

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abdelhamid ibn Badis
de Mostaganem

Faculté des Sciences de la Nature et
de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم

كلية علوم الطبيعة و الحياة

N° _____/AGRO/2024

MEMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

AFOUN HIND ROUMAÏSSA et FERRAOUN HOURRA

En vue de l'obtention du diplôme de

Master Académique en Agronomie

Spécialité : Production végétale

THÈME

**Étude comparative d'activité microbienne d'huiles essentielle de
Rosmarinus officinalis L (romarin) et *Mentha spicata* (menthe)**

Devant le JURY :

Président	Dr ADJOUJ FATMA	MCA	Université de Mostaganem
Examineur	Dr YAHOAOUÏ HASSIBA	MCB	Université de Mostaganem
Encadreur	Dr MAGHNIA DJAMILA	MCA	Université de Mostaganem

Année universitaire : 2023 - 2024

Remerciements

Avant tout, on remercie, Dieu tout puissant de nous avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier infiniment et avec gratitude notre encadrant DR MAGHNIA J, qui a accepté de nous encadrer et de diriger ce travail. Nous le remercions pour sa patience, son aide très précieuse et ses corrections sérieuses.

En second lieu Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury Dr ADJOUJ F et Dr YAHOAQUI H pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Enfin, on remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail

*Aux personnes les plus chères à mon cœur : mes parents, qui
m'ont comblé d'amour et d'affection*

À mes sœurs

Hadjer, Sarah, Bouchra, Fatima, Ines, Sirine

À Hourra mon binôme.

À mes amies

Narimane, Chaimaa, Samiha, Kawter, Imen.

Et Enfin, à toute ma promo

Hind

Dédicaces

Je dédie ce travail

*Aux personnes les plus chères à mon cœur : mes parents, qui
m'ont comblé d'amour et d'affection*

À mes sœurs

Inas, ritege, radine

À mes frères

ayoube

À Hind mon binôme.

À mes amies

Narimane, Chaimaa, Samiha, amel, djihan.

Et Enfin, à toute ma promo

Hourra

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumé

Introduction

Partie 01 :Partie bibliographique	3
Chapitre I :Généralités sur le romarin	4
1. Définition	5
2. Description botanique.....	5
3. Taxonomie	6
4. Habitat :	6
5. Utilisation.....	7
6. Propriétés du Romarin	7
Chapitre II :Généralités sur la menthe	9
1. Définition	10
2. Description botanique.....	11
3. Taxonomie	11
4. Habitat	12
5. Utilisation.....	12
6. Huile essentielle et composition chimique.....	13
Chapitre III :Généralités sur les huiles essentielles	14
1. Définition	15
2. Localisation et lieu de synthèse.....	15
3. Propriétés physiques et chimiques	15
3.1. Propriétés physiques.....	15
3.2. Composition chimique.....	16
4. Les effets thérapeutiques des huiles essentielles.....	16
5. Techniques d'extraction des huiles essentielles.....	16
5.1. Hydrodistillation.....	16
5.2. Extraction par solvant organique	17
5.3. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	18

5.4. Extraction par hydrodiffusion.....	18
Partie 02 :Partie expérimentale	20
Matériel et méthode	21
1. Objectif de travail	22
2. Lieu et période de travail	22
3. Matériel végétale	22
4. Extraction des huiles essentielles	23
5. Détermination du rendement en huile essentielle	26
6. Matériel et produits de laboratoire	26
7. Test microbiologiques.....	26
7.1. Souches bactériennes utilisé.....	27
• <i>Escherichia coli</i> ATCC 2T922	27
• <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	27
• <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	28
• <i>Citrobacter freundii</i> ATCC 13316.....	29
7.2. Les champignons utilisés.....	30
• <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	30
8. Vérification de la pureté des souches	31
8.1. Aspects macroscopique	31
8.2. Aspects microscopique	31
8.3. Coloration de gram.....	31
9. Evaluation de l'activité antimicrobienne	31
9.1. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme).....	31
❖ Préparation de milieu :.....	32
❖ L'antibiotique testé	32
❖ Préparation de l'inoculum	32
❖ Ensemencement des boites	33
❖ Application des disques	34
❖ Incubation :.....	34
❖ La lecture	35
9.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	35
Résultats et discussions.....	38
Conclusion.....	47
Références bibliographiques	50

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification botanique de la <i>Rosmarinus officinalis</i>	6
Tableau 02 : Classification botanique de la menthe.....	11
Tableau 03: Matériel et produits de laboratoire	26
Tableau 04 : Le rendement d'huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis L</i> et <i>Mentha spicata</i>.	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 05: diamètres des zones d'inhibition après 24 h.....	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 06 : la sensibilité des souches bactérienne.....	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 07 : concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'huile essentielle de romarin	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 08 : concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'huile essentielle de la menthe	Erreur ! Signet non défini.

Liste des figures

Figure 01 : Présentation de <i>Rosmarinus officinalis</i>	5
Figure 02: Région méditerranéenne <i>Romarins officinalis</i>	6
Figure 03 : <i>Mentha spicata</i>	10
Figure 04 : Aire de répartition de la menthe verte dans le monde	12
Figure 05 : L'appareille utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile	17
Figure 06 : la méthode d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau	18
Figure 07 : Montage d'hydro diffusion	19
Figure 08: la menthe utilisée avant et après le séchage	23
Figure 09: le romarin utilisé avant et après le séchage	23
Figure 10 : Hydrodistillateur de type Clevenger	24
Figure 11 : Les étapes d'extraction d'huile essentielle	25
Figure12 : la bactérie <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	28
Figure13 : la bactérie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	29
Figure 14 : <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	30
Figure 15 : la préparation de la gélose nutritive	32
Figure 16 : les suspensions bactériennes	33
Figure 17 : La méthode d'ensemencement des boîtes	34
Figure 18 : Principe de la méthode de diffusion par disque	35
Figure 19: Méthode de détermination de la CMI par une microplaque	36
Figure 20 : La méthode de détermination de la CMI par une microplaque	37
Figure 21 : l'huile essentielle de menthe et romarin	Erreur ! Signet non défini.
Figure 22 : représentation graphique des rendements des HEs ..	Erreur ! Signet non défini.
Figure 23 : test de l'activité antimicrobienne des HEs de <i>Rosmarinus officinalis</i> L et <i>mentha spicata</i> sur <i>Escherichia coli</i> ATCC 2T922	Erreur ! Signet non défini.
Figure 24 :test de l'activité antimicrobienne des HEs de <i>Rosmarinus officinalis</i> L et <i>mentha spicata</i> sur <i>Pseudomonasa aeruginosa</i> ATCC 27853	Erreur ! Signet non défini.
Figure 25 : La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle de menthe et romarin	Erreur ! Signet non défini.

Liste des abréviations

HEs : Huiles essentielles

ATCC: American Type Culture Collection

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).

DMSO : Diméthylsulfoxyde

GN : Gélose nutritive

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

SM : Solution mère

E. coli : *Escherichia coli*

P. aeruginosa : *Pseudomonasa aeruginosa*

S.aureus : *Staphylococcus aureus*

Ci. freundii : *Citrobactère freundii*

C.albicans: *Candida albic*

Résumé

Ce mémoire aborde une étude comparative d'activité microbienne d'huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. et *Mentha spicata*. L'huile essentielle a été extraite par la méthode de l'hydro-distillation. L'activité antimicrobienne a été testée contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii* et *Candida albicans*. La méthode de diffusion des disques a révélé que la Menthe a inhibé *E. coli* avec un diamètre d'inhibition de 11 mm et *S. aureus* avec des diamètres allant jusqu'à 20 mm. Le Romarin, bien que moins efficace contre *E. coli* (0 à 9 mm), a montré une forte activité contre *S. aureus* avec des diamètres d'inhibition de 11 à 24 mm. Pour *P. aeruginosa*, les deux huiles ont montré une inhibition de 9 mm, et pour *C. freundii*, la Menthe a varié de 6 à 11 mm, tandis que le Romarin a montré une inhibition constante de 9 mm. Aucune des huiles n'a montré d'activité inhibitrice contre *Candida albicans*.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été déterminées pour chaque huile contre les bactéries testées. Pour l'huile de Romarin, *E. coli* a montré une sensibilité à partir de 1,25 mg/ml, *S. aureus* a été sensible à toutes les concentrations testées, et *Ci. freundii* est devenu sensible à partir de 2,5 mg/ml. Pour l'huile de Menthe, *E. coli* est devenu sensible à partir de 10 mg/ml, tandis que *S. aureus* et *Ci. freundii* ont montré une sensibilité complète à toutes les concentrations testées. Ces observations renforcent le potentiel des huiles essentielles comme alternatives naturelles aux antibiotiques conventionnels.

Mots clés : activité antimicrobienne, huiles essentielles, *Rosmarinus officinalis* L., *Mentha spicata*.

ملخص

تتناول هذه الأطروحة دراسة مقارنة للنشاط الميكروبي للزيوت العطرية روزمارينوس أوفيسيناليس ل وزيوت مينثا سبيكاتا العطرية. تم استخلاص الزيت العطري باستخدام طريقة التقطير المائي. تم اختبار النشاط المضاد للميكروبات ضد *E. scherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii* و *Candida albicans*. وكشفت طريقة الانتشار على الأقراص أن النعناع يثبط *E. coli* بقطر تثبيط يبلغ 11 ملم و *S. aureus* بأقطار تصل إلى 20 ملم. أما إكليل الجبل، فعلى الرغم من أنه أقل فعالية ضد *E. coli* (من 0 إلى 9 ملم)، إلا أنه أظهر نشاطاً قوياً ضد بكتيريا *S. aureus* بأقطار تثبيط تتراوح من 11 إلى 24 ملم. بالنسبة إلى بكتيريا *P. aeruginosa* ، أظهر كلا الزيتين تثبيطاً قدره 9 ملم، وبالنسبة إلى بكتيريا *Ci. freundii* ، تراوح النعناع من 6 إلى 11 ملم، بينما أظهر إكليل الجبل تثبيطاً ثابتاً قدره 9 ملم. لم يظهر أي من الزيوت أي نشاط مثبط ضد *Candida albicans* .

تم تحديد الحد الأدنى للتركيزات المثبطة (MICs) لكل زيت ضد البكتيريا المختبرة. بالنسبة لزيت الروزماري، أظهرت بكتيريا *E. coli* حساسية من 1.25 ملغم/مل، وكانت بكتيريا *S. aureus* حساسة عند جميع التركيزات المختبرة، وأصبحت بكتيريا *Ci. freundii* حساسة من 2.5 ملغم/مل. بالنسبة لزيت النعناع، أصبحت بكتيريا *E. coli* حساسة من 10 ملغم/مل، بينما أظهرت بكتيريا *S. aureus* و *Ci. freundii* حساسية كاملة عند جميع التركيزات المختبرة. تعزز هذه الملاحظات إمكانات الزيوت العطرية كبديل طبيعي للمضادات الحيوية التقليدية.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للميكروبات، الزيوت العطرية، روزمارينوس أوفيسيناليس ل، مينثا سبيكاتا .

Abstract

This thesis deals with a comparative study of the microbial activity of *Rosmarinus officinalis* L and *Mentha spicata* essential oils. The essential oil was extracted using the hydro-distillation method. Antimicrobial activity was tested against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii* and *Candida albicans*. The disc diffusion method revealed that Mint inhibited *E. coli* with an inhibition diameter of 11 mm and *S. aureus* with diameters of up to 20 mm. Rosemary, although less effective against *E. coli* (0 to 9 mm), showed strong activity against *S. aureus* with inhibition diameters of 11 to 24 mm. For *P. aeruginosa*, both oils showed an inhibition of 9 mm, and for *Ci. freundii*, Mint varied from 6 to 11 mm, while Rosemary showed a constant inhibition of 9 mm. None of the oils showed any inhibitory activity against *Candida albicans*.

Minimum inhibitory concentrations (MICs) were determined for each oil against the bacteria tested. For Rosemary oil, *E. coli* showed sensitivity from 1.25 mg/ml, *S. aureus* was sensitive at all concentrations tested, and *Ci. freundii* became sensitive from 2.5 mg/ml. For Mint oil, *E. coli* became sensitive from 10 mg/ml, while *S. aureus* and *Ci. freundii* showed complete sensitivity at all the concentrations tested. These observations reinforce the potential of essential oils as natural alternatives to conventional antibiotics.

Key words: antimicrobial activity, essential oils, *Rosmarinus officinalis* L, *Mentha spicata*.

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique possédant un très large éventail d'activités biologiques (**Zeghad, 2009**). Les plantes médicinales sont utilisées depuis les temps les plus reculés comme médicaments pour plusieurs maladies, car elles sont riches en composants de principes thérapeutiques (**Khaldi et al.,2012**).À l'heure actuelle, les plantes aromatiques jouent un rôle important, principalement pour leurs propriétés thérapeutiques en aromathérapie, ainsi que dans les industries cosmétique, parfumerie et agroalimentaire pour leurs propriétés organoleptiques et antioxydantes, en raison de la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles dans des domaines très différents.

Les huiles essentielles sont des extraits concentrés de plantes aromatiques, utilisées depuis des siècles pour leurs propriétés thérapeutiques. Les huiles essentielles sont connues pour leur pouvoir antimicrobien, qui leur confère la capacité de lutter contre les micro-organismes pathogènes tels que les bactéries, les champignons et les virus (**Toure ; 2015**).

Il convient de noter que, bien que les huiles essentielles aient démontré leur activité antimicrobienne, leur utilisation doit être prudente et basée sur des connaissances approfondies. Des études supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes d'action des huiles essentielles, déterminer leur efficacité contre différents micro-organismes et évaluer leur sécurité d'utilisation (**Jouault, 2012**).

Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales en Algérie et compte tenu des avantages thérapeutiques représentés. Nous nous intéressons à l'extraction des huiles des parties aériennes des plantes *Mentha spicata* et *Rosmarinus officinalis L*. La récolte de Romarin était effectuée dans le site de l'université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. La menthe utilisée a été achetée chez le marché couvert de Mostaganem centre-ville.

Cette étude a été réalisée sur la base des plantes de *Mentha spicata* et *Rosmarinus officinalis L* et a été principalement divisée en deux parties :

Partie théorique composée de trois chapitres :

- Le premier chapitre est généralités sur le romarin.
- Le deuxième chapitre est généralités sur la menthe.

Introduction

– Le troisième chapitre, une généralité sur les huiles essentielles et les différentes méthodes de leurs extractions.

Partie expérimentale contenant deux chapitres :

– Un premier chapitre sur matériels et méthodes, nous avons cités toutes les méthodes suivies pour la réalisation de notre travail.

- Un second chapitre examinant les résultats trouvés ainsi que leurs discussions et On termine avec une conclusion générale.

Partie 01

Partie bibliographique



Chapitre I

Généralités sur le romarin



1. Définition

Le romarin du latin *Rosmarinus officinalis* (rose de mer) est une plante condimentaire et médicinale. Elle est originaire des régions méditerranéennes. Ainsi, on la considère parmi les plantes les plus répandues en Algérie. Elle préfère les lieux secs et arides, exposés au soleil. Cette plante est un arbrisseau de la famille des Labiées, apprécié pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes et antimicrobiennes. Le romarin est largement utilisé dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle (Mecheri et al. 2017).



Figure 01 : Présentation de *Rosmarinus officinalis* (Leplat, 2017)

2. Description botanique

Cette plante appartient à la famille des Labiées. Elle se présente sous forme d'arbuste, sous arbrisseau ou herbacée (Zeghad, 2008) mesurant environ de 0.8 à 2 m de hauteur (Adjimi, 2014), il est facilement reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes sans pétiole, coriaces beaucoup plus longues que larges, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous. La floraison commence dès le mois de février (ou janvier parfois) et se poursuit jusqu'au avril – mai. La couleur des fleurs varie du bleu pâle au violet (Madjour , 2014) .

3. Taxonomie

Tableau 01 : Classification botanique de la *Rosmarinus officinalis* (Quézel et al., 1963).

Règne	Plante
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Lamiales (Labiales)
Famille	Lamiacées
Genre	Rosmarinus
Espèce	Rosmarinus officinalis

4. Habitat :

Le romarin pousse spontanément dans les garrigues, forêts claires, maquis, collines arides et calcaires, non loin de la mer, commun jusqu'au Sahara. Commun dans toute L'Algérie et la région méditerranéenne (Bettahar et Chekalil, 2020)

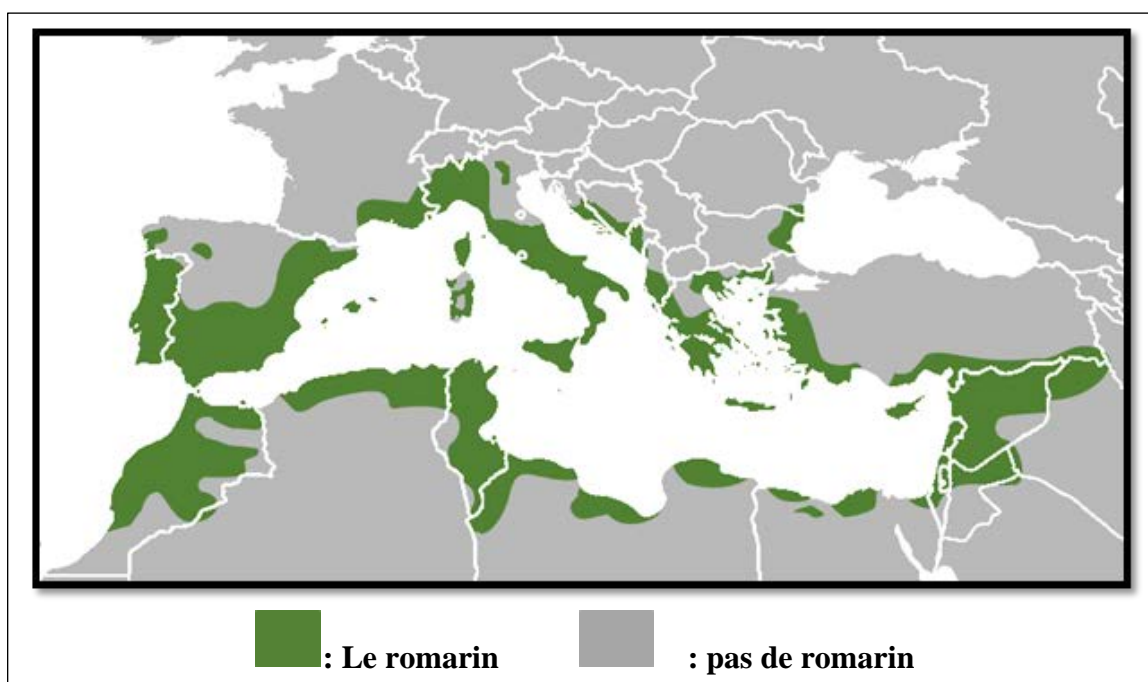


Figure 02: Région méditerranéenne *Rosmarinus officinalis* (Benbott et Bouali, 2018).

5. Utilisation

Le romarin est à la fois une plante ornementale, aromatique et médicinale. Les feuilles séchées de *Rosmarinus officinalis* sont utilisées en tant que condiment et rentrent dans la composition des thés et des infusions. Il est sous forme de feuilles séchées ou d'huile essentielle. Il trouve sa principale utilisation dans la fabrication de produits cosmétiques (parfums, savons, crèmes, tonifiants de cheveux, shampooings et autres préparations). Il sert aussi à produire les antioxydants naturels qui ont plusieurs utilisations dans les industries agroalimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques (Brahimi et al., 2018).

6. Propriétés du Romarin

• Activité antibactérienne

On a étudié les effets des extraits aqueux et méthanoliques du romarin sur la croissance du *Streptococcus sobrinus* et sur l'activité de l'enzyme glucosyltransferase. Les résultats ont indiqué que ces extraits peuvent prévenir les caries en inhibant la croissance du *Streptococcus sobrinus* et éliminer les plaques dentaires en réduisant l'activité de la glucosyl transférase (Tsai et al., 2007). Une nouvelle étude a été mise en place pour rechercher de nouveaux antibiotiques et des agents antimicrobiens en examinant les effets des extraits de certains composés isolés de plantes sur 29 bactéries et levures pertinentes pour la dermatologie. L'extrait d'acide carnosique obtenu à partir de la supercritique du dioxyde de carbone (CO₂) de romarin a présenté un large spectre antimicrobien, empêchant la croissance de 28 sur 29 germes (Weckesser et al., 2007).

• Activité antifongique

D'après les résultats obtenus, l'huile essentielle de romarin à une concentration de 450 ppm a complètement inhibé la biosynthèse de l'aflatoxine. Ainsi, cette huile essentielle présente un fort potentiel en tant que conservateur naturel contre l'*Aspergillus parasiticus* (Rasooli et al., 2008). En utilisant la technique standard de diffusion sur gélose, une étude a évalué l'activité biologique de onze huiles essentielles, y compris celle extraite du romarin. Les résultats ont indiqué que ces huiles ont une activité inhibitrice modérée sur les cinq souches de levure examinées, à savoir *Candida albicans*, *Rhodotorula glutinis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Yarrowia lipolytica* (Sacchetti et al., 2005).

- **Activité antivirale**

D'après l'évaluation de l'extrait commercial de romarin, une inhibition de l'infection causée par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) a été observée à une concentration très faible. Néanmoins, une concentration modérée de carnosol a démontré une activité antiVIH qui n'était pas cytotoxique (**Aruoma et al., 1996**).

- **Activité anti-oxydante**

On sait depuis environ 30 ans que le romarin possède une activité anti-oxydante (**Nassu et al, 2003**). Cette propriété lui a valu d'être largement reconnu en tant qu'épice ayant l'activité anti-oxydante la plus élevée (**Wang et al., 2008**). Des recherches ont été menées par divers auteurs sur l'utilisation des extraits de romarin comme agent antioxydant afin de préserver les produits à base de viande (**Nassu et al., 2003 ; Fernandez- Lopez et al., 2005 ; Balentine et al., 2006**).

Chapitre II

Généralités sur la menthe



1. Définition

Les origines de *Mentha spicata* sont incertaines. Selon certains botanistes, elle serait le résultat d'une hybridation très ancienne entre *Mentha rotundifolia* et *Mentha longifolia* (Douay, 2008).

La menthe verte, menthe crépue ou menthe douce, du nom latin « Mentha », est l'une des plus anciennes plantes médicinales connues : les archéologues ont découvert ses feuilles dans des pyramides d'Egypte vieilles de 3 000 ans (Benayad, 2008).

Ces essences sont d'une part facile à reconnaître à leur odeur tout à fait caractéristique et d'autre part, difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires, d'origine hybride. Parmi toutes les lamiacées, les menthes se reconnaissent, en plus de leur odeur spéciale, par leurs fleurs très petites, par leurs corolles presque régulières à quatre lobes presque égaux et par leurs quatre étamines également presque égales (Benayad, 2008).



Figure 03 : *Mentha spicata* (Douay, 2008).

2. Description botanique

Plante vivace, robuste, de 50 cm à 1 mètre, d'un vert sombre, à odeur suave très pénétrante.

Tige : La tige de la menthe verte est dite quadrangulaire (carrée) ascendante (orthotrope). Elle est de couleur pourpre.

La taille de la menthe verte peut atteindre au maximum une hauteur de 1,20 mètre mais en moyenne varie entre 0,30 et 0,60 m. Les tiges sont glabres, rameuses. La menthe verte est une plante à rhizomes traçants. Elle est originaire de l'Amérique du Nord (**Douay, 2008**).

Feuilles : Les feuilles sont opposées, persistantes, dentées en scie, vertes sur les 2 faces, glabres ou presque glabres (**Douay, 2008**).

Racines : La racine est une racine pivotante qui dure plus de 3 ans. On les trouve en dessous de chaque pied, des rhizomes (tiges souterraines). Elles servent à la propagation de la plante (**Douay, 2008**).

Fleur : Les fleurs poussent en grappe à l'aisselle de la feuille. Elles sont zygomorphes et hermaphrodites. Les pétales sont soudés (gamopétales) (**Douay, 2008**).

3. Taxonomie

Tableau 02 : Classification botanique de la menthe

Règne	Plante
Embranchement	Spermaphyte
Sous-embranchement	Angiosperme
Classe	Magnoliopsida
Sous-Classe	Gamopétale
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	Mentha
Espèce	Mentha spicata L

4. Habitat

La majorité des menthes sont d'origine européenne et asiatique. Cependant, en suivant les flux de migration, les menthes peuvent être trouvées sur presque tous les continents. (Yvan T 1997)

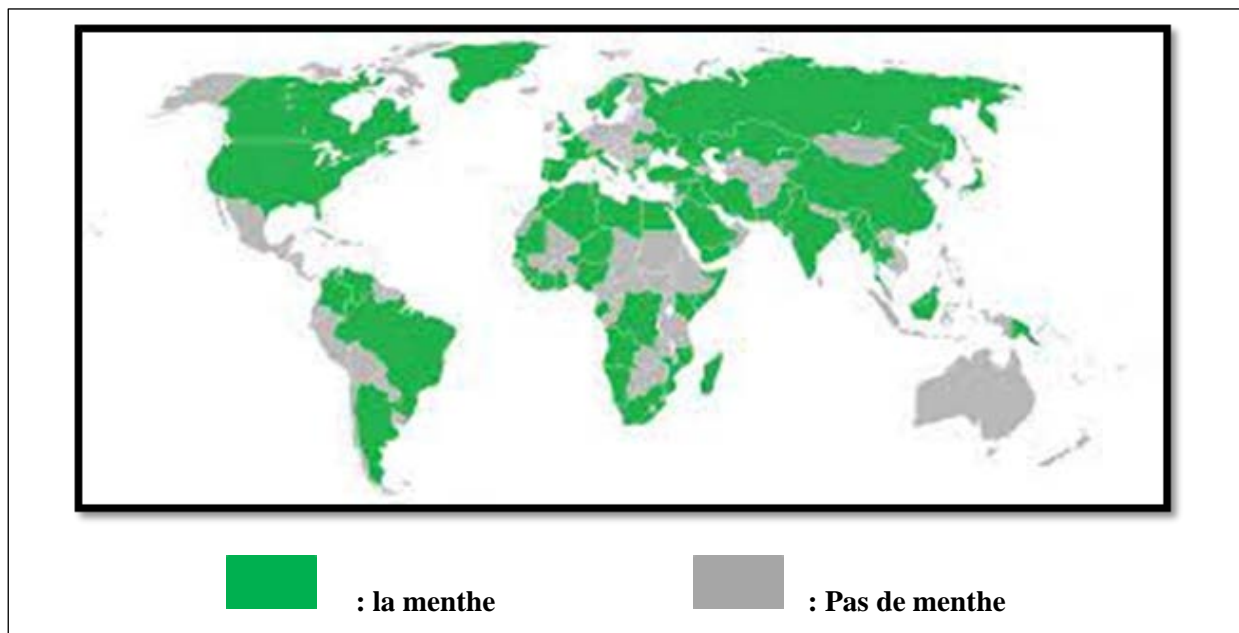


Figure 04 : Aire de répartition de la menthe verte dans le monde (Tucker et Naczi,2007).

5. Utilisation

La menthe occupe une place privilégiée dans la phytothérapie. Elle est cultivée et utilisée depuis l'Antiquité pour ses propriétés médicinales (Laghouiter et al., 2015). Elle est utilisée pour soigner de nombreux troubles comme par exemple affections dermatologiques, colites, troubles fonctionnels digestifs d'origine hépatique, nez bouché et affections de la bouche (Douay, 2008), affections similaires aux bronchites, troubles urinaires, toux, rhume, maux de tête et d'estomac ainsi que, douleurs biliaires et douleurs liées aux piqûres d'insectes et d'animaux (Beloued, 2001 ; Kothe, 2007).

En industrie, la plante est utilisée dans la production des pâtes de dentifrice (Aye kee et al., 2017), des sirops, des confiseries et pour parfumer les produits d'hygiène buccale (Teuscher et al., 2005). Elle est aussi présente dans plusieurs produits cosmétiques, comme les crèmes, les shampoings, les lotions, et les savons (Beloued, 2001).

En cuisine, elle est employée comme épice, en effet, ses feuilles fraîches accompagnent les viandes, les poissons, les salades, et rentrent aussi dans la préparation des sauces (**Teuscher et al., 2005**). Elle sert généralement à la préparation du thé (**Aye kee et al., 2017**).

6. Huile essentielle et composition chimique

Sur le plan des principes chimiques, la plupart des espèces de menthe doivent leur odeur et activité à leurs huiles essentielles ou essences de menthe (**Benayad, 2008**). L'huile essentielle de la menthe verte est riche surtout en L-carvone (entre 40 à 80 %), en acétate de dihydrocuminyne (10 à 12%) (Ces deux constituants majeurs étant responsables de l'odeur de la plante), en menthone (4 - 30%) et le limonène (5 à 15%) ; ils sont accompagnés de dihydrocarvone, de dihydrocarvéol, d'acétate de carvyle et de caryophyllène. Dans d'autres races chimiques, la carvone est accompagnée de 1,8 cinéol (jusqu'à 20%), de pulégone (jusqu'à 50 %) ou de terpinéol-4 (jusqu'à 18%) (**Avato et al., 1995**).

➤ Des études sur la menthe

- Une étude menée à l'Université Ziane Achour de Djelfa a évalué l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Mentha spicata* contre diverses souches bactériennes, y compris *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, et a trouvé des résultats prometteurs quant à son efficacité antibactérienne (**Taibi Kamal et al., 2019**).
- Une autre recherche à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou a comparé l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Mentha spicata*, *Thymus fontanessi*, et *Mentha pulegium* contre deux souches de *Pseudomonas*, avec des résultats indiquant que la menthe verte possédait une action inhibitrice modérée (**Benmessaoud, Amel et al., 2015**).
- En résumé l'huile essentielle de *Mentha spicata* possède une activité antimicrobienne significative contre plusieurs souches bactériennes, ce qui en fait une candidate potentielle pour des applications thérapeutiques et conservatrices dans divers domaines.

Chapitre III

Généralités sur les huiles essentielles



1. Définition

Une huile essentielle est la fraction odorante volatile extraite des végétaux. C'est le parfum concrétisé de la plante, un véritable concentré (**Danièle, 2014**). Elle peut être obtenue de différentes parties d'un végétal : les feuilles, les graines, les bourgeons, les fleurs de brindilles, les écorces, les bois, les racines, les tiges ou les fruits (**Toure, 2015**).

Les huiles essentielles sont devenues l'intérêt des chimistes, biologistes et des médecins...etc. grâce à leur utilisation dans le traitement de quelques maladies infectieuses (**Ouis, 2015**).

2. Localisation et lieu de synthèse

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal, principalement chez les végétaux supérieurs. 17500 espèces aromatiques appartenant à un nombre limité de familles, dont les Lamiacées, les Lauracées, les Apiacées, les Astéracées et les Myrtacées (**Regnault-Roger et al., 2008 ; Ouis, 2015**). Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en générale dans des cellules glandulaires spécialisées (**Touhami, 2017**). Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites à huiles essentielles (Lauraceae), des poils sécréteurs (Lamiaceae), des poches sécrétrices (Myrtaceae) et dans des canaux sécréteurs (Asteraceae) (**Bouزيد, 2018**). Elles peuvent être extraites de divers organes végétaux tels que les fleurs (camomille, lavande), les feuilles (citronnelle, eucalyptus), les racines (vétiver), les fruits (anis, badiane), les rhizomes (curcuma, gingembre), le bois (bois de rose, santal) ou les graines (muscade) (**Laurent, 2017**). Il est intéressant de citer que les organes d'une même espèce, peuvent renfermer des huiles essentielles de composition différente selon leurs localisations dans la plante (**Figueredo, 2007**).

3. Propriétés physiques et chimiques

3.1. Propriétés physiques

Liquides à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles ce qui les différencie des huiles dites « fixes ». Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau à laquelle elles sont généralement peu miscibles voire non miscibles. Liposolubles, elles sont en revanche solubles dans les solvants organiques usuels (**Cohen, 2013**).

3.2. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et celui des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (**Bruneton, 2009**).

4. Les effets thérapeutiques des huiles essentielles

❖ **Anti-bactériennes** : Les molécules aromatiques possédant l'activité antibactérienne la plus importante sont les phénols contenus par exemple dans l'huile essentielle de clou de girofle (**Dorosso, 2002**).

❖ **Antivirales** : Les virus sont assez sensibles aux huiles essentielles à phénol et à monoterpénol. Plus d'une dizaine d'huiles essentielles possèdent des propriétés antivirales. Nous pouvons citer l'huile essentielle de Ravintsara, l'huile essentielle de Bois de Hô, ou l'huile essentielle de Cannelle de Ceylan (**Dorosso, 2002**).

❖ **Antifongiques** : les huiles essentielles utilisées pour leurs propriétés antifongiques sont les mêmes que celles citées précédemment, cependant la durée du traitement sera plus longue. Par exemple, les huiles essentielles de Cannelle, de Clou de girofle ou de Niaouli sont des antifongiques (**Brunton, 2012**).

5. Techniques d'extraction des huiles essentielles

5.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation c'est la méthode normée pour l'extraction d'une HE. Il s'agit du procédé le plus couramment employé pour l'extraction et elle est considérée comme étant la plus simple et la plus anciennement utilisée. Cette technique consiste à mettre directement le matériel végétal à traiter qu'il soit intact ou broyé dans un alambic (ballon) rempli d'eau, Le tout est ensuite porté à ébullition, à une température inférieure à 100 °C sous pression atmosphérique normale. Ensuite les molécules volatiles et l'eau distillent simultanément par ce que la chaleur permet l'éclatement des cellules et la libération de ces molécules qui forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique « eau + HE ». Ce mélange est ensuite envoyé dans un compartiment pour y refroidir passant par un réfrigérant

à eau où Les vapeurs hétérogènes sont condensées et l'HEs se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité (l'HEs est plus légère que l'eau) dans laquelle surnage au-dessus de l'hydrolat, afin d'être récupérée dans un récipient (**Lucchesi, 2005 ; Fasty, 2007**).

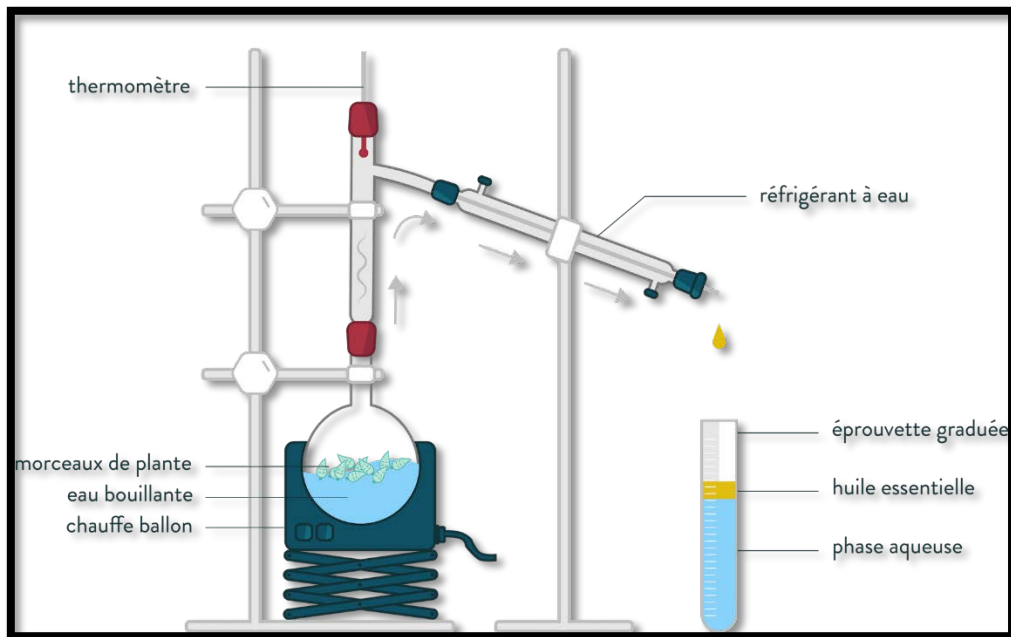


Figure 05 : L'appareille utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile

5.2. Extraction par solvant organique

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé, devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène. Sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils, mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances (**Boukhatem et al. 2019**).

5.3. Extraction par 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. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de cette 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 est ensuite condensé dans le réfrigérant avant d'être décanté dans l'essencier. Du fait de leur différence de densité, les HE et l'eau sont séparées en deux phases : phase liquide et phase organique, et les HE sont ensuite récupérées (Mnayer, 2014).

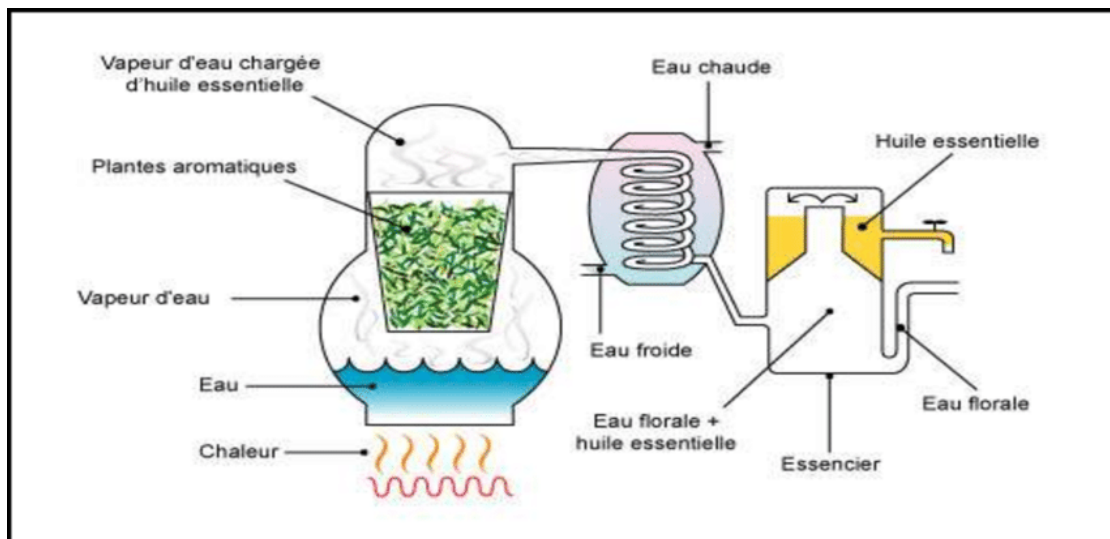


Figure 06 : la méthode d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau

5.4. Extraction par hydrodiffusion

C'est une variante de l'entraînement à la vapeur. Elle consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale du haut vers le bas, en utilisant la pesanteur comme force de déplacement de la vapeur (Bouhaddouda, 2015). L'hydro diffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur (Fadi, 2011).

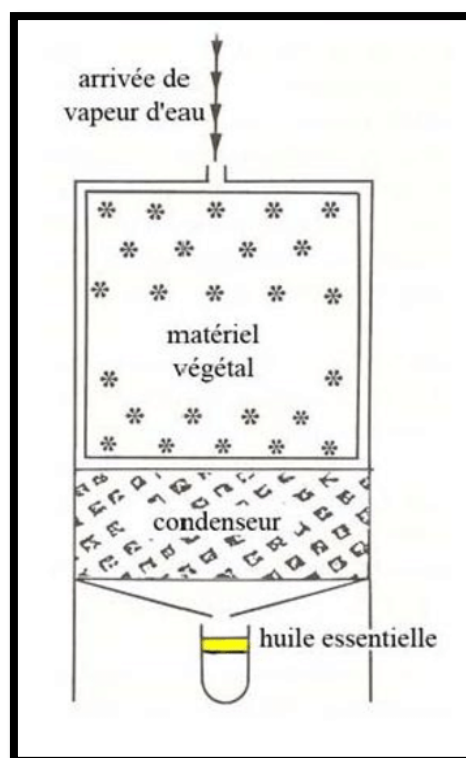


Figure 07 : Montage d'hydro diffusion (Yaacoub et Tlidjane, 2018)

Partie 02

Partie expérimentale



Matériel et méthode

1. Objectif de travail

- Extraction d'huile essentielle de deux plantes qui sont la menthe et le romarin par l'utilisation de méthodes d'extraction par l'hydrodistillation.
- Recherche de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L* et *mentha spicata* sur certains bactéries et champignons de références : *Escherichia coli ATCC 2T922*, *Staphylococcus aureus ATCC 43300*, *Pseudomonasa aeruginosa ATCC 27853*, *Citrobactère freundii ATCC 13316*, *Candida albicans ATCC10231*.

2. Lieu et période de travail

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de biochimie 1 et celui de microbiologie 1 à la faculté des Science de Nature et de la vie de l'Université de Mostaganem, il a porté sur l'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des feuilles de Romarin et la menthe (*Rosmarinus officinalis L*, *mentha spicata*) sur les souches étudiées.

Ce travail est pendant une période de temps s'étendant d'avril à mai 2024.

3. Matériel végétale

Le matériel végétal qui a servi pour ce travail était constitué de deux plantes (*Rosmarinus officinalis* et *Mentha spicata*). La récolte de Romarin était effectuée dans le site de l'Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, pendant le mois de mars 2024. La menthe utilisée a été achetées chez le marché couvert Mostaganem centre-ville.

Avant l'utilisation, les deux plantes ont été séchées à l'air libre à l'ombre et à température ambiante pendant une période de 20 jours.



Figure 08: la menthe utilisée avant et après le séchage (photo originale).



Figure 09: le romarin utilisé avant et après le séchage (photo originale).

4. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des HES a été réalisée au laboratoire de biochimie 1 du département des sciences de la nature et de la vie à l'université de « ITA » Université Abdel Hamid ibn Badis- Mostaganem par la méthode d'hydrodistillation.

• Principe

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple la plus anciennement utilisée (Mebarki,2010; Abdelli,2017). L'extraction de l'huile essentielle des feuilles (*Rosmarinus officinalis L et mentha spicata*) a été effectuée à l'aide d'un hydro distillateur de type Clevenger, cela consiste à introduire 1kg de matériel végétal sec

dans une cocotte de 2 litres contenant de l'eau distillée, L'ensemble est porté à l'ébullition pendant 2 heures à l'aide d'une plaque chauffante électrique. L'huile essentielle obtenue a été conservé dans un flacon en verre brune dans le Réfrigérateur.

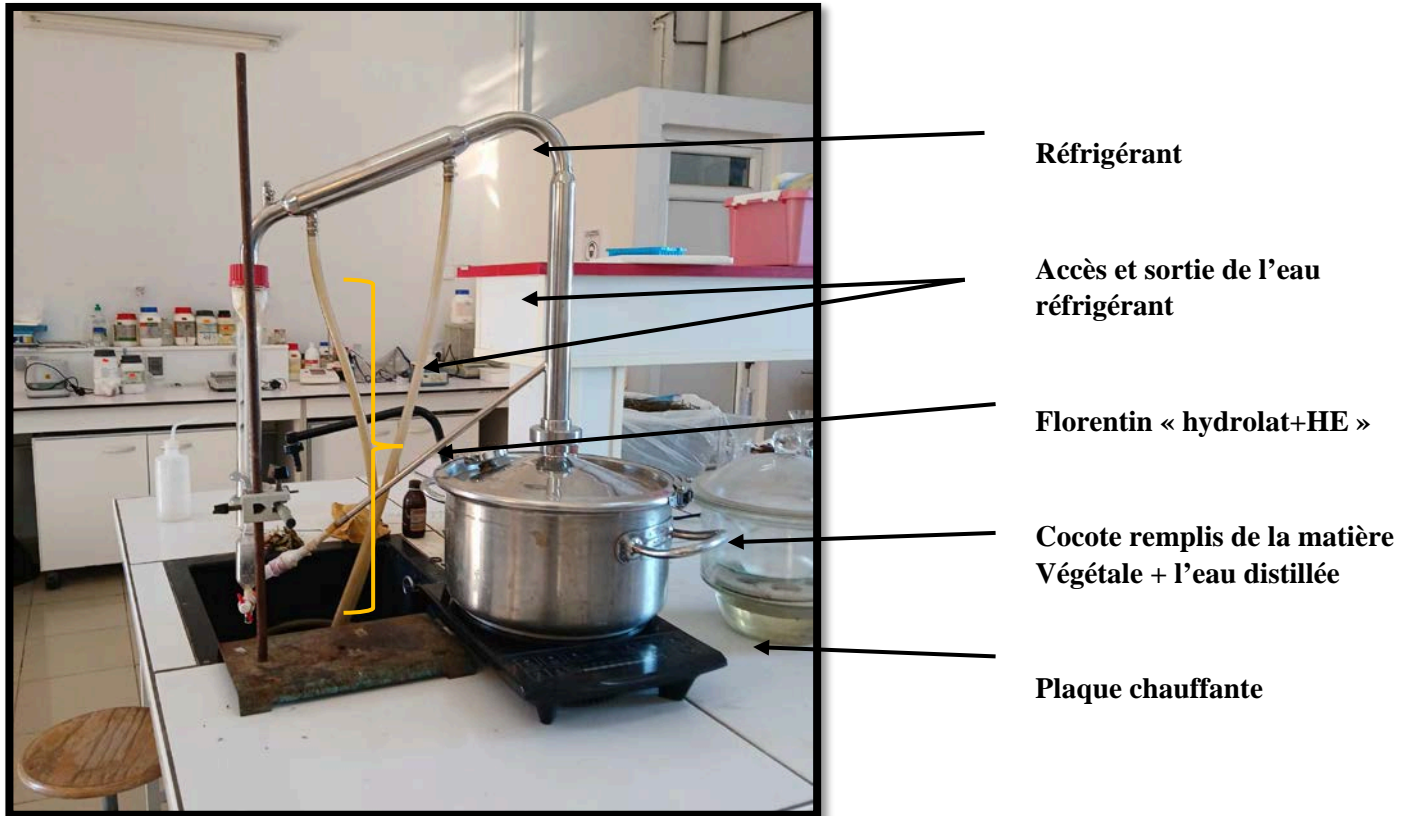


Figure 10 : Hydrodistillateur de type Clevenger (figure originale)

- Plant d'extraction :

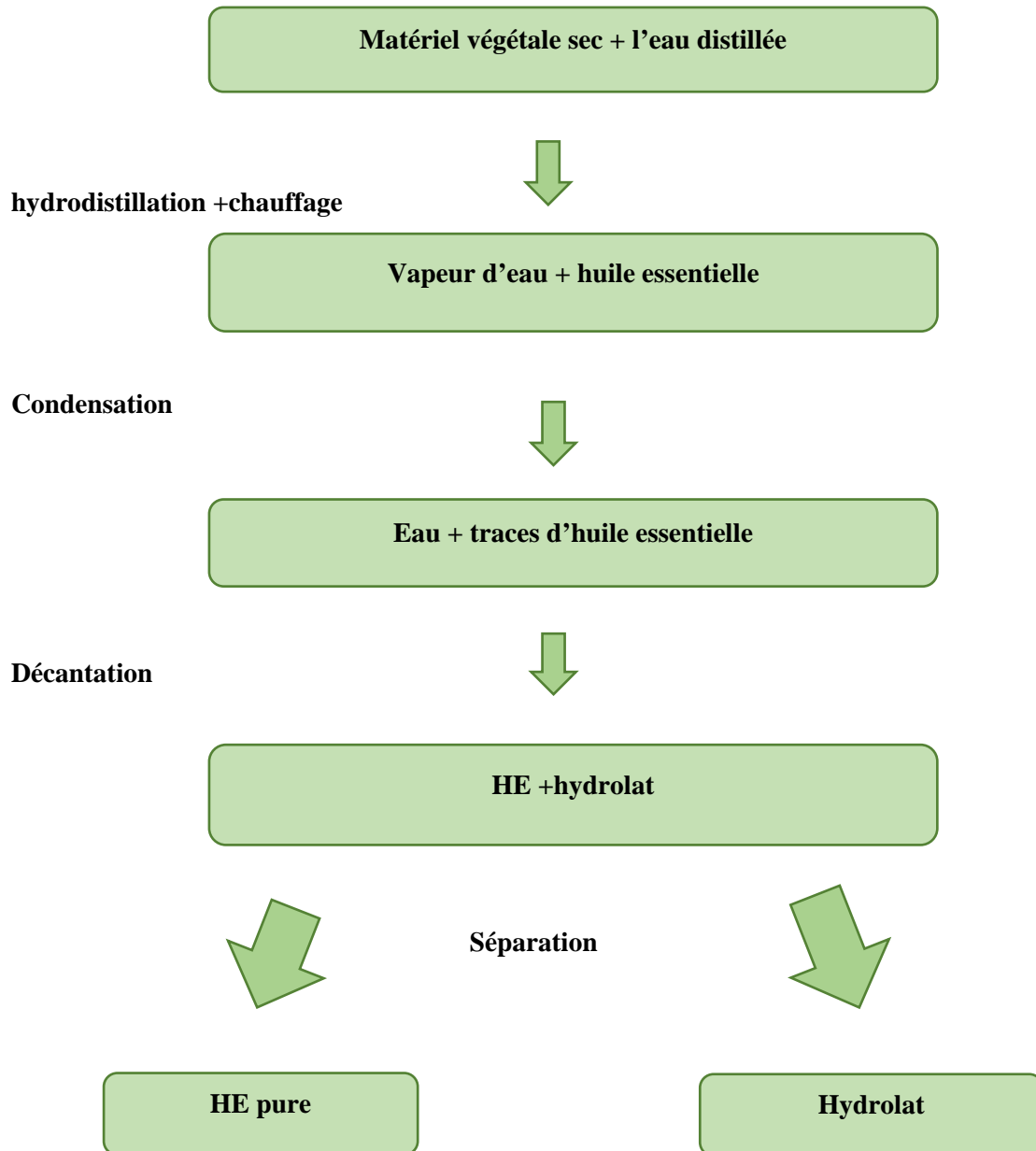


Figure 11 : Les étapes d'extraction d'huile essentielle

5. Détermination du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter {sèche}, Le rendement est exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

$$\text{RHE}\% = (\text{MHE}/\text{Ms}) \cdot 100$$

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).

6. Matériel et produits de laboratoire

Tableau 03: Matériel et produits de laboratoire

Verreries et appareillages	Milieus de culture	Solvants utilisés
Autoclave Bain marie Etuve de 37°C Bac bunzen Réfrigérateur Tubes à essai Micropipettes Anse à platine Boites de pétri Béchers Erlenmeyer Papier filtre Flacon Coton-tige stérile	Gélose nutritif Bouillon nutritif	Eau distillée Eau physiologique Ethanol DMSO Amoxicilline

7. Test microbiologiques

L'activité antimicrobienne a été évaluée dans notre étude par quatre souches microbiennes et deux levures, il s'agit de :

- Une seule bactérie Gram positif : *staphylococcus aureus* ATCC 43300 ;

➤ Les souches bactérienne Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 2T922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Citrobacter freundii* ATCC 13316;

➤ Les levures : *Candida albicans* ATCC 10231;

Ces micro-organismes de référence sont fournis par le laboratoire de microbiologie appliquée de l'université de Mostaganem et appartenant à l'Américain type culture collection (ATCC).

7.1. Souches bactériennes utilisé

- ***Escherichia coli* ATCC 2T922**

Escherichia coli est un bacille a Gram négatif (**Patrick et al., 1988**), de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm (**Steven et al., 2004**).

Les bactéries appartenant à l'espèce *E. coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux.

Règne : Bactérie

Ordre : Enterobacteriales

Famille : Enterobacteriaceae

Genre : *Escherichia*

Espèce : *Escherichia coli* (**Sabri, 2008**).

- ***Staphylococcus aureus* ATCC 43300**

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des Cocci a Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 µm. Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Elles sont immobiles, asporules, habituellement sans capsule, coagulasse et catalase positive. De nombreuses souches de *S. aureus* produisent un pigment jaune dore (**Patrick et al., 1988**).

Règne : Bacteria

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : Staphylococcaceae

Genre : Staphylococcus

Espèce : *Staphylococcus aureus* (Yves et Michel, 2009)

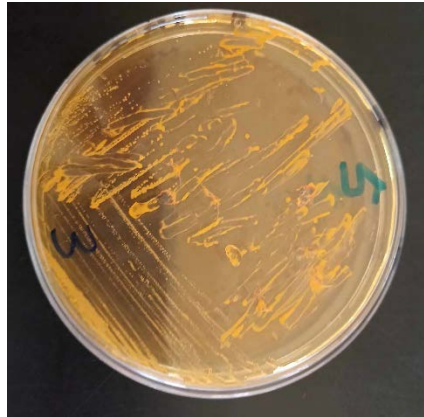


Figure12 : la bactérie *Staphylococcus aureus* ATCC 43300

- ***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

Les espèces *P. aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, de 1.5 à 3 μm de long et 0.5 à 0.8 μm de large, non sporulés, généralement mobiles grâce à une ou plusieurs flagelles polaires. *P. aeruginosa* est une espèce aérobie à métabolisme strictement respiratoire et chimio-organotrophes (Palleroni, 2008).

Règne: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Classe: Gamma proteobacteria

Ordre : Pseudomonadales

Famille : Pseudomonadaceae

Genre : Pseudomonas

Espèce : aeruginosa

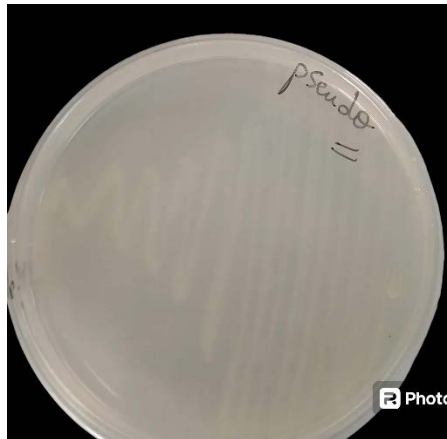


Figure13 : la bactérie de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (photo originale)

- ***Citrobacter freundii* ATCC 13316**

Citrobacter freundii est une espèce de bactérie facultativement anaérobie, à Gram négatif, en forme de bâtonnet, affectée au phylum Protéobactéries. Cette espèce est mobile par des flagelles péritriches, oxydase négative, catalase positive, se développe dans le milieu KCN et fermente avec succès le saccharose, le raffinose et mélibiose. *Ci. freundii* se trouve le plus souvent dans l'eau, les eaux usées, le sol et les aliments et est un pathogène opportuniste chez les nouveau-nés et les patients immunodéprimés. (National Cancer Institute, 2020)

Règne : Bacteria

Sous-règne : Negibacteria

Embranchement : proteobacteria

Classe : Gammaproteobacteria

Ordre : Enterobacterales

Famille : Enterobacteriaceae

Genre : Citrobacter

7.2. Les champignons utilisés

- ***Candida albicans* ATCC 10231**

Candida albicans est une levure non capsulée, non pigmentée et aérobie. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes (Chu et al., 1993).

Au niveau morphologique, cette levure peut mesurer de 3 à 15 µm, et est caractérisée par un polymorphisme que l'on peut trouver in vitro et in vivo et qui lui permet de se soustraire aux défenses liées à l'immunité cellulaire (Buffoet et al. 1984).

Règne : champignon

Classe : Blastomycete

Ordre : moniliales

Famille : moniliaceae

Genre : candida

Espèce : *candida albicans*



Figure 14 : *Candida albicans* ATCC 10231 (photo originale)

8. Vérification de la pureté des souches

8.1. Aspects macroscopique

Ce test est basé sur l'observation visuelle de la culture des isolats sur milieu gélosé ou liquide.

Sur un milieu gélosé, il permet de caractériser la taille, la forme et la couleur des colonies (**Badis *et al*, 2005**). La présence d'un aspect trouble est indiquée dans le milieu liquide.

L'étude macroscopique nous a permis de noter le diamètre, la pigmentation et l'aspect des colonies. (**Hassaine., 2013**).

8.2. Aspects microscopique

L'aspect microscopique est indispensable, il permet d'orienter le diagnostic de manière significatif (**sami., 2012**).

8.3. Coloration de gram

La coloration de Gram est la coloration de base de la bactériologie. C'est une coloration double qui permet de différencier les bactéries non seulement d'après leur forme et leur disposition, mais surtout d'après leur affinité pour les colorants liés à la structure de la paroi (**Lezzar et Abdelmalek, 2016**).

9. Evaluation de l'activité antimicrobienne

9.1. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques, préalablement sélectionnées et reconnus (**Bachiri *et al*. 2016**).

L'aromatogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode de disque est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis d'une substance antimicrobienne. Cette méthode repose sur le pouvoir d'inhibition des HEs à l'intérieur d'une boîte de pétri, dans un milieu nutritif solide (Mueller Hinton).

- **Mode opératoire :**

❖ Préparation de milieu :

Pour le bouillon nutritif nous avons mélangé 250 ml de l'eau distillée avec 2g de Nutrient broth, Ensuite, nous les remplissons dans des tubes 5 ml au chaque tube et les mettons à stériliser (l'autoclave) ;

Pour la gélose nutritive on à mélangé 1l de l'eau distillés avec 8g de Nutrient broth et 20g d'Agar agar, Ensuite, nous les remplissons dans des flacons et les mettons à stériliser (l'autoclave). Après l'autoclave on à versé 20 ml de la GN dans les boites et laisser le support se solidifier.

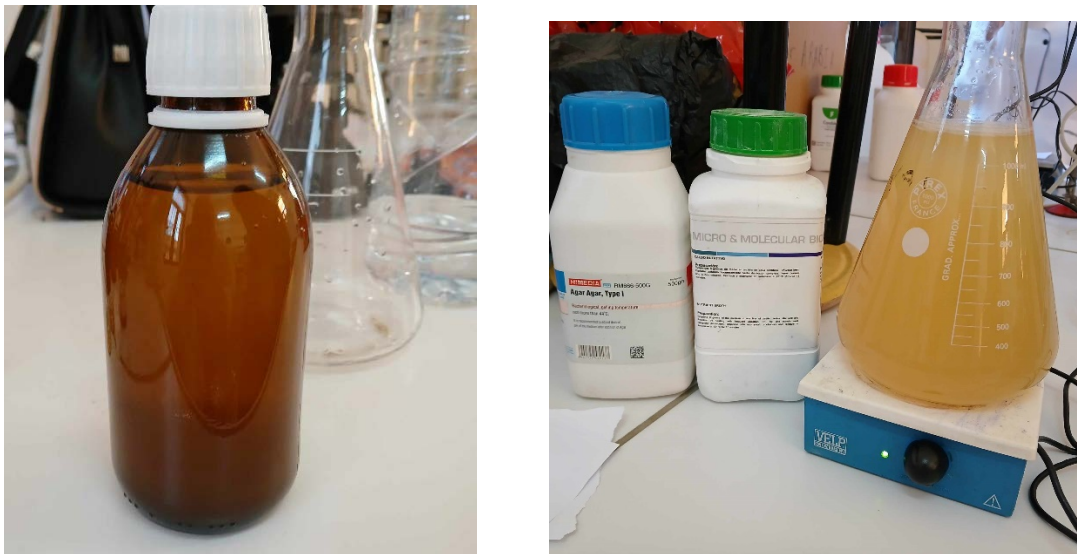


Figure 15 : la préparation de la gélose nutritive

❖ L'antibiotique testé

Nous avons utilisé L'antibiotique Amoxypen 1g injections (amoxicilline) comme témoin.

❖ Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure des bactéries *Escherichia coli* (ATCC 2T922), *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Citrobacter freundii* ATCC 13316, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et de levures *Candida albicans* ATCC 10231, à tester sur milieu d'isolement (de 18h à 24h au maximum), prélevez à l'aide

d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur scellée, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Mettre le prélèvement dans un tube contenant l'eau physiologique stérile. Bien homogénéiser la suspension bactérienne.

L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de la suspension.

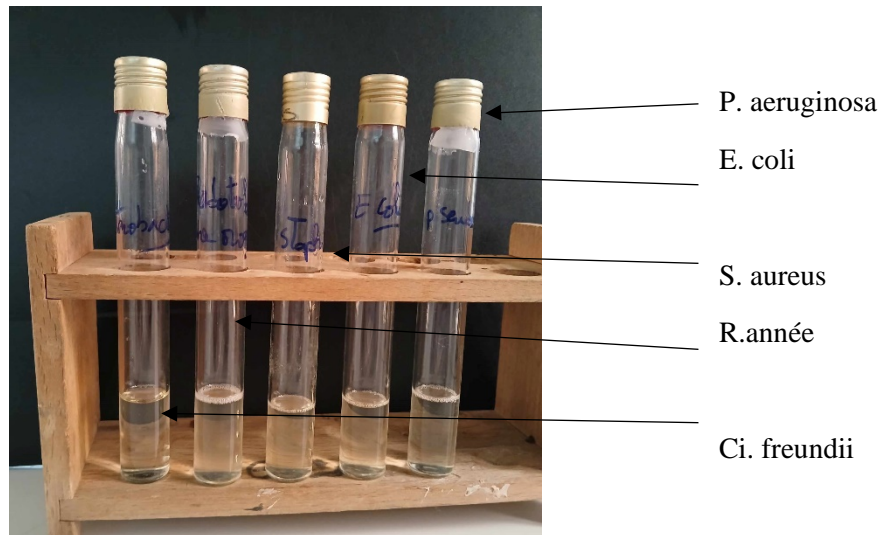


Figure 16 : les suspensions bactériennes

❖ **Ensemencement des boîtes**

- Tremper un Coton-tige stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la Gélose.
- Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri il faut recharger l'écouvillon chaque fois.

- Le plan d'ensemencement des boites

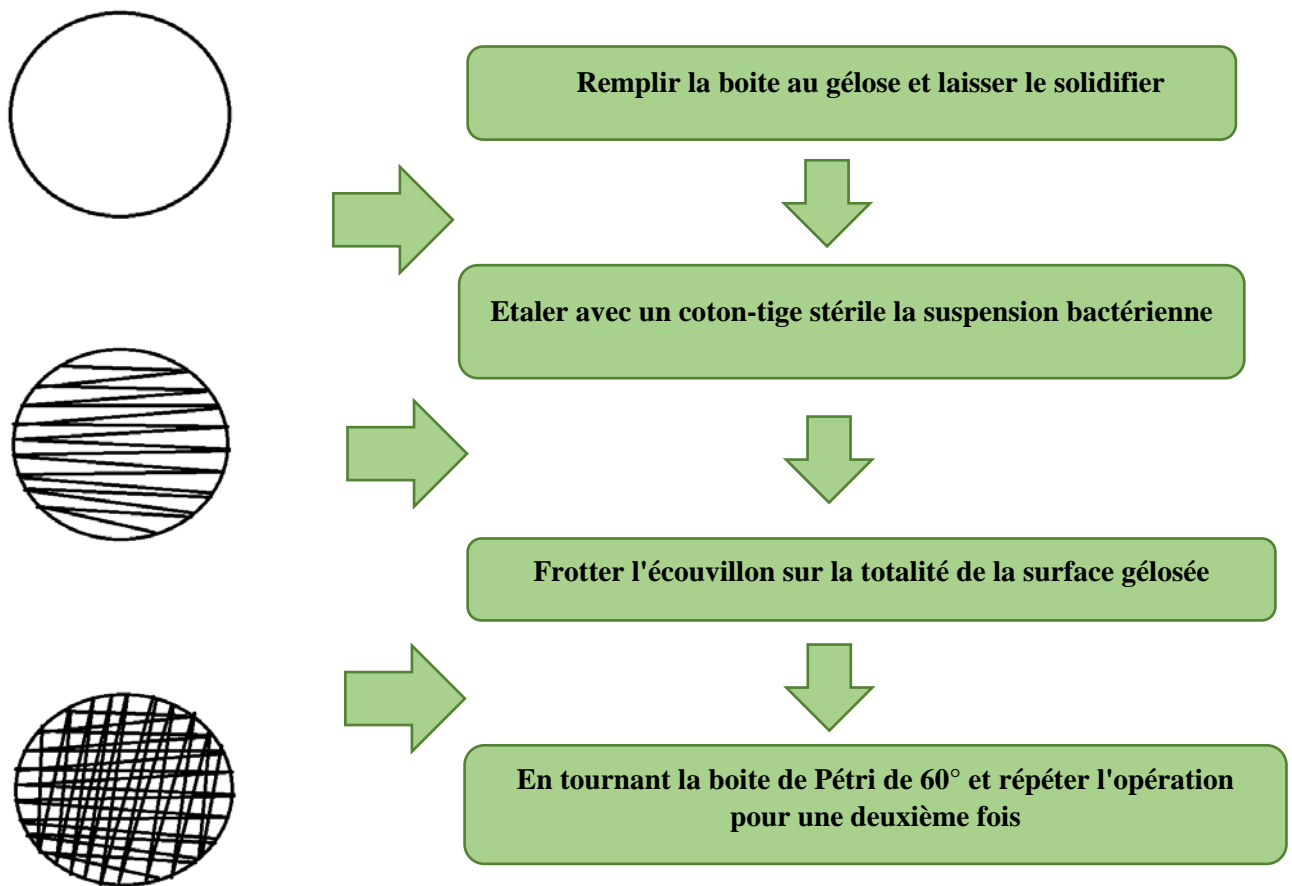


Figure 17 : La méthode d'ensemencement des boites

- ❖ **Application des disques**

Les disques stériles de 6 mm de diamètre sont prélevés à l'aide d'une pince stérilisée, puis imprégné avec l'huile essentielle. Les disques sont déposés sur la surface de la gélose inoculée.

Les antibiogrammes sont réalisés en parallèle avec l'aromatogramme. Chaque essai est répété trois fois.

- ❖ **Incubation :**

Les boites sont laissées pendant 15 min à une température ambiante pour permette la diffusion des HEs et l'antibiotique.

Incubées les boites pendant 24h puis pendant 48h à 37°C

❖ La lecture

L'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour des disques contenant l'HEs à tester.

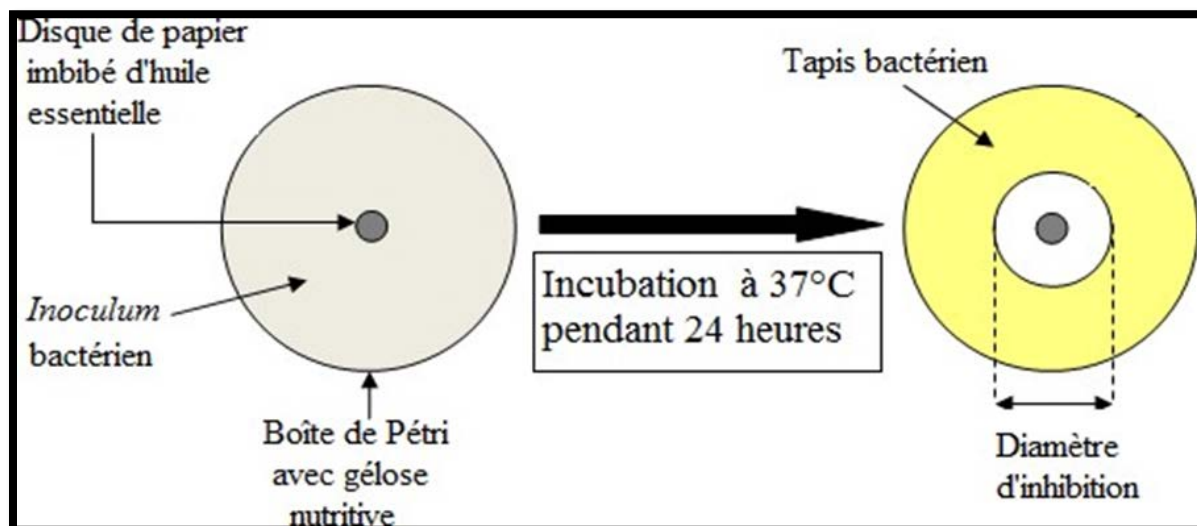


Figure 18 : Principe de la méthode de diffusion par disque.

Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibition indique comme ci-dessous et peut être symbolisés par plus (+) ou moins (-) selon (DURAFOUR *et al.*, 1990 ; PONCE *et al.*, 2003).

- ✓ $D < 8\text{mm}$: Souches résistante (-).
- ✓ $9\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$: Souches sensible (+).
- ✓ $15\text{mm} \leq D \leq 19\text{mm}$: Souches très sensible (++).
- ✓ $D > 20\text{mm}$: Souches extrêmes sensible (+++)

Mesurer le diamètre de zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

9.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La CMI ou concentration minimale inhibitrice est la concentration la plus petite d'HE qui empêche les bactéries de se multiplier. C'est le paramètre le plus utilisé pour mesurer *in vitro* l'activité d'un antibiotique (Fauchère et Avril, 2002).

La détermination de la CMI est réalisée par la technique de micro-dilution en milieu liquide, en utilisant une microplaque stérile de 96 puits (8×12 puits). Une

gamme de concentration allant de 15 μl HE/200 μl à 0.05 μl / 200 μl a été préparée par la méthode de double dilution.

Pour obtenir une solution mère (SM) on a mélangé 4ml de diméthylsulfoxyde (DMSO) avec 4ml d'HE.

Déposer 200 μl du SM dans le puits numéro 1. Ensuite déposer 100 μl de SM dans les puits de 2 à 10.

Prend 100 μl de bouillon nutritif et ajouter dans les puits de 1 à 10 et fait une série de dilution à partir de la solution mère du puits 1, par le transfert de 100 μl de puits en puits jusqu'au puits 10 enfin le 100 μl du dernier puits est éliminer.

Enfin, déposer 100 μl de la souche bactérienne ou levure utilisé et mélanger bien.

Le 11ème puit de la plaque contient uniquement le bouillon nutritif (100 μl) sert de témoin négatif.

Le 12ème puit de la plaque contient 100 μl de la souche bactérienne ou levure utilisé et 100 μl DMSO sert de témoin positif.

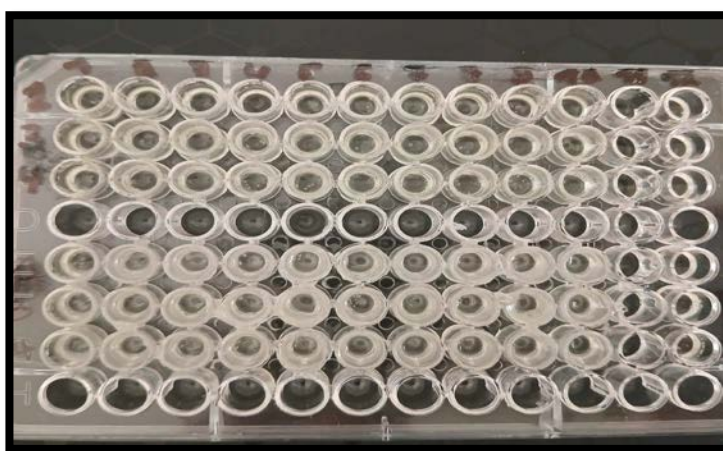


Figure 19: Méthode de détermination de la CMI par une microplaque (figure originale).

Prend l'alcool et étaler le papier aluminium et Couvrir la microplaque et incubée à 37 °C pendant 24h. La lecture est effectuée à l'œil nu et la CMI est la plus faible concentration de l'huile à laquelle aucun trouble n'est observé (Eloff, 1998 ; EUCAST, 2003).

- **Le plan de la méthode**

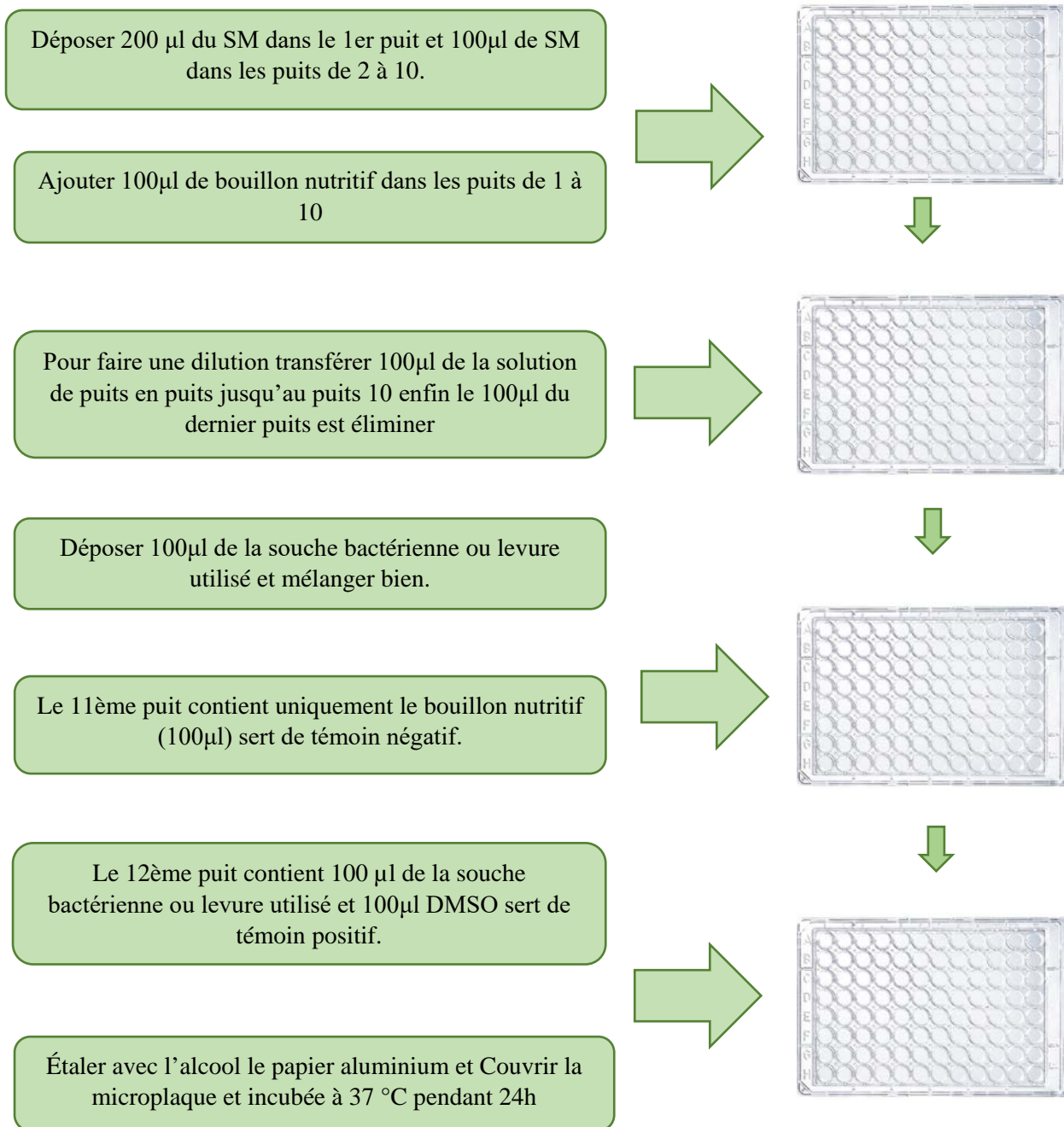


Figure 20 : La méthode de détermination de la CMI par une microplaque

Résultats et discussions

1. Rendement de l'extraction

Le rendement moyen en huiles essentielles de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* L et *Mentha spicata*, extraite par entraînement à la vapeur d'eau, calculé en fonction de la masse du matériel végétal traité est de l'ordre de 1.71% pour le romarin et 1.18% pour la menthe. Les résultats obtenus sont mentionnés sur le tableau ci-dessous :

Tableau 04 : Le rendement d'huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L et *Mentha spicata*.

Huile	Quantité de la matière végétale sèche (g)	Quantité de l'huile (g)	Rendement %
Romarin	649	7.2	1,11
	500	3	0.6
Menthe	695.3	3.6	0.52
	441	2.9	0.66

Le tableau montre que, bien que des quantités similaires de Romarin et de Menthe aient été utilisées pour l'extraction, le romarin produit non seulement une plus grande quantité d'huile essentielle, mais il a également un meilleur rendement en pourcentage. Cela peut indiquer que le Romarin est une plante plus efficace pour l'extraction d'huile essentielle en termes de rendement par unité de poids.



Figure 21 : l'huile essentielle de Menthe et Romarin (photo originale)

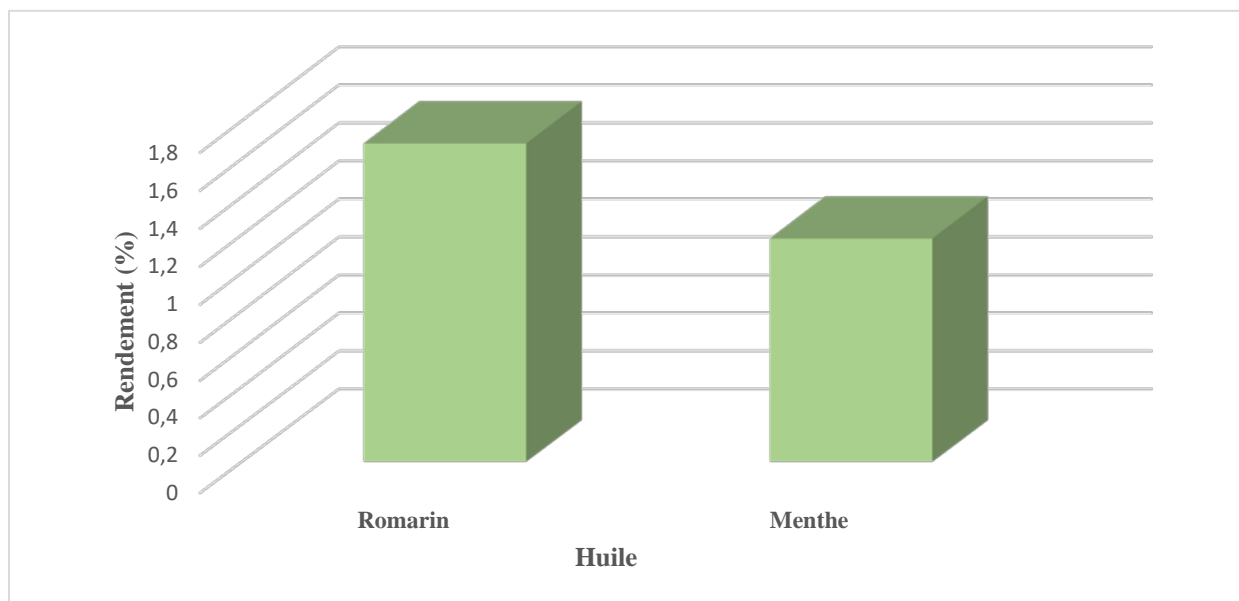


Figure 22 : Représentation graphique des rendements des HEs

Les rendements en huile essentielle obtenus dans cette étude pour le Romarin et la Menthe sont comparables à ceux rapportés dans des travaux antérieurs. Bettahar Chahrazad et Chekalil Salima (2020) ont observé des rendements d'extraction d'huile essentielle de Romarin par hydrodistillation de 1,88% pour la région de Khemis Meliana et de 1,14% pour celle de Djelida. Ces valeurs sont proches du rendement de 1,11% obtenu dans cette étude à partir de 649 g de matière végétale de Romarin. Ce rendement supérieur suggère soit une optimisation des conditions d'extraction, soit une qualité améliorée de la matière première utilisée.

En ce qui concerne la Menthe, nos résultats sont comparables à ceux de Bougheddou et Bihi (2020), qui ont atteint un rendement de 0,88% en utilisant des conditions d'extraction similaires. Dans notre étude, la Menthe a produit des rendements de 0,52% et 0,66%, alignés avec les valeurs rapportées par ces chercheurs, bien que légèrement inférieurs.

Ces variations de rendement peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, tels que les différences dans les conditions de culture, la composition chimique des plantes, ou les techniques d'extraction utilisées. En particulier, le rendement de 1,11% pour le Romarin suggère une extraction particulièrement efficace, potentiellement due à une meilleure optimisation des paramètres d'extraction ou à la qualité supérieure de la matière végétale utilisée.

2. Résultats de l'activité antimicrobienne de menthe et romarin

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antimicrobien des HE vis-à-vis des microorganismes. La sensibilité des souches se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques, les zones d'inhibition obtenues sont mesurées à deux fois après l'incubation de 24h et après 48h. Les résultats de l'aromatogramme de l'HE sont regroupés dans les tableaux suivant

Tableau 05: Les diamètres des zones d'inhibition après 24 h:

Echantillons	Antibiotique	Huile de menthe	Huile de romarin
<i>Escherichia coli</i> ATCC 2T922	30 mm	11 mm	0 mm
	30 mm	11 mm	9 mm
	35 mm	11 mm	9 mm
<i>Pseudomonasa</i> <i>aeruginosa</i> ATCC 27853	18 mm	9 mm	9 mm
	20 mm	0 mm	0 mm
	17 mm	0 mm	0 mm
<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> ATCC 43300	48 mm	20 mm	11 mm
	49 mm	14 mm	9 mm
	56 mm	20 mm	24 mm
<i>Citrobactère</i> <i>freundii</i> ATCC 13316	14 mm	10 mm	9 mm
	14 mm	0 mm	6 mm
	27 mm	8 mm	11 mm
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	0 mm	0 mm	0 mm
	0 mm	0 mm	0 mm
	0 mm	0 mm	0 mm

2.1. Les zones d'inhibition après 24h

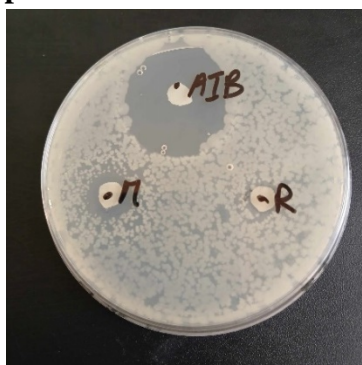


Figure 23 : test de l'activité antimicrobienne des HEs de *Rosmarinus officinalis L* et *mentha spicata* sur *Escherichia coli* ATCC 2T922.



Figure 24 :test de l'activité antimicrobienne des HEs de *Rosmarinus officinalis L* et *mentha spicata* sur *Pseudomonasa aeruginosa* ATCC 27853.

Tableau 06 : la sensibilité des souches bactérienne

	Huile de Menthe	Huile de Romarin
Microorganismes	Diamètre d'inhibition (mm)	Diamètre d'inhibition (mm)
<i>E. coli</i>	Sensible (+)	Résistant à sensible (- à +)
<i>P. aeruginosa</i>	Résistant à sensible (- à +)	Résistant à sensible (- à +)
<i>S. aureus</i>	Sensible à extrêmement sensible (+ à +++)	Sensible à extrêmement sensible (+ à +++)
<i>Ci. freundii</i>	Résistant à sensible (- à +)	Résistant à sensible (- à +)
<i>C. albicans</i>	Résistant à sensible (- à +)	Résistant à sensible (- à +)

2.2. Les résultats des tableaux

Les résultats montrent que les huiles essentielles de Menthe et de Romarin ont des activités antimicrobiennes variées. La Menthe est efficace contre *E. coli* (sensible +) et *S. aureus* (extrêmement sensible +++), ce qui correspond aux observations de **Burt (2004) et Hammer et al. (1999)**. Le Romarin, bien que moins efficace contre *E. coli*, montre également une forte activité contre *S. aureus*. Pour *P. aeruginosa*, *C. freundii*, et *C. albicans*, les deux huiles présentent une efficacité variable (résistant à sensible - à +), alignant avec les études de **Sharifi-Rad et al. (2017) et Kalemba et Kunicka (2003)** qui ont noté une résistance de ces microorganismes aux huiles essentielles. Ces différences soulignent l'importance de la composition chimique et des spécificités microbiennes dans l'efficacité des huiles essentielles.

3. La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) est cruciale pour évaluer l'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles de Menthe et de Romarin contre divers microorganismes. Les résultats obtenus pour ces huiles essentielles montrent des CMI variables selon les espèces microbiennes, ce qui met en lumière leur potentiel en tant qu'agents antimicrobiens naturels. (Kablan, 2008).

Dans cette étude, nous avons évalué l'activité antibactérienne des huiles essentielles de menthe et de romarin à l'aide de la méthode de dilution en série en milieu bouillon. Pour ce faire, nous avons préparé des dilutions d'huiles essentielles dans du DMSO et les avons incorporées dans de la gélose nutritive. Des souches bactériennes Gram-positives et Gram-négatives ont ensuite été ensemencées sur les plaques ainsi préparées. Après incubation, les plaques ont été observées à l'œil nu pour détecter la présence de zones de trouble autour des puits contenant les huiles essentielles. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 07 : concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'huile essentielle de romarin

Puits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Souches bactériennes</i>										
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ci. freundii</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Les concertations en (mg/ml)	100	10	5	2,5	1,25	0,625	0,3125	0,15625	0,078125	0,03906

Tableau 08 : concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'huile essentielle de la menthe

Puits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Souches bactériennes</i>										
<i>E.coli</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ci. freundii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Les concertations en (mg/ml)	100	10	5	2,5	1,25	0,625	0,3125	0,15625	0,078125	0,03906



Figure 25 : La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle de menthe et romarin

Les résultats montrent une variabilité dans la sensibilité des souches bactériennes *E. coli*, *S. aureus*, et *Ci. freundii* aux huiles essentielles en fonction des concentrations testées (0,03906 à 100 mg/ml). *E. coli* reste résistant jusqu'à 2,5 mg/ml, mais devient sensible à partir de 1,25 mg/ml (puits 5 à 10), ce qui correspond aux travaux de **Burt (2004)** indiquant que les Gram-négatifs nécessitent souvent des concentrations plus diluées pour une inhibition efficace. *S. aureus* est sensible à toutes les concentrations (puits 1 à 10), confirmant son haut degré de susceptibilité comme observé par **Hammer et al. (1999)** pour les Gram-positifs. *Ci. freundii* montre une résistance jusqu'à 2,5 mg/ml mais devient sensible à des concentrations inférieures, alignant avec les conclusions de **Kalemba et Kunicka (2003)** sur la résistance intermédiaire des Gram-négatifs aux huiles essentielles. Ces résultats soutiennent les observations antérieures selon lesquelles la composition chimique des huiles essentielles et la structure de la membrane bactérienne jouent un rôle crucial dans l'efficacité antimicrobienne.

Les résultats montrent une réponse variable des souches bactériennes *E. coli*, *S. aureus*, et *Ci. freundii* aux huiles essentielles à différentes concentrations (0,03906 à 100 mg/ml). *E. coli* est résistant à 100 mg/ml mais devient sensible dès 10 mg/ml (puits 2 à 10), ce qui est cohérent avec les travaux de **Burt (2004)** qui ont documenté que les huiles essentielles peuvent être efficaces contre les Gram-négatifs à des concentrations appropriées. *S. aureus* et *Ci. freundii* montrent une sensibilité complète à toutes les concentrations testées, ce qui est aligné avec les études de **Hammer et al. (1999)** et **Kalemba et Kunicka (2003)** qui ont noté que les Gram-positifs comme *S. aureus*, ainsi que certaines bactéries Gram-négatives, peuvent être très sensibles aux huiles essentielles. Cette sensibilité élevée de *S. aureus* est également corroborée par les résultats de **Soković et al. (2010)**, qui ont démontré que les huiles essentielles perturbent efficacement la membrane cellulaire des bactéries Gram-positives. Ces observations confirment que la composition chimique des huiles et la nature de la membrane bactérienne influencent significativement l'efficacité antimicrobienne.

Ces résultats suggèrent que les huiles de menthe et de romarin ont le potentiel d'être utilisées comme des alternatives naturelles aux antibiotiques et aux agents antifongiques conventionnels. En effet, les résultats de l'étude sur les activités antibactériennes des huiles de menthe et de romarin sont conformes à des recherches antérieures soulignant le potentiel

thérapeutique de ces produits naturels. Les résultats de l'enquête sur l'activité antibactérienne des huiles de menthe et de romarin renforcent encore l'importance d'explorer des alternatives naturelles aux antibiotiques conventionnels.

Conclusion

Conclusion

Le présent travail avait pour objectif d'une étude comparative d'activité microbienne d'huiles essentielle de *Rosmarinus officinalis* L (romarin) et *Mentha spicata* (menthe). L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par entraînement à la vapeur d'eau a montré des rendements moyens de 1,71% et 1,18%, respectivement. Ces résultats soulignent une efficacité supérieure du romarin par rapport à la menthe. Le rendement le plus élevé observé pour le romarin est de 1,11%, obtenu à partir de 649 g de matière végétale, démontrant une possible optimisation des conditions d'extraction ou une meilleure qualité de la matière première utilisée.

Comparativement, des études précédentes telles que celles de Bettahar chahrazad et Chehalis Salim (2020) ont montré des rendements de 1,88% pour le romarin de la région de Thémis Miliana et de 1,14% pour DJ élida, tandis que Bougheddou et Bihi (2020) ont rapporté un rendement de 0,88% pour la menthe. Ces comparaisons confirment que les résultats obtenus dans cette étude sont cohérents avec les rendements rapportés dans la littérature.

Les tests d'activité antimicrobienne ont révélé que les antibiotiques étaient généralement plus efficaces que les huiles essentielles contre toutes les souches testées, avec des zones d'inhibition plus larges. Cependant, l'huile de menthe a montré une bonne efficacité contre *Staphylococcus aureus* et une efficacité modérée contre *Escherichia coli*. Elle était moins efficace contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, et *Candida albicans*, bien qu'une activité significative ait été observée contre *Candida albicans* après 48 heures.

L'huile de romarin a montré une efficacité modérée à faible contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Citrobacter freundii*. Son efficacité contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* était variable et généralement faible.

La détermination des CMI a révélé que l'huile essentielle de romarin présentait une meilleure activité inhibitrice contre *E. coli* sur la concentration de 2.5 mg et *Ci. freundii* à 5 mg par rapport à l'huile de menthe. L'huile de menthe a montré une faible activité inhibitrice contre *E. coli* d'une concentration égale à 100 mg et aucune inhibition contre *S. aureus* et *Ci. freundii*.

S. aureus n'a montré aucun effet inhibiteur observable pour les deux huiles essentielles, suggérant que cette bactérie est résistante aux concentrations testées des deux huiles.

Conclusion

Cette étude démontre que l'huile essentielle de romarin est plus efficace que l'huile essentielle de menthe contre les souches bactériennes testées, en particulier contre *E. coli* et *Ci. freundii*. Les résultats indiquent également l'importance de tester différentes huiles essentielles pour déterminer leur efficacité spécifique contre diverses souches bactériennes. En termes de rendement d'extraction, le romarin s'est révélé être une source plus productive d'huile essentielle que la menthe, corroborant les données précédentes de la littérature scientifique.

Ces observations peuvent orienter les futures recherches et applications industrielles des huiles essentielles de romarin et de menthe, en particulier dans le domaine de la lutte antimicrobienne et des produits naturels thérapeutiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abdelli W., (2017).Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat 3^{ème} cycle LMD : Microbiologie Appliquée : Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, 104p.

Abdelmalek A, Lezzar A. Les bactéries du groupe *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* responsables des bactériémies au CHU de Constantine et leurs profils de résistances aux antibiotiques. Mémoire de Master. Écologie Microbienne. Constantine: Université des Frères Mentouri Constantine, (2016), 56p.

Adda, Nadjat, Maroua Bouguessa, and Nesrine Chachoua. Evaluation de l'Activité Antibactérienne de Quelques Huiles Essentielles vis-à-vis de Quelques Souches Pathogènes. Diss. Université Ibn Khaldoun-Tiaret-, (2022).

Adjimi N, (2014) ; Mémoire master Académique ; Université – Ziane Achour – Djelfa; Etude physico-chimique de L'huile extraite du *Romarinus officinalis*.L .

ARAR Dhikra, A. R. A. R., and S. E. B. I. A. A. Dhikra. *Dangers d'utilisation des huiles essentielles: le romarin comme exemple*. Diss. Université laarbi tebessi tebessa, (2021).

Aruoma, O. I., Spencer, J. P. E., Rossi, R., Aeschbach, R., Khan, A., Mahmood, N., ... Halliwell, B. (1996). An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and Provençal herbs. *Food and Chemical Toxicology*, 34(5), 449-456.

Asma, B. O. U. M. E. L. I. T. Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles du girofle (*Syzygium aromaticum*) et du romarin (*Rosmarinus officinalis*). Diss. university center of abdalhafid boussouf-MILA, (2023).

Assila, Chaima, and Mounira Bouguerioune. *Les plantes médicinales antidiabétiques de la famille de Lamiacées et leurs mécanismes d'action*. Diss. Université de jijel, (2022).

Avato, Pinarosa, et al. "Allylsulfide constituents of garlic volatile oil as antimicrobial agents." *Phytomedicine* 7.3 (2000): 239-243.

Aye kee L., Bakr Shori A., Baba H.A.S, (2017) , Bioactivity and health effects of *Mentha spicata*. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*, 5(1), 1-2p

Références bibliographiques

Bachiri, L., Echhegadda, G., Ibjibijen, J., Nassiri, L., (2016). Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc:«Lavandula stoechasL. et Lavandula dentata L.». European Scientific Journal, ESJ 12

Badis, A.,Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., & Ouzrout, R. (2005). CARACTERISATION PHENOTYPIQUE DES BACTERIES LACTIQUES ISOLEES A PARTIR DE LAIT CRU DE CHEVRE DEDEUX POPULATIONS CAPRINES LOCALES" ARABIA ET KABYLE". Sciences & Technologie. C, Biotechnologies, 30-37

Balentine, C. W., Crandall, P. G., O'bryan, C. A., Duong, D. Q., Pohlman, F. W. (2006). The pre-and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. Meat Science, 73(3), 413-421.

BELAIDI Nour El Koulob, Wiam, Lydia Djihan Hanifa KOUIDER DJELLOUL, and Z. AMROUCHE. "Etude De L'activité Bioloique Des Huiles Essentielles De Romarin Et Menthe." (2022).

Belbey, Leila.. Activité Antioxydante De Rosmarinus Officinalis L., Et Son In Vitro Effet Sur Penicillium Digitatum. 2013. Université Mohamed Boudiaf - M'sila, Mémoire de Master.

Beloued A,(2001), Plantes médicinales d'Algérie.Ed. OPU, Ben Aknoun, Alger, 277p

Benayad N.,(2008). Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V – Agdal. Rabat, 63p

Benbott, M et Bouali, Y(2018). Etude des activités biologiques de Rosmarinusofficinalis. L des régions ourgla et Ain M'Lila. Mémoire de master : Biotechnologie végétale. Faculté des sciences exacte et science de Nature et de la vie : Université L'ARBI BEN MHIDI-Oum ELboughi, Page 9.

Benmessaoud, Amel, and Fatima Zohra Chabane Chaouch. Activité antibactérienne des huiles essentielles de Thymus fontanessi, de Mentha spicata et de Mentha pulegium sur deux souches de Pseudomonas. Application sur la soupe de poisson. Diss. Université Mouloud Mammeri,(2015).

Références bibliographiques

Bettahar C et Chekalil S, (2020). Etude biologique de huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* de la wilaya de Ain defla .Mémoire de Master: Microbiologie appliquée. Khemis Miliana : Université Djillali Bounaâma -p35

Bettahar Chahrazad, Chekalil Salima. "Etude biologique de huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* de la wilaya de Ain defla." (2019).

BOUGHEDDOU, Fatima Zohra, Fatima Zohra BIHI, and Nail Nadji BOUCHOUKA. *Contribution à l'étude de l'effet inhibiteur de la germination des tubercules de pomme de terre durant le stockage par les huiles essentielles*. Diss. université ibn khaldoun-tiaret,(2020).

Bouhaddouda N,(2015). Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de Doctorat en Biochimie appliquée. Univ Badji Mokhtar -Annaba. p18-19

Boukhatem M., Ferhat A., Kameli A. (2019) Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles. *Agrobiologia*, 1653-1659.

Bouزيد J, (2018) ,Evaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysum italicum* (Roth) G.DON. Thèse de Doctorat, Université de Sétif 1, 130p

Brahimi Houaria, Merzouk Aïcha et Guenouna Hanan. (2018). Effets antimicrobiens des extraits de romarin (*Rosmarinus officinalis*) chez *Staphylococcus aureus*. Mostaganem : s.n., (2018).

Bruneton j(2009), pharmacognosie, phytochimie, plante médicinales (4 éme.ed),

Bruneton, J.(1999), Pharmacognosie. Phytochimie des plantes médicinales. 2eme édition. Technique et Documentation Lavoisier. Paris. 915 p.

Buffo, J., Herman, M. A. and Soll, D. R., A characterization of pH-regulated dimorphism in *Candida albicans*. *Mycopathologia* 1984. 85: 21-30. 7 Sudbery, P. E., The germ tubes of *Candida albicans* hyphae and pseudohyphae show different patterns of septin ring localization. *Mol Microbiol* 2001. 41: 19-31. Cité par Céline, (2007).

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.

Références bibliographiques

Chu, W. S., Magee, B. B. and Magee, P. T., Construction of an SfiI macrorestriction map of the *Candida albicans* genome. *J Bacteriol* 1993. 175: 6637-6651. Cité par Céline,(2007).

Cohen.D (2013), les huiles essentielles à l'officien : danger pour la femme enceinte et le nouveau-né, faculté pharmacie de Grenoble université Joseph Fourier.

Daniel.F (2014), Ma Bible des huiles essentielle, page15.

Dorosso Sonate J. Composition chimique des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : valorisation. Université Ouagadougou. (2002).

Douay Sébastien, (2008). L3SVB0T, Faculté libre des sciences et technologies, Systématique des Angiospermes.

Fadi Z, (2011). Le romarin, *Rosmarinus officinalis* le bon procédé d'extraction pour un effet thérapeutique optimal. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Univ Mohammed V Maroc. p 51-57.

Fauchère, J. L., & Avril, J. L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Ellipses.

Fernandez-Lopez, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Pérez-Alvarez, J. A., Kuri, V. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat science*, 69(3), 371-380.

Figueredo G,(2007) ,Etude chimique et statistique de la composition des huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse de Doctorat,Université de Clermont-Ferrand II, France, 417p

HADDOUCH Djamila, NOURINE Nadjat BELGACEM Chahira. "Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Mentha spicata* de la région de Ain Defla." (2019).

HAFOUD, Sabrina, and Amel ABED. *Composition et activités biologiques de l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis (Klil) de la région d'Adar*. Diss. 2020.

Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of applied microbiology*, 86(6), 985-990.

Références bibliographiques

Hassaine O, (2013). Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien. Thèse de doctorat en biotechnologie : l'université d'Oran-Essenia, p. 57-102

Jouault, S. (2012). La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. *Université de Lorraine, Nancy*.

Kablan BJ, AdikoM & Abrogoua DP (2008). Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoe secinata* et de *Manotes longiflora* utilisées dans les ophtalmies en Cote d'Ivoire. *Phytothérapie*. 6: 282-288.

Kalemba, D., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10(10), 813-829.

Khaldi A., Meddah B., Moussaoui A., Benmehdi H. Screening phytochimique et effet antifongique de certains extraits de plantes sur le développement in vitro des moisissures. *European Journal of Scientific Research* 80(3): 311-321.(2012).

Kothe H, (2007) ,1000 plantes aromatiques et médicinales : plantes aromatiques et médicinales de A à Z propriétés et usages. Terre édition, 335p

Laghouiter O.K., Gherib A., Laghouiter H, (2015), Etude de l'activité antioxydant des huiles essentielles de certaines menthes cultivées dans la région de Ghardaïa. *ElWahat pour les Recherches et les Etudes*, 8(1), 84-93p

Laouici, Nourelhouda, and Messaouda Encadreur Benabdelkader. *Activité antimicrobienne et composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait brut de l'espèce *Rosmarinus officinalis* L.* Diss. Université de Jijel, (2020).

Laurent J, (2017) ,Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en Officine. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse III, France, 225p

LEPLAT.M (2017). Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. Thèse de doctorat.

Lucchesi M.E., (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat, université de la Réunion, France.

Références bibliographiques

Madjour.S ,(2014) ; « Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne d'une labiée romarinus officinalis » mémoire de fin d'étude en master université Med khider Biskra.

Mebarki N., (2010).Extraction de l'huile essentielle de Thymus fontanesii et application à la formulation d'une forme médicamenteuse – antimicrobienne. [En ligne]. Magister : Génie des procédés chimiques et pharmaceutiques Boumerdes: Université M'hamed Bougara Boumerdes,137p.

Mecheri F , Akdif N.,(2017) ; « Contribution à l'étude de l'effet des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis et de Rutagraveolenssur la croissance des quelques microorganismes pathogènes » , Mémoire de l'obtention du diplôme de master ; d'Université M'hamed Bougara de Boumerdases.

Messabhia, Amira, Amina Soualmia, and Amina Guerdi. *Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis*. Diss. Université de Larbi Tebessi–Tebessa, (2022).

Mnayer N, (2014). Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse de doctorat en Chimie. Univ d'Avignon et des Pays de Vaucluse. p 13.

Naab, Dehbia, and Siham Hadibi. *Evaluation de l'activité antimicrobienne des deux huiles essentielles Zingiber officinale et Rosmarinus officinalis en combinaison avec la nisine*. Diss. Université Mouloud Mammeri, (2018).

Nassima, Boucheloukh,Kadja Takia. *Etude Botanique Et Phytochimique De La Plante Médicinale Rosmarinus Officinalis L.* (2019). Centre Universitaire Abdel Hafid Boussouf - Mila, Mémoire de Master.

Nassu, R. T., Gonçalves, L. A. G., da Silva, M. A. A. P., Beserra, F. J. (2003). Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. Meat science, 63(1), 43-49.

National Cancer Institute. (2020). *Citrobacter freundii*

NOUIRI Fatiha, TOUAHRI Hayat. "Contribution à l'étude de l'activité fongicide des huiles essentielles des lamiacées (Thymus du fraisier, Mentha spicata) sur Botrytis cinerea agent de la pourriture grise." (2019).

Références bibliographiques

NOUIRI Fatiha, TOUAHRI Hayat. "Contribution à l'étude de l'activité fongicide des huiles essentielles des lamiacées (Thymus du fraisier, Mentha spicata) sur Botrytis cinerea agent de la pourriture grise." (2019).

Ouis.N (2015), Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre de fenouil et de persil, thèse de doctorat, faculté de sciences exactes et appliquées d'Oran. P5, 11,12.

Palleroni N.J, (2008). The road to the taxonomy of Pseudomonas. In: Cornelis, Pseudomonas Genomics and Molecular biology. Caister Academic press, Belgium.p1- 18.

Patrick B., Jean L., and Michel S.,(1988) - Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1er Ed Médecine –Sciences Flammarion. Paris. pp: 100-108-274.

Quézel P. et Santa, S. (1963) ; Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales : Éditions du Centre national de la Recherche scientifique.

Rasooli, I., Fakoor, M. H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., Rezaei, M. B. (2008). Antimycotoxigenic characteristics of Rosmarinus officinalis and Trachyspermum copticum L. essential oils. International journal of food microbiology, 122 (1-2), 135-139.

Regnault-Roger C., Philogène B.J.R., Vincent C, (2008),Biopesticides d'origine végétale. Edition TEC & DOC, Lavoisier, Paris, 546p

Sabri, M. (2008). Etude sur l'importance relative des transporteurs des cations divalents du zinc, fer et manganèse dans la virulence des souches extra-intestinales pathogènes d'Escherichia coli (ExPEC). Thèse de doctorat en biologie. Institut National de la Recherche Scientifique. Université du Québec. Canada.262p.

Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. Food chemistry, 91(4), 621-632.

Sami, K.(2012). Les principales bactéries isolées des pus profonds et leur comportement vis-à-vis des antibiotiques. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohammed V-Rabat Maroc, 100p.

Sharifi-Rad, J., et al. (2017). Chemical composition and biological activity of essential oils: A review. Aromatherapy and Essential Oils, 7(3), 24-32.

Références bibliographiques

- Silva, F., Ferreira, S., Duarte, A., Mendonça, D. I., & Domingues, F. C. (2013). Antifungal activity of *Coriandrum sativum* essential oil, its mode of action identified by flow cytometry. *Arabian Journal of Chemistry*, 6(3), 353-360.
- Soković, M., et al. (2010). Antimicrobial effects of essential oils and their constituents on pathogenic bacteria. *Current pharmaceutical design*, 16(26), 3225-3232.
- Steven P., Rachel C., Martha E., Paul H., Jane S., and Peter W.J.,(2004)- *Microbiology of Waterborne Diseases*. Ed Elsevier Academic Press. pp71-132.
- Taibi Kamal, Bengharbi Merouane. Contribution À L'étude De L'activité Antibactérienne De L'huile Essentielle Et Des Extraits De *Mentha Spicata*.(2019). Université Ziane Achour - Djelfa, Mémoire de Master.
- Teuscher E., Anton R., Lobstein A, (2005), *Plantes aromatique : épices, aromates, condiments et huiles essentiels*. Edition Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 544p
- Touhami A,(2017), *Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres Thymus récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement*. Thèse de Doctorat, Université d'Annaba, 173p
- Toure, D. (2015). *Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire* (Doctoral dissertation, Université Felix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire).
- Toure.D (2015), *Etudes chimique et biologique des huiles essentielle de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire*, thèse de doctorat Cote d'Ivoire, université Félix Houphouët-Boigny.
- Tsai, P. J., Tsai, T. H., Ho, S. C. (2007). In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*. *Food chemistry*, 105(1), 311-316.
- Tucker, AO Et RFC Naczi. (2007). *Mentha : Un Aperçu De La Classification Et Les Relations*. En 16-17: Laurent, BM, Ed, Monnaie. Du Genre *Mentha* .16-17.
- Weckesser, S., Engel, K., Simon-Haarhaus, B., Wittmer, A., Pelz, K., Schempp, C. Á. (2007). Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedicine*, 14 (7-8), 508-516

Références bibliographiques

Yaacoub, R et TLiDjane, I(2018). Caractérisation Physico-chimiques et analyses biologiques de L'huile essentielle des grains de cuminumcymimum I, et de Foeniculum Vulgare Mill. Extraite par Hydrodistillation et CO2 supercritique. Etude Comparative (En ligne) . Mémoire de Master : Génie chimique. Département de génie des procédés : Université de LARBI BEN M'HIDI Oum El Bouaghi, Page 15.

Yvan T., (1997). Pharmacologie 8ème Edit. Masson. Paris-Milan-Barcelone ; 388 p.

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

Zeghade N, (2003) ; « Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris , rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne » ; Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister (Ecole doctorale), Université Mentouri Costantine, P8

Zohra, KASSOUSSI Djazia-GUIDADOU Fatima. "Activité antibactérienne des huiles essentielles de la plante Rosmarinus Officinalis. L."

جباري, et al. "Étude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de deux plantes médicinales (rosmarinus officinalis et eucalyptus camaldulensis)." (2021).