *Nobilis*

## II-2. Répartition géographique de *Laurus nobilis* L.

*Laurus nobilis* L. est la seule espèce des lauracées dans la région méditerranéenne d'où elle est originaire. Actuellement, la plante est largement cultivée comme plante ornementale et pour la production commerciale dans beaucoup de pays tels que l'Algérie, la Turquie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les Etats-Unis [77].






**Figure 8 :** Répartition géographique de *Laurus nobilis* L.

## II-3. Morphologie du le laurier

Le tableau ci-dessous résume la morphologie de *Laurus nobilis* L. [78].

**Tableau 01:** Morphologie de *Laurus nobilis* L.

Parties de la plante	Morphologie
	persistantes, alternes, allongées à lancéolées, d'environ 10 cm de long sur 3 à 5 cm de large, si la feuille a une couleur brun-vert, il est trop âgés et amer, sans arôme. La feuille a une saveur forte, épicé, amer, piquant et de refroidissement nuances.
	petites odorantes en forme d'étoile à la fin du printemps de couleur blanchâtre à jaune, les fleurs sont groupées à l'aisselle des feuilles en petits bouquets en forme d'ombelles axillaires ou en courtes panicules.
	fruits ou baies de laurier (baies globuleuse, drupe aromatique charnue) ressembler à une petite olive avec la forme ovale ou ellipsoïde. Les fruits sont de couleur verte au début et violets au noir profond à maturité (Septembre). Les fruits secs sont drupacés, ovoïdes, d'environ 15 mm à 2 cm de long et 10 mm de large.

## II-4. Composition chimique

Selon une recherche faite par BELOUED Abd alkadar les feuilles de *Laurus nobilis L.*

Contiennent du tanin, un principe amer, du mucilage, des matières résineuses et pectiques, et une essence aromatique incolore ou jaune pâle, à saveur chaude, constituée par un mélange de 45% de cinéol, de méthylchavicol, de pinène, d'eugénol, de géraniol, de linacol, d'éthers des acides acétiques isobutyrique et valérianiques [79].

## II-5. Usage et propriétés thérapeutiques

*Laurus nobilis L.* est une plante médicinale utilisée en raison de ses propriétés pharmacologiques et ses avantages potentiels pour la santé liés à plusieurs composés présents dans la plante.

Les feuilles et les fruits du laurier noble sont stimulants, carminatifs, stomachiques emménagogues et pédiculaires ; ils servent d'aromate dans les cuisines. La décoction de feuilles à la dose de 20g par litre d'eau est utile contre les bronchites chroniques, l'hydropisie, les fermentations intestinales, l'insomnie. Les baies, s'emploient toujours à l'état sec, jouissent des mêmes propriétés que les feuilles mais avec plus d'énergie. Pour l'usage externe, on emploie les feuilles pour des bains aromatiques antirhumatismaux, en gargarisme et bains de bouche contre les angines, infections bucco-pharyngées, en compresses sur les fronts contre la sinusite.

L'huile essentielle de laurier noble est utilisée en friction comme stimulant local, sur les foulures, les engorgements indolents des articulations, sur les hémorroïdes, les douleurs rhumatismales. L'huile de laurier s'emploie en liquostrie, en parfumerie, dans la fabrication des savons. Elle compte parmi les meilleurs moyens d'éloignement des insectes gênants [79].

# *Chapitre III*

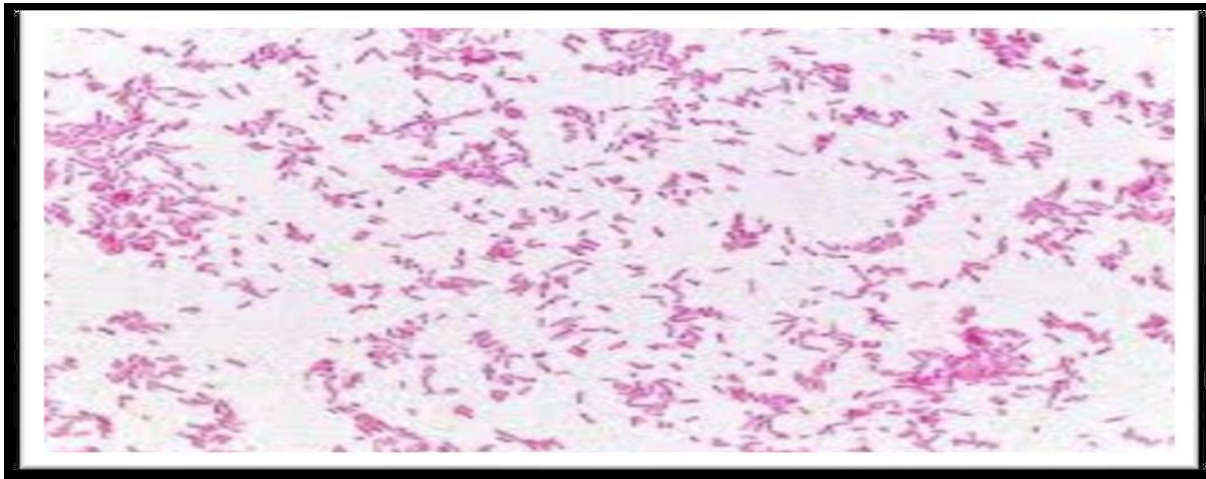
## *Les souches microbiennes*

### **I. *Escherichia coli***

#### ❖ Généralités

*Escherichia coli* (ou *E. coli* ou colibacille) est une bactérie (organisme procaryote) appartenant à la famille des *Entérobactéries*. Le colibacille est un bacille, bactérie en forme de bâtonnet, à coloration de Gram négative. *Escherichia coli* possède un génome à ADN double brin circulaire de 4,6 millions de paires de bases, qui est entièrement séquencé. Elle se réplique très rapidement à 37°C, toutes les 20 minutes, ce qui permet de multiplier facilement de l'ADN ou des protéines d'intérêt [80].

*E. coli*, hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux souvent retrouvé en petit nombre dans les urines saines. C'est une bactérie largement répandue dans le milieu extérieur, sa présence en quantité importante témoigne d'une contamination fécale récente [81] (figure9).



**Figure 9 :** Observation microscopique de coloration de Gram d'*Escherichia coli* [82].

#### ❖ Taxonomie [83].

---

<b>Règne</b>	<i>Procaryotae</i>
<b>Domaine</b>	<i>Bacteria</i>
<b>Classe</b>	<i>Gammaproteobacteria</i>
<b>Ordre</b>	<i>Enterobacteriales</i>
<b>Famille</b>	<i>Enterobacteriaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Escherichia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Escherichia coli</i>

---

## ❖ Pouvoir pathogène

La majorité des souches d'*E. coli* sont inoffensives, quelques-unes seulement sont pathogènes. Les *E. coli* ont le même pouvoir invasif que *Shigella*. Ils multiplient à l'intérieur des cellules et où ils causent des inflammations avec des diarrhées (Syndrome schigellose) sanglantes riches en mucus et leucocytes [81].

C'est une bactérie communément trouvée dans les intestins des mammifères et des humains. Il en existe différentes formes dont certaines sont pathogènes, provoquant de gastro-entérites ayant des traductions cliniques variables : diarrhées d'allure banale, diarrhée sanglante. Chez le nourrisson la diarrhée peut entraîner assez rapidement un état de déshydratation [81]. Elle peut aussi causer des infections de méningites ou une septicémie [84].

Le point de départ de l'infection est le plus souvent le tube digestif des animaux, notamment les bovins. La contamination se fait ensuite chez l'homme par voie orale, par ingestion d'aliments contaminés. Une fois à l'intérieur de l'organisme, les souches pathogènes vont coloniser la flore intestinale et s'y multiplier. L'*Escherichia coli* peut également se transmettre via contact direct par les mains avec des animaux contaminés ou avec des personnes infectées.

## II. *Staphylococcus aureus*

### ❖ Généralités

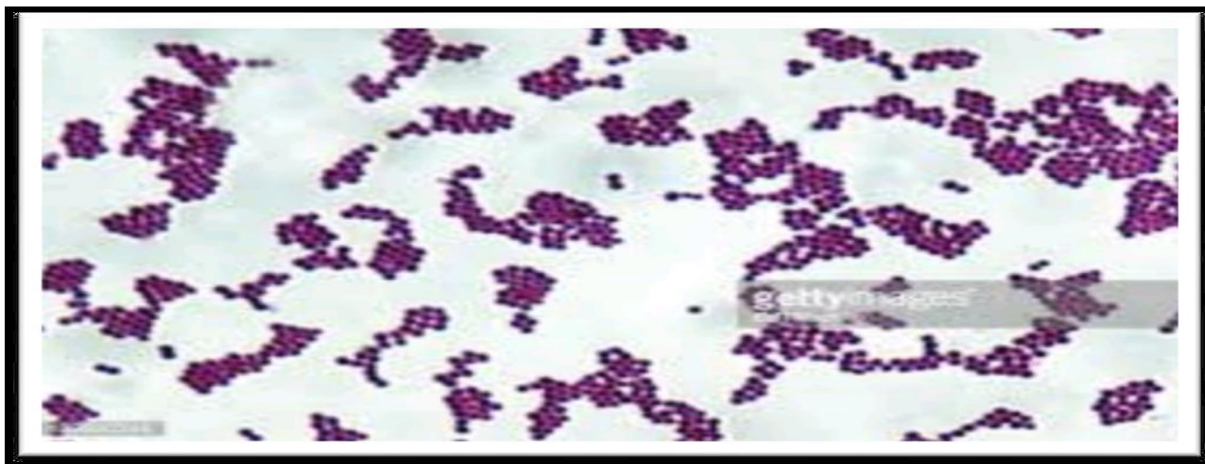
En 1880, le chirurgien Sir Alexander Ogston a décrit pour la première fois les *Staphylocoques* et a créé le genre *Staphylococcus*. C'est en 1884 que *S. aureus* a été nommé par le Docteur Rosenbach d'après la pigmentation dorée des colonies en culture pure obtenues d'isolat de lésions purulentes [85].

*S. aureus* est une bactérie à coloration de Gram positive. En microscopie, il peut être isolé en paire ou en tétrade, mais le plus souvent il forme des amas ressemblant à des grappes (figure 10).

*S. aureus* est une bactérie immobile, non sporulante et aéro-anaérobie facultative, possédant à la fois de la catalase et coagulase positive [86]. La température optimale de croissance de *S. aureus* est comprise entre 30 et 37°C et le pH optimal est entre 7 et 7,5. *S. aureus* est résistant à la bacitracine et aux conditions diverses comme la concentration en NaCl, la chaleur, les désinfectants et la présence de lysozyme [85].

*S. aureus* est considéré comme une bactérie redoutable par son pouvoir pathogène et son habilité à déjouer le mode d'action de l'arsenal thérapeutique disponible [87].

Chez l'Humain, *S. aureus* colonise principalement le nez mais peut aussi se trouver dans le système gastro-intestinal et les aisselles [88].



**Figure 10** : Observation microscopique de coloration de Gram de *Staphylococcus aureus* [89].

## ❖ Taxonomie

Selon la 9<sup>ème</sup> édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, les *Staphylocoques* sont classés parmi les bactéries à coloration de Gram positive, dans le phylum des Firmicutes [90].

<b>Classe</b>	<i>Bacilli</i>
<b>Ordre</b>	<i>Bacillales</i>
<b>Famille</b>	<i>Staphylococcaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Staphylococcus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>

## ❖ Pouvoir pathogène

*Staphylococcus aureus* comporte deux sous espèces :

- *S. aureus* subsp.anaerobius, bactérie à catalase (-) et pathogène pour l'animal.
- *S. aureus* subsp.aureus, bactérie pathogène par virulence (elle fabrique des protéines de surface et des enzymes dont la coagulase libre et la thermonucléase) et par toxinogénèse (elle produit diverses toxines, dont des entérotoxines de différents types antigéniques : A à F) [91].

*Staphylococcus aureus*, espèce de *Staphylococcus* à coagulase positive, est fréquemment rencontré chez l'homme. Il peut être responsable d'infections cutanées (impétigo, furoncles...), d'infections de la sphère ORL (sinusites, otites...), d'infections diverses et d'infections septicémiques redoutables, d'infections nosocomiales, et d'intoxication alimentaires individuelles ou collectives (TIAC) [91].

## III. *Pseudomonas aeruginosa*

### ❖ Généralités

*P. aeruginosa* est une bactérie à coloration de Gram négative (figure 11) de la famille des *Pseudomonadaceae*. Elle est aussi appelée bacille pyocyanique en raison de sa forme allongée et de la production de pigments bleus et verts par la bactérie : la pyocyanine et la pyoverdine.

La bactérie a été découverte en 1882 par Carle Gessard, un pharmacien des armées et bactériologiste français. Une expérience sur les colorations bleues et vertes du pus laissé sur les bandages recouvrant les plaies des soldats lui a fait identifier un pigment soluble dans l'eau et fluorescent lorsqu'il est exposé à la lumière ultraviolette. Son étude l'amène à isoler la bactérie et à conclure sur la nature pathogène de *P. aeruginosa* et à classer la souche [92].

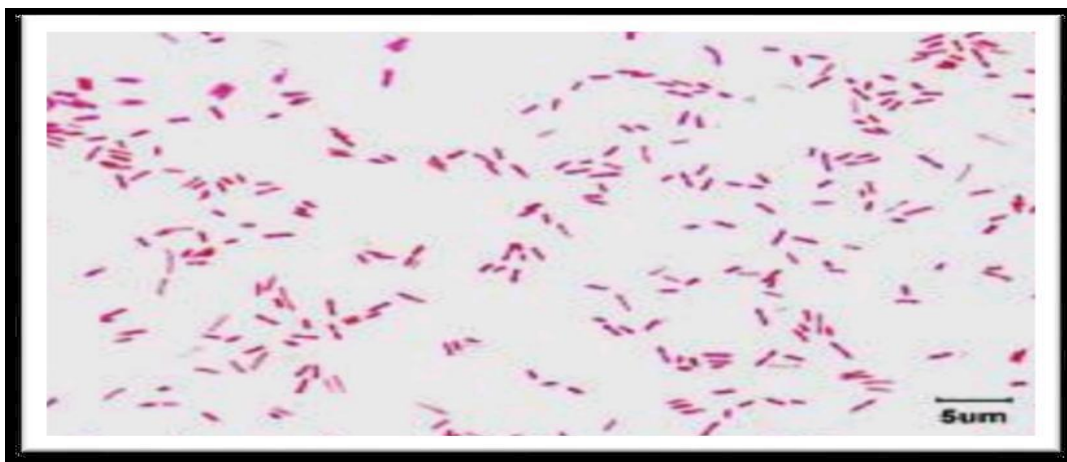
Ce micro-organisme est ubiquitaire et se retrouve sous forme de saprophyte, en particulier dans les milieux humides : la bactérie a pour habitat naturel l'eau douce, le sol et les plantes. *P. aeruginosa* est une bactérie aérobienne stricte, c'est-à-dire qu'elle a besoin d'oxygène pour vivre et se développer.

*P. aeruginosa* se retrouve sous deux phénotypes distincts :

- Une forme planctonique : les bactéries sont mobiles grâce à leurs flagelles et leurs pili.
- Une forme communautaire : les bactéries s'agrègent sous forme de biofilms.

Le génome de *P. aeruginosa* a été entièrement séquencé. Il est constitué d'environ 6,3 Mb, ce qui en fait l'un des plus grands génomes bactériens connus. 8,4 % de son génome est constitué de gènes impliqués dans la régulation, ce qui permet à la bactérie une grande adaptabilité [93].

Grâce à ses nombreux facteurs de virulence et à sa capacité d'adaptation, la bactérie est capable d'infecter un large spectre d'hôtes, allant des plantes aux mammifères en passant par certains insectes.



**Figure 11** : Observation microscopique de coloration de Gram de *Pseudomonas aeruginosa* [94].

## ❖ Taxonomie [95].

<b>Règne</b>	<i>Bacteria</i>
<b>Embranchement</b>	<i>Prokaryota</i>
<b>Division</b>	<i>Proteobacteria</i>
<b>Classe</b>	<i>Gammaproteobacteria</i>
<b>Ordre</b>	<i>Pseudomonadales</i>
<b>Famille</b>	<i>Pseudomonadaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Pseudomonas</i>
<b>Espèce</b>	<i>Aeruginosa</i>

## ❖ Pouvoir pathogène

*P. aeruginosa* est une espèce classée dans les pathogènes opportunistes. Elle provoque de nombreuses infections parmi ceux-ci :

### ➤ Infections pulmonaires

- **Patients de réanimation** souvent colonisés par *P. aeruginosa* au niveau bronchique, évolution rare mais grave vers une pneumopathie mono ou bilatérale nécrosante et une septicémie avec choc septique (>30% de mortalité) [96].

- **Patients atteints de mucoviscidose** colonisés à plus de 80% par la bactérie au niveau bronchique ; facteur d'inflammation locale et de détérioration de la fonction pulmonaire [96].

### ➤ Septicémies

Elles représentent 10 à 20 % des septicémies à bacilles à coloration de Gram négative. L'immunosuppression favorise leur survenue et elles sont décrites avec une fréquence élevée au cours du sida. Elles ne présentent pas de caractères cliniques particuliers si ce n'est la présence exceptionnelle de manifestations cutanées, faites de vésicules riches en bacilles, entourées d'un halo violacé, évoluant vers l'ulcération nécrotique, traduisant la dissémination par voie artérielle. La leucopénie et l'hypothermie sont inconstantes.

Le pronostic est grave (mortalité voisine de 50 %) lié à la maladie sous-jacente, à la localisation primitive, à l'accessibilité ou non du foyer à un geste chirurgical [97].

### ➤ Infections superficielles

- **Surinfections** de plaies, d'escarres, de brûlures...

- **Folliculites et otites externes** bénignes après baignade (jacuzzis)

- **Fonte purulente** de l'œil après chirurgie (exceptionnelle) [96].

### ➤ Infections diverses

- Infections urinaires chez les personnes porteuses d'une sonde [96].

# *Chapitre IV*

## **I- Objectif de travail**

L'objectif de ce présent travail consiste à l'évaluation de l'effet des huiles essentielles, obtenues par l'extraction de 2 plantes médicinales *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis* sur la croissance de 3 souches pathogènes.

## **II- Mode opératoire**

### **II-1. Matériels**

#### **Matériels pour l'extraction d'H.E**

L'eau distillée.

Chlorure de sodium (Na cl).

Solvant (déchloro-méthyle).

Béchers.

Pipettes.

Des petits tubes en verre pour récupérer l'H.E.

Pipette à décantation.

Mortier.

#### **Matériels pour l'évaluation antimicrobienne**

Pipette pasteur.

Boîtes pétri.

Portoir.

Tubes stériles.

Pipettes stériles.

Ecouvillon.

Ance de platine.

Disques stériles.

Pince stériles

Micropipette.

Poire en plastique.

## **Produits**

Milieux Mueller-Hinton.

Bouillon nutritif.

Tween 80%.

Eau distillé stérile.

Eau de javel pour la désinfection.

Gélose nutritif.

## **Appareillages nécessaire**

Etuve.

Réfrigérateur.

Bain-marie.

Autoclave.

Bec bunsen.

Centrifugeuse.

Vortex.

Agitateur magnétique.

Incubateur.

Balance.

Clevenger.

## II-2. Matériels biologique

Ce présent travail est porté sur deux plantes médicinales aromatiques qui sont *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis*.

\***Récolte de la matière végétale** : l'échantillon de la menthe pouliot a été collecté dans la région de **Saïda** dans le mois d'avril, et le laurier a été collecté dans la région de **Dhaya à SBA** dans la même période.

\***Lieu de travail** : laboratoire de nutrition à la faculté des sciences de la Nature et Vie de l'université de Djilali Liabes SBA.

**Tableau 5** : Présentation des plantes employées pour l'extraction des huiles essentielles.

Nom botanique	Nom vernaculaire	Famille	Organes utilisés
<i>Mentha pulegium</i> L. (MP)	<b>Arabe</b> : Fliou. <b>Français</b> : Menthe Pouliot.	<i>Lamiaceae</i>	les parties aériennes (feuilles, fleurs et tiges)
<i>Laurus nobilis</i> L.	<b>Arabe</b> : Rende. <b>Français</b> : Laurier.	<b>Lauracée.</b>	Les feuilles.

## II-3. Mode d'obtention des HEs

L'extraction des huiles essentielles à partir de ces plantes est réalisée par la technique de l'hydro-distillation dans des conditions bien déterminées.

### A) Menthe pouliot

\*Dans un mortier, on introduit 60g de menthe et émiettés.

\*On ajoute un peu d'eau distillé, on écrase les feuilles.

\*On traverse se mélange dans un ballon avec 300ml d'eau distillé.

\*Le mélange est porté à ébullition pendant deux heures jusqu'au obtenir 100ml de distillat (la phase aqueuse et huileuse).

\*on ajoute au distillat 5g de Na cl avec une agitation.

## Matériels et méthodes

---

\*Ensuite, on verse l'ensemble dans une ampoule à décanter et on introduit 10ml d'éther éthylique (ou cyclohexane ou dichlorométhane).

\*Après agitation, dégazage, et décantation, on peut récupérer l'HE.

\*On peut conserver l'HE à 4c°.

### **B) laurier**

\*A l'aide d'une balance analytique on a pesé 100g de laurier sec, et introduit dans un ballon,.

\*On ajoute 600-700ml d'eau distillé, l'ensemble est porté à ébullition pendant 3h.

\*La vapeur chargées d'huile travers un réfrigérant ou elle se condense et chutent dans une ampoule à décanter.

\*L'huile et l'eau se séparent par la différence de la densité.

\* L'huile séparée de l'eau aromatique est conservé à 4°-5°.

-Cette technique d'extraction présente plusieurs avantages et inconvénients qui sont :

#### **Avantages**

\*Simplicité de mise en œuvre

\*Faible cout.

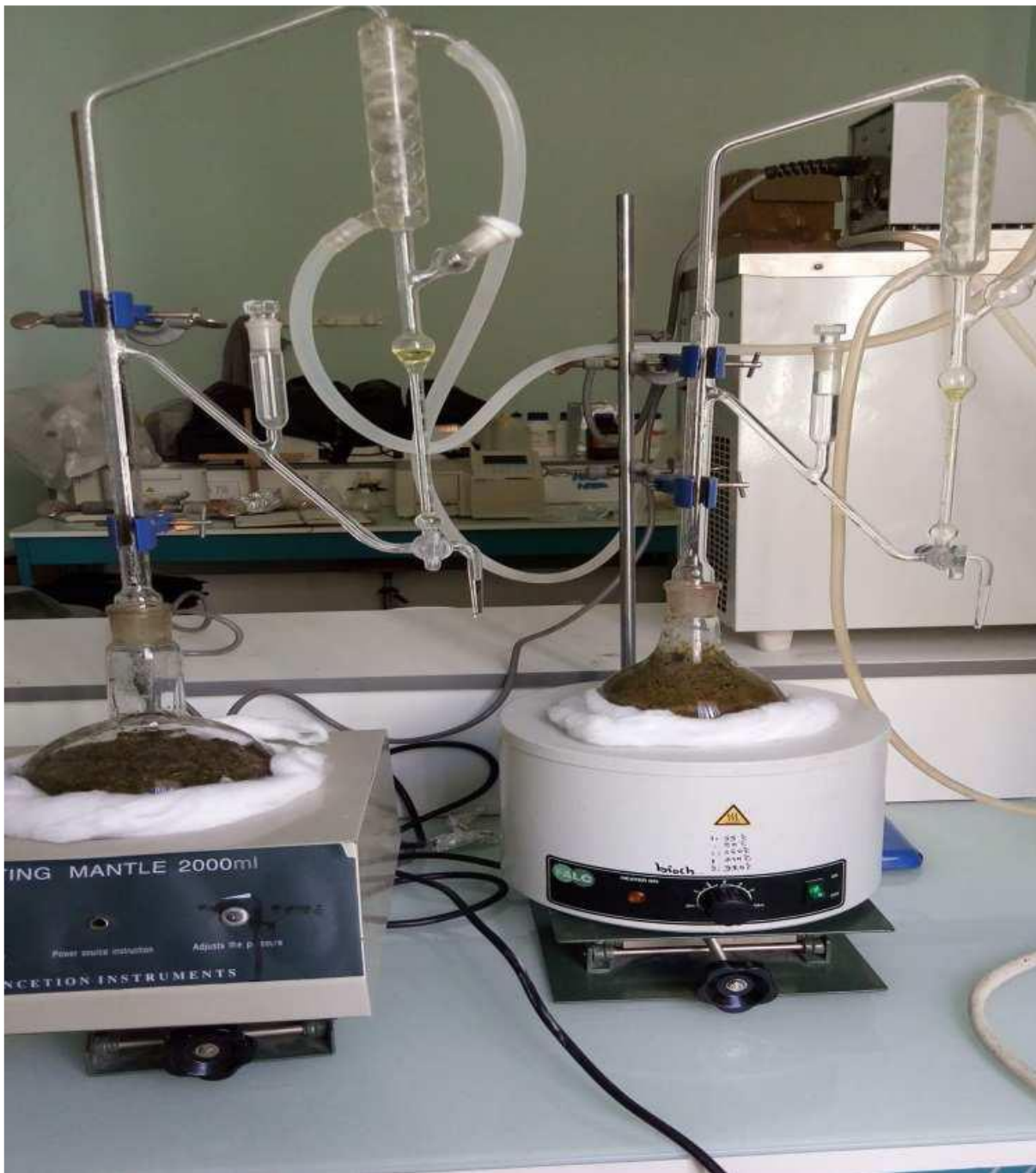
\*Assure la pénétration de l'eau en cœur de la plante, là où la vapeur d'eau utilisée dans d'autres méthodes, ne peut pénétrer et augmenter le rendement.

#### **Inconvénients**

\*Procédé lent il peut durer jusqu'à 30h pour certaines plantes.

\*Méthode ne s'applique qu'à une plus petite échelle que d'autres techniques.

\*Dénaturation de quelque constituants de HE thermo ou hydro sensibles.



**Figure12** : Montage d'un hydrodistillateur type Clevenger.

## II-4. Analyse des l'HE

### II-4.1. Analyse quantitative

#### Rendement

\* Le rendement en huile essentielle RHE correspond au rapport entre la masse des HES (m HES) obtenue et la masse de matière végétale (m MV) utilisée pour l'extraction [12]. Il est exprimé en pourcentage. Il est estimé par la formule suivante :

$$RHES(\%) = \frac{M(HE)}{M(mv)} * 100$$

**R HES**: Rendement de l'extraction des HES en pourcentage (%).

**MHE** : Masse de l'HE récupérée en gramme (g).

**Mmv** : Masse d'essai de la matière végétale sèche utilisée en gramme (g).

### II-4.2. Analyses qualitatives

#### Contrôle organoleptique

\*Consiste à contrôler les caractères organoleptiques de l'HE obtenue : **odeur ; couleur ; et aspect.**

#### Etude des propriétés physico-chimique

\*Afin de déterminer la qualité de notre HE, nous avons déterminé un certain nombre de caractères physico-chimique.

#### a) La densité relative

\*La densité d'une huile est le rapport de la masse d'un certain volume d'une huile à 20c°.

$$D = \frac{m}{m'}$$

\***D** : la densité relative.

\***m** : la masse d'huile (g).

\***m'** : la masse de l'eau distillée (g).

#### b) L'indice de réfraction

A l'aide du refractomètre d'Abbe, on mesure l'indice de réfraction de l'HE à une température

de 21°C (indiquée par le thermomètre intégré de l'appareil). Pour cela, on place une goutte d'HE sur le prisme du réfractomètre, puis on effectue le réglage à l'aide de la micro visse et on lit la valeur. L'indice de réfraction de l'huile essentielle est donné par la formule suivante :

$$[n]_D^{\circ} = n_D t' + 0,00045(t' - t).$$

Avec :

**\*n<sub>D</sub>t'** : Indice de réfraction mesuré.

**\*t** : Température de référence qui est à 20°C.

**\*t'** : Température au moment de la mesure.

### II-5. Méthodes de recherche des souches bactériennes

#### A) *Escherichia coli*

- La recherche d'*Escherichia coli* a été basée sur des méthodes directes invasives, nécessitant un examen cyto bactériologique des urines ECBU.
- Le prélèvement d'une quantité urinaire qui a été réalisé chez des patients hospitalisés contaminés à cause des infections associées aux soins « nosocomiales ».
- Les patients ont réalisé une toilette dans un pot stérile ou une poche collecteur des urines et l'examen microscopique est réalisé au niveau du service d'urologie.

#### 1-Prélèvement

- Se laver les mains avec une solution hydro alcoolique
- Réaliser une toilette soignée au savon de la région vulvaire chez la femme ou du méat urinaire chez l'homme.
- Rincer à l'eau puis réaliser une antiseptie de la zone uro-génitale à l'aide d'une compresse stérile imbibée d'antiseptique
- Éliminer le premier jet d'urines pour ne recueillir dans le flacon stérile
- Recueillir les urines dans le flacon stérile

#### 2-Conservation

- Elles ne doivent pas être conservées plus de 2h à température ambiante.
- Si le patient ne peut pas se rendre aussitôt au laboratoire, il devra conserver le prélèvement au réfrigérateur (maximum 24h).

## 3-Transport

Une fois recueillies, les urines doivent être analysées rapidement.

## 4-Isolement

- L'isolement est pratiqué sur le milieu **Mac Conkey**. Ce milieu (sélective) est utilisé pour la culture des Entérobactérie, à l'aide d'une pipette pasteur en ensemencée 2 goutte d'urine dans ce milieu. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 18 à 24 heures. Après une lecture morphologique, on obtient des colonies isolées sur le milieu **Mac Conkey**.

## B) *Staphylococcus aureus*

- ❑ La recherche de ***Staphylococcus aureus*** a été dans des régions cutanés infectés surtout chez les nouveaux nés
- ❑ L'étude a été réalisée par un prélèvement de cette souche à partir de la partie infecté chez le patient
- ❑ Prélèvement s'effectue au niveau de la peau par un examen de biopsie cutanée dans le service de dermatologie à l'hôpital.

## 1-Prélèvement

- La biopsie est un acte technique réalisé par le dermatologue qui consiste à prélever un fragment de peau
- La peau est désinfectée avec un antiseptique
- Puis il est fait une anesthésie locale cutanée par un produit contenant de la lidocaïne adrénalinée.
- Le dermatologue réalise une biopsie large ou profonde en fuseau à l'aide d'une lame de bistouri
- Puis acheminé au laboratoire d'analyse (anato-pathologie).

## 2-Conservation

- Le morceau de peau récupéré est alors placé dans un liquide spécifique.

## 3-Transport

- laboratoire d'analyse (anato-pathologie).
- par un coursier ou par voie postale.

## 4-Isolement

- L'isolement est pratiqué sur le milieu **Chapman**. Ce milieu (sélective) est utilisé pour la culture des cocci Gram positif pour avoir des cultures pures de *Staphylococcus*, à l'aide d'une pipette pasteur en ensemencée 2 goutte d'échantillon dans ce milieu. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 18 à 24 heures. Après une lecture morphologique, on obtient des colonies isolées sur le milieu **Chapman**.

## C) *Pseudomonas aeruginosa*

- La recherche de *Pseudomonas aeruginosa* à été base sur une méthode direct consiste a faire un prélèvement oculaire au niveau de l'œil du personne malade présente une ulcère cornée.
- Le prélèvement se fait par grattage des bords de l'ulcération cornéenne avec un vaccinostyle après anesthésie locale.
- Dans ce cas, il existe des kits de prélèvement standardisé comprenant l'ensemble des outils nécessaires au grattage et à l'ensemencement.
- En cas de port de lentilles, on analyse également les lentilles ainsi que le boîtier et le liquide de conservation.
- Les patients qui ayant subi ce prélèvement au niveau du service d'ophtalmologie et l'ophtalmologue qui va faire le prélèvement et ensemencement des milieux de culture.

## 1-Prélèvement

- Il faut prélever le maximum de sécrétion
- on doit réaliser le prélèvement avant la toilette faciale.
- Le prélèvement se fait habituellement à l'écouvillon en frottant légèrement la conjonctive inférieure en partant de l'angle externe pour aboutir à l'angle interne de l'œil.

## 2-Conservation

- Pour éviter qu'il se dessèche, on le plonge dans un petit volume d'eau physiologique (pour ne pas trop le diluer).

## 3-Transport

- Ensuite, on doit l'acheminer rapidement au laboratoire. Si l'analyse ne peut être immédiate, il faut le placer dans un milieu de transport (type milieu de Stuart).

## 4-Isolement

- L'isolement est pratiqué sur le milieu **ordinaire (BCP)**. Ce milieu (sélective) est utilisé pour la culture des Pseudomonas pour avoir des cultures pures, à l'aide d'une pipette pasteur ensemencée 2 goutte d'échantillon dans ce milieu. L'incubation est réalisée à 30°C pendant 18 à 24 heures. Après une lecture morphologique, on obtient des colonies isolées sur le milieu **BCP**.

## II-6. Identification des souches bactériennes

L'identification est basée sur la détermination des caractères morphologiques (macroscopique, microscopique) et biochimique.

### ❖ Examen macroscopique

Cet examen vise à déterminer la couleur, la forme et l'aspect des colonies.

### ❖ Examen microscopique

Il peut être effectué sans coloration de l'échantillon par observation directe (examen à l'état frais), ou bien après coloration de l'échantillon (coloration de Gram).

### ❖ Tests biochimique

## **Recherche de la catalase**

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en H<sub>2</sub>O et 1/2 O<sub>2</sub>. Une colonie est mise en suspension avec une goutte d'eau oxygénée sur une lame propre. L'apparition de bulles qui correspond à l'oxygène dégagé indique la présence d'une catalase.

## **Recherche de l'oxydase**

Le disque d'oxydase est déposé sur une lame propre. Une colonie est prélevée à partir du milieu gélose nutritive à l'aide d'une pipette pasteur puis déposer sur le disque. En présence de l'oxydase la coloration violet foncé apparaît immédiatement ou en quelques seconde.

## **II-7. Evaluation de l'activité antibactérienne des HEs**

### **II-7.1. Méthode de L'aromatogramme**

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne d'HEs de *Laurus nobilis L.* et *Mentha pulegium* par la méthode: de la diffusion en milieu solide.

La méthode de diffusion sur disque, appelée aussi méthode de Vincent ou technique de l'aromatogramme mise au point par Schroeder et Messing en 1949. Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques, préalablement sélectionnées et reconnues [98]. Dans cette méthode, les disques de papier filtrant stérilisés de 6 mm sont saturés avec un extrait de plante stérilisé filtré de la concentration souhaitée. Les disques imprégnés sont ensuite placés sur la surface d'un milieu d'agar solide approprié comme Mueller Hinton. Les médias ont été pré inoculés avec des organismes d'essai. La taille standard de l'inoculum est de 1x10<sup>8</sup>UFC/ml de bactéries pour les plaques de diffusion d'inoculation qui est égale à la norme de turbidité McFarland 0.5. Certains chercheurs imprègnent le disque en papier avec l'extrait végétal avant de mettre les plaques inoculées tandis que d'autres préfèrent après. Les plaques sont ensuite incubées pendant 24 h à 37 °C (Bactéries) et 48 h à 25 °C (Champignons). Après l'incubation, le diamètre de la zone est mesuré au millimètre entier le plus proche au point où il y a une réduction importante de la croissance de 80%.

### **II-7.2. Préparation de milieu de culture**

La gélose de Muller Hinton a été coulée dans les boites de pétris stériles de diamètre 90mm, ces dernier doivent séchées a une température ambiante avant leur emploi.

### **II-7.3. Préparation des différentes concentrations des HEs**

Il s'agit de préparer une solution mère de tween 80 pur pour réaliser les différentes d'huile essentielle. La technique préconisée est diluer de tween 80 pur dans 90ml d'eau distillé ; cette solution sera stérilisée à 120c° pendant 15 min.

## Matériels et méthodes

Dans un volume de 9ml de cette solution, nous ajoutons aseptiquement 1 ml d'HE, puis après agité au vortex le contenu, afin d'obtenir une solution bien homogénéisée, nous réaliserons les dilutions successives, allant de -1 à -6.

On fait la même chose pour le deuxième HE.

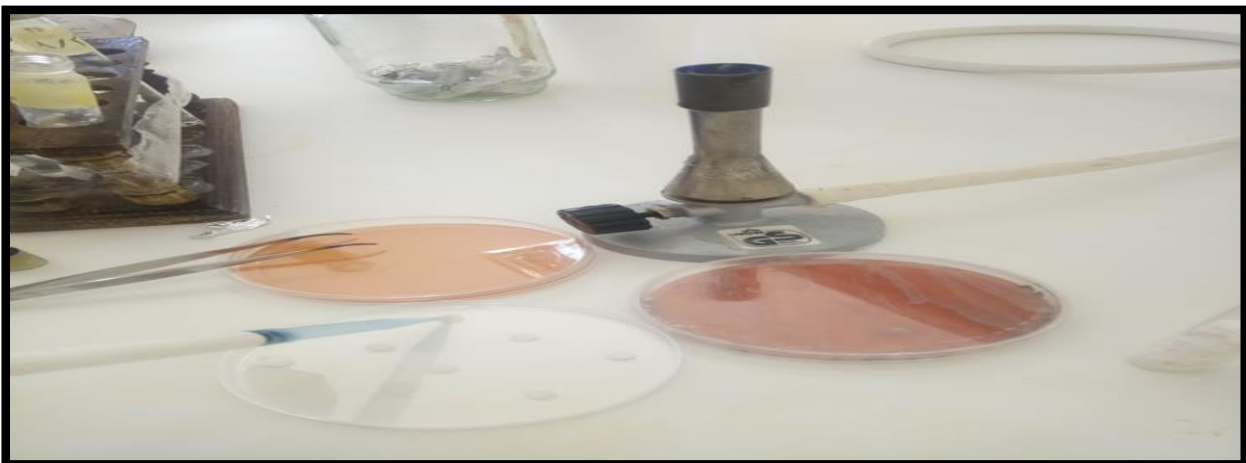


**Figure 13** : Préparation des différentes concentrations des HEs.

### II-7.4. Préparation des disques d'HEs

\*Des disques antibiogramme de 5mm de diamètre ont été découpés dans du papier filtre stérilisé à la chaleur sèche et ensuite plongés dans les différentes concentrations de l'huiles essentielles.

\*Les disques étaient ensuite séchés 15min dans la température ambiante.



**Figure14** : Préparation des disques d'HEs.

### II-7.5. Préparation des suspensions bactériennes des souches pathogènes

\*A partir de colonies isolées des 3 souches pathogènes à l'aide d'une anse de platine quelques colonies.

\*Bien décharger l'anse dans un tube contient bouillon nutritif.

\*Bien homogénéiser la suspension bactérienne.

\*Incubation 18h/37c°.

\*Centrifugation 4000 tours pendant 15min.

\*Récupération de surnagent.



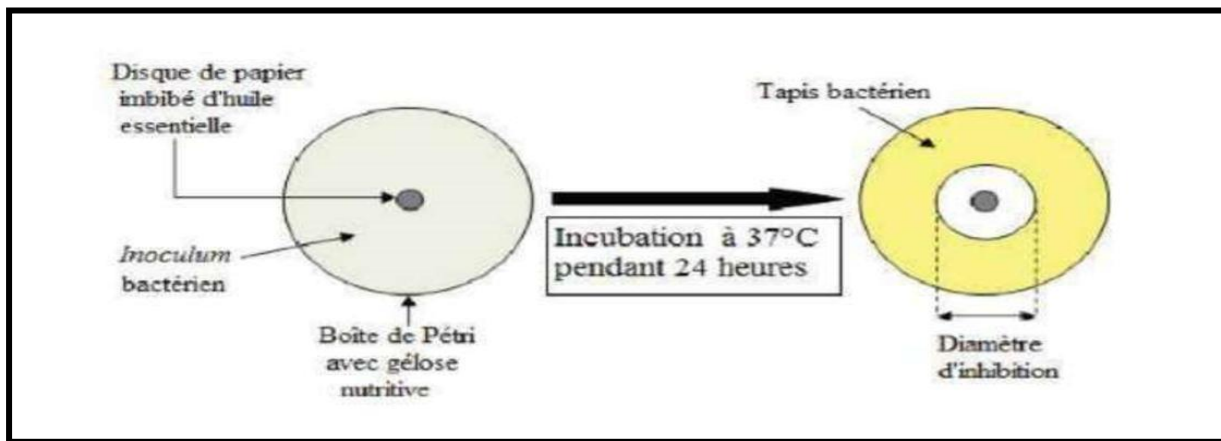
**Figure15** : Préparation des suspensions bactériennes des souches pathogènes.



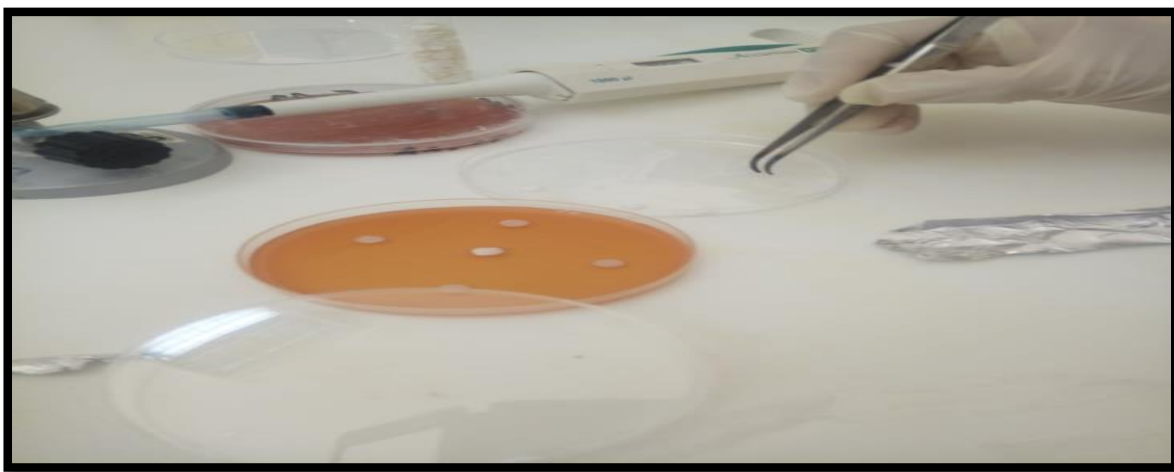
**Figure16** : Préparation des suspensions bactériennes des souches pathogènes pour la centrifugation.

## II-7.6. Technique

- \*Tremper un écouvillon stérile dans le surnageant de la suspension bactérienne incubée.
- \*Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélose M-H.
- \*Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur le périphérique de la gélose.
- \*Laisser sécher à température ambiante pendant 15min.
- \*Presser chaque disque stérile de l'HE à l'aide d'une pince stérile sur le milieu et ne pas déplacer les disques après l'application.
- \*L'incubation se faisait à 37°C pendant 24 ou 48.



**Figure 17** : Principe de la méthode de diffusion par disque(Aromatogramme).



**Figure 18** : Application des disques (6 disque par boîte).

### II-7.7. Lecture de résultats

\*La mesure du diamètre des zones d'inhibitions est transcrite dans différents symboles à l'activité.

**Tableau 6** : transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés.

Diamètres de la zone d'inhibition (mm).	Transcription	Sensibilité du germe
<8	-	Résistant.
9 – 14	+	Sensible.
15 – 19	++	Très sensible.
>20	+++	Extrêmement sensible.

\*Pour chaque boîte la mesure de la zone d'inhibition indique la sensibilité de ces germes.

# *Chapitre V*

## Résultats et discussion

### 1. Résultats

#### 1.1. Analyse quantitative

Calcul le rendement des HE selon la formule suivante :

$$R_{HES} (\%) = M(HE) / M (mv) * 100$$

**R HES:** Rendement de l'extraction des HES en pourcentage (%).

**MHE :** Masse de l'HE récupérée en gramme (g).

**Mmv :** Masse d'essai de la matière végétale sèche utilisée en gramme (g).

##### a) *Mentha pulegium*

$$R=1.6/60 * 100$$

$$R= 2.7\%$$

\*Le rendement d'HE de *Mentha pulegium* est **2.7%**.

##### b) *Laurus nobilis*

$$R=0.79/100 * 100$$

$$R= 0.79\%$$

\*Le rendement d'HE de *Laurus nobilis* est **0.79%**.

#### 1.2. Analyses qualitatives

##### 1.2.1. Contrôle organoleptique

**Tableau7:**Caractères organoleptiques des HES

Huile essentielle	Odeur	Aspect	couleur
<i>Mentha pulegium</i>	Dégage un forte odeur menthée caractéristique.	Liquide Limpide.	Jaune pale.
<i>Laurus nobilis</i>	Forte épicée.	Liquide mobile.	Jaune claire.

## 1.2.2. Etude des propriétés physico-chimique

### A) Détermination de la densité relative

\*Calcul la densité selon l'équation suivante :

$$D = m / m'$$

\***D** : la densité relative.

\***m** : la masse d'huile (g).

\***m'** : la masse de l'eau distillée (g).

#### 1- *Mentha pulegium*

$$D = 1.6/300$$

$$D = 0.0053 \text{ g/ml.}$$

\*La densité relative de *Mentha pulegium* est **0.0053 g/ml**.

#### 2- *Laurus nobilis*

$$D = 0.79/600$$

$$D = 0.0013 \text{ g/ml.}$$

\*La densité relative de *Laurus nobilis* est **0.0013 g/ml**.

### B) Détermination de l'indice de réfraction

\*On calcul l'indice selon la formule suivante :  $[n] ^\circ D = nDt' + 0,00045(t'-t)$ .

\***nDt'** : Indice de réfraction mesuré.

\***t** : Température de référence qui est à 20°C.

\***t'** : Température au moment de la mesure

#### 1- *Mentha pulegium*

\***nDt'**: Indice de réfraction mesuré : 1.46455.

\***t** : Température au moment de la mesure : 21°C.

\* **[n] °D**: Indice de réfraction : 1,465.

# Résultats et discussion

## 2- *Laurus nobilis*

\***n<sub>D</sub>t'**: Indice de réfraction mesuré : 1,49045.

\***t'** : Température au moment de la mesure : 21°C.


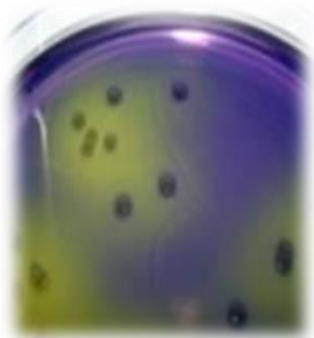
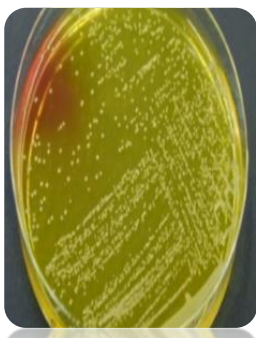
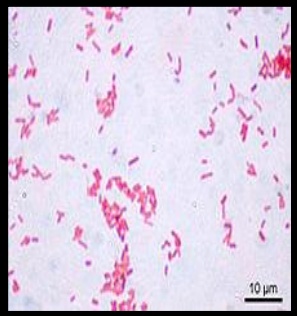

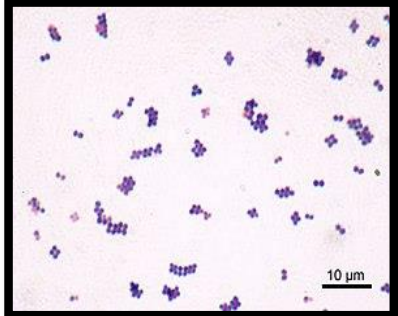
\* **[n]<sup>°D</sup>**: Indice de réfraction : 1,4909.

### 1.3. Résultats de l'identification des souches bactériennes.

#### ❖ Examen macroscopique et microscopique

**Tableau 8** : Résultats de l'aspect micro et macroscopique des souches bactériennes.

Les résultats de l'aspect microscopique et macroscopique sont présentés dans le tableau Suivant :

Les bactéries	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.aureus</i>
<b>Aspect Macroscopique</b>	<p>Colonies rondes Lisse.</p> 	<p>Colonies fines Vertes.</p> 	<p>Colonies grandes rondes régulières Bombées lisses Brillante entourée d'une auréole jaune.</p> 
<b>Aspect Microscopique</b>	<p>Mobile, coccobacilles, Gram-.</p> 	<p>Très mobile, bacilles fines Gram-.</p> 	<p>Immoble, cocci en aman, Gram+.</p> 

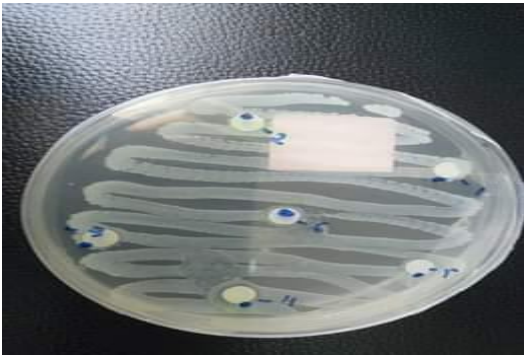
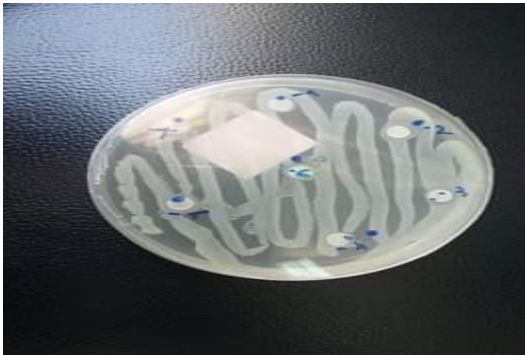
# Résultats et discussion

## ❖ Tests biochimique

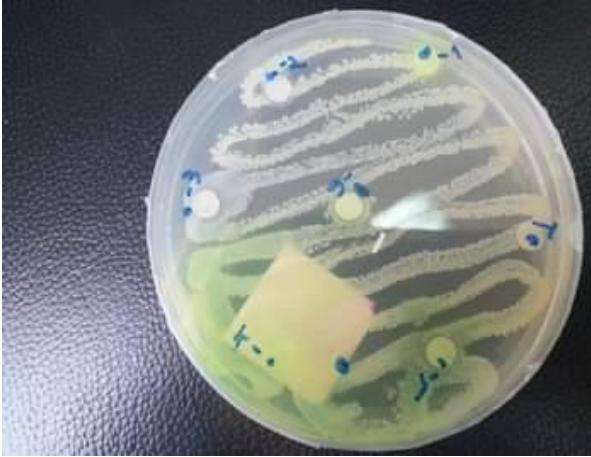

**Tableau9** : Mise en évidence de la production de l'oxydase et le catalase chez les trois souches.

Tests biochimique	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.aureus</i>
oxydase	-	+	-
catalase	-	+	+

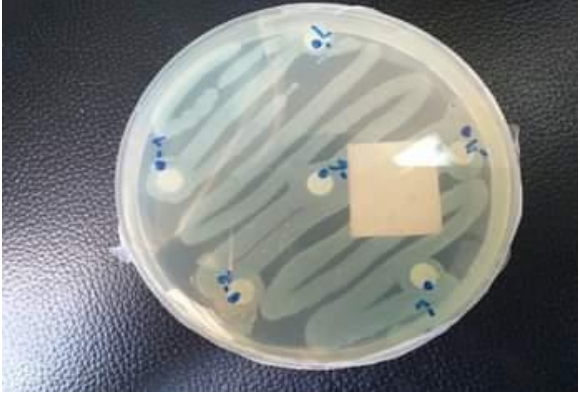
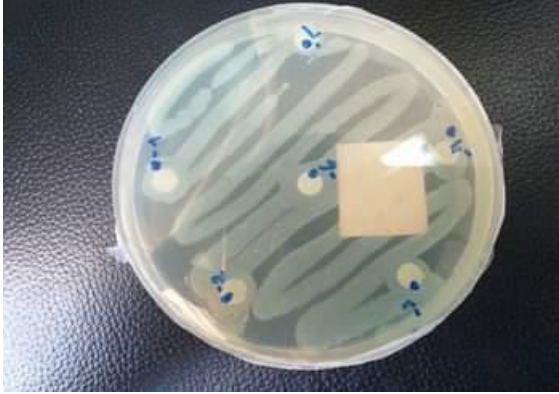
## 1.4. Résultats de l'aromatogramme

	
<i>E.coli</i>  <i>M.pulegium</i> : 5mm.	<i>Ecoli</i>  <i>L.nobilis</i> : 4mm.

**Figure 19:** Effet inhibiteur des HEs sur l'E. coli.

	
<p><i>S.aureus</i></p> <p><i>M.pulegium</i> : 4mm.</p>	<p><i>S.aureus</i></p> <p><i>L.nobilis</i> :3mm.</p>

**Figure 20:** Effet inhibiteur des HEs sur le *S.aureus*.

	
<p><i>P.aeruginosa</i></p> <p><i>M.pulegium</i> : 2mm.</p>	<p><i>P.aeruginosa</i></p> <p><i>L.nobilis</i> :1mm.</p>

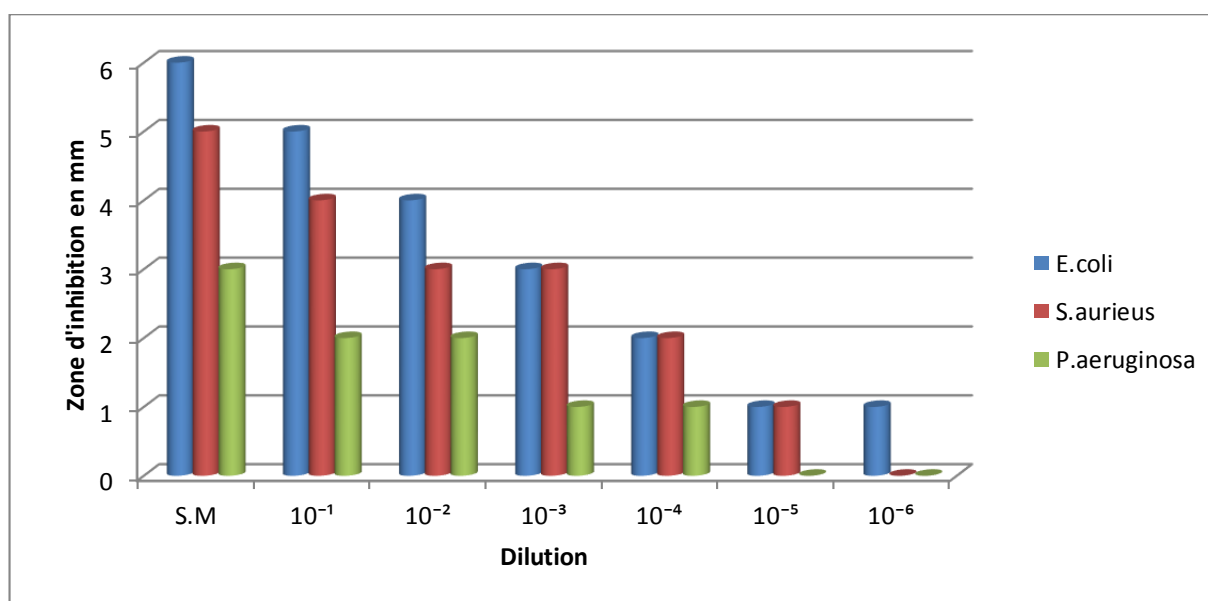
**Figure 21:** Effet inhibiteur des HEs sur le *P.aeruginosa*.

## Résultats et discussion

**Tableau 10:** Activité antibactérienne de *Mentha pulegium* sur les 3souches en présence des différentes concentrations.

Souche testé.	S.m	-1	-2	-3	-4	-5	-6
<b>E.coli</b>	6mm	5mm	4mm	3mm	2mm	1mm	1mm
<b>S.aurieux</b>	5mm	4mm	3mm	3mm	2mm	1mm	0mm
<b>P.aeruginosa</b>	3mm	2mm	2mm	1mm	1mm	0mm	0mm

\*Les tableaux suivants indiquent l'effet inhibiteur des différentes concentrations des HEs sur les trois souches testées.

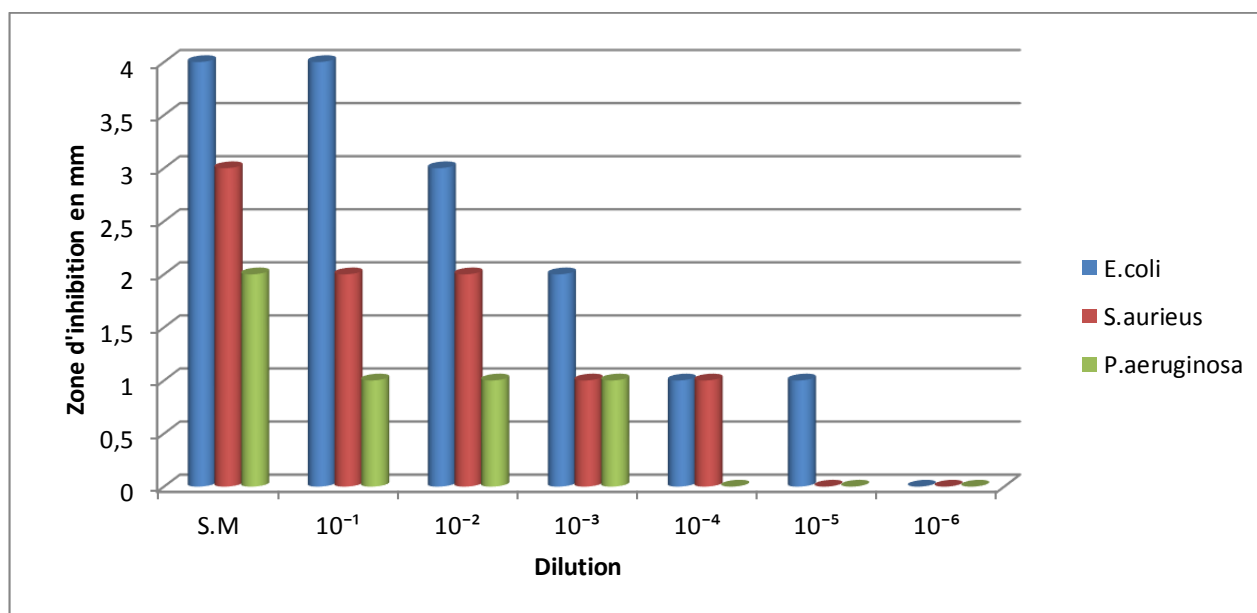


**Figure 22:** Graphe représente l'Activité antibactérienne de *Mentha pulegium* sur les 3souches en présence des différentes concentrations.

## Résultats et discussion

**Tableau 11 :** Activité antibactérienne de *Laurus nobilis* sur les 3souches en présence des différentes concentrations.

Souche testé.	S.m	-1	-2	-3	-4	-5	-6
<i>E.coli</i>	4mm	4mm	3mm	2mm	1mm	1mm	0mm
<i>S.aurieus</i>	3mm	2mm	2mm	1mm	1mm	0mm	0mm
<i>P.aeruginosa</i>	2mm	1mm	1mm	1mm	0mm	0mm	0mm



**Figure 23 :** Graphe représente l'Activité antibactérienne de *Laurus nobilis* sur les 3souches en présence des différentes concentrations.

## Résultats et discussion

---

### La sensibilité du germe

**Tableau12** : Résultats de transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés.

L'huile essentielle	E.coli	<i>S.aurieus</i>	<i>P.aeruginosa</i>
<i>Mentha pulegium.</i>	Résistant.	Résistant.	Résistant.
<i>Laurus nobilis.</i>	Résistant.	Résistant.	Résistant.

### Discussion

Le rendement énoncé par la littérature pour *Laurus nobilis* L. varie de 0,63 à 0,7% [78]. En réalisant le plan d'expérience relatif à cette plante, nous avons remarqué que l'obtention d'un rendement qui dépasse 0,73% est possible et pour le rendement de *Mentha pulegium* varie de 1.2 à 2.7% ce qui montre l'intérêt de cette étude. Ces résultats sont différents à ceux signalés dans d'autres régions d'Algérie.

D'après les résultats cités dans la littérature scientifique, l'hydrodistillation reste la méthode d'extraction des HE la plus convoitée dans les pratiques courantes. [99].

Il est toutefois à signaler que la composition chimique des huiles essentielles d'une plante dépend de plusieurs facteurs tels que : l'origine géographique, la période de récolte, le lieu de séchage, la température et la durée de séchage et la méthode d'extraction [77].

Les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, en remarque que les HE sont plus ou moins colorées et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau.

L'indice de réfraction de notre huile essentielle est de 1,4909 (*Laurus nobilis*), et de 1.465 pour *Mentha pulegium*. Ils sont normatifs selon les standards français des huiles essentielles. Cet indice dépend de la composition chimique qui augmente en fonction des longueurs des chaînes d'acides, de leurs degrés d'insaturation et de la température.

Ces résultats ne sont pas en accord avec les précédents rapports sur l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la menthe pouliot ; [100] décrit des diamètres d'inhibition de l'huile essentielle de la menthe pouliot algérienne entre 10 et 22 mm, dont le diamètre le plus important concernait *E. coli*. Cependant, l'activité antibactérienne des huiles essentielles riche en pulégone a été rapportée. [101] ont montré que l'huile essentielle de *M. pulegium* de Tunisie présentait une grande activité antibactérienne avec des diamètres d'inhibition de 10 à 31 mm plus élevées que nos résultats.

D'après [102], l'huile essentielle générait des diamètres d'inhibition de  $12.6 \pm 0.5$  mm contre une gamme de bactéries, alors que *Pseudomonas aeruginosa* y était résistante.

A propos de [103] ont noté une bonne activité antibactérienne avec des diamètres d'inhibition et des valeurs de l'ordre de 8-21 mm pour les HES de *M. pulegium* L. d'Iran à chénotype pipéritone/pipéritone, cependant cette huile n'a présenté aucune activité sur *Escherichia coli*.

En ce qui concerne l'activité antibactérienne, elle peut être attribuée à la teneur élevée de l'huile essentielle en un composé oxygéné : le pipéritone. En effet, cette activité concerne toujours les composés majoritaires de l'huile essentielle, impliquant soit une concentration élevée de pipéritone et

les effets synergiques des autres constituants [103], soit une teneur élevée en pulégone [101]. Quel que soit le cas, en général, les monoterpènes oxygénés, qui sont nettement plus actifs que les monoterpènes hydrocarbonés [104] sont généralement présents à des concentrations significatives dans les huiles essentielles de *M. pulegium* L.

Selon les résultats obtenus, il n'est pas possible de conclure que l'huile essentielle de *M. pulegium* a un grand spectre d'activité antibactérienne car ce pouvoir antibactérien soumis à plusieurs facteurs et conditions.

Concernant l'activité de l'huile essentielle de plante *Laurus Nobilis*, l'huile a réagi négativement aux souches microbiennes testées. On remarque de faible écart dans les diamètres des zones d'inhibitions obtenues, allant de 1 à 6 mm.

L'action antibactérienne de notre huile peut être attribuée par sa richesse en trois composés principaux (Davanone, Camphor et Thujone) qui ont rapporté pour leur pouvoir antibactérien contre plusieurs souches bactériennes testés. L'action combinée (synergie) de différents composés à l'origine de cet extrait peut expliquer la variation des résultats entre même espèce de différentes régions du monde. D'après Oussou, Kanko, ces molécules agissent le plus souvent par une action synergique, soit seules ou avec les composés mineurs qui peuvent contribuer significativement à l'activité des huiles essentielles. [105].

Il est connu dans la littérature que les bactéries Gram-positif sont plus sensibles aux huiles essentielles et extraits végétaux que les bactéries Gram-négatif [106]. Ceci est dû aux différences structurales de leurs membranes externes [107], Ces composants chimiques exercent leur activité antimicrobienne sur les micro-organismes par la perturbation de l'intégrité membranaire. [45]. La pénétration des composés actifs présents dans les HES est donc différente [108]. Chez les bactéries Gram-, la membrane externe constitue une barrière de perméabilité efficace, riche en lipopolysaccharides dont les charges négatives de surface empêchent la diffusion des molécules hydrophobes [109], toutefois, quelques composés phénoliques de faible poids moléculaire peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides membranaires à l'aide de leurs groupes fonctionnels et se faufiler jusqu'à la membrane intérieure plus vulnérable [110]. Autrement dit, les composés hydrophobes sont capables de perturber la membrane plasmique et la membrane externe des bactéries Gram- en induisant sa perméabilité et la mort cellulaire [111]. Les bactéries Gram positif sont moins protégées contre les agents antibactériens, vu que le peptidoglycane n'entrave que la diffusion des molécules supérieures à plus de 50 kDa [112].

*Conclusion*

*générale*

## Conclusion générale

---

### Conclusion

L'intérêt accordé à l'étude scientifique du pouvoir thérapeutique des plantes médicinales n'a cessé d'augmenter durant ces dernières années dans le but de rechercher des alternatives aux substances chimiques, qui présentent des risques pour la santé humaine et l'environnement. Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer *in-vitro* l'activité antibactérienne des HEs extraites de la plante *Mentha pulegium* L et la plante de *Laurus nobilis* utilisées en médecine traditionnelle en Algérie.

L'huile est extraite par la méthode d'hydrodistillation. Les analyses quantitatives de ces huiles ont montré un rendement de 2.7% pour *Mentha pulegium* et 0.79% pour *Laurus nobilis*.

L'étude des caractéristiques physicochimiques de notre HEs ont permis de mettre en évidence sa conformité aux normes établies, elle se distingue par une densité relative, un indice de réfraction, globalement comparable à ceux donnés par la pharmacopée française.

En ce qui concerne le pouvoir antibactérien par la méthode de diffusion de disque des HEs de *Mentha pulegium* L et *Laurus nobilis*, nos résultats montrent que les trois souches bactériennes testées sont résistant aux HEs de *Mentha pulegium* L et *Laurus nobilis*. On peut déduire que nos extraits ont un faible pouvoir antibactérien sur les souches bactériennes testées. Exprimé par des diamètres des zones d'inhibition entre 1 et 8 mm.

Ces résultats restent préliminaires et nécessitent des études complémentaires approfondies à différents niveaux de l'approche à travers une caractérisation fine et poussée de ces huiles essentielles par d'autres techniques telles que la CPG/SM ou l'HPLC/SM afin d'établir une relation structure-activité. L'activité antimicrobienne doit être évaluée dans d'autres systèmes *in vitro* (cellulaires et enzymatiques) comme *in vivo* afin de mieux cerner les interactions moléculaires de ces huiles vis-à-vis de leurs cibles.

Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour évaluer l'efficacité des extraits étudiés :

- \* l'isolement et la caractérisation des composés actifs dans les HEs en vue d'identifier les différentes molécules responsables des différentes activités biologiques de ces plantes,
- \* Evaluer et tester les différentes molécules isolées *in vivo* sur différents modèles biologique en vue de les utiliser à des fins thérapeutiques et de conservation des produits destinés à la consommation.

## Conclusion générale

---

\*développer des produits à la base de plantes qui peut être un alternatif à l'utilisation des produits de synthèse pour lutter contre les agents pathogènes.

\*Exploiter le pouvoir antimicrobien dans l'industrie pharmaceutique pour enrichir l'arsenal thérapeutique.

Au final, les résultats obtenus ainsi que les perspectives proposées vont permettre d'ouvrir de nouvelles voies dans le domaine thérapeutique.

*Référence*  
*bibliographique*

## Références bibliographiques

---

1. **Gui oiseau E., 2010** : Molécules, antibactérienne issues d'huiles essentielles : séparation, identification et moded'action. Thèse de Doctorat de l'Université de Corse, option : Biochimie-Biologie moléculaire, France, 50p.
2. **Essawi T, & Srour M.** 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology.* 70, pp. 343-349.
3. **Suffredini J B, Sader H S., Goncalves A G, Reis A O, Gales A C, Varella AD et al.** 2004. Screening of antimicrobial extracts from plants native to the Brazilian Amazon rainforest and Atlantic forest. *Brazil. J.Med. Biol. Res.* 37, pp. 379-384.
4. **Morales.** 2002. The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In : *Thyme : the Thymus*. Ed. Taylor & Francis, London. évolutive des composés secondaires. Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de montpellier. pp. 1-43.  
\***Nait AK.** 2012. Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'eucalyptus poussant dans la région de tiziouzou. Thèse de magistère en chimie appliquée, université Mouloud mameri; pp:13.
5. **Tongnuanchan P, & Benjakul S.** 2014. Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231-R1249.
6. **Agnihotri VK, Agarwal SG, Dhar PL, Thappa Baleshwar RK, Kapahi BK, Saxena RK. & Qazi GN.** 2005. Essential oil composition of *Mentha pulegium L.* growing wild in the north-western Himalayas India. *Flavour Frag. J.* 20: 607–610.  
\***Diaz-Maroto MC, Castillo N, Castro-Vazquez L, Gonzalez-Vinas MA. & Perez- Coello MS.** 2007. Volatile composition and olfactory profile of pennyroyal (*Mentha pulegium L.*) plants. *Flavour Frag. J.* 22: 114-118.
7. **Zargari A.** 1990. *Herbal Medicines.* Publication of Tehran University, Iran. pp: 14-18.  
\***Delille L.** 2007. *Les plantes médicinales d'Algérie.* Berti Editions, Alger. 240 p.
8. **Haddouchi f et benmansour A.,** 2008. Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques .*Technologies de Laboratoire* Vol: 3 Issue: 8 Pages/record No.: 20-27
9. **Baser KHC et Buchbauer G.** 2010. *Handbook of essential oils : Science, Technology, and Applications.* Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America. 994p.
10. **Besombes C.** 2008. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, : 289p.

## Références bibliographiques

---

- \***Bouguerra A.** 2012, Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire, Mémoire de Magister, Université Mentouri, Constantine, 128p.
11. **Bruneton J.** 1993. Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> édition, Tec & Doc. Lavoisier. Paris, 632-915.
- \***Kalemba D, Kunicka A.** 2003, Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem*, 10, p 813-829.
12. **AFNOR (Association Française de Normalisation).** 2000. Recueil des normes françaises "huiles essentielles". Monographies relatives aux huiles essentielles, Paris
13. **Anton R, Lobstein A, Eberhard T.** 2005. Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. .
14. **Narishetty STK, Panchagnula R.** 2004. Administration transdermique de zidovudine: effet des terpènes et leur mécanisme d'action. *Journal of controlled release*, 95(3) : 367-379.
15. **Amiot J.** 2005. *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires. Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de Montpellier, 136 p.
16. **Guignard JL and Potier P.** 2000. Biochimie végétale, 2<sup>ème</sup> ED, ed. T. 2. : Dunod.
17. **Fouché JG, Marquet A and Hambuckers A.** 2000. Les Plantes Médicinales, de la plante au médicament Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman, Liège, pp. 1-18.
18. **Bruneton J.** 1999. Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3<sup>ème</sup> Ed Techniques et documentations. Paris. p: 484-488.
19. **Buchanan BB, Gruissem W & Jones RL.** 2000. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. *American Society of Plant Physiologists*: Rockville, MD, 1367.
20. **Salzer UJ.** 1977. The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings- a critical review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, 9: 345-373.
21. **Tomi F, Bradesi P, Bighelli A & Casanova J.** 1995. Computer-aided identification of individual components of essential oils using Carbon-13 NMR spectroscopy. *J. Magn. Reson. Anal.*, 1: 25-34.
- \***Platzer N.** 2002. Application de la RMN à la détermination des structures. Base Documentaire, Techniques d'analyse, Dossier : P1092, vol. TA1.
22. **Lamarti A, Badoc A, Deffieux G, & Carde JP.** 1994. Biogénèse des monoterpènes, I-localisation et sécrétion. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 133: 69-78.
23. **Rahal S.** 2004. Chimie des produits naturels et des êtres vivants. O.P.U. Edition. p.16
24. **Belaiche P.** 1979. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme .éd. Maloine. Paris.

## Références bibliographiques

---

25. **Bruneton J.** 1999. Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. p: 484-488.
- \***Laouer H.** 2004. Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*. Thèse de Doctorat d'état, Département de Biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.
26. **Bakkali F, Averbeck S and Averbeck D.** 2008. Biological effects of essential oils- A review. *Food and Chemical Toxicology.* 46, 446–475.
27. **Valnet J.** 1984. Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes. Maloine S.A. éditeur. Paris p 544.
- \***Salle JL et Pelletier J.** 1991. Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed. Frison-Roche, pp.19-45.
28. **Bekhechi C et Abdelomahid D.** 2010 : Les huiles essentielles .Ed : № 5145. Office des publications universitaires, 55 p
29. **Rhayour K.** 2002. Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse doctorat en Biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. 170p.
30. **Fernandez X et Chemat F.** 2012 : La chimie des huiles essentielles. Ed. Vuibert . p : 274
31. **Piochon M.** 2008. Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse, Mémoire de la maîtrise en ressources renouvelables, Université du Québec A Chicoutimi. 213p.
32. **Jouault S.** 2012. La qualité des huiles essentielles et sont influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de doctorat d'état en pharmacie. Faculté de pharmacie. Université de Lorraine, France, 147p.
33. **Boukhalfa M.** 2014. Etude de l'activité antioxydant (test d'ABTS) des huiles essentielles et la pédologie haloxylon *Scoparium pomel* (remth) de la région de Naâma. Mémoire de master en production et amélioration végétal. Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, Algérie, 70p.
34. **Luicita LR.** 2006. Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de l'institut
35. **Lucchesi ME.** 2005. Extractions sans solvants assistée par micro-onde conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat en chimie. Faculté des Science et Technologies. Université de la Reunion, 147pnational polytechnique de Toulouse, France. 335p.

## Références bibliographiques

---

36. **Kaloustian J, Hadji-Minaglou F.** 2012. La connaissance des huiles essentielles qualitologie et aromathérapie. Paris : Edition Springer.
37. **Haddad D, Haddji D.** 2016. Contribution à l'Etude de L'Huile Essentielle de Myrtus communis L. [Thèse] : Pharmacie : Université Mouloud Mammeri : Faculté de Médecine.
38. **Chouitah O.** 2012. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de Glycyrrhiza glabra. [These] : Biochimie : Université Oran.
39. **Ouis N.** 2015. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. [These] : Chimie organique : Université Oran.
40. Pharmacopée européenne. 2008. 6ème édition.
41. **Samah D.** 2012. Les huiles essentielles Des mystérieux métabolites secondaires ; Deutsche National bibliografie ; page 64.
42. **Burt S.** 2004 : Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International journal of food microbiology*, 94(3) : 223-253.
43. **Lis-Balchin M.** 2003. Lavender: the genus Lavandula, CRC press.
44. **Cox SD, Mann CM, Markham JL, Bell HC, Gustafson JE, Warmington JR & Wyllie SG.** 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88 : 170-175.
45. **Knobloch K, Pauli A, Iberl B, Weigand H & Weis N,** 1989. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research* 1: 119-128.
46. **Penchev P.** 2010. Purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. [These] : Génie des Procédés et de l'Environnement : Université Toulouse.
47. **Himed L.** 2011, Evaluation de l'activité antioxydant des huiles essentielles de Citrus limon : application à la margarine, Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine. 91p.
48. **Bouguerra A.** 2012, Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire, Mémoire de Magister, Université Mentouri, Constantine, 128p.
49. **Benzeggouta N.** 2005, Etude de l'activité antibactérienne des huiles Infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments, Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine. 153p.
50. **Addadi hanaa et Ferradji siham milouda.** 2014. extraction d'huile essentielle d'une plante médicinale « la menthe ». Mémoire de master chimie organique université Dr Molay tahar Saida faculté de science département de chimie.

## Références bibliographiques

---

51. **Lemordant D, Boukef K, Bensalem M.** 1977. Plantes utiles et toxiques de Tunisie, *Fitoterapia*, 48 : 191-214.
- \***Bellakhdar J.** 1978. Médecine traditionnelle et toxicologique Ouest Saharienne, contribution à l'étude de la pharmacopée marocaine. Ed. Technique nord africaines, Rabat.
52. **Bekhechi C.** 2008 : Analyse des huiles essentielles de quelques espèces aromatiques de la région de Tlemcen par CPG, CPG-SM et RMN 13 C et étude de leur pouvoir antibactérien. Thèse Doctorat. Université de Tlemcen, 205p.
53. **Bruneton J.** 1993. Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 2 ème édition, Tec & Doc. Lavoisier. Paris, 632-915.
54. **Quézel P & Santa S.** 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. CNRS. Ed. Paul Le chevalier, Paris.
55. **Quézel P & Santa S.** 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. CNRS. Ed. Paul Le chevalier, Paris.
- \***Arvy MP & Gallouin F.** 2003. Epices, aromates et condiments. *Ed. Belin, Paris*, 412p
56. **Bencheikh D.** 2012. Polyphenols and antioxidant properties of extracts from *Mentha pulegium* L. and *Matricaria camomilla* L. Magister en Biochimie., Université Ferhat Abbes Setif. 89 p.
- \***Gerenutti M, Modesto L, Valessandra carrara V, Alves magalhães, S.** 2014. Maternal exposure to aqueous extract of *Mentha pulegium* L. inducing toxicity to embryo development in rats. *Full Length Research Paper*, 8(22) : 609-614.
57. **Anton R, Lobstein A, Eberhard T.** 2005. Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles.
58. **Boukenna M et Bouzidi M.** 2007. Extraction et analyse de l'huile essentielle de *Mentha viridis* L (Menthe verte) et de la *Mentha pulegium* (Menthe pouliot). Mémoire d'Ingénieur en Agronomie UMMTO.
59. **Tucker A, Rfcnacz I.** 2007. *Mentha* : Un Aperçu De La Classification Et Les Relations.
60. **Beloued A.** 1998. Plantes médicinales d'Algérie. OPU, Alger, 270.

## Références bibliographiques

---

61. **Bremness L.** 2001. Plantes aromatiques et médicinales, BORDAS, France, 303p.
62. **Lamaison JL, Petitjean-Freytet C, Carnat A.** 1990. Teneurs en rosmarinique, en dérivés hydroxycinnamiques totaux et activité antioxydante chez les Apiacées, les Boraginacées et les Lamiacées médicinales. *Ann Pharm Fr*, 48:103-108.
63. **List PH, Horhammer L, Roth HJ et Schmid W.** 1980. Hagers Hundbuch der Pharmazeutischen Praxis, 4. Aufl., Bde. Ibis VIII, Springer- Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
64. **Baba Aissa F.** 1999. Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algerie et du Maghreb. Edition : Librairie Moderne- ROUIBA. 368p.
65. **Teuscher E, Anton R & Lobstein A.** 2005. Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Technique et Documentation, Edition Lavoisier, Paris
66. **Kebissi H.** 2004. Encyclopédie des herbes et plantes médicinales , Dar AL-Kotob AL-Iliyah, Beyrouth-Liban, 566p.
67. **Leclerc H,** 1976. Précis de phytothérapie, Masson, Paris 363p.
68. **Baba Aissa F.** 2000. Encyclopédie des plantes utiles. Librairie Moderne, Rouiba, 368p.
69. **Noudin C, Grumbach N.** 2000. Larousse médicale, Larousse & Bardas, Paris, 1203p.
70. **Lorenzi H, Matos, FJA.** 2002. Plantas medicinais no Brasil: Nativas e exóticas cultivadas. *Instituto Plantarum*, 512 p.
71. **Bencheikh D.** 2012. Polyphenols and antioxidant properties of extracts from *Mentha pulegium* L. and *Matricaria camomilla* L. Magister en Biochimie., Université Ferhat Abbes Setif. 89 p.
72. **Garnero J.** 1991. Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et normalisation, Edition technique. Encyclo. Med. Nat . Paris, France 9-20 59.
73. **Lamin A, Lhaloui S, Bendjilali B, Brradi M.** 2001. Field corps Research., 71, 9-15
74. **Andreas B.** Guides des plantes du bassin méditerranéen. 1998. EUGEN ULMER, 400.
75. **Babba Aissa F.** 2000. Encyclopédie des plantes utiles : flore d'Algérie et du Maghreb substances végétales d'Afrique d'orient et d'occident. Alger :EDAS .

## Références bibliographiques

---

76. **Ouibrahim A., Tlili-Ait Kaki Y., Bennadja S., MansouriR., Ait Kaki S., Khbizi S., Djebbar M.**2015. Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L provenant de la région d'El Kala (Nord–Est Algérien). Algerian J. Nat. Products, 3:3 pp 209-216.
77. **Goudjil M.**2016.Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques.[These] :Genie des procedés et environnement :Universite Kasdi Merbah Ouargla
78. **Guedouari R.**2012.Etude comparative de la pharmacognosie des differentes parties du *Laurus nobilis* L. essais de formulations therapeutiques.[Mémoire de Magister] : Génie des Procédés Chimiques et Pharmaceutiques : Universite Mohamed Bougara Boumerdes.
79. **Beloued A.**2003.Plantes medicinales d'Algerie. Alger : Office des publications Universitaires.
80. **Buagnicont F.** 1995. à. Laboratoire d'analyse biochimique , le cahier des techniques l'INRH , p 23.67.
81. **Nauciel Cet vildé JL.** 2005. Bactériologie médicale vétérinaire ,2eme édition, Paris ,P52.
82. **Anonyme :** [www.bacteriainphotos.com](http://www.bacteriainphotos.com)
83. **Djelouat S.I :** 2011. Les *Escherichia coli*. Blogspot. P : 1.
84. **Eyquen AI et Montgner L.** 2000. Traitement microbiologique chimique, édition Lanor Paris, P66-121.
85. **BEAUDRY FM.** 2011. Etude sur les *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline chez le porc à l'abattoir au Québec Canada. Mémoire de Master : Microbiologie. Montréal : Université de Montréal, 96p.
86. **BEAUDRY FM.** 2011. Etude sur les *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline chez le porc à l'abattoir au Québec Canada. Mémoire de Master : Microbiologie. Montréal : Université de Montréal, 96p.
- \***Kara TI.** 2014. Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm de souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires chez des patients hospitalisés au CHU de Tlemcen. Thèse de doctorat : Biologie. Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen, 84p.

## Références bibliographiques

---

- \***Bernier LJ.** 2015. Prévalence et caractérisation de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline d'origine aviaire au Québec. Mémoire de Master : Microbiologie. Montréal : Université de Montréal, 112p.
87. **Rebiahi S.A. ; Rahmounam. ; Seddikib S.M.L. ; Kadia K. ; Belhadjic F. ; Chabnic N. ; Kunkeld D.** 2014. Infections nosocomiales causées par *Staphylococcus aureus* producteur de biofilm dans l'unité de néonatalogie de l'établissement hospitalier spécialisé mère-enfant de Tlemcen, Algérie. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 27: 228-235.
88. **BEAUDRY FM.** 2011. Etude sur les *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline chez le porc à l'abattoir au Québec Canada. Mémoire de Master : Microbiologie. Montréal : Université de Montréal, 96p.
- \***Bernier LJ.** 2015. Prévalence et caractérisation de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline d'origine aviaire au Québec. Mémoire de Master : Microbiologie. Montréal : Université de Montréal, 112p.
89. **Anonyme :** [www.futura-sciences.com](http://www.futura-sciences.com)
- 90.**Dolarras C.** 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Tec & Doc. Paris. P : 289, 476.
- \***Prescott W, Harley S et Klein W.** 2010. Microbiologie. 3em édition. deboeck. Bruxelles. P : 843, 845.
- \***Rebiahi S.** 2012. Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibiorésistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat. Université de Tlemcen. 158p.
91. **Dolarras C.** 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Tec & Doc. Paris. P : 289, 476.
92. **Gessard C.** Classics in infectious diseases. On the blue and green coloration that appears on bandages. By Carle Gessard (1850-1925). *Rev Infect Dis.* 1984 Sep-Oct;6 Suppl 3:S775-66.
93. **Stover CK, Pham XQ, Erwin AL, Mizoguchi SD, Warrener P, Hickey MJ, Brinkman FS, Hufnagle WO, Kowalik DJ, Lagrou M, Garber RL, Goltry L, Tolentino E, WestbrookWadman S, Yuan Y, Brody LL, Coulter SN, Folger KR, Kas A, Larbig K, Lim R, Smith K, Spencer D, Wong GK, Wu Z, Paulsen IT, Reizer J, Saier MH, Hancock RE, Lory S, Olson MV.** Complete

## Références bibliographiques

---

genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature*. 2000 Aug 31;406(6799):959-64.

94. **Anonyme 4** : [www.textbookofbacteriology.net](http://www.textbookofbacteriology.net)

95. **Chaker H.** 2012. Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : implication des métabolites du tryptophane. Thèse de doctorat : Grenoble: Université de Grenoble : Science agricole, 291p.

96. **Anonyme** : [http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/cours\\_dcem1/pseudomonas.htm](http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/cours_dcem1/pseudomonas.htm) (Consulter le 8-4-2014).

97. **Anonyme** : [http://www.sfar.org/acta/dossier/archives/ca98/html/ca98\\_39/98\\_039.htm](http://www.sfar.org/acta/dossier/archives/ca98/html/ca98_39/98_039.htm) (Consulter le 2-4-2014).

98. **Bachiri L, Echchegadda G, Ibijbijen J, Nassiri L.** 2016. Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc: «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.». *European Scientific Journal*, 12(30), 313-333.

99. **Goudjil M., Bencheikh S., Zighmi S., Ladjel S.** Détermination expérimentale de la cinétique de séchage à l'ombre des huiles essentielles de *Laurus nobilis* Lauraceae. 2015. *Annales des Sciences et Technologie*. 7 :1.pp.53-57.

100. **Benabdallah A., 2008** : Contribution à l'étude histologique, phytochimique et antimicrobienne d'une plante aromatique et médicinale: *Mentha pulegium* L. Thèse de Magister, Département de Biologie, Faculté des sciences, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie.

101. **Hajlaoui H., Trabelsi N., Noumi E., Snoussi M., Fallah H., Ksouri R., & Bakhrouf A., 2009:** Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 25: 2227–2238.

102. **Ait-Ouazzou A., Lorán S., Arakrak A., Laglaoui A., Rota C., Herrera A., Pagán R. & Conchello P., 2012:** Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. *Food Res. Int.* 45: 313–319.

103. **Mahboubi M. & Haghi G., 2008:** Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *J. Ethnopharmacol.* 119: 325–327.

104. **Carson C.F. & Riley T.V., 1995.** Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *J. Food Microbiol.* 78: 264–269.

## Références bibliographiques

---

105. **Denis F., Poly M.C.** 2007. Bactériologie médicale : Techniques usuelles Elsevier Masson, pp 573.
106. **Karaman I., Sahin F., Gulluce M., Ögütçü H., Sengül M. & Adıgüzel A., 2003:** Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *J. Ethnopharmacol.* 85: 231–235.
- \*Sahin F., Karaman I., Gulluce M., Ögütçü H., Sengül M., Adıgüzel A., Öztürk S. & Kotan R., 2002:** Evaluation of antimicrobial activities of *Satureja hortensis* L. *J Ethnopharmacol.* 87: 61–65.
107. **Inouye S., Takazawa T. et Yamaguchi H., 2001:** Antimicrobial activity of the essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antibacterial Chemotherapy.* 47: 565-573.
- \*Lopez P., Sanchez C., Batlle R. et Nerin C., 2005:** Solid and vapor phase antimicrobial activities of six essential oils: Susceptibility of selected food borne bacterial and fungal strains. *J. Agric. Food Chem.* 53: 6939-6946.
- \*Bozin B., Mimica-Dukic N., Simin N. et Anackov G., 2006:** Characterization of the volatile composition of essential oil of some lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *J. Agric. Food Chem.* 54: 1822-1828.
108. **Kheyer N., Meridja D. et Belhamel K., 2014 :** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. *Algerian Journal of Natural Products.* 2(1): 18-26.
109. **Nikaido H., 2003:** Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 67(4): 593-656.
110. **Dorman HJD. et Deans SG., 2000 :** Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology.* 88(3): 308-316.
111. **Wang W., Li N., Luo M., Zu Y. et Efferth T., 2012:** Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil Compared to that of its main component. *Molecules.* 17: 2704-2711.
112. **Nikaido H. & Vaara M., 1985:** Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiol. Rev.* 49: 1–32.
- \*Hogan D. & Kolter R., 2002:** Why are bacteria refractory to antimicrobials. *Curr. Opin. Microbiol.* 5: 272–4.

