

---

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



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

## Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en Science Biologique  
Option : Microbiologie Appliquée

Présenté par :  
Melle. Saidi Sarra  
Melle. Merzouk Chahrazed

---

**Etude de l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile  
essentielle de la plante médicinale *Mentha suaveolens* de la région  
d'Aïn Temouchent**

Encadrant :  
M. Bennabi Farid  
Maitre de conférence "B" à C.U.B.B.A.T.

**Soutenu le 04 juin 2018**

Devant le jury composé de :

---

Président :	M. Cherif Nadjib (M.C.A)	C.U.B.B.A.T.
Examinatrice :	M <sup>me</sup> . Bentabet Nasrine (M.C.B)	C.U.B.B.A.T.
Examineur :	M. Mouedden Nasreddine Riad (M.A.A)	C.U.B.B.A.T.
Encadrant :	M. Bennabi Farid (M.C.B)	C.U.B.B.A.T.

---

# Remerciement

قال الله تعالى: "...هذا من فضل ربي ليبلونني اشكر أم أكفر.." [النمل 40]

Notre prophète Mohamed *que la prière et la paix d'ALLAH soient sur lui* a dit : « **celui qui ne remercie pas les gens ne remercie pas Allah** »

*Avant toute chose, nous remercions « ALLAH » le Tous Puissant, le Clément, le Miséricordieux, qui nous a faciliter de réaliser ce modeste travail, qui nous a ouvert les portes du savoir, qui nous a donné la patience et la force et la volonté de poursuivre nos étude.*

*Nous remercions très chaleureusement notre encadreur M. Bennabi Farid, pour nous avoir proposé ce intéressant sujet de fin d'études et pour ses conseils si précieux, sa gentillesse et sa compréhension tout au long de notre projet. Il n'est pas seulement notre promoteur mais également notre frère qui nous a donné l'exemple par ses comportements.*

*M.Mouedden Riad , C'est un plaisir pour nous d'accepter d'examiner notre travail, nous n'oublierons jamais votre disponibilité, vous trouverez nos remerciements les plus profonds.*

*Nous remercierons : M. Cherif Najib d'être le président de membre de juré notre mémoire.*

*M<sup>em</sup>. Bentabet Nesrin, d'avoir accepté d'examiner notre travail. Sincère remerciement.*

*Nos remerciements aussi à toute l'équipe de labo :*

*M<sup>em</sup>.Meftahi chokria, M. Mehammadi walid , pour leurs,gentillesse, encouragements, disponibilité et pour toute aide apportée.*

*M. Rahmani khaled, pour son aide, sa disponibilité. Leur conseil et encouragement durant la préparation de notre mémoire.*

*Nous remercierons : M. Azzouz d'avoir accepté de juger notre travail, c'est un grand honneur pour nous, malgré ses multiples occupation, Veuillez monsieur accepter, nos sentiments d'estime de respect et de reconnaissance.*

*Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont contribués de loin ou de près à la réalisation de ce mémoire.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à.....?*

*À ma très chère **maman**... Aucune expression, aussi élaborée qu'elle soit, ne pourrait traduire ma profonde gratitude et ma reconnaissance pour toutes ces années de sacrifices et de dévouement surtout celles de mes études. Ta patience, ton grand amour, ton soutien et tes encouragements sont et seraient pour toujours les secrets de ma réussite. Veux-tu trouver maman dans ce modeste travail le témoignage de mon éternel amour. « **Puisse Dieu, le très haut** », t'accorder santé, bonheur, longue vie et faire de sorte que jamais je ne te déçois.*

*À mon très cher **papa** ... Je ne trouverai des mots assez forts pour t'exprimer mon affection, mon estime et mon dévouement pour ta patience, ta compréhension, tes innombrables encouragements et tous les sacrifices que tu as consentis pour moi. Aucun mot ni expression ne suffiraient pour vous remercier et traduire mes bons fonds de sentiments d'amour et de respect. Puisses-tu cher papa trouvé dans ce modeste travail le fruit de tes efforts et tes sacrifices. « **Puisse Dieu** » t'accorder santé et longue vie.*

*À ma très chère sœur **Imene**... tes mots me touchent toujours en plein cœur, tu es pour moi le modèle idéal, mon appui et mon épaule, j'apprécie tellement ton soutiens. De ma profonde tendresse et amour je te souhaite une vie pleine de santé bonheur et succès. Que « **Dieu le tout puissant** » te protège et te réserve un bon avenir. À son mari **Abd el illah** et leurs petits adorables fils **Siradj Elddin et Firas**.*

*À ma très chère sœur **Samia**..... je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour toi, ton encouragements et soutien m'ont toujours été d'un grand secours, que ton droiture, ton sens de devoir, soient pour moi un exemple dans la vie. Que « **Dieu le tout puissant** » te protège et te réserve un bon avenir. À son mari **Abd krim** et leurs petits adorables fils **Salah et Insaf**.*

*À ma sœur **Amina** .... la seule qui occupe une place toute spéciale dans ma vie et dans mon cœur je ne trouve pas toujours les mots pour te remercier de l'amour que tu m'as témoigné au cours des années, et du soutien extraordinaire que tu m'as offert, tu as toujours été là avec moi où il faut et quand il faut.. Je te souhaite tout le bonheur du monde et une vie pleine de santé et succès comme tu le souhaites.*

*À ma petite sœur **Yousra Ines** .... qui signifie tant pour moi, merci de rendre notre famille encore plus spéciale, merci pour toute l'ambiance dont tu m'as entouré, pour toute la spontanéité et ton élan chaleureux, puisse dieu le tout puissant exhausser tous tes vœux.*

*À **Belgacem Ahlem**.....la plus magnifique de mes cousines. Tu es à la fois ma cousine, ma sœur et mon amie proche. Je n'oublierais jamais les bons moments qu'on a vécu ensemble. Je te remercie pour tes encouragements et tes conseils. Que **Dieu** te garde pour moi.*

*À ma chère sœur celle avec j'ai partagé ce bout de chemin "**Chahrazed**" tu es un cadeau précieux. Merci pour tout et je n'oublierai jamais les agréables moments qui nous avons passé ensemble. Que « **Dieu le tout puissant** » te protège et vous réserve un bon avenir.*

*À ma chère amie **Nahid** ..... que Dieu m'a donné sur le chemin de l'aventure. que dieu te garde pour moi.*

*À la mémoire de mes grands parents : **Bousif et Djelloul** et ma grande mère **Zineb**... En reconnaissance de votre amour et de votre tendresse. « **ALLAHEMA Irhamhem** ».*

*À ma grande mère **Yamina**... À toute la famille **Saidi**... À toute la famille **Kechkeche***

*À toutes mes cousins et cousines avec qui j'ai passé les plus beaux moments de ma vie ; **Mbarka , fatima , Khadidja , Wissem et kamel** mes confidentes.*

*À toutes mes salutations à tous **mes collègues** de la promotion de microbiologie appliqué 2018 pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.*

*À tous **mes professeurs de l'université**, et à toutes les personnes qui m'ont aidée de loin*

*Ou de prêt et que j'ai omis de citer.*

*Sarra*

## *Dédicace*

*Je dédie humblement ce modeste travail à les plus chères du monde.*

*À mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance, sans eux je n'ai pas pu être ce que je suis, grâce à leur amour, leurs efforts, leur éducation Et surtout leurs sacrifices et encouragement durant toute ma vie, que je dédie aujourd'hui le fruit de ton dévouement Je vous aime énormément.*

*À la mémoire de ma grande mère et mon grand père.*

*À ma grande mère et mon grand père, pour leurs prières. que dieu les sauvegardent.*

*À mon trié cher frère Salah Eddine, tu le frère idéal pour moi, je te souhaite que de succès à ta vie.*

*À la plus adorables jumelles de monde mes sœurs Merieme et Safia pour leur amour et leur soutien, je vous souhaite que de bonheur à leurs vie. je vous aime du fond de mon cœur.*

*À mon frère Mohammed, que dieu le garde.*

*Au chouchou de la famille Mostapha. je vous aime mon petit.*

*À mon fiancé Abdessamed, pour leur encouragement. Que dieu te garde pour moi.*

*Une spéciale dédicace pour tous mes tantes et mes oncles mes cousins mes cousines pour leur amour et leur soutien que dieu les protègent.*

*À tous les membres de la famille Merzouk,*

*À ma belle famille.*

*À ma chère copine Sara, pour leur bonne compagnie au cours de ce chemin, avec des beaux souvenirs qui perpétué par notre amitié, je te souhaite que de bien et de bonheur à ta vie.*

*À tout mes chères amies :Imen ,Zineb, Amina , Nesrin ,Hadjer ,Hayat ,Faiza, Khadija ,  
houda , Sakina ,Nahed , je vous aimez.*

*À mes frères et sœurs que Dieu m'a donné sur le chemin de l'aventure.*

*Chahrazed*

## Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

<b>Introduction</b> .....	01
<b>Première partie : synthèse bibliographique</b> .....	03
<b>Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles</b>	
1. historique.....	03
2. Définition.....	03
3. Production mondiale des huiles essentielles.....	04
4. Localisation de l’H.E. Dans la plante.....	05
5. Le rôle des huiles essentielles.....	05
6. Propriétés physiques.....	05
7. Composition chimique.....	06
8. Facteurs influençant la composition chimique.....	07
8.1. Les facteurs intrinsèques.....	07
8.2. Les facteurs extrinsèques.....	08
9. Toxicité des huiles essentielles.....	08
10. Activité biologique des huiles essentielles.....	09
10.1. Activité antibactérienne.....	09
10.2. Activité antiviral.....	09
10.3. Activité antifongique.....	09
10.4. Activité antiseptique.....	10
10.5. Activité antiparasitaire.....	10
10.6. Activité antioxydant.....	10
11. Méthode d’extraction des huiles essentielles.....	11
11.1. Choix de la méthode d’extraction.....	11
11.2. Les méthodes d’extraction.....	11
11.2.1. La distillation.....	12
11.2.2. Hydrodistillation.....	12
11.2.3. Entraînement à la vapeur d’eau.....	13
11.2.4. L'hydrodiffusion.....	14
11.3. Autres procédés.....	15

11.3.1. L'extraction par les solvants volatils.....	15
11.3.2. Extraction au CO2 supercritique.....	16
11.3.3. L'extraction par micro-ondes sous vide.....	18
12. Mode d'action des huiles essentielles.....	19
12.1. Mode d'action antibactérienne.....	19

## **Chapitre II : Généralité sur *Mentha suaveolens***

1. Famille des lamiacée.....	20
2. Description de la plante.....	20
3. Répartition géographique de l'espèce.....	20
4. Taxonomie.....	21
5. L'huile essentielle de <i>Mentha suaveolens</i> .....	21
6. Usage de <i>Mentha suaveolens</i> .....	22

## **Deuxième partie : partie expérimentale**

### **Matériel et méthodes**

1. Matériel végétal.....	24
2.1. Choix de la plante.....	24
2.2. Collecte du matériel végétal.....	24
2.2.1. Récolte, situation géographique et préparation des échantillons.....	24
3. Extraction d'huile essentielle.....	26
3.1. Extraction par l'hydro distillation .....	26
3.2. Protocole opératoire d'hydrodistillation.....	27
3.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue.....	27
4. Détermination de rendements en huile essentielle.....	27
5. Analyse d'huile essentielle.....	28
5.1. Analyse des propriétés organoleptique.....	28
5.2. Analyse Physique.....	28
5.2.1. Détermination de la densité.....	28
5.2.2. Détermination de l'humidité.....	28
6. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	29
6.1. Activité antibactérienne .....	29
6.1.1. Matériels.....	29
6.2. Méthode en milieu solide.....	30



6.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode d'aromatogramme..	30
6.3. Méthode des micro-dilutions en milieu liquide.....	32
6.3.1. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) .....	32
6.3.2. Méthode de micro-dilution .....	32
7. Activité antifongique .....	33
7.1. Matériels.....	33
8. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) et Fongicide (CMF)..	34
8.1. Caractère bactéricide et bactériostatique.....	34
9. L'interaction synergique de l'huile avec quelque antibiotique .....	35
 <b>Résultats et discussion</b>	
1. Analyses d'huile essentielle.....	36
1.1. Paramètres organoleptiques d'huile essentielle.....	36
1.2. Caractéristiques physiques de l'huile essentielle.....	36
2. Rendement d'extraction.....	38
3. Activité antibactérienne d'huile essentielle.....	40
3.1. Évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque	40
3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	43
3.3. Détermination de la concentration minimale bactéricide en milieu solide.....	45
4. Qualification de l'activité antibactérienne de l'HE.....	49
5. L'interaction synergique entre l'huile essentielle et quelque antibiotique.....	50
6. Activité antifongique d'huile essentielle.....	53
6.1. Évaluation de l'activité antifongique par la méthode de diffusion sur disque.....	53
6.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice et fongicide.....	55
7. Détermination de rapport CMF /CMI.....	56
<b>Conclusion</b> .....	57
<b>Perspective</b> .....	59
<b>Référence bibliographique</b> .....	60
 <b>Annexes</b>	

# Liste des abréviations

**µg** : **Micro** - Gramme

**µl** : **Micro** - litre

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**AMC** : Amoxicilline

**AMH** : Agar de Mueller Hinton

**AMP** : Ampicilline

**ATCC** : American Type Culture Collection

**CIP** : Ciprofloxacine

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide

**CMF** : Concentration Minimale Fongicide

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**CTX** : Céfotaxime

**d** : densité

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**DO** : Densité Optique

**E** : Erythromycine

**GEN** : Gentamicine

**GN** : Gélose nutritive

**HE** : Huile Essentielle

**m** : masse d'huile

**Mf** : Masse fraiche

**MHB** : Bouillon Mueller Hinton

**M<sub>HE</sub>** : Quantité d'extrait récupère

**MI** : Millilitre

**mm** : Millimètre

**Ms** : Masse sèche

**MS** : *Mentha Sauveolens*

**n** : Nanomètre

**R<sub>HE</sub>** : Rendement de l'Huile Essentielle

**T(N)** : Témoin négatif

**T(p)** : Témoin Positif

**TE** : Tétracycline

**UFC** : Unité Formant Colonie

**V** : Volume d'huile

# Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Structure chimique de l'isoprène.....	06
<b>Figure 02</b> : Les étapes de l'obtention de l'huile essentielle. ....	11
<b>Figure 03</b> : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile essentielle. ....	12
<b>Figure 04</b> : Appareillage utilisé pour l'extraction par l'entraînement à la vapeur. ....	14
<b>Figure 05</b> : L'extraction par hydrodiffusion.....	15
<b>Figure 06</b> : Les différents types d'extraction par solvants volatils. ....	16
<b>Figure 07</b> : Procédé d'extraction au CO <sub>2</sub> supercritique. ....	17
<b>Figure 08</b> : Appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes.....	18
<b>Figure 09</b> : Sites et mécanismes d'action des huiles essentielles et de leurs composants sur la cellule bactérienne.....	19
<b>Figure 10</b> : taxonomie de <i>Mentha suaveolens</i> .....	21
<b>Figure 11</b> : Situation géographique de la région de Sidi Safi.....	25
<b>Figure 12</b> : zone de récolte de <i>M. suaveolens</i> .....	25
<b>Figure 13</b> : Le montage utilisé pour l'extraction d'huile essentielle ....	26
<b>Figure 14</b> : Représentation graphique de taux d'humidité de <i>M.suaveolens</i> ....	36
<b>Figure 15</b> : Représentation graphique de rendement d'huile essentielle <i>M.suaveolens</i> .....	38
<b>Figure 16</b> : Représentation graphique de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle <i>M.suaveolens</i> par la méthode de diffusion sur disque ....	41
<b>Figure 17</b> : Représentation graphique des CMI de huile essentielle <i>M.suaveolens</i> relative aux souches bactériennes ....	44
<b>Figure 18</b> : Représentation graphique des CMB d'huile essentielle <i>M.suaveolens</i> relative aux souches bactériennes.....	45
<b>Figure 19</b> : Représentation graphique résultats de l'interaction synergétique <i>M.suaveoles</i> avec les antibiotiques testés ....	51
<b>Figure 20</b> : Représentation graphique des résultats de l'activité antifongique d'HE <i>M.suaveolens</i> par la méthode des disques.....	54
<b>Figure 21</b> : Représentation graphique de CMI et CMF d'HE <i>M.suaveolens</i> relative a la souche fongique ....	55

# Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : le marché mondial des huiles essentielles.....	04
<b>Tableau 02</b> : Date et lieu de récolte de la plante <i>M.suaveolens</i> .....	24
<b>Tableau 03</b> : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle <i>M.suaveolens</i> .....	36
<b>Tableau 04</b> : Caractéristique physique d'huile essentielle <i>M.suaveolens</i> .....	36
<b>Tableau 05</b> : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle <i>M.suaveolens</i> réalisé par la méthode de diffusion sur disque.....	40
<b>Tableau 06</b> : Résultats de l'activité antimicrobienne de huile essentielle <i>M. suaveolens</i> réalisé par la méthode de CMI.....	43
<b>Tableau 07</b> : Le rapport CMB/CMI relative aux quatre souches bactériennes.....	44
<b>Tableau 08</b> : Résultats de l'interaction synergétique d'huile <i>M.suaveolens</i> les avec les antibiotiques testé.....	50
<b>Tableau 09</b> : Résultats de l'activité antifongique d'HE <i>M.suaveolens</i> réalisé par la méthode de diffusion sur disque .....	53
<b>Tableau10</b> : Résultats de l'activité antifongique d'HE <i>M.suaveolens</i> réalisé par la méthode de CMI.....	55
<b>Tableau 11</b> : Le rapport CMF/CMI relative à la souche fongique.....	57



# *Introduction*

L'histoire des Plantes Aromatiques et Médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples, montre que les plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. L'homme utilise les plantes depuis des milliers d'années, pour traiter divers maux. Le monde végétal est à l'origine d'un grand nombre de médicaments **(Lahrech, 2010)**.

A partir des années 80, les plantes médicinales ont fait un retour en force. Plusieurs facteurs sont derrière ce regain d'intérêts tels que, le coût moins élevé que les médicaments conventionnels, la relative disponibilité surtout dans les régions éloignées, la méfiance vis-à-vis des produits de synthèse ou tout simplement l'envie de consommer "Bio" **(Bonih, 2016)**, aussi les études qui prouvent leurs efficacité pour éradiquer les maladies et les prévenir.

En effet, elles sont bénéfiques par leurs effets biologiques : antibactérien sans développement de phénomène de résistance, antioxydant, activateur du système immunitaire, stimulateur des processus de digestion **(Guillier et al., 2007)**.

Le pouvoir de guérison chez les plantes médicinales appartient à l'effet des extraits et des huiles essentielles, qui sont des mélanges de composés volatils, naturels et complexes caractérisés par une forte odeur. Ils proviennent du métabolisme secondaire de la plante, formé dans des cellules spéciales ou des groupes de cellules ou dans les poils glandulaires trouvés sur de nombreuses feuilles et tiges **(Božović et al., 2015)**.

Le genre *Mentha*, qui comprend 20 espèces réparties dans le monde entier, appartient à la famille des Lamiaceae .Il comprend des plantes herbacées vivaces, communes dans les climats tempérés de la région méditerranéenne, d'Australie et d'Afrique du Sud **(riahi et al., 2013)**, De plus, il est bien documenté que l'huile essentielle de *Mentha* possède des propriétés antimicrobiennes, fongicides, antivirales, propriétés insecticides et antioxydants. L'importance économique des Monnaies est aussi évident, l'huile de menthe et ses constituants et dérivés sont utilisés comme agents aromatisants dans le monde entier dans l'industrie alimentaire, pharmaceutique, à base de plantes, de parfumerie et d'aromatization **(Brahmi et al., 2017)**.



Il existe de nombreuses espèces de mentha dont certaines L'espèce de *Mentha suaveolens*. La médecine traditionnelle locale utilise la plante entière, connue sous l'appellation de (Timarssat), pour traiter divers pathologie. Cette drogue végétale est connue depuis l'antiquité pour ses propriétés médicinales, et surtout son efficacité contre les douleurs d'estomac et l'abaissement de la fièvre. C'est pourquoi, nous nous somme intéressé à étudier une plante, poussant à l'état spontané dans la région d'Ain Témouchent, et qui est plus fréquemment employée par la population locale

C'est dans ce contexte que se situe l'objet de notre travail et qui porte sur l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle de la plante médicinale *mentha suaveolens* et la recherche d'un effet synergique entraine une meilleure efficacité antibactérienne afin de s'en servir dans divers domaines : médical, pharmaceutique, industriel.

*Synthèse*  
*bibliographique*

## **1. Historique**

Depuis longtemps, l'homme avait cherché le moyen de séparer les éléments huileux des produits aromatiques. Il réussit en soumettant la matière à l'action de la chaleur, les substances aromatiques étaient transformées en vapeur, il suffisait de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide. Ce procédé prit le nom de distillation il était certainement connu chez plusieurs civilisations depuis 20 siècles avant Jésus-Christ (**Bousbia, 2011**).

Selon (**Ntezurubanza, 2000**) l'histoire de l'aromathérapie, qui est celle des huiles essentielles peut se résumer en quatre époques :

- L'époque où les plantes aromatiques étaient utilisées telles quelles ou en infusion ou en décoction.
- En suite celle, dans laquelle les plantes aromatiques étaient brûlées ou mises à infuser ou à macérer dans une huile végétale.
- La troisième époque l'apparition de concept "HE" qui aboutit à la création et au développement de la distillation.
- la dernière caractérisée par la connaissance des composants des HE et l'explication des effets physiques, chimiques, biochimiques, physiologiques, voire électroniques des arômes végétaux.

Chaque peuple a apporté son génie à l'art des arômes et des parfums car dans toutes les civilisations antiques les essences sont là pour purifier l'esprit, protéger le corps, élever l'âme, et régénérer l'être (**Verbois, 2004**).

## **2. Définition**

Ce sont des extraits volatiles et odorants que l'on extrait de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau, pressage ou incision des végétaux qui les contiennent. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous produits du métabolisme secondaire. Les huiles essentielles sont des composés liquides très complexes elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers (**Benayad, 2008**).

Ils sont un mélange complexe de plusieurs composés d'arômes volatiles qui appartiennent aux différentes classes de la chimie organique : phénols (ex : carvacrol), hydrocarbures (composés terpéniques comme le limonène), alcools (ex : linalol), aldéhydes (ex :

cinnamaldéhyde), cétone (ex : menthone), esters (ex : acétate de linalyle) et éthers (**Oussalah et al., 2007**).

La norme française AFNOR NF T75-006 définit l'huile essentielle comme : «un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, et qui sont séparés de la phase aqueuse par procédés physiques » (**Garnero, 1996**).

### **3. Production mondiale des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont valorisées principalement sur les marchés de l'aromathérapie, de la parfumerie et de la cosmétique. Elles peuvent, soit rentrer dans la composition de produits élaborés (savons, crèmes, parfums, bougies), soit être utilisées à l'état pur. Elles sont recherchées pour leurs propriétés odorantes ou thérapeutiques. Les principaux marchés de consommation sont les pays développés qui représentent 80% des débouchés mondiaux (Europe 30 %, Japon et Amérique du Nord 50 %) (**USAID, 2008**).

La production de ces huiles est estimée à environ 50 000 tonnes et le marché représente 700 millions de dollars ( Basset ,1995, meyer ,1997 ,verlet , 1997 ) près de 65% de la partie d'arbres ou arbustes cultivés (tableau 01) ou présents à l'état sauvage dans la nature floristique, les plantes non arbustives qui représentent le reste de la production de 35 % sont en majorité cultivée (**lucc, 1982**) .

**Tableau (01) : le marché mondial des huiles essentielles (Mafleh, 2015)**

Marché mondial des huiles essentielles			
Marché	Marché mondial(En Milliards d'euros)	Part des importations	Part des exportations
Europ de l'ouest	35	49%	65%
Etats-unis & canada	35	-	15%
Japon	14	-	5%
Europ de l'est	5	8%	2%
Méditerrané	2	3%	1%

#### **4. Localisation des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal et surtout chez les végétaux supérieurs, il y aurait 17500 espèces aromatiques (**Benkada et al., 1990**), elles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante, sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules ou se rassemblent sous forme de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles (**Bouamer et al., 2004**). Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles (Lauracée), dans des poils sécrétrices (Lamiacée), dans des poches sécrétrices (Myrtacée), dans des canaux sécrétrices (Astraceae) (**Belkou et al., 2005**).

Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur caractère lipophile et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air (**Bruneton, 1993 ; Anton et Lobstein, 2005**).

#### **5. Rôle des huiles essentielles**

Les huiles essentielles constituent un moyen de défense naturel contre les insectes prédateurs et les microorganismes, où les plantes productrices résistent à plusieurs pathologies fréquentes chez les autres familles végétales (**Mann, 1987**).

Par les essences produites, qui sont des molécules chimiques naturelles, ayant une implication anti-germinative. Elles sont tout aussi bien élaborées lorsqu'il y a danger, par exemple quand la plante est attaquée par des prédateurs (herbivores) (**Verbois, 2001**).

#### **6. Propriétés physiques des huiles essentielles**

Les huiles essentielles partagent plusieurs propriétés physiques malgré leur constitution différente, généralement elles sont présentes sous forme liquide et à une température ambiante, aussi les huiles essentielles caractérisées par leur grande volatilité contrairement aux huiles fixes leurs teintes sont généralement comprises, dans une gamme allant de l'incolore, à jaune pâle (**Faye et al., 1997**). À la présence de la lumière, les huiles essentielles s'oxydent et se résinifient en absorbant de l'oxygène, et leurs odeurs se modifient, leurs points d'ébullition augmentent et leurs solubilités diminuent (**Duraffourd et al., 1990**).

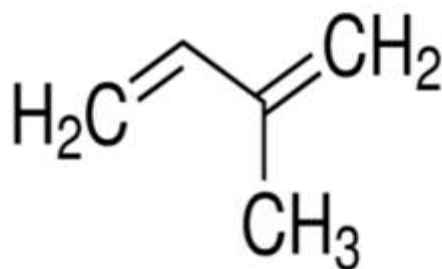
## 7. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont un mélange de constituants qui appartiennent à trois catégories de composés : terpénique, aromatique et composé d'origine variée (Ouis, 2015).

### 7.1. Les terpènes

Des composés largement répandus dans le règne végétal, caractérisés par la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone à la formule générale  $(C_5H_8)_n$  (Lamarti et al., 1994).

Figure (01) : Structure chimique de l'isoprène



### 7.2. Les monoterpènes

Dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%) sont les plus simples constituants des terpènes (Padua et al., 1999), ils comportent deux unités isoprène ( $C_5H_8$ ) selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acyclique, monocyclique ou bicyclique.

### 7.3. Les sesquiterpènes

Ce sont des dérivés hydrocarbures de formule  $C_{15}$ . Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, acycliques, monocycliques, bicyclique, tricyclique, polycyclique (Bakkali et al., 2008). Ils sont moins volatils et présentent des points d'ébullition plus élevés que les monoterpènes (Baser et Buchbauer, 2010).

#### 7.4. Les Composés aromatiques

Dérivés du phénylpropane (C6-C3), ils sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Constitué d'un noyau aromatique lié à une chaîne de trois carbonées (**Bruneton, 1993**).

Sont des composés responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles, nous pouvons citer en exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou de girofle (**Teisseire, 1991**).

#### 7.5. Les composés d'origines variées

En général ; les composés d'origine variée de faible masse moléculaire, entraînant lors de l'hydrodistillation sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée Porteur de différentes fonctions (**Ouis, 2015**).

Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras, de terpènes. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister, mais sont rares (**Bruneton, 1999**).

### 8. Facteurs influençant la composition chimique

Plusieurs facteurs peuvent influencer le rendement des huiles essentielles ainsi que leurs compositions chimiques. Certains facteurs sont relatifs à la plante productrice, d'autres sont en relation avec son environnement et d'autres sont liés aux conditions de l'extraction et de stockage.

#### 8.1. Les facteurs intrinsèques

**Facteur structurel :** le potentiel et la composition de l'essence dépendent de l'organe. Ainsi la racine, l'écorce et les feuilles peuvent produire des HE différents (**Pingot, 1998**).

**Facteur évolutif :** le cycle de la plante (des poussées de biosynthèse engendrent une accumulation plus ou moins importante de certains constituants des chaînes métaboliques au cours des saisons, des mois, voire des journées. Le profil chimique de l'huile essentielle de menthe, par exemple, peut être différent au cours de la journée (**Wichtl et al., 1999**).

**Facteur génotypique :** Les variations de la composition des HE provenant d'un même phénotype se développant dans le même environnement sont l'expression de différences génotypiques. Elles peuvent être attribuées à des hybridations, à un polymorphisme génétique ou à des mutations (polyploïdies, aberration chromosomique) (**Abdelazize, 2013**).

## 8.2. Les facteurs extrinsèques

La composition et le rendement des huiles essentielles est influencé par différents facteurs telle que la méthode d'extraction (**Besombes, 2008**) et le stockage des matières premières avant distillation (**Huang et al., 1995**).

Les conditions environnementales peuvent influencer le rendement et la qualité des huiles essentielles, dans les mois à basse température et de la courte photopériode, la production des composés volatils sont réduits. De plus, plusieurs phytopathologies sont responsables d'une instabilité de production des huiles essentielles (**Boira et Blanquer, 1998**).

## 9. La toxicité des huiles essentielles

Comme tous les produits naturels, les huiles essentielles peuvent causer des risques lors de leur utilisation.

Certains auteurs basent sur la composition chimique essentielle et les toxicités relatives des familles biochimiques auxquelles elles appartiennent (**Franchomme et al., 1990 ; Mailhebiau, 1994**) donc il est important de respecter la posologie et la durée de la prise.

Parmi ces effets, citons : des allergisants ou hyper sensibilisants, photo sensibilisants dus aux furocoumarines, neurotoxiques dus aux cétones, néphrologiques dus aux terpènes majoritaires dans l'huile essentielle de Térébenthine et des rameaux de Genévrier, hépatotoxiques dus aux phénols pris pendant des laps de temps trop importants ou à doses massives L'eugénol (**Eisenhut, 2007 in Elkolli, 2008**) aussi l'application des huiles essentielles sur la peau est dangereux en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) (**Smith et al., 2000**).

De plus certaines huiles essentielles se révèlent cytotoxiques selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact. A titre d'exemple : (la toxicité du thym est augmentée par contact en phase liquide et réduite en phase gazeuse, alors que c'est l'inverse pour la lavande)(**Inouye, 2003**).



## **10. Activités biologiques des huiles essentielles**

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques incluant les activités antimicrobiennes, antifongiques antiseptiques, antivirales, antiparasitaires antioxydants. Plus récemment, les activités anticancéreuses (**Valnet, 2005**).

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. C'est à dire l'ensemble de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (**Lahlou, 2004**).

### **10.1. Activité antibactérienne**

La complexité de la composition des huiles essentielles a un effet très important sur les activités antibactériennes.

Les phénols (carvacrol, thymol) possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé, suivi des monoterpénols (géraniol, menthol, terpinéol), aldéhydes (néral, géranial) (**Benayad, 2008**).

### **10.2. Activité antivirale**

Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des Problèmes non résolubles aujourd'hui, certaines HE ont la capacité de traiter ces maladies infectieuses (**Benayad, 2008**).

Les phénylpropanoïdes et les sesquiterpènes présents dans les huiles essentielles contribuent à leur activité antivirale (**Astani et al., 2011**).

### **10.3. Activité antifongique**

l'activité antifongique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (**Voukou et al., 1988**) est estimée à la grande complexité de la composition des HE, les phénols sont plus antifongiques que les aldéhydes et elle décroît selon le type de la fonction chimique: Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Esters > Hydrocarbures (**Utree et al., 2002**) parmi les aldéhydes, le cinnamaldehyde est le plus actifs (**Yen et Chang, 2008**).

#### **10.4. Activité antiseptique**

Les aldéhydes et les terpènes sont réputés pour leurs propriétés désinfectantes et antiseptiques et s'opposent à la prolifération des germes pathogènes (**Verbois, 2001**).

#### **10.5. Activité antiparasitaire**

Les huiles essentielles à phénols ont une action très efficace sur les parasites (**Astani et al., 2011**).

#### **10.6. Activité antioxydante**

Un antioxydant c'est toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (**Astani et al., 2011**).

Le pouvoir antioxydant des ES est développé comme substitut dans le domaine alimentaire. Car les antioxydants sont capables d'empêchant la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés du produit alimentaire (**Miguel, 2010**), les phénols et les polyphénols sont responsables de ce pouvoir (**Richard, 1992**).

Ils piègent les radicaux libres en inhibant les réactions à l'intérieur des cellules provoquées par les molécules de dioxygène et de peroxyde (**Benbrook, 2005**).

## 11. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

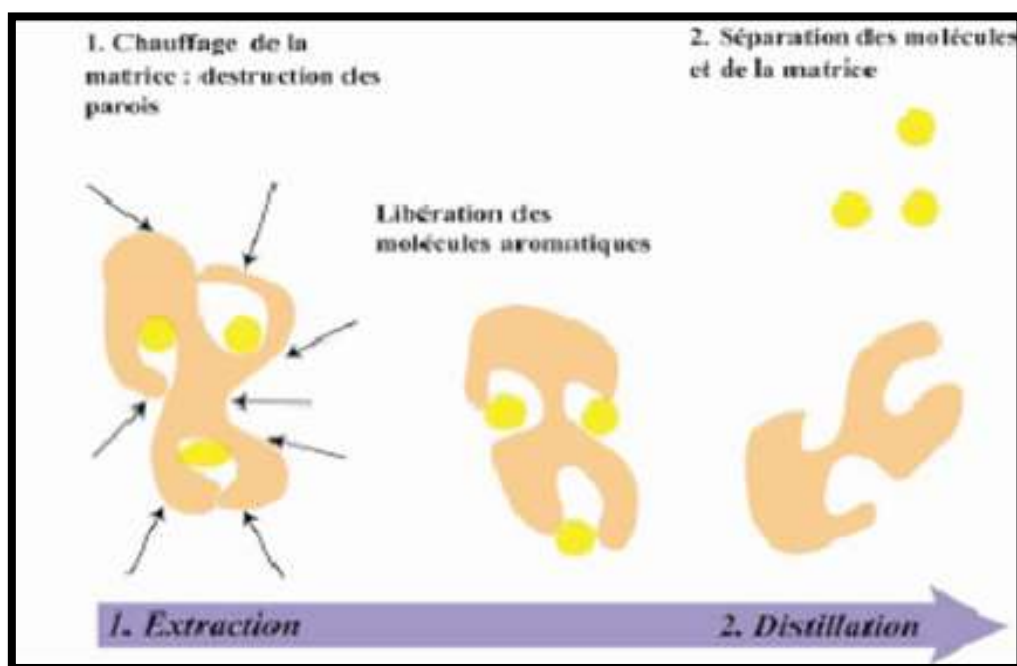
### 11.1. Choix de la méthode d'extraction

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des processus d'obtention délicate. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte (Fernandez et Cabrol-Bass, 2007 in Bousbia, 2011).

### 11.2. Les méthodes d'extraction

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origines végétales restent identiques, quelque soit le type d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation comme cela est explicité dans la figure (Lucchesi, 2005).

**Figure (02) :** les étapes de l'obtention d'une huile essentielle (LUCCHESI, 2005)



Il existe plusieurs techniques d'extraction les plus importantes peuvent être résumées comme suit :

### 11.2.1. La distillation

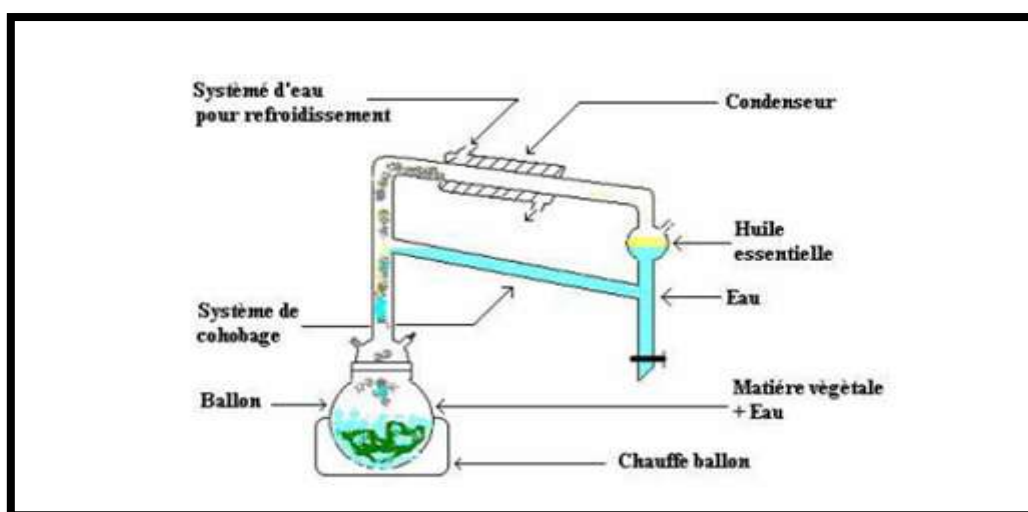
La technique d'extraction des huiles essentielles utilisant l'entraînement des substances aromatiques grâce à la vapeur d'eau est de loin la plus utilisée à l'heure actuelle. La méthode est basée sur l'existence d'un azéotrope de température d'ébullition inférieure aux points d'ébullition des deux composés, l'huile essentielle et l'eau, pris séparément. Ainsi, les composés volatils et l'eau distillent simultanément à une température inférieure à 100 °C sous pression atmosphérique normale (Piochon, 2008).

Il existe trois différents procédés utilisant ce principe: l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau.

### 11.2.2. Hydrodistillation

C'est la méthode la plus employée et le plus simple pour extraire les huiles essentielles. La plante est mise en contact direct avec l'eau dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel, le tout est ensuite porté à l'ébullition, les vapeurs formées sont condensées par un système de réfrigération par courants d'eau ensuite les huiles se séparent de l'eau par différence de densité en une phase aqueuse et une phase organique.

Figure (03): Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile (Ochoa, 2005)



Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau l'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique, et comme les HE sont insolubles dans l'eau, mais soluble dans la vapeur, lorsqu'on envoie de la vapeur d'eau sur la plante, elle se charge au passage des huiles (**Fasty, 2007**).

Cette méthode est généralement utilisée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des feuilles et des fleurs fraîches ou séchées (**Bouhaddouda, 2016**).

La durée d'une hydro distillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement, mais également sur la composition de l'extrait.

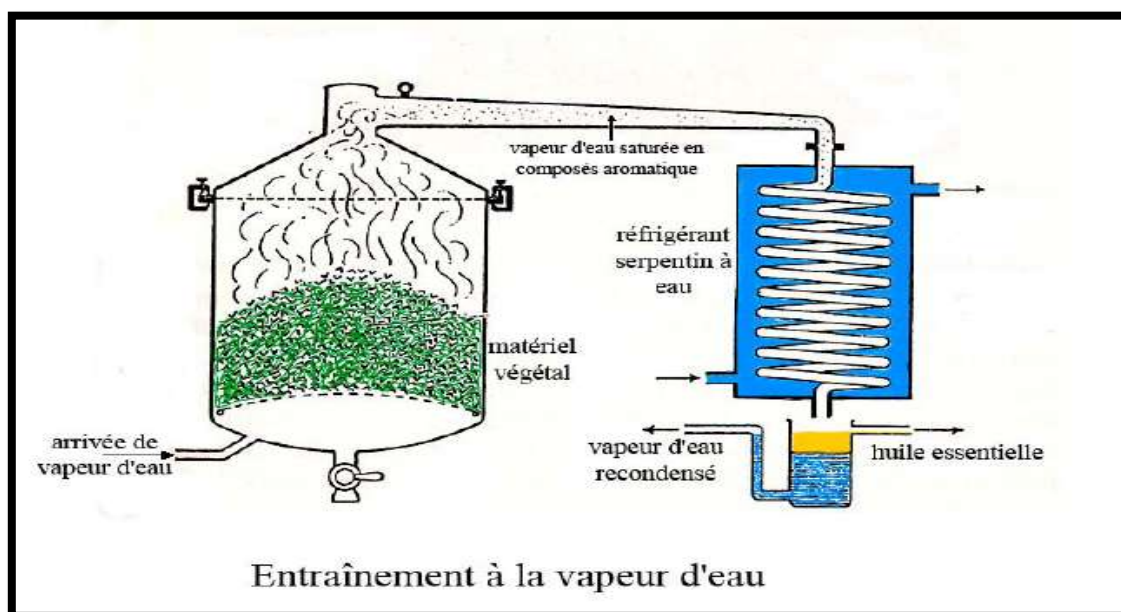
Cependant, à cause de l'eau, de l'acidité, de la température du milieu, il peut se produire des réactions d'hydrolyse, de réarrangement, de racémisation, d'oxydation, d'isomérisation, etc... qui peut très sensiblement conduire à une dénaturation (**Brian, 1995**).

### **11.2.3. Entraînement à la vapeur d'eau**

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter ce qui permet de éviter certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

Dans cette méthode de distillation la matière végétale située au-dessus d'une grille est traversée par un contact de vapeur d'eau durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation. (**Bruneton, 1993**) La partie contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation (ou hydrolat ou eau florale), on recueille alors un mélange de composition défini de ces deux produits (**Dastmalchi et al., 2008**).

Figure (04) : appareillage utilisé pour l'extraction par l'entraînement à la vapeur



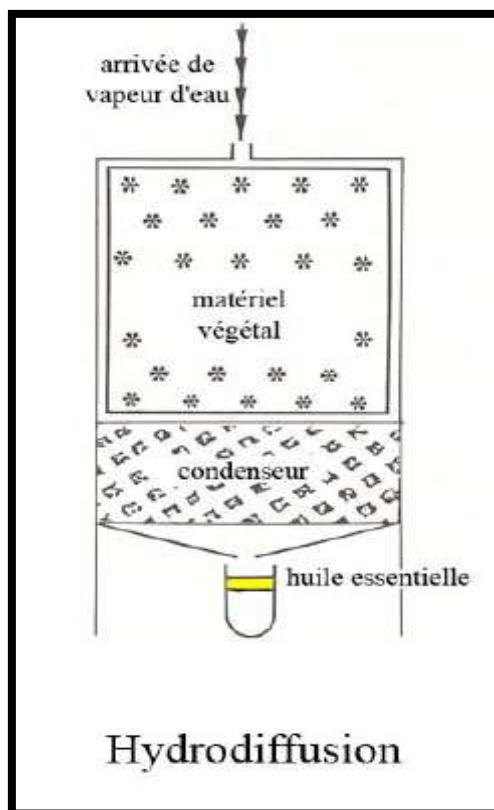
Son avantage est que les altérations de l'huile essentielle recueillie sont minimisées (Brian, 1995).

Cette méthode est utilisée dans la distillation à partir de plantes fraîches telles que la menthe et les plantes qui portent leurs huiles essentielles dans les feuilles. Puisque la plante fraîche est riche en eau, donc il n'est pas nécessaire de l'immerger (Bouhaddouda, 2016).

#### 11.2.4. L'hydrodiffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant (Kesbi, 2011).

Figure (05) : l'extraction par hydro diffusion



L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, donc moins dommageable pour les composés volatils, l'économie du temps, et d'énergie et la réduction de la consommation de vapeur (**Roux, 2008**).

### 11.3. Autres procédés

D'autres procédés sont utilisés le plus souvent pour les plantes délicates qui ne supportent pas la chaleur.

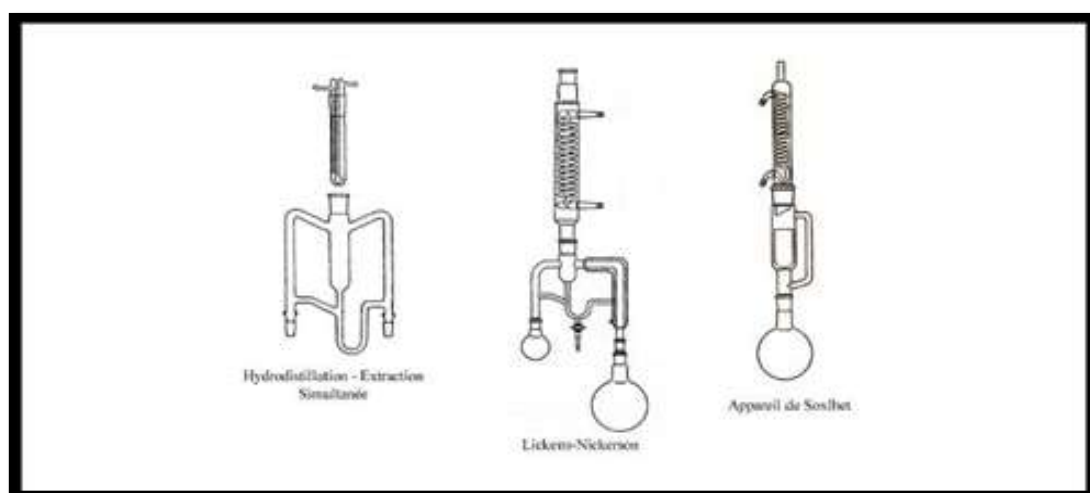
#### 11.3.1L'extraction par les solvants volatils

Certaines huiles essentielles ont une densité voisine de l'eau et le procédé par distillation à la vapeur d'eau ne peut être dans ce cas utilisé le principe consiste à faire macérer la plante dans le solvant à froid afin de faire passer les substances odorantes dans le solvant (**Ouis, 2015**).

Cette technique consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique (**El haibe, 2011**).

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone (**Legrand, 1993 ; Dapkevicius et al., 1998 ; Kim et Lee, 2002**), ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau.

**Figure (06) :** les différents types d'extraction par solvants volatils



L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants leur manque de sélectivité peuvent entrainer de ce fait de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines) dans le mélange pâteux et imposer par conséquent une purification ultérieure (**Shellie et al., 2004**) et en second lieu, à la toxicité des solvants et leur présence sous forme de traces résiduelles dans l'extrait final (**Bruneton, 1999**), les problèmes de sécurité ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement (**Lagunez, 2006**).

### 11.3.2. Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique

L'extraction par gaz liquéfié ou par fluide à l'état supercritique met en œuvre, généralement le dioxyde de carbone (**Aghel et al., 2004**).

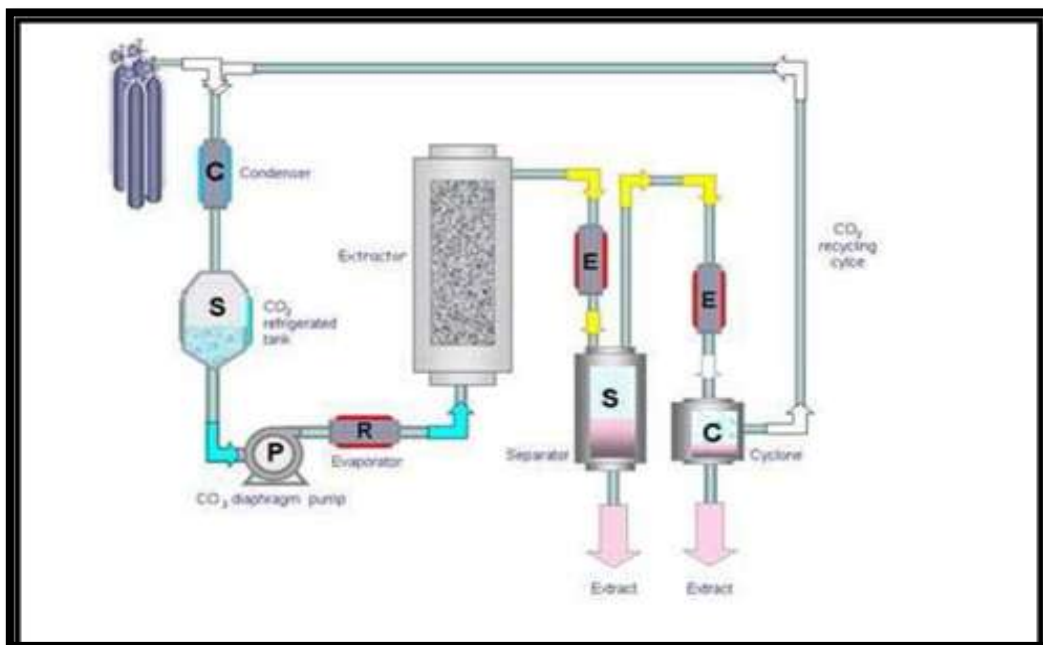
Le CO<sub>2</sub> possède des propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction sous pression et à température supérieure à 31°C.



Le gaz carbonique se trouve dans un état dit supercritique intermédiaire entre le gaz et le liquide dans cet état le CO<sub>2</sub> présente la particularité de dissoudre de nombreux composés organique (**Beneteaud, 2011 ; Virendra et Diwaker, 2006**).

Le CO<sub>2</sub> est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie, en suite il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, après le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (**Benayad, 2013**).

**Figure (07) :** procédé d'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique.



Cette technique présente énormément d'avantages. Tout d'abord, le CO<sub>2</sub> supercritique est un solvant idéal puisqu'il est naturel, inerte chimiquement, ininflammable, non toxique, sélectif, aisément disponible et peu coûteux (**Wichtel et Anton, 1999 ; Rivera, 2006**).

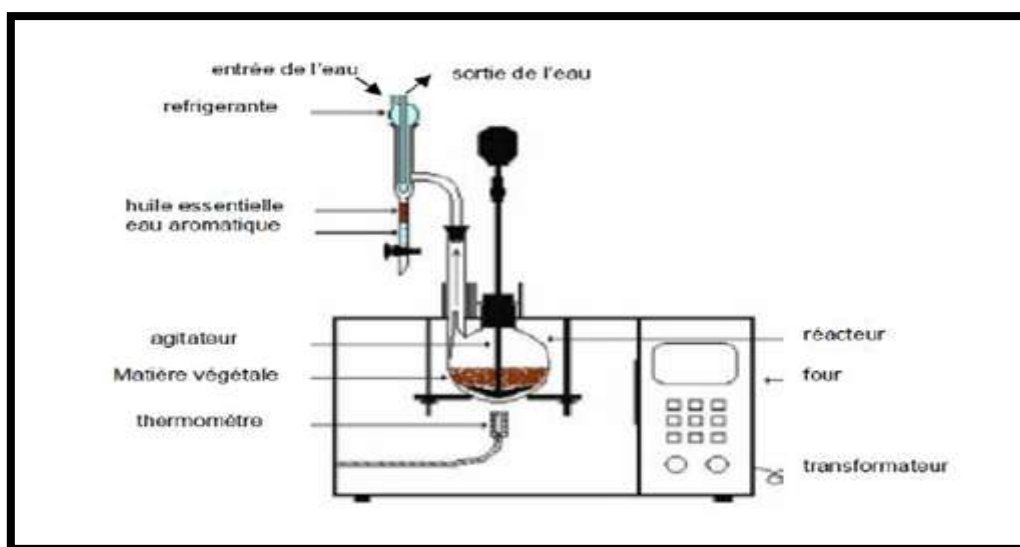
De plus, elle fournit des extraits volatils de très haute qualité et qui respecteraient intégralement l'essence originelle de la plante (**Wenqtang et al., 2007**) Son unique point faible est le coût très élevé de son installation (**Pellerin, 2001**).

### 11.3.3. L'extraction par micro-ondes sous vide

Cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques (**Wang, 2006**) est une combinaison de chauffage micro-ondes et d'une distillation à la pression atmosphérique consiste à placer le matériel végétal seul dans un réacteur micro-ondes.

Le chauffage de l'eau contenue dans la plante permet la rupture des glandes renfermant l'huile essentielle. Cette étape libère l'huile essentielle qui est entraînée par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante (**Labiod, 2016**), il est ensuite récupéré à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation.

**Figure (08) :** Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes  
(**Rivera, 2006**)



D'un point de vue qualitatif et quantitatif, ce procédé semble être plus compétitif et économique que les méthodes classiques telles que l'hydrodistillation ou l'entraînement à la vapeur (**Lucchesi et al., 2004a, Lucchesi et al., 2004b**).

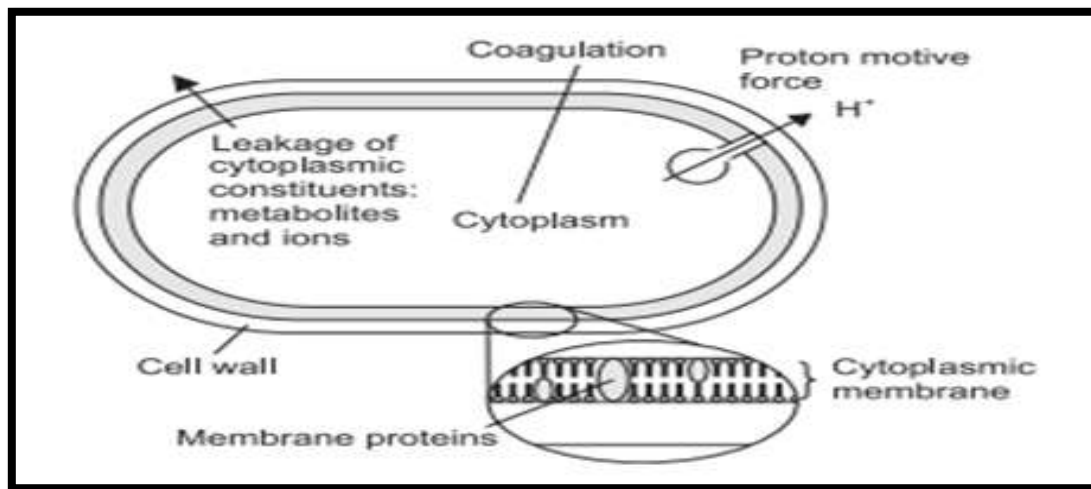
L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation, économie d'énergie (température plus basse) et d'obtenir un bon rendement d'extrait. (**Nzeyumwami, 2004**).

## 12. Mode d'action des huiles essentielles

### 12.1. Mode d'action antibactérienne

Les emplacements considérés comme sites d'action pour les composants des H.E sont indiqués sur la (figure 09).

**Figure (09) :** Sites et mécanismes d'action des huiles essentielles et de leurs composants sur la cellule bactérienne (**Burt, 2004**)



Le mécanisme d'action des huiles essentielles sur les bactéries, se déroulent d'une manière générale en trois phases selon (**Oussalah et al., 2007**) :

- Attaque de la paroi bactérienne, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires suivie d'une rupture de celle-ci, entraînant une fuite du contenu cytoplasmique (apparition de fuite d'ions potassium  $K^+$  des cellules microbiennes).
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Inactivation du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

## 1. Famille des lamiacées

La famille des Lamiacées comprend environ 250 genres et 6700 espèces. Cette famille comprend des herbes aromatiques, annuelles ou vivaces ou sous-arbrisseaux et reconnu depuis longtemps en raison de la valeur médicinale (**Benayad et al., 2012**), elle regroupe des espèces angiospermes dicotylédones à fleurs gamopétales irrégulières caractérisées par une tige à section carrée et des feuilles opposées et dentées et des fleurs irrégulières (**Benbouali, 2006**).

## 2. Description de la plante *Mentha suaveolens*

*Mentha suaveolens* ou Menthe de pomme, dont le nom vernaculaire est « timarssat » en langue arabe (**Oumzil et al., 2002**), et pour d'autres auteurs *M. suaveolens* correspondent à la même espèce de *Mentha rotundifolia* (**Brada et al., 2007**), est une plante herbacée vivace avec une odeur sucrée et malade qui peut atteindre 100 cm de hauteur.

La tige est dressée, quadrangulaire et peu poilue à densément blanche-tomenteuse, c'est monopodial ramifié, avec des entre-nœuds courts.

Le feuillage est vert clair avec des rides opposées, ridées, sessiles ou très courtes feuilles pétiolées ovales-oblongues à su orbiculaires, de 3 à 4,5 cm de long et de 2 à 4 cm de large (**Božović et al., 2015**). Les petites fleurs sont rassemblées en épis terminant les rameaux, elles sont de 5 mm de long et s'épanouissent de juillet à septembre (**Bounihi, 2016**).

## 3. Répartition géographique de l'espèce

*M. suaveolens* est originaire d'Europe du Sud et de l'Ouest, s'étendant vers le nord jusqu'aux Pays-Bas (**Oumzil et al., 2002**), elle est généralement répartie dans les bioclimats semi-arides, humides à variantes chaudes, tempérées et dans des étages de végétations de l'infra-méditerranéen et méso-méditerranéen (**El Rhaffari, 2008**) et se pousse sur le long des rivières et dans les plaines et les montagnes (**Kasrati et al., 2015**).

#### 4. Taxonomie



**Figure (10) :** taxonomie de la plante *Mentha suaveolens* (Bachman, 2016)

#### 5. L'huile essentielle de *Mentha suaveolens*

Le genre *Mentha* parmi les espèces cultivées pour la production des huiles essentielles. Pour leur importance dans le monde (Sutour et al., 2008) parmi eux L' huile essentielle de *M.suaveolens* qui est examinée pour leurs utilisations potentielles comme remèdes alternatifs pour la conservation des aliments contre les effets toxiques des oxydants et le traitement de nombreuses maladies infectieuses (Božović et al., 2015 ).

L'analyse chimique d'huile essentielle de *M.suaveolens* obtenus par hydrodistillation montré que les principaux composants étaient l'oxyde de pipériténone (59,3%, 73,5%), le trans-caryophyllène (3,7%, 3,5%), l'germacrène D (3,5%, 5,6%), Terpinen -4-ol (3,4%, 1,1%), Nepetalactone (3,2%, 0,7%), et p-Cymen-8-ol (2,6%, 0,7%), E-hydrate Sabinène (1,6%, 2,3%) respectivement (Hamdani et al., 2017), ainsi qu'un d'autres produits aromatiques tels que la carvone, le limonène et l'amenthone (Oumzil et al., 2002 ). Ces constituants varient en fonction de la région origine de la plante (Amzouar et al ., 2016).

## **6. Usage de *Mentha suaveolens***

Ce sont des plantes aromatiques très utilisées en médecine traditionnelle, dans les préparations culinaires, les confiseries, en cosmétique et parfumerie (**Brada et al., 2007**) et aussi elle est très appréciée dans le traitement des douleurs gastriques, des diarrhées, des refroidissements et des affections respiratoires. En cataplasme ou en inhalation, les feuilles sont recommandées en cas de fièvre (**Lahsissene et al., 2009**).

# *Matériels et méthodes*

L'ensemble de ce travail a été réalisé aux laboratoires pédagogiques au sein de l'Université Belhadj Bouchaib Ain Temouchent pendant une durée de 03 mois (février, mars, avril 2018).

## 1. Matériel végétal

La plante qui a fait l'objet dans notre étude est (*Mentha suaveolens*).

### 2.1. Choix de la plante

La plante étudiée a été choisie essentiellement sur la base de leur intérêt thérapeutique et leur disponibilité dans notre région aussi le manque des travaux sur les activités biologiques d'huile essentielle extraits des plantes de cette région.

Vu qu'elle est impliquée dans le traitement des maladies d'origine microbienne au cours de laquelle plusieurs personnes ayant une vaste connaissance de la façon d'utiliser cette plante aussi sur leur non-toxicité, l'utilisation dans les préparations culinaires et dans les tisanes.

### 2.2. Collecte du matériel végétal

#### 2.2.1. Récolte, situation géographique et préparation des échantillons

L'espèce *M.suaveolens* a été récoltée dans leurs habitats naturels à Sidi Safi (figure 12) entre le mois de janvier et mois d'avril 2018 (Tableau 02).

Sidi Safi est situé dans la Wilaya de Ain Temouchent à l'ouest algérien (figure 11), à une Latitude : 35° 16' 50" Nord, Longitude : 1° 18' 48" Ouest et une altitude par rapport au niveau de la mer égale à 239 m. Cette région a un climat méditerranéen, caractérisé par un été chaud et un hiver tempéré.

**Tableau (02) :** Date et lieu de récolte de la plante (*M.suaveolens*)

Espèce	Etats frais	Etas sec	Lieu de récolte	Date de récolte
<b>Mentha suaveolens</b>			<b>Wilaya d'ain</b>	<b>24/01/2018</b>
			<b>Temouchent</b>	<b>30/04/2018</b>
			<b>Village Sidi Safi</b>	



Figure (11) : Situation géographique de la région de Sidi Safi (Google Earth)



Figure (12) : zone de récolte de *M. suaveolens*



Le matériel végétal récolté est séché à l'ombre à température ambiante dans un endroit sec et aéré du laboratoire pendant 6 à 8 jours afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, une fois la plante devenue sèche est soumise à l'extraction.

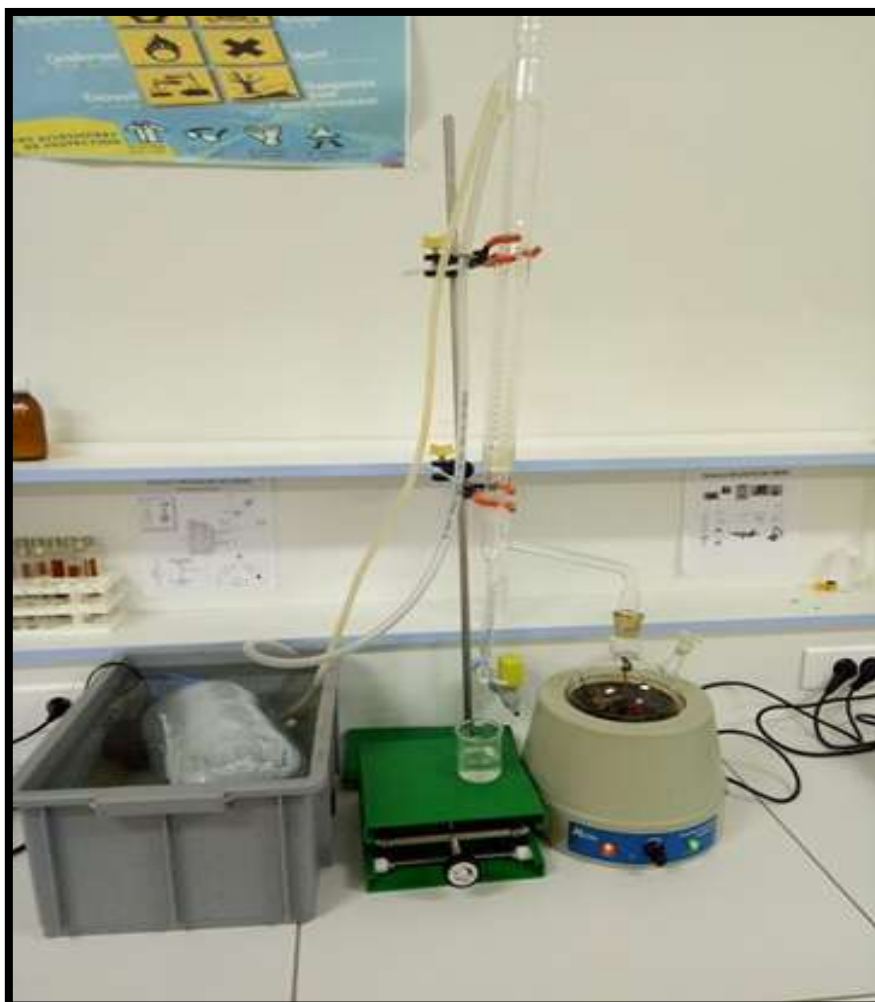
### 3. Extraction d'huile essentielle

Dans notre travail, on a effectué l'extraction sans prétraitement de la distillation (ni broyage, ni laminage du matériel végétal).

#### 3.1. Extraction par l'hydrodistillation

L'huile essentielle de la plante *M.suaveolens* est extraite par la méthode d'hydro distillation, grâce à un montage d'extraction qui est constitué d'un chauffe ballon, un ballon en verre pyrex où l'on place la matière végétale séchée et l'eau distillée et une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) plus un dean stark.

**Figure (13) :** Le montage utilisé pour l'extraction d'huile essentielle (*M.suaveolens*)



### 3.2. Protocole opératoire d'hydrodistillation

On a mis 100 g des parties aériennes séchées de notre plante, finement découpées dans un ballon bicol de 1L, additionnés de 500 ml d'eau pour éviter les débordements lors de l'ébullition , le mélange est porté à ébullition à l'aide de la chauffe ballon pendant 2 h.

Les vapeurs chargées d'huile essentielle et l'eau passent à travers le tube vertical puis dans le serpentín de refroidissement où aura lieu la condensation puis la séparation ce qui résulte l'apparition de deux phases, une est organique (huile essentielle) et l'autre est aqueuse (ou l'hydrolat) ayant une densité plus élevée (annexe 1).

### 3.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue

La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables. C'est pour cela qu'on a conservé notre l'huile à une température voisine de 4 °C à l'abri de la lumière (Ayoughi et al., 2011) ,enveloppée de papier d'aluminium, jusqu'à leur usage pour éviter toute dégradation .

**NB** : la conservation se fait dans un tube en verre fermé hermétiquement, car on a fait un essai de conservation dans un tube en plastique et ont a remarqué que les huiles ont un effet cohésif avec le plastique.

### 4. Détermination de rendement en huile essentielle

Selon la norme (AFNOR, 1986), le rendement en huile essentielle (RHE), est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction (MHE) et la masse de la matière végétale utilisée (MS). Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$R_{HE} = M_{HE} / M_s .100$$

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

**MHE** : Quantité d'extrait récupéré (masse d'huile essentielle récupérée) en (g).

**Ms** : Quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en (g).

## 5. Analyses de l'huile essentielle

### 5.1. Analyse des propriétés organoleptiques

Les HE sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, plus ou moins colorées (AFSSAPS, 2008). Chaque huile essentielle est caractérisée par des propriétés organoleptiques tels que : l'odeur, l'aspect physique et la couleur.

### 5.2. Analyse physique

#### 5.2.1. Détermination de la densité

Pour définir la densité de notre huile, on a calculé le rapport entre un certain volume d'huile essentielle et la masse de ce même volume. La densité est ainsi obtenue par (g/cm<sup>3</sup>).

$$d = m / V$$

**d** : la densité par (g/cm<sup>3</sup>).

**m** : masse d'huile en (g).

**V** : volume d'huile en (cm<sup>3</sup>).

#### 5.2.2. Détermination de l'humidité

Le contenu en humidité de partie aérienne de notre plante a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve à 105<sup>0</sup> C ± 5<sup>0</sup> C (Twidwell et al., 2002). Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = \frac{M_f - M_s}{M_f} \cdot 100$$

**Ms** : la masse sèche (g).

**Mf** : la masse fraîche (g).

## 6. Evaluation de l'activité antimicrobienne

### 6.1. Activité antibactérienne

#### 6.1.1. Matériels

##### ➤ Souches bactériennes

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle *M.suaveolens* est évaluée sur quatre souches bactériennes de référence Type Culture Collection ATCC :

Gram négative : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853,

Gram positive : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.

##### ➤ Conservation des souches

Les souches bactériennes ont été entretenues par repiquage sur GN. Incubées pendant 24h à 37 °C, conservées à 5 °C dans des tubes contenant de la gélose nutritive inclinée.

##### ➤ Milieux de culture

- Gélose Mueller Hinton (MH) : milieu pour l'étude de la sensibilité des bactéries.
- Bouillon Mueller Hinton (MHB) : milieu pour l'étude de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des bactéries.

##### ➤ Antibiotiques

Les disques d'antibiotiques, utilisés dans ce travail sont :

Tétracycline (30µg), Erythromycine (15µg), Ampicilline (10µg), Amoxicilline (30µg), Ciprofloxacin (5µg), Céfotaxime (30µg) et la Gentamicine (10µg) ils ont été sélectionnés selon leur disponibilité.

## 6.2. Méthode en milieu solide

### 6.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode d'aromatogramme

La méthode de diffusion sur disques en milieu gélose a été utilisée pour la détermination de l'activité antibactérienne de notre huile essentielle selon la méthode décrite par (Bouhaddouda *et al.*, 2016) avec quelque modification (annexe 2).

#### ➤ Principe

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé à effet antibactérien en milieu solide dans une boîte de pétri, elle consiste à déposer un disque stérile de papier filtre imbibé d'huile essentielle sur un tapis microbien (Chebaibi *et al.*, 2016). Après un certain temps de contact entre l'huile et le microorganisme cible. L'activité antibactérienne sur la cible est appréciée par la mesure de la zone d'inhibition.

#### ➤ Repiquage des espèces bactériennes

Les souches bactériennes ont été revivifiées dans un bouillon nutritif à 37°C pendant 24 heures. Puis chaque souche a été repiquée en stries sur la surface des boîtes de pétries pré-coulés en gélose Muller Hinton après incubation de 18-24 heures à 37 °C ces cultures vont servir à la préparation de l'inoculum.

#### ➤ Préparation de l'inoculum

A partir des cultures pures de 18-24h, des colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées, puis déchargées dans 5 ml de bouillon Muller Hinton après incubation de 18-24 heures à 37 °C. L'opacité de l'inoculum doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une densité optique de 0,08 à 0,10 à 625 nm ( $10^8$  UFC.ml-1) (Athamena *et al.*, 2010) .

#### ➤ Préparation des disques

Des disques de papier Wathman n°3 de 6 mm de diamètre, stériles (stérilisation à 120°C pendant 15 min par autoclavage), sont chargés de l'extrait naturel à tester, des disques imprégnés DMSO sont également utilisés qui vont servir de témoin négatif.

➤ **Préparation des milieux de culture**

La gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles de 90 mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 4 mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi.

➤ **Ensemencement et dépôt des disques**

Un écouvillon stérile est imbibé dans la suspension bactérienne, puis essoré sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées. L'opération est répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et en le passant sur la périphérie de la gélose (**Benzeggouta, 2005**).

Des disques de papier Wattman n°1 de 6mm de diamètre stériles imbibés de différentes quantités d'huiles 5 µl, 10 µl, 15 µl sont placés à la surface de gélose à l'aide d'une pince bactériologique. D'autres disques, chargés de 5µl de DMSO sont utilisés comme (témoins négatifs) afin de vérifier la croissance des différentes souches (**Bekhechi et al., 2008**). Et des disques de Gentamicine (10µg) ont été utilisée comme contrôle positif, ce choix est dû à la sensibilité des souches pour cet antibiotique.

Chaque trois dépôts de quantité d'huile essentielle sont placés dans la même boîte puis toutes les boîtes de Pétri sont scellées avec du parafilm stérile pour éviter l'évaporation éventuelle des huiles essentielles. Elles sont maintenues à 4 °C pendant 2 heures, après 24 heures d'incubation à 37°C, le diamètre d'inhibition est mesuré.

➤ **Lecture des résultats**

Les diamètres des zones d'inhibition mesurée sont appréciés comme suit :

pas sensible (-) de diamètre inférieur ou égal à 8 mm, moyennement sensible (+) pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm, sensible (++) pour un diamètre compris entre 14 et 20 mm et extrêmement sensible (+++) pour un diamètre égal ou supérieur à 2 mm (**Djabou et al., 2013**).

Les bactéries montrent une sensibilité au l'huile essentielle, sont sélectionnées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) (**Derwich et al., 2010**).

### 6.3. Méthode des micro-dilutions en milieu liquide

L'efficacité de l'huile essentielle testée est évaluée par la mesure de 2 concentrations : la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB). Ces concentrations nous permettent de connaître la nature de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle : bactériostatique ou bactéricide.

#### 6.3.1. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

#### 6.3.2. Méthode de micro-dilution

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle de *M.suaveolens* est déterminées selon la méthode de micro-dilution décrite par (Bouhaddouda et al., 2016) avec légère modification (annexe8).

##### ➤ Principe

Le principe de la méthode repose sur la détermination de la plus faible concentration d'un agent antimicrobien, nécessaire pour inhiber la croissance d'un microorganisme (Derwich et al., 2010). Consiste à ensemercer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en huile essentielle. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la concentration minimale inhibitrice (CMI) (Chebaibi et al., 2016).

Une solution-mère de notre l'huile d'une concentration initiale de 100 mg/ml (100 mg d'HE +1000 ml de DMSO) sont préparé, puis une série de dilutions est réalisée à partir de cette solution dans une plaque de 96 puits, la gamme de concentrations finale ainsi obtenue correspond à 1/2 – 1/4 – 1/8 – 1/16 – 1/32 – 1/64 – 1/128 et 1/256. 100 µl de chaque dilution sont transférés dans les 10 puits consécutifs incorporés à 90 µl de bouillon Mueller Hinton puis ensemençés par 10µl de l'inoculum bactérien standardisé. Chaque ligne est réservée pour une souche déterminée. Et concernent les deux derniers puits, un est utilisé comme contrôle négative rempli par 200µl de BMH et l'autre utilisé comme contrôle positive rempli par 190µl de MHB et 10µl de l'inoculum. Puis les plaques sont recouvertes et incubées à 37 °C pendant 18-24 heures.

##### ➤ Lecture des résultats

La CMI de l'huile essentielle est déduite après incubation à partir du premier puits de la gamme dépourvu de croissance bactérienne visible. La croissance bactérienne est indiquée par la présence d'un "trouble" blanc sur le fond des puits.



## 7. Activité antifongique

### 7.1. Matériels

#### ➤ Souche fongique

L'activité antifongique d'huile essentielle *M. suaveolens* est évaluée sur une seule souche fongique de référence Type Culture Collection ATCC : *Candida Albicans* 10231 Selon les mêmes méthodes.

#### ➤ Conservation de souche

La souche fongique est conservée à 5 °C dans un tube contenant le milieu Sabouraud incliné.

#### ➤ Milieu de culture

- Gélose Sabouraud : milieu pour l'étude de la sensibilité des souches fongiques.
- Bouillon Sabouraud : milieu pour l'étude de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des souches fongiques.

#### ➤ Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure fongique de 48h, des colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées, puis déchargées dans 5 ml de bouillon Sabouraud après incubation de 48 heures à 30°C la densité optique lue à 530 nm est justifiée à 0.12 à 0.15 UFC/ml , afin d'obtenir une suspension homogène (NCCLS , 2001).

L'ensemencement, le dépôt des disques, l'incubation et la lecture des résultats, se fait par les mêmes techniques utilisées pour l'étude de l'activité antibactérienne sauf que le milieu de culture utilisé (gélose Sabouraud pour la méthode de diffusion et le Bouillon Sabouraud pour la détermination de CMI).

## **8. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) et Fongicide (CMF)**

Les concentrations minimales bactéricides (CMB) et fongicides (CMF) de l'huile essentielle de *M.suaveolens* ont été déterminées (annexe 8) selon la méthode décrite par **(Chebaibi et al., 2016)**.

Cinq microlitres de la suspension bactérienne sont repiqués à partir des puits montrant une absence complète de la croissance bactérienne puis déposés en strie sur gélose approprié pour chaque germe (Mueller Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour levures). Les boîtes ensemencées sont incubées pendant 18 heures pour les bactéries et 48 h pour les levures à 37°C.

Les CMB sont interprétées comme la concentration la plus basse de l'huile essentielle, qui a montré un liquide clair sans le développement de la turbidité et sans croissance bactérienne visible sur la boîte de pétri.

Pour chacun des tests réalisés (diffusion en milieu solide, CMI, CMB et CMF) le nombre de répétitions est de deux fois.

### **8.1. Caractère bactéricide et bactériostatique**

Le rapport CMB/CMI nous a permis de déterminer les pouvoirs bactéricide et bactériostatique (annexe 8) de l'huile essentielle étudiée. Lorsque ce rapport est supérieur à 4, l'huile essentielle a un pouvoir bactériostatique, et bactéricide quand il est inférieur ou égal à 4 **(Guinoiseau, 2010)**.

## 9. L'interaction synergique de l'huile avec quelque antibiotique

L'objectif de ce test est l'obtention d'un spectre antibactérien le plus large possible sur les souches bactériennes envers les antibiotiques testés.

Le test synergétique d'huile essentielle *M. suaveolens* est évalué par la méthode de diffusion sur disque sur les quatre souches bactériennes.

Quatre boîtes pétries ont été collées par la gélose MH. Après l'ensemencement de ces boîtes par l'inoculum standardisé de chaque souche deux disques d'antibiotique ont été déposés sur la surface de gélose de chaque boîte comme suite :

AMP et AMC pour *E.coli* ATCC 25922, CIP et CTX pour *P.aeruginosa* ATCC 27853, TE et E pour les deux souches : *S. aureus* ATCC 25923, *S.aureus* ATCC 43300. Puis des disques de 5µl d'huile essentielle ont été déposés sur l'un de chaque antibiotique tant que le second disque d'antibiotique dépourvu d'huile essentielle.

Les boîtes de Pétri ensemencées ont été laissées 1 heure à température ambiante puis retournées et incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. Après incubation, les diamètres d'inhibition ont été mesurés en millimètres. Élargissement des zones d'inhibition des antibiotiques indique une interaction positive (synergie) (**Iqbal et Farrukh, 2007**).

# *Résultats et discussion*

## 1. Analyses d'huile essentielle extraite

### 1.1. Paramètres organoleptiques d'huile essentielle

Les paramètres organoleptiques de notre l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation sont résumés dans le (tableau 03).

**Tableau (03) :** Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle *M.suaveolens*

Caractère organoleptique	couleur	aspect	odeur
HE de <i>M.suaveolens</i>	Jaune claire	Liquide	forte odeur de menthe caractéristique

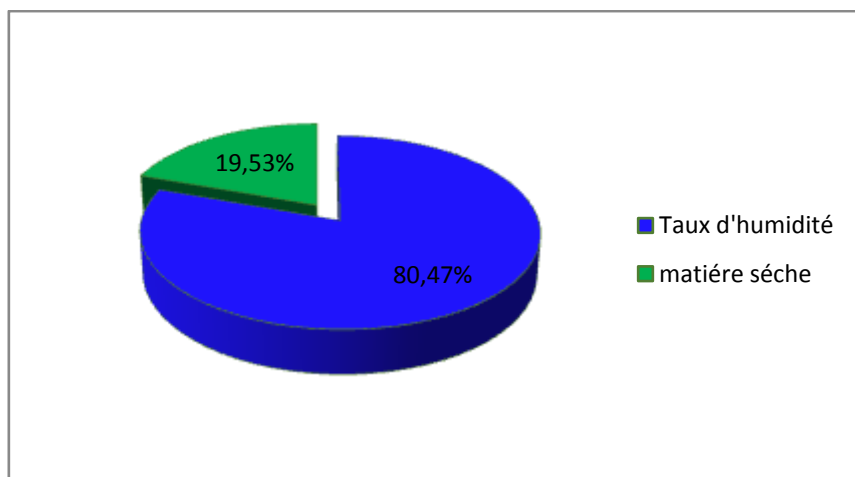
### 1.2. Caractéristiques physiques de l'huile essentielle

Deux principales propriétés physiques de notre huile essentielle ont été déterminées à savoir : la densité relative et le taux d'humidité. Les résultats de ces propriétés sont présentés dans le (tableau 04) et la (figure 14).

**Tableau (04) :** caractéristique physique d'huile essentielle *M.suaveolens*

Huile essentielle	Densité (g /cm <sup>3</sup> )	Taux d'humidité (%)
<i>Mentha suaveolens</i>	0,890 ± 0,001	80,47

**Figure (14) :** Représentation graphique de taux d'humidité de la plante *M.suaveolens*



Nous constatons que notre plante (tableau 4) à un taux d'humidité correspond à 80,47% et une valeur de densité correspond à 0,890 g /cm<sup>3</sup>.

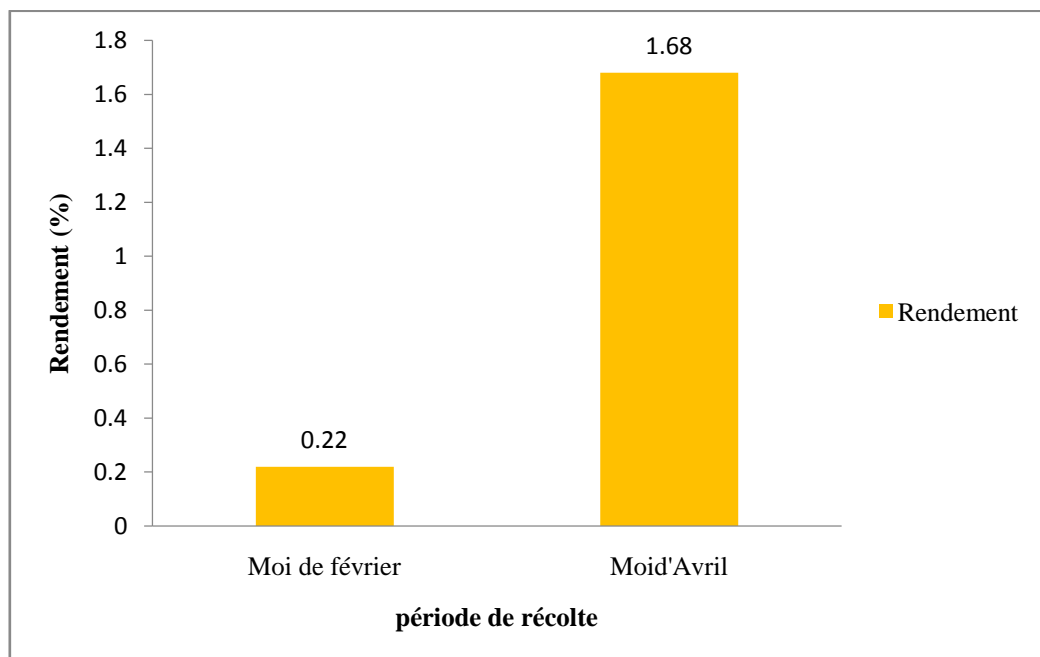
Ce taux important d'humidité signifié que plus de trois-quarts du poids de notre plante fraîche est constitué par l'eau. Nos résultats concordent avec celui rapporté par **Taalbi (2016)** sur la même espèce qui est récolté dans la région d'ouest algérien, estimé à 80,09%.

Notre étude sur les propriétés physiques de l'huile considérée comme un moyen de vérification et de contrôle de qualité. Car d'après **Benkherara (2011)** les facteurs environnementaux et climatiques peuvent jouer un rôle sur la qualité d'huile de l'espèce végétale.

## 2- Rendement d'extraction

Une extraction de 50 g de notre plante sèche dans 500 ml d'eau distillée a été donnée 0,11 g d'huile essentielle au moins de février et 0,83 g au mois d'avril. Après le calcul de rendement de deux mois à l'aide de la relation précédente les résultats obtenus sont illustrés dans la (figure 15).

**Figure (15)** : Représentation graphique de rendement d'huile essentielle *M.suaveolens*



Nous avons trouvé que le rendement en huile essentielle de *M.suaveolens* varié de (0,22 - 1,68%) en fonction de période de la récolte, dans laquelle le rendement de mois d'avril est plus élevé que celui de mois de février. Cependant un rendement plus élevé a été rapporté par **Taalbi (2016)** dans la région de Nadroma pendant le mois de janvier et dans la région de Mansourah pendant le mois d'avril équivalent à 0,39% - 1,92 % respectivement. On peut expliquer cette différence d'après l'étude fait par **Taalbi (2016)** sur l'influence de la période de la récolte sur le rendement qui a été trouvé que le rendement augmente régulièrement avec le stade végétatif de la plante pour donner son meilleur rendement à partir du mois de mai la même explication a été rapportée par **Hopkins (1999)**.

Et d'après **brada et al., (2007)** ,les rendements en huile essentielle augmentent quand la plante entière récoltée pendant la période de la floraison .

Du point de vue rentabilité en poids, *M.suaveolens* présent un rendement satisfaisant égal à 1,68 %. La comparaison de notre résultat avec d'autres travaux nationaux et international sur la même espèce ,nous a amené à dire que notre résultat est similaire au résultat obtenu par **Lehbab (2013)** dans la région de Tlemcen Meftahia 1,70% et par **Benabdallah (2017)** dans Nord-Est Algérie El-Kala 1,65% , est supérieur à celle rapportée par **Ladjel et al., (2011)** dans le sud-est de l'Algérie (El-Hdjira) et par **Brada et al., (2007)** dans le nord d'Algérie estimé à 0,8%.Or pour l'espèce *M.suaveolens* de Maroc notre résultat est supérieur à celui rapporté par **Kasrati et al., (2015)** et **Amzouar et al., (2016)** estimé à (0,20 -1,17%) \_ (1,07%– 1,6%) respectivement , il est supérieur aussi de celle de l'espèce tunisienne obtenu par **Riahi et al., (2013)** dans Beja1,26 % Bizerte1,04 % et de l'Uruguay par **Daniel et al., (2002)** qui est égale à 1,02%, aussi qu'à celui obtenu par **Sutour et al., (2008)** dans la région d'Ajaccio (Corse) correspondant à 0,13% .

Par contre, notre résultat est inférieur à celui rapporté par **Benayad et al., (2012)** au Maroc et par **Taalbi (2016)** dans l'Ouest algérien région de Mansourah, estimé à 1,92 % et 4,33% respectivement.

Ces divergences dans les résultats sont dues à plusieurs facteurs telle que la méthode utilisée, les parties de la plante utilisées, les produits et les réactifs utilisés dans l'extraction, l'environnement, le génotype des plantes, l'origine géographique, la période de récolte de la plante, le degré de séchage, les conditions de séchage, temps et température de séchage et la présence des mauvaises herbes **Amzouar et al., (2016)**.



### 3. Activité antibactérienne d'huile essentielle

#### 3.1 Évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque

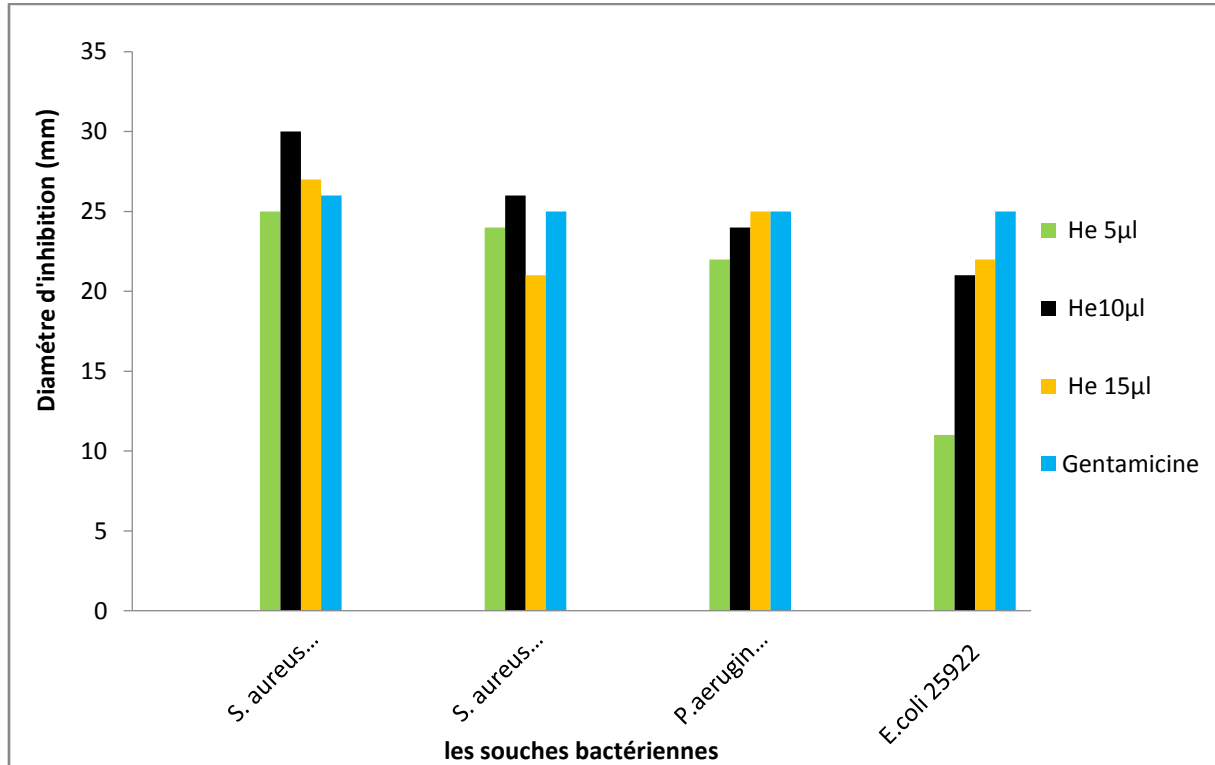
Nous avons testé l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *M.suaveolens* par la méthode de diffusion sur disque vis-à-vis de quatre souches bactériennes. Les résultats montrent une inhibition de la croissance bactérienne proportionnelle au diamètre de la zone d'inhibition (tableau 05) et (figure16).

**Tableau (05) :** résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle *M. suaveolens* réalisé par la méthode de diffusion sur disque

Diamètres des zones d'inhibition en (mm)					
Les souches bactériennes	quantité HE			Gentamicine	DMSO
	5µl	10µl	15µl		
<i>S. aureus 25923</i>	25	30	27	26.5	6
<i>S. aureus 43300</i>	24	26	21	26	6
<i>P.aeruginosa 27853</i>	22	24	25	25	6
<i>E.coli 25922</i>	11	21	22	25	6

Nous constatons que notre huile essentielle a montré une bonne activité sur toutes les souches bactériennes testées. En particulier une forte activité sur *S.aureus* ATCC 25923, *S.aureus* ATCC 43300, *P.aeruginosa* ATCC 27853 et une moyenne activité, sur *E.coli* ATCC 25922.

Figure (16): Représentation graphique de l'activité antibactérienne d'huile essentielle *M. suaveolens* réalisé par la méthode de diffusion sur disque



Les résultats de l'activité antibactérienne montrent que les espèces bactériennes étudiées présentent des degrés de sensibilité différents vis-à-vis de la quantité de l'huile essentielle testée dans laquelle on a remarqué que la plus grande surface d'inhibition est enregistrée avec *S.aureus* ATCC 25923 (tableau 05) selon la quantité d'huile appliqué (5 ul, 10 ul, 15 ul) les zones d'inhibition sont (25 mm ,30 mm ,27 mm) respectivement suivi par *S.aureus* ATCC 43300 (24 mm , 26 mm , 21 mm), *P.aeruginosa* ATCC 27853 (22mm ,24 mm , 25 mm). Ces 3 espèces sont donc les plus sensibles à l'HE. En revanche, *E.coli* ATCC 25922 (11mm, 21 mm, 22 mm) est légèrement moins sensible à cette HE.

Le plus grand diamètre d'inhibition chez les bactéries Gram positif apparaitre avec la quantité 10 µl d'huile et avec la quantité 15 µl (figure 16) chez les bactéries Gram négatif ce que nous amené a dire que la quantité d'huile essentielle appliquée sur les souches bactériennes à un effet direct sur les diamètres des zones d'inhibitions (annexe 3).

Nous avons constaté aussi que notre huile a une activité supérieure à celle de gentamicine sur toutes les souches à l'exception de la souche *Escherichia coli* ATCC 25922.

Cette constatation est en faveur de l'hypothèse que nous avons proposé et selon laquelle les huiles essentielles peuvent être utilisées comme alternatif antibactérien pour les souches présentant une faible sensibilité ou bien un problème de résistance aux antibiotiques standards.

La comparaison de notre résultat avec d'autres travaux national et international, nous a amené à dire que nos résultats concordent à l'étude de **Chebaibi et al., (2016)** et celle de **Oumzil et al., (2002)** sur l'espèce *M.rotundifolia* de Maroc qui possèdent un effet inhibiteur sur toutes les souches bactériennes étudiées et concordent aussi à l'étude de **Sutour et al., (2008)** et celle de **Riahi et al., (2013)** sur l'espèce *M.suaveolens* d'Ajaccio et de la Tunisie respectivement qui possèdent une activité antimicrobienne plus élevée contre les bactéries Gram positif que Gram négatif.

### 3.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

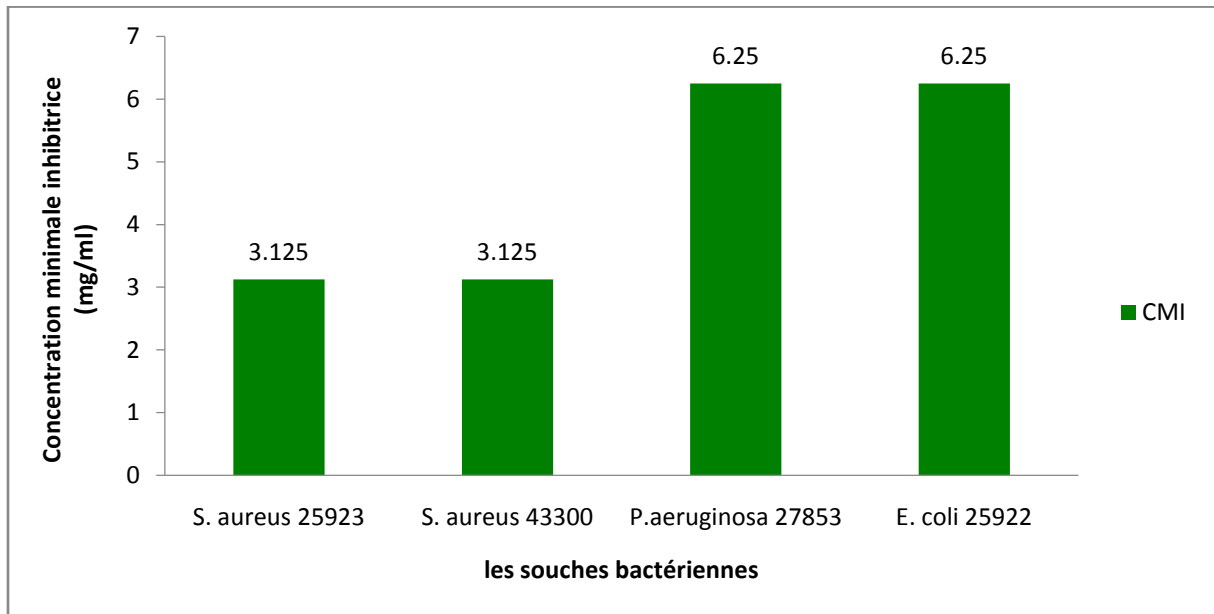
Nous avons déterminé les concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle de *M.suaveolens* par la technique de micro-dilution. Les résultats des (CMI) d'HE vis-à-vis les souches bactériennes sont présentées dans le (tableau 06).

**Tableau (06) :** résultats de l'activité antibactérienne d'huile essentielle *M.suaveolens* réalisé par la méthode de CMI.

Les Concentrations (mg/ml)										
Les souches	50	25	12.5	6.25	3.125	1.562	0.781	0.390	T (P)	T (N)
<i>S. aureus</i> 25923	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
<i>S. aureus</i> 43300	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
<i>P.aeruginosa</i> 27853	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>E.coli</i> 25922	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
T : Témoin	- : inhibition									
N : Négative	+ : croissance									
P : positive										

De façon générale, nos résultats montrent que l'huile essentielle de *M.suaveolens* présente un effet inhibiteur remarquable. En effet, pour les 4 souches étudiées, la gamme des CMI varie de 3.125 à 6.25 mg/ml.

**Figure (17) :** Représentation graphique des CMI de l'huile essentielle *M.suaveolens* relative aux souches bactériennes



Nous avons constaté que les valeurs de CMI les plus élevées (6.25 mg/ml) sont obtenues par les bactéries Gram négatif notamment *P.aeruginosa* ATCC 27853, *E.coli* ATCC 25922 ce que nous amené à dire que se sont les bactéries les moins sensibles (figure17) vis-à-vis de HE. Alors que les bactéries Gram positif *S.aureus* ATCC 25923, *S.aureus* ATCC 43300 sont les plus sensibles (annexe 5) vis-à-vis de HE à des valeurs de CMI moins élevées (3.125mg/ml). Nos résultats des CMI confirment les résultats que nous avons obtenus auparavant par la méthode de diffusion sur disque.

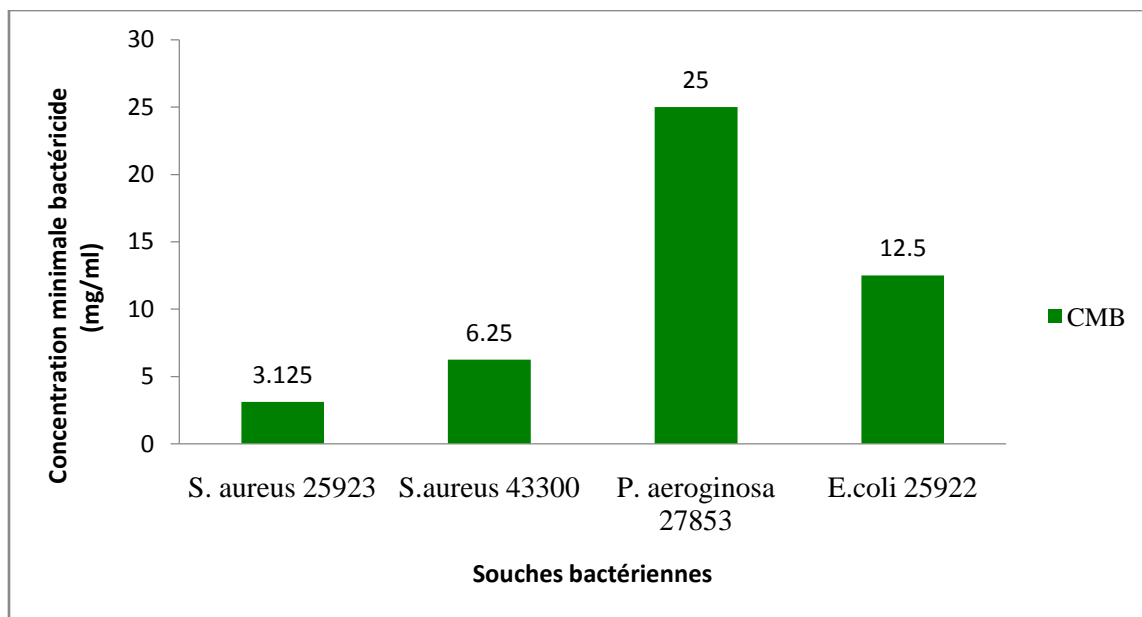
Nos résultats sont déférents à ceux indiqués par **Oumzil et al., (2002)** qui a trouvé que, la souche qui s'est montrée la plus sensible à l'HE de *M.suaveolens* est *E.coli* avec une CMI de (6.9 mg/ml), suivie de *S.aureus*, *P.aeruginosa*, dont la croissance a été inhibée à la concentration de (13.8 mg/ml). Par contre nos résultats concordent à l'étude de **Riahi et al., (2013)** qui a montré que *E.coli* est la souche le moins sensible avec une CMI de (10 mg/ml) suivie de *S.aureus* avec une CMI de (2.5 mg/ml).

D'après cette comparaison nous pouvons déduire que notre huile essentielle possède un effet inhibiteur plus important avec des valeurs de CMI plus faibles à celle de ces travaux.

### 3.3 Détermination de la concentration minimale bactéricide en milieu solide

La détermination de (CMB) en milieu solide c'est le paramètre qui nous permet de déterminer l'effet bactéricide de notre huile essentielle. Les résultats des concentrations minimales bactéricides d'HE vis-à-vis les souches bactériennes sont présentées dans la (figure 18).

**Figure (18)** : Représentation graphique des CMB d'huile essentielle *M.suaveolens* relative aux souches bactériennes



On a remarqué que l'huile essentielle de *M.suaveolens* présente une bonne activité bactéricide sur les 4 souches étudiées (figure18) , avec des valeurs variables d'une souche bactérienne à une autre, notre huile essentielle a été tué la totalité des souches bactériennes en particulier *S.aureus* ATCC 25923 qui a été présenté une valeur de CMB (3.125 mg/ml) suivi par *S.aureus* ATCC 43300 (6.25 mg/ml ) donc ces deux espèces Gram positif sont les plus sensibles vis-à-vis d'HE avec des valeurs de CMB moins élevées ( annexe 7) . En revanche, les valeurs de CMB les plus élevées sont obtenues par les bactéries Gram négatif notamment, *E.coli* ATCC 25922 (12.5 mg/ml) *P.aeruginosa* ATCC 27853 (25 mg/ml).

On peut conclure que l'huile essentielle de *M.suaveolens* possède le même effet inhibiteur sur les deux bactéries à Gram positifs par contre possède un différent effet bactéricide dans laquelle la souche *S.aureus* ATCC 25923 a été présenté une valeur de CMB moins élevé (3.125 mg/ml) par apport au *S.aureus* ATCC 43300 (6.25 mg/ml).

La même constatation concerne les deux bactéries à Gram négatifs dans laquelle la souche *E.coli* ATCC 25922 a été présentée une valeur de CMB moins élevé (12.5 mg/ml) par apport au *P. aeruginosa* ATCC 27853 (25 mg/ml).

Nos résultats sont déférents à ceuxi indiqués par **Riahi et al., (2013)** qui a trouvé que, la souche le moins sensible à l'HE de *M.suaveolens* est *S.aureus* avec une CMB de (50 mg/ml), suivie de *E.coli* avec une CMB de (20 mg/ml). Par contre nos résultats concordent à l'étude de **Chebaibi et al., (2016)** qui a montré que *P.aeruginosa* est la souche le moins sensible avec une CMB de (50 mg/ml) suivi par *E.coli* et *S.aureus* avec une CMB de (25 mg/ml – 12.5mg/ml) respectivement.

D'après cette comparaison on peut conclure que notre huile essentielle possède un effet bactéricide plus important avec des valeurs de CMB plus faibles à celle de ces travaux.

La différence de la sensibilité des souches au huile testé pourrais être dues à la variation du leur taux de pénétration à travers la paroi et la membrane cellulaire (Cox et al., 2000). Les bactéries à Gram positif exercent la plus grande sensibilité par rapport aux bactéries à Gram négatif, car ces derniers sont les plus protégées aux actions des huiles essentielles, en raison de leur membrane externe de lipopolysaccharide entourant la paroi cellulaire du peptidoglycane qui limite la diffusion des composés hydrophobes à travers son revêtement polysaccharidique (Cosentino et al., 1999 ; Burt, 2004; Hyldgaard et al., 2012 in Bouzovic et al., 2015 ; Riahi et al., 2013).

Cette déclaration n'est pas toujours vrai en effet, différents auteurs n'ont trouvé aucune différence ou une plus grande sensibilité des bactéries Gram négatifs que Gram positifs aux huiles essentielles (Dorman et Deans, 2000 ; Gulluce et al., 2007 in Bouzovic et al., 2015 ; Brut, 2004; Petretto et al., 2014).

Nos résultats montrent que l'huile essentielle de *M.suaveolns* testée dans cette étude possède un effet antibactérien. Ces résultats peuvent être liés à sa composition chimique.

En effet (Oumzil et al., 2002) indiqué que le pulegone peut être le composant aromatique le plus actif chez *M. suaveolens*, et dit que l'efficacité de l'huile était principalement liée à son composant majeur et d'après (El arch et al., 2013) l'activité biologique de l'huile essentielle de *M.rotundifolia* est attribuée à sa richesse en pulegone aussi, mais par contre il a indiqué que le pouvoir antimicrobien résulte par le phénomène de synergie entre les composés majoritaires et minoritaires.

Il est fort probable que l'activité antibactérien apparait n'est pas attribué à un mécanisme spécifique mais qu'il y a plusieurs cibles dans la cellule (Skandamis et al., 2001; Carson et al., 2002), susceptibles d'être des sites d'action des composants de HE, l'hydrophobicité est une caractéristique importante des composés volatils, ce qui leur permet de provoqué la répartition des lipides de la membrane bactérienne et mitochondrienne (Asbaghian et al., 2014), en suite la perturbation de la structure de différentes couches de polysaccharides, d'acides gras et de phospholipides et les rendant plus perméables (Gill et al., 2006 ; Brut, 2004).



Perturbant ainsi le transport membranaire des substances nutritives, provoquer une Fuite d'ions et en conséquence le contenu des cellules peut alors apparaître (**Skandamis et al., 2001; Carson et al., 2002; Ultee et al., 2002**). Ou bien être tolérées sans perte de leur viabilité, la sortie des molécules de la cellule et des ions mèneront à la mort de la bactérie (**Brut, 2004**). Si l'intégrité de la membrane est perturbée, alors ses fonctions sont compromises non seulement comme une barrière, mais aussi comme une matrice pour les enzymes et comme un transducteur d'énergie (**Stringaro et al., 2014 in Bouzovic et al., 2015**).

L'altération des systèmes enzymatiques bactériens pourrait aussi être un mécanisme potentiel d'action antimicrobienne (**Lakušić et al., 2009 in Bouzovic et al., 2015**).

#### 4. Qualification de l'activité antibactérienne de l'HE

Il nous semble nécessaire dans une deuxième étape de notre travail de déterminer le rapport CMI/CMB qui permet de définir le caractère bactériostatique ou bactéricide de l'huile essentielle de *M.suaveolens* lorsque ce rapport est inférieur ou égal à 4, l'huile essentielle est qualifié de pouvoir bactéricide et lorsqu'il est supérieur à 4 l'HE est qualifié de pouvoir bactériostatique. Les résultats de rapport CMB/CMI sont présentés dans le (tableau 7).

**Tableau (07) :** Le rapport CMB/CMI relative aux quatre souches bactériennes.

CMB/CMI			
Les Souches bactériennes			
<i>S. aureus</i> 25923	<i>S. aureus</i> 43300	<i>P.aeruginosa</i> 27853	<i>E.coli</i> 25922
1	2	4	2
CMI : Concentration minimale inhibitrice			
CMB : Concentration minimale bactéricide			

Le rapport CMB/CMI de l'huile essentielle de *M. suaveolens* est compris entre 1 et 4 pour toutes les souches bactériennes testées (tableau 7), cette constatation nous amené à dire que notre huile essentielle exercer une action bactéricide contre toutes les souches bactériennes.

## 5. L'interaction synergique entre l'huile essentielle et quelque antibiotique

Nous avons réalisé le test synergétique d'huile essentielle *M. suaveolens* par la méthode de diffusion sur disque sur les quatre souches bactériennes. La synergie est observée lorsque l'effet des substances combinées est supérieur à la somme des effets individuels (**Davidson et Parish, 1989**).

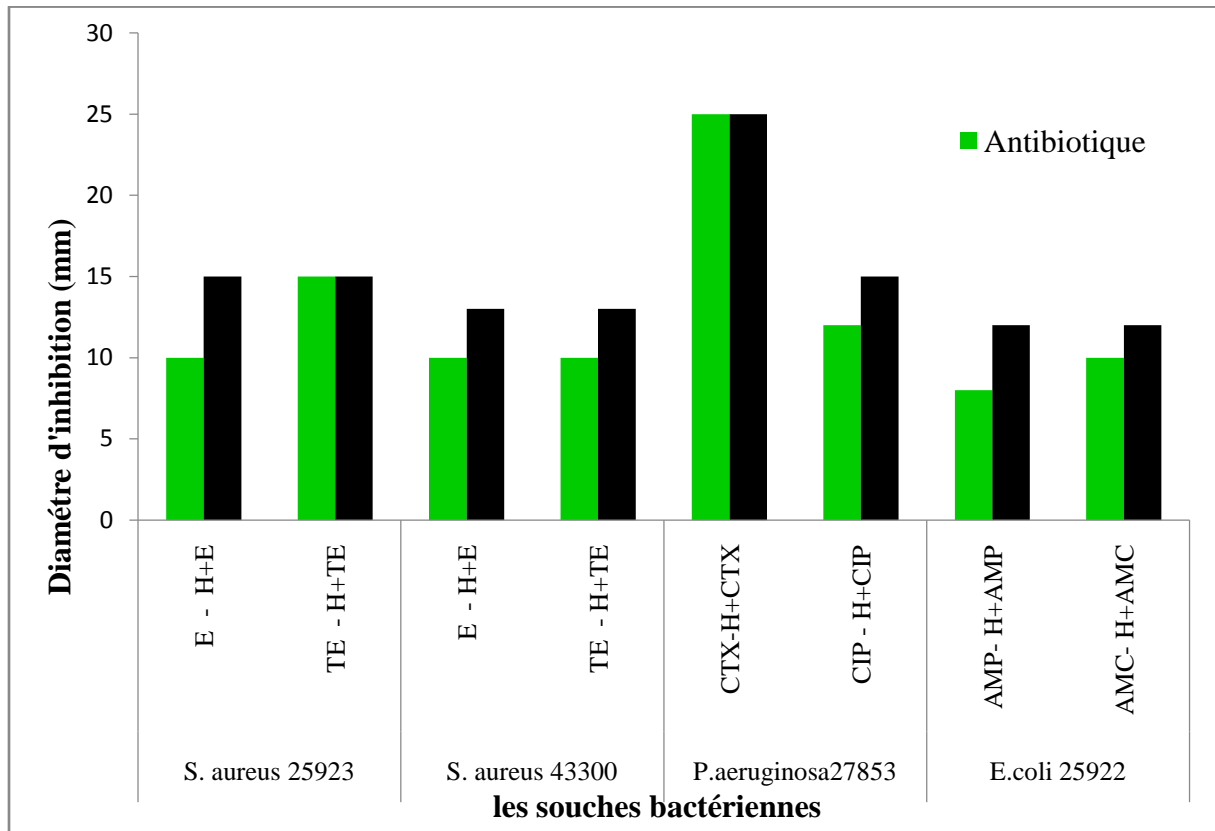
**Tableau (08) :** résultats de l'interaction synergétique d'huile *M.suaveolens* avec les antibiotiques testés

Les souches bactériennes							
<i>S. aureus</i> 25923		<i>S. aureus</i> 43300		<i>P.aeruginosa</i> 27853		<i>E.coli</i> 25922	
Diamètres des zones d'inhibition en (mm)							
A		A		A		A	
E	TE	E	TE	CTX	CIP	AMP	AMC
10mm	15mm	10mm	10mm	25mm	12mm	8mm	10mm
B		B		B		B	
E+HE	TE+HE	E+HE	TE+HE	CTX+HE	CIP +HE	AMP+H	AMC+ H
15mm	15mm	13mm	13mm	25mm	15mm	12mm	12mm
Diamètres d'élargissement des zones en (mm)							
5mm	-	3mm	3mm	-	2mm	4mm	2mm

A : Diamètre d'inhibition d'antibiotique

B : Diamètre d'inhibition de l'association de l'huile essentielle et l'antibiotique

**Figure (19) :** Représentation résultats de l'interaction synergétique d'huile *M.suaveolens* avec les antibiotiques testés



Toutes les souches bactériennes (tableau 8) résistent contre les antibiotiques testés à l'exception de la souche *P.aeruginosa* 27853 qui avéré sensible vis-à-vis le CTX.

Les résultats de test synergétique (figure 19), montrent que l'association de l'huile essentielle de *M.suaveolens* avec l'antibiotique TE et CTX n'a aucun effet sur le diamètre d'inhibition de la souche *S. aureus* ATCC 25923 et *P.aeruginosa* 27853 respectivement. Par contre il permet un élargissement du diamètre de zone d'inhibition de l'antibiotique E et CIP (5 mm - 2 mm) testé sur *S. aureus* ATCC 25923 et *P.aeruginosa* 27853 respectivement. En revanche notre huile essentielle permet aussi un élargissement du diamètre d'inhibition des antibiotiques (E, Te, AMP, AMC) testé sur *S. aureus* 43300 et *E.coli* 25922 (3mm - 3mm - 4mm- 2mm) respectivement (annexe 9).

D'après nos résultats on peut déduire que la combinaison de l'huile essentielle de *M.suaveolens* avec ces antibiotiques a montré un diamètre des zones d'inhibition plus large sur les souches bactériennes qui ont présenté une résistance envers les antibiotiques testés seuls. On peut déduire que cet effet synergétique peut être utilisé comme alternatif antibactérien pour les souches présentant une faible sensibilité ou bien un problème de résistance aux antibiotiques standards soit par la réduction de la dose efficace de l'antibiotique ou bien l'application des quantités suffit d'huile essentielle.

## 6. Activité antifongique des huiles essentielles

### 6.1 Évaluation de l'activité antifongique par la méthode de diffusion sur disque

Récemment la résistance de *C.albicans* vis-à-vis l'antifongique est à la hausse, dans ce contexte, notre objectif est d'évaluer le potentiel thérapeutique possible de l'huile essentielle de *M.suaveolens* contre elle.

Nous avons testé l'activité antifongique de l'huile essentielle de *M.suaveolens* par la méthode de diffusion sur disque vis-à-vis de *C.albicans10231*. Les résultats relatifs a la mesure de diamètre du zone d'inhibition de la croissance de *C.albicans10231* est récapitulé dans le (tableau 09) et (figure 20).

**Tableau (09) :** les résultats de l'activité antifongique de l'huile essentielle *M.suaveolens* réalisé par la méthode des disques

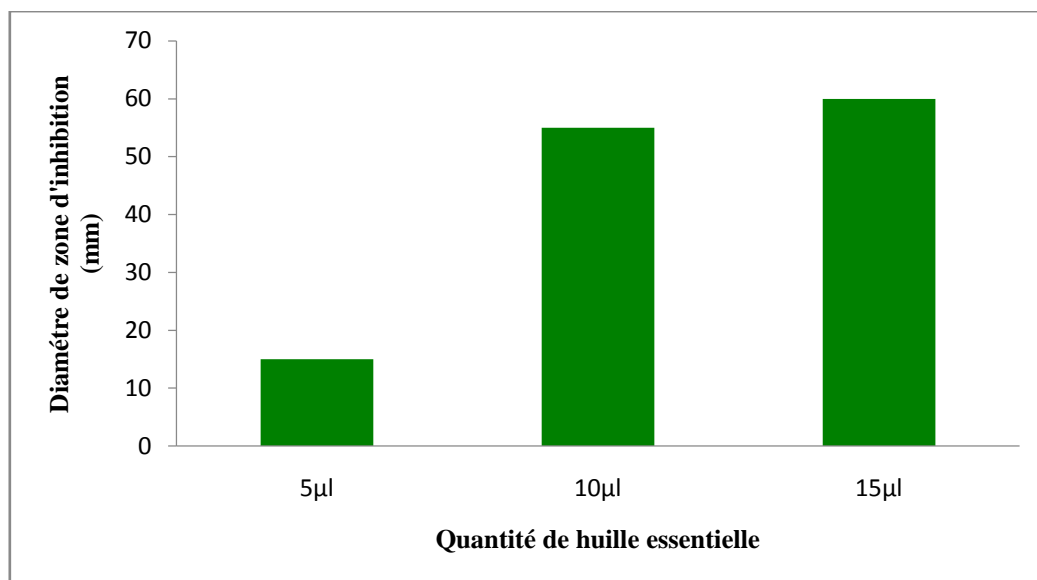
---

Diamètres des zones d'inhibition en (mm)				
Souche fongique	quantité HE			DMSO
	5µl	10µl	15µl	
<i>C. albicans 10231</i>	15 mm	55 mm	60 mm	6mm

---

Nos résultats prouvent que l'huile essentielle de *M.suaveolens* montre un effet antifongique (tableau 9) très remarquable contre *C. albicans 10231* quelle que soit sa quantité. En outre on remarque que les diamètres d'inhibitions augmentent (15 mm, 55mm, 60 mm) parallèlement avec les quantités d'huile essentielle (5µl, 10 µl ,15µl) respectivement (tableau. Ce qui prouve que la quantité d'huile essentielle a un effet très significatif sur les zones d'inhibitions (annexe 4) , notre résultat est supérieure à celle de l'étude de **chebaibi et al., (2016)** sur l'espèce *M.rotundifolia* de Maroc (33 mm) et de **Riahi et al., (2013)** sur l'espèce *M. suaveolens* de Tunisie (21 mm). D'après cette comparaison on peut conclure que notre huile possède un effet antifongique plus important à celle de ces travaux.

**Figure (20) :** Représentation graphique des résultats de l'activité antifongique d'huile essentielle *M. suaveolens* réalisé par la méthode des disques.



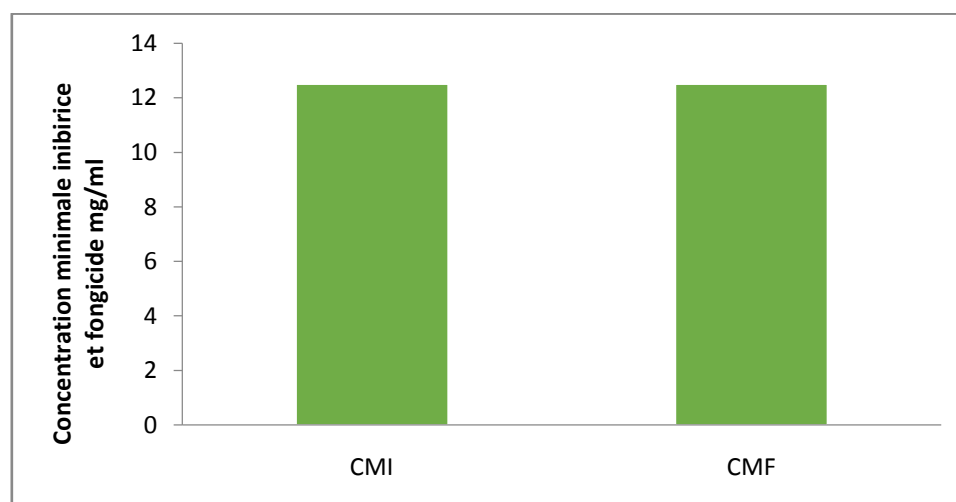
## 6.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice et fongicide

Nous avons déterminé la concentration minimale inhibitrice en milieu liquide et concentration minimale fongicide sur milieu solide de l'huile essentielle de *M.suaveolens* vis - vis *C.albicans 10231* par la technique de micro dilution et la diffusion sur disque respectivement. Les résultats que nous allons obtenu en rapport avec ces deux paramètres (CMI, CMF) sont indiquées dans le (tableau 10) et dans la (figure 21).

**Tableau (10)** : résultats de l'activité antifongique d'huile essentielle *mentha suaveolens* réaliser par la méthode de CMI.

Les Concentrations (mg/ml)										
Souche fongique	50	25	12.5	6.25	3.125	1.562	0.781	0.390	T (P)	T (N)
<i>C. albicans 10231</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
T : Témoin	- : inhibition									
N : Négative	+ : croissance									
P : positive										

**Figure (21)**: Représentation graphique des CMI et CMF d'huile essentielle *M.suaveolens* relative a la souche fongique





Les résultats révèlent que l'huile essentielle de *M.suaveolens* montre un effet antifongique significatif avec une valeur de CMI et CMF égale à 12.5 mg/ml. On peut déduire que notre huile essentielle est un agent antifongique efficace contre *C.albicans* à une dose de 12.5 mg/ml (annexe 6-7).

Notre résultat est concordé à l'étude réalisée par **Omzil et al., (2002)** et **chebaibi et al., (2016)** sur l'espèce de *M.rotundifolia* du Maroc et **Riahi et al., (2013)** sur l'espèce Tunisienne qui ont montré des valeurs de CMI 6.9 mg/ml, 6.3 mg/ml, 8 mg/ml respectivement moins élevé par rapport à nos résultats, et une valeur de CMF (12.5mg/ml), similaire à celle obtenue par **chebaibi et al., (2016)**, et moyennement inférieure à celle de **Riahi et al., (2013)** qui a montré un CMF de (16 mg/ml) .

L'activité antifongique d'huile essentielle, peut être expliquer par le mécanisme d'action de leurs composés phénoliques qui est fondée principalement sur l'inhibition des enzymes fongiques contenant le groupement SH dans leur site actif (**Celimene et al., 1999**),ou bien dû à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci ,entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (**Cox et al., 2000**).

## 7. Détermination de rapport CMF /CMI

Le rapport CMF/CMI permet de définir le caractère fongicide d'une huile essentielle. Le résultat de ce rapport est récapitulé dans le (tableau 11).

**Tableau (11) :** Résultats de rapport CMF/CMI relative à la souche fongique.

Souche fongique	CMF/CMI
<i>C. albicans 10231</i>	1

CMF : Concentration minimale fongicide  
CMI : Concentration minimale inhibitrice.

Le rapport CMF/CMI de l'huile essentielle de *M.suaveolens* est égal à 1, donc nous constatons que notre huile exerce une action fongicide sur *C.albicans 10231*.

# *Conclusion*

Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les huiles essentielles extraites des plantes médicinales et aromatiques, les différents résultats publiés indiquent qu'elles sont douées de plusieurs propriétés biologiques. Cependant, les travaux de recherche sur les propriétés antibactérienne et antifongique de certaines plantes sont rares. Par conséquent, l'évaluation de telles propriétés demeure une tâche intéressante et utile, en particulier pour trouver des nouvelles sources d'agents antimicrobiens naturels. Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer *in vitro* l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle extraite de *M.suaveolens* récolté dans la région de l'Ain Temouchent.

L'extraction de l'huile essentielle *M.suaveolens* a été réalisée par hydrodistillation, le rendement de l'étude était voisin de 0.22 - 1.68 % dans le mois de février et le d'avril respectivement.

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérienne et antifongique de HE *M.suaveolens* vis-à-vis 5 souches microbiennes.

HE de *M.suaveolens* a montré un large spectre d'action contre toutes les souches bactériennes testées. Ainsi que les espèces bactériennes étudiées présentent des degrés de sensibilité différents vis-à-vis de la quantité de l'huile essentielle testée dans laquelle on a remarqué que la plus grande surface d'inhibition est enregistrée sur les bactéries Gram positif que les bactéries Gram négatif.

La vapeur de l'huile essentielle *M.suaveolens* a montré également une activité inhibitrice qui n'est pas négligeable à une quantité de 5  $\mu$ l.

La méthode de micro-dilution a confirmé les résultats de la méthode d'aromatogramme, nos résultats de façon générale montrent que l'huile essentielle de *M.suaveolens* présente un effet inhibiteur avec des valeurs de CMI faible et une bonne activité bactéricide sur les toutes les souches bactériennes et une capacité inhibitrice de la croissance mycélienne avec une valeur de CMI et CMF moyennent faible.

L'huile de *MS* à une activité supérieure à celle de gentamicine sur toutes les souches à l'exception de la souche *Escherichia coli* ATCC 25922.

D'après le calcul de rapport CMB/CMI et CMF/CMI on a conclu que HE de *M.suaveolens* exerce une action bactéricide contre toutes les souches bactériennes et une action fongicide sur *C.albicans 10231*.

La combinaison d'HE de *M.suaveolens* avec les antibiotiques testés a montré un diamètre des zones d'inhibition plus large sur les souches bactériennes qui ont présenté une résistance aux antibiotiques testés seuls. On peut déduire que cet effet synergétique peut être utilisé comme alternatif antibactérien pour les souches présentant une faible sensibilité ou bien un problème de résistance aux antibiotiques standards soit par la réduction de la dose efficace de l'antibiotique ou bien l'application des quantités suffisantes d'HE.

Cette étude pourrait constituer une base pour la mise au point d'une nouvelle génération d'agents antimicrobiens naturels pouvant être utilisés chez l'homme contre les infections rebelles aux antibiotiques et antifongiques classiques. Par la même occasion, peut être considérée comme agents conservateurs pour l'industrie agro-alimentaire capable d'empêcher la prolifération des bactéries et de réduire la croissance mycélienne.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active. Ces résultats préliminaires peuvent être complétés par d'autres études plus approfondies.

Notre travail peut être poursuivi par :

La caractérisation, Fractionnement et isolement des différents constituants d'huile essentielle a fin de connaître la ou les molécules à l'origine des effets antibactériens et antifongiques, l'étude de l'activité antioxydant, l'étude du pouvoir antibactérien et antifongique des vapeurs de cette huile sur plusieurs souches microbiennes en vue d'une éventuelle désinfection de l'air contaminée des hôpitaux , évaluation de l'activité antimicrobienne *in vivo* sur un modèle biologique ,l'étude d'autres propriétés biologiques de ces plantes, à savoir les propriétés anti-inflammatoires, antivirale.

*Référence  
bibliographie*

A

**Abdelazize ,M.(2013)** .Caractérisation, activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de trois espèces de sauges (*Salvia Algeriensis*, *Salvia argentea* et *Salvia barrelieri*) .Magister en agronomie, Univ Hassiba Ben Bouali à Chlef .

**AFSSAPS. (2008).**Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. 143-147 boulevard Anatole France F - 93285 Saint-Denis Cedex.

**Aghel, N.Yamini ,Y. Hadjia khoondi, A. Pourmortasavi ,M,S. (2004)** .Supercriticalcarbon dioxide extraction of *Mentha pulegium L.* essential oil. *Talanta*,p. ,407-411.

**Amzouar,S. Boughdad,A. Maatoui,A . Allam,L .(2016)** .Comparaison de la composition chimique et l'activité insecticide des huiles essentielles de *Mentha suaveolens Ehrh.* prélevées de deux régions différentes du Maroc contre *Bruchus rufimanus* (Bohman) (Coleoptera: Chrysomelidae) ,Vol(18), p 836-845.

**Angiolella ,L. (2014).**effet of menthe suaveolens essential oil alone or in combinationwith other drugs in candida albicans .evid –based complement .altern.med 125904:1-125904:9.

**Anton, R. Lobskin, A. (2005).** Plantes aromatiques. épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Paris, p. 522.

**Anton, R. Lobstein, A. (2005).** Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Paris, p522.

**Asbaghan , S. Sh.Novruzov , E. N. Fattah. A. (2014).** Antibacterial Effect Of Essential Oils From Medicinal Plants . (biologiya və tibb elmləri), 69:22-26.

**Astani ,A. Reichling, J. Schnitzler, P.( 2011).** Screening for antiviral activities of isolated compounds from essential oils. Evid. Based Complement. Altern. Med.p:1-8.

**Athamena, S. Chalghem, I. Kassah-Laouar, A.Laroui, S. Khebri ,S.( 2010).** Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum L.* Lebanese Science Journal. Vol 11 (1):72p.

**Ayoughi, F. Barzegar, M. Sahari, M. A. Naghdibadi ,H. ( 2011 ).**Chemical Compositions of Essential Oils of *Artemisia dracunculus L.* and Endemic *Matricaria chamomilla L.* and an Evaluation of their Antioxidative Effects *J. Agr. Sci. Tech.* Vol. 13: 79-88.

**B**

**Bachman, S. (2016).** State of the World's Plants Report. Royal Botanic Gardens, Kew, p. 7/84.

**Bakkali, F. Averbeck, S. Averbeck, D. Idaomar M. (2008).** Biological effects of essential oils – A. review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446–475.

**Baser, K.H.C. Buchbauer, G. (2010).** *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications*. Ed Taylor & Francis Group .994

**Bekhechi ,C.Atick -bekkara ,F.Abdelouahid ,D.E.(2008).**Composition et activité antimicrobienne des huilles essentielles d'Origanum Glandulosum d'Alger-phytothérapie ,vol 6 .p,153-159.

**Belkou, h. Beyoud, F.et Taleb, B.(2005).** Approche de la composition biochimique de la menthe vert (Menthe spicata L) dans la région de ouargla, (mémoire DES,univ ouargla).

**Ben bouali ,M.(2006).**Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de :Mentha rotundifolia &Thymus vulgaris (Diplôme de magister ,Univ Hassiba ben bouali – Chlef ).

**Benabdallah, A. (2017).** Etude écophysiological, développement et importance des plantes médicinales du genre *Mentha* dans le Parc National d'El-Kala (Nord-Est Algérie), diplôme de Doctorat,Univ : Mentouri Constantine 1, Constantine).

**Benayad ,N. Ebrahim,W. Hakiki,H. Mosaddak,M. ( 2012).** Chemical characterization and insecticidal evaluation of the essential oil of *Mentha suaveolens* L.and *Mentha pulegium* L.Growing in Morocco, *Chimie și Inginerie Chimică, Biotehnologii, Industrie Alimentară* 13 (1). p : 027 – 032.

**Benayad ,N.(2013).** Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes marocaines et activité anticancéreuse. Thèse de doctorat , université mohammed v – agdale,Rabate.

**Benayad,N.(2008).**Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse. Doctorat en chimie organique. Univ Mohammed V.Rabat.



**Benbrook , M. (2005).** Elevating Antioxidant Levels in Food through Organic Farming and Food Processing. The organic center .

**Benkada.(1990).** isolation des huiles essentielles de la menthea suaveolens, ehrh (Bous Domrane) de la région de Tlemcen et leur analyse par différents méthodes chromatographique mise en évidence du composé majoritaire « la pulégone » (Thèse Magister ,Univ Tlemcen)

**Benkherara, S. Bordjiba, O.Boutlelis djahra ,A.( 2011).**Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale sur quelques entérobactéries pathogènes. Université Badji Mokhtar, BP12, Annaba 23000, Revue Synthèse (23). 107p.

**Benzeggouta, N.( 2005).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Mémoire de magister, Université de Constantine, Algérie.

**Besombe,S.(2008) .** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes. aromatiques : applications généralisées. Thèse, génie des procédés . univ de la rochelle ,français .

**Boira ,H. Blanquer ,A. (1998).** Environmtnal factors affecting chemical variability of essential oil in Thymus piperella L. Biochem. Syst. Ecol. 26, 8116-822. Franchomme, Pénoel, P. Reverdy, D. M.E. (1990). Clefs pour l'aromathérapie. La molécule aromatique : matière, énergie, information.L'aromathérapie exactement. R.J. Editeur. Limoges, 2. p : 73-227.

**Bouamer, A.Bellaghit, M.et Mollay, A. (2004).** Etude comparative entre l'huile essentielle de la menthe vert et la menthe poivrée de la région de Ouargla. Mémoire DES .Univ. Ouargla.

**Bouhaddouda ,N.Aouadi ,S. Labiod ,R.( 2016).** Evaluation of Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oil and Methanolic Extract of *Origanum vulgare* L. ssp. *glandulosum* (Desf.) *Iet swaart* from Algeria, International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical .vol 8(1),p: 104-112.

**Bouhadouda,N.(2016).** Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local :*Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*..Diplôme de Doctorat ,Univ Badji Mokhtar, Annaba.

**Bounihi ,A .(2016).** Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées).Diplôme de doctorat, Univ Mohammed V,Rabat .

**Boussbia ,N.( 2011).** Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires .docteur en science agronomique. L'Univ d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique.

**Božović,M. Pirolli,A . Ragno,R.(2015).** *Mentha suaveolens* Ehrh. (Lamiaceae) Essential Oil and Its Main Constituent Piperitenone Oxide: Biological Activities and Chemistry .vol(20),p 8605-8633.

**Brada,M. Bezzina ,M. Marlier ,M. Carlier ,A.( 2007).** Georges Lagnay Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* vol 11 (1), p 3–7.

**Brahmi,F. Khodir,M. Mohamed,C. Pierre ,D.(2017).** Chemical Composition and Biological Activities of *Mentha* Species .48-79. dx.doi.org/10.5772/67291.

**Brian ,M.L.(1995).**The isolation of aromatic materials from plant products, R,J,Reynolds Tobacco Company,Winston-Salem(USA),P :57-148.

**Bruneton J. (1999)** .Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris.

**Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc,Lavoisier, Paris.p: 915.

**Bruneton, J.(1993).**Pharmacognosie et photochimie plantes médicinales. Lavoisier, France, p279.

**Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food. *International Journal of Food Microbiology* vol(94) : 223– 253.

## C

**Carson C.F., Mee B.J., Riley T.V., 2002.** Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemothe-rapy* 46 (6):1914–1920.

**Chebaibi ,A. Marouf ,Z . Rhazi-Filali, F. M. Fahim . Ed-Dra, A.(2016).** Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie* p :8. DOI: 10.1007/s10298-015-0996-1.

**Climene,C.C.Milices ,J.A.Ferge,L.Young,R.A ,(1999).**efficacyof pinosylvinsagainst ;withe-rot and brown-rot fungi,holzforschung,53,491-497.

**Cosentino, S.; Tuberoso, C.I.; Pisano, B.; Satta, M.; Mascia, V.; Arzedi, E. (1999)** ,In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. Lett. Appl. Microbiol., 29:130–135

**Cox ,S.D. man ,C.M. markham, J. I.(200)**,the mode of antimicrobial action of the essential oil of melaleuca alternifolia .j Appl microbial 88:170-175.

## **D**

**Daniel, L. Daniel, P. Eduardo, D. Davies, P. Villa, R. Canigueral , S. (2002)**. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* From Uruguay. Brazi. Archi. Biol and Technol. 45: 519-524.

**Dapkevicius, A. Venskutonis, R. Van Beek T.A. & Linssen J.P.H.( 1998)**.Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. Journal of Science Food and Agriculture. Vol 77(1),p 140-146.

**Dastmalchi, K. Damien Dorman, HJ. Oinonen, P.P.Darwis, Y. Laakso, I. Hiltunen, R. (2008)**. Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. Food. Sci. tech LWT. Vol 41 (3),p :391-400.

**Davidson,P.M.M,E ,(1989)**.Parish. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials, Food Technol.43:148-155.

**Derwich,E. Benziane,Z. Boukir, A.(2010)** Chemical Composition and In Vitro Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Cedrus atlantica* vol (3) p:381–385.

**Djabou, N.lorenzi, V.Guinoiseau,(2013)**. E.andereani, S.Giuliani, M.C.Desjobert, J.M.Phytochemical composition of corsicanteucrium essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxi-infectious pathogens.Food Control.

**Dorman, H.J.D., Deans, S.G., (2000)**. Antimicrobial agents from plants: antibacterialactivity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol. 88, 308–316.

**Duraffourd, C. D.Hervicourt, L. et Lapraz ,J. C. (1990)** . Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd, Masson, Paris.

## **E**

**Eisenhut, M. (2007)** .The toxicity of essential oils,.article in presse, International Journal of Infectious Diseases. Vol 11(4), p 365.

**El Arch, M.Satrani, B.Farah, A. (2003).** Composition chimique et activités antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc. Botany Letters 150(3): 267–74

**El haib, A (2011).** Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. (Diplôme de doctorat, Univ Toulouse ).

**El Kolli, M. (2008) .**Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Athemis pedunculata* Desp. D'*Athemis punctata* Vahl. et de *Daucus crinitus* Desf. Mémoire de Magistère, UFA de Sétif.

**El Rhaffari Lhoussaine, (2008).** Catalogue des plantes potentielles pour la conception de tisanes. Maroc, Empowering the Rural Poor by Strengthening their Identity, Income Opportunities and Nutritional Security Through the Improved Use and Marketing of Neglected and Underutilized Species.

## **F**

**Fasty, D.( 2007).** Ma bible des huiles essentielles. Leduc Editions. p: 20.

**Faye ,lo. M ,gaye. (1997).** Connaissances et circuits thérapeutiques relatives au paludisme en zone rurale Sénégalaise, Médecine tropicale : vol 57,p :161- 164.

**Franchomme ,p.Jollois,R.Penoel , D.(1990).**L'aromathérapie exactement :encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles .Fondements,démonstration,illustration et application d'une science médicale naturelle (R.jollois ed.Limoges, France ed ).

## **G**

**Garnero, J. (1996).**Huiles essentielles. Dossier : K345. Base documentaire: Constantes physico-chimiques. vol. papier n°: K2.

**Gill, A.O.; Holley, R.A.(2006).** Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics.int .j .food microbial.15,19

**Guillier, B. Atakan, K. Chatelain, J-L. Havskov, J. Ohrnberger, M.Cara, F. Duval, A-M. Zacharopoulos, S.Teves-Costa, P. and the SESAME Team. (2007).** Influence of instruments on H/V spectral ratios of ambient vibrations. Bulletin of Earthquake Engineering. DOI 10.1007/s10518-007-9039-0. 29p.

**Guinoiseau, E. (2010).** Molécules, antibactérienne issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. *Thèse de Doctorat*, Univ. Corse, Option: Biochimie- Biologie moléculaire ; France ; P50.

**Gulluce, M. Sahin, F. Sokmen, M. Ozer, H. Daferera, D. Sokmen, A.(2007)**Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *Longifolia*. *Food Chem.*, 103, 1449–1456.

## **H**

**Hamdani, I. Chikri, M. Fethi, F. Salhi, A. Bouyanzer, A. Zarrouk, A.Hammouti, B. Costa, J. Desjobert, J, M. (2017).** Essential oil *mentha suaveolens* L :Chemical composition, anticorrosive properties on mild steel in 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and chemometric approach , *Journal of materials and Environmental Sciences* vol (8) , p :526-538.

**Hopkins, W.G. Hawley, J.A.Burke, L. M. (1999).**Design and analysis of research on sport performance enhancement. 31(3):472-85.

**Huang, H. S,Chang. L. H., Jong T. T., Nien Y. F.& Chang C. M. J.,(1995).** Supercritical carbon dioxide extraction of turmetic oil from *Curcuma longa* Linn. ,and purification of turmerones. *Separation and Purification Technology*. vol 47, p:119-125 .

**Hyldgaard, M. Mygind, T. Meyer, R.L. (2012)** . Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front. Microbiol.* 3, doi:10.3389/fmicb.2012.00012.

## **I**

**Inouye ,S.( 2003).**Laboratory evaluation of gaseous essential oils (part 1). *International journal of Aromatherapy*. vol 45,p :22-35.

**Iqbal , A. Farrukh, A . (2007)** .In vitro efficacy of bioactive extracts of 15 medicinal plants against ESbL-producing multidrug-resistant enteric bacteria.*Microbiological Research*, (162): 264-275.

## **K**

**Kasratia,A. Alaoui J,C. Bekkouchea,K. Spooner-Hart,R. Leach,D.Abbad,A. (2015).** Chemical Characterization and Insecticidal Properties of Essential Oils from Different Wild Populations of *Mentha suaveolens* subsp. *timija* (Briq.) Harley from Morocco. *Chemistry & Biodiversity*. vol (12),p :823-831.

**Kessbi ,A. (2011).**Etude des propriétés physicochimique et évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles d'eucalyptus globulus dans la région de Ouargla. (Master en Génie des Procédés, Univ Kasdi Marbah ,Ourgla )

**Kim N.S. Lee D.S. (2002).** Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatographymass spectrometry. *Journal of Chromatography* . 98,p: 31-47.

## L

**Labioud , R.(2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydant et activité fongicide. Thèse de Doctorat , Univ Badji Mokhtar-Annaba.

**Ladjel,S. Gherraf,N. Hamada,D.( 2011).** Antimicrobial Effect of Essential Oils From the Algerian Medicinal Plant *Mentha Rotundifolia* L. *Journal of Applied Sciences Research*, 7(11): 1665-1667.

**Lahlou ,M. (2004).** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. Vol (18), doi.org/10.1002/ptr.1465.

**Lahrech,K . (2010).**Extraction et analyses des huiles essentielles de *Mentha pulegium* l. et de *Saccocalyx satureioides*. Tests d'activités antibactériennes et antifongiques, (Theses, Univ d'Oran Es-Senia, Oran) .

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

**Lakusic ,B . Salavkovska , V .Pavlovic ,M. Milenkovic ,M. Antic-stankovic,J. Couladis,M.(2009).**Chemical composition and antimicrobialactivity of the essential oil from *Chaerophyllum aureum*,L (Apiaceae).*nat.prod.commun* ,4,115-118.

**Lamarti, A. Badoc, A. Deffieux, G. & Carde, J .P. (1994).** Biogénèse des mono terpènes, Localisation et sécrétion. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. Vol 133 p: 69-78.

**Legrand ,G. (1993).** Manuel de préparateur en Pharmacie. Masson, Paris. Kim N.S.& Lee D.S. 2002. Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatographymass spectrometry. *Journal of Chromatography* . vol 98,p: 31-47.

**Lehbab ,A. (2013).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *Mentha rotundifolia* L. (Domrane) de la région de Tlemcen :Composition chimique des huiles essentielles , Diplôme de mastère en biologiste ,univ Abou Bekr Belkaid-Tlemcen

**lucc ,E.M.( 1982) .**Thèse sur : extraction sans solvant assistée par microondes Maroc p :22-18

**Lucchesi ,M.E. Chemat, F.Smadja ,J.(2004b).** An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices», *Flavour. Fragr. J. vol 19*,p: 134-138

**Lucchesi, M,E. Chemat, F. Smadja ,J. (2004a).** Solvent free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydro-distillation. *J. Chromatogr. A.* 1043: 323-327.

**Lucchesi,M.E. (2005).**Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en sciences ,discipline :Chimie. Uni de Réunion ,Faculté des sciences et Technologies.

## **M**

**Mafleh ,S. (2015).** Caractérisations des huile essentielle de citron (feuille, fruits) des régions de Ouargla. (Option Mastère en génie des procédés .Univ kasdi merbah Ouargla).

**Maihebiau, P.(1994).** La nouvelle aromathérapie: biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. Lausanne. P : 635.

**Mann J, 1987.** Secondary metabolism. Clarendon Press, Oxford,p: 374 .

**Miguel, M,G .(2010).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A Short Review. *Molecules.* 15 p: 9252-9287.

## **N**

**NCCLS (National Committe for Clinical Laboratory Standards), (2001).** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: eleventh informational supplement, M 100-Su. Wayne, PA, USA.

**Ntezurubanza, L. (2000).** *Les huiles essentielles du Rwanda.* Chicoutimi, Québec: LASEVE-UQAC, p :17 .

**Nzeyumwami,J, K.(2004) .** Caracterisation des huiles essentielles de trois plantes aromatique :hyptis Spicigeria , pluchea Ovalis et laggera Aurita DEA.( Univ de lome-Togo).

## **O**

**Ochoa ,H.(2005).** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné « solvant/actif ». D'origine végétale. Thèse de Doctorat de l'institut National polytechniques de Toulouse .France.

**Ouis , N. (2015).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre de fenouil et de persil. (Docteur en chimie organique. Univ, d'Oran 1).

**Oumzil, H. Ghouli, S. Rhajaoui, M. Idrissi, A. Fkih-Tetouani, S. Faid, M. Benjouad, A. (2002).** Antibacterial and Antifungal Activity of Essential Oil of *Mentha suaveolens*, *Phytother. Res*, 16 vol (8), p :727 – 731

**Oussalah, M ,caillet, S. Saucier , L. and Iacox , M. (2007).** Inhibitory effects of selected plant essential oils on four pathogen bacteria growth: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 18 vol (5), p:414-420.

## P

**Padua, L.S. N, Bunyapraphatsara, R.H.M.J. Lemmens, (1999).** Plant Resources of South East Asia 12.

**Pellerin ,P.( 2001 ).** Extraction par le CO<sub>2</sub> à l'état supercritique. *Ann. Fals. Exp. Chim.* V. 94, N°954 , p : 51-62.

**Petretto, G.L. Fancello, F. Zara, S. Foddai, M. Mangia, N.P.Sanna, M.L. Omer, E.A. Menghini, L. Chessa, M. Pintore, G (2014) .** Antimicrobial activity against beneficial microorganisms and chemical composition of essential oil of *Mentha suaveolens* ssp. *insularis* grown in Sardinia. *J. Food Sci.*, 79 ;369–37

**Pingot, A. (1998).** Les huiles essentielles. Paris, : Ed. Tec. Doc, p. 230-236

**Piochon, M.(2008).** Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique , activité pharmacologiques et hémisynthèse. Mémoire. université du Québec à Chicoutimi , Canada.

## R

**Richard, F.( 1992).** Manuel des corps gras, Paris, Ed: Lavoisier, Tec.&Doc., p :1228-1242.

**Roux ,R.(2008).** conseil en aromathérapie .2ème Edition ,pro-officia ,p.187. leur main components upon *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia*. 128,p :151-153.

## S

**Shellie ,R. Marriott, P. Chaintreau ,A.(2004).** Quantification of suspected allergens in fragrances: evaluation of comprehensive two-dimensional GC for quality control. *Flavor. Fragr. J.* 19 ,p: 91-98.



**Skandamis ,P.koutsoumanis ,k.Frasseas,k (2001).**Inhibition of oregano essential oil and EDTA on *E.coli* 157:h7.ital j food sci 13:65-75.

**Smith, C,K. Moore, C,A. Alahi, E,N. Smart, Â,T. Hotchkiss, S.A.( 2000).** Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. Toxicol. Appl. Pharmacol. 168 p:189-99.

**Smith-palmer A, Stewart, J. Fyfe L.(1998).**antibacterial properties of plant essential oils and essences against five important food –borne pathogens .letters in applied microbiology ,26:118-122.

**Smith-Palmer, A. Stewart, J. Fyfe, L. (2001).** The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese.food microbiology,18,463-470.

**Stringaro,A.Vavala,E.Colone,M.Pepi,F.Mignogna,G.Garzoli,S.Cecchetti,S.Rangno,R.**

**Sutour,S. Bradesi,P.Rocca-Serra,D. Casanova, J. Tomi ,F.(2008 ).**Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from *Mentha suaveolens* ssp. *Insularis* (Req.) Greuter 23 ,p :107–114.

## **T**

**Taalbi,A. (2016).**Variabilité chimique et intérêt économique des huiles essentielles de deux menthes sauvages : *Mentha pulegium* (Fliou) et *Mentha rotundifolia* (Domrane) de l'ouest algérien.(diplome de Master en chimie , Univ , Abou bekr belkaïd de Tlemcen).

**Teisseire, P.J. ( 1991).** Chimie des substances odorantes. Tec et Doc., Lavoisier, Paris, France., 480p.

**Twidwell,E.K. Wagner,J.J.Thies, N. (2002).**Use a microwave oven to determine moisture content of Forages.p 8077.

## **U**

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

**USAID(2008),** stratégie de développement du secteur des plantes aromatique et médicinales au Maroc .

## **V**

**Valnet M. (2005).** Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth International. Journal of Food Microbiology.85, p: 73-81.

**Verbois, S. (2001).** Huiles Essentielles et Parfums qui Guérissent et qui Relaxent, La Voie De l'Ayurveda, Ed. Trajectoire.

**Verbois,S.( 2004).** Associer Plantes et Huiles Essentielles Selon la Tradition Indienne, Ed. Trajectoire.

**Virendra ,P.S.Drawker,R . (2006).**extraction of essential oil and its applications .department of chemical engineering ,national institute of Technology,Roukela .

**Voukou ,D. Kokkini ,S. Bressiere ,J.M. (1988).** Origanum onites ( Lamiaceae) in Greece Distribution , volatile oil yield, and composition . Economy botanic. 42 p:407-412 .

## **W**

**Wang ,L. Waller, C. L., (2006).** Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants.*Trends Food Sci. Tech.* 17 p: 300 – 312.

**Wenqtang ,G. Shufen. L. Ruixiang ,Y. Shaokun ,T.Can ,Q.( 2007).** Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food chem.* 1001 p: 1558-1564.

**Wichtel, M. Anton R., (1999).** Plantes thérapeutiques: tradition, pratiques officinales, science et thérapeutiques. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

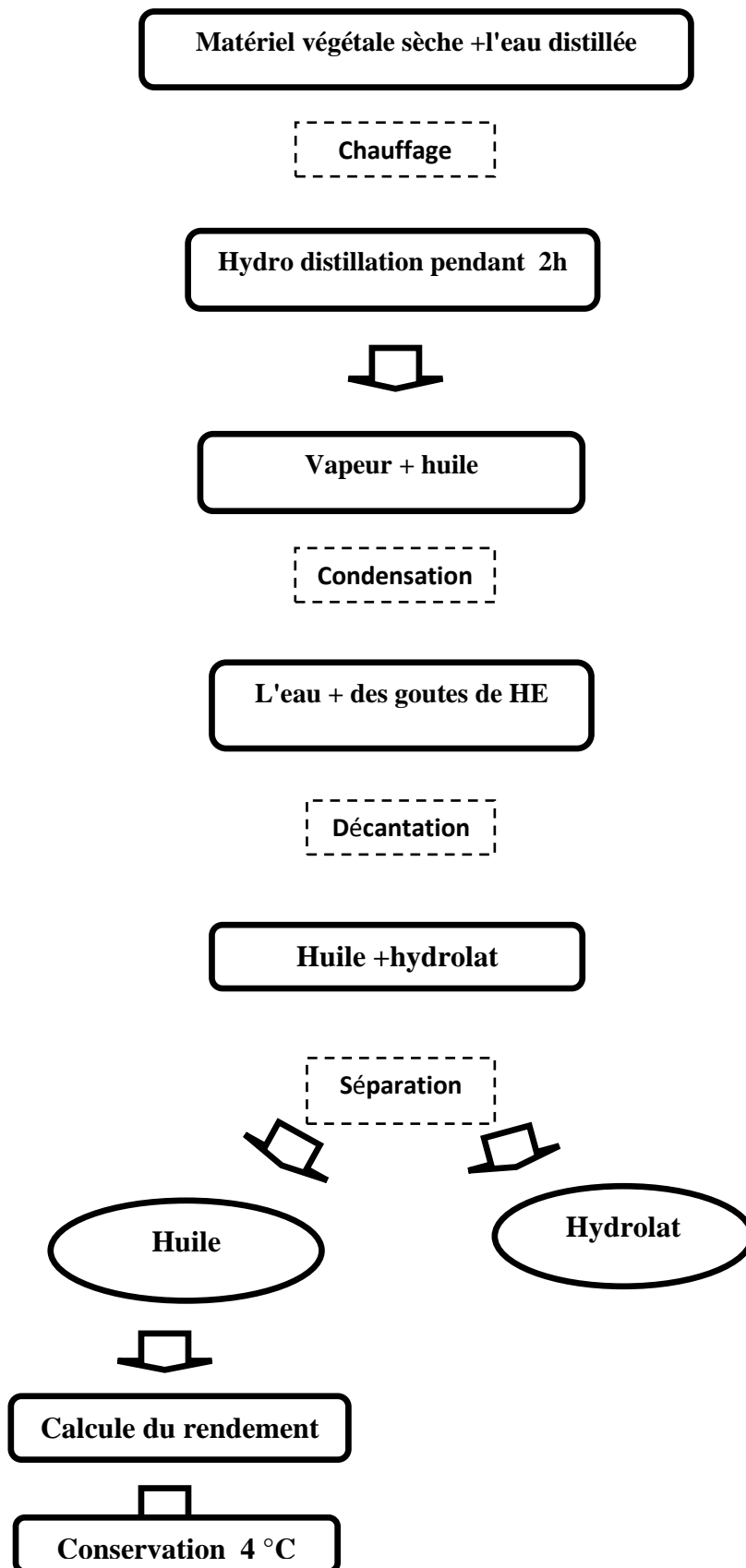
**Wilchtl, M. Anton, R. (1999).**Plantes thérapeutiques –Technique et Documentation, Paris.p :560.

## **Y**

**Yen ,TB. Chang, ST.(2008).** Synergistic effects of cinnamaldehyde in combination with eugenol agaist wood decay fungi. *Bioresource of Technology.* 99 p : 232-236.

# *Annexes*

**Annexe 1 : Protocole expérimental d'extraction des huiles essentielles**



**Annexe 2 : Protocole expérimentale de la méthode diffusion sur disque**

À partir

**Culture bactérienne**



Préparation

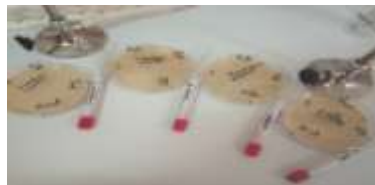
**Suspension bactérienne équivalente  
À 0,5 Mc Farland**



Incubation

18-24 heures à 37 °C

**Ensemencement du milieu Muller Hinton  
À l'aide d'écouvillon**



**Disposition des disques imbibés de 5 µl des  
différentes quantités d'HE**

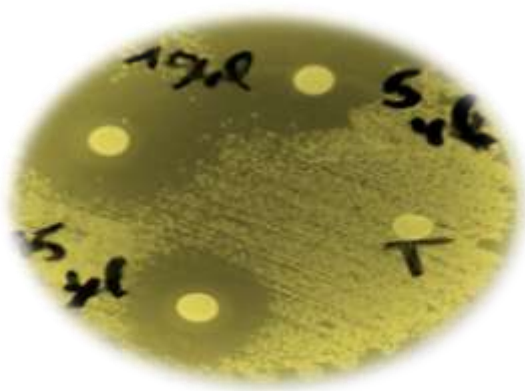


Incubation

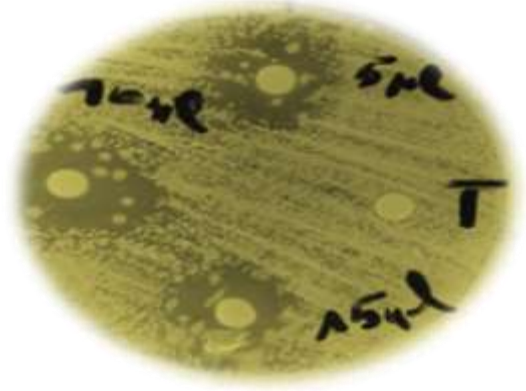
24h à 37 °C

**Mesure de halo d'inhibition en mm**

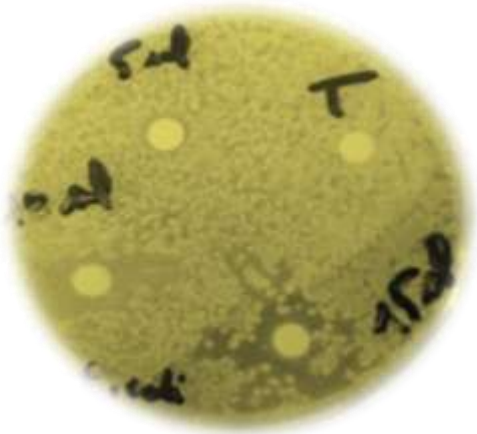
Annexe 3 : Photos représentant les résultats de l'activité antibactérienne et antifongique d'HE *M.suaveolens* par la méthode d'aromatogramme



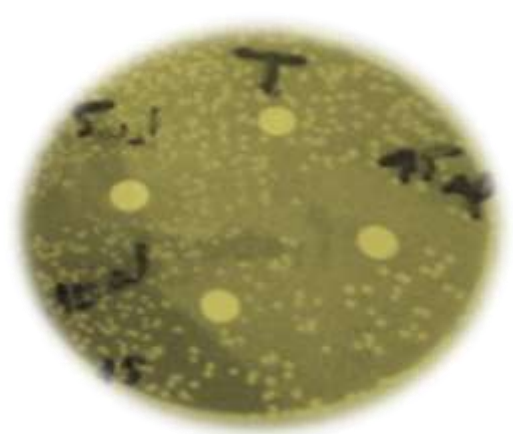
*S. aureus* ATCC 25923



*S. aureus* ATCC 43300



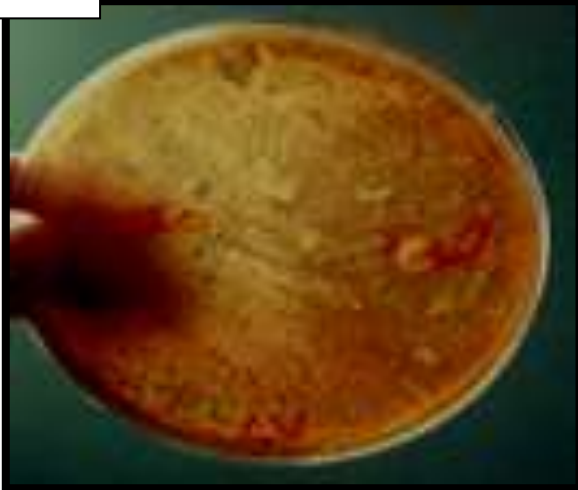
*E. coli* ATCC 25922



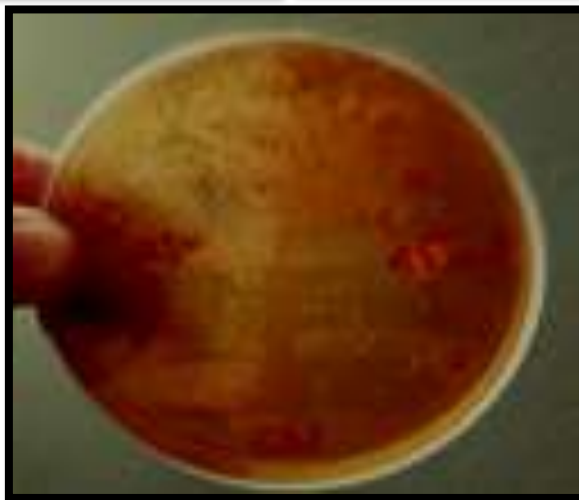
*P. aeruginosa* ATCC 27853

**Annexe 4: Photos représentant les résultats de l'activité antifongique d'HE *M.suaveolens* par la méthode d'aromatogramme vis-à-vis *Candida Albicans* 10231**

5 $\mu$ l HE

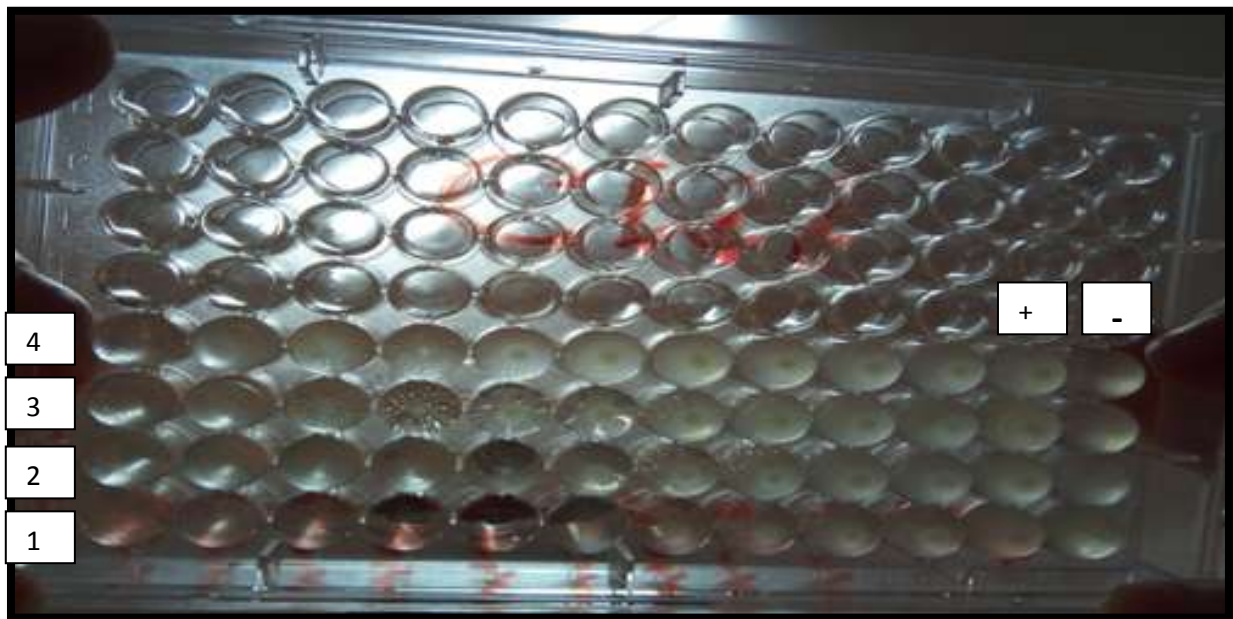


10 $\mu$ l HE



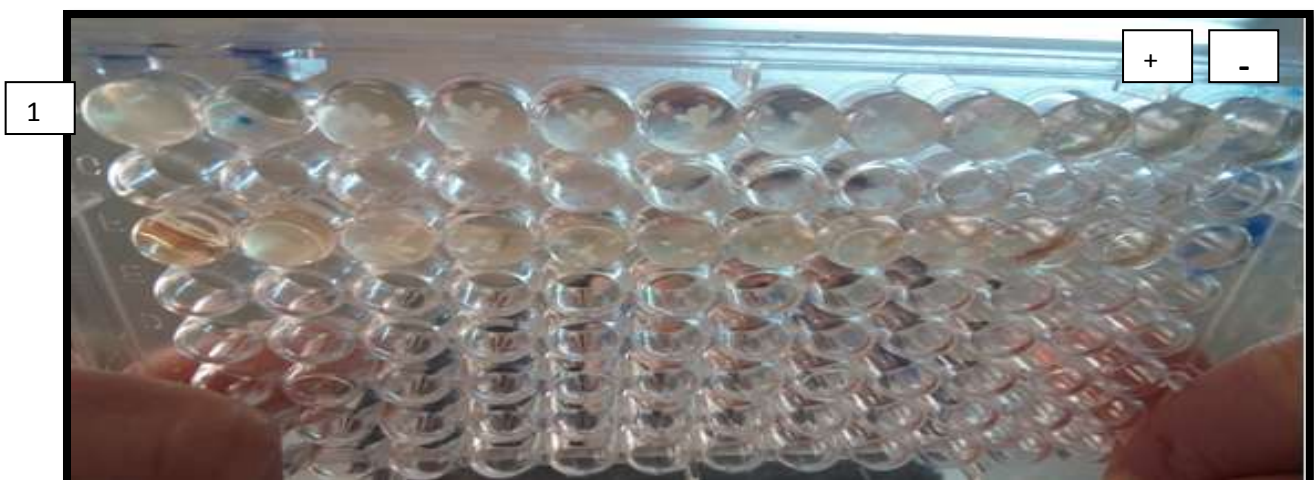
15 $\mu$ l HE

**Annexe 5: Photos représentant les résultats de l'activité antibactérienne d'HE  
*M.suaveolens* par la méthode de microdilution**



- 1 : *S. aureus* ATCC 25923.                      + : contrôle positive  
 2 : *S. aureus* ATCC 43300.                    - : contrôle négative  
 3 : *P. aeruginosa* ATCC 27853.  
 4 : *E. coli* ATCC 25922.

**Annexe 6 : Photos représentant les résultats de l'activité antifongique d'HE  
*M.suaveolens* par la méthode de microdilution**



- 1 : *Candida Albicans* 10231      + : contrôle positive      - : contrôle négative



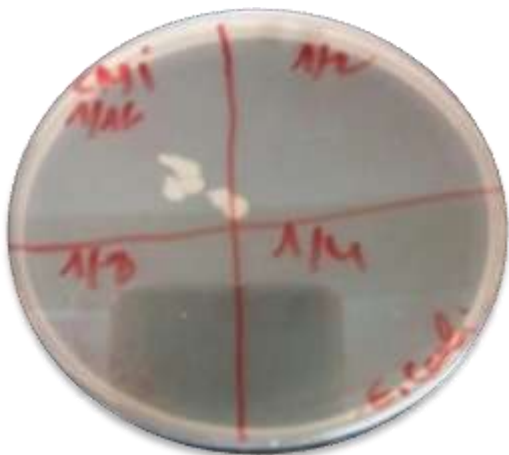
Annexe 7 : Photos représentant les résultats CMB et CMF d'HE  
*M.suaveolens*



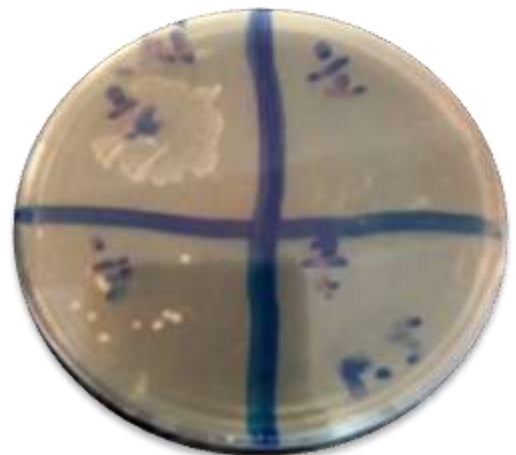
*S. aureus* ATCC 25923



*S.aureus* ATCC 43300



*E. coli* ATCC 25922



*P.aeruginosa* ATCC 27853

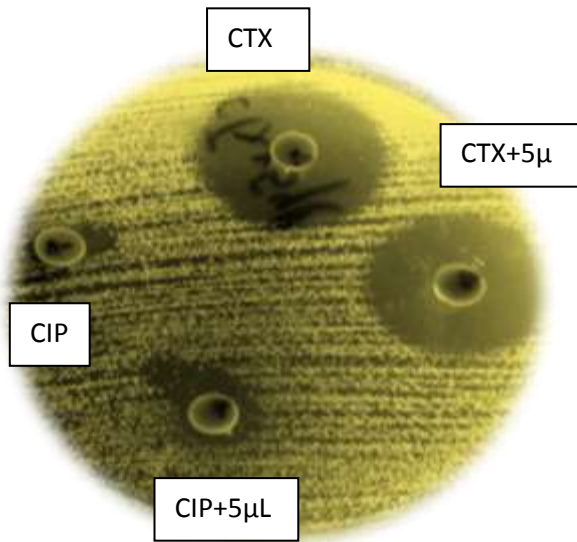


*Candida Albicans* 10231

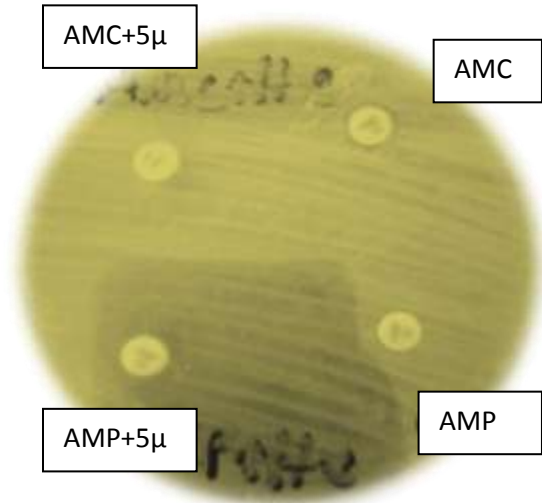
**Annexe 8 : Définition de quelques termes**

Terme	Définition
CMI	correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance de 90% de la population microbienne ( <b>Chebaibi et al., 2016</b> ).
CMB – CMF	correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable de tuer plus de 99,9% de l'inoculum microbien initial ( <b>Skandamiset al., 2001 in Chebaibi et al., 2016</b> ).
Bactériostatique	Concentration pour laquelle les bactéries ont échoué à se développer en bouillon, mais elles peuvent se développer quand elles sontensemencées en absence de l'huile essentielle ( <b>Smith-Palmer et al., 1998</b> ).
Bactéricide	Concentration pour laquelle les bactéries ne se développent pas en bouillon et ont échoué pour se développer quand elles sontensemencées en absence de l'huile essentielle ( <b>Smith-Palmer et al., 1998</b> ).

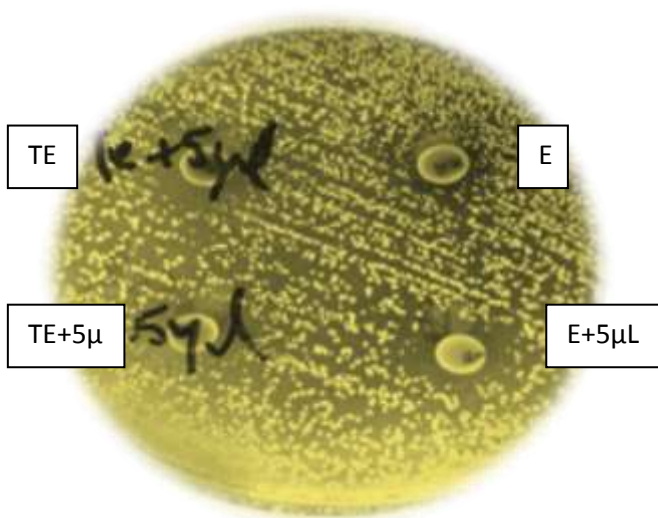
**Annexe 9 : Photos représentant résultats de l'interaction synergétique d'HE *M.suaveolens* avec les antibiotiques**



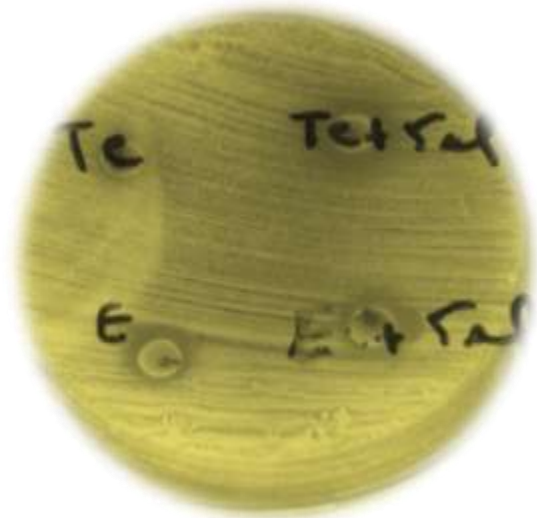
*P.aeruginosa* ATCC 27853E.



*coli* ATCC 25922



*S.aureus* ATCC 25923S.



*S.aureus* ATCC 43300

**Résumé** : Dans notre travail nous avons étudié l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* de la région d'Ain Témouchent. L'extraction de l'huile a été réalisée par hydro distillation sur la partie aérienne de la plante. Nous avons enregistré un rendement de 0.22 et de 1.68 %, pour le mois de février et le mois d'avril respectivement. La méthode de l'aromatogramme nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de *M.suaveolens* vis-à-vis de quatre souches bactériennes : (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300), ce pouvoir est relativement élevé, avec des zones d'inhibition variant entre 11 et 30 mm. La méthode de microdilution a confirmé les résultats de la méthode de l'aromatogramme. Les CMI obtenues sont comprises entre 3.125 et 6.25 mg/ml. De même, les valeurs de la CMB de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* s'avèrent faibles. La méthode de diffusion des disques nous a permis aussi de mettre en évidence le pouvoir antifongique de l'huile essentielle de *M.suaveolens* vis-à-vis *C.albicans* qui a une forte capacité inhibitrice de leur croissance mycélienne. Les zones d'inhibition varient entre 15 et 65mm. La valeur de CMI et CMF obtenues estimée à 12.5mg/ml. L'interaction synergétique entre l'huile essentielle de *M.suaveolens* avec quelques antibiotiques est évaluée. Cette combinaison permet l'élargissement des zones d'inhibition de quelques souches bactérienne qui ont présenté une résistance envers les antibiotiques testés seuls.

**Mots clés** : *Mentha suaveolens*, huile essentielle, activité antibactérienne, activité antifongique, inhibition, effet synergétique.

**Abstract:** In our work we studied the antibacterial and antifungal activity of the essential oil of *Mentha suaveolens* from the region of Ain Témouchent. The extraction of the oil was carried out by hydro-distillation on the aerial part of the plant. We recorded a return of 0.22 and 1.68%, for the month of February and the month of April respectively. The aromatogram method allowed us to highlight the antibacterial power of the essential oil of *M.suaveolens* vis-à-vis four bacterial strains: (Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, Staphylococcus aureus ATCC 25923 , Staphylococcus aureus ATCC 43300), this power is relatively high, with zones of inhibition varying between 11 and 30 mm. The microdilution method confirmed the results of the aromatogram method. The MICs obtained are between 3.125 and 6.25 mg / ml. Likewise, CMB values of the essential oil of *Mentha suaveolens* prove to be low. The disk diffusion method has also allowed us to highlight the antifungal power of the essential oil of *M.suaveolens* vis-à-vis *C.albicans* which has a strong inhibitory capacity of mycelial growth. The zones of inhibition vary between 15 and 65mm. The value of CMI and CMF obtained estimated at 12.5 mg / ml. The synergistic interaction between *M.suaveolens* essential oil and some antibiotics is evaluated. This combination allows broadening of the inhibition zones of some bacterial strains that have demonstrated resistance to antibiotics tested alone.

**Key words:** *Mentha suaveolens*, essential oil, antibacterial activity, antifungal activity, inhibition, synergistic effect.