
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Ain-Témouchent



Institut des Sciences
Département de science de la nature et de la vie

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques
Option : Microbiologie Appliquée

Présenté par :
Melle. Fatiha YAHLA et Ibtissem TLEMSANI

Etude De L'Activité Antimicrobienne Des Extraits D'une Plante Médicinale « *Mentha Suaveolens* » De La Région D'Ain-Témouchent

Encadrant :
M. Farid BENNABI
Maitre de conférences "B" à C.U.B.B.A.T.

Soutenu en 2018

Devant le jury composé de :

Président :	M. CHERIF, Nadjib (M.C.B.)	C.U.B.B.A.T.
Examineurs :	M. BENTABET, Nesrine (M.C.B.)	C.U.B.B.A.T.
	M. MOUEDDEN Nasr Eddine Réad (M.A.A)	C.U.B.B.A.T.
Encadrant :	M. BENNABI Farid (M.C.B.)	C.U.B.B.A.T.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
«قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ»
(سورة البقرة، الآية 32)

Au nom d'Allah, Le Clément, Le Miséricordieux

« Gloire à Toi ! Nous n'avons de savoir que ce que tu nous as appris. Certes c'est Toi
L'Omniscient, le Sage »
(Al-Baqarah, verset 32)

« قل لن يصيبنا إلا ما كتب الله لنا هو مولانا وعلى الله فليتوكل المؤمنون (51) »

(سورة التوبة ، الآية 51)

Remerciement

Nous tenons à témoigner notre reconnaissance à Dieu tout puissant, de nous avoir donné le courage et la force de mener à terme ce mémoire. Qui nous a ouvert les portes du savoir.

Prière et bénédictions d'Allah sur le prophète Mohamed, Paix et Salut sur lui, le sceau des prophètes, ainsi que ses compagnons, pour nous avoir apporté une religion comme l'Islam.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrais témoigner toute ma reconnaissance.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et sincères remerciements à Monsieur BENNABI.F, qui nous a encadrés, tout au long de ce mémoire. Nous nous remercions pour votre précieuse présence assistance, votre disponibilité et l'intérêt que vous avez manifesté pour ce modeste travail. Nous nous remercions pour vos orientations et votre enthousiasme envers notre travail.

Nous remercions tout particulièrement Mr « RAHMANI K. et MOHAMEDI M.W. » pour ses efforts déployés pour notre travail. Nous vous remercions très chaleureusement de nous avoir continuellement encouragés, pour votre soutien scientifique et humain, pour votre gentillesse et votre hospitalité.

Nous tenons à présenter notre sincère et vif remerciement à Mr CHERIF.N, Maitre de conférence B à l'Université Belhadj Bouchaïbe - Ain Témouchent, nous avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Nous tenons à présenter notre sincère et vif remerciement à Mr MOUADDEN.N.R Maitre assistant A à l'Université Belhadj Bouchaïbe - Ain Témouchent, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à présenter notre sincère et vif remerciement à Mme BENTABET.N Maitre de conférence B à l'Université Belhadj Bouchaïbe - Ain Témouchent, qu'elle trouve ici l'expression de notre gratitude pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous adressons encore nos remerciements à monsieur MAMI.A pour tous les efforts déployés pour notre formation pendant les années écoulées.

Nous remercions également nos chers enseignants du département de sciences biologiques, qui nous ont accompagnés et aidés à nous améliorer durant nos cursus de formation.

Nous voudrions exprimer notre gratitude au collègue Abd El Illah qui nous a apporté son soutien morale et intellectuel pendant notre travail.

Enfin, que tous ceux et toutes celles, de loin comme de près, ont contribué à l'élaboration de ce mémoire trouvent ici l'expression de mes remerciements.

Je tenais a remercié avant tout Allah pour tous ce qui est passé cette année

Je dédie ce modeste travail à :

Ma grand-mère

Mon père et ma mère

Maman tita

Ma sœur « Orkia » et leur marie « BENGORINE Hamid »

Mes frères « Boras, Farid, Mohamed »

Mes nièces « Chamse el Doha, Aya, Assil »

Mon oncle

Ma petite famille

Mon binôme « Ibtissem » et leur petite famille

Mes chères amies

Fetouh

Je dédie ce modeste travail

A mes parents, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Qu' Allah leur procure bonne santé et longue vie.

A ma sœur Khadidja qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite

À ceux que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ma vie Djamel Eddine et Lotfi.

A toute ma famille, qui porte le nom TLEMSANI et HADDOUCHE.

A mon binôme « Fatiha » et toute la famille YAHLA.

A toutes mes chères amies Meriem, Imane, Nadia,....

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Ibtissem

Résumer

Les travaux présentés dans ce mémoire entrent dans le cadre de la valorisation d'une plante utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie. Pour ce faire, les parties aériennes de *Mentha suaveolens* (Nord-Ouest algérienne) ont été criblés pour leurs activités antimicrobiennes possibles.

Cinq extraits obtenus à partir de l'extraction par macération dans des solvants différents, éther de pétrole, éthanol, dichlorométhane, eau distillée et l'hexane. Par la suite, l'activité antimicrobienne des extraits à été testée par un essai biologique, d'aromatogramme, suivie par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide et fongicide (CMB et CMF).

Nos résultats ont montrées que toutes les extraits sont douées d'un effet antimicrobien, en particulier que les extraits d'éther de pétrole, éthanolique et de dichlorométhane présentent une activité importante sur les souches testées, tandis que les extraits aqueux et hexanique sont les moins actifs vis-à-vis des souches testées et dont les diamètres d'inhibition variant entre 9 et 12 mm et une inhibition totale avec des CMI qui varient entre 0,015 et 0,12mg/ml.

Mots clés : Plantes médicinales, métabolites secondaires, *M. suaveolens*, extraits, activité antimicrobienne.

Abstract

The work presented in this memory enters within the framework of the valorization of a plant used in traditional medicine in Algeria. With this intention, the air parts of *Mentha suaveolens* (North-western Algerian) were sifted for their possible antimicrobial activities. Five extracts obtained starting from the extraction by maceration in different solvents, petroleum ether, ethanol, dichlorométhane, distilled water and hexane.

There after, the antimicrobial activity of the extracts at summer tested by a biological test, of aromatogramme, followed by the determination of the inhibiting concentration minimal (CMI) and the bactericidal and fungicidal concentration minimal (CMB and CMF).

Our results showed that all the extracts are endowed with an antimicrobial effect, in particular that the petroleum ether extracts, ethanolic and of dichlorométhane present a significant activity on the stocks tested, while the extracts aqueous and hexanic are the least active with respect to the stocks tested and of which diameters of inhibition varying between 9 and 12 mm and a total inhibition with CMI which vary between 0,015 and 0,12mg/ml.

Words clés : Medicinal plants, secondary metabolites, *M. suaveolens*, extracts, antimicrobial activity.

Table des matières	N°
Résumé	
Table des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale	01
Partie I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Métabolites secondaires chez les plantes	
1. Définition	03
2. Biosynthèse	03
3. Classification	04
3.1. Polyphénols	05
3.1. 1. Définition	05
3.1. 2. Classification	05
3.1.2.1. Polyphénols monomériques	05
3.1.2.1. a. Acides phénoliques	05
3.1. 2.1.b. Flavonoïdes	06
3.1. 2.2. Polyphénols sous forme de polymères	08
3.1. 2.2.a. Tanins	08
3.1. 2.2.b. Lignines	10
3.1. 2.2.c. Coumarines, Stilbénes	10
3.2. Alcaloïdes	11
3.2. 1. Définition	11
3.2. 2. Classification	11
3.2. 3. Propriétés physicochimiques	12
3.3. Terpénoïdes	12
3.3. 1. Définition	12
3.3. 2. Classification	13

3.3. 2. 1. Monoterpènes	13
3.3. 2.2. Sesquiterpènes	13
3.3. 2.3. Diterpènes	14
3.3. 2. 4. Triterpénoides et stéroïdes	14
3.3. 2.5. Tétraterpènes	14
4. Fonctions et propriétés des métabolites secondaires	15
Chapitre II : Présentation de la plante étudiée	
1. Famille lamiacée	16
1.1. Définition	16
1.2. Description	16
1.3. Répartition	16
1.4. Sous-familles	17
2. <i>Mentha suaveolens</i>	17
2.1. Position systématique	17
2.2. Répartition géographique	17
2.3. Description botanique	18
Partie II : MATERIELS ET METHODES	
Préparation des extraits	
1. Matériels	19
1.1. Matériel végétale	19
1.2. Produits chimiques	20
1.3. Appareillage	20
2. Méthodes	21
2.1. Séchage de la plante	21
2.2. Détermination de la matière sèche et de l'humidité	21
2.3. Préparation des extraits	22
2.3.1. Extraction par les solvants organiques à polarité croissante	22
2.3.2. Extraction aqueuse	23

2.3.3. Extraction d'huile totale	24
2.4. Détermination du rendement	25
Etude de l'activité antimicrobienne	
1. Matériel	26
1.1. Matériel biologique	26
a. Souches microbiennes pathogènes	26
b. Les extraits	26
1.2. Milieu de culture	26
1.3. Réactifs chimiques et autres matériel	26
2. Méthodes	26
2.1. Conservation des souches étudiées	26
2.2. Ensemencement des souches conservées	27
2.3. Préparation des suspensions microbiennes	27
2.3.1. Préparation des suspensions bactériennes	27
2.3.2. Préparation des suspensions fongiques	27
2.3.3. Ajustements de la charge microbienne	27
2.4. Méthodes d'étude de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux	28
2.4.1. Souches microbiennes	28
a. Souches bactériennes	28
b. Souches fongiques	29
2.4.2. Préparation des concentrations des extraits	30
2.4.3 Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)	30
2.4.4. Essais de sensibilité à la dilution	32
a. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) « Les micro- dilutions »	32
b. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) et fongicide (CMF)	33
Partie III : RESULTATS ET DISCUSSION	
Préparation des extraits	
1. Détermination de la teneur en eau	34

2. Rendement des extraits	34
Etude de l'activité antimicrobienne	
1. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)	36
a. Extrait d'éther de pétrole	37
b. Extrait d'éthanol	38
c. Extrait de dichlorométhane	39
d. Extrait aqueux	40
e. Extrait d'huile totale	41
2. Test de sensibilité aux antibiotiques	42
3. Essais de sensibilité à la dilution	43
a. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)	43
b. Détermination de la concentration minimale bactéricide et fongicide (CMB et CMF)	45
Conclusion	48
Bibliographie	
Annexe	

Liste des figures	N°
Figure 01 : Origine biosynthétique des métabolites secondaires	
Figure 02 : Structure des acides phénoliques	
Figure 03 : Structure de base des flavonoïdes	
Figure 04 : Structures chimiques des Flavones et des Flavonols	
Figure 05 : Structures chimiques des Flavanones et Flavanonols	
Figure 06 : Structures chimiques des Flavan-3-ols et Flavan-3,4-diols	
Figure 07 : Structures chimiques des anthocyanes	
Figure 08 : Structures chimiques des Chalcones et auronnes	
Figure 09 : Structure de base des tanins hydrolysables	
Figure 10 : Structure d'acide gallique et ellagique	
Figure 11 : Squelette de base des coumarines	
Figure 12 : Structure de Stilbène	
Figure 13 : Structure de base de l'isoprène	
Figure 14 : la plante « <i>M. suaveolens</i> »	
Figure 15 : Région de récolte	
Figure 16 : Parties aériennes sèche de « <i>M. suaveolens</i> »	
Figure 17 : Broyage de la plante « <i>M. suaveolens</i> » sèche	
Figure 18 : Extraction par des solvants organiques à polarité croissante	
Figure 19 : Extraction aqueuse	
Figure 20 : Extraction de l'huile totale.	
Figure 21 : Les cinq extraits de <i>M. suaveolens</i> .	
Figure 22 : Suspensions microbiennes	
Figure 23 : Préparation concentrations des extraits	
Figure 24 : Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)	
Figure 25 : Méthode des micro-dilutions	
Figure 26 : Taux d'humidité de <i>M. suaveolens</i>	
Figure 27 : Rendement des extraits de <i>M. suaevolens</i>	
Figure 28 : résultats d'aromatogramme	
Figure 29 : Effet d'extrait de l'éther de pétrole (EEP) sur les souches étudiées	
Figure 30 : Effet d'extrait de l'éthanol(EEtOH) sur les souches étudiées	
Figure 31 : Effet d'extrait de dichlorométhane (EDCM) sur les souches étudiées	

Figure 32 : Effet d'extrait aqueux (EAQ) sur les souches étudiées	
Figure 33 : Effet d'extrait des huiles totales (EHT) sur les souches étudiées	
Figure 34 : Effet des antibiotiques sur les souches étudiées.	
Figure 35 : Résultat de la concentration minimal inhibitrice	
Figure 36 : Résultat de la concentration minimal bactéricide et fongicide.	

Liste des tableaux	N°
Tableau 01 : Les souches bactériennes	
Tableau 02 : Les souches fongique	
Tableau 03 : les composés que pourraient contenir les différents extraits préparés	
Tableau 04 : Concentration minimale inhibitrices des extraits de <i>M. suaveolens</i> pour <i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	
Tableau 05 : Concentration minimal inhibitrices des extraits de <i>M. suaveolens</i> pour <i>S.aureus</i> ATCC 25923	
Tableau 06 : Concentration minimale inhibitrices des extraits de <i>M. suaveolens</i> pour <i>S.aureus</i> ATCC 43300	
Tableau 07 : Concentration minimale inhibitrice des extraits de <i>M. suaveolens</i> pour <i>E.coli</i> ATCC 25922	
Tableau 08 : Concentration minimale inhibitrice des extraits de <i>M. suaveolens</i> pour <i>C.albicans</i> ATCC 10231	
Tableau 09 : Concentration minimale bactéricide (CMB) et fongicide (CMF) des extraits de <i>M. suaveolens</i> sur la croissance des souches bactériennes et fongiques.	

Liste des abréviations
B.C. : Before Christmas
P.M. : Plante médicinale
O.M.S : l'Organisation mondiale de la santé
M. S. : Métabolite secondaire
C : Carbone
PM : Poids moléculaire
Da : Dalton
THs : Les tanins hydrolysables
UV : Ultraviolets
°C : Degrés Celsius
<i>M. rotundifolia</i> : <i>Mentha rotundifolia</i>
<i>M. suaevolens</i> : <i>Mentha suaevolens</i>
E : la matière végétale
MS : Matière sèche
H : humidité
EEP : Extrait d'éther de pétrole
EDCM : Extrait de dichlorométhane
EEtOH : Extrait éthanol
HT : Huile totale
ATCC : American type culture collection
P. aeruginosa <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
E. coli: <i>Escherichia coli</i>
S. aureus : <i>Staphylococcus aureus</i>
S. aureus : <i>Staphylococcus aureus</i>
C. albicans : <i>Candida albicans</i>
BMH : Bouillon Muller-Hinton
BS : Bouillon Saboreau
M.H.: Gélose Mueller Hinton
P.D.A.: Potato dextrose agar
DO : densité optique

UFC : Unité Formant Colonies
DMSO : Diméthyle Sulfoxyde
CMI : la concentration inhibitrice minimale
CMB : la concentration bactéricide minimale
CMF : la concentration fongicide minimale

Introduction

Introduction

L'historique des plantes médicinales traditionnelles remonte à une période véridique de 2500 et 500 B.C. (**Saxena et al, 2018**), elles ont été et continuent d'être des trésors naturels précieux, fournissant une source importante de nutriments et d'agents thérapeutiques (**Farukh et al, 2015**).

Suivant Dragendroff, toute matière végétale utilisée pour soin est une plante médicinale, dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Elles occupent actuellement un rang très important dans la production agricole et dans l'industrie (**Kalla, 2012**).

Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (O.M.S) estime que 80% de la population ont recours à des plantes médicinales pour une certaine mesure (**Paulo et al, 2017**). C'est pour cela que l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie emploient à recenser, partout dans le monde, des plantes ont un intérêt thérapeutique. (**Kalla, 2012**)

Les personnes ont toujours en recours aux P. M. pour réduire quelque problème de santé (**Houmenou et al, 2018**). Ces plantes constituent un patrimoine pour l'humanité et pour la plupart des communautés démunies des pays en développement, pour assurer leurs soins des santés primaires (**Etame-Loe et al, 2018**). A travers le monde, des maladies ont été soignées à l'aide de médicament à base de plante. Une série de produit naturels issus des plantes à fleurs constituant la base de la médecine moderne et un moindre nombre sont encore utilisés aujourd'hui (**Houmenou et al, 2018**). Les P. M. sont des ressources inestimables pour l'industrie pharmaceutique (**Etame-Loe et al, 2018**).

D'autre part, la projection d'extraits de plantes a montré que sont représentent une source potentielle de nouveaux molécules naturelles bioactives constituent le principal groupe des métabolites secondaires (acides phénoliques, flavonoïdes, tanins, coumarines, alcaloïdes, terpénoïdes...) (**Yakhlef et al, 2011**). Ces derniers ayant un rôle important dans la forme écologique des organismes qu'ils produisent. Ils sont varient considérablement dans la structure et l'activité biologique, certain ayant des applications pharmaceutique et agricole intéressantes (**Yan et al, 2018**). Ces vertus extraordinaires sont impliquées dans le secteur pharmaceutique sous forme des principes actif, des huiles ou des extraitsetc. (**kalla, 2012**).

L'Algérie est considérée parmi les pays connus pour leur diversité taxonomique vu sa position biogéographique privilégiée et son étendu entre la Méditerranée et l'Afrique sub-saharienne (**Pereira et al, 2003**). La flore Algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15 % endémiques, reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique. (**Touafek, 2010**)

Dans le cadre de notre travail relatif aux plantes médicinales et aromatiques, nous nous sommes intéressés à traiter une plante récoltée de la zone Nord-Ouest de l'Algérie.

L'espèce de *Mentha suaevolens* appartient au genre *Mentha* qui est l'un des éléments important de la famille lamiacée qui se trouve en Afrique du nord, Europe, Amérique et Japon. Cette plante à un large éventail de bénéfice : Actions analgésiques, antispasmodique, anti-inflammatoires et antimicrobienne. Il est également appliqué dans le traitement de grippe, maladie respiratoire, rhumatisme, maladie de la peau, nausée...etc. Afin de déterminer leurs propriétés biologiques (**Ed-Dra et al, 2018**).

Le présent travail réaliser au sein de laboratoire est centré sur les métabolites secondaires des plantes utilisables par l'homme dans le domaine pharmaceutique et agroalimentaire. Le but et d'extraire ces principes actifs afin de mise au point l'évaluation de leur activité antimicrobienne.

Chapitre I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Métabolites secondaires chez les plantes

1. Définition

Albrecht Kossel 1891 a été utilisé le terme «métabolite secondaire» pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes (**Poutrain, 2008**)

Ces métabolites secondaires sont des molécules organiques synthétisées à partir des métabolites primaires et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes mais ne produisent pas directement lors de la photosynthèse (**Lutge et al, 2002, Peeking et al, 1987**).

D'une façon générale, ils ne semblent pas primordiaux à la croissance végétale, mais peuvent être responsables à des fonctions périphérique indirectement essentielles à la vie des plantes, ils jouent un rôle important en lien avec son localisation au niveau de la plante et dans la plupart des interactions de la plante avec son environnement (**Fahselt, 1994 ; Stead et al, 1998 ; Vu, 2008**). Selon « Aharoni et Galili », les métabolites secondaires jouent un rôle clé dans le maintien des plantes forme physique car ils fonctionnent dans la protection des plantes contre infections microbiennes, herbivores, Rayonnement UV. (**Aharoni et Galili, 2001 ; Peeking et al, 1987**).

2. biosynthèse

La synthèse biologique des métabolites secondaires résulte généralement de trois voies biosynthétiques : la voie de shikimate, la voie de mivalonate et du pyruvate (**Verpoorte et Alfermann, 2000**) La diversité structurale des métabolites secondaires est due à des précurseurs issus de la glycolyse (pyruvate, phosphoénolpyruvate), de la voie des pentoses phosphate (glycéraldéhyde-3-P, Erythrose-4-P) et du métabolisme des lipides (glycéraldéhyde-3-P et acétyl-CoA) (**Mayer, 2004**).

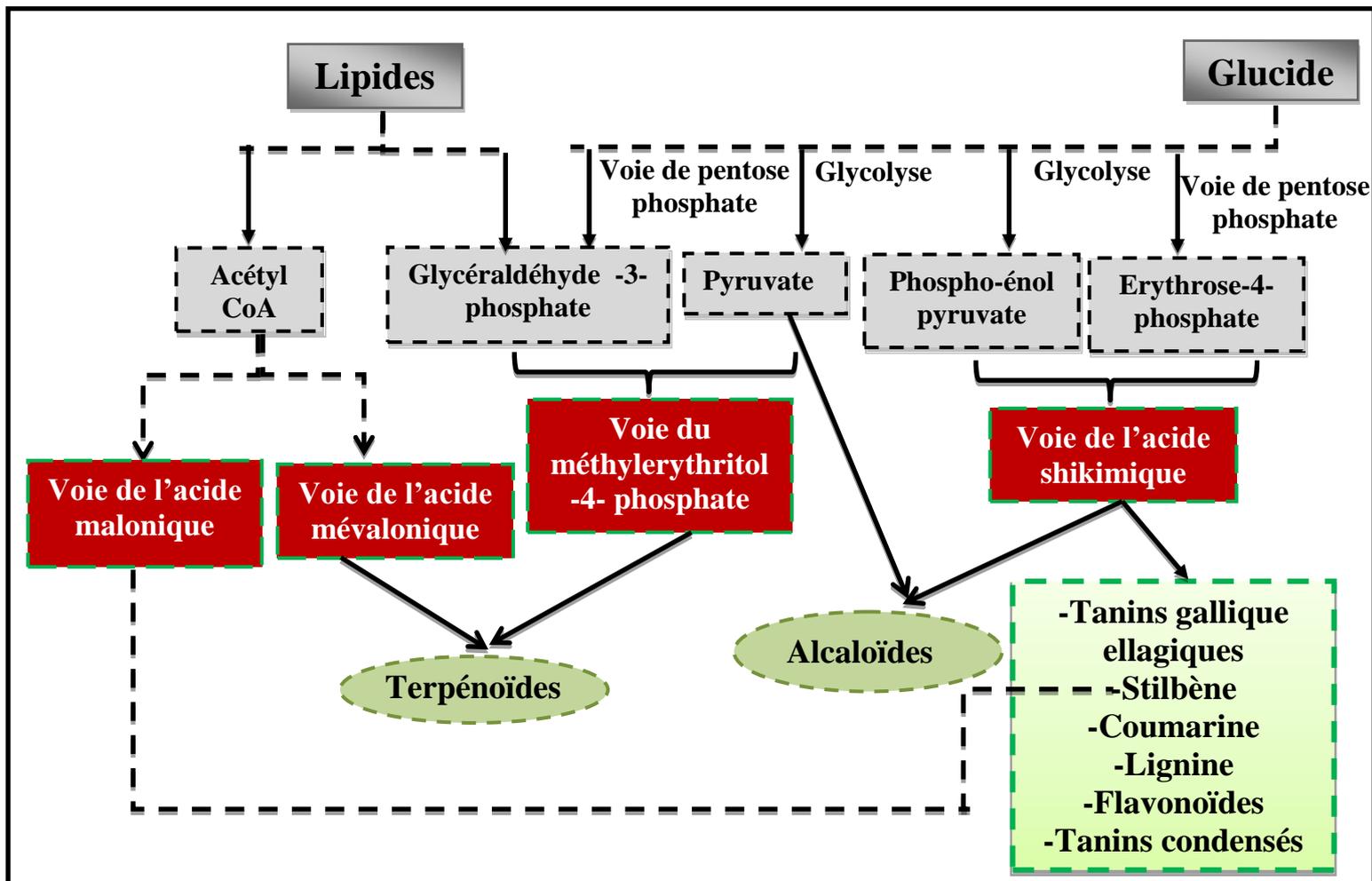


Figure 01: Origine biosynthétique des métabolites secondaires (Aref et Heded, 2005).

3. Classification

D'après la biosynthèse des métabolites secondaires, ces derniers peuvent être divisés en trois classes: Polyphénols; terpénoïdes et alcaloïdes (Hennebelle et al, 2004). Chacune de ces classes regroupe une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Krief, 2003).

3.1. Polyphénols

3.1. 1. Définition

Les polyphénols sont des phytomicronutriments appartient au métabolisme secondaire des végétaux (Gee et Johnson, 2001), ils sont localisés dans différentes parties : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois (Akroum, 2011)

La structure des composés phénoliques dépend de la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié à un ou plusieurs groupement d'hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc. (Bruneton, 1999 ; Lugasi et al., 2003). Majoritairement les composés phénoliques dérivent de l'acide cinnamique formé par la voie du shikimate, Ils sont solubles dans la solution de carbonate de sodium et sensibles à l'oxydation (Gorham, 1977).

Ces composés jouent un rôle essentiel dans la protection des plantes contre les rayons ultraviolets, les agents pathogènes et les herbivores. (Alvarez-Jubete et al, 2010 ; Vu, 2008).

3.1. 2. Classification

3.1. 2.1. Polyphénols monomériques

3.1. 2.1.a. Acides phénoliques

Les acides phénoliques (acides phénols) sont des petites molécules composées d'un noyau benzénique et d'un ou plusieurs groupes hydroxyle (Wichtl et Anton, 2009), elles ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols (Haslam, 1994). Ces acides peuvent être estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides (Wichtl et Anton, 2009).

Tandis que les fruits et légumes contiennent de nombreux acides phénoliques libres, dans les grains et les graines, les acides phénoliques sont souvent sous forme liée (Tsao, 2010).

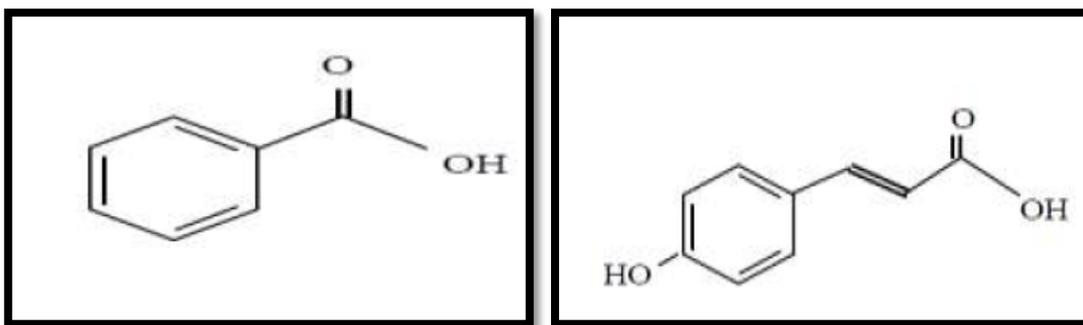
Ces acides sont solubles dans les solvants polaires, qui possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (Iserin et al, 2001 ; Wichtl et Anton, 2009). Ces composés polyphénoliques peuvent être divisés en deux types principaux, les dérivés de l'acide benzoïque C6-C1 et les dérivés d'acide cinnamique C6-C3 (Pandey et Rizvi, 2009).

✓ Acide phénols dérivés d'acide benzoïque :

Ils existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (Harrar., 2012). Les plus répandus sont: l'acide salicylique et l'acide gallique (Bruneton, 1999).

✓ Acide phénols dérivés d'acide cinnamique :

Ces acides sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféïque, l'acide férulique, l'acide pcoumarique et l'acide synaptique (Haslam, 1994).



Acide benzoïque

Acide cinnamique

Figure 02 : structure des acides phénolique (Bruneton, 2009)

3.1. 2.1.b. Flavonoïdes

Le flavonoïde dérivé du mot flavus qui signifié «jaune», sont des composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bouakaz, 2006), leurs présence chez les végétaux supérieurs comprend : racines, tiges, feuilles, fruits, graines, bois, pollens (Verhoeven et al, 2002). Ces composés sont responsables de coloration jaune, orange, et rouge de différents organes végétaux grâce à des pigments. (Ghedira, 2005).

Les flavonoïdes existent à la fois sous forme libre (aglycone) ou liée à des oses et autres substances (hétérosides) (Erlund, 2004 ; Heller et Forkmann, 1993).

Plus de 8 000 flavonoïdes contiennent une origine biosynthétique commune, tous ayant le même structure de base à 15 atomes de carbone qui fait de deux cycles phényles C₆ (A et B) reliés entre eux par un pont à trois atomes de carbone (structure C₆-C₃-C₆) pouvant évoluer en un hétérocycle (cycle C). Les atomes de carbone dans les cycles C et A sont numérotés de 2' à 8', et dans le cycle B de 2'' à 6'' (Bruneton, 1999; Heim et al, 2002 ; Pietta, 2000).

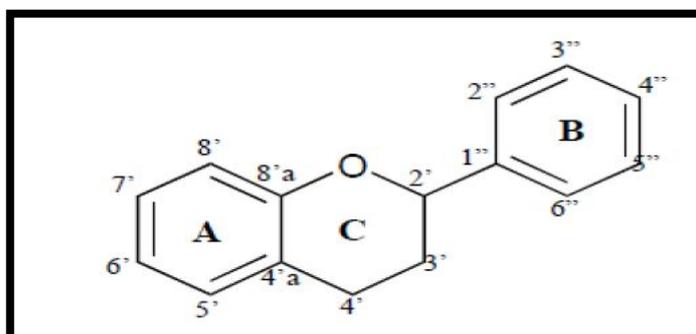


Figure 03: Structure de base des flavonoïdes (Collin et Crouzet, 2011).

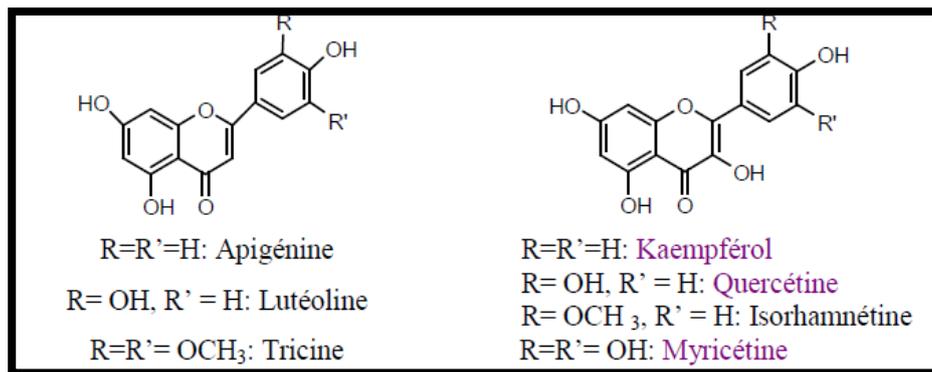


Figure 04: Structures chimiques des Flavones et des Flavonols (Nkhili, 2009).

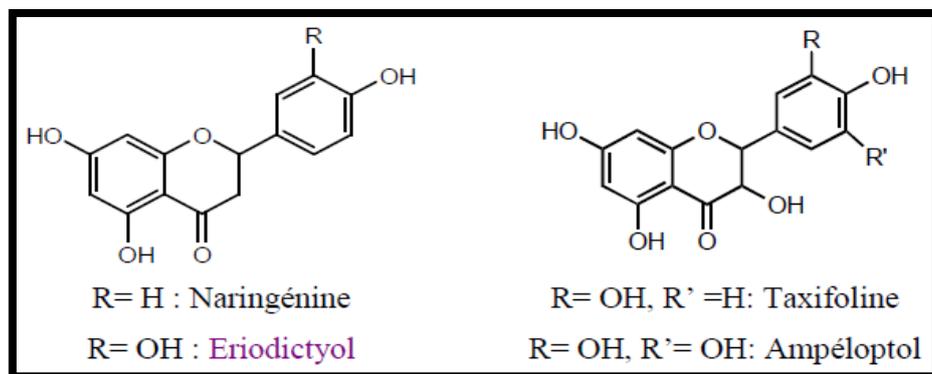


Figure 05: Structures chimiques des Flavanones et Flavanonols (Nkhili, 2009).

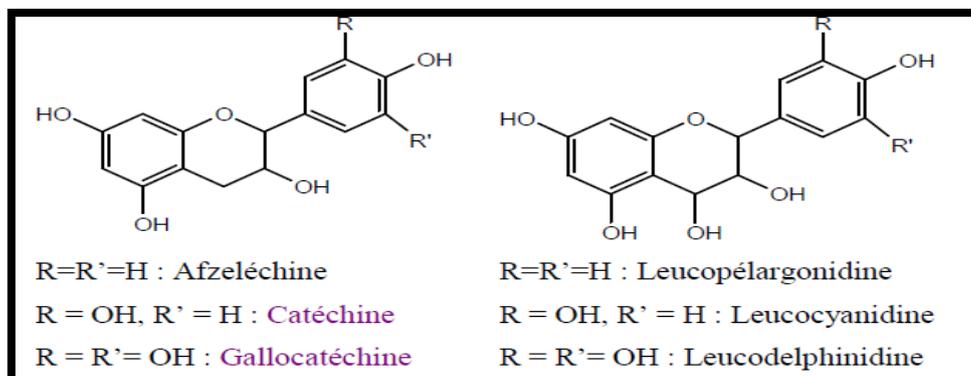


Figure 06: Structures chimiques des Flavan-3-ols et Flavan-3,4-diols (Nkhili, 2009).

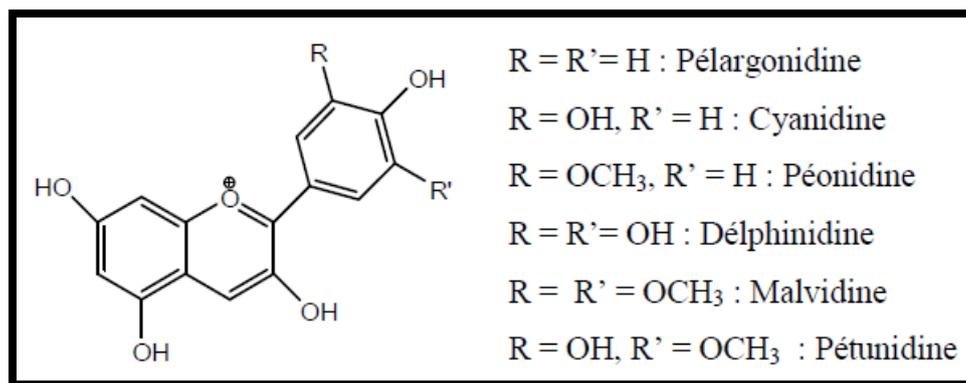


Figure 07: Structures chimiques des anthocyanes (Nkhili, 2009).

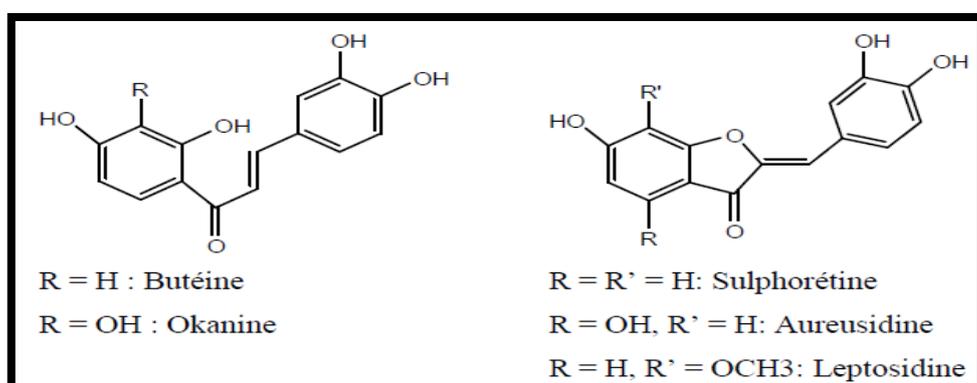


Figure 08: Structures chimiques des Chalcones et aurones (Nkhili, 2009).

3.1. 2.2. Polyphénols sous forme de polymères

3.1. 2.2.a. Tanins

Les tanins sont des polyphénols hydrosolubles d'un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (Bate-Smith, 1973), ayant la propriété de se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques pour former avec eux des complexes stables (Mangan, 1988).

Largement répandu dans le règne végétal, ils sont accumulés dans les tissus âgés mais plus particulièrement dans les fruits, les graines de céréales et diverses boissons (Pénicaud, 2009), leur localisation dans les vacuoles est combiné aux protéines et aux alcaloïdes (Roux et Catier, 2007). Ils sont divisés en trois groupes :

➤ **les tanins hydrolysables (THs)** : ont une forme simples « le penta-galloylglucose », qui est à l'origine de la plupart des formes complexes, présent chez les dicotylédones, ils libèrent une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique, soit d'acide ellagique (Machaiex, 2005).

Ces tannins sont facilement scindés en oses et en acide phénol par l'enzyme de tannases, selon la nature de celui-ci on distingue (Paris et Hurabielle, 1981):

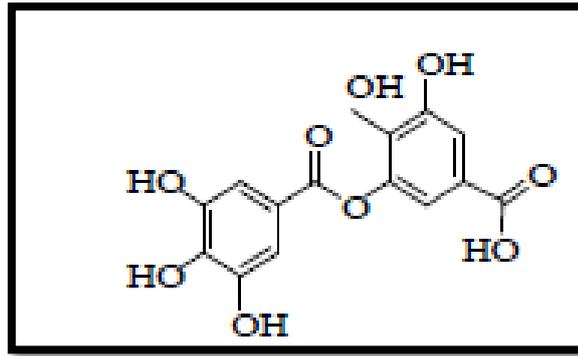
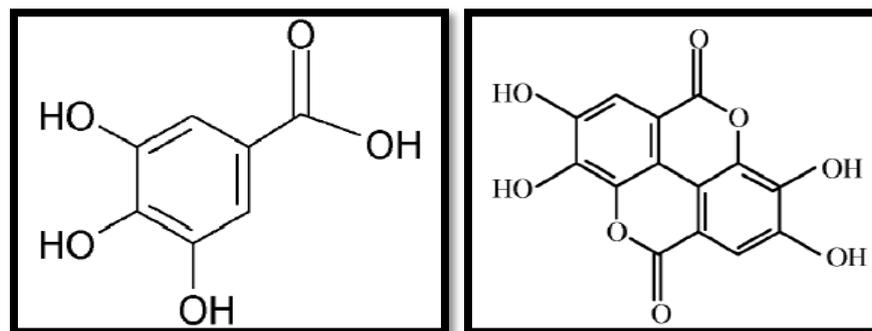


Figure 09: Structure de base de tanins hydrolysable (Hartzfeld et al, 2002)

-les **tannins galliques** : possèdent un acide gallique.

-les **tannins éllagiques** : ont un acide hexahydroxyphénique (Hagerman, 2002).



L'acide gallique

L'acide ellagique

Figure 10 : Structure d'acide gallique et ellagique (Dharmananda, 2003)

➤ **tannins condensée** : sont abondants dans certains organes végétaux utilisé par l'homme (Machaïex, 2005), formés du monomère flavan-3-ol ou du flavan-3,4-diol ;

➤ **tannins complexes ou catéchine-gallates**, qui partagent les propriétés des tanins hydrolysables et condensés (Bendjabeur, 2012).

3.1. 2.2.b. Lignines

Les lignines constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal (Donatien, 2009). Ces substances produites par le couplage combinatoire oxydatif des 4 hydroxyphénylpropanoïdes, les blocs de construction principaux de la lignine sont les alcools

hydroxycinnamyliques, l'alcool coniférylique et l'alcool sinapylique, avec des quantités typiquement mineures d'alcool p-coumarylique (**Ruben et al, 2010**).

La localisation des lignines est située dans les parois cellulaires et plus précisément dans les parois secondaires des éléments conducteurs. Elles sont insolubles dans l'eau et dans la plupart des solvants organiques. (**Hopkins, 2003**).

3.1. 2.2.c. Coumarines, Stilbènes

❖ Les coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », qui a isolées la première fois de Coumarounaodoratapar Vogel en 1820 (**Mekkiou, 2005**). Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines. (**Booth et al., 2004; Deina et al., 2003**).

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone (**Donatien, 2009**). Elles sont libre et solubles dans les alcools, les solvants organiques, les solvants chlorés ou liées à des sucres sont plus ou moins solubles dans l'eau (**Bruneton, 1999**).

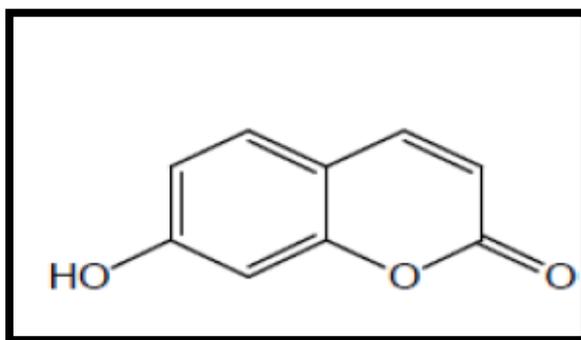


Figure 11: Squelette de base des coumarines (**Djemoui, 2012**).

❖ Stilbènes :

Le mot Stilbènes dérive du grec stilbos, signifiant « briller », un nom donné suite à l'observation d'une forte fluorescence bleue sous l'action de rayonnements ultraviolets (UV) (**Poutaraud et al, 2007**). Les Stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, dont la structure est C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, formant un système conjugué (**Crozier et al, 2006 ; Perret, 2001**).

Leur solubilité est négligeable dans l'eau et accrue dans la plupart des solvants organiques (Jean-Denis, 2005). Les sources principales des Stilbénes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (Crozier et al, 2006).

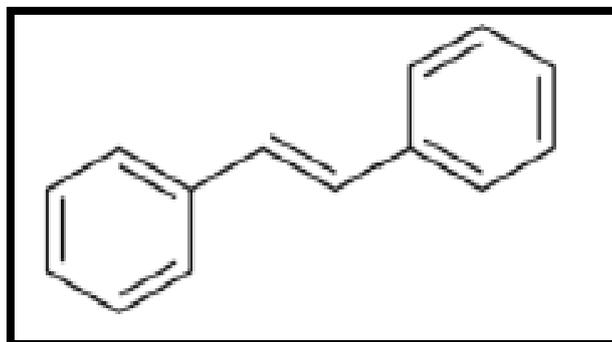


Figure 12 : Structure de Stilbène (Midoun, 2011)

3.2. Alcaloïdes

3.2. 1. Définition

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées d'origine biologique et le plus souvent végétale à caractère alcalin (Badiaga, 2011). Ils sont constitués de carbone, d'hydrogène, d'azote, et d'oxygène, quelques alcaloïdes peuvent comporter du soufre. (Kalla, 2012 ; Kirrmann et al 1975).

Ces substances existent sous forme combinées à des acides organiques ou à des tanins et sont rarement à l'état libre (Ziegler et Facchini, 2008). Ils sont localisés dans les pièces florales, les fruits ou les graines des plantes (Krief, 2003).

Dans les plantes, les alcaloïdes jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, et qui agissent sur le système nerveux central et le système nerveux autonome (Larkins et Wynn, 2004). Ils sont utilisés comme des médicaments relaxants musculaires, analgésique et tranquillisants, qui jouent aussi le rôle d'antibiotique comme la mytomycine (Hopkins, 2003; Larkins et Wynn, 2004).

3.2. 2. Classification

La classification des alcaloïdes dépend de leurs précurseurs biogénétiques communs et de la position de l'atome d'azote (Aniszewski, 2007) :

➤ **Les alcaloïdes vrais**

Représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes, ils dérivent de l'acide aminé partagent un cycle hétérocyclique avec l'azote, leurs présences dans les plantes, est sous forme libre, de sel, ou comme N-Oxyde (**Aniszewki, 2007 ; Badiaga, 2011**).

➤ **Les pseudo-alcaloïdes**

Sont des métabolites présentant les caractéristiques des vrais alcaloïdes, excepté leur origine biosynthétique, qui sont dérivés dans la majorité d'isoprenoïdes et du métabolisme de l'acétate ; mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (**Badiaga, 2011 ; Bruneton, 2009**).

➤ **Les proto-alcaloïdes**

Les amines biologiques sont considérés comme des amines simples dont le système hétérocyclique ne contient pas de l'azote, et ils sont solubles dans l'eau (**Bruneton 1999 ; Bruneton 2009 ; Maldonado 2012**).

3.2. 3. Propriétés physicochimiques.

Les alcaloïdes ont une masse moléculaire variable allant de 100 à 900 Da. La plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ambiante, tandis que les molécules contenant de l'oxygène sont des solides cristallins. Ces derniers dévient la lumière polarisée avec des points de fusion clairs, sans décomposition, notamment inférieurs à 200 °C (**Bruneton, 2009**).

Généralement, les alcaloïdes bases sont insolubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques apolaires et les alcools. La basicité de ces substances permet de former des sels avec des acides minéraux ou organiques (**Bruneton, 1999**).

3.3. Terpénoïdes

3.3. 1. Définition

Les composés terpénoïdes constituent un groupe important de métabolites secondaires, environ 15 000 molécules différentes et de nature lipophile en général (**Wichtl et Anton, 2009**), sont des hydrocarbures naturels à structure cyclique ou à chaîne ouverte (**Hellal, 2011**).

Les terpènes sont les principaux composants des huiles essentielles, leurs formule brute est $(C_5H_8)_n$. Ils résultent de la condensation de deux ou plusieurs unités isopréniques (2méthylbuta-1,3-diène) (**Allinger, 1975**). Ces substances constituent une importante classe de produits secondaires, hydrophobes quelquefois volatils et unis par une origine commune (**Seaman, 1982**).

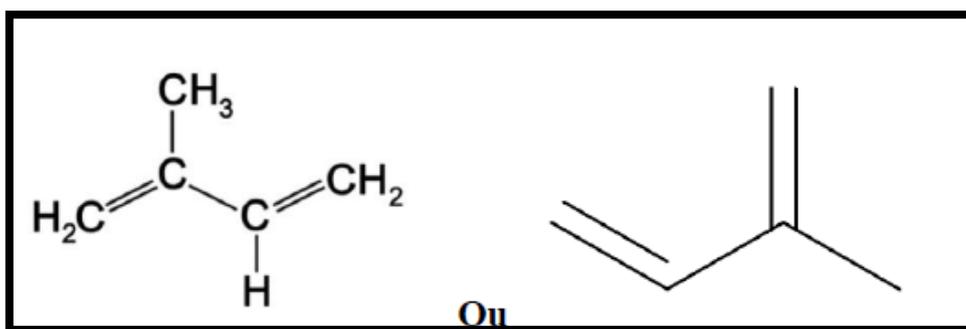


Figure 13: Structure de base de l'isoprène (Khenaka, 2011)

3.3. 2. Classification

Selon le nombre d'unités C_5 , les terpénoïdes sont classées en : Hémiterpènes (C_5), Monoterpènes (C_{10}), Sesquiterpènes (C_{15}), Diterpènes (C_{20}), Sesterpènes (C_{25}), Triterpènes (C_{30}), Tétraterpènes (C_{40}) et Polyterpènes (Ashour et al, 2010).

3.3. 2. 1. Monoterpènes

Les monoterpènes représentent les plus simples constituants des terpènes dont sont rencontrée dans les huiles essentielles (Ayad, 2008), leur formule chimique brute est $C_{10}H_{16}$ (Rahal, 2004). Ces composées sont volatils entrainables à la vapeur d'eau avec une odeur agréable (Bruneton, 1999).

Les monoterpènes connus sont diffères selon trois catégories structurales : les monoterpènes linéaires (acycliques), les monoterpènes avec un cycle unique (monocycliques) et ceux avec deux cycles (bicycliques) et tricyclique (Malecky, 2005).

3.3.2.2. Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont des composés contenant 15 atomes de carbones constituées de trois unités isoprènes et comme formule moléculaire $C_{15}H_{24}$ (Harkati, 2011). Ils sont présent soit sous forme d'hydrocarbures comme le β -Cadinène ; soit sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme : les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (Belbache, 2003).

Les sesquiterpènes et les monoterpènes sont souvent en mélange dans les huiles essentielles des plantes (Ayad, 2008). Ils peuvent être acycliques, monocyclique, bicycliques, tricyclique ou polycyclique (Malecky, 2005).

3.3. 2.3. Diterpènes

Très répandus chez les végétaux supérieurs qui formés à partir de quatre unités d'isoprène et sont des substances avec 20 atomes de carbone (C₂₀) ils se forment à partir de leur précurseur, le géranyl-géranyl- pyrophosphate (GGPP) (**Hernandez-ochoa, 2005 ; Malecky, 2005**), On peut les trouver encore dans les résines, les exsudats, les gommes naturelles et les gibbérellines (**Ayad, 2008**).

3.3. 2. 4. Triterpénoïdes et stéroïdes

Les triterpènes sont des molécules à 30 atomes de carbone. il y a plus de 1700 triterpènes dans la nature dont la plus part est sous forme tétracyclique ou pentacyclique, mais la forme acyclique très rare (**Malecky, 2005**). La majorité des triterpènes sont à l'état libre sous forme estérifiée ou hétérosidique, et ces terpènes sont des composants principaux des résines (**Loomis et Croteau, 1980 ; Mouffok, 2011**).

Les stéroïdes ne sont pas des terpènes mais des composés de biodégradation de triterpènes, on peut dire aussi sont des triterpènes tétracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique (**Bruneton, 1993 ; Hopkins, 2003**).

Chez toutes les végétaux, ces composés liées avec un groupement alcool qu'ils nommés les stérols; prenant une forme plane, glycosylée, analogues du cholestérol (**Hopkins, 2003**). Les stérols, très répandus dans le monde vivant, se rencontrent chez les bactéries, les champignons, les plantes supérieures, les protozoaires, les métazoaires (Spongiaires, madrépores, vers, mollusques...) que chez les algues (**Benaïssa, 2011**).

3.3. 2.5. Tétraterpènes

Ils contiennent une longue chaîne de 40 atomes de carbones, (**Ayad, 2008**). Les mieux connus dans ces substances sont les caroténoïdes qui sont identifiés environ 750 dans la nature, et représentant un large groupe de pigments naturels de couleurs jaune, orange et rouge (**Ayad, 2008**).

Ces caroténoïdes possèdent un chromophore caractéristique qui expliquent leur couleur jaune-orangée et la sensibilité à l'oxydation. Pour cela, ils sont employés en industrie agro-alimentaire principalement pour leur pouvoir colorant (**Krief, 2003**).

Ils sont majoritairement dans les plantes, les algues, et différents microorganismes (**Ayad, 2008**).

4. Fonction et propriété des métabolites secondaires

Les plantes produisent une vaste gamme de métabolites secondaires très diversifiées, en tant qu'elles sont représentées une source non négligeable de nouveaux médicaments (**Maghrani et al, 2005**). Ces produits naturels ont été historiquement reçus peu d'attention de la plupart des biologistes végétaux, par contre les chimistes organiques ont été intéressés par ces nouveaux composés et ont étudié leurs propriétés chimiques.

En générale, ces substances participent à la régulation des systèmes écologiques (**Vu, 2008**), dont l'intérêt a été incité par leur grande utilité comme colorants, polymères, fibres, colles, huiles, cires, aromatisants, parfums, et les médicaments. Aussi leurs propriétés biologiques ont alimentées l'attention actuelle de différents domaines, à savoir, la recherche de nouveaux médicaments, d'antibiotiques, d'insecticides et d'herbicides (**Croteau et al, 2000**).

L'importance des métabolites secondaires sa diffère d'une classe à une autre :

- Les composés phénoliques jouent un rôle primordial dans la physiologie de la plante et leur interaction avec l'environnement biologique et physique (bactéries, champignons, UV). En plus de leurs propriétés antioxydantes qui est responsables de la protection de l'être humain vis-à-vis de certaines maladies (**Macheix, 2005**).

- La haute pureté des alcaloïdes joue un rôle important dans le secteur pharmacologique telle que : Antalgiques, Spasmolytiques, Vasodilatateurs (**Paris et Hurabielle, 1986 ; Rakotonanahary ; 2012**). En plus des activités biologiques des alcaloïdes, certains sont toxiques par exemple la nicotine qui est considéré comme le premier insecticide. (**Hopkins, 2003**).

- La majorité des terpénoïdes contribue à l'adaptation des espèces végétales à leur niche écologique (**Harbone, 1991**). Ces métabolites secondaires sont présumés avoir des fonctions spécialisées associées à la défense directe envers les bactéries, les champignons ou les herbivores comme des toxines, des antibiotiques ou des répulsifs (**Bohlmann et Keeling, 2008**).

Chapitre II : Présentation de la plante étudiée

1. Famille Lamiacée

1.1. Définition

Les plantes de la famille des Labiées (Lamiacée) ont été utilisées depuis très longtemps (**Debuigue, 1972**). Sont des principales familles de plantes dicotylédones, qui regroupe environ 258 genres et 6900 espèces, plus ou moins cosmopolites (**Botineau, 2010**).

D'après **Quezel et Santa (1963)** la famille des Lamiacées occupe une importance dans la flore algérienne, mais en raison de la variabilité extrême des espèces, certains genres ont une détermination délicate. En outre, c'est une famille de grande importance pour l'utilisation dans l'industrie alimentaire, la parfumerie, le traitement, et une source globale d'épices et d'extraits avec des propriétés antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires et anti-oxydantes. (**Bouhdid et al 2006, Hilan et al 2006**).

1.2. Description

Les Lamiacées sont des herbacées, parfois sous-arbrisseaux ou ligneuses (**Botineau, 2010**) ; annuelles ou pluriannuelles, odorante avec des tiges quadrangulaires et des feuilles opposées, rarement verticillées ou alternées, simples à pennées ou composées et sans stipules (**Lihsi et Hedge, 1994**).

Le plus souvent hermaphrodites à fleurs pentamères (**Meyer et al, 2004**). Le calice est synsépale ou gamosépale généralement pentamère, parfois bilabiée et porte 5 à 15 nervures protubérantes. La corolle est sympétale ou gamopétale, habituellement bilabiée avec deux lobes formant une lèvre supérieure, et trois lobes formant la lèvre inférieure. L'androcée se compose de quatre étamines didynames ou de deux étamines soudées soit au tube de la corolle soit à la zone périgyne et alternant avec les lobes (**Hennebelle, 2006 ; Quezel et Santa, 1962**).

L'ovaire contient 2 carpelles divisés en deux parties. Cela se termine par un stigmate divisé en deux parties. Le fruit est un tétrakène séparé à maturité en 4 méricarpes indéhiscents contenant chacun une graine sans albumine (**Moreau, 1960**).

1.3. Répartition

La famille des Lamiacées (Labiatae) est une famille botanique très large. Les espèces de la famille habitent différents écosystèmes naturels et de nombreux membres de la famille sont cultivés (**Duarte et Lopez, 2007 ; Lawrence 1992**). Elles sont considérées comme étant les plus évoluées parmi toutes les plantes dicotylédones (**Gurchan, 2004**).

La distribution géographique des lamiacées est cosmopolite, sont existées dans tous les climats et sur toutes les altitudes (Judd et al, 2002). Rare dans le milieu forestier tropical (Bruneton, 2001).

Les lamiacées sont des plantes méditerranéennes (Carrubba et al, 2006). La plus grande diversité se trouve dans cet arrangement : le bassin méditerranéen, l'Asie centrale, le continent Américain, les Iles du pacifique, l'Afrique équatoriale et la Chine (Ramamoorthy et al, 1993).

1.4. Sous-familles

Cette famille des Lamiacées est divisée en 7 sous-familles: Ajugoideae, lamioideae, nepetoideae, Prostantheroideae, Scutellarioideae, symphorematoideae et viticoideae (Caillaud, 2013).

2. *Mentha suaveolens*

2.1. Position systématique

Embranchement : Spermaphytes

Sous Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous Classe : Gamopétales

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

Genre : *Mentha*



Espèce: *Mentha suaveolens* (Iserin et al, 1997).

2.2. Répartition géographique

Mentha suaevolens est d'origine euro-méditerranéenne se rencontre en Europe du Sud et de l'Ouest, s'étendant vers le nord aux Pays-Bas, cultivée en pot-herbe et naturalisée dans les régions du nord et du centre de l'Europe. On le trouve généralement le long des ruisseaux, des tourbières et des endroits humides. Cette espèce se trouve, en Afrique du Nord, en Asie du Sud-ouest, en Macaronésie, manquant donc au sud-est de la Méditerranée (Kavak, 2014).

2.3. Description botanique

Mentha suaveolens, menthe de pomme, menthe laineuse ou la menthe à feuilles rondes, cette espèce a été connue sous le nom de *M. rotundifolia* (L.) Huds. C'est une plante vivace herbacée et éternelle avec une odeur caractéristique qui élève jusqu'à 100 cm de hauteur, la tige est quadrangulaire, dressées, et rameuses au sommet, à rameaux courts, étalés. Les feuilles sont épaisses arrondies, vertes, blanches, opposées, froissées, sessiles ou très courtes, 3 à 4,5 cm long et à 2 à 4 cm larges. La floraison s'étale de juillet à septembre d'une couleur blanchâtre ou rose, disposés eux-mêmes en épis terminaux allongés, cylindriques. *Mentha suaveolens* L. présente la diversité morphologique la plus faible de toutes les espèces de la section *Mentha* (Božović et al 2015 ; Harley et Brighton, 1977 ; Sylvain, 2010).

Chapitre II : MATERIELS ET METHODES

Notre travail a été effectué au laboratoire pédagogique du Département de Science de la Nature et de la Vie - Centre Universitaire Belhadj Bouchaïbe - Ain Témouchent pendant une durée de 3 mois (18 février –18 mai 2018).

Les travaux pratiques de notre étude ont pour but de tester *in vitro* l'effet antimicrobienne de l'extrait de la partie aérienne de *Mentha Suaveolens*. Pour cela, les expériences sont réalisées comme suite:

- 1- Préparation des extraits à partir de la partie aérienne de la plante.
- 2- Etude *in vitro* de l'effet antimicrobienne des extraits préparés sur des souches microbiennes.

Chapitre I : Préparation des extraits

1. Matériels

1.1. Matériel végétale

Notre étude est portée sur une espèce de plante de la famille des lamiacées (labiées) de l'ouest algérienne qui est *M. suaveolens*. La récolte de la partie aérienne de cette plante a été faite pendant le 21 février 2018 dans la région de Sidi-Safi wilaya d'Ain Témouchent.



Figure 14 : La plante *Mentha suaveolens*.

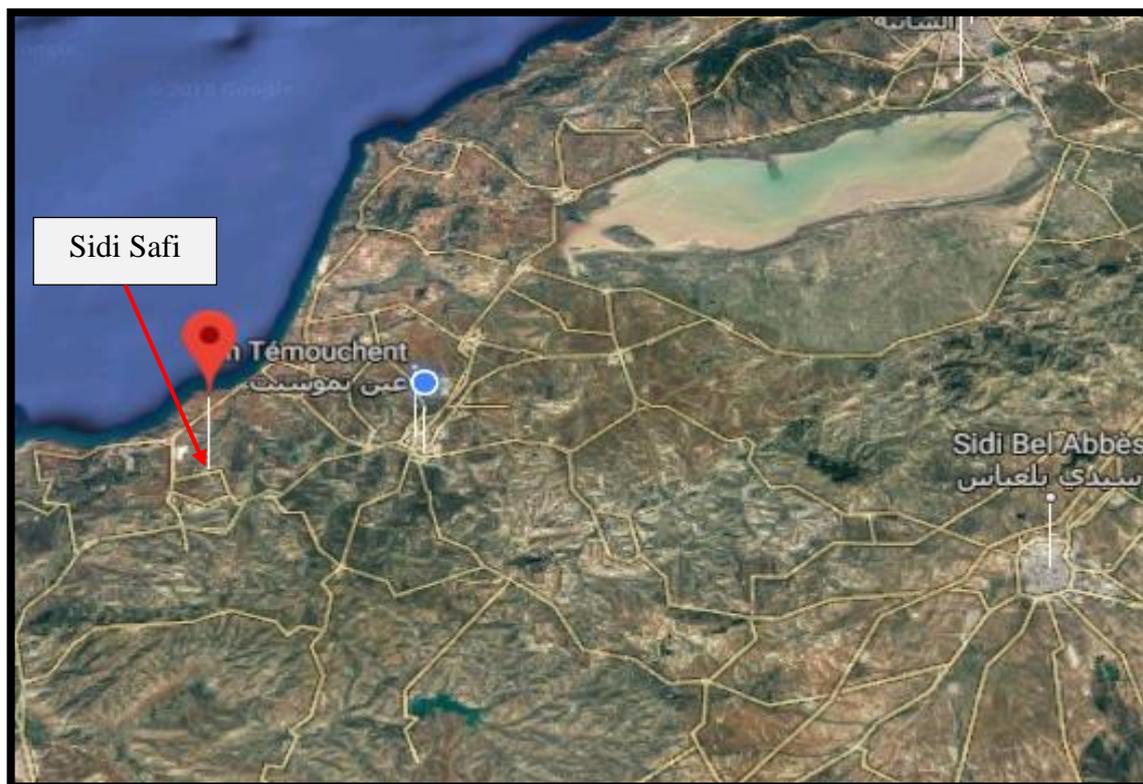


Figure 15 : Région de la récolte

1.2. Produits chimiques

- Ether de pétrole.
- Ethanol.
- Dichlorométhane.
- Eau distillé.
- Méthanol.
- Hexane.

1.3. Appareillage

- Agitateur.
- Rota-vapeur.
- Plaque chauffante.
- Etuve.
- Autoclave.
- Réfrigérateur.
- Hotte chimique.

2. Méthodes

2.1. Séchage de la plante

Le matériel végétal *M. Suaveolens* (partie aérienne) a été séché dans une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire pendant une période de 10 jours, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules. Après séchage, les échantillons sont récupérés dans des sacs en plastique.



Figure 16 : Parties aériennes sèche de « *M. suaveolens* »

Une certaine quantité de la plante fraîche est récupéré avant le séchage pour la mesure du taux d'humidité.

2.2. Détermination de la matière sèche et de l'humidité

La matière sèche a été déterminée selon la norme NFB51-004 (Bois, 2004) une quantité de la matière végétale (E) introduite dans un creuset taré, puis séché dans une étuve à 40 °C/ 48h jusqu'à poids constant, et après refroidissement le creuset est pesé pour déterminer la matière sèche.

Le taux de matière sèche est :

$$MS(\%) = S/E \times 100$$

S : Masse du creuset taré après dessiccation

E : Masse de la matière végétale

Le pourcentage l'humidité est calculé à partir du pourcentage de la matière sèche.

$$H(\%) = 100\% - MS\%$$

2.3. Préparation des extraits

Les extraits utilisés au cours de notre étude sont préparés selon le mode d'extraction en macération.

Les échantillons séchés de *M. suaveolens* sont broyés à l'aide d'un moulin à café électrique jusqu'à leur réduction en poudre. Après broyage, les extraits préparés sont : l'extrait organique (Ether de pétrole, Ethanol, Dichlorométhane) ; extrait aqueux et extrait d'huile totale.



Figure 17 : Broyage de la plante « *M. suaveolens* » sèche

2.3.1. Extraction par les solvants organiques à polarité croissante

Suivant le protocole d'extraction décrit par (Biallo et al, 2004 ; Falleh et al, 2008), une prise d'essai de 40g de poudre de matériel végétal a été mise à macérer dans 200 ml de solvant absolu sous agitation magnétique durant 24h à une température ambiante. Les solvants à polarité croissante utilisés dans l'extraction sont : éther de pétrole (EP), éthanol (EtOH), dichlorométhane (DCM). Les macérats ont ensuite été filtré et évaporé à sec sous pression au Rotavapor et séché à poids constant.

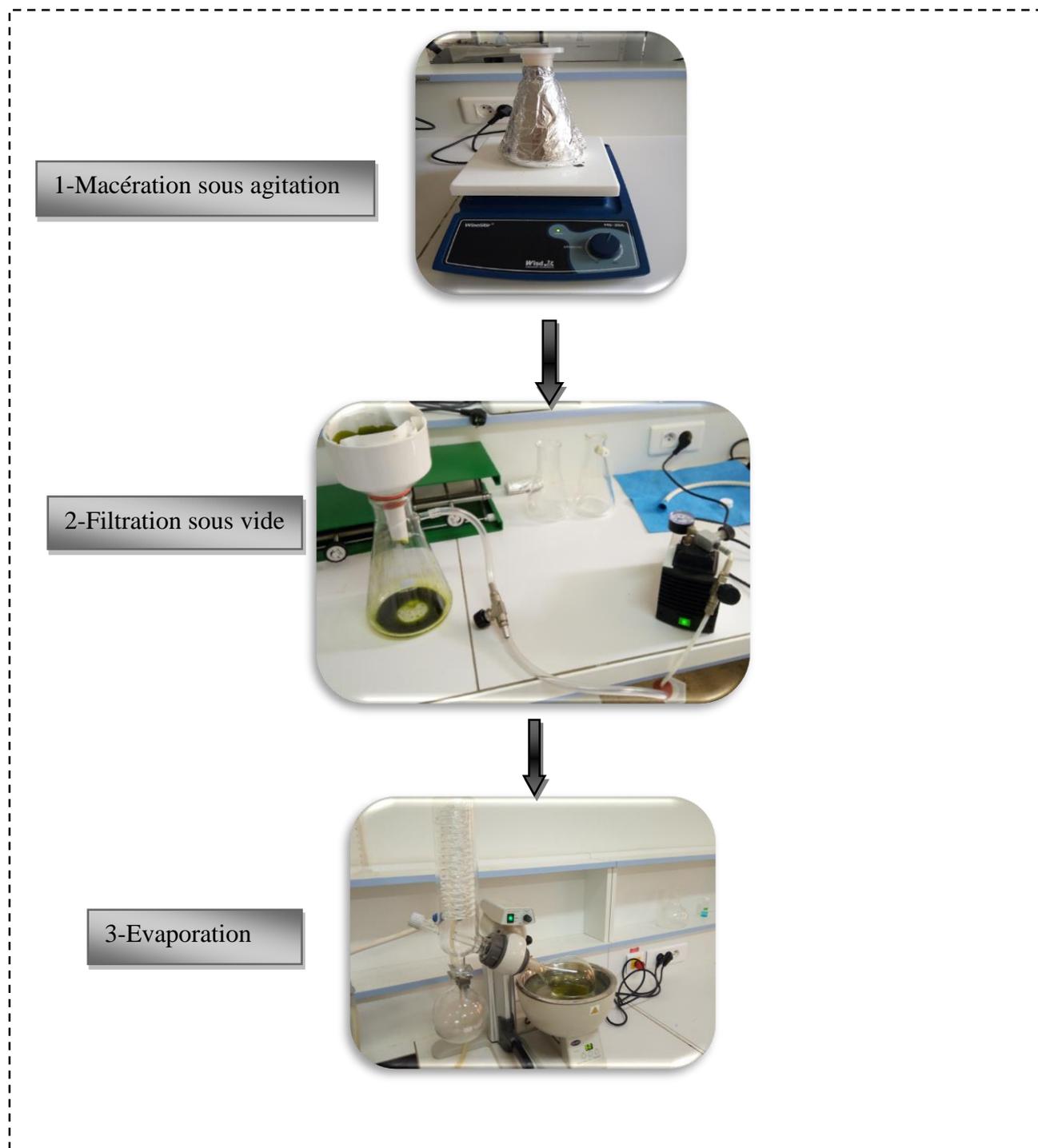
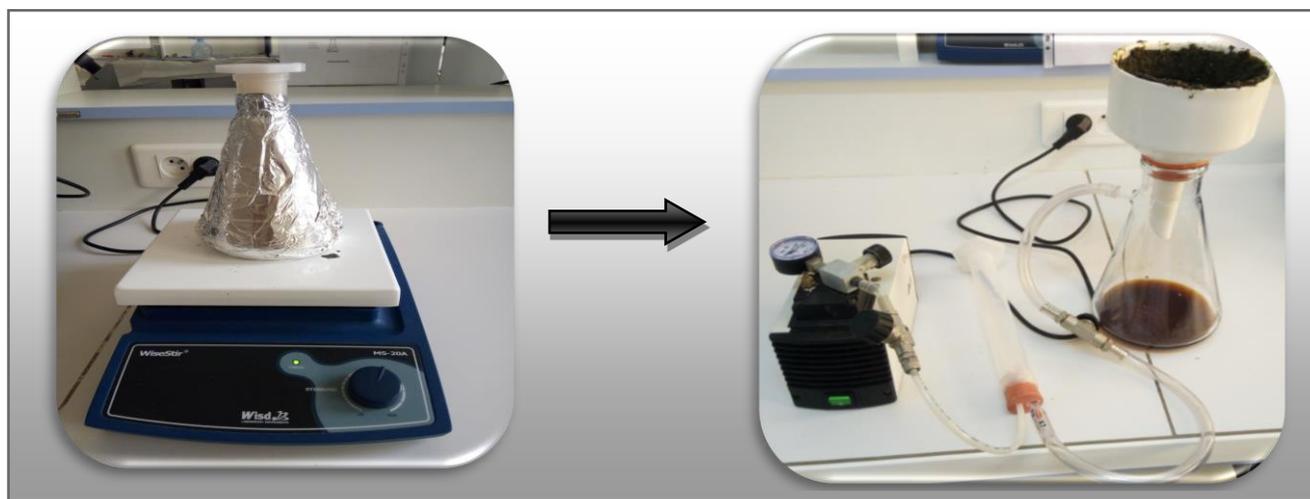


Figure 18 : Extraction par les solvants organiques à polarité croissante

1.3.2. Extraction aqueuse

50 g de poudre du matériel végétale a été portés à reflux dans 500 ml d'eau distillée et mis à macérer à température ambiante pendant 24h sous agitation, puis filtrés. Ce filtrat a ensuite été séché à 50 °C jusqu'à l'obtention du poids constant (Falleh et al, 2008 ; Moroh et al, 2008).

**Figure 19** : Extraction aqueuse

1.3.3. Extraction d'huile totale

L'extrait méthanolique a été préparé puis filtré après une macération pendant 24h sous agitation. Le filtrat est mélangé dans une ampoule à décompter avec 50 ml de l'hexane. Après agitation deux phases ont été obtenues, une phase aqueuse plus dense qui apparaît au-dessous et une phase organique, contenant les lipides.

La phase organique supérieur a été récupérée, cette étape a été répétée trois fois avec renouvellement du solvant. L'hexane a été par la suite évaporé. L'extrait résultant est considéré comme huile totale (HT) de *M. suaveolens*.

**Figure 20** : Extraction de l'huile totale

La série d'extraction permet d'obtenir cinq extraits: un extrait aqueux (AQ), trois extraits organique : extrait éther de pétrole (EP), extrait dichlorométhane (DCM), extrait éthanolique (EtOH) et l'huile totale (HT). Les extraits secs sont conservés à l'obscurité jusqu'à utilisation.



Figure 21 : Les cinq extraits de *M. suaveolens*

1.4. Détermination du rendement

Le rendement est la quantité d'extraction obtenue à partir d'une matière végétale, la détermination de cette quantité est exprimé en % par rapport à la matière sèche initialement utilisée (Bssaibis et al, 2009).

$$R (\% \text{ MS}) = M_1 \times 10^4 / [M_0 (100 - H\%)]$$

R (% MS) : Rendement en extraits en g/100 de matière sèche

M₁ : Quantité d'extrait récupérée en g

M₀ : Quantité utilisée pour l'extraction exprimée en g

Ms : Matière sèche (MS=100-H%) H : humidité

Chapitre II : Etude de l'activité antimicrobienne

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

a. Souches microbiennes pathogènes

L'activité antimicrobienne des extraits de *M. Suaveolens* sera testée sur des souches de collection internationale ATCC qui ont toutes été fournis par le laboratoire de microbiologie du Centre Universitaire d'Ain Témouchent.

Les germes qui ont été testés sont les suivants :

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- *Escherichia coli* ATCC 25922.
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.
- *Candida albicans* ATCC 10231

b. Les extraits

Les extraits testés sont les suivants : EEP, EEtOH, EDCM, EAQ, EHT.

1.2. Milieu de culture

- Milieu de culture liquide
Bouillon Muller-Hinton (BMH)
Bouillon Saboureau (BS)
- Milieu de culture solide
Gélose Mueller Hinton (MH)
Gélose PDA

1.3. Réactifs chimiques et autres matériel

Antibiotiques : (Gentamycine « **GEN** », Erythromycine « **E** », Ampicilline « **AMP** », Céfotaxime « **CTX** », Tétracycline « **TE** »).

2. Méthodes

2.1. Conservation des souches étudiées

Les souches référentielles sont conservées à 4 °C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné gélose de M-H pour les bactéries et PDA pour la souche fongique (levure)

2.2. Ensemencement des souches conservées

Dans un endroit stérile et à partir de la souche conservée, un ensemencement a été faite sur des boites pétri contenant de la gélose de M-H pour les bactéries et PDA pour la souche fongiques (levure), puis incubation de 24h à 37°C.

2.3. Préparation des suspensions microbiennes

2.3.1. Préparation des suspensions bactériennes

Des colonies bien isolées des cultures pures ont été repiquées dans le BMH (Bouillon Muller-Hinton) puis incubées à 37 °C pendant 18h, pour conserver le maintien de la culture et favoriser leur croissance bactérienne.

2.3.2. Préparation des suspensions fongiques

La levure a été revivifiée dans le BS (Bouillon Sabouraud) à 30 °C pendant 48h, pour conserver le maintien de la culture et favoriser leur croissance.

2.3.3. Ajustements de la charge microbienne

La densité optique (DO) est ajustée à l'aide d'un spectrophotomètre (**JENWAY 6715 UV/Vis. Spectrophotomètre**) dans une longueur d'onde de 625 nm avec un intervalle compris entre [0.08- 0.1] l'équivalent de 10^8 UFC/ml pour les bactéries, et dans une longueur d'onde de 530 nm avec un intervalle compris entre [0.12 - 0.15] l'équivalent de 1 à 5×10^6 UFC/ml pour *Candida albicans* (**Penssini et al, 2003 ; NCCLS, 2001**)

Après 18h, La lecture de la DO pour chaque souche.



Figure 22 : Suspensions microbiennes

2.4. Méthodes d'étude de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux

L'évaluation de l'effet antimicrobienne de différents extraits de *M. suaveolens* comprend deux méthodes différentes :

- L'aromatogramme « méthode de diffusion sur disque » (**Essawi et Srour, 2000**) a pour but de mettre en évidence l'activité antimicrobienne des différents extraits ;
- Essais de sensibilité à la dilution par les micro-dilutions (**Billerbeck et al. 2002**) afin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) couplée à l'étalement sur milieu solide pour la détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) des différents extraits de la plante étudiées

2.4.1. Souches microbiennes

Pour tester l'activité antimicrobienne des extraits de *M. suaveolens*, quatre souches bactériennes et une souche fongique ont été utilisées :

Tableau 01 : Souches bactériennes

Famille	Genre et Espèce	Code de la souche	Caractéristiques	Provenance
Pseudomonadacées	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Bacille pyocyanique gram négatif. C'est un micro-organisme aérobic considéré comme un agent pathogène opportuniste, capable de se développer dans les milieux pauvres. (Henri, 2002 ; Ochoa et al, 2013) les infections dues à <i>P.aeruginosa</i> sont difficiles à éradiquer en raison de leur résistance intrinsèque élevée ainsi que de leur capacité à acquérir une résistance à différents antibiotiques. (Ochoa et al, 2013)	
			Bacille gram négatif assez typique, mesurant 1 µm de long par 0,35µm de largeur. C'est un aérobic facultatif le plus courant dans l'intestin inférieur des mammifères peuvent être pathogènes en	

Enterobacteriacées	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	provoquant de graves maladies : les entérohémorragies et les péritonites. (Zachary, 2015.)
Staphylococcacées	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300	<p><i>S. aureus</i> ou staphylocoque doré est une Cocci gram positive.</p> <p>Il mesure de 0,5 à 1 µm de diamètre, ne sporule pas, est immobile, aéro-anaérobie facultatif, possède un coagulase-positif. Est un agent pathogène majeur responsable de diverses infections apparus dans la communauté et à l'hôpital. Elle provoque des infections osseuses, des pneumonies, des bactériémies, des endocardites et des infections articulaires (Anses, 2011 ; Robert, 2013).</p>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	

Tableau 02 : Souches fongiques :

Famille	Genre et Espèce	Code de la souche	Caractéristiques	Provenance
Saccharomycetaceae	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	<p><i>C. albicans</i> est le champignon opportuniste le plus fréquemment isolé de l'homme (Méar et al. 2013).</p> <p>Elle provoque des infections fongiques (candidose) essentiellement au niveau des muqueuses digestive et gynécologique (Gloria et al. 1998). Les candidoses sont une cause importante de mortalité chez les patients immunodéprimés (Yakhlef, 2010).</p>	

2.4.2. Préparation des concentrations des extraits

Une série des concentrations (S_0 ; 1/2, 1/4, 1/32) a été préparée pour chaque extrait dans des tubes stériles en utilisant le diluant DMSO. Le tableau suivant résume le protocole de préparation des différentes concentrations :

Concentration	Solution mère (S_0)	1/2	1/4	1/32
DMSO	5000 μ l	1000 μ l	1500 μ l	1937.5 μ l
Extraits	0.25g	1000 μ l (S_0)	500 μ l (S_0)	62.5 μ l(S_0)

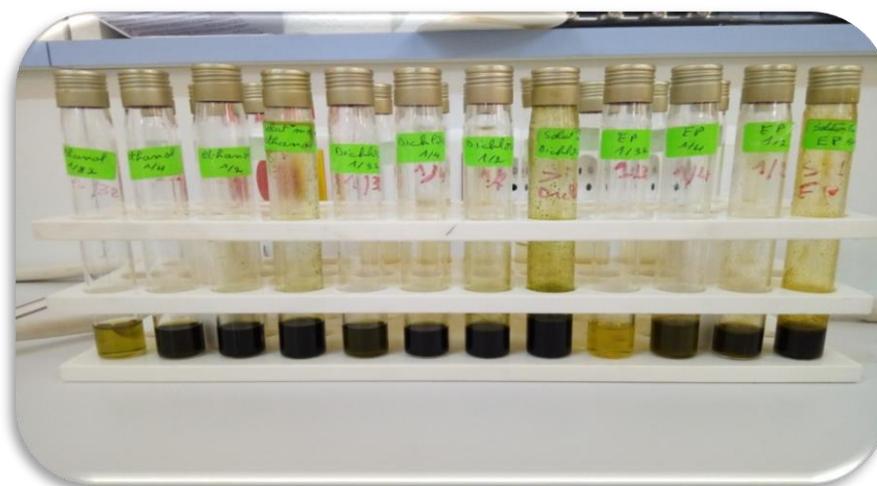


Figure 23 : Préparation des concentrations des extraits

2.4.3 Méthode de diffusion sur disque (Aromatogramme)

La méthode des aromatogrammes est la technique choisie pour déterminer l'activité antimicrobienne des extraits de la plante, cette méthode est décrite par Jacob et Tonei, 1979. Elle consiste à utiliser des disques de papier stérile de 6 mm imprégnés dans les différentes concentrations des extraits.

Les disques sont stérilisés puis imbibés de 20 μ l d'extraits à tester et un disque imbibé de DMSO est utilisé comme un témoin. .

Par ailleurs, l'agar Muller-Hinton (MH) stérile a été coulé dans des boîtes de pétri stériles jusqu'à la solidification du milieu, ensuite les boîtes sontensemencées par écouvillonnage à l'aide d'un écouvillon stérile en tournant la boîte d'environ 60°, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des souches.

A l'aide d'une pince stérile, les disques imprégnés sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable, quatre disques sont déposés dans chaque boîte. Ensuite elles sont fermées et laissées à une température ambiante pendant 20 min,

L'activité antimicrobienne est déterminée après l'incubation des boîtes dans une étuve à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries et 48h à 30°C pour *C. albicans*.

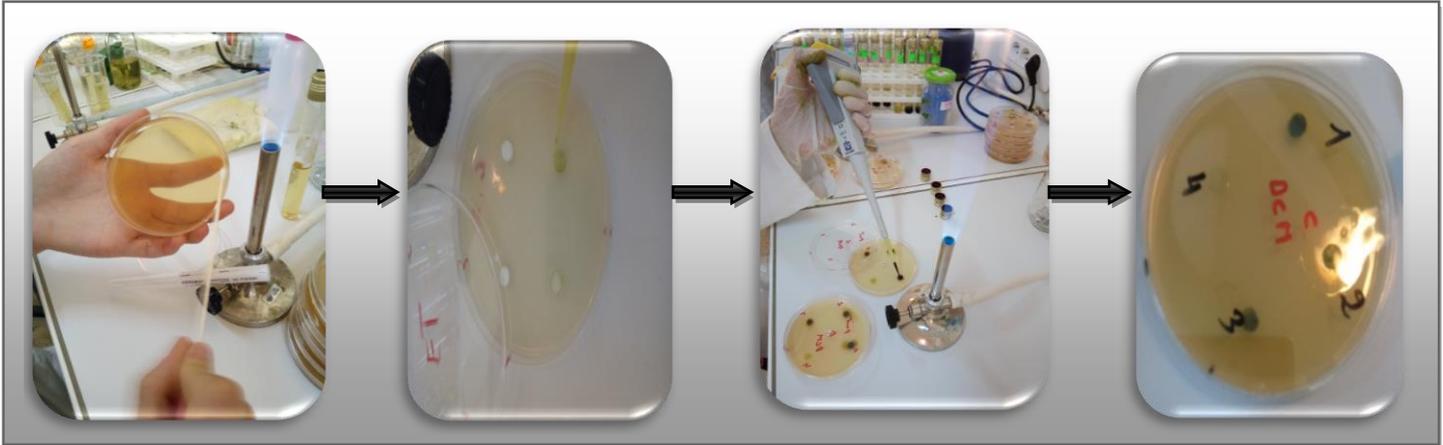


Figure 24 : Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

❖ Lecture des résultats

Après la culture, l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour du disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance et donc la zone d'inhibition du principe actif (Choi et al, 2006). La mesure de la distance millimétrique de la zone est reportée sur l'échelle de concordance afin que la souche soit interprétée comme étant : sensible, intermédiaire ou résistante vis-à-vis du principe actif étudié.

Les résultats sont exprimés selon quatre niveaux d'activité (Ponce et al. 2003)

- souche résistante ($D < 8$ mm)
- souche sensible ($9\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$)
- souche très sensible ($15\text{mm} \leq D \leq 19$ mm)
- extrêmement sensible ($D > 20$ mm)

❖ Test de sensibilité à l'antibiotique

L'étude de l'antibiogramme s'est limitée à tester les antibiotiques les plus utilisés en antibiothérapie tels que : Gentamycine « **GEN** », Erythromycine « **E** », Ampicilline « **AMP** », Céfotaxime « **CTX** », Tétracycline « **TE** ».

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes et le comparer avec l'effet de nos extraits bruts. Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole qu'avec les disques de papiers imprégnés d'extrait.

2.4.4 Essais de sensibilité à la dilution

La technique de dilution mesure la concentration minimale inhibitrice (CMI). Ils peuvent également être utilisés pour mesurer la concentration minimale bactéricide (CMB) qui est la plus faible concentration antibactérienne nécessaire pour tuer les bactéries. Aussi la concentration minimale fongicide (CMF), la faible concentration antifongique pour tuer la levure.

A- Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) « Les micro-dilutions »

Des microplaques à fond en U sont utilisables pour la détermination des CMI. Une plaque de 96 puits permet la détermination de la CMI des souches vis-à-vis d'un extrait.

Dans les cupules d'une même ligne, 100 µl de Bouillon « BMH pour les bactéries et BS pour *Candida albicans* » a été déposé, puis 100 µl de dilutions successives à raison de ½ de l'extrait à tester, sont ajoutés à chacun des puits. Chaque puits est ensuite ensemencé par 10 µl d'une suspension microbienne à 10⁶ cellules/ml. (Eloff, 1998)

Incuber les plaques inoculées à 37°C pendant 16 à 20h, la CMI est la concentration minimale d'extrait qui inhibe complètement la croissance des microorganismes dans les puits de micro-dilution telles que détectées par l'œil nu (Clsi, 2012).

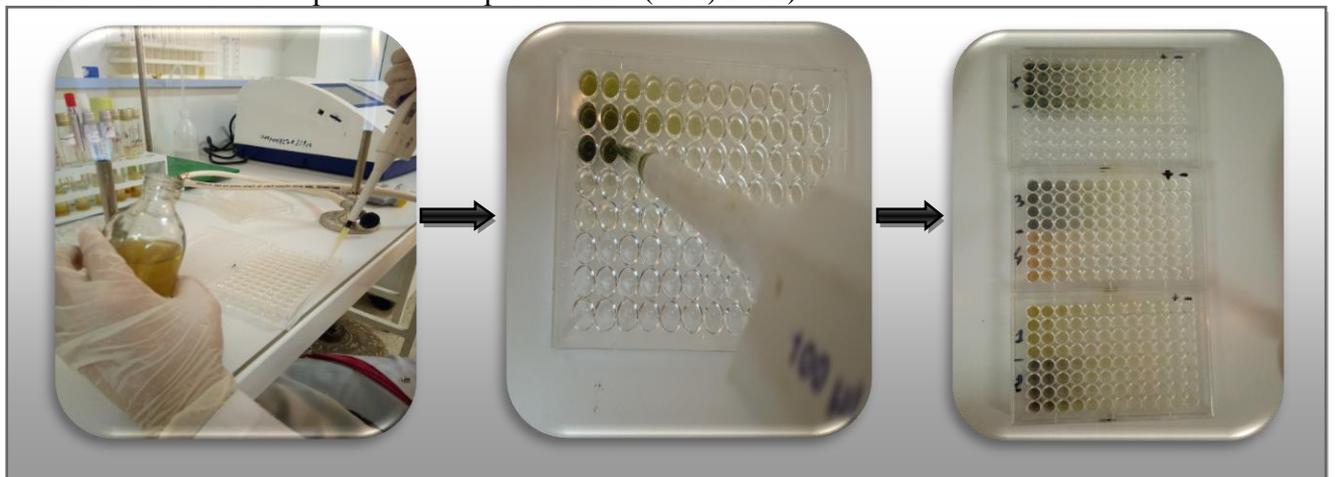


Figure 25: Méthode des micro-dilutions

B- Détermination de la concentration minimale bactéricide et fongicide (CMB et CMF)

La détermination de la CMB et CMF nécessite l'ensemencement en stries de contenus des puits ayant une concentration supérieure ou égale à la CMI dans la série de dilution préalablement établie sur une gélose M-H. Ainsi, la CMB et CMF sont déterminées après une incubation de 24 heures à 37 °C pour les bactéries et 30°C pour la levure. C'est la plus petite concentration qui inhibe totalement la croissance. **(Ennadir ; 2014)**

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION

Chapitre I : Préparation des extraits

1- Détermination de la teneur en eau

Les végétaux sont riches en eau, nos résultats révèlent la teneur en eau de *M. suaveolens* est de 81.32% ce qui indique que cette espèce est riche en eau.

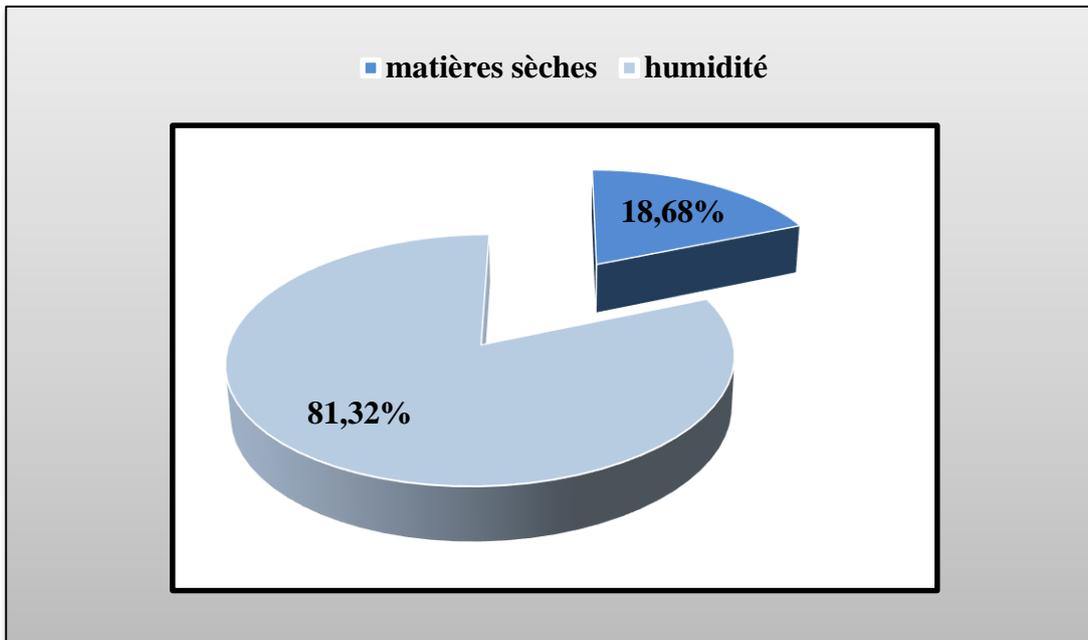


Figure 26 : Taux d'humidité de *M. suaevolens*

D'après la figure (26), Taalbi, 2016 à trouver des résultats similaires, ou le taux d'humidité était de 80.09% pour *Mentha rotundifolia*. D'autres résultats identiques ont été trouvés par Azzi et Djemaa, 2016, indique que la plante *Fumaria officinalis* à un taux d'humidité de 81.5%.

2- Rendement des extraits

Les résultats obtenus sont rapportés dans la figure suivante

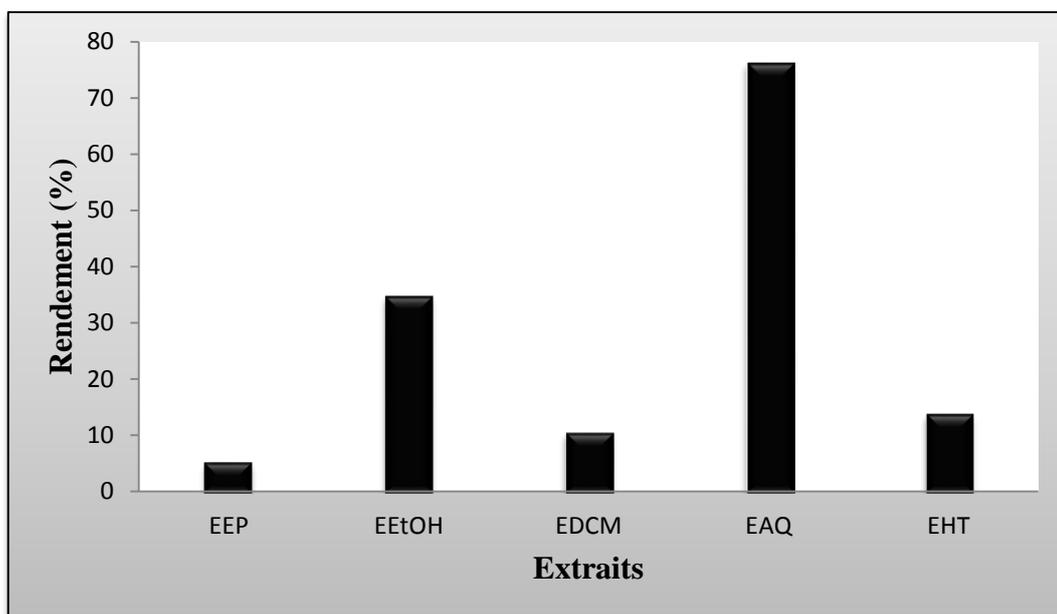


Figure 27 : Rendement des extraits de *M. suaveolens*

D'après les résultats présentés dans la figure (27), la plante *M. suaveolens* donne des rendements légèrement différents en fonction de solvants utilisés. L'extrait AQ est le plus élevé avec 75.91%, suivi de l'EEtOH signifie 34.52%, l'EHT a donné un rendement de 13.65%, ensuite 10.3% pour l'EDCM. Enfin l'extrait de l'EEP possède le plus faible rendement avec 5.08%.

On remarque que les extraits « EEtOH et EAQ » ont donné les proportions les plus élevées en comparaison avec les autres extraits (EHT, EDCM et EEP).

Tableau 03 : Les composés que pourraient contenir les différents extraits préparés.

Extraits	Constituants probables	Références
EP	Cires, chlorophylle, lipides, acides gras, stérols, triterpènes, caroténoïdes, huiles essentielles, flavonoïdes aglycones hautement méthoxylés, coumarines.	Ciulei, 1981
ET	Stérol+triterpènes, Alcaloïdes, Tannins galliques, Anthraquinones lib, Sucres réducteurs, Polyphénols totaux, Flavonoïdes totaux, Flavanones, Coumarines, Gitoxine	Yala et al., 2016
DCM	Terpénoïdes, polyphénols aglycones (flavonoïdes, coumarines, tanins, anthracenosides), chlorophylle.	Ciulei, 1981
hexane	Alcaloïdes, flavonoïdes, stérol et polyphénols.	Touré, 2011
AQ	Flavonoïdes, aminoacides, terpènes, cires, tanins.	Ciulei, 1981

Chapitre II : Etude de l'activité antimicrobienne

1- Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

L'effet antimicrobien des extraits se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque saturé avec un extrait brut, les résultats obtenus étant exprimés dans les figures suivantes.

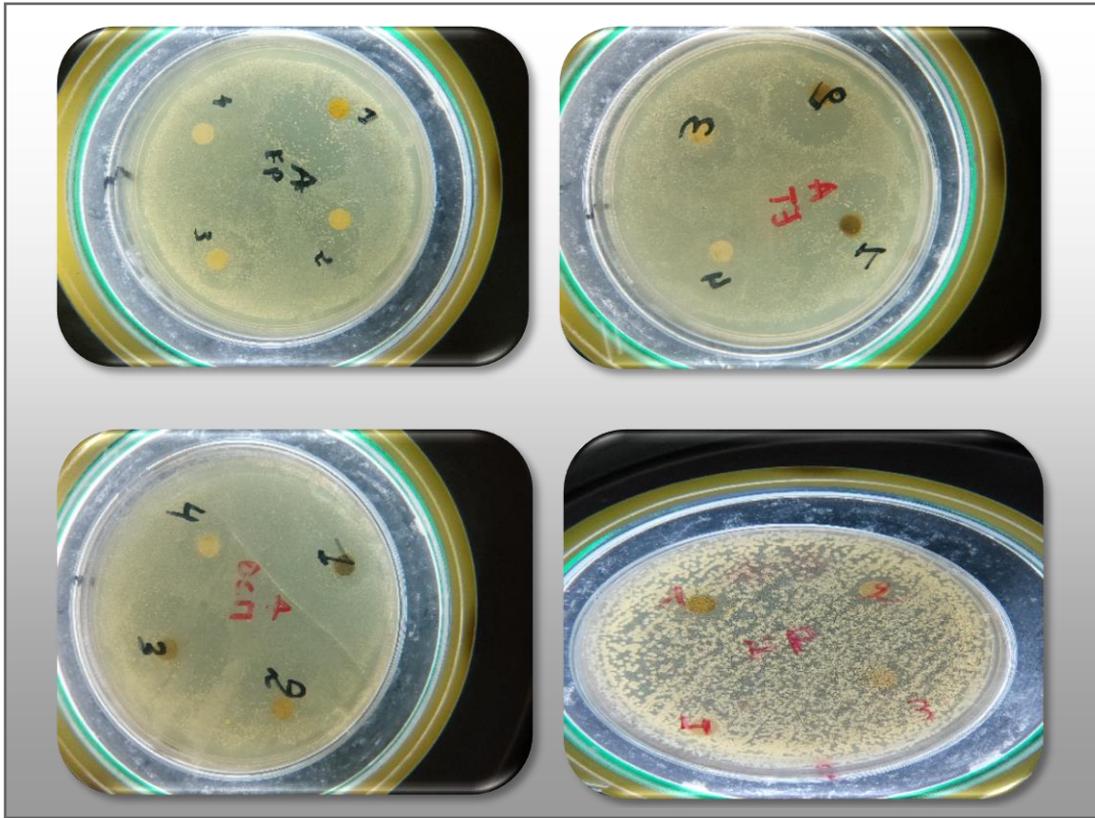


Figure 28 : résultats d'aromatogramme

Les diamètres de la zone d'inhibition montrent que les souches microbiennes examinées ont des sensibilités différentes vis-à-vis aux extraits étudiés.

a- Extrait d'éther de pétrole

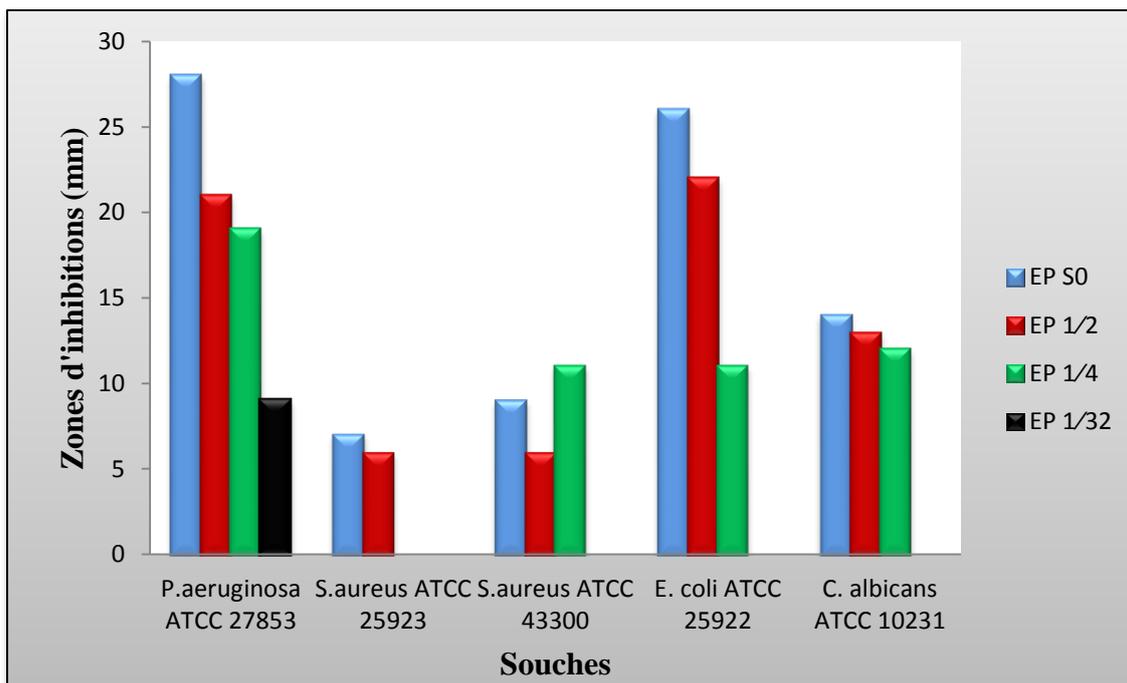


Figure 29 : Effet d'extrait de l'éther de pétrole (EEP) sur les souches étudiées

La figure (29), montre que l'efficacité antibactérienne de l'EEP s'est avérée la plus cohérente avec *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC25922 et *C. albicans* ATCC 10231 avec un diamètre de 28 mm d'inhibition pour *P. aeruginosa* ATCC 27853, 26 mm pour *E. coli* ATCC25922 et 14 mm pour *C. albicans* ATCC 10231. D'autres souches du staphylococcus se comportent différemment dans des diamètres allant de 6 mm à 11 mm.

D'après **Bakht et al, 2014**, l'extrait d'éther de pétrole de l'espèce *Mentha longifolia* à un pouvoir antibactérien similaire à celle de *M. suaveolens* qui est entre 15 et 25 mm. Ainsi que pour *C. albicans* et *P. aeruginosa*

b - Extrait d'éthanol

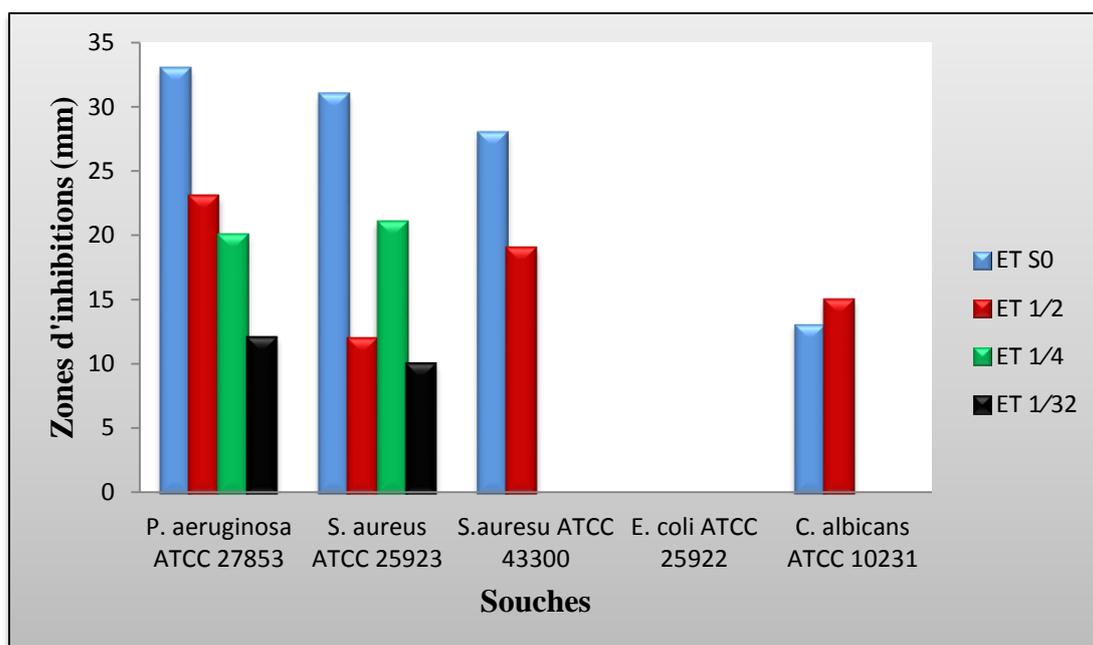


Figure 30 : Effet d'extrait de l'éthanol(EEtOH) sur les souches étudiées

Selon la figure (30), *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *C. albicans* étaient sensibles à EEtOH et pour différentes concentrations. La plus grande zone d'inhibition est enregistrée par *P. aeruginosa* ATCC27853 (33 mm), suivie par deux souches *S. aureus* ATCC 25923 (31 mm) et *S. aureus* ATCC 43300 (28 mm) et *C. albicans* ATCC 10231 (15 mm). *E.coli* ATCC 25922 résistent à toutes les concentrations d'EEtOH.

Les résultats de **Moldovan et al, 2014** sont similaires à ceux que nous trouvons pour *E.coli* ATCC25922. D'autre part, pour Bayoub et al 2010, l'extrait éthanolique du *M. suaveolens* a une activité maximale contre *S. aureus* ATCC 25923 et un minimum contre *E. coli* ATCC 25922.

Benali, 2017 montre qu'il n'y a pas d'activité antifongique sur *C.albicans* ATCC 10231, par contre, Zaffer, 2017 prouve que l'extrait éthanolique de l'espèce *Mentha longifolia* a une zone d'inhibition acceptable contre *C.albicans*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli*.

c- Extrait de dichlorométhane

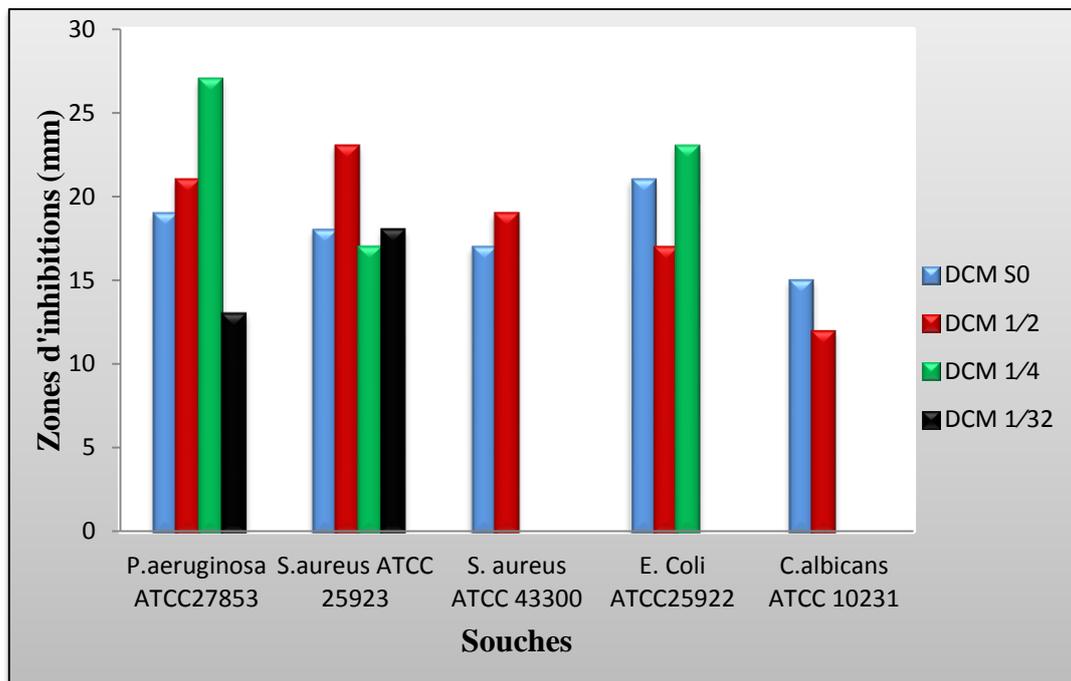


Figure 31 : Effet d'extrait de dichlorométhane (EDCM) sur les souches étudiées

D'après la figure (31), l'extrait DCM de *M. suaveolens* a montré une activité étendue pour toutes les souches microbiennes. *P.aeruginosa* ATCC27853 s'est avéré être le diamètre le plus sensible de 27 mm, suivi de *S.aureus* ATCC 25923 et *E. Coli* ATCC25922 (23 mm), tandis que la souche *S. aureus* ATCC 43300 était moins sensible à l'EDCM de 19 mm.

Une faible activité est enregistrée avec *C.albicans* ATCC 10231, qui ne dépasse pas le diamètre de la zone d'inhibition 15 mm.

Une étude a été faite sur d'autres espèces du genre *Mentha* révèle que l'extrait de Dichlorométhane à un pouvoir antibactérien sur des souches gram positif (Barchan et al, 2015).

Nos résultats vont dans le même sens que ceux trouvés par Bakht et al, 2014 qui ont montré que l'extrait de dichlorométhane de *Mentha longifolia* a une activité antibactérienne sur *S. aureus* et *P.aeruginosa* et *C.albicans*, mais aucune activité enregistré pour *E.coli*.

d- Extrait aqueux

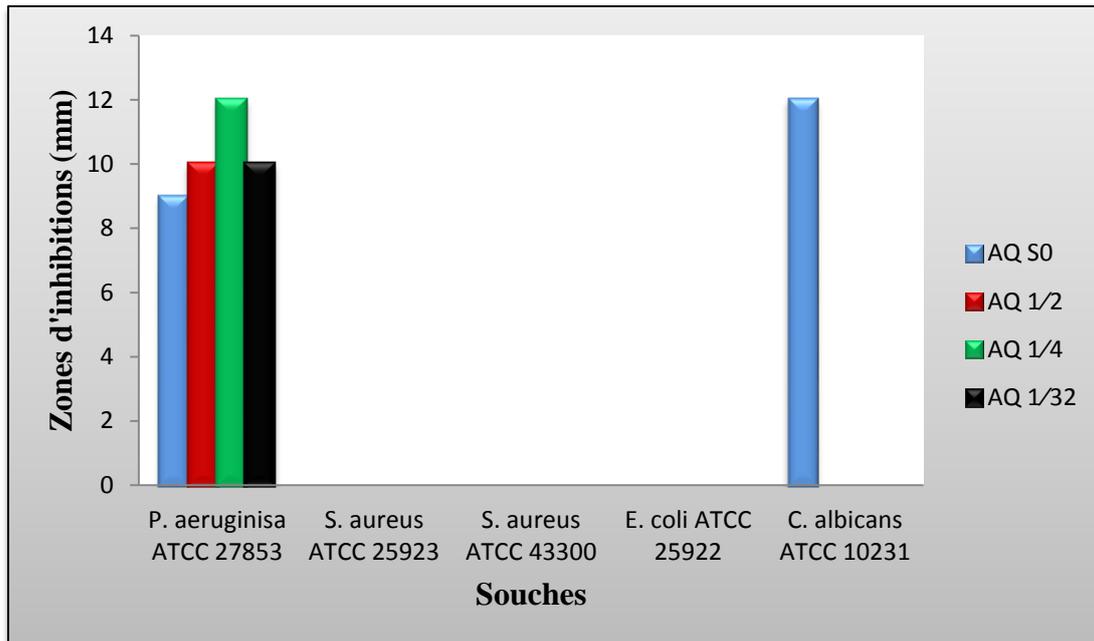


Figure 32 : Effet d'extrait aqueux (EAQ) sur les souches étudiées

La figure (32) montre que les souches de *S. aureus* et *E. coli* étaient plus résistantes à toutes les concentrations de l'extrait aqueux que *P. aeruginosa* ATCC27853 et *C. albicans* ATCC10231, qui présentaient une zone d'inhibition maximale égale à 12 mm.

Benali, 2017 révèle que l'extrait aqueux de *M. suaveolens* ne présente aucun effet antifongique sur *C. albicans* ATCC10231, contrairement à notre résultat obtenu, qui indique qu'elle est sensible.

Selon **Bakht et al 2014**, l'extrait aqueux de *Mentha longifolia* a un pouvoir antimicrobien sur toutes les souches, de sorte qu'il a un effet plus fort que l'espèce de *M. suaveolens* sur les souches *P. aeruginosa* et *C. albicans*.

e- Extrait d'huile totale

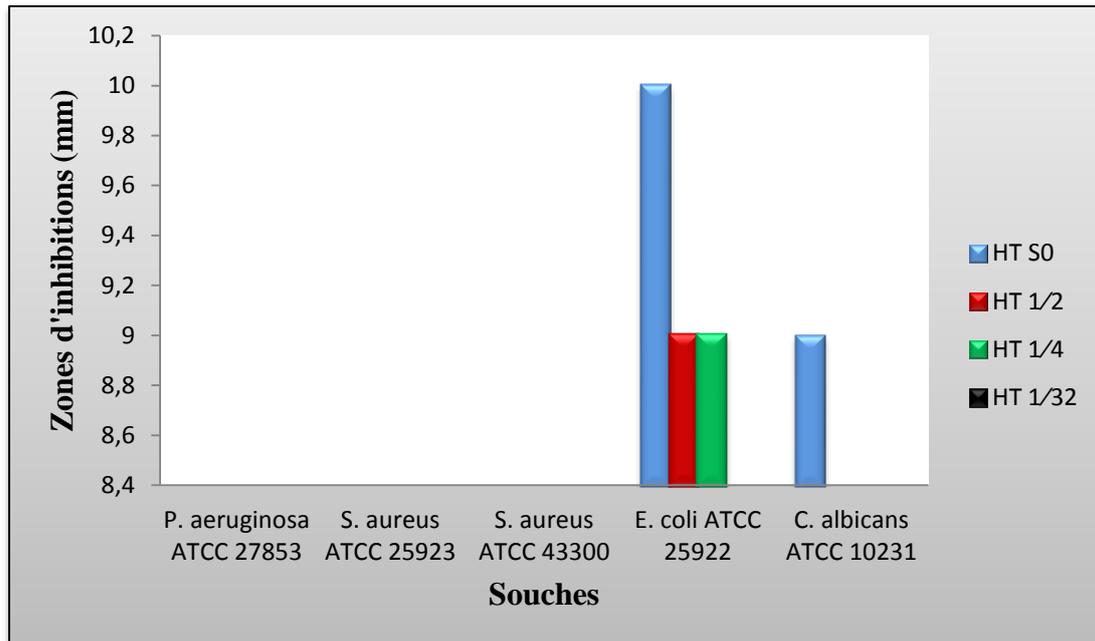


Figure 33 : Effet d'extrait des huiles totales (EHT) sur les souches étudiées

Les résultats présentés dans la figure (33), révèlent que l'extrait d'huile total HT de *M. suaveolens* à une activité antimicrobienne enregistrée pour *E. coli* ATCC25922 avec une zone d'inhibition de 10 mm et *C. albicans* ATCC10231 avec un diamètre ne dépassant pas 9 mm. D'autres souches sont largement résistantes à EHT.

Barchan, 2015 révèle que les bactéries gram négatifs sont sensible aux extrait hexanique de trois espèces de menthe : *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Mentha piperita*.

2- Test de sensibilité aux antibiotiques

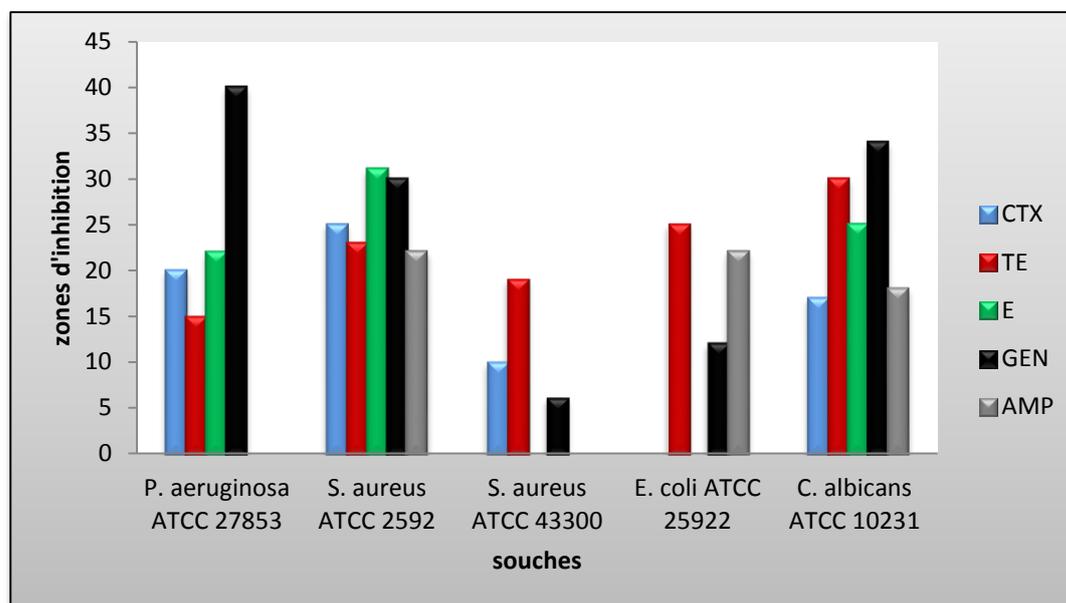


Figure 34 : Effet des antibiotiques sur les souches étudiées

Selon la figure (34), la souche *S.aureus* ATCC 25923 est sensible à tous les antibiotiques testés avec des diamètres allant de 22 à 31 mm, contrairement au *S. aureus* ATCC 43300 qui présente une sensibilité seulement aux CTX et TE.

D'autre part TE, AMP et GEN possèdent une activité inhibitrice contre *E. coli* ATC 25922 de 25, 22 et 12 mm, respectivement. *P. aeruginosa* ATCC 27853 est sensible à tous les antibiotiques CTX, TE, E et GEN de diamètres 20, 15, 22 et 40. Ce qui concerne *C. albicans* ATCC 10231, une sensibilité élevée à TE et GEN avec des diamètres de 30 à 34mm, ainsi que E, CTX et AMP avec des zones de 25,17 et 18 mm.

Notez que les souches étudiées sont sensibles à tous les antibiotiques, à l'exception de *S. aureus* ATCC 43300, qui est résistant à CTX et TE.

3- Essais de sensibilité à la dilution

A- Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

❖ Concentration minimale inhibitrice (CMI) des souches bactériennes

Les résultats des tableaux (1, 2, 3, 4) montrent que les extraits de *M. suaveolens* ont une activité antibactérienne acceptable. En effet, pour les quatre souches étudiées, la gamme de CMI dans nos extraits varie de 0,12 à 0,015 mg / ml.

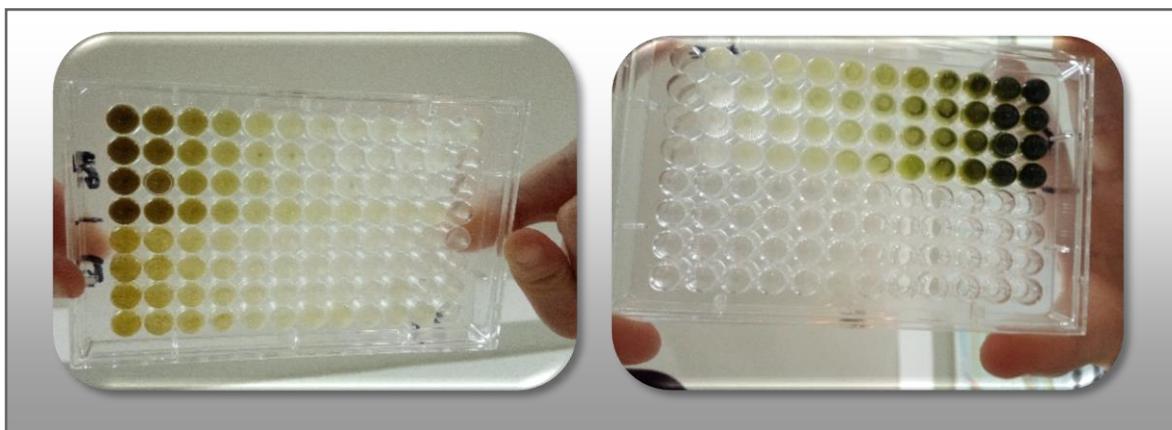


Figure 35 : Résultat de la concentration minimal inhibitrice

Ainsi, les bactéries n'ont montré aucune croissance en présence de solutions mères d'extraits. Cette concentration est donc inhibitrice pour toutes les souches.

Tableau 04 : Concentration minimal inhibitrices des extraits de *M. suaveolens* pour *P.aeruginosa* ATCC 27853

	0.25 (g/ml)	0.125 (g/ml)	0.06 (g/ml)	0.031 (g/ml)	0.015 (g/ml)	0.007 (g/ml)
EEP	-	-	-	+	+	+
EEtOH	-	-	-	-	+	+
EDCM	-	-	-	+	+	+
EAQ	-	-	-	-	-	+

D'après le tableau (04), on observe que l'extrait AQ de la partie aérienne de *M. suaveolens* a une très bonne activité sur *P. aeruginosa* ATCC 27853 qui semblait être la plus sensible (MIC = 0,015 mg / ml), suivie de EEP et EDCM avec une CMI de 0,06 mg / ml, et l'activité d'un niveau intermédiaire pour EEtOH avec une CMI égal à 0, 031 mg / ml.

Tableau 05 : Concentration minimal inhibitrices des extraits de *M. suaveolens* pour *S.aureus* ATCC 25923

	0.25 (g/ml)	0.125 (g/ml)	0.06 (g/ml)	0.031 (g/ml)	0.015 (g/ml)	0.007 (g/ml)
EEtOH	-	-	-	+	+	+
EDCM	-	-	-	-	-	+

Les résultats du tableau (05), montrent un niveau de sensibilité élevé à l'extrait EDCM pour la souche *S.aureus* ATCC 25923 étudiée (CMI= 0,015 mg/ml), alors qu'elle a un niveau de sensibilité de 0.06 mg/ml pour l'extrait EEtOH.

Tableau 06 : Concentration minimal inhibitrices des extraits de *M. suaveolens* pour *S.aureus* ATCC 43300

	0.25 (g/ml)	0.125 (g/ml)	0.06 (g/ml)	0.031 (g/ml)	0.015 (g/ml)	0.007 (g/ml)
EEP	-	-	-	+	+	+
EEtOH	-	-	+	+	+	+
EDCM	-	-	+	+	+	+

Selon le tableau (06), les extraits EP, EtOH et DCM ont présentés une concentration minimale inhibitrice similaire pour la souche *S.aureus* ATCC43300 avec une concentration de 0,12 mg/ml.

Tableau 07 : Concentration minimal inhibitrices des extraits de *M. suaveolens* pour *E.coli* ATCC 25922

	0.25 (g/ml)	0.125 (g/ml)	0.06 (g/ml)	0.031 (g/ml)	0.015 (g/ml)	0.007 (g/ml)
EEP	-	-	-	-	-	+
EDCM	-	-	-	-	-	+
EHT	-	-	+	+	+	+

Le tableau (07) montrent que les extraits EP et DCM présentent une activité antibactérienne élevées sur la souche *E.coli* ATCC 25922 qui semblait être la plus sensible (CMI=0.015mg/ml), suivi de l'extrait HT avec une CMI de 0,06 mg/ml.

❖ Concentration minimale inhibitrice (CMI) de la souche fongique

Les résultats dans le tableau (08) montrent que les extraits de *M. suaveolens* portent une activité antifongique acceptable. En fait, pour la souche de *C. albicans*, la gamme de CMI dans nos extraits varie de 0,06 à 0,015 mg / ml.

C. albicans n'a montré aucune croissance dans les solutions mères pour les extraits. Cette concentration est donc inhibitrice pour cette souche.

Tableau 08 : Concentration minimal inhibitrices des extraits de *M. suaveolens* pour *C. albicans* ATCC 10231

	0.25 (g/ml)	0.125 (g/ml)	0.06 (g/ml)	0.031 (g/ml)	0.015 (g/ml)	0.007 (g/ml)
EEP	-	-	-	+	+	+
EEtOH	-	-	-	+	+	+
EDCM	-	-	-	-	+	+
EAQ	-	-	-	-	-	+
EHT	-	-	-	-	+	+

Selon le tableau, l'extrait AQ de la partie aérienne de *M. suaveolens* a une très bonne activité avec une CMI = 0,015 mg / ml, suivie d'une activité moyenne pour EDCM et EHT avec une concentration minimal inhibitrice égal à 0,031 mg / ml et un niveau de sensibilité de 0,06 mg / ml pour les extraits EP et EtOH.

B- Détermination de la concentration minimale bactéricide et fongicide (CMB et CMF)



Figure 36 : Résultats de la concentration minimale bactéricide et fongicide

Tableau (09) : Concentration minimale bactéricide (CMB) et fongicide (CMF) des extraits de *M. suaveolens* sur la croissance des souches bactériennes et fongiques.

Extraits	EEP (g/ml)	EEtOH (g/ml)	EDCM (g/ml)	EAQ (g/ml)	EHT (g/ml)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	0.06	0.25	0.25	0.06	NT
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	NT	0.25	0.06	NT	NT
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0.125	0.125	0.125	NT	NT
<i>E.coli</i> ATCC 25922	0.125	NT	0.06	NT	0.25
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	0.125	0.125	0.06	0.031	0.125

NT : non tester

La concentration minimale bactéricide (CMB) signifie à la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour l'extrait d'éther de pétrole contre la souche *P. aeruginosa* ATCC 27853 et pour l'extrait d'éther de pétrole, éthanolique et de dichlorométhane contre *S. aureus* ATCC 43300. Tandis que les autres extraits présentent une concentration minimale bactéricide (CMB) plus élevé que la concentration minimale inhibitrice (CMI). D'autre part la concentration minimale bactéricide (CMB) est élevé que la concentration minimal inhibitrice (CMI) concernant les souches *S.aureus* ATCC 25923 et *E.coli* ATCC 25922. Ainsi que la concentration minimale fongicide (CMF) des extraits est plus élevé que la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour la souche *C.albicans* ATCC 10231.

Selon les résultats obtenus, la plupart des souches présentent une sensibilité vis-à-vis les différents extraits avec des diamètres supérieurs à 12 mm dans la plupart des cas, cette sensibilité dépend de la nature et la composition des extraits et les souches testé.

L'activité antimicrobienne maximale enregistrée par l'essai de l'EEP et l'EDCM contre toutes les souches suggère que la substance active réside dans ces extraits avec un effet à large spectre. L'efficacité d'EEP s'expliquer par la présence des huiles essentielles, des coumarines et des triterpènes (Bouzid, 2011), tandis que l'EDCM renferme différents constituants, notamment les flavonoïdes, les tanins, les acides phénoliques, les terpènes et les pectines. (Bouzid, 2011).

L'effet antimicrobienne pratiquement négligeable des extraits aqueux et hexanique malgré la richesse en composant actif. Cela peut s'expliquer par le simple fait que l'eau est un solvant connu

pour extraire une large gamme de molécules, telle que les flavonoïdes, terpènes et polyphénols. Ainsi que l'extrait hexanique avec une proportion élevée des alcaloïdes, flavonoïdes et polyphénols.

Ceci confirme que l'efficacité d'un extrait dépend plus de la qualité des principes actifs, qu'il renferme, que leur quantité elle-même (**Essawi, 2000**). Concernant l'EEtOH, la raison de la plus haute zone d'inhibition est due à la présence des flavonoïdes (**Martini et al, 2004**).

L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinées (synergiques) de différents composés majoritaire et minoritaire de cet extrait (**Essawi, 2000**), aussi **Cushnie, 2003** affirme que chaque composé agit différemment sur un microorganisme, c'est-à-dire qu'un composé peut avoir une action très importante sur un germe et une action moindre ou nulle sur un autre.

Il faut souligner que les différences dans les résultats de l'activité antibactérienne et antifongique d'une substance végétale dépendent de plusieurs facteurs qui peuvent influencer la composition chimique d'une plante telle que la nature de l'espèce, l'origine géographique, le solvant et le mode d'extraction (**Ait-ouazzou, 2011 ; Burt, 2004 et Tehami, 2017**).

Conclusion

Conclusion

Le présent travail a porté sur l'activité biologique (antibactérienne et antifongique) des extraits bruts préparés par la méthode d'extraction « macération » d'une espèce médicinale *Mentha suaveolens* de la famille lamiaceae collectée au nord-ouest algérien. Cette espèce est utilisée dans le traitement de plusieurs maladies et des agents pathogène (pharmaceutique), parfumerie et en agroalimentaire.

A issu des résultats obtenus peut affirmer que la partie aérienne de *Mentha suaveolens* possède une teneur élevée en eau. L'épuisement de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir des rendements variables en fonction d'extraction par des solvants à polarité différente. Le rendement le plus élevé est celui de l'extrait aqueux, tandis que le plus faible est l'extrait d'éther de pétrole, le rendement comprit entre 5% et 76%. D'autre part, pour l'étude microbiologique, l'évaluation in vitro de l'effet antimicrobienne de nos extraits montre une sensibilité microbienne vis-à-vis des souches testées. En général, les extraits EEP, EEtOH et EDCM présentent un large spectre d'action sur les souches testées, ainsi que les extraits EHT et EAQ ont une activité relativement faible vis-à-vis les antibiotiques testés qui ont des zones d'inhibitions importantes. Chacun de ces extraits caractérise par une concentration inhibitrice minimale (CMI) et concentration bactéricide ou fongicide minimale (CMB ou CMF) propre.

Au bout de cette étude, les extraits biologiques de notre plante ont un fort impact bactéricide et fongicide sur les souches testées, de sorte que ces ressources peuvent être valorisées et utilisées dans le domaine du traitement ainsi que contre les maladies infectieuses.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

1. Agence national de sécurité sanitaire alimentation, environnement, travail (anses), 2011. *Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments/ Staphylococcus aureus et entérotoxines staphylococcique*. Anses : www.anses.fr.
2. Aharoni, A. et Galili, G. (2011). *Metabolic engineering of the plant primary–secondary metabolism interface*. Science direct. Elsevier. 22, 239–244. Doi : 10.1016/j.copbio.2010.11.004.
3. Ait-Ouazzou A, Lorán S (2011a) *Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of Thymus algeriensis, Eucalyptus globulus and Rosmarinus officinalis from Morocco*. J Sci Food Agricult 91(14):2643–51.doi: 10.1002 / jsfa.450
4. Akroum, S. (2011). *Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels*. Thèse de Doctorat. Université de Constantine.
5. Allinger, N.L., Cava, M.P., Dejoule, C.R., Jonhson, C.R., Lebel,N.A. et Stevens, C.L. (1975). *chimie organique*. Ediscience Mc Graw. Hill.Paris. 813.
6. Alvarez-Jubete, L; Wijngaard, H., Arendt, E.K. et Gallagher, E. (2010). *Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking*. Food Chemistry119: 770-778.
7. Aniszewski, T. (2007). *Alcaloïdes - Secrets de la vie. Chimie des alcaloïdes, importance biologique, applications et rôle écologique*.1ère éd. Elsevier, 316 p.
8. Aref, M. et Heded, M. (2015). *Contribution A L'étude Phytochimique, Les Activités Biologiques (Antioxydante Et Antibactérienne) D'une Plante Médecinale Cleome Arabica L (Région D'oued Souf)*. Thèse de doctorat. Universite Echahid Hamma Lakhdar. El-Oued.
9. Ashour, M., Wink, M. & Gershenzon, J. (2010). *Biochemistry of Terpenoids: Monoterpenes, Sesquiterpenes and Diterpenes*. Annual Plant Reviews. (40) : 258-303. doi.org/10.1002/9781444320503.ch5.
10. Ayad, R. (2008).*Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique. Université Mentouri-Constantine. Faculté des Sciences Exactes. p 35-39, 40, 47.
11. Badiaga, M. (2011).*Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea Latifolia Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali*. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal – Clermont Ferrand II. Français.10 p.
12. Bakht, J; Shaheen, S; Shafi, M. (2014).*Potentiels antimicrobiens de Mentha longifolia par diffusion sur disque*.Pak J Pharm Sci. 27 (4): 939-45.

13. **Bate-Smith, E.** (1973). *Tannins of herbaceous leguminosae*. *Phytochemistry* (12): 1809 - 1812. doi: 10.1016/0031-9422(73)80409-1.
14. **Barchan, A; Bakkali, M; Arakrak, A; Laglaoui, A.** (2015). *Effet antibactérien et anti-biofilm de trois espèces de Mentha : Mentha spicata, Mentha pulegium et Mentha piperita*. *Lavoisier. Phytothérapie* 14: 88. doi.org/10.1007/s10298-015-0970-y.
15. **Bayoub, K; Baibai, T ; Mountassif, D ; Retmane, A and Soukri, A.** (2010). *Antibacterial activities of the crude ethanol extracts of medicinal plants against Listeria monocytogenes and some other pathogenic strains*. *African Journal of Biotechnology*. 9 (27): 4251-4258 doi: 10.5897/AJB09.1393.
16. **Belbache, H.** (2003). *Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de Centaurea Parviflora Desf.* Mémoire de Magister en Chimie Organique, Université Mentouri Constantine. p 16-20.
17. **Benaissa, O.** (2011). *Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres Chrysanthemum et Rhantherium. Activité Biologique.* Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine-Faculté des Sciences Exactes.
18. **Benali, T.** (2017). *Etude ethnobotanique et de propriétés biologiques de plantes originaires de la zone de Guercif-Taza pour des fins de valorisation.* Thèse de doctorat, p115-118. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté Des Sciences Et Techniques – Fès. Maroc.
19. **Bendjabeur, S.** (2012). *Evaluation du pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits végétaux (cas de la grenade punica granatum l.) en vue de leur utilisation alimentaire.* Mémoire de Magister. Ecole Nationale Supérieure Agronomique. El-Harrach. Alger. p : 23/24.
20. **Biallo D., Sanogo R., Yasambou H. et autre** (2004) *Étude des constituants des feuilles de Ziziphus mauritiana Lam. (Rhamnaceae).* *C. R. Chimie.* (7) : 1073-1080. doi: 10.1016 / j.crci.2003.12.035
21. **Billerbeck G,** (2002). *Les contaminations biologiques des biens culturels : Essai d'utilisation d'huile essentielle en traitement de l'aire.* Ed : Elsevier.357-365
22. **Bois.,** (2004). *Détermination de l'humidité.* ED : AFNOR. 3p
23. **Booth, N.L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E.** (2004). *New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxy coumarin and their pharmacological activity,* *Clinical Pharmacology and Therapeutics.* p50, 120-123.
24. **Botineau, M.** (2010). *Botanique systématique et appliqué des plantes à fleurs.* Lavoisier.Tech. Et Doc. 1021-1043.

25. **Bouakaz, I.** (2006). *Etude phytochimique de la plante Genista Microcephala*. Mémoire de Magister. Université El Hadj Lakhdar. Batna.
26. **Bouhdid, S. ; Idaomar, M. ; Zhiri, A. ; Baudoux, D. ; Skali, N.S.** (2006). *Thymus essential oils : chemical composition and in vitro antioxidant and anti bacterial activities*. Congrès International de Biochimie. Agadir. (09) : 12.
27. **Bouزيد, W. ; Yahia1, M. ; Abdeddaim, M. ; Aberkane, M.C. Et Ayachi, A.** (2011). Evaluation De L'activite Antioxydante Et Antimicrobienne Des Extraits De *L'aubepine Monogyne*. Lebanese Science Journal. 12 (1), 59-69
28. **Božović.M, Pirolli.A et Ragno.R,** (2015)/*Mentha suaveolens Ehrh. (Lamiaceae) Huile Essentielle et Son Principal Constituant Piperitenone Oxyde: Activités Biologiques et Chimie*. Rome Center for Molecular Design, Department of Drug Chemistry and Technology, Sapienza University, 20 (5): 8605-33. doi: 10,3390 / molécules20058605
29. **Bruneton, J.** (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 3^{ème} Edition. Tec & Doc (Ed). Paris.
30. **Bruneton, J.** (1993). *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*, 2^{ème} Ed. Lavoisier, Paris.
31. **Bruneton, J.** (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 3^{ème} édition. Edition tec & doc, Paris, pp783-823.
32. **Bruneton, J.** (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. 3ed. Ed. Médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris, p. 783-785.
33. **Bruneton, J.** (1999). *Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales*. Ed. Technique et Documentation. 3^{ème} éd. Paris. France. 1120p.
34. **Bruneton, J.** (2001). *Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux*. 2^{ème} Ed : TEC & DOC. Paris. 337 p.
35. **Bruneton, J.** (2009). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. 4ed. Lavoisier, Paris, p : 783-785.
36. **Bruneton, J.** (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 4^{ème} éd. Lavoisier. Tec et Doc. Paris. 1240 p.
37. **Burt S** (2004) *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review*. Internat J Food Microbiol 94:223 53. doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
38. **Caillaud, M.A.** (2013). *Etude De L'espèce Origanum Vulgare L*. Thèse De Doctorat. Université De Nantes UFR Sciences Pharmaceutiques Et Biologiques.

- 39. Carrubba, A., LA Torre, R., Zaffut G.** (2006). Exploitation of native Labiatae in sicily. The *Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilization* 22-25 February 2006. Sanremo. Italy.
- 40. Ciulei J** (1981). Methodology for analysis of vegetable drugs. *Ed. Ministry of Chemical Industry. Romania*, 67.
- 41. Collin, S. and Crouzet, J.** (2011). *Polyphénols et procédés*. En France par EMP. S.S.A. Paris. p 5.
- 42. Coradi, P.C., Müller, A., Schmidt, D.A., Lima, R.E., Baio, F.H.R., Borsato, A. V. et Blanco, M.** (2017). *Electric Conductivity Test for Quality Assessment of Aromatic and Medicinal Plants after Drying*. *Drying Technology An International Journal*. DOI: 10.1080/07373937.2017.1347943.
- 43. Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H.** (2006). *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Ed Blackwell Publishing Ltd.
- 44. Cushnie TP, Hamilthoh VES, Lamb AJ. Microbiol. Res. 2003; 158(4):281-289**
Debuigue.G, 1972, *Dictionnaire des plantes qui guérissent*, Paris, Larousse, 256 p.
- 45. Djemoui, D.** (2012). *Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées*. Mémoire Master Academique. Spécialité : Chimie Appliquée. 53p
- 46. Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., Bonsignore, L.** (2003). *Natural product: their chemistry and biological significance*. *Journal of the American Oil Chemistry Society*. 80:65-70.
- 47. Donatien, K.** (2009). *Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction, identification d'alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : etude de leur activitéantioxydante*, These de doctorat, Université de Lorraine.
- 48. Duarte, M. R., & Lopez, J. F.** (2007). *Stem and leaf anatomy of Plectranthus neochilus Schltr., Lamiaceae*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 17 (4): 549-556. doi : 10.1590/S0102-695X2007000400013
- 49. Ed-Dra, A., Filai, F. R., Bou-Idra, M., Zekkori, B., Bouymajane, A., Moukrad, N...** (2018). *Application of Mentha suaveolens essential oil as an antimicrobial agent in fresh turkey sausages*. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*. 6(1), pp. 7-12. doi: 10.7324/JABB.2018.60102
- 50. Eloff J. A** (1998). *Sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria*. *Planta medica.*; 64(8):711-3.

- 51. Ennadir.J ; Hassikou. R; Bouazza. F; Arahou. M; Al Askari. G; Khedid. K.** (2014). *Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques des graines de Nigella sativa L. et de Foeniculum vulgare Mill.* *Phytothérapie* 12:302-308 . © Lavoisier SAS 2014. DOI 10.1007/s10298-014-0885-z.
- 52. Erlund, I.** (2004). *Examen des flavonoïdes Quercétine, Hesperetin et Naringenin. Sources alimentaires, bioactivités, biodisponibilité.* *Nutrition Research.* (24) : 851-874. doi : org/10.1016/j.nutres.2004.07.005.
- 53. Essawi T, Srour M** (2000). *Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity.* *J Ethnopharm* 70:343–9
- 54. Etame-Loe, G., Ngoule, C. C., Mbome, B., Kidik Pouka, C., Ngene, J. P., Yinyang, J., Okalla Ebongue, C., Ngaba, G. P., Dibong, S. D.** (2018). *Contribution A L'étude Des Plantes Médicinales Et Leurs Utilisations Traditionnelles Dans Le Département Du Lom Et Djerem (Est, Cameroun).* *Journal of Animal & Plant Sciences.* 35 (1), pp 5560-5578
- 55. Fahselt, D.** (1994). *Secondary biochemistry of lichens.* *Symbiosis*, 16(2), 117-165.
- 56. Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C.** (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*, 331: 372-379. doi:10.1016 / j.crv.2008.02.008.
- 57. Farukh S. S, Hanjing Z, Michael W and William N. S.** (2015). *Aromatic Medicinal Plants from Tajikistan (Central Asia).* *Medicines.* 2, 28-46; doi:10.3390/medicines2010028.
- 58. Gee, J.M. et Johnson, I.T.** (2001). *Composés polyphénoliques: interactions avec l'intestin et implications pour la santé humaine.* *Current Medicinal Chemistry.* (8): 1-182.
- 59. Ghedira, K.** (2005). *Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique.* *Phytotherapie*3(4) : 162-169. doi.org/10.1007/s10298-005-0096-8.
- 60. Gorham, J.** (1977). *Lunularic acid and related compounds in liverworts, algae and hydrangea.* *Phytochemistry.* (16):249-253. doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86795-3.
- 61. Gurchan, S.** (2004). *Plants Systematics: an integrated approach.* USA: Science Publisher, INC, in field, NH (Printed in India), disponible online sur [http://books.google.fr].
- 62. Hagerman, A.E.** (2002). *Tannin Chemistry* (www.users.muohio.edu/hagermae). Institute of Animal Nutrition, University of Hohenheim. Germany.

- 63. Harkati,B.** (2011) *valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille asteraceae: scorzonera undulata*. These de doctorat. Universite Mentouri-Constantine- Faculte des Sciences.
- 64. Harley, R. M. et Brighton,C. A.** (1977). *Chromosome numbers in the genus Mentha L.* Botanical Journal of the Linnean Society (74):71-96.doi.org/10.1111/j.1095-8339.1977.tb01168.x.
- 65. Harrar, A.E.N.** (2012). *Activités antioxydante et antimicrobienne d"extraits de Rhamnus alaternus L.* Thèse de Magister Biochimie et physiologie expérimentale. Université Ferhat Abbas. Sétif. Algérie.73 p.
- 66. Haslam, E.** (1994). *Natural polyphenols (vegatable tannins): Gallic Acid metabolism.* Nat. Prod. (11): 41-66.
- 67. Heim, E.K., Tagliaferro, A.R. & Bobilya, D.J.** (2002).*Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships.* The Journal of Nutritional Biochemistry. (13): 572-584.
- 68. Hellal, Z.** (2011) *Contribution à l'étude des propriétés antibacteriennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des citrus. Application sur la sardine (Sardina pilchardus).* Mémoire de Magister en biologie. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Algérie. 78p.
- 69. Heller, W., Forkmann, G.** (1993). The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman et Hall, London. UK. Pp 399-425.
- 70. Hennebelle, T ; Sahpaz, S ; Bailleul, F.** (2004). *Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif.* Phytothérapie. (1): 3-6. doi.org/10.1007/s10298-004-0003-8.
- 71. Hennebelle, T.** (2006). *Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de lamiales productrices d'antioxydants: Marrubium peregrinum, Ballota larendana, Ballota seudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbénacées).* These de Doctorat Universite des sciences et technologies de lille 1, lille, Pp 304.
- 72. Hernandez-ochoa, L.R.** (2005). *Subtitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné (solvant/actif) d'origine végétale.* Thèse de Doctorat. Institut national plytechniques, Toulouse. France. 255p.
- 73. Hilan, C.; Sfeir, R; Jawich, D et Aitour, S** (2006). *Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des lamiaceae.* Lebanese Science Journal. (7) : 43-51.

- 74. Hopkins, W. G.** (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur. 1^{ère} éd. p 280.
- 75. Iqbal, Z; Gul,S; Ul Haq, I; Munawar, A; Ahmad,A; Amin, F.** (2017). *Antibacterial and antifungal activity of Mentha longifolia Mirkalan village of Nizampur region Nowshehra district of KPK, Pakistan*. Journal of Entomology and Zoology Studies. 5(6): 318-321.
- 76. Iserin P., Masson M., Restellini J.P., (1997).** « Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation, soin », Larousse-Bordas. **Iserin, P ; Moulard, F ; Rachel, R ; Biaujeaud, M ; Ringuet, J ; Bloch, J; ...** (2001). *La rousse : encyclopédie des plantes médicinales, Identification, préparation, soins*. 2 éd, Paris, pp.155-291.
- 77. Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Steven, P.** (2002). *Botanique systématique: Une perspective phylogénétique*. 1^{ère} Ed : Paris et Bruxelles. pp. 369-384.
- 78. Jean-denis, J. B.** (2005). *Caractérisation de polyphénols stilbéniques et de dérivés induits ou constitutifs de la vigne impliqués dans sa défense contre l'agent pathogène du mildiou de la vigne, Plasmopara viticola (Berk. and Curt.)*. Thèse de Doctorat : Université de NEUCHÂTEL.
- 79. Kalla, A.** (2012). *Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien :Pituranthos scoparius, Rantherium adpressum et Traganum nudatum*, Thèse de doctorat ,Universite Mentouri – Constantine , Faculté des Sciences Exactes.
- 80. Kavak, S.** 2014. *Mentha suaveolens. Round-leaved Mint*. The IUCN Red List of Threatened Species2014:e.T164109A42327709.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20141.RLTS.T164109A42327709.
- 81. Khenaka, K.** (2011). *Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin*. Diplôme de Magister En Microbiologie Appliquée. Université Mentouri Constantine. p19, 24.
- 82. Kirrmann, A ; Cantacuzene, J ; Duhamel, P. (1975).** *Chimie organique fonctions complexes*. tome 3^{ème} éd. Librairie Colin. Paris, p:197-199
- 83. Krief, S. (2003).** *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées*. Thèse de doctorat. Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN). Paris. Français.
- 84. Laid, M.** (2011). *Etude Phytochimique D'une Plante Medicinale De L'est Algerien (Artemisia Herba Alba)*. Thèse de doctorat. Universite Mentouri Constantine.

- 85. Larkins, N. & Wynn, S.** (2004). *Pharmacognosy: phytomedicines and their mechanisms*. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. (34) : 291-327.
- 86. Lawrence, B.M.** (1992): *Chemical components of Labiatae oils and their exploitation*. In: Harley R.M., Reynolds T. (eds): *Advances in Labiate Science*. Richmond, Royal Botanic Gardens Kew: 399–436.
- 87. Henri, L.** (2002). *Bacteriologie De Pseudomonas Aeruginosa*. Service De Bacteriologie. Centre Hospitalier De Lille. Presse Therm Climat. 139: 9-13.
- 88. Lihsi, W., & Hedge, I. C.** (1994). *Lamiaceae (唇形科chun xing ke)*. Flora of China. (17): 50–299.
- 89. Loomis, D.W et Croteau, R.** (1980). *Biochemistry of Terpenoids*. In Stumpf (P.K.) & Conn (E.E.) *The biochemistry of plants*. Academic Press (4) 363-418 doi : 10.1016 / B978-0-12-675404-9.50019-9
- 90. Houmenou, V., Adjatin, A., Assogba, F., Gbenou, J., Et Akoegninou, A.** (2018). *Etude Phytochimique Et De Toxicite De Quelques Plantes Utilisees Dans Le Traitement De La Sterilite Feminine Au Sud-Benin*.
- 91. Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K.V. and Biro, L.** (2003). *The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases*. Acta.biologica. szegediensis. 47 (1 4):119-125.
- 92. Lutge, U ; Kluge, M et Bauer G.** (2002). *Botanique*. 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier, Paris, 211p.
- 93. Macheix, J.J ; Fleuriet, A ; Jay-Allemand, C.** (2005). *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. Presses polytechniques et universitaires romandes. PPUR. 1^{ère} éd.
- 94. Maldonado, R.** (2012). *Peumus boldus M. : de la botanique à la thérapeutique : état des connaissances en 2012*. These de doctorat. Université Joseph Fourier. Faculté de Pharmacie de Grenoble. p16.
- 95. Malecky, M.** (2005). *Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins*, thèse de doctorat, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.
- 96. Mangan, J. L.** (1988). *Nutritional effects of tannins in animal feeds*. Nutr. Res. Rev. (1): 209-231. doi: 10.1079 / NRR19880015.
- 97. Martini A, Katerere DR, Eloff JNJ.** *Ethnopharmacol.* 2004; 93(2-3):207-212.
- 98. Mayer, A.M.** (2004). *Resistance to herbivores and fungal pathogens: Variations on a common theme? A review comparing the effect of secondary metabolites, induced and*

constitutive, on herbivores and fungal pathogens. Israel Journal of Plant Sciences. Vol. (52): 279-292. doi: 10.1560/M3QK-7MMG-813C-MPQ1.

- 99. Méar J. B., Kipnis E., Faure E., Dessein R., Schurtz G., Faure K., Guery B. (2013).** Candida albicans and Pseudomonas aeruginosa interactions: More than an opportunistic criminal association. Médecine et maladies infectieuses **43**: 146-151.
- 100. Mekkiou, R. (2005).** *Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre Genista (Fabaceae) : G. saharae, G. ferox.* These de doctorat. Université Mentouri – Constantine.
- 101. Meyer, S., Reeb, C., Bosdeveix, R. (2004).** *Botanique Biologie et Physiologie Végétales.* Editions Maloine. Paris.
- 102. Midoun, T. (2011).** *Extraction Des Composés Phenoliques Et Etude Leurs Activités Antioxydante Par La Voltamétrie Cyclique,* Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Master. 53p.
- 103. Moldovan, R.I; Oprean, R; Benedec, D; Hanganu, D; Duma, M; Oniga, I; Vlase, L. (2014).** *Lc-ms analysis, antioxidant and antimicrobial activities for five species of mentha cultivated in romania.* Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures (9): 559 – 566.
- 104. Moreau, F. (1960).** *Botanique : Procaryotes (cyanophytes et bactéries). Eucaryotes (algues, champignons et végétaux supérieurs) La plante dans ses rapports avec le milieu.* Ed. Paris. Gallimard. 102.
- 105. Moroh, J.L.A., Bahi, C., Dje, K., Loukou, Y. G. et Guede-Guina, F. (2008).** «Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de Morinda morindoides (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'Escherichia coli», Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège [En ligne], (77): 44 - 61. URL : <https://popups.uliege.be:443/0037-9565/index.php?id=518>.
- 106. Mouffok, S. (2011).** *Etude des métabolites secondaires de Centaurea pubescens ssp. omphalotricha (asteraceae).* Mémoire de Magister en Chimie Organique. Université Hadj Lakhdar. Batna. 46p.
- 107. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), (2001).** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: eleventh informational supplement, M 100-Su. Wayne, PA, USA.
- 108. Nkhili, E.Z. (2009).** *Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant,* Thèse de doctorat, Université Cadi ayyad - Faculté des Sciences, Semlalia – Marrakech.

- 109. Ochoa, S.A; López-Montiel,F; Escalona,G; Cruz-Córdova,A; Dávila,L.B; López-Martínez, B.** (2013). Pathogenic characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* strains resistant to carbapenems associated with biofilm formation. *Bol Med Hosp Infant Mex* .70(2):133-144.
- 110. Pandey, K.B et Rizvi, S.I.** (2009). *Polyphénols végétaux comme antioxydants alimentaires dans la santé humaine et la maladie*. Médecine oxydative et longévité cellulaire. 2 (5). 270-278. doi:10.4161 / oxim.2.5.9498
- 111. Paris, M et Hurabielle.** (1981). *Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie*. Tome 1. Ed Masson. Paris.pp: 102-103-104-107.
- 112. Peeking, A., Picand, B., Hacene, K., Lokiec, F. et Guerin, P.** (1987). *Oligimères procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique*. Artères et Veines. Publications médicales AGCF, (6), 512-513.
- 113. Pénicaud, C.** (2009). *Etude et modélisation du couplage entre le transfert d'oxygène et les réactions d'oxydation dans les aliments au cours de leur conservation*. Thèse de Doctorat : Université de MONTPELLIERII.
- 114. Penssini G.L., Prado Dias Filho Celso B., Nakamura V., Cortez D.A.G.** (2003). Antibacterial activity of extracts and neolignans from *Piper regnelli* (Miq).C.D.C. var. *pallescens* (C.D.C). yunk. *Memorias do instituo Oswaldo Cruz*, **98**.
- 115. Pereira R. C., P. Da Gama B. A., Teixeira V. L., Yoneshigue-valentin Y. Y., Braz. J. Bio.** (2003), 63, (4), 667-672.
- 116. Perret, C.** (2001). *Analyse des tanins inhibiteurs de la Stilbénes, oxydase produite par Botrytis cinerea*. Thèse de doctorat. Université de Neuchâtel. Faculté des sciences.
- 117. Pietta, P.G.** (2000). *Flavonoids as antioxydants*. *Journal of natural products*.(63): 1035-1042.
- 118. Paulo C.C, Amanda M, Diogo A.S, Roney E.L, Fábio H.R.B, Aurélio Vinícius. B & Matildes. B** (2017) *Test de conductivité électrique pour l'évaluation de la qualité des plantes aromatiques et médicinales après séchage, Technique de séchage*, 36: 5, 545-556, DOI: [10.1080 / 07373937.2017.1347943](https://doi.org/10.1080/07373937.2017.1347943)
- 119. Ponce A.G; Fritz.R; Del Valle.C; et Roura.S.I .** (2003). Antimicrobial activity of oils on the native microflora of organic swiss chard. *Society of food Science and Technology* (Elsevier).36:679-684.
- 120. Poutaraud, A., Latouche, G., Martins, S., Meyer, S., Merdinoglu, D. et Cerovic, Z.G.** (2007). *Fast and local assessment of stilbene content in grapevine leaf by in vivo*

fluorometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55: 4913-4920.doi: 10.1021 / jf070348e.

121. **Poutrain, P.** (2008). *Etude de la régulation hormonale du métabolisme des alcaloïdes indoliques monoterpéniques chez Catharanthus roseus. Implication du calcium dans la transduction du signal induit par l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique*, Thèse de doctorat, Université François – Rabelais. Tours
122. **Quezel P., Santa S.** (1963). *Nouvelle Flore d'Algérie et des régions Désertiques Méridionales*. Tome II. CNRS. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique. Paris.
123. **Quezel, P., Santa, S.** (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*, Tome I. CNRS. Centre National de la Recherche Scientifique. Paris, 1170 p.
124. **Rahal S.** (2004) - *Chimie des produits naturels et des êtres vivants*. O.P.U. Edition. p.162
125. **Ramamoorthy, T.P.M.** (1993). *Eliot, Mexican Lamiaceae: Evolution, distribution, endemism*. In T.P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot and J. Fa (Editors) *Biological Diversity of Mexico: Origins and Distribution*. Oxford University Press, NewYork.
126. **Robert, D. W; Arkadiusz, D; Danuta, I; Malgorzata, K; Robert, K; Agata,K.D.**(2013).Susceptibility of Staphylococcus aureus Clinical Isolates to Propolis Extract Alone or in Combination with Antimicrobial Drugs.Molecules (18): 9623-9640. doi:10.3390/molecules18089623.
127. **Roux, D. & Catier, O.** (2007). *Botanique, Pharmacognosie et Phytothérapie*. Wolters Kluwer France Edition, p 74.
128. **Saxena, S., Bhardwaj, A.K., Kumar, V., Patel, M.K., Kumar, R.et Chaurasia, O. P.** (2018). *Sustainable Utilisation of Medicinal Plants of Ladakh and Lahaul-Spiti of trans-Himalaya*. Defence Life Science Journal, 3(2), 120-125. doi : 10.14429/dlsj.3.12566.
129. **Seaman, Fc.** (1982). *Sesquiterpenes Lactones As Taxonomic Characters In Asteraceae*. In The Botanical Review. Botanical Garden. (48): 121-594.
130. **Sharopov, F. S., Zhang, H., Wink, M. et Setzer, W. N.** (2015). *Aromatic Medicinal Plants from Tajikistan (Central Asia)*. Review.2, 28-46. doi:10.3390/medicines2010028.
131. **Stead, P; Silva, G. 1; Lee, I. S; Kinghorn, D. A. et Wright, A. E.** (1998). *Natural products isolation*, (éd. Canell, R. J. P.). Humana Press. Totowa. 473 pages.

132. **Sylvain, S.** (2010). *Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthe de Corse et de Kumquats*. Thèse de doctorat en Chimie. Université de Corse, Français.
133. **Tehami, W.** (2017). *Caractérisation Phytochimique Et Evolution Du Potentiel Antioxydant, Antimicrobien Et Anti-Inflamatoire De *Salvia Argentea** (Thèse De Doctorat). Université Djilali Liabes, Sidi Bel Abbès.
134. **The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition (M07-A9)*. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2012. Wayne, PA, USA.
135. **Touafek, O.** (2010). *Etude Phytochimique De Plantes Médicinales Du Nord Et Du Sud Algériens*. Thèse de doctorat. Université Mentouri-Constantine.
136. **Touré A, Bahi C** (2011) *Phytochemical screening and in vitro antifungal activities of extracts of leaves of *Morinda morindoides* (*Morinda*, *Rubiaceae*)* J Med Plants Res 5(31):6780–6. doi: 10.5897/JMPR11.1116
137. **Tsao, R.** (2010). *Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols*. Nutrients. (2). 1231-1246. doi: 10.3390/nu2121231, p 1232.
138. **Verpoorte, R; Alfermann, A.W.** (2000). *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht-Boston-London. 286p.
139. **Verhoeven, M. E., Bovy, A., Collins, G., Muir, S., Robinson, S., De Vos, C. H. R. et Colliver, S.** (2002). *Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the flavonoid biosynthesis pathway*. Journal of experimental botany. 53 (377): 209 -210.
140. **Vu T.D,** (2008). *Effet de l'environnement sur la croissance et l'accumulation de métabolites secondaires chez *Datura innoxia* Mill. Cultivé en conditions hors sol, impact des facteurs biotiques et abiotiques*, Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine.
141. **Wichtl, M. et Anton, R.** (2009). *Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Édition Lavoisier, Paris: 38, 41.
142. **Yakhlef G,** (2010). *Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L.* Mémoire de Magister, Université de Batna, Algérie, 110p.
143. **YALA, J-F., NTSAMESO-MVE-MBA, V., AZZIZET ISSEMBE, Y., LEPENGUE, N.A. et Alain SOUZA, A.** (2016). *Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Eryngium foetidum* récolté dans la ville de Franceville*. Journal of Applied Biosciences 103:9886 – 9893 ISSN 1997–5902

- 144. Yan, Q; Lopes, L.D; Shaffer, B.T; Kidarsa, T.A; Vining, O; Philmus; B.** (2018). *Secondary Metabolism and Interspecific Competition Affect Accumulation of Spontaneous Mutants in the GacS-GacA Regulatory System in Pseudomonas protegens*. mBio. 9 (1), e01845-17. doi.org/10.1128/mBio.01845-17.
- 145. Zachary,D.B.** (2015).The Unexhausted Potential Of E. Coli.The Natural History Of Model Organisms.Michigan State University, États-Unis. Doi: 10.7554/Elife.05826.001.
- 146. Ziegler, J., Facchini, P.J.** (2008). *Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking*. Annu Rev Plant Biol. (59): 735 – 769. doi: 10.1146 / annurev.arplant.59.032607.092730.

Annexe

Annexe

Tableau 01 : Liste des produits chimiques utilisés

Produits chimique	Formule brute
Ether de pétrole	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-CH}_3$
Ethanol	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$
Dichlorométhane	CH_2Cl_2
Méthanol	CH_3OH
Hexane	C_6H_{14}
Diméthylsulfoxyde (DMSO)	$\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$

Tableau 02 : Appareillages et leurs références.

Appareils	Références	
Agitateur magnétique		
Agitateur magnétique chauffant	AG500	
Rotary évaporateur	RE300	
Hotte		
Etuve	ES13304	
Autoclave	AR3055	

Annexe

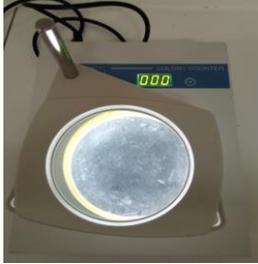
Spectrophotomètre		
Décompteur de colonie		

Tableau 03 : température d'ébullition des solvants (INRS)

Solvant	Température d'ébullition
Ether de pétrole	30-50°C
Ethanol	78-78,5°C
Dichlorométhane	39,8°C
Méthanol	64,5°C
Hexane	68,7°C

Tableau 04 : Composition de bouillon Muller-Hinton (BMH)

Ingrédients	Les mesures
Peptone de caséine	17,5 g
Extrait de viande	2,0 g
Amidon	1,5 g
Eau distillée	1 L
pH	7,4

Tableau 05 : Composition de gélose Muller-Hinton (MH)

Ingrédients	Les mesures
Milieu déshydraté	38,0 g
Eau distillée	1 L

Annexe

Tableau 06 : Composition de bouillon Sabouraud (BS)

Ingrédients	Les mesures
Tryptone	5,0 g
Peptone pepsique de viande	5,0 g
Glucose	20,0 g
Eau distillée	1 L
pH	5,7

Tableau 07 : Composition de Gélose dextrose de pomme de terre (PDA)

Ingrédients	Les mesures
Pomme de terre	200 g
Dextrose/Glucose	15,0g
Agar - agar	20,0 g
Eau distillée	1 L
pH	5,6