

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière : "Sciences Biologiques"

Spécialité : "Infectiologie"

Présenté et soutenu publiquement par :

-HELLALI Siham

- TALEB Asmaa

- SENOUCI Souad

Etude comparative de l'activité biologique De l'huile essentielle et de l'extrait aqueux de (*Mentha Pulégium*)

Member de jury:

- | | |
|---|-----|
| -President: Dr. DOUKANI K. | MCA |
| -Promotrice : M ^{eme} KHADEM H. | MAB |
| -Co-promotrice : M ^{elle} BOUBEUKER B. | MAA |
| -Examinatrice : Dr. TABAK S. | MCR |

Année universitaire: 2014–2015

Remerciements

Avant toute chose, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant, pour nous avoir donné le courage et la patience d'achever ce travail.

Tout d'abord, nous remercions sincèrement, notre encadreur m^{eme} khadem.H et copromotrice m^{elle} Boubekeur.B qu'elles trouvent ici l'expression de notre profonde reconnaissance pour nous avoir accordé sa confiance, et pour ses compétences, ses précieux conseils, sa disponibilité et sa gentillesse

Atout les amis

A tous les étudiants, de master 02 surtout les étudiant de spécialité infectiologie

Enfin, nous remercions tous les enseignants et les laborantines de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université d'Ibn Khaldoun de Tiaret.

Dédicaces

A mes chers parents

A la pensee de mes grands parents

A mon petit fils de frere Mohammed abd el Waheb

A mes petites filles alla hnine et karima

A mes freres ALI, Ahmed, abd el Kader, et naser el dine.

A mes sœurs yamina , mimona et khairora ,

A tout ma famille

A mes amis et mes collègues

A tous, ceux qui aiment la science

Siham



Dédicaces

A mes chers parents

A mes frères sido, abd el razak, houari,

moustapha , youcef

A tout la famille senouci

A mes amis et mes collègues

Souad



Dédicaces

A mes chers parents

A mes frères, A mes sœurs

A tout ma famille

A mes amis et mes collègues

Asmaa



Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des photos.....	III
Liste des abréviations.....	IV
Introduction	VI

Partie théorique

Sommaire

Chapitre 1 : Antibiothérapie et phénomène de résistance

I-introduction	02
I.1. Pathologie infectieuse	02
I.2. antibiothérapie (traitement des maladies)	02
I.2.1. le mode d'action des ATB.....	03
I.2.2. Antibioresistance.....	03
I.2.3. les maladie et bactéries résistance aux ATB	04
I.2.3.1. Maladie résistance aux ATB.....	04
I.2.3.2. bacterie résistance aux ATB.....	05

Chapitre II : plantes médicinales et innovation thérapeutique

II. Introduction	07
II.1. Les plantes aromatiques et médicinales(PAM).....	07
II.1.1. Principaux substances issues des plantes médicinales.....	07

II.1.2. Production des plantes médicinales.....	08
II.1.3. Activités biologiques des plantes médicinales.....	08
II.2. Matrices végétales d'intérêt médical	11
II.2.1 Huiles essentielles.....	11
II.2.1.1 définition	11
II.2.1.2. Mode d'action antimicrobienne des huiles essentielles.....	11
II.2.1.3. Activité antioxydants des huiles essentielles.....	12
II.2.1.4. Mode d'extraction des huiles essentielles.....	12
II .2.1.4.1. L'enfleurage.....	12
II .2.1.4.2. L'hydro-distillation.....	13
II .2.1.4.3. L'entraînement à la vapeur.....	13
II .2.1.4.4. L'extraction par solvants volatils.....	13
II .2.1.4.5. L'extraction au CO2 Supercritique.....	13
II .2.1.4.6. L'expression.....	13
II .2.1.4.7. Extraction par micro-ondes.....	13
II .2.1.4.8.Extraction par percolation (Soxhlet).....	14
II.3. L'extrait végétal	14
II.3.1. Définition.....	14
II.3.2.les polyphénols.....	14
II.3.3. Les flavonoïdes.	14
II.3.4. Technique de préparation de d'extrait.....	14

II.3.4.1.Macération.....	14
II.4. <i>Mentha pulégium</i>	15

Partie expérimentale

Chapitre I : matériels et méthode

I.1. Objectif.....	17
I.2. Période et lieu de travail.....	17
I.3. Matériels utilisés.....	17
I.3.1. Matériels de laboratoire.....	17
I.3.2. Souches microbiennes utilisées	18
I.3.3.Matière végétale	18
I.3.3.1. Description botanique	18
I.3.3.2.Classification	19
I.4.Méthodes	19
I.4.1.Protocole expérimentale	19
I.4.2.Tests phytochimie	21
I.4.2.1.Récolte et préparation de la plante.....	21
I.4.2.2. Préparation du matériel végétale et extraction	21
I.4.2.2.1.Extraction des huile essentielles	21
I.4.2.2.2.Préparation de l'extrait aqueux	21
I.4.2.2.2.1.Extraction par ultrason	22

I.4.2.2.2.2. Extraction par macération à la température ambiante	22
I.4.2.2.2.3.Extraction par macération à haut température	22.
I.4.2.3.Dosage des poly phénols totaux et des flavonoïdes de l'extrait aqueux.....	22.
I.4.2.3.1. Détermination du taux de polyphénole totaux	22
I.4.2.3.2. Dosage des flavonoïdes	23
I.4.3 .tests microbiologique	23
I.4.3.1.confirmation des souches	23
I.4.3.2.préparation des aliquote	23
I.4.3.3.préparation des inocula	24
I.4.3.4.Evaluation de l'activité antibacterienne de L'HE et de l'extrait aqueux.....	24
I.4.3.4.1. Aromatogramme en milieu solide (méthode de diffusion)	24
I.4.3.4.. Aromatogramme en milieu liquide (méthode de dilution).....	25
I.4.4.Etude de pouvoir antioxydant de l'he et l'extrait aqueux	26

Chapitre II : résultat et discussion

II.1. Résultat de l'étude phytochimique.....	27.
II.1.1. Rendement de préparation de l'he a partir de <i>Mentha pulégium</i>	27.
II.1.2. Rendement de préparation de l'extrait aqueux.....	27.
II.1.3. Résultat de dosage des polyphénols et des flavonoïdes de l'extrait.....	28.
II.1.4. Résultats de pouvoir de réduction du fer (test de FRAP) de l'he et l'ea...	29.
II.2. Résultat de l'étude microbiologique.....	29.

II.2.1. Confirmation de la pureté des espèces microbiennes.....	29.
II.2.2. Résultat de l'effet de l'huile essentielle sur <i>S.aureus</i> en milieu solide	30.
II.2.3. Résultat de l'effet de l'huile essentielle sur <i>E.coli</i> en milieu solide.....	31.
II.2.4. Résultat de l'effet de l'huile essentielle sur <i>Saures</i> et <i>E.coli</i> en milieu liquide.....	32
II.2.5. Résultat de l'effet de l'extrait aqueux sur <i>E.coli</i> et <i>S.aureus</i>	33
II.2.6. Résultats de l'effet de l'ea sur <i>S. Aureus</i> et <i>E. Coli</i> en milieu liquide.....	33.
Conclusion	34
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau 01 : Exemples de maladie résistante a l'antibiotique	04.
Tableau 02 : Exemple des bactéries resistance à l'anti biotique	05.
Tableau 03 : Activité biologique des PAM	09.
Tableau 04 : Fiche d'identification de <i>mentha pulégime</i>	16.
Tableau 05 : Matériel de laboratoire utilisé	17.
Tableau 06 : Clasification botanique de <i>mentha pulégime</i>	19.
Tableau 07 : Concentration d'effet d'HE.....	32.
Tableau 08 : Concentration d'effet d'AE.....	34.

Liste des figures

Figure 01 : Aspect morphologique de <i>mentha pulégium</i>	18.
Figure 02 : Schéma représentatif du protocole expérimentale	20.
Figure 03 : Dispositif d'hydro distillation	21.
Figure 04 : Rendement d'extraction d'huile essentielle de <i>M.pulégium</i> par hydro distillation.....	27.
Figure 05 : Rendement d'extraction d'extrait aqueux	27.
Figure 06 : Taux des polyphénols et des flavonoïdes de l'extrait aqueux de <i>M.pulégium</i>	28.
Figure 07 : L'effet de l'huile essentielle sur le développement de <i>S.aureus</i> en milieu solide.....	29.
Figure 08 : L'effet de l'huile essentielle sur le développement <i>E- coli</i> en milieu solide	30.
Figure 09 : L'effet de l'huile essentielle sur le développement de <i>S.aureus</i> en milieu liquide	31.
Figure 10 : L'effet de l'huile essentielle sur le développement de <i>E-coli</i> en milieu liquide.....	32.
Figure 11 : L'effet de l'extrait aqueux sur le développement de <i>E-coli</i> en milieu solide.....	33.
Figure 12 : L'effet de l'extrait aqueux sur le développement de <i>S.aureus</i> en milieu liquide.....	33.
Figure 13 : L'effet de l'extrait aqueux sur le développement de <i>E.coli</i> en milieu liquide.....	34.
Figure 14 : Comparaison de l'effet de l'huile essentielle et de l'extrait aqueux sur <i>E.coli</i>	35.
Figure 15 : Comparaison de l'effet de l'huile essentielle et de l'extrait aqueux sur <i>S.aureus</i>	35.
Figure 16 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.....	Annexe
Figure 17 : Pouvoir réducteur de l'extrait aqueux.....	Annexe

Liste des photos

- Photo N°01** : aspect microscopique de *S. aureus*30.
- Photo N° 02** : aspect microscopique de *E-coli*30.
- Photo N° 03** : resultats *S.aureus* avec l'extrait en milieu solide.....Annexe
- Photo N° 04** : resulta *S.aureus* avec l'extrait en milieu liquide (1 er essais) ...Annexe
- Photo N° 05** : résultat *S.aureus* avec l'extrait en milieu liquide (2^{eme} essais)...Annexe
- Photo N° 06** : résultats *e-coli* avec l'extrait en milieu solideAnnexe
- Photo N° 04** : résultat *e-coli* avec l'extrait en milieu liquide (1 er essais).....Annexe

Liste des abréviations

CMB :	Concentration minimale bactéricide.
CMI :	Concentration minimale inhibitrice.
DZI :	Diamètre de zone d'inhibition.
HB :	Huile brute.
HE :	Huile essentielle.
ISO :	International Organization for Standardization
SM :	Spectrométrie de masse.
UFC :	Unité Formant Colonie.
Pg/ml	pictogrammes par millilitre
ED :	eau distillé
Mm :	millimètres
ATB :	anti biotiques
PAM :	plante aromatique et médicinales

INTRODUCTION

Les vertus thérapeutiques des essences aromatiques sont connues depuis l'antiquité ; Cependant l'intérêt accordé à l'étude scientifique du pouvoir des plantes aromatiques et médicinales n'a augmenté que durant ces dernières années dans le but de rechercher des alternatives aux substances chimiques qui présentent des risques pour la santé humaine et pour l'environnement. La recherche de nouvelles molécules bioactives s'est orientée vers la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles antioxydants et antimicrobiennes pouvant constituer une solution alternative aux produits chimiques. Parmi ces substances naturelles figurent les métabolites secondaires des plantes tels que les polyphénols et les flavonoïdes et les huiles essentielles (**Ghazghazi, et, al 2013**).

L'Algérie, de par sa situation géographique particulière, offre une végétation riche et diversifiée. Un grand nombre de plantes aromatiques y poussent spontanément. L'intérêt porté à ces plantes n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années. Plus de 25% des espèces de la flore locale sont reconnues comme étant des espèces à vertus médicinales et aromatiques.

Mentha pulegium est une plante connue pour ses propriétés pharmacologiques et biologiques, elle appartient à la famille des Lamiaceae, un genre qui est représenté par 5 espèces *Mentha- pulegium*, *Mentha-spicata*, *Mentha-rotundifolia*, *Mentha-piperita* and *Mentha-sylvestris*. Les fleurs de cette espèce sont utilisées comme antitussives, antiseptiques. Plusieurs travaux ont étudié l'activité antifongique et antimicrobienne de cette espèce (**Ghazghazi, et, al 2013**).

Notre travail consiste à une étude comparative des effets biologique (antibactériens et antioxydant) de l'huile essentielles et de l'extrait aqueux de *Mentha pulegium*

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE : I
ANTIBIOTHÉRAPIE
ET PHÉNOMÈNE DE
RÉSISTANCE

Depuis leur découverte, les antibiotiques se sont révélés très précieux dans la lutte contre les maladies d'origine bactérienne touchant l'homme et les animaux. Mais le monde bactérien s'est adapté aux antibiotiques et cela s'est traduit par l'émergence de souches résistantes chez l'homme, chez les animaux et dans l'environnement. L'existence de ces bactéries résistantes a des conséquences sur la santé publique et l'hygiène de l'environnement (**J.F. Guillot, 1988**).

Dans ce chapitre, Le phénomène de résistance aux antibiotiques, les maladies et les bactéries résistantes sont traités succinctement.

I.1. pathologie infectieuse

Le corps humain contient normalement des milliers d'espèces bactériennes ainsi qu'un plus petit nombre de virus, de champignons et des protozoaires ; Ce sont, pour la plupart, des commensaux, ce qui signifie qu'il vivent en parfaite harmonie avec l'homme sans cause de dommages. Ils ne sont pas tous présents en permanence dans l'organisme, mais ils sont très nombreux. À chaque individu correspond un spectre particulier d'espèce et de souche (**Schaechter et al ,1999**).

I.2. Antibiothérapie

L'antibiothérapie dite « probabiliste » correspond à une prescription d'antibiotique(s), elle est réalisée avant de connaître la nature et/ou la sensibilité du ou des micro-organismes responsables de l'infection. Elle doit alors correspondre au traitement admis pour être régulièrement efficace dans la situation en cause. Il ne s'agit pas d'une antibiothérapie " à l'aveugle " mais au contraire d'une prescription raisonnée prenant en considération tous les éléments disponibles pour effectuer le meilleur choix possible (**Montravers et al ,2004**) . Cette stratégie de traitement repose sur l'usage des antibiotiques qui sont des substances chimiques élaborées par des micro- organismes capables d'inhiber la multiplication (action bactériostatique) ou de tuer (action bactéricide) d'autres micro-organismes (**Catherine Grundy, 2005**).

La définition des antibiotiques vis à vis desquels la souche bactérienne isolée est sensible est un examen de laboratoire de bactériologie connu sous le nom antibiogramme.Cet examen permet ainsi de Guider la prescription et la surveillance de la survenue et l'évolution des résistances acquises. Il implique au préalable de pratiquer les prélèvements bactériologiques nécessaires, de façon impérative avant le début d'une antibiothérapie (**Danielle, 2014**).

I.2.1. Mode d'action des ATB

Les antibiotiques agissent à un niveau précis des structures bactériennes. Les principales cibles sont:

- la paroi bactérienne : inhibition de la synthèse de la paroi (ex : vancomycine, fosfocyne, pénicillines).
- la membrane cytoplasmique (ex polymyxines).
- l'ARN des ribosomes : inhibition de la synthèse des protéines (ex: macrolides, tétracyclines, chloramphénicol, aminoside).
- l'ADN bactérien : inhibition de sa synthèse (ex : quinolone) (**Yvon ,2012**).

I.2.2. Antibiorésistance

Depuis l'introduction des ATB en thérapeutique, on assiste à l'émergence très rapide de nombreuses souches bactériennes devenues insensibles à un ou plusieurs ATB. Cette résistance est l'un des problèmes rencontrés les plus aigus de la thérapeutique en ville et surtout à l'hôpital ; Le nombre d'ATB efficaces se restreint : c'est un problème de santé publique (**j. François, 2001**).

- La résistance naturelle : elle existe d'emblée si le germe n'appartient pas au spectre de l'ATB.
- La résistance acquise : elle est due à l'emploi abusif d'ATB (ceux-ci n'exercent plus d'effet sur des germes antérieurement sensibles). Cette résistance est due à l'apparition de germes mutants dus au traitement par ATB lui-même. Elle est notamment le résultat d'une prise de trop courte durée de l'ATB ou d'une auto médication répétitive. La résistance est croisée dans une même famille (ex: résistance à toutes les pénicillines).

Pour conclure, il est important de

- pratiquer un antibiogramme avant tout traitement (quand cela est possible)
- respecter la durée de l'antibiothérapie;
- éviter l'auto médication (**Catherine Grundy, 2005**).

I.2.3. Maladies et bactéries résistantes aux antibiotiques

Les bactéries résistantes aux antibiotiques causent des maladies qui sont difficiles à traiter et qui sont parfois mortelles. Ces bactéries résistantes aux antibiotiques se propagent aussi facilement parmi les personnes que les bactéries qui ne le sont pas (**Guillot, 1988**).

I.2.3.1. Maladies résistantes aux antibiotiques

Le tableau ci-dessous représente les principales maladies résistantes aux antibiotiques.

Tableau N°01: Exemples de maladies résistantes à l'antibiothérapie (**yves,2000**)

Maladie	Description
Gonorrhée (<i>Neisseriagonorrhoeae</i>)	une infection transmissible sexuellement courante. Certaines souches de gonorrhée sont devenues plus résistantes aux antibiotiques, donc plus difficiles à traiter. Il est maintenant recommandé que la gonorrhée soit traitée avec une combinaison d'antibiotiques.
Pneumonie	une maladie qui affecte les poumons. Elle a plusieurs causes, y compris les bactéries et les virus. Les symptômes sont notamment la toux, les douleurs thoraciques et la fièvre.
Tuberculose	une maladie grave qui affecte habituellement aux poumons. Elle est causée par une bactérie qui se propage dans l'air. Les symptômes sont notamment : Une toux qui dure plus de deux semaines; fièvre; manque

	d'appétit; sueurs nocturnes; faiblesse et fatigue; douleurs thoraciques; perte de poids; frissons.
--	--

I.2.3.2. Bactéries résistantes aux antibiotiques

De nombreuses souches bactériennes de sont devenues résistantes aux antibiotiques. Le tableau N°02 illustre quelques exemples de bactéries résistantes aux antibiotiques.

Tableau N°02 : Exemples de bactéries résistantes aux antibiotiques

Bactérie	Description
<i>Campylobacter jejuni</i>	L'utilisation des antibiotiques chez les animaux est probablement l'un des principaux facteurs contribuant à cette résistance de cette bactérie.
<i>E. coli</i>	Certaines bactéries qui provoquent les infections <i>E. coli</i> peuvent résister aux antibiotiques utilisés pour les traiter. Si elles deviennent résistantes à plus d'un antibiotique, le traitement sera complexe et d'autant plus difficile
<i>Staphylococcus aureus</i>	Certaines souches, résistantes à l'antibiotique méthicilline, sont connues sous le nom de <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline (SARM). Lorsqu'elle n'est pas traitée, l'infection aux SARM peut entraîner de graves complications, parfois mortelles, comme des infections du sang, des os et des poumons (telles que la pneumonie). On rencontre le plus souvent le SARM dans des

	établissements de soins de santé.
Salmonella	Les bactéries de type <i>Salmonella</i> provoquent une gastro-entérite appelée salmonellose. Les symptômes sont les suivants : diarrhée, vomissements, crampes abdominales et fièvre. Les antibiotiques sont utilisés pour traiter les cas graves. Certaines bactéries <i>Salmonella</i> sont devenues résistantes à de nombreux antibiotiques couramment utilisés.
Entérocoques résistants à la vancomycine	Les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) sont résistants à l'antibiotique vancomycine. Les personnes qui ont été traitées avec la vancomycine présentent un risque plus élevé de développer une infection aux ERV.

CHAPITRE : II
PLANTES
MÉDICINALES ET
INNOVATION
THÉRAPEUTIQUE

La médecine traditionnelle apparaît comme l'alternative la plus appropriée pour combler les carences en besoins sanitaires dont les populations aspirent. Au niveau politique, l'adoption du document cadre de politique nationale en matière de médecine traditionnelle et de la pharmacopée a renforcé l'importance que les pouvoirs publics attachent à la Médecine Traditionnelle aujourd'hui (AID, 2003).

II .1. Plantes aromatique et médicinales

Au niveau scientifique, de nombreux travaux (ethnobotaniques, biochimiques et d'essais cliniques) sur les plantes médicinales sont réalisés dans le souci de mieux connaître ledit patrimoine culturel afin d'y apporter une justification scientifique.

Actuellement, les plantes médicinales et aromatiques (PMA) représentent une source considérable et permanente pour l'extraction de principes actifs. Plus de 200 spécialités pharmaceutiques à base de plantes existent. Au niveau national, plus de 71 % de personnes interrogées utilisent des PMA pour se faire soigner (AID, 2003).

II.1.1.Principaux substances issues des plantes médicinales

Les plantes synthétisent les éléments du sol et de l'atmosphère qu'elles absorbent par les racines et par les feuilles : l'eau, l'acide carbonique et les matières minérales et inorganiques. Les principaux métabolites spécialisés sont :

- Ñ **Les flavonoïdes, la rutine** : qui renforcent les parois des capillaires sanguins,
- Ñ **Les corps terpéniques** : (dérivés du terpène, parmi lesquels le menthol, le camphre, etc.). À noter que les corps terpéniques forment la base des stéroïdes qu'on retrouve dans de nombreuses vitamines,
- Ñ **les saponines (sapo = savon)** : sont utilisées comme expectorants et diurétiques,
- Ñ **les alcaloïdes** : à effets thérapeutiques nombreux mais qui peuvent être aussi des poisons mortels (Balliere ,1987).

D'autres métabolites spécialisés agissent contre les allergies, l'hypertension, les maladies infectieuses et forment même la base de produits anticonceptionnels (Balliere ,1987).

II .1.2. Production des plantes médicinales

Il s'agit d'un projet type, identifié pour la production des plantes aromatiques et médicinales en « bio » avec installation des unités de séchage. D'après **Koller (2013)**, Ce projet peut être réalisé dans toutes les régions en passant par les étapes suivantes :

- Choix des espèces
- **Culture** : La culture des plantes médicinales requiert des soins attentifs et une gestion adéquate. Les conditions et la durée de culture dépendent de la qualité des matières végétales recherchées.
- **Choix du site de culture** : La matière végétale dérivée de la même espèce peut présenter des différences importantes de qualité d'un site de culture à un autre, du fait de l'influence du sol, du climat et d'autres paramètres.
- **Période de récolte et les techniques de cueillette** : Les propriétés des plantes dépendent essentiellement de la région de production, de la période de récolte et des techniques de cueillette. La connaissance du calendrier des récoltes et des techniques de cueillette et de conservation doit toujours être considérée afin de garantir la qualité des produits.
- **Conservation des plantes** : après leur séchage, les plantes doivent être stockées

II .1.3. Activités biologiques des PAM

A l'heure actuelle, les plantes sont encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, des huiles essentielles, des polyphénols, les alcaloïdes, les flavonoïdes....

Les huiles essentielles et les extraits aqueux sont les matrices végétales les plus utilisés en médecine alternative (**Reymonde et al, 1997**). Le tableau N°03 représente les activités les plus intéressantes des PAM.

Tableau 03 : activités biologiques des PAM (Gaetz et al, 2012).

Plantes à huile essentielles	Broncho-pulmonaire	Urinaire gynéco	ORL-stomatologie	cutané	Intestinal	Autre	terrain
Clou de girofle	•••	•	•••		••	Hépatite Gram+ Virus Parasites amibes	Thyroïde Hypotension Diabète Rhumatologie Vagomi-métique
myrte	•••	••	••			Bactérie virus	Diabète
Géranium	••			••	••	Bactérie Intestinales	Sympatholytique
Serpolet	Antitussif Expectorant...	•••	•••			virus bactérie helminthes	Digestif Spasmolytique Diurétique

Thym	Anti-inflammatoire des muqueuses ...	••	•••		••	Bactérie Virus Mycose herpès	Fortifiant Vagolytique tonicardiaque
eucalyptus	•••	•••	•••			parasites	Tonique Cardiaque Diabète
Cannelle de ceylan	••	••	••		••	Colibacille Virus bactérie	Action sur le complément C
Lavande vraie	•	•	•	•••	••	Mycoe Staphylocoque	Sédatif utérotonique
Romarin				•••	••	Colibacille	Vagomimétique Draineur stimulant Cardio-vasculaire
Pin	•••		••		•	Infection	Anti-inflammatoire

						chronique	
Sauge officinale	••	••	••	••	•	Gram-virus	Antisudoral Diabète Stimulant cardio-vasculaire
Camomille		••	••	••	••	Mycose Bactérie Parasites muqueuses	Neurovégétatif Emménagogue Mucotrope
Genévrier	•	•••		••		Bactérie	Draineur Sudorifique

••• : plus efficace

•• : Efficace

• : moins efficace

II.2. Matrices végétales d'intérêt médical

II.2.1. Huiles essentielles

II. 2.1.1. Définition

Les huiles essentielles peuvent aider à lutter contre les infections qui se transmettent de plus en plus facilement dans les bureaux, les locaux publics, les écoles, les crèches et même les hôpitaux. Grâce à leur pouvoir antiseptique, les huiles essentielles peuvent permettre d'assainir l'air ambiant ou les systèmes de ventilation et limiter ainsi la propagation des germes microbiens. En phytothérapie, les huiles essentielles sont utilisées

pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne (Billerbeck, 2007)

II. 2.1.2. Mode d'action antimicrobienne des huiles essentielles

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu de type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne (El-amri et al., 2014).

Les principaux mécanismes et sites d'action des différents constituants des huiles essentielles sont :

- l'altération de la paroi cellulaire
- la dégradation de la membrane cytoplasmique.
- l'altération des protéines membranaires.
- la fuite du contenu cellulaire.
- la coagulation du cytoplasme.
- l'épuisement de la force de mouvement des protons.

Une caractéristique importante des huiles essentielles est leur caractère hydrophobe, ce qui leur permet de s'insérer dans les couches lipidiques de la membrane cellulaire bactérienne et des mitochondries, perturbant les structures et les rendant plus perméables. La fuite des ions et autres constituants de la cellule peut alors se produire (Gaetz et al, 2012).

II.2.1.3. Activité antioxydants des huiles essentielles

De nombreux travaux sur les activités antioxydants des huiles essentielles d'une grande variété de plantes aromatiques montrent que ces propriétés sont en relation avec la composition chimique, Bouzouita et al (2008) ont rapporté que les activités antioxydantes sont dues à la présence de composés qui comportent le groupement hydroxyle.

II .2.1.4. Mode d'extraction des huiles essentielles

II .2.1.4.1. Enfleurage

L'enfleurage est l'un des plus anciens procédés. Il est basé sur l'affinité des parfums pour les graisses et il concerne les plantes qui maintiennent leur parfum après avoir été cueillies (comme le jasmin ou la tubéreuse) ; Cette technique d'extraction est pratiquement en voie de disparition en raison de son coût élevé. Elle nécessite en effet une main d'œuvre importante (**Paris et Purabielle, 1981**).

II .2.1.4.2. Hydro-distillation

L'hydro-distillation est l'un des procédés les plus simples et le plus ancien. Il repose sur le fait que la plupart des matières odorantes peuvent être entraînées à la vapeur d'eau. L'appareil utilisé est un alambic, son but est d'entraîner avec la vapeur d'eau les constituants volatils des produits bruts (**Mohammdi, 2006**).

II .2.1.4.3. Entraînement à la vapeur

L'entraînement à la vapeur sèche est adopté pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse sur des composants de l'huile essentielle ou des réactions chimiques pouvant altérer les résultats (**Luicita, 2006**).

II .2.1.4.4. Extraction par solvants volatils

Les solvants utilisés, comme l'hexane, ont un très grand pouvoir de solubilisation et sont facilement éliminés grâce à leur volatilité (**Mohammdi, 2006**).

II .2.1.4.5. Extraction au CO2 Supercritique

Un des procédés d'extraction les plus récents, il permet d'extraire à froid des matières premières végétales utilisant le gaz carbonique ou CO2 (**Bousiba, 2004**).

II .2.1.4.6. Expression

Cette technique d'extraction est utilisée pour l'obtention des essences d'agrumes ou hespéridés : bergamote, citron, mandarine, etc. L'huile essentielle est contenue dans le zeste, partie superficielle de l'écorce des fruits. Autrefois, la méthode dite « à l'écuelle » consistait à frotter le fruit, manuellement, dans un bol en bois dont l'intérieur était garni de picots (**Roux, 2008**).

II .2.1.4.7. Extraction par micro-ondes

Dans ce procédé, la plante est chauffée sélectivement, par un rayonnement micro-onde, dans une enceinte, dont la pression est réduite de façon séquentielle. L'HE est entraîné dans le mélange azéotropique, formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée. Ce procédé est très rapide et peu consommateur d'énergie, il fournit un produit de quantité supérieure à celle d'hydro distillation (**Paris et Hurabielle, 1981**).

II .2.1.4.8. Extraction par percolation : Soxhlet

La percolation consiste à faire passer lentement un solvant à travers une cartouche de papier épais et poreux ou une pochette de papier filtre. Elle présente l'avantage de ne pas nécessiter beaucoup de solvants (**Makhlouf, 2002**).

II.3. Extrait végétal

II.3.1. Définition

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale ; Une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique. L'analyse quantitative des extraits des plantes est représentée par le dosage spectral des deux substances bioactives : les polyphénols et les flavonoïdes (**Bousiba, 2004**).

II.3.2. Polyphénols

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, sont reconnus pour leur activité antioxydante ce qui explique leur rôle potentiel dans la prévention de plusieurs maladies associées au stress oxydatif : cancer, les maladies cardiovasculaires et neuro dégénératives...(**Bousiba , 2004**) .

II.3.3.Flavonoïdes

Les flavonoïdes ont suscité l'intérêt scientifique depuis plusieurs décennies et ils jouent un rôle de protection contre les effets néfastes des rayons ultraviolets en agissant comme antioxydant. Ils sont capables d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif. Ils inhibent aussi l'oxydation des Lipoprotéines de basse densité (LDL) et, de ce fait, il peuvent prévenir l'athérosclérose et diminuer les risques de maladies cardiovasculaires (**Bousiba, 2004**) .

II.3.4. Techniques de préparation de l'extrait végétal

II.3.4.1. Macération

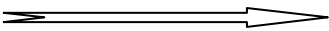
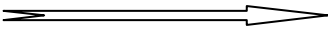
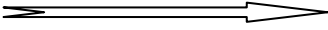
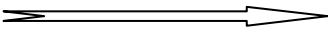
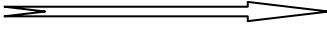
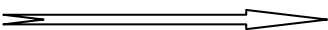
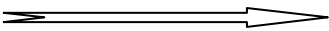
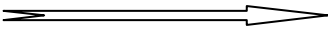
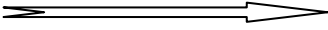
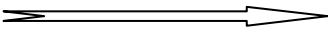
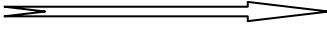
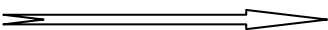
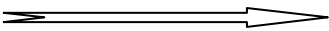
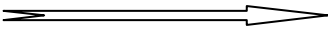
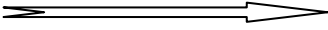
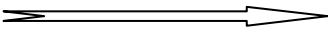
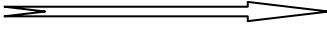
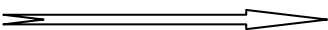
La macération se fait dans un extracteur mis au point par nos soins, Ceci nous permet d'extraire au maximum les principes actifs des plantes. La macération peut être effectuée à froid ou à chaud. L'extrait obtenu est pressée puis filtrée entre 0,2 μ et 250 μ (Mohammdi, 2006).

II.4. Menthapulegium

Connue sous le nom vernaculaire français 'Menthe pouliot' et arabe 'Fliyou' - est l'une des principales PMA utilisées et commercialisées. Appartenant à la famille des Labiées, elle est utilisée fréquemment en médecine traditionnelle contre l'asthme, la toux, l'enrouement, le hoquet et les affections gastriques (A.Adossides, 2003).

Elle est reconnue comme stimulante et excitante du système. La Menthe pouliot est également utilisée en pharmacologie, en parfumerie, en confiserie, en alimentation et dans l'industrie des liqueurs. La commercialisation de la Menthe Pouliot se fait sous forme d'huile essentielle dont la production connaît des fluctuations très significatives d'une année à l'autre (AID, 2003). Le tableau N°04 représente une fiche d'identification de *Menthapuligium*

Tableau 04 : fiche d'identification de *Mentha-pulégium* (Adossides, 2003).

Mentha pulégium	MenthaPouliot																		
Synonymes	PULEGIUM VULGARE Mill.																		
Propriété	<p>Plante vivace de 10-50 cm, velue-grisâtre ou glabrescente, à odeur très forte - tiges dressées ou étalées-ascendantes - feuilles</p> <p>petites, courtement pétiolées, ovales ou oblongues, obtuses ou subaiguës, denticulées ou presque entières, les florales plus courtes quelles glomérules</p> <p>- fleurs rosées ou lilacées, en verticilles nombreux, tous axillaires, écartés, multiflores, très compacts - calice velu, tubuleux, à gorge fermée par des poils connivents, sub-bilabié à 5 dents inégales, les 2 inférieures plus étroites - corolle gibbeuse d'un côté à la gorge - carpelles ovoïdes, lisses</p>																		
Écologie	Lieux humides, dans toute la France et la Corse.																		
Répartition	Europe ; Asie occidentale ; Afrique septentrionale ; Amérique.																		
Floraison	Juillet-octobre.																		
Classification botanique	<table> <tr> <td><i>règne</i></td> <td></td> <td><i>plantae</i></td> </tr> <tr> <td><i>division</i></td> <td></td> <td>Magnoliophyta</td> </tr> <tr> <td>Classe</td> <td></td> <td>Magnoliopsida</td> </tr> <tr> <td>Famille</td> <td></td> <td>Lamiales</td> </tr> <tr> <td>Genre</td> <td></td> <td>Mentha</td> </tr> <tr> <td><i>Espèce</i></td> <td></td> <td><i>M. pulegium</i></td> </tr> </table>	<i>règne</i>		<i>plantae</i>	<i>division</i>		Magnoliophyta	Classe		Magnoliopsida	Famille		Lamiales	Genre		Mentha	<i>Espèce</i>		<i>M. pulegium</i>
<i>règne</i>		<i>plantae</i>																	
<i>division</i>		Magnoliophyta																	
Classe		Magnoliopsida																	
Famille		Lamiales																	
Genre		Mentha																	
<i>Espèce</i>		<i>M. pulegium</i>																	

PARTIE
EXPÉRIMENTAL

CHAPITRE : I
MATÉRIEL ET
MÉTHODES

I.1. Objectif

Notre travail consiste à une étude comparative des effets antibactériens et antioxydant de l'huile essentielle et de l'extrait aqueux d'une plante bien connue pour ses vertus thérapeutiques : *Mentha-puligum*

I.2. Période et lieu de travail

L'étude expérimentale a été réalisée au niveau de laboratoire de recherche sur amélioration et valorisation des production animales locales de la faculté centrale, et le laboratoire pédagogique de microbiologie de la faculté de SNV de l'Université d'Ibn Khaldoun de Tiaret durant la période allant de 17 Février au 03 juin 2015.

I.3. Matériels utilisés

I.3.1. Matériels de laboratoire

L'ensemble du matériel de laboratoire (Appareillage et petits matériels, Verreries, Milieux de culture et produit consommable) est récapitulé dans le tableau N°05.

Tableau N°05 : Matériels de laboratoire utilisés

Appareillage et petits matériels	Verreries	Milieux de culture et produits consommables
Microscope optique	Bicher	Bouillon nutritif (BN)
Agitateur	Boit Pétri	Muller Hinton (MH)
Autoclave	Eprouvette	Chapman
Etuve	Epuisette	Mac conky
Incubateur	Corset	Alcool
Hydrodistilleuse	Tubes essais	Méthanol
Incubateur à 37c°	Buchner	L'eau distillée
Spectrophotomètre		Catéchine
Pipette pasteur		Acide gallique
L'once métallique		Ferro- cyanure
Les pinces		Papier absorbons
Spatule		Papier filtre
Baromètre		
Centrifugeuse		

I.3.2. Souches microbiennes utilisées

Le choix des bactéries a été porté sur deux souches fréquentes en pathologie humaine. Ces espèces sont souvent responsables de toxi-infection alimentaire (TIA), constituent ainsi un problème majeur de santé publique.

Nous avons sélectionné:

- Une bactérie à Gram négatif : *Escherichia coli* (ATCC : 10536)
- Une bactérie à Gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC : 25922)

Les souches ont été fournies par le laboratoire de recherche sur l'aromathérapie et santé animale, Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

I.3.3. Matière végétale

Mentha-pulegium Pouliot: pulegium vulgare mill

I.3.3.1. Description botanique

Mentha-pulegium est une plante vivace de 10-50 cm, velue-grisâtre ou glabrescente, à odeur très forte - tiges dressées ou étalées-ascendantes – feuilles petites, courtement pétiolées, ovales ou oblongues, obtuses ou subaiguës, denticulées ou presque entières, les florales plus courtes que les glomérules - fleurs rosées ou lilacées, en verticilles nombreux, écartés, multiflores, très compacts - calice velu, tubuleux, à gorge fermée par des poils connivents, sub-bilabié à 5 dents inégales, les 2 inférieures plus étroites - corolle gibbeuse d'un côté à la gorge - carpelles ovoïdes, lisses (**Figure N°01**) (**Boukhris , 2009**).



Figure N°01: Aspect morphologique de *Mentha- Pulegium*

I.3.3.2. Classification botanique

Le tableau N°06 montre la classification botanique de la menthe pouliot (*M. pulegium*).

Tableau N°06 : Classification botanique de *M. pulegium*(Alaoui Boukhris , 2009).

Régne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>M. pulegium</i>

I.4. Méthodes

I.4.1. Protocole expérimental

L'ensemble des démarches expérimentales réalisées durant cette étude sont représentées dans la figure N° 02

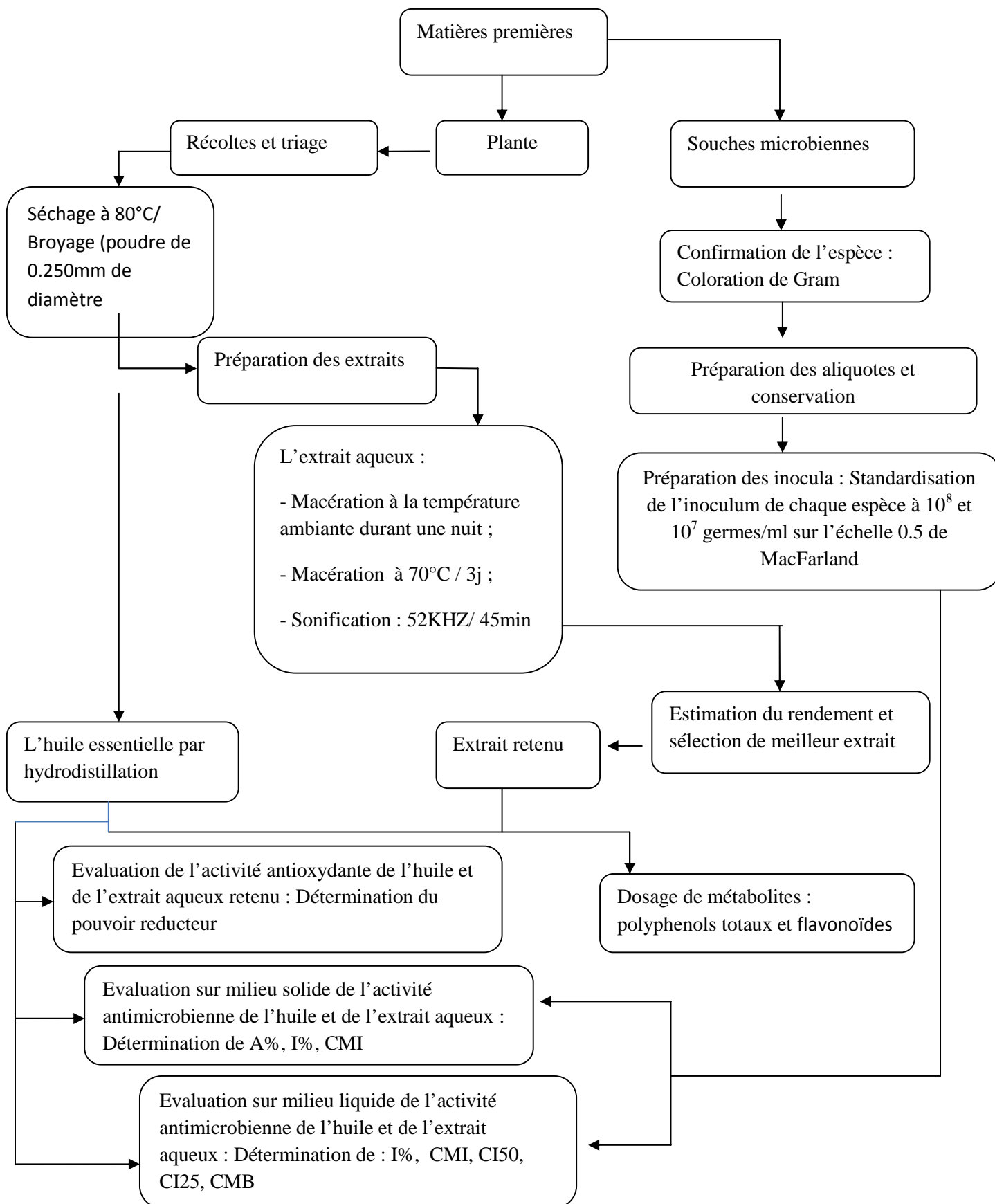


Figure N°02 : Schéma représentatif du protocole expérimental

I.4.2. Testes phytochimiques

I.4.2.1. Récolte et préparation de la plante

I.4.2.2. Préparation du matériel végétal et extraction

Les feuilles et les fleurs de la plante récoltée ont été triées et séchées à l'air libre ; Une fois séchées les feuilles et les fleurs sont broyées par un broyeur électrique pour avoir une poudre fine de 0.250 micromètre. Ces poudres sont ensuite conservées dans des flacons, en verre hermétiquement fermés à basse température en vue de procéder aux différentes manipulations.

I.4.2.2.1. Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger en adoptant la technique de **Bekhechi et al(2008)**; 100g de poudre du matériel végétal sont mélangés avec 700 ml d'eau distillée. Le mélange a été distillé pendant 3 heures. Les huiles essentielles moins denses que l'eau surnagent à la surface, elles ont été recueillies et conservées au réfrigérateur à 4 °C dans des bouteilles sombres afin de les préserver de la lumière et de la chaleur.



Figure N°03: Dispositif d'hydrodistillation

I.4.2.2.2. Préparation de l'extrait aqueux

La préparation de l'extrait aqueux a été réalisée selon trois techniques

I.4.2.2.2.1. Extraction par ultrason

L'extraction par sonification est réalisée en adoptant la technique décrite par **Wen. H et al, (2009)**, 10g de poudre de *M. pulgium* sont mélangés avec 150 ml d'eau distillée puis le mélange est placé dans le sonificateur et exposé à une fréquence ultrasonique de 52 KHZ pendant 45min min.

I.4.2.2.2.2. Extraction par macération à la température ambiante

Cette extraction est réalisée en adoptant le protocole de **weihua et al (2008)**.

10g de poudre fine (0.250mm) de *M. pulegium* ont été macérés dans 150ml d'eau distillée à une température ambiante pendant 3 jours.

I.4.2.2.2.3. Extraction par macération à haute température

Un mélange de 10g de la poudre de *M. pulegium* et 150ml d'eau distillée a été réalisé pour obtenir un extrait aqueux après une macération à une température de 70°C (**Ligang et al., 2008**).

Une fois récupérés par filtration, les extraits sont ensuite étuvés à 60°C et avant d'être reconstitués dans un volume adéquat du solvant le rendement de chaque technique d'extraction est estimé. Le pourcentage en extrait bruts a été estimé par la formule suivante :

$R (\%) = \frac{M^{\circ} - M}{5} \times 100$ (R : rendement exprimé en % ; M° : masse en gramme de matériel végétal traité ; M : masse en gramme de l'extrait sec résultant)(**Wang et al, 2014**).

I.4.2.3. Dosage de polyphénols totaux et des flavonoïdes de l'extrait aqueux

Nous avons procédé à l'analyse des extraits de *Thymus fontanessi* par des dosages spectrophotométriques.

I.4.2.3.1. Détermination du taux de polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait obtenu a été déterminée en utilisant la technique de **Djaridène et al. (2005)**, un volume de 100 µl de l'échantillon est mélangé avec, 500 µl du réactif Folin-Ciocalteu (10 fois dilué) et 1000 µl d'eau distillée, l'ensemble des tubes est incubé à la température ambiante pendant 1 min. Ensuite 1500 µl d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 20% sont ajoutés. Après agitation le mélange est incubé pendant 2 heures à l'ombre, L'absorbance a été prise à 760 nm avec un spectrophotomètre UV-Vis

(JENWAY 7305). La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 µg /ml). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme de l'extrait (mg EAG/g d'extrait).

I.4.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes, 1ml de l'échantillon est mélangé avec 1 ml de solution d' AlCl_3 (2%) le mélange est incubé à la température ambiante pendant 15min, ensuite l'absorbance est lue à 430nm. les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-35 µg/ml) et sont exprimées en milligramme déquivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait) (Djaridène *et al.*,2005).

I.4.3. Tests microbiologiques

I.4.3.1. Confirmation des souches

Pour chacune des souches testées un pré-enrichissement a été effectué sur le milieu d'isolement sélectif puis une coloration de Gram a été réalisée selon le modèle suivant:

- Préparer un frotti ; recouvrir le frotti avec de violet de Gentiane ; laisser agir 1mn ; rincer à l'eau distillée;
- verser du Lugol et le laisser agir pendant 1 mn ;
- décolorer à l'alcool à 95°, entre 15 et 30 secondes ; rincer à l'eau distillée ;
- fixation avec de la fuchsine pendant 10 à 30 secondes ; rincer à l'eau distillée ;
- sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen ;
- observation au microscope optique à l'objectif x 100 à immersion, les Gram+ se colorent en violet tandis que les Gram- apparaissent colorés en rose

I.4.3.2. Préparation des aliquotes

On a prélevé, à l'aide d'une pipette pasteur, une colonie des souches testées. Puis, on a traversé le contenu de pipette pasteur dans un tube contenant 4.5ml bouillon nutritif stérile : les colonies sont émulsionnées sur le bord du tube en dehors de bouillon nutritif puis peu à

peu dans le liquide. Ensuite on a agité vigoureusement. Les tubes sont ensuite incubés pendant 18H-24H à 37°C. La conservation de ces aliquotes a été faite par congélation. Avant chaque usage les cultures microbiennes sont activées par une préincubation à 37°C jusqu'à le travail.

I.4.3.3. Préparation des inocula

Selon Larpent et Sanglier, (1989), le succès de toute expérience et de croissance ou de production dépend de la quantité de l'inoculum. En effet l'inoculum bactérien a été ajusté pour chaque espèce bactérienne et pour chaque expérience en utilisant la technique de MacFarland décrite par **Andrwes (2008)** ; Les bactéries ont été cultivées jusqu'à la phase exponentielle (18 h) dans des milieux appropriés ensuite la densité optique (DO650) a été ajustée par dilution dans du milieu frais à une turbidité de 0,5 MacFarland (10^7 germes / ml), les suspensions ont été diluées 10 fois pour avoir un nombre de 10^6 CFU / ml.

I.4.3.4. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'HE et de l'extrait aqueux

C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles essentielles chémotypées et des différents extraits. Différents types d'aromatogrammes, en milieu solide, liquide, sont exploitables.

I.4.3.4.1. Aromatogramme en milieu solide : méthode de diffusion

En pratique quotidienne, c'est le milieu solide qui est le plus simple et le plus facilement reproductible. Ainsi l'évaluation de l'effet antibactérien de l'HE et de l'extrait aqueux de *Menthapulgiuma* été réalisée par la méthode de Vincent de **Choi et al. (2006)**. En suivant les étapes suivantes:

- La gélose Muller Hinton est coulée dans des boîtes de Pétri dont à raison de 20 ml pour avoir une épaisseur de 2 mm.
- Après solidification de la gélose, on inondera chaque boîte entièrement par 0.5 ml d'un inoculum standardisé de 10^6 (germes) ajusté sur l'échelle de Mac-Ferland;
- Après décantation de 15 min, des puits de 6mm ont été effectués sur la gélose à raison de quatre puits par boîte ;

- Les puis sont ensuite remplis par des volumes différents d'HE brute, diluée et de l'extrait aqueux pour avoir les gammes de concentrations suivantes : 100, 80, 75, 50, 25 et 20% ;
- Lecture des diamètres des zones d'inhibition après incubation à 37 °C pendant 24heures.
- Un témoin négatif qui ne contient ni l'huile essentielle ni l'extrait sont toujours réalisés pour chaque test.
- Un test d'antibiogramme comparatif a été réalisé en utilisant les antibiotiques suivant : Novobiocine, Streptomycine, Nalidixic, Colistin, Bacteriacine.

Chaque halo, une zone claire montre la destruction et /ou l'inhibition des germes pathogènes et donne une indication précise de l'activité antibactérienne (coefficient d'inhibition) des huiles utilisées et des extrait.

Le coefficient d'activité A pour les souches bactériennes dont les zones d'inhibition sont importantes est estimées par la formule suivante:

I% = (Di/Db)*100 dont : Di est la zone d'inhibition autour de disque ; Db est le diamètre de la boîte pétri utilisé.

I.4.3.4.2. Aromatogramme en milieu liquide : méthode de dilutions

La méthode de dilution qu'on a adoptée consiste à préparer une série de tubes de bouillon nutritif contenant des concentrations d'HE et d'extrait selon la gamme suivante : 100, 80, 75, 50, 25 et 20%

Les tubes sont ensuite inoculés par le même volume d'un inoculum de 10^7 germes/ml

Des témoins sans extraits méthanolique ont été effectués. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 heures. L'absorbance a été prise à 625nm avec un spectrophotomètre UV-Vis (JENWAY 7305).

La macro- méthode de dilution en milieu liquide est utilisée pour déterminer les paramètres d'inhibition suivant : CMI, IC25, IC50, IC75, CMB et le coefficient d'inhibition ; Ce dernier paramètre à été calculé par l'équation suivante :

Inhibition % = (A contrôle - A test) / A contrôle x 100% (Benabadji et al., 2004).

I.4.4. Etude du pouvoir antioxydant de l'HE et de l'extrait aqueux

Les composés phénoliques semblent être des bons candidats pour leur activité antioxydante du fait de la présence de nombreux hydroxyles, pouvant réagir avec ces radicaux. La méthode choisie pour mesurer l'activité antioxydante de nos extraits est celle de FRAP (Ferricreducing antioxidant power) ou de réduction de fer selon le mode opératoire décrit par Wen Huang *et al* (2009) :

- Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%.
- L'ensemble est incubé au bain marie à 50°C pendant 20 minutes ensuite ;
- 2,5ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction ;
- Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes ;
- 2,5ml du surnageant sont mélangés à 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution de chlorure ferrique fraîchement préparé à 0,1%.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). (JENWAY 7305).

NB : Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Hubert, 2006).

CHAPITRE : II
RÉSULTATS ET
DISCUSSION

II.1. Résultats de l'étude phytochimique

II.1.1. Rendement d'extraction de l'huile essentielle à partir de *Mentha-pulgium*

Le rendement d'extraction de l'huile essentielle de *M. pulgium* est de 1,025% (g/g) soit 1,25% (ml/g) (Figure N°04).

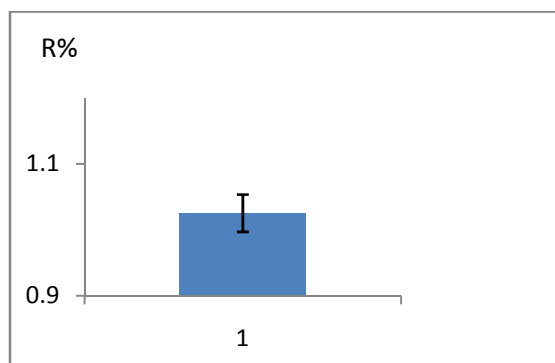


Figure N°04: Rendement d'extraction de l'HE de *M. pulgium*

Ce résultat est en accord avec celui obtenu par **LorenzoI et al (2002)** qui ont trouvé un rendement comprise entre 1.93 et 1.02 % (v/w). De leur part **Riahi et al (2013)**, dans une étude antérieure, ont trouvé que le rendement d'extraction de l'HE de *M. pulégium* varie entre 1.04 et 1.26%.

II.1.2. Rendement de préparation de l'extrait aqueux

La préparation de l'extrait aqueux a été effectuée en utilisant trois techniques, deux classiques (Macération classique à deux températures différentes) et une technique alternative (Sonification à 52 KHZ pendant 45min). Les différents rendements obtenus pour ces extractions sont illustrés dans la figure N°05

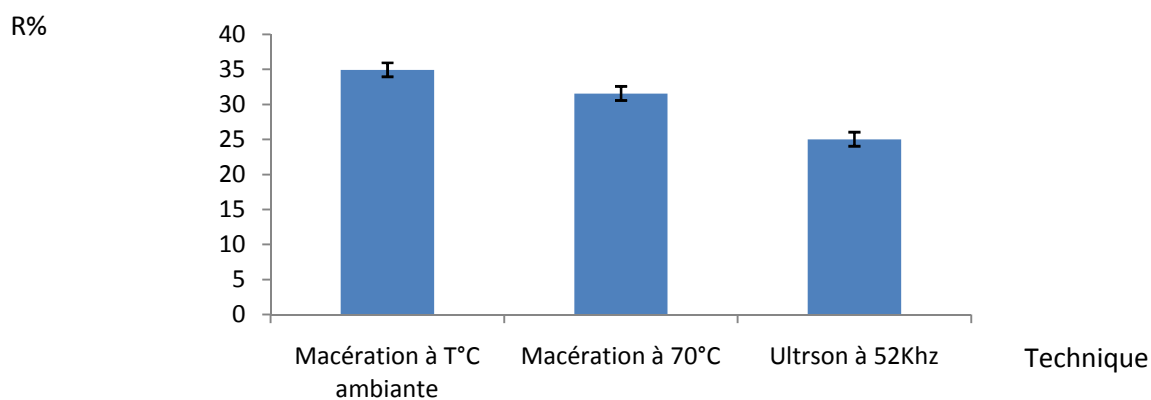


Figure N° 05: Rendement d'extraction de l'extrait aqueux de *Mentha pulégium*

D'après ces résultats, il est remarquable que le meilleur rendement d'extraction, soit 34.93%, est enregistré pour l'extrait obtenu par macération à la température ambiante pendant trois jours. Suite à ces résultats, cet extrait est retenu et utilisé pour évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne.

Dans des études antérieures réalisées par Khadem et al (2012) sur *Thymus fontanesii* ont montré que la sonification permet d'avoir le meilleur rendement par rapport aux techniques conventionnelles.

De leur part Weihua et al (2008) ont indiqué que la macération à haute température permet d'avoir le meilleur rendement d'extraction.

Cette différence de résultats pourrait être attribuée à plusieurs facteurs tels que la méthode d'extraction et sa durée, l'âge de la plante, le climat et la période végétative de récolte.

II.1.3. Résultats de dosage des polyphénols et des flavonoïdes de l'extrait aqueux

Les taux de polyphénols et des flavonoïdes obtenus de l'extrait aqueux sont présentés dans la figure N°06

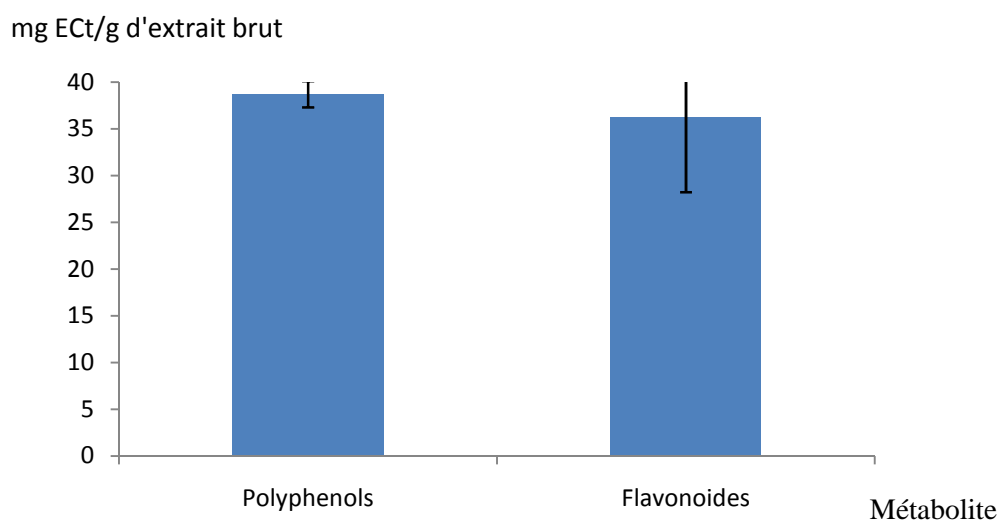


Figure N°06 : Taux de polyphénols et des flavonoïdes de l'extrait aqueux de *Mentha pulégium*

Ces résultats montrent clairement un taux considérable de polyphénols (38,7265mg EAG/g d'extrait brut) et de flavonoïdes (36,25mg EQ/g d'extrait brut).

Ces résultats sont accord avec plusieurs travaux qui ont été réalisés dans ce contexte, et qui ont montré que l'extrait aqueux de *M. pulegium* contient des quantités considérables de polyphenols et de flavonoides (Teixeira et al., 2011).

II.1.4. Résultats de pouvoir de réduction du fer (test de FRAP) de l'HE et l'EA

Les résultats de l'étude de pouvoir de réduction du fer réalisé par le test de FRAP sont présentés dans la figure N°07

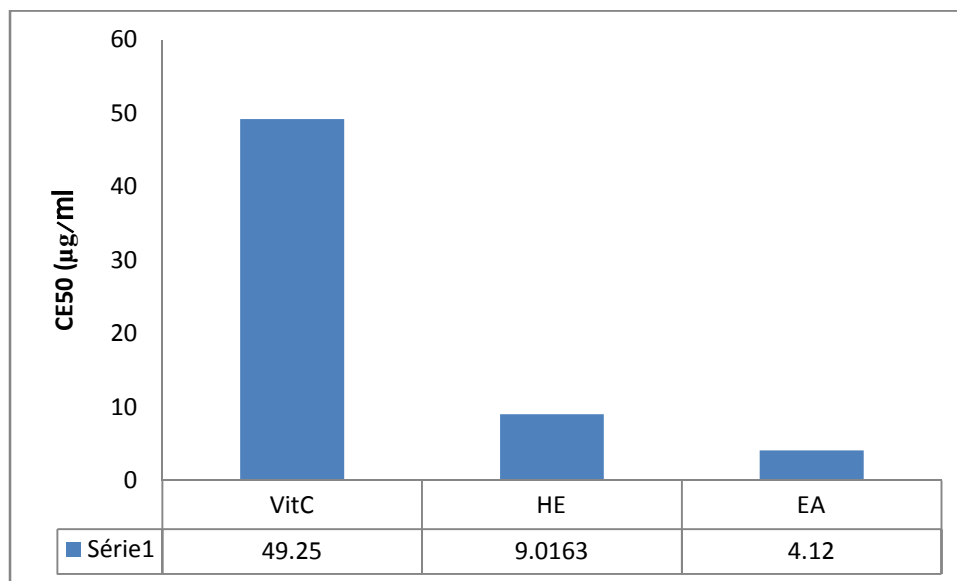


Figure N°07 : Concentration effectrice (CE50) responsable de pouvoir réducteur de l'extrait aqueux, l'huile essentielle et de la vitamine C

D'après ces résultats, l'activité antioxydante de l'extrait aqueux et de l'huile essentielle évaluée par le test de potentiel réducteur a révélé que ces deux derniers exercent une importante activité avec une CE50 de l'ordre de 4.12 µg/ml. Ce pouvoir est largement supérieur à celui de la vitamine C dont le CE est de 49.25.

L'activité antioxydants de la menthe peut être attribuée à la composition chimique, elle est influencée par les conditions environnementales et agronomiques, généralement l'activité antioxydante est attribuée au composé majeur de l'HE (Riahi et al., 2013).

II.2. Résultats de l'étude microbiologique

II.2.1. Confirmation de la pureté des espèces microbiennes

Les examens microscopiques réalisés après coloration de Gram permettent la confirmation de la pureté des deux espèces microbiennes utilisées. Les photos N°1 et N°2 représentent l'aspect microscopique des deux bactéries.

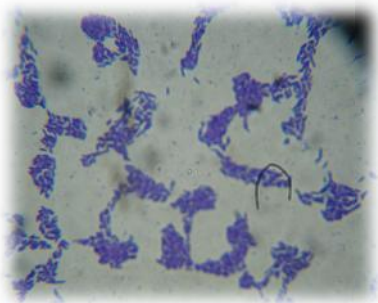


Photo N°01 Aspect microscopique de *S. aureus*

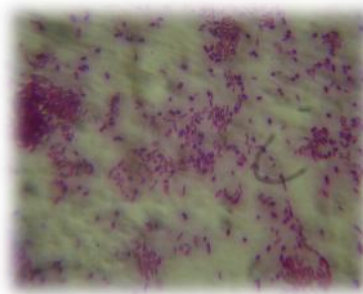


Photo N°02 Aspect microscopique d'*E. coli*

II.2.2. Résultats de l'effet de l'huile essentielle sur *S. aureus* en milieu solide

Les résultats de l'effet de l'huile essentielle (HE) sur *S. aureus* en milieu solide sont indiqués dans la figure N°08

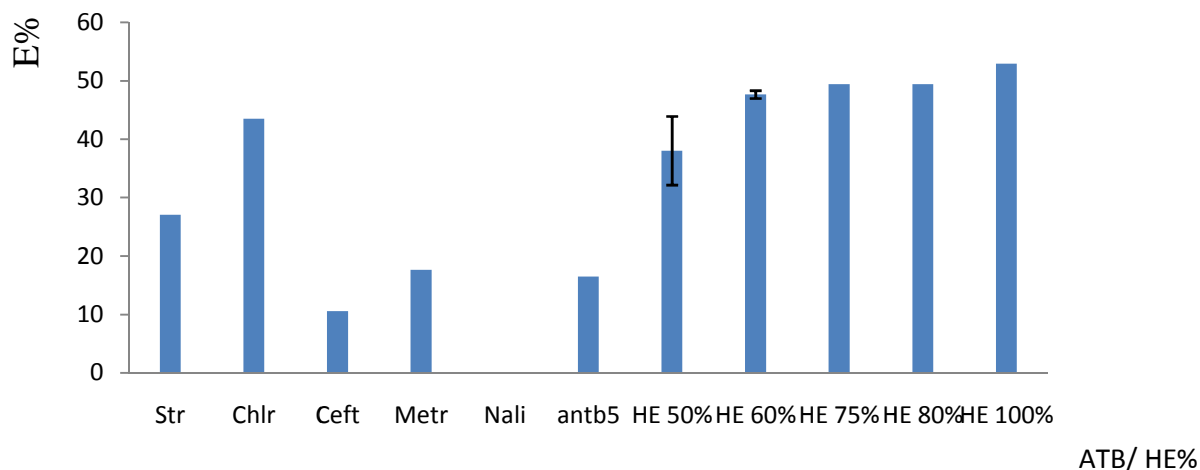


Figure N°08 : Effet de l'huile essentielle sur le développement de *S. aureus* en milieu solide

En comparant les résultats de l'effet de l'HE avec l'antibiogramme réalisé, il est clair que l'HE a un effet antibactérien plus élevé à des concentrations supérieures à 60% vis-à-vis *S. aureus*. Les meilleurs coefficients d'inhibition enregistrés sont: 52,94, 49,41, 49.1, 47.64 et

38.02% respectivement pour les concertations d'HE suivantes : 100%, 80%, 75%, 60% et 50%. L'antibiotique le plus efficace permet d'inhiber 43.52 % de la population de *S. aureus*.

II.2.3. Résultats de l'effet de l'HE sur *E. coli* en milieu solide

L'évaluation de l'effet inhibiteur de l'HE vis-à-vis *E. coli* permet d'obtenir les résultats présentés dans la figure N°09

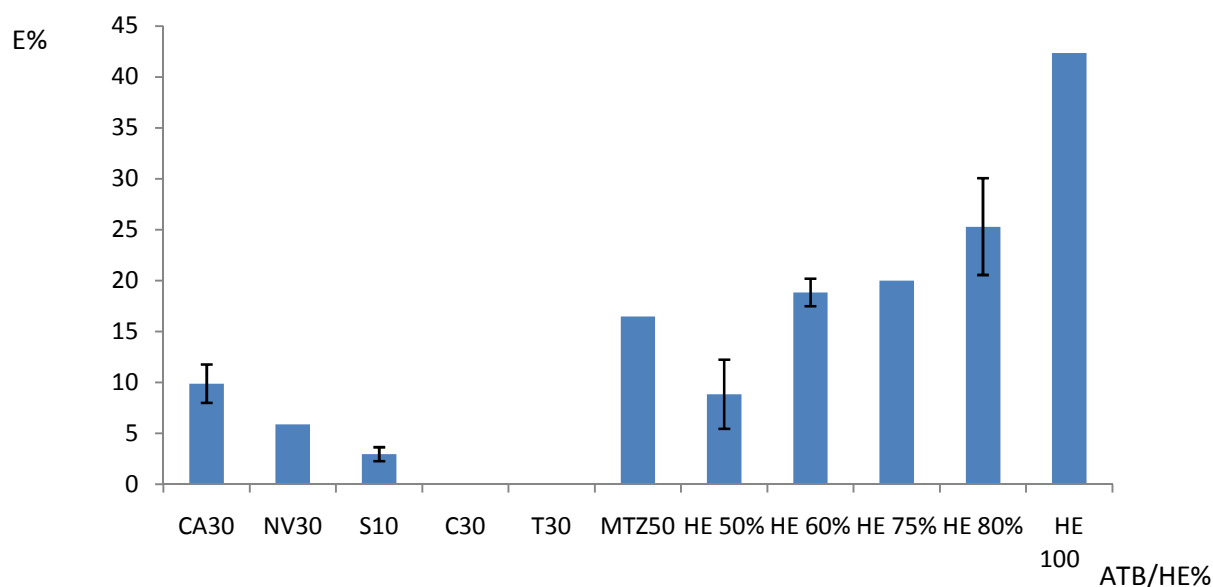


Figure N°09: Effet de l'HE de *M. pulégium* sur le développement de *E. coli* en milieu solide

Ces résultats montrent aussi un effet inhibiteur de l'HE sur *E. coli* plus important à ceux enregistrés par les antibiotiques testés (9.86%). Ainsi les meilleurs coefficients d'inhibition enregistrés sont 42.35, 25.29, 20, 18.82 % pour 100, 80, 75, 60% d'HE respectivement.

Ces résultats sont proches de ceux obtenus par **Teixeria et al. (2011)**. De leur part **Riahi et ses collaborateurs (2013)**, dans leur étude sur une espèce du genre *Mentha*, ont estimé le diamètre d'inhibition à 34mm contre *E. coli* soit un coefficient d'inhibition de 40%, résultats comparable à ce que nous avons obtenus.

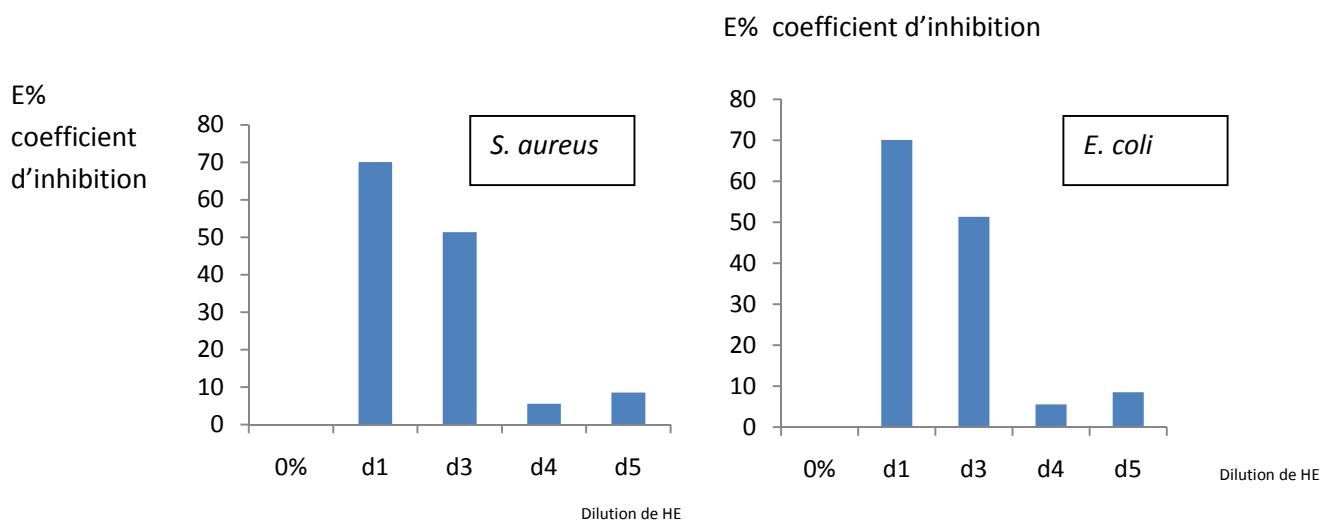
L'effet inhibiteur de l'HE de *Mentha pulégium* est attribué à sa composition tout particulièrement la présence de pulegone, menthone et neo-menthol (**Duru et al., 2004**).

Bakkali et al (2008), ont indiqué que l'activité antibactérienne est due en partie à la cytotoxicité des HE qui peuvent endommager la membrane cellulaire des bactéries lorsqu'elles passent à travers leur paroi cellulaire et leur membrane cytoplasmique (déstructuration de la membrane et la dégradation de ses polysaccharides et ses acides gras).

D'après nos résultats, on a remarqué que *S. aureus* était plus sensible à l'huile essentielle (E% entre 38.02 et 52.94%) que *E. coli* (18.82% à 42.35%).

II.2. 4. Résultats de l'effet de l'huile essentielle sur *S. aureus* et *E.coli* en milieu liquide

Les résultats de l'effet de l'huile essentielle sur *S. aureus* et *E.coli* en milieu liquide sont présentés dans la figure N°10



FigureN°10: Effet de l'huile essentielle sur le développement de *E.coli* et *S. aureus* en milieu liquide.

D'après les résultats obtenus les meilleures inhibitions des deux bactéries étudiées ont été obtenues pour les dilutions d1= 10⁻¹ et d3=10⁻³. Les concentrations qui ont un effet inhibiteur vis-à-vis les deux souches sont illustrées dans le tableau N°07

Tableau N°07 : Concentrations d'effet d'HE

	CMI	IC25	IC50	IC75/70	CMB
<i>S. aureus</i>	++	-	d 3 (50.32%)	d 1 (76.87%)	-
<i>E. coli</i>	++	-	d 3 (51.52%)	d 1 (70.05%)	-

Ces résultats confirment aussi que *S. aureus* (l'inhibition maximale de la population atteint 76.87%) était légèrement sensible que *E. coli*. Les pourcentages d'inhibition dans le cas de **milieu solide** sont plus intéressants que ceux obtenus pour un **milieu liquide**. Résultats semblables avec ceux obtenus par **Teixeira et al (2011)** qui ont trouvé que la méthode de la

macrodilution pour la détermination de la CMI était moins efficace que la technique de diffusion où la CMI n'a pas été déterminée.

II.2. 5. Résultats de l'effet de l'extrait aqueux sur *E.coli* et *S. aureus*

Les résultats de l'effet de l'extrait aqueux sur *E.coli* et *S. aureus* en milieu solide et liquide sont présentés dans la figure N°11

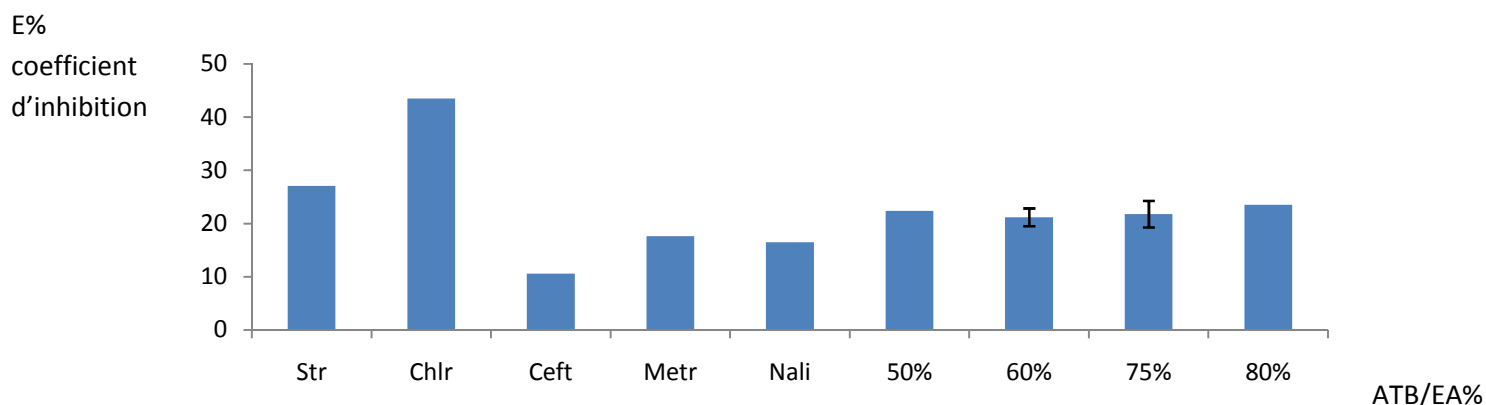


Figure N° 11: Effet de l'EA sur *S. aureus* en milieu solide

Concernant *E. coli*, aucun effet n'a été remarqué en milieu solide. **Teixeira et al (2011)** ont aussi prouvé que l'extrait de *M. puligum* reste sans effet contre *E. coli*.

II.2.6. Résultats de l'effet de l'EA sur *S. aureus* et *E. coli* en milieu liquide

Les figures N°12 et N°13 représentent les résultats de l'effet de l'EA sur *S. aureus* et *E.coli*

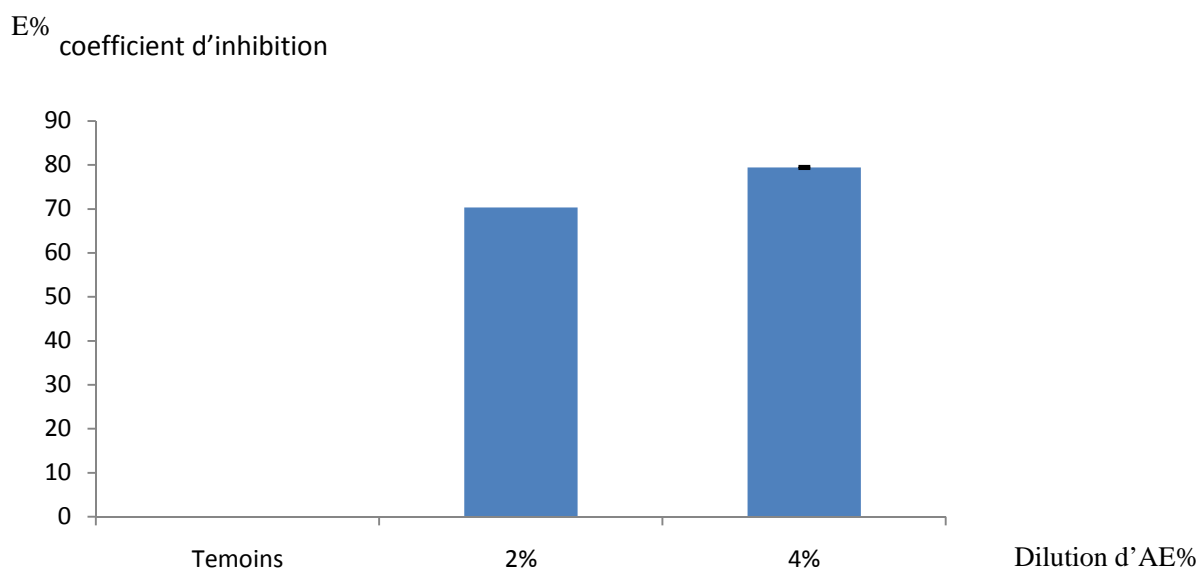


Figure N°12 : Effet de l'extrait aqueux sur le développement de *S. aureus* en milieu liquide.

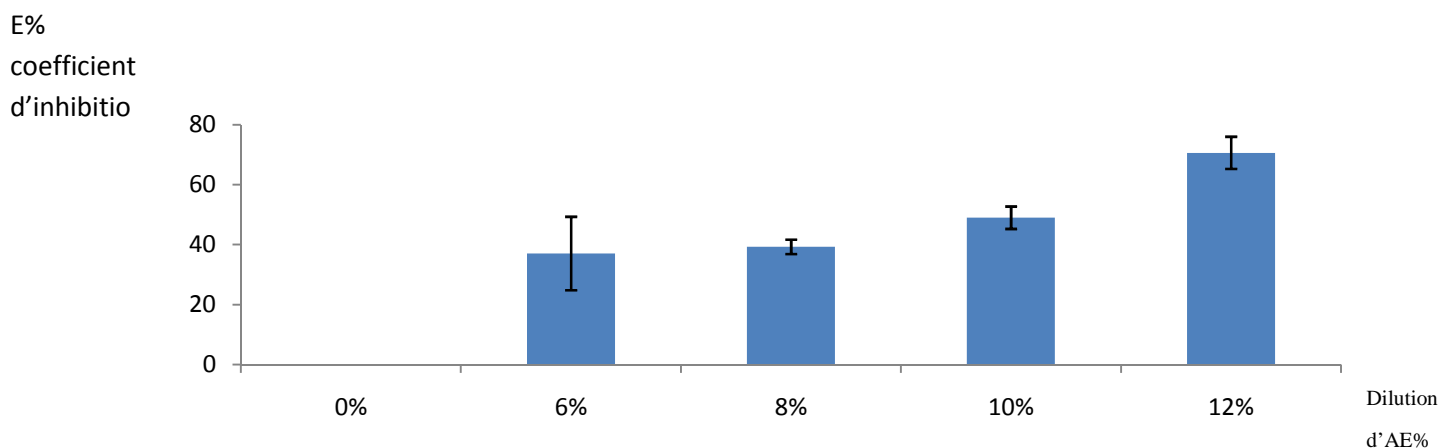


Figure N°13 : Effet de l'extrait aqueux sur le développement de *E.coli* en milieu liquide.

Ces résultats montrent clairement l'effet inhibiteur de l'extrait aqueux vis-à-vis les deux souches testées. Les différentes concentrations de l'EA qui ont un effet inhibiteur de ces deux bactéries sont illustrés dans le tableau N°08

Tableau N°08 : Concentration inhibitrice de l'extrait aqueux

	CMI	IC25	IC50	IC75/70	CMB
<i>S. aureus</i>	-	-	-	2%	-
<i>E. coli</i>		>6%	10%	12%	-

Les différentes concentrations illustrées dans le tableau N°08 montrent que *S. aureus* était plus sensible (IC75 enregistrée à 2%) que *E. coli* (IC75 enregistrée à 12%).

En récapitulant, il est bien clair que les deux matrices végétales permettent une bonne inhibition des deux bactéries par rapport aux antibiotiques testés en milieu solide et liquide.

L'HE s'est révélée plus active que l'EA contre *S. aureus*; Ce dernier avait un effet plus important que l'HE contre *E. coli* à l'exception de la concentration 80% (figure N°14 et Figure N°15).

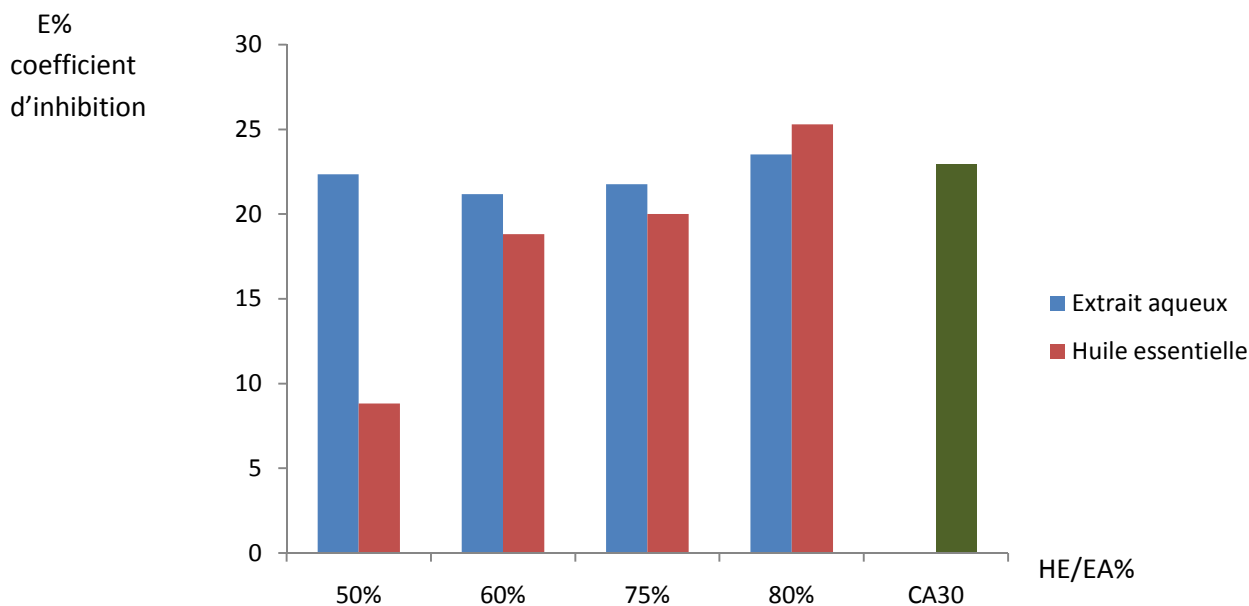


Figure N°14 : Comparaison d’effet de l’HE et l’EA sur *E. coli*

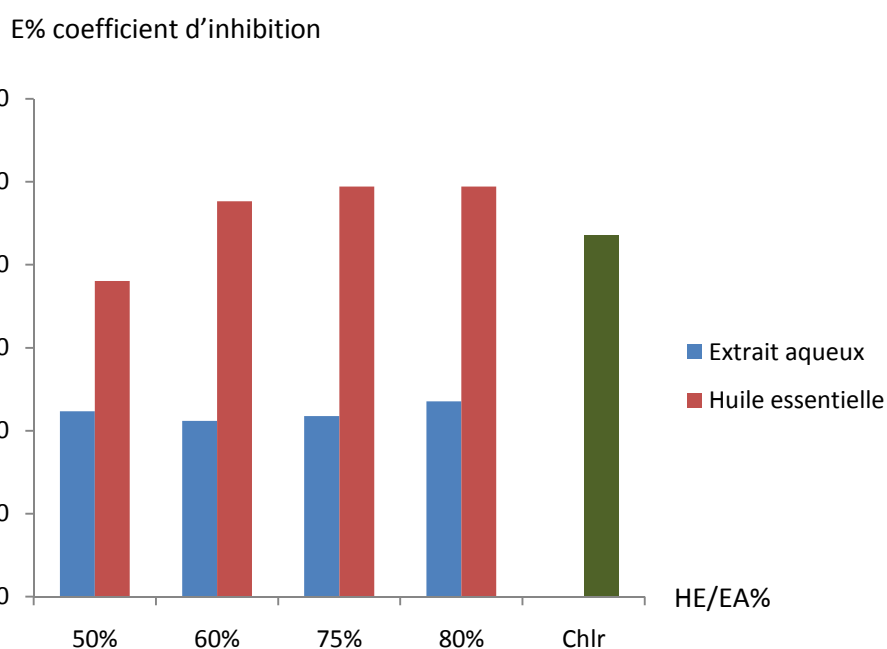


Figure N°15 : Comparaison d’effet de l’HE et l’EA sur *S. aureus*

Toutefois il faut souligner qu’il existe une sensibilité différentielle des deux bactéries Gram+, Gram- testées vis-à-vis les deux matrices. Cette différence d’effet peut être expliquée par la différence de la composition de la paroi cellulaire et le type de Gram.

Plusieurs études ont montré que les bactéries Gram- sont plus résistantes que les Gram+ vis-à-vis les extrait végétaux. Ainsi **Haddouchi et al (2009)** dont leur étude sur l’activité antimicrobienne de l’HE de *T. fontanesii* extraite par hydrodistillation, ont obtenus un DZI de

31 mm sur une bactérie Gram + (*S. aureus* S₃), et un DZI de 9 mm sur une bactérie Gram – (*P. aeruginosa*).

La faible sensibilité des bactéries Gram⁻ est expliquée par la présence d'une seconde membrane lipopolysaccharidique jouant un rôle de barrière. On outre, plus la membrane externe des Gram – est plus riche en lipopolysaccharide, elle est riche en protéines que celle de Gram⁺ ce qu'il les rend plus hydrophiles empêchant ainsi les composés hydrophobes de se pénétrer dans la couche phospholipidique et exercer leur activité antimicrobienne à l'intérieur de la cellule microbienne (**Alvesalo et al., 2008**).

CONCLUSION

De nombreux travaux (ethnobotaniques, biochimiques et d'essais cliniques) sur les plantes médicinales sont réalisés dans le souci de mieux connaître ledit patrimoine culturel afin d'y apporter une justification scientifique sur leurs activités biologiques . Ainsi l'objectif de la présente étude est d'évaluer l'effet antibactérien et antioxydant de *Mentha pulégium*.

Les résultats obtenus prouvent que l'HE et l'EA de *M. pulegium* ont exercé des effets antibactériens et antioxydant importants.

La bactérie Gram positif était plus sensible que celle à Gram négatif en. Le pouvoir réducteur de l'extrait paraît plus important.

De ce fait l'HE et l'EA de cette plante pourrait être utilisée pour des vertus thérapeutiques tout particulièrement comme agent antibactérien et antioxydant, mais d'autres études complémentaires sont nécessaires.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Antholula Adossides,(2013). Plante aromatique et médicinales FAO,projet « Assistance au R.A ».

✂ **Alvesalo J., Vuorela H., Tammela P., Leinonen M., Saikku P.,Vuorela P.(2006).** Inhibitory effect of dietary phenolic compounds onChlamydia pneumoniae in cell cultures; Biochem Pharmacol 71:735-741.

B.....

✂ **Bousbia, N. (2004).** Extraction et identification de quelques huiles essentielles (Nigelle, Coriandre, Origan, Thym, Romarin). Etude de leurs activités antimicrobiennes. Thèse magister, Institut National Agronomique, Alger. E ;

✂ **Benoit veber , cloude martine , philippe montravers, -luc (2004).**l'antibiothérapier probabiliste des etats septique graves.conference d'exprt,France .

✂ **Bouaoun, D., Hilan, C., Garabeth, F., et Sfeir, R. (2007).** Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'une plante sauvage Prangos asperula Boiss : Phytothérapie, 5, 129-134.

✂ **Bekhechi C., Alik-Bekkara F., Abdelouahid E. 2008.**Composition et activité antibacterienne des huiles essentielles *d'Origanum glandulosum* d'algerie. Phytothérapie Pharmacognosie.

✂ **Benabadji (2004).** Anticarcinogene and anti oxidante actevity of di-inoodolylmethane derivative.Acta pharmacol sin, 25(5), pp 666-671.

C.....

✂ **Catherique Grundy, jacque buxerand, (2005),** antibiotique pharmacologies et thérapeutique, collection pharma .France .pag ,269.

✂ **Choi et al (2006).** Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT*, 39:756-761.

D.....

✂ **Danielle,(2014) ;** le grand livre de festy. Compliment alimentaire Maltin edition 2014.

✂ **D.k.aid, alami, d.bnali , (2003) ,** multiplaction massive invitro de mentha puligum. Faculté de sciece – Kenitra Biologie et santé, Vol 3 N°2.

✂ **1. Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N (2006).** Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds,Food Chemistry, **97**, pp 654–660.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

E.....

El amri J., Khalid Elbadaoui, Touria Zair, Hayate bouharb, Saïd chakir, Taj Imolk Alaoui Appl. Biosci. 2014. Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testée journal of Applied Biosciences 82:7481–7492.

H

Hanane ghazghar , aauodhi chadia, maaroufi adderrazek et hassnaoui brahim, (2013) , comparision des contenus en polyphenoles et de l'activité antioxydant des extraits methanolique de quatre plantes collectes du monde de tunisie , institutu pasteur de teunisi université el manare .20013, vol 25, N°73.

Haddouchi F., Lazouni H.A., Meziane A., Benmansour A. 2009.Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesi*Boiss. &Reut i.Afrique SCIENCE 05(2) 246 – 259

Hubert J. (2006). Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines, Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat à l'Institut Nationale Polytechnique de Toulouse, Ecole Doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bio ingénieries.

J.....

- ✗ **J .f Guillot (1988)**, apparition de la résistance bacteriennes au antibiotique , France.
- ✗ **j ean. Froncois bergmom**, médicaments antibiotique nouveauté dans l'évaluation et l'utilisation , France, paris .
- ✗ **jules bel balliere, (1997)** , plante médicinales du midi de la France, 128.
- ✗ **Jean , Raymond Attali,Main Sheng Dcan, (1997)**, Interet de la medecine traditionnelle chinoise dans l'approche du diabet sucsres.Aspect theorique et pratique.These Doctorat Science Humain et Sante, Paris 13.

k.....

- ✗ **Khadem. H, Meddah Tirtouil. A. (2012).** Optimisation de la technique d'immobilisation des bactéries lactiques sous l'effet des polyphenols de *Thymus*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

fontanesii. Memoir de Magister. Université Mustapha Stambouli de Mascara.

L.....

Luicita, L. R. (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales réacteur chauffe par induction thermomagnétique direct. Thèse docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse. Toulouse- France.

✕ **2. Ligang ,C.,Hayan, J., Lan,D.,Huarong ,Z., Juan,L., Chenling, Q., Hanqi,Z. (2008).** Separation and purification technology 59, pp 50-57.

M-----

✕ **Melselio Schaechter,Geral redoffi,Barryl,Eisentein, Marc victor Assous, et al ,(1999),** Bacterie disease, pathogenesis commercable diseases, paris .

✕ **Martin,Koller(FIBL), (2013), Technique de production soin au culture .5070, rrance 219 page .**

✕ **Makhlouf, H. (2002).** Les huiles essentielles du romarin et du clou de girofle, Approche analytique et activité antioxydante sur une huile alimentaire. Thèse magistère INA. Alger.

p.....

✕ **Paul gaetz , kamel ghedina,(2012), la phytotérapie infectieuse , spriiger verbage , France, paris .**

✕ **Paris, M., et Hurabielle, M. (1981),** Abrégé de matière médicinale (pharmacognosie). Tome I. Masson. Paris.p 1047.

R-

✕ **Roux, D. (2008).** Conseil an aromathérapie, 2^{ème} édition, Pro-Officina., 187.

w.....

✕ **Weihua ,X.,Lujia,H.,Bo,S.(2008).** Microwave-assisted extraction of flavonoides from *Radix Astragali*. Separation and purification technology,62, pp 614-618.

✕ **Wen, H.,An X , Hai N,Zhen J,Jiawenn w (2009).** Optimised ultrasonic-assisted extraction activity in multi-tast sustem in vitro. food chemistry,114,1147-1154.

✕ **Wang. J, Sun. B, Liu. Y et Zhang. H.(2014).** Optimisation of ultrasound-assisted enzymatic extraction of arabinoxylan from wheat bran. Food chemistry. Pp. 482-488.

Y.....

✕ **Yvon, Michel, antibioticas ,(2012), drug resistance in microorganisms, ecole phytotheqnique 75005,paris.**

ANNEXES

Annexe

Milieux de culture utilisés

Milieu Chapman

Sa formule (en gramme par litre d'eau distillée) est la suivante :

- Peptone..... 10
- Extrait de viande6
- Protéose peptone.....10
- Chlorure de sodium.....150
- Lactose.....15
- Agar.....1

pH=7.4 stérilisation à 121°C/15mn.

Bouillon nutritif :

Sa formule (en gramme par litre d'eau distillée) est la suivante :

- Peptone.....15
- Extrait de levure.....3
- Chlorure de sodium.....6
- D (+) Glucose.....1

pH =7,2 stérilisation à 121°C/15mn.

Gélose Mac Conkey

- Peptone tryptique de gélatine.....17 g
- Peptone de viande et de caséine.....3 g
- Lactose.....10,0 g
- Sel biliaires.....5 g
- Cristal violet.....0,001 g
- Rouge neutre.....0,05 g
- Chlorure de sodium.....40 mg
- Gélose.....13 g

pH =7,4 stérilisation à 121°C/15mn.

Annexe

Gélose Mueller-Hinton

Sa formule (en gramme par litre d'eau distillée) est la suivante :

- Infusion de viande de bœuf.....300,0
- Hydrolysate de caséine.....17,5
- Amidon.....1,5
- Gélose.....17

pH = 7,4 stérilisation à 121°C/15mn.

Annexe

: Resultats d'arommatograme

I- avec l'extrait aqueux

1- staphylococcus aureus

- En milieu solide

L'extrait a 80%



L'extrait a 60%



L'extrait 50%



L'extrait 75%



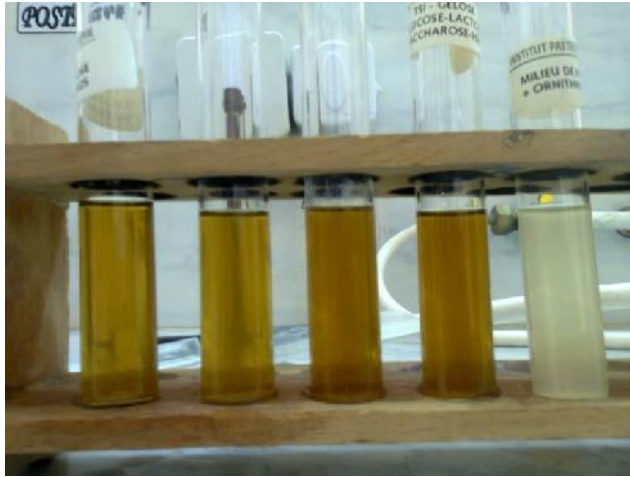
L'extrait pur



Annexe

Photo N°03 : Resultats de l'effet de l'EA sur *S. aureus*

- En milieu liquide
1^{er} essais



80%

75%

60%

50%

BLANC

Photo N° 04 : Effet de l'EA sur *S. aureus*

Annexe

II- E-coli

- Avec l'extrait
- En milieu solide

L'extrait a 50%



L'extrait a 75%



L'extrait a 60%



L'extrait a 80%



L'extrait pur



photo N°05 : Resultats de l'effet de l'EA sur *E-coli* en milieu solide

Annexe

- **En milieu liquide**
1 er essais



80%

60 %

75%

50%

BLANC

photo N°06 : Resultats de l'effet de l'extrait sur *E-coli* en milieu liquide

Annexe

I- avec l'HE

1- staphylococcus aureus

- En milieu solide

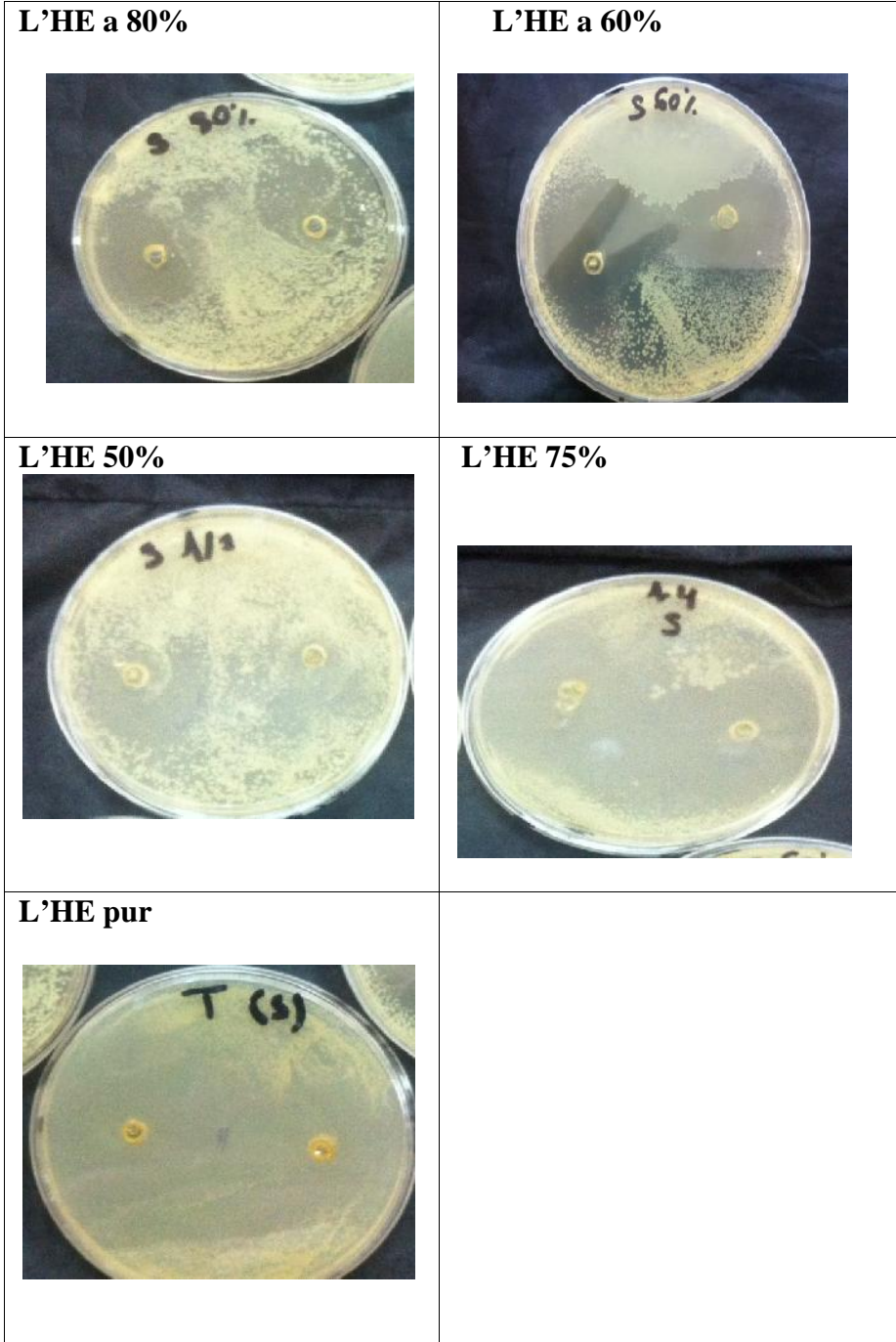


Photo N°07 : Effet de l'HE sur *S. aureus* en milieu solide

Annexe

Courbes d'étalonnage

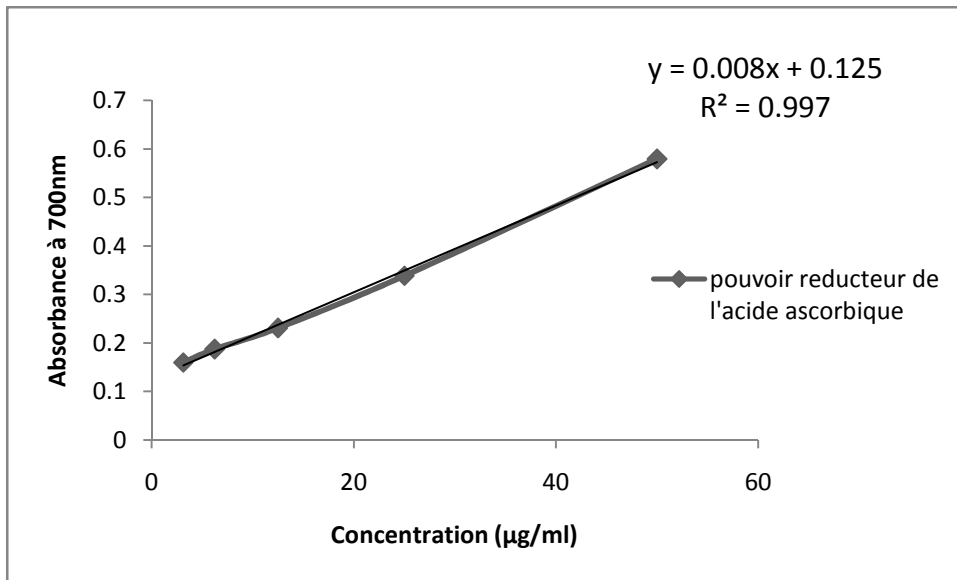


Figure N°16 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique

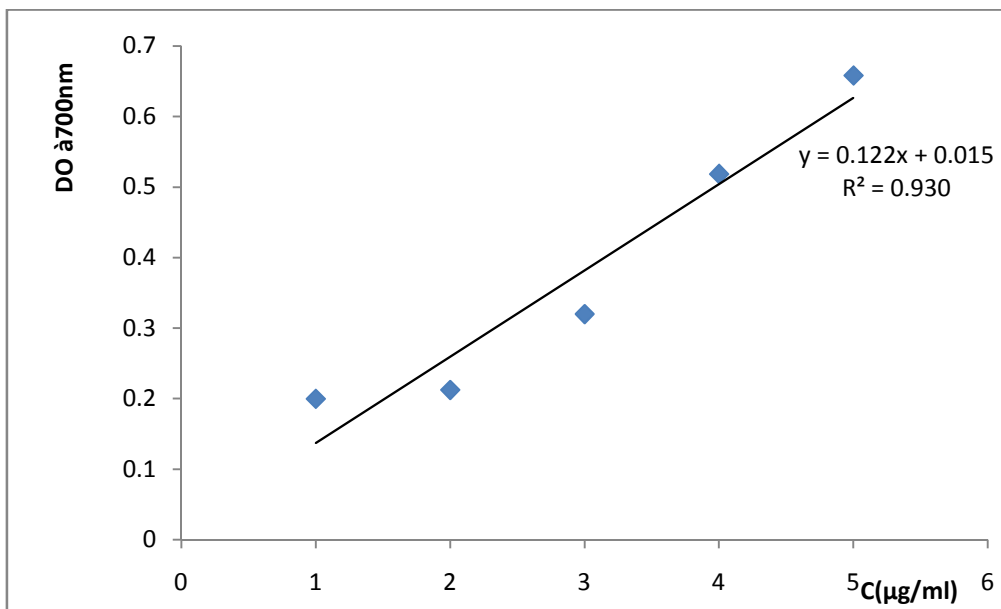
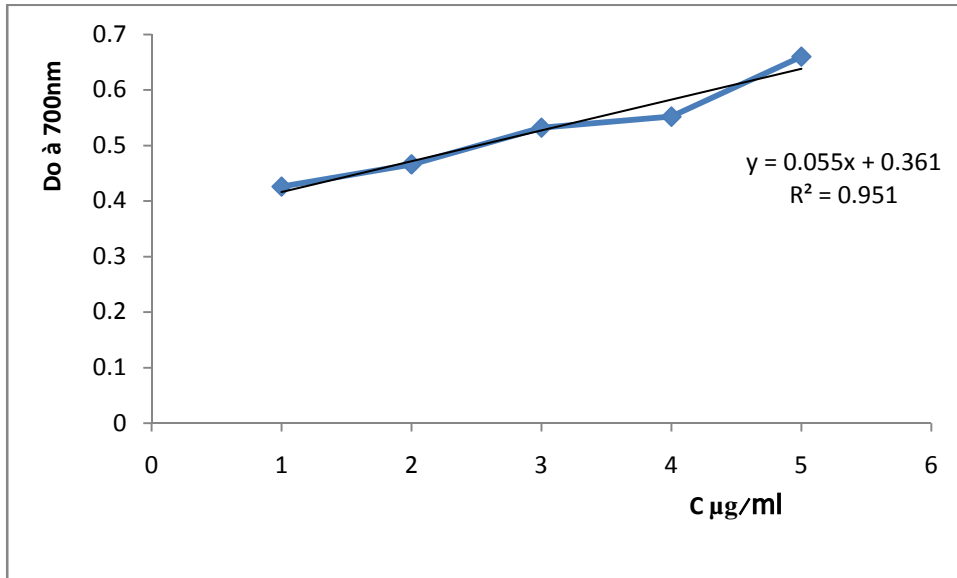


Figure N°17 : Pouvoir réducteur de l'extrait aqueux

Annexe



Résumé

Notre étude comporte l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles et de *Mentha pulegium* vis-à-vis des deux souches bactériennes pathogènes : *Staphylococcus aureus*, *E.coli* . et leur activité antioxydant.

Les diamètres de zones d'inhibition de cette huile essentielle ont été déterminés par la méthode de diffusion des disque sur gélose Mueller-Hinton. Ainsi les concentrations minimales inhibitrices et concentrations minimales bactéricides de ces huiles essentielles ont été déterminées.

Le rendement en huile essentielle obtenu à partir de menthe pouliot est de 1,25%, et l'extrait aqueux est de 34.93%

Des diamètres de zones d'inhibition allant de 28 mm jusqu'un 45 mm ont été obtenus avec les différentes concentrations de *Mentha pulegium* sur la souche testée avec l'huile essentielle et 16mm jusqu'un 2mm avec des concentrations inhibitrice 50 % et 75% >2% avec les deux souches .

L'activité antioxydante d'HE plus fort que l'extrait aqueux .

Les mots clefs : Huiles essentielles, Hydrodistillation, Activité antibactérienne, CMI, CMB, *Mentha pulegium*, *crithmum maritimum*.

وتشمل دراستنا تقييم النشاط المضاد للبكتيريا من الزيوت الأساسية والنعناع لمواجهة اثنين من السلالات المسببة القولونية. المكورات العنقودية الذهبية،: للأمراض البكتيريا .
تم تحديد أقطار منطقة تثبيط هذا من الضروري النفط من خلال طريقة نشر القرص على مولر هينتون أجار .
وهكذا تم تحديد تركيزات المثبطة الدنيا وتركيزات جراثيم الحد الأدنى من هذه الزيوت الأساسية
العائد من الضروري النفط تم الحصول عليها من النعناع هو 1.25٪، والمستخلص المائي هو 34.93
ملم مع تركيزات مختلفة من النعناع الأوروبي وقد تم الحصول على أقطار منطقة تثبيط تتراوح بين 28
مع سلالتين 2 >أساسية مع تركيزات المثبطة 50 75 .

الكلمات الرئيسية: الزيوت العطرية، والتقطير البخار، نشاط مضاد للجراثيم،