



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{elle} Bechiri Souhila et M^{elle} Tahar Mezedek Salima

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: MICROBIOLOGIE FONDAMENTALE

THÈME

Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles
d'Artemisia herba alba de la région d'El Kantara (wilaya
de Biskra) et de *Mentha pulegium* de la foret de Mesra
(wilaya de Mostaganem)

Soutenue publiquement le 03/07/2018

DEVANT LE JURY

Président	Mr Cheriguene A.	Professeur	U. Mostaganem
Encadreur	Mr Bahri F.	Professeur	U. Mostaganem
Examineurs	Mr Benali S.	Maitre-assistant A	U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de Biochimie et de Microbiologie

Dédicaces

*Je dédie cette mémoire
Aux êtres les plus chers : **Mes parents,***

***A mon père,**
Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller
toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son
enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et
pour ses précieux conseils.*

***A ma mère,**
Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa
disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans
les moments les plus difficiles de ma vie.*

*Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous **MES CHERS
PARENTS** que je le dois, que Dieu vous garde.*

*A la famille **Bechiri** et **Guebli** du petit au grand
A mes enseignants et professeurs du primaire à l'université*

*A mes amis et collègues et tous ceux et toutes
celles que j'ai involontairement omis de citer et qui n'en
demeurent pas moins chers*

Bechiri Souhila

Dédicace

-Je dédie ce monde de travail :

-A Mon très cher papa que il est toujours présent dans mon cœur merci papa pour tout les courages et la volonté

-A celle qui m'a transmis la vie, l'amour, le courage, à toi maman toutes mes joies, mon amour et ma reconnaissance

-Que Dieu vous bénisse toujours-

-A mes frères Fayçal, Sid Ahmed, Abd Nour et mes sœurs zahira, Anissa, fatima, Yasmin, A mes cousins et cousines

-A mon amis que je la remercie pour ces encouragements et sa compréhension et donnée toujours les conseils merci mon ami Souhila .

-A tous mes amis la Filière Microbiologie fondamentale.

Tahar Mezedek Salima

Remerciements

Avant tout nous remercions **Allah** le tout puissant, de nous avoir guidé tout au long de nos années d'études et de nous avoir donné la volonté, la patience et le courage pour achever ce travail.

Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus cordiaux et notre vive reconnaissance à notre encadreur, le Professeur **Bahri F**, qui a bien voulu accepter de diriger ce travail, pour son encouragement, ses conseils précieux, sa disponibilité, ses suggestions pertinentes, ses critiques constructives et pour sa patience tout au long de ce projet et sans lesquels, ce travail n'aurait pu aboutir.

Nous remercions les membres du jury, d'avoir accepté d'évaluer ce mémoire :
Mr **Cheriguene A** qui nous a fait l'honneur d'avoir accepté la présidence du jury de ce mémoire ainsi que, Mr **Benali S** d'avoir accepté d'examiner ce travail, qu'ils trouvent ici toute l'expression de notre profonde reconnaissance et notre respect.

Nos vifs remerciements au Docteur Abdelli W pour sa générosité et les nombreuses facilités qu'elle n'a cessé d'accorder ainsi que, son grand soutien pour l'accomplissement de ce travail.

Nos remerciements vont également aux enseignants et techniciens des laboratoires de microbiologie et de biochimie de l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie pour leur aide tant par leur soutien moral que par leurs conseils précieux.

Nous remercions également les employés de la de la bibliothèque des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem et de l'université Mustapha Stambouli da Mascara.

Enfin, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

Résumé

Ce travail a été réalisé dans le but d'évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et de *Mentha pulegium* provenant des régions de Biskra et de Mostaganem. Ces dernières ont été extraites par entraînement à la vapeur d'eau. Les rendements d'extraction obtenus des feuilles sèches d'*Artemisia herba alba* et des feuilles fraîches de *Mentha pulegium* sont respectivement 0.28% et 0.23%.

L'antibiogramme a montré que le Doxycycline (DXT30) a eu l'effet inhibiteur le plus remarquable avec une zone d'inhibition maximale de 27mm pour la souche de référence *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853. Aucune activité inhibitrice remarquable n'a été enregistrée par l'Acide calvulaniqe contre les souches d'*E. coli* ATCC 25922, de *B. cereus* ATCC 10876, *P. aeruginosa* ATCC27853 et de *P. mirabilis* ATCC 35659.

En ce qui concerne l'antifongi-gramme, l'Econazole et le Clotrimazol ont provoqués l'inhibition des deux souches fongiques testées. L'Econazole a un effet inhibiteur meilleur sur *A. brasiliensis* ATCC16404 avec 22mm.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de l'antibio-aromatogramme a montré que l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a une grande action inhibitrice sur la croissance des cinq germes testées, à savoir, *E. coli*, *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, et *C. albicans*, avec des zones d'inhibition qui varient entre 19 et 33mm. Tandis que les huiles essentielles de *Mentha pulegium* ont été efficaces sur *E. coli*, *B. cereus*, *P. mirabilis*, *A. brasiliensis*, et *C. albicans*. Ce dernier est le plus sensible avec une zone d'inhibition de 26mm.

Nous avons conclu le travail par la méthode de contact direct (CMI) qui a confirmé les résultats obtenus par l'antibio-aromatogramme pour les deux huiles essentielles et cela confirme l'efficacité de ces huiles essentielles.

Mot clés : *Artemisia herba alba*, *Mentha pulegium*, huiles essentielles, activité antimicrobiennes.

الملخص

يهدف هذا العمل إلى تقييم النشاط المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية لـ *Mentha* و *Artemisia herba alba* و *pulegium* من مناطق بسكرة و مستغانم ، تم استخلاص هذه الزيوت عن طريق التقطير ببخار الماء حيث المرود الكلي المتحصل عليه من الأوراق الجافة لنبات الشيح و الأوراق الطازجة لنبات الفليو هو 0.28% و 0.23% على التوالي .

و اظهر اختبار الحساسية للمضادات الحيوية أن Doxycyline له تأثير ملحوظ بمساحة تثبيط تقدر ب 27مم ضد السلالة المرجعية *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 ، ولم يلاحظ أي نشاط تثبيطي من قبل *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Acide calvilanique* ضد السلالات *P.aeruginosa* ATCC 27853 و *Proteus mirabilis* ATCC 35659.

في ما يتعلق بتثبيط السلالات الفطرية، كل من Econazole و Clotrimazole تثبطا سلالتين فطريتين تم اختبارهما، حيث لوحظ أن Econazole له تأثير كبير يقدر بمساحة 22مم ضد *Aspergillus brasiliensis* ATCC16404.

تقييم النشاط المضاد الميكروبي من خلال طريقة antibio-aromatogramme اظهر أن الزيوت الأساسية لـ *Artemisia herba alba* لها تأثير قوي على الجراثيم الخمس التي تم اختبارها ، وهي *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Bacillus cereus* ATCC 10876 و *P. aeruginosa* و *Proteus mirabilis* ATCC27853 مع مناطق تثبيط تتراوح بين 19 و 33مم، و *Candida albicans* ATCC 10231

في حين أن الزيوت الأساسية لـ *Mentha Pulegium* كانت فعالة على *E.Coli* ATCC25922 ، *Bacillus cereus* ATCC10876 و *Proteus mirabilis* ATCC 35659 و *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 و *Candida albicans* ATCC10231 التي كانت الأكثر حساسية مع منطقة تثبيط تقدر ب 26 مم.

اختتمنا هذا العمل بطريقة الاتصال المباشر (CMI) التي أكدت النتائج التي تم الحصول عليها من antibioaromatogramme وهذا ما أكد فعالية هذه الزيوت الأساسية.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية ، الشيح ، الفليو ، النشاط المضاد للميكروبات.

Abstract

This work was realized in order to evaluate the antimicrobial activity of the essential oils of *Artemisia herba alba* and *Mentha pulegium* from the regions of Biskra and Mostaganem. These last were extracted by steam distillation of water, the total yields obtained from dry leaves of *Artemisia herba alba* and fresh leaves of *Mentha pulegium* are respectively 0.28% and 0.23%.

The antibiogram showed that Doxycycline (DXT30) had the most remarkable inhibitory effect with an maximal inhibition zone of 27 mm for the reference strain *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. No remarkable inhibitory activity by Calvulanic Acid against *Escherichia coli* strains ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *P. aeruginosa* ATCC 27853, and *Proteus mirabilis* ATCC 35659.

Regarding to the antifungigram, Econazole and Clotrimazol caused an inhibition of the two fungal strains tested; it is noted that Econazole has an extreme effect with a 22 mm inhibition for *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

The evaluation of the antimicrobial activity by the aromatogram method showed that the essential oil of *Artemisia herba alba* has a great inhibitory action on the growth of the five germs tested, namely, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *P. aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, and *Candida albicans*, with zones of inhibition ranging between 19 and 33mm. While the essential oils of *Mentha pulegium* have been effective on *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Proteus mirabilis*, *Aspergillus brasiliensis*, and *Candida albicans* which is the most sensitive with a 26mm inhibition zone.

We concluded the work by the method of direct contact method (MIC) which confirmed the results obtained by the aromatogram for the two essential oils. This confirms the effectiveness of these essential oils.

Keywords: *Artemisia herba alba*, *Mentha pulegium*, essential oils, antimicrobial activity.

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre I

Les huiles essentielles

I.1. La phytothérapie.....	3
I.2. L'aromathérapie.....	3
I.3. Les huiles essentielles.....	4
I.3.1. Définition.....	4
I.3.2. Répartition botanique.....	4
I.3.3. Propriétés des huiles essentielles.....	4
I.3.3.1. Propriétés physiques et organoleptiques.....	4
I.3.3.2. propriétés chimiques des huiles essentielles.....	5
I.3.3.3. propriétés antimicrobiennes.....	5
A. activité antifongique.....	5
B. activité antibactérienne.....	6
I.3.4. La composition chimique des huiles essentielles.....	6
I.3.4.1. Les terpénoïdes.....	6
I.3.4.2. les composés aromatiques.....	8
I.3.4.3. Les composés d'origine diverses.....	9
I.4. Facteurs influençant la composition des huiles essentielles.....	9
I.5. Procédés d'extraction des huiles essentielles.....	10
I.5.1. La distillation.....	10
I.5.1.1. Hydrodistillation.....	10
I.5.1.2. distillation par entraînement à la vapeur d'eau.....	11
I.5.1.3. hydro-diffusion.....	12
I.5.2. l'extraction par solvants organiques.....	13
I.5.3. L'expression à froid.....	14
I.5.4. Extraction par micro-ondes.....	14
I.5.5. l'extraction par le CO ₂ supercritique.....	15
I.6. Méthode de Caractérisation des huiles essentielles.....	16
I.6.1. La chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	17

I.6.2. La spectrométrie de masse (SM).....	18
I.6.3. Couplage CPG/SM.....	19
I.8. Domaine d'utilisation des huiles essentielles.....	19
I.8.1. En désinfection de l'air.....	20
I.8.2. Parfums et Cosmétique	20
I.8.3. En agroalimentaire.....	20
I.8.4. En traitement des infections.....	21
I.9. Toxicité des huiles essentielles.....	21

Chapitre II

Artemisia herba alba et Mentha pulegium

II.1. Le genre <i>Artemisia</i>	22
II.2. <i>Artemisia herba alba</i> Asso.....	22
II.2.1. Classification.....	23
II.2.2. Dénomination.....	23
II.2.3. Description botanique	24
II.2.3.1. Partie aérienne.....	24
II.2.3.2. Partie souterraine ou racine.....	24
II.2.4. Distribution géographique.....	25
II.2.5. Ecologie	25
II.2.6. Composition chimique.....	25
II.2.7. Utilisation de la plante.....	28
II.2.8. Toxicité.....	28
II.2. Le genre <i>Mentha pulegium</i> .L.....	29
II.2.1. Historique.....	29
II.2.1.1. Généralité sur La menthe.....	29
II.2.2. Généralité sur <i>Mentha pulegium</i> L. ssp. <i>Pulegium</i>	30
II.2.3. Description botanique.....	30
II.2.4. Position systématique	31
II.2.5. Caractérisation de l'huile essentielle de la <i>Mentha pulegium</i> L.....	32
II.2.6. Propriété et usage.....	32
II.2.6.1. Parasiticide	33
II.2.6.2. Bactéricide	33

II.2.6.3. phyto-aromathérapie.....	33
II.2.7. Aires de répartition.....	33
II.2.8. Utilisation en médecine traditionnelle.....	34

Chapitre III

Les micro-organismes testés

III. 1. Les microorganismes.....	35
III.2. <i>Escherichia coli</i>	35
III .2.1. Classification d' <i>E. coli</i>	35
III.2.2. Pouvoir pathogène.....	36
III.3. <i>Bacillus cereus</i>	36
III.3.1. Classification de <i>Bacillus cereus</i>	37
III.3.2. Pouvoir pathogène.....	37
III.4. <i>Proteus mirabilis</i>	38
III.4.1. Classification de <i>Proteus mirabilis</i>	38
III.4.2. Pouvoir pathogène.....	38
III.5. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39
III.5.1. Classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39
III.5.2. Pouvoir pathogène.....	39
III.6. <i>Candida albicans</i>	39
III.6.1. Classification de <i>Candida albicans</i>	40
III.6.2. Pouvoir pathogène.....	40
III.7. <i>Aspergillus brasiliensis</i>	40
III.7.1. Classification d' <i>Aspergillus brasiliensis</i>	41
III.7.2. Pouvoir pathogène.....	41

Partie expérimentale

Chapitre IV

Matériel et méthodes

IV.1. Matériel végétale.....	42
IV.1.1. La récolte.....	42
IV .1.2. Séchage.....	45

IV.1.3. Détermination de l'humidité.....	45
IV.2. Les huiles essentielles.....	45
IV.2.1. Procédé d'extraction.....	45
IV.2.2. Calcule du rendement.....	46
IV.2.3. Procédure microbiologique.....	47
IV.2.3.1. Les souches testées.....	47
IV.2.3.2. Milieux de cultures utilisées.....	47
IV.2.3.3. Activation des souches (Over-night).....	47
IV.2.3.4. Calibration au spectrophotomètre.....	48
IV.3. L'antibiogramme et l'antifongigramme des souches testées.....	48
IV.4. Technique d'étude du pouvoir antimicrobienne des huiles essentielles.....	49
IV.4.1. Technique de l'antibio-aromatogramme (méthode de Vincent).....	50
IV.4.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	50

Chapitre V

Résultats et discussion

V.1. Matériel végétal.....	52
V.1.1. Taux d'humidité.....	52
V.2. Huiles essentielles.....	53
V.2. 1. Caractères Organoleptiques.....	53
V.2.2. Rendement en huiles essentielles.....	53
V.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme).....	54
V.4. Antifongi-gramme.....	57
V.5. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	58
V.5.1. Technique de l'antibio-aromatogramme(méthode de Vincent).....	58
V.5.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles(CMI).....	65
V.5.2.1. <i>Artemisia herba alba</i>	65
V.5.2.1. <i>Mentha pulegium.L</i>	69
Conclusion.....	73
Références bibliographiques.....	74
Annexes	

Liste des figures

Figure n° 1: Structure chimique d'isoprène (C ₅ H ₈)n.....	07
Figure n° 2: Structure Chimiques de quelques composés terpéniques.....	08
Figure n°3: Structure Chimiques de quelques composés aromatiques.....	09
Figure n° 4 : principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation.....	11
Figure n° 5 : Principe schématisé de l'appareillage d'entraînement à la vapeur d'eau	12
Figure n° 6 : Principe schématisé de différentes étapes d'hydro-diffusion.....	13
Figure n° 7 : Technique d'extraction par solvants.....	14
Figure n° 8: Extraction assisté par micro-ondes	15
Figure n° 9: Montage d'extraction par les fluides supercritiques.....	16
Figure n° 10 : Schéma du Principe de la chromatographie en phase gazeuse	18
Figure 11 : Schéma du principe du fonctionnement du couplage	19
Figure n° 12 : <i>Artemisia herba alba</i> dans son environnement.....	23
Figure n° 13 : le genre <i>Mentha pulegium .L.</i>	32
Figure n°14 : photographie des plantes étudiée (A) : <i>Artemisia herba alba</i> , (B) : <i>Mentha pulegium</i>	42
Figure n°15 : Carte géographique de la région de Biskra montrant la station de récolte d' <i>Artemisia herba alba</i> (Google Maps, 2018).....	43
Figure n°16 : Carte géographique de la région de Mostaganem montrant la station de récolte de <i>Mentha pulegium</i> (Google Maps, 2018).....	44
Figure n°17 : Vapodistillation de type SPRING A 105 12 LITRE utilisé pour l'extraction des huiles essentielles de deux plantes.....	46
Figure n°18 : Les disques des antibiotiques et des antifongiques.....	49
Figure n°19 : Taux d'humidité de <i>Mentha pulegium L.</i>	52
Figure n°20 : Rendement en huile essentielle des deux plantes obtenue exprimée %.....	54
Figure n°21 : Montre les résultats de l'effet des antibiotiques testés sur la croissance des bactéries étudiés : <i>Escherichia coli</i> (A), <i>Proteus mirabilis</i> (B), <i>Bacillus cereus</i> (C) et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (D).....	56
Figure n° 22 : Effet d'Econazole (A) et de Clotrimazole (B) sur la croissance de <i>Candida albicans</i>	57
Figure n°23 : Effet d'Econazole (A) et de clotrimazole (B) sur la croissance d' <i>Aspergillus brasiliensis</i>	57
Figure n°24 : Effet des huiles essentielles d' <i>Artemisia herba alba</i> sur <i>Candida albicans</i> (A : 33mm) et <i>Bacillus cereus</i> (B 28mm).....	59

Figure n°25 : Effet des huiles essentielles d' <i>Artemisia herba alba</i> sur <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (22mm).....	60
Figure n°26 : Effet des huiles essentielles d' <i>Artemisia herba alba</i> sur la croissance de <i>Proteus mirabilis</i> ATCC (24mm).....	61
Figure n°27 : Effet des huiles essentielles d' <i>Artemisia herba alba</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853(19mm).....	61
Figure n° 28 : Effet des huiles essentielles d' <i>Artemisia herba alba</i> sur <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404.....	62
Figure n°29 : Effet des huiles essentielles de <i>Mentha pulegium</i> L. sur la croissance de <i>C. albicans</i> (26 mm) et <i>P. mirabilis</i> (20mm).....	63
Figure n°30 : Effet des huiles essentielles de <i>Mentha pulegium</i> sur la croissance <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (17mm)	63
Figure n°31 : Effet des huiles essentielles de <i>Mentha pulegium</i> sur la croissance de <i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876 (12mm).....	64
Figure n°32 : Effet des huiles essentielles de <i>Mentha pulegium</i> sur la croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	64
Figure n°33 : Effet des huiles essentielles de <i>Mentha pulegium</i> sur la croissance d' <i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404.....	65
Figure n° 34 : CMI de l'huile essentielle d'Artémisia herba alba sur l' <i>Escherichia coli</i>	67
Figure n° 35 : CMI de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i> sur <i>Bacillus cereus</i>	67
Figure n° 36 : CMI de l'huile essentielle d' <i>Artémisia herba alba</i> sur <i>Proteus mirabilis</i>	68
Figure n° 37 : CMI de l'huile essentielle d' <i>Artémisia herba alba</i> sur <i>Pseudomonas Aerogenosa</i>	68
Figure n° 38 : CMI de l'huile essentielle d'Artémisia herba alba sur <i>Candida albicans</i>	69
Figure n° 39 : CMI de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium.L</i> sur l' <i>Escherichia coli</i>	70
Figure n° 40 : CMI de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium.L</i> sur <i>Bacillus cereus</i>	70
Figure n° 41 : CMI de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium.L</i> sur <i>Proteus mirabilis</i>	70
Figure n° 42 : CMI de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium.L</i> sur <i>Candida albicans</i>	71
Figure n° 43 : CMI de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium.L</i> sur <i>Aspergillus brasiliensis</i>	71

Liste des Tableaux

Tableau n°1 : Composants majoritaires d'huiles essentielles d'espèces <i>Artemisia herba alba</i> distribuées dans l'Algérie.....	27
Tableau n°2 : Situation géographique des sites de récolte.....	42
Tableau n°3 : Liste des souches microbienne testées.....	47
Tableau n°4 : Les antibiotiques et les antifongiques utilisés.....	49
Tableau n°5 : Valeur du taux d'humidité de la <i>Mentha pulegium</i> exprimée en pourcentage (%)	52
Tableau n°6: Caractéristiques organoleptiques des deux plantes étudiées.....	53
Tableau n°7: Les rendements en huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i> et de <i>Mentha pulegium.L</i>	53
Tableau n° 8: Résultats de l'effet des antibiotiques sur la croissance des microorganismes étudiés (en mm).....	55
Tableau n°9 : Montre les résultats des Antifongiques.....	57
Tableau n°10 : Résultats de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d' <i>Artemisia herba alba</i> et de <i>Mentha pulegium</i> exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.....	58
Tableau n° 11: Détermination des CMI des huiles essentielles d' <i>Artemisia herba alba</i>	66
Tableau n° 12 : détermination des CMI de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium.L</i>	69

Liste des Histogrammes

Histogramme n° 1 : Effet des huiles essentielles <i>d'Artemisia herba alba</i> et du <i>Mentha pulegium</i> L. sur la croissance des souches de références testées en fonction du diamètre de la zone d'inhibition en mm.....	58
--	----

Liste des abréviations

°C: degré Celsius

% : Pourcentage

AFNOR : Association Française de normalization

AK3 : Amikacin

AUG : Amoxicillin

AMP : Ampciline

A. brasiliensis : *Aspergillus brasiliensis*

ATCC : American Type Culture Collection

B.cereus : *Bacillus cereus*

BN : Bouillon nutritive

C. albicans : *Candida albicans*

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

CCM : Chromatographie sur couche mince

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CLO : Clotrimazole

DO : densité optique

DXT : Doxycycline

E.Coli : *Escherichia coli*

ECO : Econazole

g : gramme

GN : gélose nutritif

H : Taux de l'humidité.

HE : Huile essentielle

h : heure

HD : Hydrodistillation

Kg : Kilogramme

mm : millimètre

MH : Mueller-Hinton

nm : nanomètre

OX : Oxacilline

PDA : Potatos Dextrose Agar

P.mirabilis : *Proteus mirabilis*

P.aeruginosa : *Psoudomonas aeruginosa*

R% : rendement

SAB : sabouraud

SM : Spectrométrie de Masse

UV : Ultra-Violet

UFC : Unité Formant des Colonie

µg : Microgramme

µl: microlitre

v/v : Volume de l'huile essentielle sur Volume de la solution d'agar

Introduction

Introduction

Le monde bactérien est très vaste et les bactéries peuplent notre environnement. Elles assurent à la surface du globe, sur le sol et dans les eaux ; d'innombrables fonctions; elles exercent des actions bénéfiques (ex: bactéries fertilisantes du sol), mais d'autres peuvent provoquer des infections chez les plantes, les animaux et également chez l'homme.

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre ces fléaux. Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances, si l'on considère que chacune des plantes peut contenir des centaines, voire des milliers de métabolites secondaires (**Guerib, 2009**).

Durant des milliers d'années, les plantes constituent la principale source de remèdes pour l'Homme contre de nombreuses maladies. C'est la méthode la plus populaire d'autotraitement (**Carole, 2008**).

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes: on y trouve plus de 3000 espèces végétales. Parmi ces ressources naturelles les plantes médicinales et aromatiques occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. Elles sont utilisées dans différents domaines : industrie alimentaire, pharmaceutique et phytothérapie (**Duraffourdet al., 1997**).

Dans notre pays, de nombreuses plantes aromatiques à vertus thérapeutiques sont exploitées où les médicaments à base de plantes sont encore largement utilisés ; c'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier *Artemisia herba alba* (Wilaya de Biskra) et *Mentha pulegium L.* (Wilaya de Mostaganem). Elles appartiennent aux familles des Astéracées et des Lamiacées respectivement.

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des molécules d'origines végétales jouissantes d'activités biologiques notamment les activités antimicrobienne, afin d'élargir les perspectives des valorisations des produits naturels.

Notre travail est réparti en deux parties :

- La première partie est relative à l'étude bibliographique subdivisée en 3 chapitres. Le premier chapitre élucide une généralité sur les huiles essentielles. Dans le second

chapitre nous rappelons brièvement les connaissances actuelles sur les deux espèces étudiées. Enfin le troisième chapitre s'intéresse à la présentation des microbes à tester.

- La deuxième partie présente deux chapitres. Le premier chapitre est celui de la partie expérimentale et le deuxième chapitre est celui des résultats et discussion.

Partie bibliographiques

Chapitre I

Les huiles essentielles

I.1. La phytothérapie

Le mot phytothérapie vient du grec « *phuton* » qui signifie « plante » et « *therapeueine* » qui signifie « traitement ». Il s'agit de l'utilisation des plantes médicinales et de leurs extraits à titre thérapeutique (**Moatti, 1990 ; Caroline, 2013**).

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (**Schauenberg et al., 2006**).

L'effet thérapeutique reconnu de ces plantes, dépend de la nature chimique des substances actives qu'elles contiennent ; c'est selon cet effet que les plantes médicinales sont réparties en groupes. Ainsi, et tenant compte de la possibilité qu'une plante médicinale peut souvent traiter à la fois plusieurs affections, une même plante peut faire partie de plusieurs groupes de plantes médicinales (**Rubin, 1988**).

Mais les plantes médicinales ne deviennent utiles qu'après avoir subi un certain nombre de transformations qui visent à libérer leurs principes actifs et à les rendre assimilables par l'organisme. Pour cela, plusieurs techniques sont employées tel que les traitements mécaniques (émulsion, pulvérisation,...), l'expression, la dissolution, la distillation...etc. (**Rubin, 1988 ; Duraffourdet al., 1990**). Une fois les principes actifs extraits et leurs effets étudiés, ils sont présentés sous de nombreuses formes qui dépendent surtout des voies d'administration justifiées par les maladies à traiter. On les appelle formes galéniques, parmi lesquelles on trouve les infusions, les sirops, les teintures mères, les huiles essentielles, les gélules faites de poudres...etc (**Valnet, 1983 ; Rubin, 1988 ; Duraffourdet al, 1990 ; Moatti, 1990 ; Abayomi, 2010**).

I.2. L'aromathérapie

L'aromathérapie correspond à une branche à part entière de la phytothérapie. Elle emploie et contrôle les essences végétales à des fins thérapeutiques (**Edzard et Max, 2005 ; Florine et Paul, 2014**).

Les essences ou parfums naturels se trouvent chez les plantes sous forme d'huiles essentielles (**Jacques, 2005**). Ces derniers constituent ainsi la forme atomique de la plante (**Raphaële, 2007**).

I.3. Les huiles essentielles

I.3.1. Définition

Le terme « huile essentielle » fut inventé par le médecin suisse Parasculus Von Hohenheim afin de désigner le composé actif d'un remède naturel (**Porter, 2001**).

On les appelle couramment : essences, essences végétales, huiles ou essences aromatiques, parfums, huiles volatiles.

Les huiles essentielles sont constitués d'un mélange de substances odorantes, incolores ou jaunâtres, liquides à température ambiante, assez volatiles, très peu solubles dans l'eau et plus ou moins solubles dans l'alcool et dans l'éther, plus ou moins fluides, voire resinoides (**Bardeau, 1978 ; Jacques, 2005 ; Bousbia, 2011**).

Ces molécules sont présentes en faible quantité dans les plantes aromatiques (**Jouault, 2012**). Elles sont extraites de différentes parties de végétaux aromatiques dont les fleurs, les feuilles, les tiges, les fruits, les graines, les racines, les aiguilles, le bois, l'écorce, les boutons floraux, les bulbes, le rhizome, les bourgeons et la sève (**Pibiri, 2005 ; Jacques, 2005 ; Laurence, 2013 ; Laurent, 2016**).

Cependant, ils sont obtenus :

- soit par entrainement à la vapeur(le plus fréquent) ;
- soit par distillation sèche,(quelque cas, dont l'huile essentielle de cade utilisé en dermatologie) ;
- soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage des agrumes (uniquement pour le genre Citrus). (**Jacques, 2012; Bruneton, 1999**).

I.3.2. Répartition botanique

Les huiles essentielles n'existent que chez les végétaux supérieurs : il y aurait, selon Lawrence, 17500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont dans un nombre limité de familles, ex : Apiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Piperaceae, Poaceae, Rutaceae, Zingiberaceae, ...etc (**Bruneton, 1999**).

I.3.3. Propriétés des huiles essentielles

I.3.3.1. Propriétés physiques et organoleptiques

Les huiles essentielles sont des liquides volatils à la température ambiante diffèrent des huiles « fixes » leur densité est en général inférieure à celle de l'eau à l'exception de quelques

HEs de certaines espèces végétale comme le sassafras, girofle et la cannelle. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Solubles dans des solvants organiques et elles sont liposolubles (**Bruneton, 1999**).

I.3.3.2. propriétés chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles se caractérisent par différentes indices, indice d'acide, indice d'ester, indice de saponification et indice de carbonyle (**Charpentier et al., 2008**).

I.3.3.3. propriétés antimicrobiennes

Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles différentes en fonction de la matrice à laquelle elles sont ajoutées, ou du fait du contact avec les macromolécules comme les lipides ou les protéines qui protègent les micro- organismes de l'action des huiles essentielles (**Malecky, 2008**).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est principalement liée à leur composition chimique, en particulier de leurs composés volatils majeurs. Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des HEs. Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des HEs ait son propre mécanisme d'action (**Samah, 2012**).

A. activité antifongique :

Dans le domaine phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (**Lis-Balchin, 2003**).

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

En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures (**Knobloch et al., 1989**).

Ils ont constaté également que les alcools et les lactones sesquiterpéniques avaient une activité antifongique.

Les huiles essentielles (carvacrol et thymol) deux espèces ont montré, *in vitro*, une forte activité antifongique contre tous les champignons de pourriture du bois. Ce grand pouvoir bioactif observé chez les deux huiles est attribué principalement à leurs teneurs élevées en phénols terpéniques.

B. activité antibactérienne

Les huiles essentielles ont deux sortes d'activités sur les microorganismes, une activité létale (bactéricide) et l'autre inhibitrice de la croissance (bactériostase) (**Kunle et al., 2003**).

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

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ;
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure
- Destruction de matériel génétique, conduisant la mort de la bactérie.

I.3.4. La composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différentes (**Sell, 2006**). Ces composés sont des molécules volatiles appartiennent principalement à deux grandes familles de composées chimiques : les composés terpénique et les composés aromatique (**Vila et al., 2002**).

I.3.4.1. Les terpénoïdes

Le terme terpénoïdes désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes (qui sont des hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_X)_n$ (**Figure n° : 1**) avec une ou plusieurs fonctions chimique (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone,...etc.)

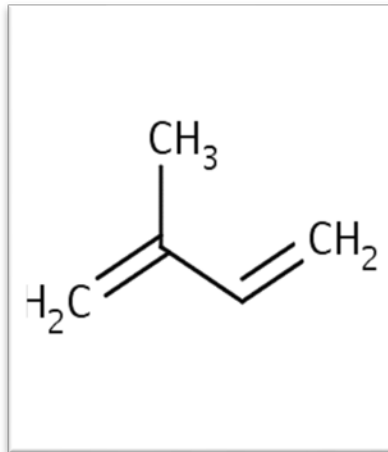


Figure n° 1: Structure chimique
d'isoprène (C₅H₈)_n

Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène : hémiterpènes (C₅), monoterpènes (C₁₀), sesquiterpènes (C₁₅), diterpènes (C₂₀), sesterpènes (C₂₅), triterpènes (C₃₀), tetraterpènes (C₄₀) et polyterpènes (**Achour Ait Hellal, Khemissi Haderbache, 2010**).

Dans les huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils. C'est à dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : monoterpènes et sesquiterpènes (**Bruneton, 1999**).

- Monoterpènes :

Les monoterpènes sont volatils entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des HE, parfois plus de 90%. Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocymène), monocyclique (terpinène, p-cimène) ou bicyclique (pinène, sabinène). A ces terpènes se rattachent un certain nombre de substances à fonction chimique : Alcools (géraniol, menthol), aldéhydes (géraniol, citronellal, sinensal), cétones (carvone, menthone, β- vétonone), et des esters (acétate de géranyle, acétate de linalyle, acétate de cédryle, acétate α- terpinyle) (**Figure n° : 2**).

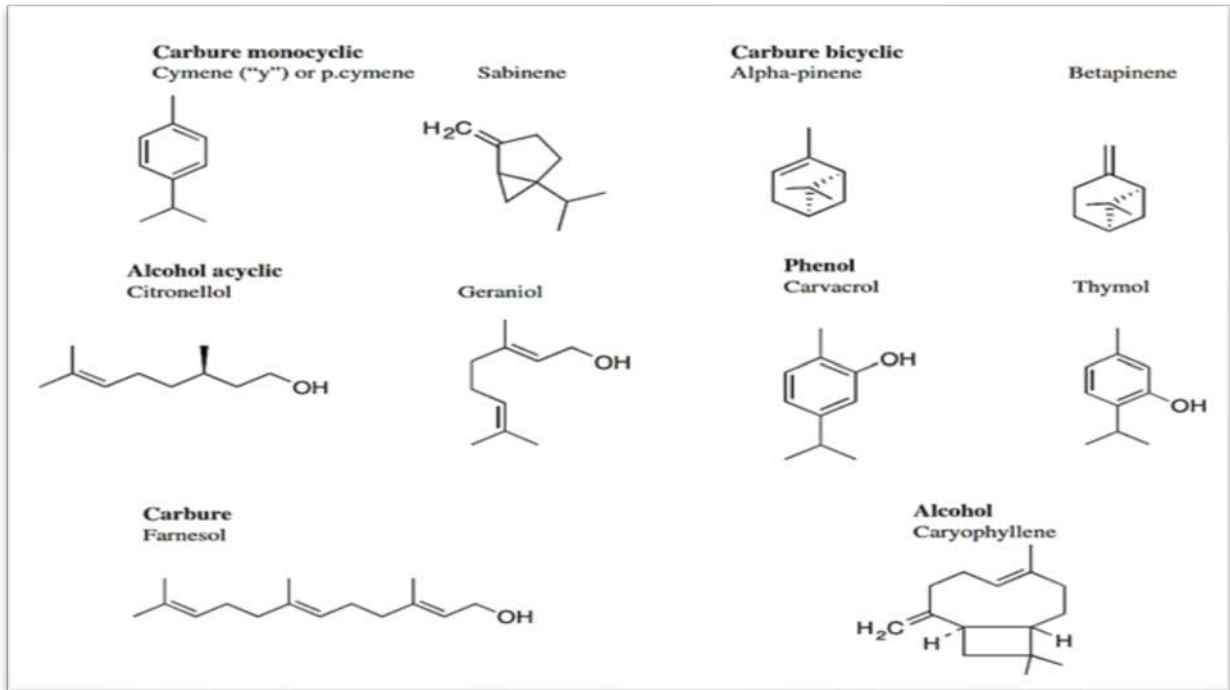


Figure n° 2: Structure Chimiques de quelques composés terpéniques

- Sesquiterpènes :

Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Elle contient plus de 3000 molécules comme par exemple : β -caryophyllène, β -bisabolène, α -humulène, abisabolol, farnesol.

I.3.4.2. les composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents que les précédents, ce sont très souvent des allylphénols, propénylphénols, anéthol, aisaldéhyde, Apiol, (Estragol), Eugénol, safrole, Asarones, Cinnamaldéhyde, cinnamyl, alcool.

On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'authranilate de méthyle ; Les lactones dérivées des acides cinnamiques (les coumarines), étant, au moins pour les plus simple d'entre, entraînés par la vapeur d'eau (Bakkali *et al.*, 2008).

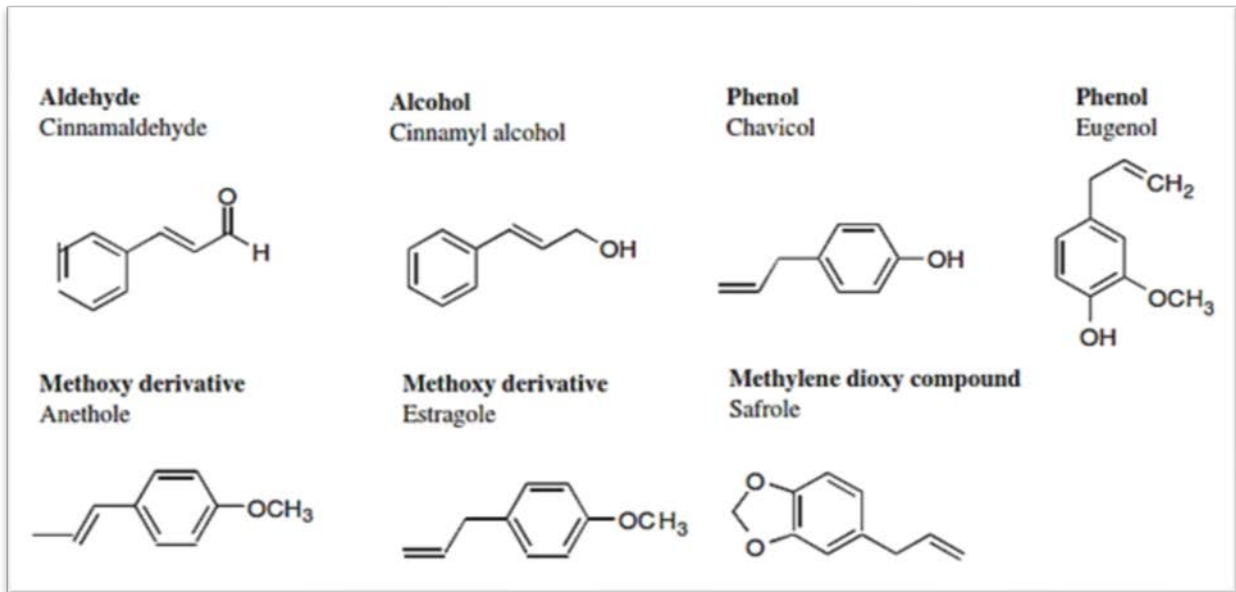


Figure n°3: Structure Chimiques de quelques composés aromatiques

I.3.4.3. Les composés d'origine diverses

Il existe un nombre négligeable de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles issues soit de la dégradation des terpènes non volatils qui proviennent de l'auto-oxydation par exemple des carotènes ou des acides gras comme les acides linoléique (Piochon, 2008).

I.4. Facteurs influençant la composition des huiles essentielles

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant divers condition: l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le séchage, la température et la durée de séchage, les parasites, les virus et les mauvaises herbes (Olle et Bender, 2010).

Ajouter à la complexité d'huiles volatiles, les proportions des différents constituants d'une huile essentielle peuvent varier de façon importante tout au long du développement, aussi les chimio types ou races chimiques sont très fréquentes chez les plantes aromatiques (Besombas, 2008).

I.5. Procédés d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont largement répondues chez les végétaux supérieurs et elles sont généralement stockées dans les plantes en faible teneur (**Guignard, 1995 ; Jouault, 2012**).

La partie de la plante utilisée pour obtenir l'huile essentielle doit être précisée, soit pour le rendement soit pour la composition chimique de la partie considérée (**Mélinda, 2010 ; Jacques et Francis, 2013**).

Ces composés peuvent être obtenus à partir de matière première végétale botaniquement définie par différentes techniques d'extraction. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physicochimiques de l'essence à extraire, et de son usage après extraction (**Samate, 2001 ; Jacques et Francis, 2013 ; Laurents, 2016**).

La méthode choisie pour l'extraction des huiles essentielles doit être la plus efficaces et qui donnerait une huile essentielle de très bonne qualité, un rendement élevé avec un cout économique faible, l'huiles essentielle obtenue doit être limpide, concentrée, d'odeur fine caractéristique de la partie de la plante utilisée et ne doit contenir aucune trace de solvant.

I.5.1. La distillation

La distillation est un procédé qui utilise la nature volatile des composants aromatiques pour les séparer du reste de la plante. L'association à l'eau s'appuie sur la théorie des liquides mélangés mais non miscibles, découverte par **Berthelot (1863)**, c'est l'azéotropisme.

La distillation du mélange eau-essence végétale s'effectue à une température inférieure à 100°C à pression atmosphérique normale, minimisant les dénaturations de l'huile essentielle qu'une température supérieure ne manquerait pas de provoquer.

Selon **Piochon (2008)**, il existe trois différents procédés d'extraction utilisant le principe de distillation : l'hydrodistillation, l'hydro-diffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau.

I.5.1.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles. Cette méthode consiste à immerger directement la partie de la plante à extraire dans l'eau chauffée jusqu'à l'ébullition pendant 3 heures.

L'huile essentielle est évaporée avec la vapeur d'eau. Ces derniers sont hétérogènes sont alors condensées à l'aide d'un réfrigèrent. Le distillat est ensuite récupéré dans un erlenmeyer (**Figure n° : 4**) (**Jouault, 2012**).

L'eau et molécules aromatiques du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. (Boukhalfa, 2014).

La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.

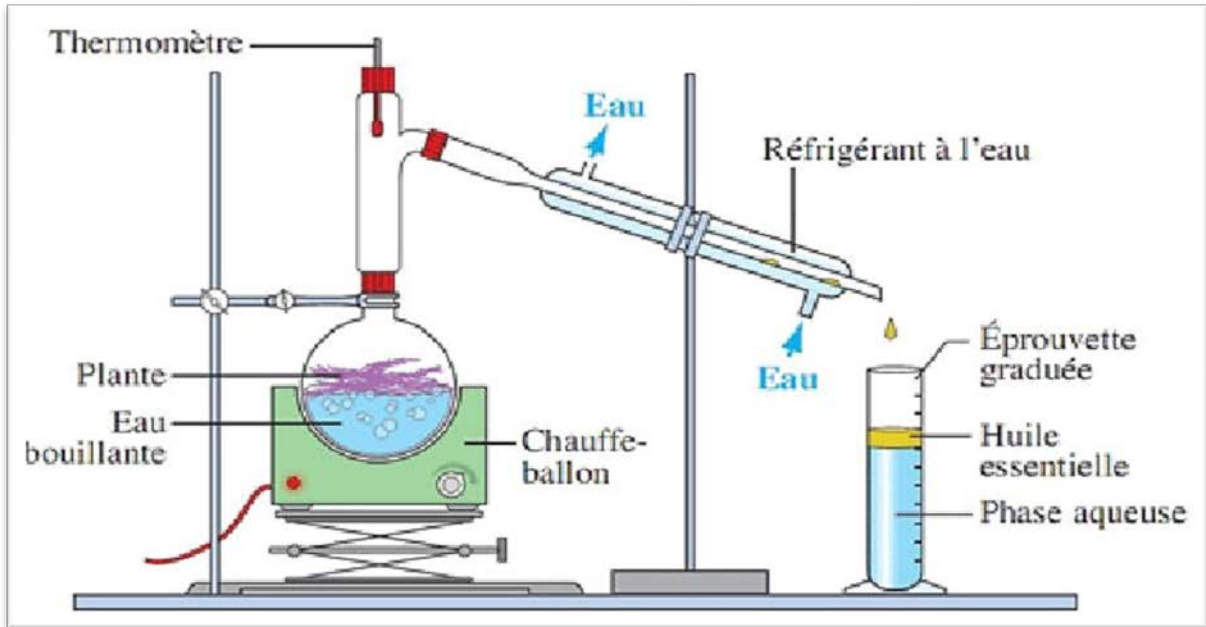


Figure n° 4 : principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation

I.5.1.2. distillation par entrainement à la vapeur d'eau

Pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse des composants de l'huile essentielle ou des réactions chimiques pouvant altérer les résultats de l'extraction. Cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules se distendent et les particules d'huile se libèrent, la vapeur circule et chasse la plupart de ses composés parfumés volatils. Puis traverse un tube froid ou elle sera condensée. Après 3 heures, le distillat est récupéré dans une fiole réceptrice puis séparé en une phase aqueuse et une phase organique (Franchomme et Pénéol, 1990) (Figure n° : 5).

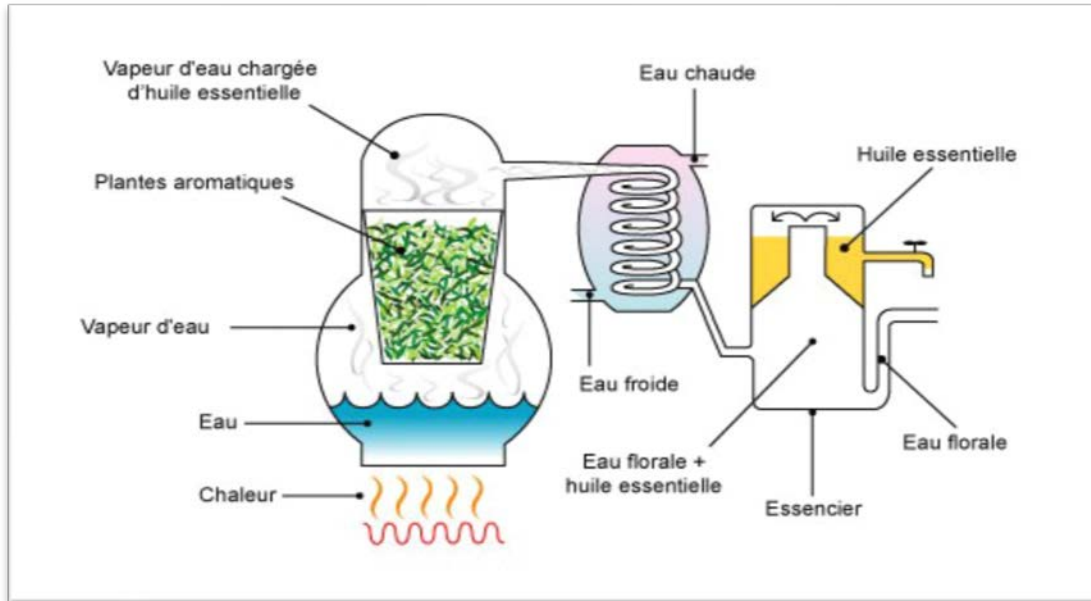


Figure n° 5 : Principe schématisé de l'appareillage d'entraînement à la vapeur d'eau (Luchesi, 2005).

I.5.1.3. hydro-diffusion

Consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (0,02-0,15 bar) à travers la masse végétale, de haut vers le bas. La composition des produits obtenus est qualitativement différente de celle des produits obtenus par les méthodes précédentes. Ce procédé permet un gain de temps et d'énergie (Bruneton, 1999).

Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau-huile essentielle » dispersé dans la matière végétale (Franchomme *et al.*, 1990) (Figure n°6).

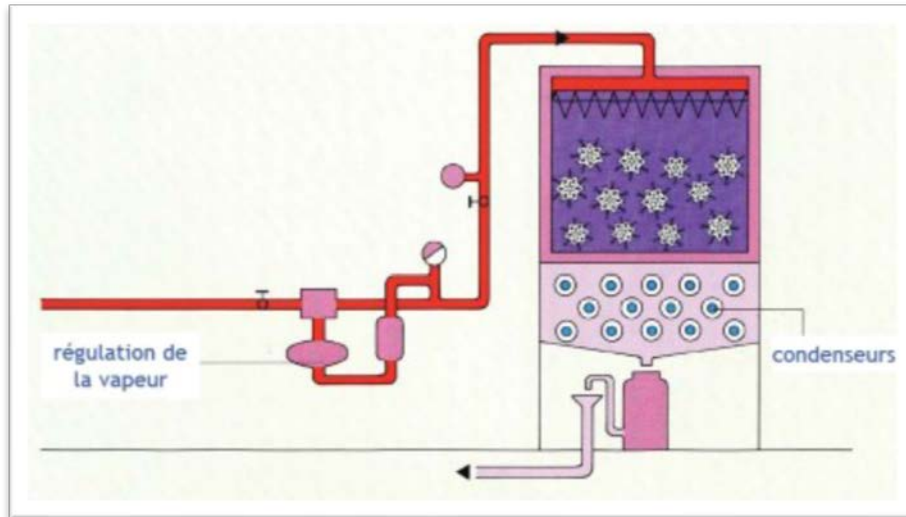


Figure n° 6 : Principe schématisé de différentes étapes d'hydrodiffusion.

I.5.2. l'extraction par solvants organiques

Consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique.

Le produit obtenu est appelé : concrète, cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales.

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 réagir chimiquement avec l'extrait (**Hernandez-ochoa, 2005**).

Parmi les solvants utilisés sont le méthanol, l'éthanol et l'éther de pétrole. L'appareillage le plus utilisé est celui de Soxhlet (**Figure n° : 7**) (**lucchesi, 2005**).

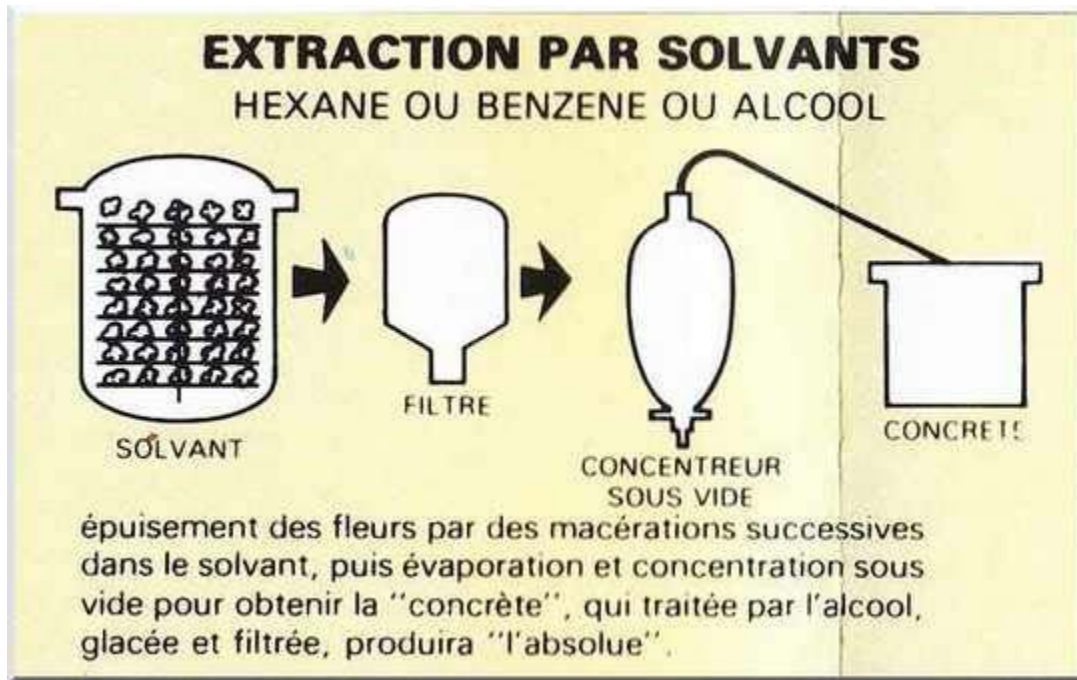


Figure n° 7 : Technique d'extraction par solvants

I.5.3. L'expression à froid

Les huiles essentielles de fruits d'agrumes sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes et aldéhydes. C'est pourquoi, spécifiquement pour cette catégorie de matière première, est utilisé un procédé totalement différent d'une distillation classique qui est l'expression à froid (Lucchesi, 2005).

Le principe de cette technique est basé sur la rupture des sacs oléifères contenues dans l'écorce des fruits ; cette essence entraînée par un courant d'eau froide. L'émulsion d'essence et d'eau isolée par décantation ou centrifugation.

I.5.4. Extraction par micro-ondes

Le pouvoir énergétique des micros – ondes a été mis en évidence à la fin de la seconde guerre mondiale, d'une façon anecdotique par un physicien, le Dr Spencer, suite à l'oubli de son sandwich sur un émetteur d'ondes, alors que jusqu'ici, les micros – ondes étaient uniquement utilisées comme vecteur d'information, elles investissent les laboratoires de chimie dans les années 80 (Mengaletal., 1993).

Les premiers travaux utilisant les micro- ondes pour extraire des composés organiques ont été publiés par Ganzler, coll., Lane et Jenkins en 1986. Depuis cette date, l'extraction végétale

assistée par micro – ondes a été le fruit de nombreuses recherches et de brevets (**Figure n° : 8**).

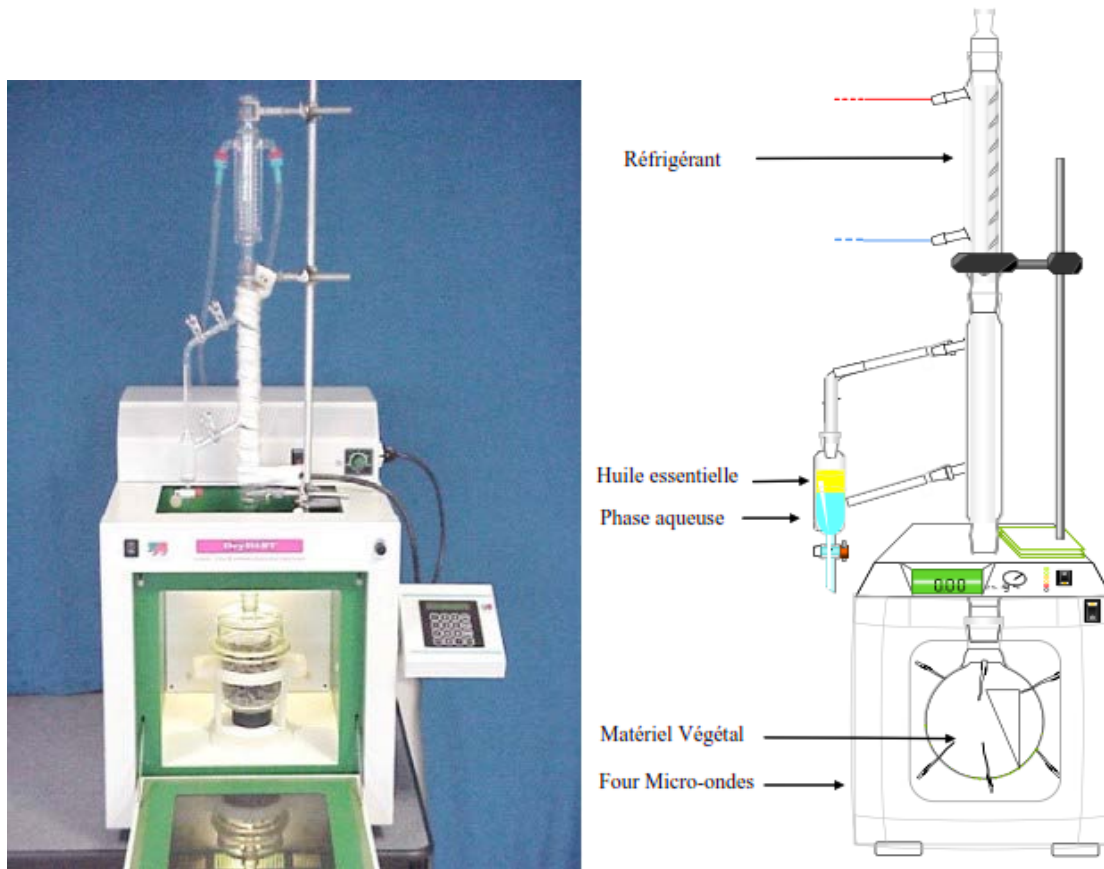


Figure n° 8: Extraction assisté par micro-ondes (**Chemat et al., 2006**).

I.5.5. l'extraction par le CO₂ supercritique

Il s'agit du procédé le plus récent d'extraction à froid, des matières premières végétales utilisant le gaz carbonique sous pression et à température supérieur à 35 °C, le dioxyde de carbone est employé principalement comme un fluide supercritique parce que c'est un solvant sain, non-combustible, peu couteux, inodore, sans couleur, insipide, non – toxique, et aisément disponible. Sa viscosité basse lui permet de pénétrer la matrice pour atteindre le matériel à extraire, et sa basse chaleur latente d'évaporation est un moyen élevé de volatilité qui peut être facilement enlevé sans laisser un résidu un de solvant.

Cette technique présent d'avantage énorme car le CO₂ est naturel, non toxique, disponible et peu couteux et il s'élimine de l'extrait sans laisser de résidus mais l'unique point de faible c'est le cout de l'installation (**Pellerin, 1991**) (**Figure n° : 9**).

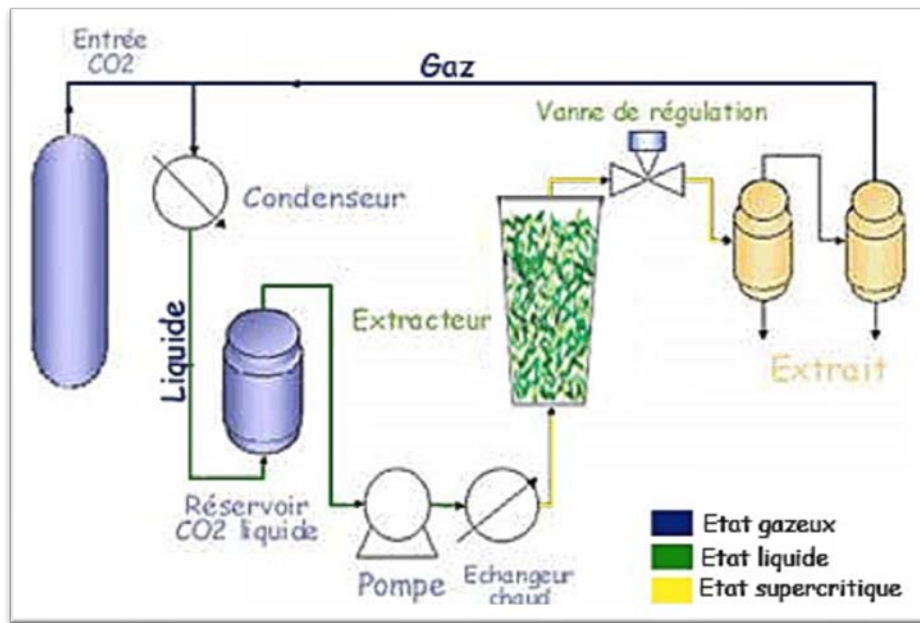


Figure n° 9: Montage d'extraction par les fluides supercritiques (Pellerin, 1991).

I.6.Méthode de Caractérisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des matières premières pour les secteurs de l'industrie pharmaceutique, de l'agroalimentaire et de la cosmétique. La connaissance parfaite de la composition chimique de ces substances permettrait aux professionnels des secteurs précités de pouvoir contrôler leur qualité et de les valorisées. L'identification des composants d'une HE reste une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques qui sont dans certains cas complémentaires (Joulain, 1994).

La technique incontournable pour individualiser les constituants d'un mélange reste la chromatographie en phase gazeuse (CPG). Son couplage à un détecteur à ionisation de flamme (DIF) permet la quantification des constituants et le calcul de leurs indices de rétention. La CPG est souvent combinée avec une technique d'identification spectrale, généralement la spectrométrie de masse (SM) ou la Spectrométrie Infrarouge par Transformée de Fourier (IRTF). Une nouvelle voie d'analyse est le recours à la RMN du carbone-13 décrite par Formacek et Kubeczka et développée par Casanova et coll (Julien, 2005). Elle permet d'identifier les constituants d'un mélange complexe sans individualisation et sans séparation préalable.

I.6.1. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) :

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Les progrès technologiques réalisés dans le domaine des colonnes capillaires, des phases stationnaires et des détecteurs ont contribué à rendre la CPG incontournable pour la caractérisation des HEs.

La chromatographe en phase gazeuse est constitué de trois modules : un injecteur, une colonne capillaire dans le four et un détecteur. Le mode d'injection le plus répandu est l'injection en "*split*" ou injection avec "division de flux", il est utilisé pour l'analyse de solutions concentrées. L'injection se fait à haute température. L'échantillon est rapidement introduit dans l'injecteur où il est instantanément vaporisé et mélangé au gaz vecteur (hélium, azote, argon, ou hydrogène). Une électrovanne permet de régler le débit de fuite. Ce procédé permet de faire en sorte qu'une fraction importante du flux gazeux soit évacuée, diminuant ainsi la quantité d'échantillon qui pénètre dans la colonne et évitant de saturer la phase stationnaire (**Bouchonnet et Libong, 2002**).

Le four contient l'élément clé de la séparation chromatographique la colonne analytique. Cette colonne peut être de deux types : colonne remplie ou colonne capillaire. Dans le cas des HEs, les colonnes capillaires semblent plus adaptées ; elles sont en métal, en verre ou plus souvent en silice fondue. Les substances de l'échantillon traversent la totalité de la colonne où est placée la phase stationnaire.

Les constituants d'un mélange sont séparés en fonction de leur polarité si la phase stationnaire est polaire, de leur volatilité si cette dernière est apolaire. Leurs différences de propriétés physicochimiques leur confèrent des vitesses d'élution et ils sont donc séparés en fonction du temps. Ils arrivent à l'extrémité de la colonne, ils sont alors détectés et enregistrés. La chromatographie en phase gazeuse permet donc de séparer un mélange gazeux complexe par succession continue d'équilibre entre phase mobile gazeuse et phase stationnaire (**Besombes, 2008**) (**Figure n° 10**).

Le développement des phases stationnaires et de la CPG multidimensionnelle a permis de surmonter certaines difficultés rencontrées dans la séparation et l'identification des composés dans les HEs. Ainsi, la CPG bidimensionnelles (CPG/CPG), mettant en ligne deux colonnes capillaires, permet la séparation, l'identification et la quantification de composés minoritaires pouvant couler avec les composés plus abondants. L'échantillon est injecté dans la première colonne, puis les composés qui coulent sont transférés dans une deuxième colonne pour être séparés (**Paolini, 2005**).

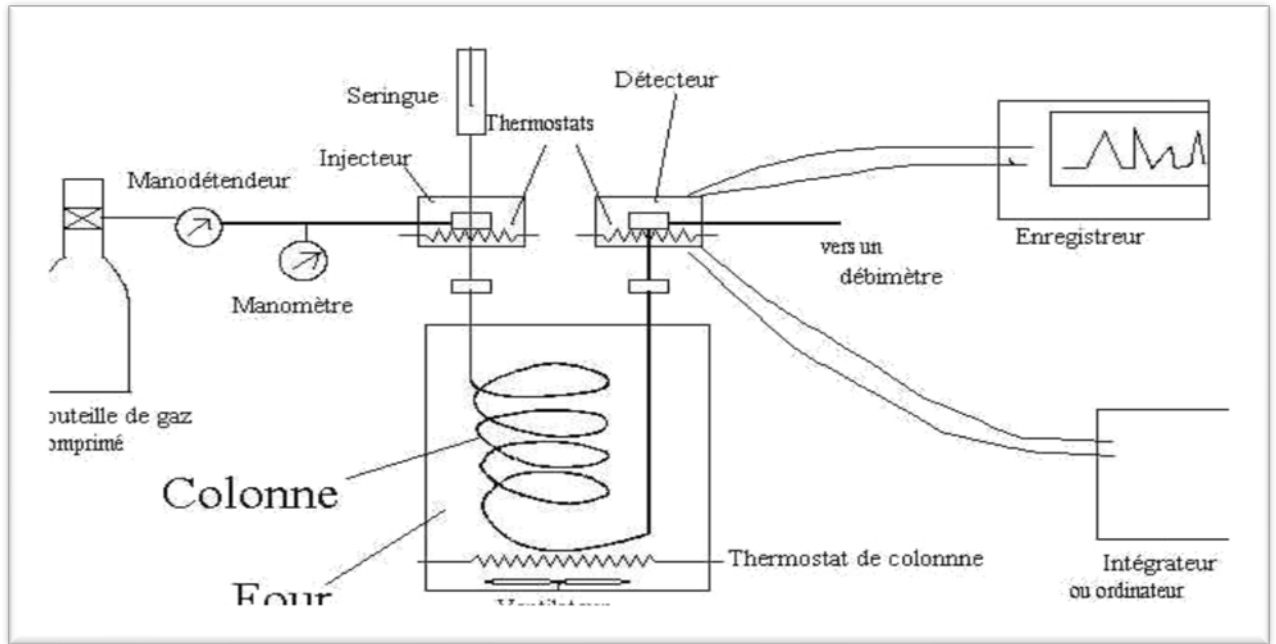


Figure n° 10 : Schéma du Principe de la chromatographie en phase gazeuse (Besombes, 2008).

I.6.2. La spectrométrie de masse (SM)

Le spectromètre de masse sert à toutes sortes d'analyser dont le but est de déterminer la nature, la composition et la structure d'un échantillon. Il existe de nombreux types de spectromètres de masse ; tous ont en communs trois éléments : une source, un analyseur et un détecteur. La source est la partie du spectromètre de masse où sont produits des ions gazeux à partir des molécules introduites.

En couplage avec le chromatographe en phase gazeuse, où les composés sont élués arrivent au spectromètre à l'état gazeux, les sources utilisées sont dites à "ionisation électronique" (IE) ou à "ionisation chimique" (IC). La source est maintenue à une température élevée (généralement comprise entre 100 et 250°C) pour éviter la condensation des substances (bouchennet et Libong, 2002). Les ions sont ensuite dirigés vers la partie analytique de l'appareil. Dans le spectromètre de masse, les ions sont séparés selon leur ration « masse/Charge », à l'aide d'un champ magnétique ou électrique (Besombes, 2008). Le faisceau d'ions ayant traversé l'analyseur de masse est détecté et transformé en un signal utilisable.

I.6.3. Couplage CPG/SM :

La simplicité du couplage entre ces deux techniques, les progrès accomplis dans le traitement en temps réel du signal, la constitution de banques de données de spectres de masse et le développement des algorithmes de comparaison entre le spectre d'un composé inconnu avec ceux répertoriés dans la banques ont à l'origine de la généralisation de l'usage de la CPG/SM dans les laboratoires d'analyse des composés aromatiques.

La CPG sur colonne capillaire constitue une excellente méthode d'introduction de l'échantillon dans le spectromètre de masse. Ainsi, la colonne capillaire est directement couplée à la source d'ions permettant l'ionisation des constituants. Il existe deux modes d'ionisation : l'ionisation chimique (IC) et l'ionisation par impact électronique (IE). Ce dernier mode est le plus répandu dans le domaine des huiles essentielles, le seul qui permet une étude systématique de la structure des ions moléculaires et fragments formés.

Le principe de la CPG/SM (IE) réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge (m/z). A la sortie de la colonne, les molécules arrivent au niveau de la source d'ionisation, elles entrent en collision avec un flux d'électrons obtenus par effet thermoélectronique à partir d'un filament en rhénium. Ces électrons leur arrachent un autre électron générant des cations radicalaires, appelés aussi ions moléculaires M^+ (Cavalli, 2002) (Figure n° : 11).

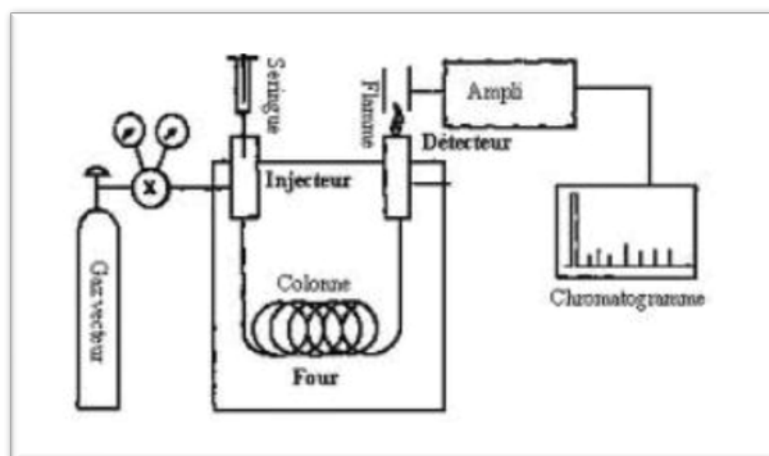


Figure 11 : Schéma du principe du fonctionnement du couplage (Besombes, 2008).

I.8. Domaine d'utilisation des huiles essentielles

Traditionnellement, les huiles essentielles sont présentes dans le processus de fabrication de nombreux produits finis destinés aux consommateurs. Les huiles essentielles peuvent avoir

d'intéressantes applications dans différents secteurs : elles sont utilisées dans l'agroalimentaire pour aromatiser la nourriture, dans l'industrie de la parfumerie, de la cosmétique et de la savonnerie. On les utilise aussi dans la fabrication des adhésifs (colle, scotch ...), dans l'industrie automobile, dans la préparation des sprays insecticides. L'homéopathie et l'aromathérapie sont des exemples courants d'usage d'huiles essentielles en médecine douce. (Bakkali, 2007).

I.8.1. En désinfection de l'air

Les huiles essentielles sont composées d'un grand nombre de molécules volatiles. En diffusion dans l'air ou diluées dans les produits de nettoyage, elles désinfectent, désodorisent et parfument agréablement et naturellement l'air. Cette pratique régulière prévient également des affections microbiennes en renforçant les défenses immunitaires.

I.8.2. Parfums et Cosmétique

Dans le domaine des parfums et cosmétiques les huiles essentielles sont employées en tant qu'agents conservateurs grâce à leurs propriétés antimicrobiennes et antiseptiques qui permettent d'augmenter la durée de conservation du produit (Bekkali, 2007).

Ces essences naturelles servent à préserver ces cosmétiques tout en leur assurant une odeur agréable grâce à leurs composés volatils.

I.8.3. En agroalimentaire

Les effets antimicrobiens de différentes espèces d'herbes et d'épices sont connus depuis longtemps et mis à profit pour augmenter la durée de vie des aliments. Ainsi les huiles essentielles et leurs composants, actuellement employés comme arômes alimentaires sont également connus pour posséder des activités antioxydants et antimicrobiennes sur plusieurs bactéries responsable de la pollution des aliments et pourraient servir d'agents de conservation alimentaires (Burt, 2004 ; Tiwari *et al.*, 2009).

Les huiles essentielles ont également des propriétés fongicides. Elles sont utilisées en tant que pesticides car elles ne sont pas toxiques pour les plantes et sont facilement dégradables et sont très efficace contre les moisissures responsables des denrées alimentaires lors de leurs stockages (Fillatre, 2011).

I.8.4. En traitement des infections

Les huiles essentielles sont très efficaces sur les germes résistants aux antibiotiques. Ce qui leur donne une place parmi les moyens thérapeutiques pour guérir, atténuer ou prévenir les maladies et les infections. Le traitement des affections bactériennes et fongiques de la cavité-buccale est un exemple parmi d'autres, des domaines d'application de l'activité des huiles essentielles (**Fillatre, 2011 ;Gherib, 2009**).

I.9. Toxicité des huiles essentielles

De nombreux ouvrages font référence à la toxicité de nombreux produits sur le marché, la plupart du temps, sous le terme de toxicité sont décrites des données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que présente leur emploi. La toxicité chronique des huiles est assez mal connue ; contrairement au risque de toxicité aiguë lié à une ingestion massive, en particulier la neurotoxicité des huiles essentielles à thuyone (thuya, absinthe, sauge officinale, tanaïs) ou à pinocamphone. Ces cétones induisent des crises épileptiformes et tétaniformes, des troubles psychiques et sensoriels qui nécessitent l'hospitalisation. Cette toxicité non négligeable conduit à adopter une attitude prudente face aux pratiques telles que l'aromathérapie lorsqu'elles utilisent des huiles essentielles pures et à fortes doses, par voie orale et a fortiori en mélange. Elle oblige à employer un matériel de qualité à bon escient. C'est-à-dire sur un diagnostic bien posé et selon les posologies parfaitement adaptées à l'état et à la physiologie propre à chaque patient (**Bruneton, 1999**).

Chapitre II

Artemisia herba alba et Mentha pulegium

II.1. Le genre *Artemisia* :

Le genre *Artemisia* est un membre d'une grande variété de plantes appartenant à la famille des Asteraceae (Compositae) : qui est avec 23600 espèces, la famille la plus importante des angiospermes (**Dupont, 2012**).

Avec 500 différentes espèces de ce genre *Artemisia* se trouvent particulièrement diversifiées dans les régions sèches, comme le bassin Méditerranéen, l'Afrique australe, le Mexique et le Sud-ouest des Etats-Unis, les régions arides d'Amérique du sud (**Botineau, 2010 ; Pelikan, 2002**).

Un grand nombre d'armoise (environ 250 espèces) sont réparties à travers l'hémisphère Nord. Plus d'une dizaine d'espèces ont été déterminées en Algérie ; certains sont rares et disséminées en hautes montagnes, ou cantonnées dans certaines limites ; d'autre sont au contraire particulièrement abondantes et répandues sur de grandes étendues, ex : *Artemisia herba alba* (Shih), espèce typique du paysage steppique et saharien. Leur détermination n'est pas très délicates, d'autant qu'elles sont pour la plupart, vivaces et aromatiques (**Baba Aissa, 2000**).

II.2. *Artemisia herba alba* Asso

L'*Artemisia Herba Alba* ; en français l'Armoise herbe blanche est une plante Herbacée mensuelle très répandue dans les zones arides à semi-aride. C'est une espèce du genre *Artemisia* (Armoise) qui appartient à la famille des *Astéracées*. Elle présente une vaste répartition géographique couvrant, en Algérie, environ 4 millions d'hectares et se développe dans les steppes argileuses et sols tassés relativement peu perméables. Elle constitue un moyen de lutte naturel contre l'érosion et la désertification (**Bendahou, 2007**).

Elle a été décrite par l'historien grec Xénophon, dès le début du IV^e siècle av. J.-C., dans les steppes de la Mésopotamie et répertoriée en 1779 par le botaniste espagnol Ignacio Jordán Claudio de Asso y del Rio (**Francis, 2001**).

C'est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail comme pâturage d'hiver. Elle présente une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent (**Nabli, 1989**).



Figure n° 12 : *Artemisia herba alba* dans son environnement

II.2.1. Classification

Artemisia est le nom de genre des armoises, il provient de celui de la déesse grecque de la chasse *Artemisia herba-alba* signifie herbe blanche.

Phylum: Angiospermeae.

Sous Phylum: Dicotylédones

Ordre: Gampanulatae

Famille: Asteraceae.

Sous-famille: Asterioideae.

Tribu: Anthemideae.

Sous-tribu: Artemisiinae.

Genre: *Artemisia*.

Espèce: *Herba-alba* (Dupont, 2004).

II.2.2. Dénomination

Nom scientifique : *Artemisia herba alba* Asso ou *Artemisia inculta* del (Quezel et Santa, 1963).

Nom locale :

- **en arabe :** Chih, Gaisoum, Chih korassani (Seddiek *et al*, 2011 ; Al-Khazraji *et al*, 1993).
- **en tamazight :** Ifsi (El Rhaffari, 2008)

Noms en français : Armoise blanche (El Rhaffari, 2008).

Noms en anglais: Desert worm wood ou white wormwood (Seddiek *et al*, 2011; Abass, 2012).

Nom en Italie : assenzio romano.

II.2.3. Description botanique

II.2.3.1. Partie aérienne:

-**Tige :** ou partie ligneuse, ramifiée de 30 à 50 centimètres de long, très feuillée avec une couche épaisse. La touffe des tiges est plus importante selon la pluviométrie (Ozenda, 1985).

-**Feuilles :** elles sont courtes, alternées, très divisées, laineuses, blanches, pubescentes et pennatifidées. Elles diminuent de taille au fur et à mesure que les rameaux s'allongent. Cette diminution de taille des feuilles entraîne une réduction considérable de la surface transparente, et par conséquent, permet à la plante de résister à la sécheresse (Pourrat, 1974).

-**Fleurs :** elles sont groupées en grappes, à capitules très petites (3/1.5mm) et ovoïdes. L'involucre est à bractées imbriquées, le réceptacle floral est nu avec 2 à 5 fleurs jaunâtres par capitule toutes hermaphrodites (Pottier, 1981).

Le calice est pentamère et est toujours réduit, la corolle est gamopétale et pentamère et peut se présenter sous trois formes différentes : tubuleuse, bilabée ou ligulée (Goris, 1967).

II.2.3.2. Partie souterraine ou racine

Elle se présente sous forme d'une racine principale, ligneuse et épaisse, bien distincte des racines secondaires et qui s'enfonce dans le sol tel un pivot. La racine pénètre profondément jusqu'à 40 à 50 centimètres et ne se ramifie qu'à cette profondeur (Aidoud, 1983).

La saison d'automne est considérée comme une période très favorable pour la bonne croissance végétative de *l'Artemisia herba alba* Asso, la floraison commence en Juin et se développe essentiellement en fin d'été (Ghrabi et Al-Rowaily, 2005).

II.2.4. Distribution géographique

D'après Nabli (1989), l'armoise blanche est largement répandue depuis les îles Canaries et le Sud-Est de l'Espagne jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan) et à travers l'Afrique du Nord et le Proche-Orient. Elle pousse dans l'ensemble des pays du bassin méditerranéen. En Afrique du nord, cette espèce couvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares.

Artemisia herba-alba est absente des zones littorales nord et se raréfie dans l'extrême sud.

II.2.5. Ecologie

En général, l'armoise blanche est rencontrée dans la zone phytoclimatique dans des semi-aride jusqu'au saharien, sous une pluviosité annuelle de 150 à 350 mm et des hivers frais à froids ou même tempérés.

DJEBAILI en 1978, classe les stations représentatives des régions steppiques (Ouest et Est) selon la période de sécheresse, en quatre catégories :

- La première avec une période de sécheresse de 11 à 12 mois (Biskra, ouled djellal, laghouat, Ain-Sefra et cl- Biodh).
- La deuxième avec une période de sécheresse de 7 à 10 mois (elKantara).
- La troisième avec une période de 6 mois de sécheresse (Mécheria).
- La quatrième avec 4 à 5 mois de sécheresse (Djelfa, Aflou, et Batna).

Du point de vue édaphique, l'armoise blanche peut se trouver sur des sols à texture fine allant du limono-argilo-sableuse à la limoneuse et peut même occuper les sols pauvres en matière organique, les sols rocailloux superficiels, mais rarement les sols gypseux et jamais les sols salins (Gseyra, 2006).

II.2.6. Composition chimique

L'armoise blanche est la principale espèce végétale pâturée surtout au printemps et en été. Elle constitue une source très importante pour le cheptel. La biomasse de cette plante constitue un aliment de substitution pour l'élevage du bétail en période de disette. La matière sèche apporte entre 6 et 11 % de matière protéique brute dont 72% est constitué d'acides aminés. En effet La valeur énergétique de l'armoise herbe blanche, très faible en hiver (0,2 à 0,4 UF/kg MS), augmente rapidement au printemps (0,92 UF/kg MS) pour diminuer de nouveau en été (0,6 UF/kg MS). En automne, les pluies de septembre provoquent une nouvelle période de croissance et la valeur énergétique augmente de nouveau (0,8 UF/kg MS) (Messai, 2011).

Cette plante présente un équilibre harmonieux entre le calcium (0.5%) et le phosphore (0.07%). Elle est assez riche en cellulose (26,73%) (Ayed et al, 2007).

D'après Khafagy *et al.*, (1971), plusieurs métabolites secondaires ont été isolés de l'*A. herba-alba*, peut être les plus importants sont les sesquiterpènes lactones. D'autres études ont été portées sur les flavonoïdes et les huiles essentielles.

➤ **Composés polyphénoliques**

La plante est riche en composés polyphénoliques, qui sont les meilleurs antioxydants, flavonoïdes et tanins. Le terme flavonoïde désigne une très large gamme des composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Les principaux flavonoïdes isolés à partir de l'armoise herbe blanche sont : la hispiduline, la cirsimaritrine. Des flavones glycosidiques comme la 3- rutinoside, quercétine et isovitexine sont aussi mis en évidence (Moufid et Eddouks, 2012).

➤ **Les Sesquiterpènes lactones**

Les sesquiterpènes lactones sont parmi les produits naturels trouvés dans les espèces d'*Artemisia* et sont en grande partie responsable de l'importance de ces plantes en médecine et en pharmacie. Plusieurs types de sesquiterpènes lactones ont été trouvés dans les parties aériennes de *Artemisia herba alba* Asso : des eudesmanolides, germacranolides, guainalides, et xanthonolides (Moufid ; Eddouks, 2012).

➤ **Les huiles essentielles**

Les plantes de la famille des Astéracées, auquel appartient l'*Artemisia herba-alba*, ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques par intérêt économique surtout pour leurs huiles essentielles (Messai, 2011).

Généralement, l'huile a été largement rapporté à contenir des composés de monoterpénoïdes, principalement oxygéné, telle que le 1,8-cinéole, chrysanthenone, chrysanthenol, α β -thujones, et le camphre comme principales composantes (Mohamed *et al.*, 2010).

Tableau n° 1: Composants majoritaires d'huiles essentielles d'espèces *Artemisia herba alba* distribuées dans l'Algérie. (Chibani, 2013 ;Goudjil, 2016).

Composés %	Méchria, L'ouest d'Algérie	Nord Sahara Algérien	M'Sila	Dejelfa	BordjBouArréridj	Bou Saada	Biskra
Camphène		4.9-4.5					
1,8-Cinéole		13.4-2.4		5.80	5.7		
α -Thujone						2.02- 26.7	7.85
β -Thujone	41.20		15.00		5.5	1.65- 21.5	
Chrysanthenone			15.80		54.5	7.3- 21.2	
Camphre	21.20	49.3- 48.1	19.40	5.60	15.9	1.7- 30	
(E)-Pinocarvéol			16.90				
Pinocarvone		5.6-5.5					
Bornéol		7.3-7.1					
Verbenone							
Acétate de Chrysanthenyle							25.12
Acétate de Myrtenyle							7.39
Davanaether				8.80			
Germacrene D							
Davanone				36.10			
(2E,3Z) 3,5- Heptadienal-2- ethyliden-6-Me							8.58

II.2.7.Utilisation de la plante

L'*Artemisia herba alba* Asso est très utilisé dans la médecine traditionnelle par de nombreuses cultures au Moyen-Orient et en l'Afrique du nord depuis les temps anciens contre plusieurs maladies. Elle a été utilisée, tout d'abord, comme aromatisant dans le thé et le café, puis elle est devenue une panacée dans la médecine traditionnelle arabo-musulmane.

Elle est la plus connue en Algérie. Le chih est un remède très populaire auquel on a souvent recours: pour faciliter la digestion, calmer les douleurs abdominales et certains malaises du foie et antidiabétique. Ses racines sont indiquées contre certains troubles nerveux (**Baba Aissa, 2000**).

L'armoise blanche a été reconnue par les populations pastorales et nomades pour ses vertus purgatives. On l'utilise notamment comme vermifuge chez les ovins (**Messai, 2011**).

La plante pourrait constituer un bon adjuvant pour combattre l'obésité, le stress oxydatif (**Abass, 2012**).

Dans une étude visant à révéler les raisons de l'utilisation de cette plantes, l'extrait de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* Asso a été testé contre différentes bactéries qui causeraient des troubles intestinaux, ainsi que sur des lapins afin de déterminer l'activité antispasmodique de cet extrait. L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* Asso a montré une activité antibactérienne contre plusieurs bactéries telle que *Escherichia coli*, *Shigella sonnei* et la *Salmonelle typhose* (**Mansour, 2015**).

II.2.8.Toxicité

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque dans la phytothérapie. Comme tous les produits naturels : « ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme ».A forte dose, l'armoise est abortive, neurotoxique et hémorragique. La thuyone constitue la substance toxique et bioactive dans l'armoise et la forme la plus toxique est l'alpha-thuyone. Elle a des effets convulsivantes (**Bouzidi, 2016**).

II.2. Le genre *Mentha pulegium*.L

II.2.1. Historique

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

Originnaire d'Asie et de l'Europe médiévale, la menthe est un aromate connu pour sa prolifération rapide. Libérant un parfum très fort et agréable, elle embaumait les temples grecs et les demeures des Hébreux. Elle éloignait également les puces et assaisonnaient les mets. (Addadi et Ferradji, 2014)

II.2.1.1. Généralité sur La menthe

La menthe est une plante aromatique aux multiples propriétés. Sur le plan médicinal elle révèle des capacités antidouleur, antiseptique ou digestive, tandis qu'en cuisine la menthe apporte une petite touche de fraîcheur à nos repas.

La menthe est une plante vivace, vivace du verbe vivre donc une herbacée qui vit longtemps en général supérieur à deux ans, qui produit plusieurs floraisons et qui résiste aux rigueurs de la mauvaise saison, que ce soit le gel de l'hiver ou la sécheresse des périodes de canicule.

- La menthe, riche en vitamine C, en fer, en manganèse, a des vertus digestives, antiseptiques, stimulantes. Elle est conseillée pour les femmes enceintes, allaitantes, et les personnes présentant des troubles digestifs, ou sujets aux maux de ventre.
- De par sa forte teneur en antioxydants, elle contribue à limiter les risques de maladies cardiovasculaires ainsi que celles liées au vieillissement.
- La menthe se révèle être un insecticide naturel efficace.
- Appliquée au niveau des ouvertures de votre habitation, elle devient une barrière contre les moustiques.

La menthe est l'une des plantes les plus renommées. Nous la connaissons généralement pour son odeur, ses qualités gustatives et ses bienfaits en phytothérapie. Comme d'autres plantes la menthe possède elle aussi de nombreuses variétés. Nous ne pouvons pas aborder toutes les variétés de menthe, je vous propose de nous attarder sur 4 d'entre elles, qui me semblent les plus intéressantes :

- 1 • Menthe poivrée (*Mentha x piperita*)
- 2 • Menthe des champs (*Mentha arvensis*)
- 3 • Menthe pouliot ou Menthe 'Flio' (*Mentha pulegium*)
- 4 • Menthe verte (*Mentha spicata*). (Addadi et Ferradji, 2014)

II.2.2. Généralité sur *Mentha pulegium* L. ssp. *Pulegium*:

Les Menthes, du nom latin *Mentha*, sont des herbacées vivaces, indigènes et très odorantes appartenant à la famille des Lamiacées (Jahandiez et Marie, 1934). 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).

Autant les menthes sont faciles à reconnaître à leur odeur tout à fait caractéristique, autant elles sont difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires et des origines hybrides qui les relient. Parmi toutes les Lamiacées, les menthes se reconnaissent, en plus de leur odeur spéciale, à leurs fleurs très petites, à leurs corolles presque régulières à quatre lobes presque égaux et leurs quatre étamines également presque égales (Benayad, 2008).

La menthe pouliot, *Mentha pulegium*, est l'espèce la plus exploitée pour ses vertus médicinales et aromatiques (Rana et al., 1997 ; Cantino, 1998).

Elle est représentée par deux sous espèces: *Mentha pulegium* sp. *Vulgaris* et *Mentha pulegium* ssp. *Pulegium* (Quézel et Santa, 1962). Cette dernière fera l'objet de notre étude.

Elle fait partie de la sixième et la dernière série de la famille des labiées (Zaidi et al., 1998) (ou lamiacées) qui renferme 4000 espèces en 200 genres, nombreuses dans les pays méditerranéens dont 146 espèces en Algérie (Abdel, 2003).

II.2.3. Description botanique

C'est une plante de 10 à 30 cm de hauteur, à inflorescence formée de nombreux verticillés denses, feuillés et distants (Quézel et Santa, 1963). Sa saveur est fortement aromatique et son odeur est intense. Le nom de *pulegium* vient de latin *pulex*, la puce car la plante a la propriété d'éloigner les puces (Bekhechi, 2008).

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

Les fleurs, qui apparaissent l'été, de mai à fin septembre, sont rose lilas, parfois blanches, et sont groupées à l'aisselle des feuilles en glomérules largement espacés le long de la tige.

Chaque inflorescence, en cyme, est axillée par une bractée foliacée. Elle englobe jusqu'à 30 fleurs. Deux pré feuilles, réduites, naissent à la base de chaque inflorescence. Le calice, persistant et finement velu, est en cloche. Il est faiblement bilabié, strié et à 5 dents subégales (les 2 dents inférieures sont plus étroites). La corolle est gamopétale formée de cinq pétales soudées. Le fruit est constitué de 4 akènes. (Quézel et Santa, 1963 ; Arvy et Gallouin, 2003).

II.2.4 Position systématique

D'après Quézel et Santa (1963) et Guignard et Dupont (2004), la systématique de *Mentha pulegium* est la suivante :

Règne	Végétale
Embranchement	Phanérogames ou Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>Menthapulegium</i> (L.)
Sous espèce	<i>Menthapulegium</i> ssp. <i>Pulegium</i>



Figure n° 13 : le genre *Mentha pulegium .L*

II.2.5. Caractérisation de l'huile essentielle de la *Mentha pulegium L*

La menthe pouliot contient une huile essentielle .C'est un liquide jaunâtre , d'odeurs très fortes, solubles dans l'alcool , composées de 75 à 80% de pulégone liquide incolore d'odeur aromatique et de menthol de limonène lévogyre de dipentène , la menthe pouliot contient également du tanin , des matières cellulose et pectique , du sucre etc. **(Beloued, 1998)**.

L'huile essentielle de *Mentha pulegium.L* est caractérisée par prépondérance de la (+)-pulegone (70-90%) accompagnée d'autres cétones mono terpéniques : isomenthone, menthone, piperténone **(Bremness, 2001)**.

II.2.6. Propriété et usage

La menthe pouliot a surtout des vertus thérapeutiques, insecticide, que culinaire à cause de son gout plus amer, utilisée dans sec différents ; nous procure une multitude de modes d'emploi et recettes.

Il semble que dans le temps des anciens elle était méconnue, utilisée uniquement pour former des couronnes qu'ils portaient lors des cérémonies religieuses, par contre les chinois

connaissaient ses propriétés calmante et antispasmodique, Hippocrate la considérait comme excitante alors que Pline à constater sin effet antalgique (**Kebissi, 2004**).

II.2.6.1. Parasiticide

On signale que les propriétés de la menthe pouliot sont dues aux principes actifs qu'elle renferme. La menthe pouliot constitue un des principaux moyens de lutte contre la vermine (**Leclerc, 1976**). En la rependant (l'huile essentielle de notre menthe) dans l'air d'une pièce elle éloigne les parasites et insectes piqueurs. On en met dans les niches ou paniers des chiens, près des réserves à gains, de salaison et de fromages car l'odeur déplaît aux puces et aux petits rongeurs.

On en brûle dans les locaux infestés par les puces, et on l'utilise aussi sous forme de lotion, sur le pelage des animaux domestique pour les débarrasser de ces nuisibles parasites (**Baba, 2000**).

II.2.6.2. Bactéricide

Purifie l'eau dans les pays arabes, l'eau devient plus ou moins fraîche car elle est conservée dans des jarres parfois pendant plusieurs jours. L'ajout d'une poignée de feuilles de menthe permet d'enrayer le développement des bactéries en plus de rendre l'eau plus désaltérante. (**Noudin et Grumbach, 2000**).

II.2.6.3. phyto-aromathérapie

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

II.2.7. Aires de répartition

Mentha pulegium est très répandue dans le nord de l'Afrique, dans la région méditerranéenne et dans l'Asie (**Quézel et Santa, 1963 ; Chalchat et al., 2000**).

En Algérie, *Mentha pulegium* est très abondante et pousse spontanément (**Quézel et Santa, 1963**). Elle se rencontre dans les zones humides et généralement marécageuses, près des routes, et elle est plus abondante dans les pâturages de montagnes (**Chalchat et al., 2000**).

II.2.8. Utilisation en médecine traditionnelle

La menthe pouliot, connue sous le nom vernaculaire arabe de « fliyou », est largement utilisée en médecine populaire dans de nombreuses cultures (**Agnihotri et al., 2005 ; Diaz-Maroto et al., 2007**). Les parties aériennes fleuries de cette plante sont traditionnellement utilisées pour leurs propriétés antimicrobiennes, expectorantes, carminatives et antispasmodiques dans le traitement du rhume, la bronchite, la tuberculose, la sinusite, le choléra, les intoxications alimentaires, les flatulences et les coliques intestinales (**Zargari, 1990 ; Delille, 2007**).

Depuis l'antiquité, Les Menthes conservent une grande diversité d'emplois et occupent une large place dans la thérapeutique. Elles fortifient tout le système nerveux, stimulant diffusible et aussi un sédatif diffusible, la menthe rend d'éminents services contre la nervosité et les différentes manifestations nerveuses (**Benayad, 2008**).

Chapitre III

Les microorganismes testées

III. 1. Les micro-organismes :

Les micro-organismes et/ou de leurs produits peuvent causer des pathologies dans l'hôte, parmi les maladies d'origine microbienne, certaines sont dues à des champignons, virus, d'autres à des protozoaires, ou des bactéries. (**Jean, 2005**).

Dans ce travail l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des plantes choisies a été testée sur les MO suivants :

III.2. *Escherichia coli*

Escherichia coli (ou *E. coli* ou colibacille) est une bactérie, organisme procaryote appartenant à la famille des Entérobactéries. Le colibacille est un bacille, bactérie en forme de bâtonnet, Gram négatif (ce que l'on note souvent Gram -). *Escherichia coli* possède un génome à ADN double brin circulaire de 4,6 millions de paires de bases, qui est entièrement séquencé. Elle se réplique très rapidement à 37°C, toutes les 20 minutes, ce qui permet de multiplier facilement de l'ADN ou des protéines d'intérêt (**Buagnicont, 1995**)

E. coli, hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux souvent retrouvé en petit nombre dans les urines saines. C'est une bactérie largement répandue dans le milieu extérieur, sa présence en quantité importante témoigne d'une contamination fécale récente (**Nauciel et Vildé, 2005**)

III .2.1. Classification d'*E. coli* (Pillet et al., 1986)

Règne : *Bacteria*

Embranchement : *Proteobacteria*

Classe : *GammaProteobacteria*

Ordre : *Enterobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Escherichia*

Espèce : *Escherichia coli* (**pillet et al, 1986**)

III.2.2. Pouvoir pathogène

La majorité des souches d'*E. coli* sont inoffensives, quelques-unes seulement sont pathogènes. Les *E. coli* ont le même pouvoir invasif que *Shigella*. Ils multiplient à l'intérieur des cellules et où ils causent des inflammations avec des diarrhées (Syndrome schigellose) sanglantes riches en mucus et leucocytes (**Nauciel et validé, 2005**).

C'est une bactérie communément trouvée dans les intestins des mammifères et des humains. Il en existe différentes formes dont certaines sont pathogènes, provoquant de gastro-entérites ayant des traductions cliniques variables : diarrhées d'allure banale, diarrhée sanglante. Chez le nourrisson la diarrhée peut entraîner assez rapidement un état de déshydratation (**Nauciel et Vildé, 2005**).

Elle peut aussi causer des infections de méningites ou une septicémie (**Eyquen et Montgner, 2000**).

Le point de départ de l'infection est le plus souvent le tube digestif des animaux, notamment les bovins. La contamination se fait ensuite chez l'homme par voie orale, par ingestion d'aliments contaminés. Une fois à l'intérieur de l'organisme, les souches pathogènes vont coloniser la flore intestinale et s'y multiplier.

L'Escherichia coli peut également se transmettre via contact direct par les mains avec des animaux contaminés ou avec des personnes infectées.

III.3. *Bacillus cereus*

Une bactérie largement répandue dans la nature, présente dans plusieurs réservoirs. Elle pourrait vivre en symbiose dans l'intestin de différentes espèces d'arthropodes (**Bornert, 2000 ; Margulis et al., 1998**).

Cette espèce saprophyte du sol est également capable de se multiplier et de produire des spores qui lui permettront de persister dans le sol ou elle est extrêmement représentée (**Kotiranta et al., 2000 ; Vilain et al., 2006**).

Est une Bacille Gram positif de 1,4 µm habituellement observés en paires ou en chaînettes courtes. *B.cereus* est anaérobie facultatif, mobile et capable de former des endospores, et ses colonies blanches d'aspect granuleux font entre 2 et 7 mm de diamètre. Une croissance est observée à des températures se situant entre 10-20 °C et 35-45 °C, la température optimale étant d'environ 37 °C. Le bacille peut produire

six types de toxines, à savoir cinq entérotoxines et une toxine émétique, qui peuvent être thermostables ou thermolabiles, selon les souches (**Guinebretier et al., 2008**).

Responsable d'intoxications alimentaires spontanément résolutive (24-48 heures) de deux types (syndrome diarrhéique et syndrome émétique) ainsi que d'infections opportunistes

III.3.1. Classification de *Bacillus cereus*

Règne : *Bacteria*

Embranchement : *Firmicutes*

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Bacillales*

Famille : *Bacillaceae*

Genre : *Bacillus*

Espèce : *Bacillus cereus*(**Larpen, 2000**)

III.3.2. Pouvoir pathogène

B. cereus est responsable d'intoxications se traduisant par des symptômes émétiques et de toxi-infections caractérisées par des symptômes diarrhéiques. Les maladies à symptômes émétiques sont causées par l'ingestion d'une toxine, le céréulide, produite dans l'aliment au cours de la croissance de *B. cereus*. Les maladies à symptômes diarrhéiques seraient causées par l'ingestion de cellules et/ou de spores de *B. cereus*, suivie d'une production d'entérotoxines dans l'intestin. Toutefois, *B. cereus* produit plusieurs autres protéines à effet toxique in vitro ou sur modèles animaux, et il n'est pas exclu que certaines d'entre elles contribuent aussi aux symptômes diarrhéiques (**Ehling-Schulz et al., 2004**).

La principale voie de transmission de cette bactérie à l'Homme est alimentaire. En effet, de par son abondance dans le sol et la résistance de ses spores, *B.cereus* peut contaminer pratiquement toutes les catégories d'aliments et particulièrement les végétaux.

III.4. *Proteus mirabilis*

Les *Proteus mirabilis* sont largement réponsus dans l'environnement naturel, y compris l'eau polluée, le sol et le fumier, on les rencontre aussi dans la viande putride, des abcès. (**Kelley Struble et al.,2009**).

Les bactéries appartenant à l'espèce *Proteus mirabilis* .Ont une morphologie des petits bacilles à Gram négatif en forme de bâtonnet, généralement très mobiles, polymorphes, mesurant de 0,4 à 0,8 µm de diamètre sur 1,0 µm à 80 µm de longueur, très flagellé en alternance entre les nageurs végétatives et cellules grouillantes hyper- flagellé (**Belas, 1996**).*Proteus mirabilis* a la capacité de s'allonger et sécréter un polysaccharide lorsqu'il est en contact avec des surfaces solides (**Liu, 2010**).

III.4.1. Classification de *Proteus mirabilis*

La classification des bactéries de genre *Proteus* a changé au cours du XXe siècle. Le genre *Proteus* est actuellement défini comme appartenant à la famille des Enterobacteriaceae au sein de l'ordre Entérobactériale qui regroupe l'espèce *Proteus mirabilis* (**Pillet et al, 1986**).

Règne : Bacteria.

Embranchement : Protoeubacteria.

Classe : Gamma Proteobacteria.

Ordre : Entérobactériale.

Famille : Enterobacteriaceae.

Genre : *Proteus*.

Espèce : *Proteus mirabilis*

III.4.2. Pouvoir pathogène

Les *Proteus* sont des bactéries habituellement saprophyte. Elles ont un pouvoir pathogène varié et peuvent se comporter comme des pathogènes opportunistes notamment chez les individus hospitalisé, immunodéprimés, cathétérismes ou présentant des anomalies des voies urinaire. (**Bonnet et al., 1994**).

III.5. *Pseudomonas aeruginosa*

Le genre *Pseudomonas*, regroupe des bacilles Gram négatif en forme de bâtonnets renflés de 2 à 4 µm de longueur et caractérisé par une pigmentation bleue verte. Ils sont des aérobies stricts, mobile à ciliature monotriche avec un flagelle polaire qui joue un rôle important dans la pathogénicité. Ces bactéries sont asporulées et peuvent produire des pigments, tels que la pyocyanine et la pyoverdine (Bentzmann et Plésiat, 2011 ; Pilet et al., 1979).

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie ubiquiste, qui vit normalement à l'état saprophytique dans l'eau, l'air, le sol humide et sur les végétaux. Mais elle peut aussi vivre en commensale dans le tube digestif ainsi que les téguments de l'homme et de divers animaux et on la retrouve plus rarement sur la salive. (Bentzmann et Plésiat, 2011).

III.5.1. Classification de *Pseudomonas aeruginosa*

Règne : *Bacteria*

Division : *Proteobacteria*

Classe : *Gammaproteobacteria*

Ordre : *Pseudomonadales*

Famille : *Pseudomonadaceae*

Genre : *Pseudomonas*

Espèce : *Pseudomonas aeruginosa* (Pilet et al., 1986)

III.5.2. Pouvoir pathogène

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie pathogène opportuniste capable d'infecter un large spectre d'hotes comme les amibes, les nématodes, les insectes, les plantes, les animaux et l'homme (Silby et al., 2011).

Chez les individus sains, il est peu virulent, mais elle peut provoquer des infections parfois sévères chez les sujets dont les défenses sont amoindries. Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques, oculaires. Elle peut aussi infecter des lésions cutanées (brûlures), des plaies traumatiques, elle peut provoquer aussi des otites externes (pouvant évoluer d'une manière invasive chez les sujets âgés), des septicémies, des endocardites (Nauciel et Vildé, 2005).

III.6. *Candida albicans*

Candida albicans, est une levure polymorphe opportuniste, est le pathogène fongique le plus commun chez l'humain. Il est responsable, entre autres, de diverses

candidioses orales et de vaginites, deux infections très répandues. Elle a une forme variable ronde à allongée. Commensale dans le tube digestif de l'homme, des mammifères et des oiseaux, elle est opportuniste, devient pathogène en condition favorable. (Segal, 2005).

III.6.1. Classification de *Candida albicans* (Jones et al., 2004)

Empire : *Eukaryota*

Règne : *Fungi*

Embranchement : *Ascomycota*

Classe : *Saccharomycetes*

Ordre : *Saccharomycetales*

Famille : *Saccharomycetaceae*

Genre : *Candida*

Espèce : *Candidaalbicans*

III.6.2. Pouvoir pathogène

Candida albicans est un saprophyte, se dérive à un pathogène après sa grande multiplication dans un environnement. elle provoque un érythème cuisant recouvert par fois de dépôts blanchâtre crémeux (Bouvenot et al., 1996)

III.7. *Aspergillus brasiliensis*

Un genre appartenant à la classe des Ascomycètes. Le thalle, hyalin ou coloré, présente un mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores dressés, terminés en vésicule (Roquebert, 1998).

Comprend environ 185 espèces réparties en 18 groupes, morphologiquement, génétiquement et physiologiquement proches (Roquebert, 1998). Une vingtaine d'espèces est impliquée dans des pathologies animales et humaines. Saprophyte dans le sol, le compost, les denrées alimentaires, les céréales, on trouve 1-20 spores/m³.

Les *Aspergillus* ont une large répartition géographique, mais sont plus souvent associés aux régions à climat chaud. Il est fréquemment retrouvé dans les céréales, les fruits et les légumes moisissés, le fourrage, les produits laitiers et les arachides (Lamrani, 2009).

III.7.1. Classification d'*Aspergillus brasiliensis*

Empire : *Eukaryota*

Règne : *Fungi*

Division : *Ascomycota*

Classe : *Eurotiomycetes*

Sous-classe : *Eurotiomycetidae*

Ordre: *Eurotiales*

Famille : *Trichocomaceae*

Genre : *Aspergillus*

Espèce : *brasiliensis*

III.7.2. Pouvoir pathogène

Certaines *A.brasiliensis* pourraient produire des ochratoxines A (**Samson et al.,2004**) , il peut causer une otite externe invasive dont les conséquences peuvent aller de la perte définitive de l'audition au décès du patient (**Parize, 2008**).

Partie expérimentale

Chapitre IV

Matériel et méthodes

IV.1. Matériel végétale

IV.1.1. La récolte

La cueillette a été faite le mois de Mars 2018 pour *Artemisia herba alba* et *Mentha puleigum* (Figures n° 14). L'échantillonnage a été fait dans une région propre, loin de tout impact de pollution (Figures n° 15 et 16). Les dates, altitudes et localités indiquées sont dans le Tableau n° 2. Après la récolte, les plantes ont été identifiées au laboratoire de recherche de génie des procédés de l'université.



Figure n° 14: photographie des plantes étudiée (A) : *Artemisia herba alba*, (B) : *Mentha*

Tableau n° 2 : Situation géographique des sites de récolte

Nom scientifique	Région et station de récoltes	Latitude	Longitude	Date de récolte
<i>Artemisia herba alba</i>	Wilaya de Biskra, Daira : El Kantara Ain Zaatout	35.162475 nord	5.834034 est	Mars 2018
<i>Mentha puleigum</i>	wilaya de Mostaganem, dans foret de Mesra	35 ⁰ 50'20 nord	0 ⁰ 09'58 est	Mars 2018



Figure n° 15: Carte géographique de la région de Biskra montrant la station de récolte d'*Artemisia herba alba* (Google Maps, 2018)

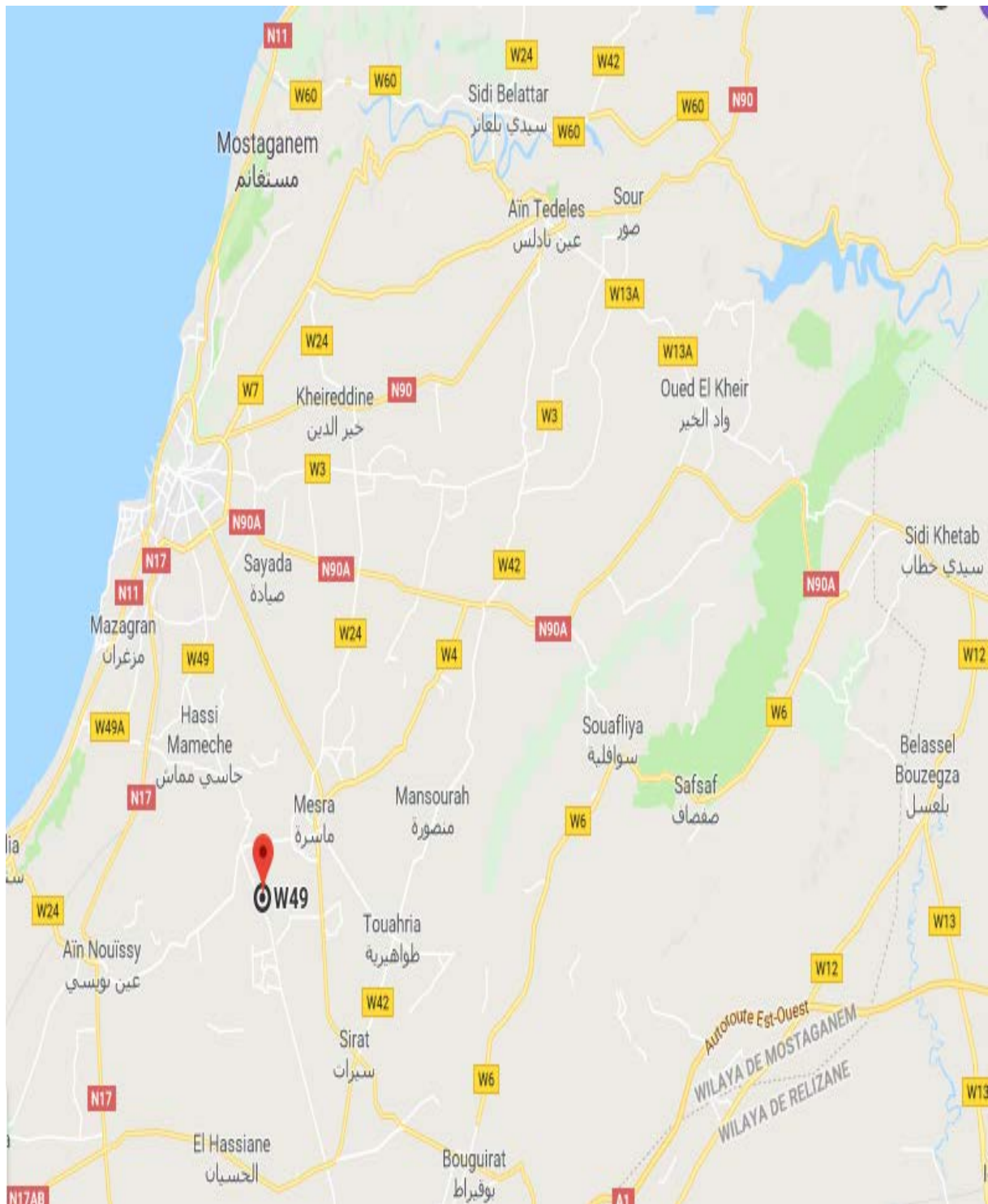


Figure n° 16: Carte géographique de la région de Mostaganem montrant la station de récolte de *Mentha pulegium* (Google Maps, 2018)

IV .1.2.Séchage

Le séchage d'*Artemisia herba alba* a été effectué à l'abri du soleil et à une température ambiante, ne dépassant pas 40 C° pour ne pas altérer la teneur en huile essentielle, ni la couleur des feuilles pendant 15 jours (**Gseyra, 2006**). Par contre la deuxième plante *Mentha pulegium* été utilisée à l'état frais.

IV.1.3.Détermination de l'humidité

Le contenu en humidité des plantes a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve. Une quantité de 5g de la matière a été exposée à une température de 105 C° dans une étuve, jusqu'à l'obtention d'un poids constant (en général pendant 4 heures) (**Twindell et al., 2007 ; Achak, 2006**).

Le taux d'humidité des feuilles a été déterminé selon la formule suivante :

$$T\% = \frac{(\text{Poids } \alpha - \text{Poids } \beta) \times 100}{\text{Poids } \alpha}$$

Considérons:

α : Poids de l'échantillon (feuilles fraîche) en gramme.

β : Poids de l'échantillon (feuilles sèches) en gramme.

H% : Taux d'humidité exprime en pourcentage.

IV.2. Les huiles essentielles

IV.2.1. Procédé d'extraction

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par entraînement à la vapeur d'eau. L'extraction des huiles essentielles des feuilles fraîches et des feuilles sèches d'*Artemisia herba alba* et *Mentha pulegium* respectivement a été réalisée à l'aide d'un vapodistillateur de type SPRING A 105 12 Litres (**Figure n° 17**).



Figure n° 17: Vapodistillation de type SPRING A 105 12 LITRE utilisé pour l'extraction des huiles essentielles de deux plantes.

Pour ce faire, 1 Kg 400 de matériel végétal est placé sur une grille qui surmonte l'eau en ébullition. Les vapeurs formées dans l'extracteur traversent la plante, libèrent l'huile du tissu végétal et l'entraînent avec elles. Après condensation dans le réfrigérant, celles-ci chutent et sont récupérées dans une ampoule de décantation, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité. L'huile obtenue est conservée à une température de 0°C dans des tubes en verre opaques, fermés hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière jusqu'à son usage.

IV.2.2. Calcule du rendement

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel utilisé pour cent. Après récupération d'huile essentielle, le rendement est calculé par la méthode suivante (AFNOR, 2000).

$$\text{RHE} = \frac{M}{M_0} \cdot 100$$

RHE : Le rendement en huile essentielle(%)

M : la masse de l'huile essentielle en gramme

M₀ : la masse de la plante en gramme

IV.2.3. Procédure microbiologique

IV.2.3.1. Les souches testées

L'effet antimicrobien des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et *Mentha pulegium* été testée sur six souches microbiennes de références provenant du commerce comme le montre le tableau n°,

Tableau n° 3 : Liste des souches microbienne testées

	Souche	Code
Gram négative	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
	<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 35659
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
Gram positive	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876
Levure	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
Champignon	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404

ATCC: American Type Culture Collection.

IV.2.3.2. Milieux de cultures utilisées

Les milieux de culture utilisés pour les différents tests microbiologiques sont les suivants (annexe) :

- Gélose nutritive (GN) ;
- Bouillon nutritif (BN) ;
- Mueller-Hinton gélosé (MH) ;
- Sabouraud bouillon et gélose et
- milieu Potatoes Dextrose Agar (PDA).

IV.2.3.3. Activation des souches (Over-night)

Les inoculums sont préparés à partir d'une culture jeune en milieu liquide (bouillon nutritif) de 18H pour les bactéries, 48H pour les levures et de 3 à 5 jours pour les champignons, et ce, en les diluant dans de l'eau physiologique stérile, de manière à obtenir des suspensions de concentration microbienne déterminée suivant la méthode utilisée pour l'étude de l'activité antimicrobienne des différents agents testés.

IV.2.3.4. Calibration au spectrophotomètre

La standardisation de la turbidité des suspensions microbiennes a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre de type SECOMAM, 1304 UV-VIS réglé sur une longueur d'onde bien déterminée. Les bactéries ont été standardisées à une turbidité optique comprise entre 0.08 et 0.1 mesurée à une longueur d'onde de 625 nm, ce qui correspond à un nombre de cellule 10^8 UFC/ml (Pessini *et al.*, 2003). Quant aux levures, une densité optique comprise entre 0.12 et 0.15 mesurée à 600 nm, correspond à une concentration de 10^6 UFC/ml.

Enfin Pour les champignons la turbidité optique est comprise entre 0.08 et 0.1 à une longueur d'onde de 625nm, ce qui correspond à 10^6 spores/ml (Braga *et al.*, 2007).

IV.3. L'antibiogramme et l'antifongogramme des souches testées

Ce test : pour prédire la sensibilité d'une souche à plusieurs ATB, de même pour l'antifongogramme, il consiste à déterminer la sensibilité des Fungi à différents antifongiques (Burnichon, 2003).

Cette sensibilité est exprimée par l'apparition d'une zone d'inhibition autour d'un disque d'antibiotique ou d'antifongique.

Dans cette étude nous avons cherché la sensibilité des souches aux cinq antibiotiques pour les bactéries et deux antifongiques pour les champignons et levure (Tableau n° 4 et Figure n° 18).

Une série de 20 ml de Mueller-Hinton et de milieu PDA en surfusion sont coulés dans des boîtes Pétri. Après solidification 1 ml de suspension bactérienne et suspension de levure et de champignon (standardisée précédemment) est ensemencé, l'excès de l'inoculum est éliminé du milieu de culture (Shunying *et al.*, 2005).

Les disques d'antibiotiques à tester sont disposés et les disques imprégnés d'antifongiques à la surface de la gélose.

L'incubation s'effectue à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries, à 25°C pour le champignon pendant 5 jours, et à 30°C pour la levure. La lecture se fait par la mesure du cercle formé autour chaque disque (Zone d'inhibition).

Tableau n° 4: Les antibiotiques et les antifongiques utilisés.

Les antibiotiques		
Nom	Sigle	Charge de disque
Doxycycline	DXT	30 µg
Amikacin	AK3	30 µg
Ampiciline	AMP	10 µg
Oxacilline	OX	5 µg
Acide clavulanique	AUG	30 µg
Les antifongiques		
Econazole	ECO	/
Clotrimazole	CLO	/

**Figure n° 18 :** Les disques des antibiotiques et des antifongiques

IV.4. Technique d'étude du pouvoir antimicrobienne des huiles essentielles

L'évaluation de la sensibilité des souches microbiennes vis-à-vis de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* et de *Mentha pulegium* été effectuée selon deux méthodes différentes :

1. la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé (antibio-aromatogramme) a été choisie en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des souches microbiennes et

2. la méthode de dilution d'agar qui nous permet d'identifier la nature bactériostatique de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles en déterminant les concentrations minimales inhibitrices (CMI).

IV.4.1. Technique de l'antibio-aromatogramme (méthode de Vincent)

Cette méthode permet l'estimation qualitative de l'effet inhibiteur de l'huile essentielle vis-à-vis de la croissance des agents microbiens par la mesure du diamètre d'inhibition autour du disque Wattman de 6 mm de diamètre préalablement imprégné d'un volume déterminé d'huile essentielle.

L'ensemencement des souches microbiennes est effectuée par inondation, à la surface de 20 ml du milieu MH gélosé, par 1 ml d'inoculum de 10^8 UFC/ml pour les bactéries, 10^6 spore/ml pour les champignons, et 10^6 UFC/ml pour levure, l'excédent de l'inoculum est éliminé de la boîte pétri (Shunying *et al.*, 2005 ; Bansod et Rai, 2008).

Ensuite, des disques (6mm) de papier Whatman imprégnés d'huiles essentielles ont été déposés en surface du milieu ensemencé (MH pour les bactéries et PDA pour les champignons et levure) à l'aide d'une pince stérile dans des conditions aseptiques.

Les boîtes ont été maintenues à température ambiante pendant 1h pour la bonne diffusion d'HE dans le milieu de culture (Rožman et Jeršk, 2009). Elles sont par la suite incubées à 37°C pendant 24 h pour les bactéries, à 25°C pendant 5 jours pour le champignon, à 30°C pendant 48 h pour la levure (Hellal, 2011).

On mesure la zone d'inhibition en millimètre autour chaque disque pour les souches sensibles.

IV.4.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Son objectif est d'estimer la plus faible concentration des huiles essentielles pour inhiber la croissance microbienne (Skandamis *et al.*, 2001, Denis *et al.*, 2011). Elle se réalise selon la méthode rapportée par Remmal *et al.*, 1993 et setrani *et al.*, 2007.

Des solutions d'Agar à 0.2% ont été préparées pour leurs utilisations comme diluants et aussi favoriser l'homogénéisation de l'huile essentielle dans le milieu Mueller-Hinton.

Afin de déterminer la CMI une gamme de dilutions a été préparées dans la solution d'agar 0.2% : 1/10, 1/25, 1/50, 1/100, 1/300, 1/500, 1/1000, 1/3000 un volume de 1.5 ml de chaque dilution a été transférée dans chaque 13.5 ml de milieu Mueller-Hinton,

Les dilutions finales obtenues sont comme suit : 1/100, 1/250, 1/500, 1/1000, 1/3 000,

1/5 000, 1/10 000, 1/30000.

Nous avons versé dans chaque boîte pétrie la dilution à la même dilution correspondante (exemple : 13.5 ml de MH + solution contenant 9ml d'agar (0.2%) [1/10])... etc.

L'ensemencement de souches microbiennes est effectué à l'aide d'une anse de platine à partir d'un inoculum correspondant à 10^8 UFC/ml pour les bactéries et levure, 10^6 UFC/ml pour les levures et de 10^6 spores/ml pour les champignons.

L'incubation se fait à $37C^\circ$ pendant 24h pour les bactéries, à $30 C^\circ$ pendant 48 h pour les levures et à $25 C^\circ$ pendant 7 jours pour les champignons.

Chapitre IV

Matériel et méthodes

V.1. Matériel végétal

V.1.1. Taux d'humidité

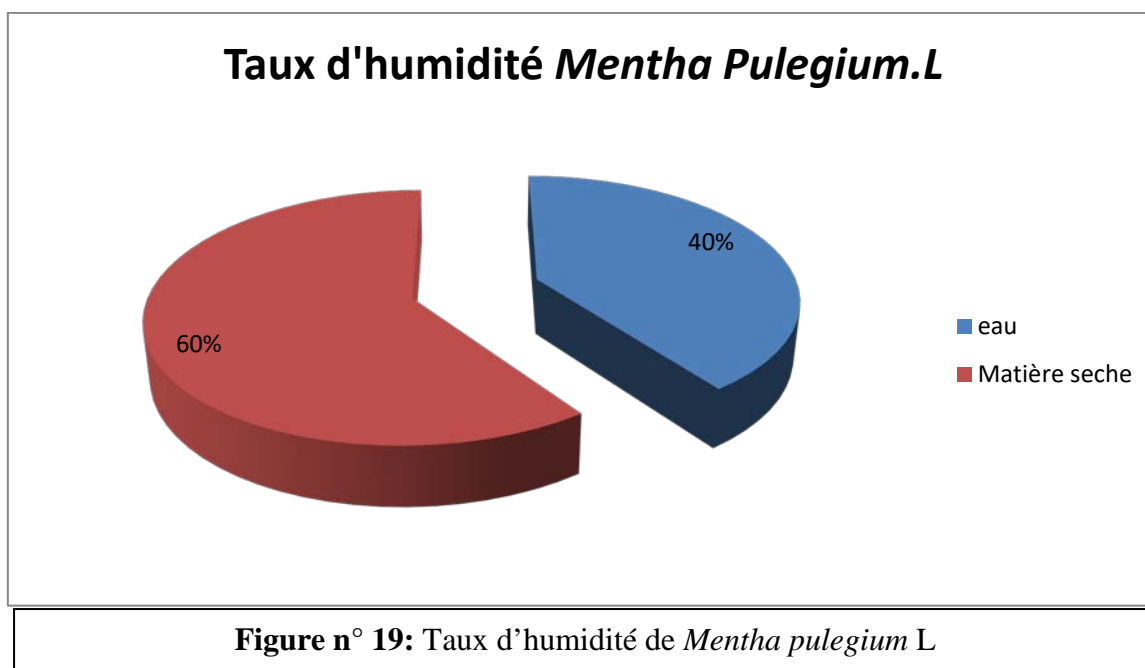
La valeur du taux d'humidité de *Mentha pulegium* est présentée dans le **tableau n° 5** et la **figure n° 19**.

Tableau n° 5: Valeur du taux d'humidité de la *Mentha pulegium* exprimée en pourcentage (%)

Plante	Poids avant séchage en (g)	Poids après séchage en (g)	Taux d'humidité en (%)
<i>Mentha pulegium L.</i>	5	3	40

La détermination de l'humidité de l'espèce *Mentha pulegium* a révélé un taux de 40% ce qui signifie que 60% représentent le taux de matière sèche ayant servi réellement à l'extraction des huiles essentielles.

On n'a pas pu déterminer le taux d'humidité d'*Artemisia herba alba* car elle nous a été fournie à l'état sec.



Les résultats obtenus montrent que la plante présente un taux d'humidité important. Ceci étant probablement dû au fait que la région de collecte est caractérisée par un taux d'humidité élevé.

V.2.Huiles essentielles

V.2. 1.Caractères Organoleptiques

Les huiles essentielles des plantes étudiées sont très aromatiques. Elles ont un aspect liquide. La couleur est jaune clair et jaune foncé pour *Mentha pulegium* et *Artemisia herba alba* respectivement (**Tableau n° 6**).

Tableau n° 6: Caractéristiques organoleptiques des deux plantes étudiées.

Les plantes	Couleur	Aspect	Odeur
<i>Artemisia herba alba</i>	Jaune foncé	Liquide	Forte
<i>Mentha pulegium</i>	Jaune clair	Liquide	Forte agréable

Selon **Afnor, (2000)**, les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, elles sont plus ou moins colorées et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau.

Les différentes caractéristiques propres à chaque huile essentielle permettent de les définir exactement. Ainsi leur connaissance est un gage de qualité qui autorise leur utilisation thérapeutique. De plus, la connaissance de la composition d'une huile essentielle est primordiale pour une utilisation efficace et sécurisée.

V.2.2.Rendement en huiles essentielles

Les rendements en huile essentielle, des feuilles sèches d'*Artemisia herba alba* et des feuilles fraîches de *Mentha pulegium* extraites par entraînement à la vapeur d'eau, ont été calculées en fonction de la masse du matériel végétal traité (**Tableau n° 7**).

Tableau n° 7: Les rendements en huile essentielle d'*Artemisia herba alba* et de *Mentha pulegium.L*

Huile essentielle	<i>Artemisia herba alba</i>	<i>Mentha pulegium. L</i>
	Feuilles sèches	Feuilles fraîches
Rendement (%)	0.28%	0.23%

Les rendements en huile essentielle d'*Artemisia herba alba* et de *Mentha pulegium* sont de 0.28% et 0.23% respectivement. Le rendement en huile essentielle d'*Artemisia herba alba* est

légèrement supérieure à celui de *Mentha pulegium*. L. **Goudjil** en **2016** a obtenu un rendement élevé de 0.54% en huile essentielle avec *Artemisia herba alba* récolté dans la région de Djelfa.

En revanche, le rendement en huile essentielle obtenu avec *Mentha pulegium* est inférieur à celui obtenu par **Lahrech** en **2010** dans la région d'Oran qui est de 0.33%. Ce qui confirme que la région d'origine influe fortement la sécrétion de l'huile d'une plante aromatique.

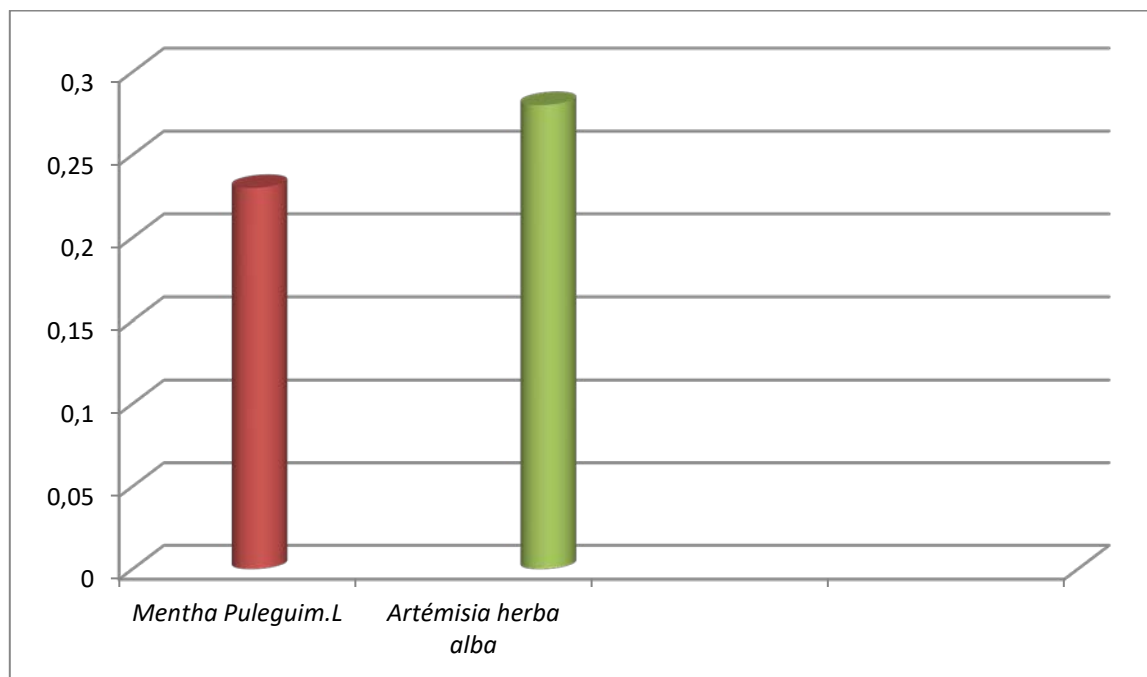


Figure n° 20 : Rendement en huile essentielle des deux plantes obtenue exprimée

Il faut noter que le rendement et la composition chimique des HEs dépend de plusieurs facteurs à savoir l'espèce, le milieu de récolte, la période de récolte, les pratiques culturales et la technique d'extraction (**Lahlou, 2004**).

V.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme)

L'antibiogramme consiste à rechercher la sensibilité des microorganismes testés vis-à-vis des antibiotiques.

Cette sensibilité est exprimée par l'apparition d'une zone d'inhibition autour d'un disque d'antibiotique. Le **tableau n° 8** ci-dessous reporte les valeurs en (mm) des zones d'inhibitions atteintes avec les différents microorganismes étudiés.

Les résultats présentés dans **tableau n° 8** montrent que les souches bactériennes et fongiques testées ont présenté différents degrés de sensibilité à la plupart des agents antimicrobiens employés. Les diamètres des zones d'inhibitions enregistrés varient entre 8 et 27 mm.

Selon **Ponce *et al.*, (2003)**, la sensibilité des microorganismes a été classée par le diamètre des halos d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour les diamètres moins de 8 mm ; sensible (+) pour les diamètres de 9 à 14 mm ; très sensible (++) pour les diamètres de 15 à 19 mm et extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20 mm.

Tableau n° 8 : Résultats de l'effet des antibiotiques sur la croissance des microorganismes étudiés (en mm).

ATB Souches	Doxycycline(D XT)	Amikacine(A K)	Ampicilline (AMP)	Acide calvulani qe (AUG)	Oxacilline (OX)
<i>Escherichia coli</i>	25 (+++)	26(+++)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
<i>Bacillus cereus</i>	17(++)	21(+++)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
<i>Proteus mirabilis</i>	9(+)	19(++)	26(+++)	0(-)	0(-)
<i>Pseudomonasaeruginosa</i>	27(+++)	21(+++)	11 (+)	0 (-)	8 (+)

Les antibiotiques qui ont donné les plus grandes zones d'inhibition sont les suivants : doxycycline (DXT30) contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (27 mm)(**Figure n° 21: (D)**) et *Escherichia coli* ATCC 25922 (25 mm) (**Figure n° 21: (A)**), amikacine (AK30) contre *Escherichia coli* ATCC 25922 (26 mm) (**Figure n° 21: (A)**), *Bacillus cereus* ATCC 10876 (21 mm) (**Figure n° 21: (C)**)et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (21 mm) (**Figure n° 21: (D)**) et ampicilline (AMP10) contre *Proteus mirabilis* ATCC 35659 (26 mm) (**Figure n° 21: (B)**).Par ailleurs, ceux qui se sont montrés inactifs contre deux bactéries ou plus sont les suivants : Acide calvulanique (AUG30) vis-à-vis d'*E. coli* (**Figure n° 21:(A)**) et *B. cereus* (**Figure n° 21: (C)**), Oxacilline (OX5) vis-à-vis d'*E. coli* (**Figure n° 21: (A)**), *B. cereus*

(Figure n° 21:(C)) et *P. mirabilis* (Figure n°21 : (B)) et ampicilline (AMP10) vis-à-vis d'*E. coli* (Figure n° 21: (A)) et *B. cereus* (Figure n° 21: (C)).

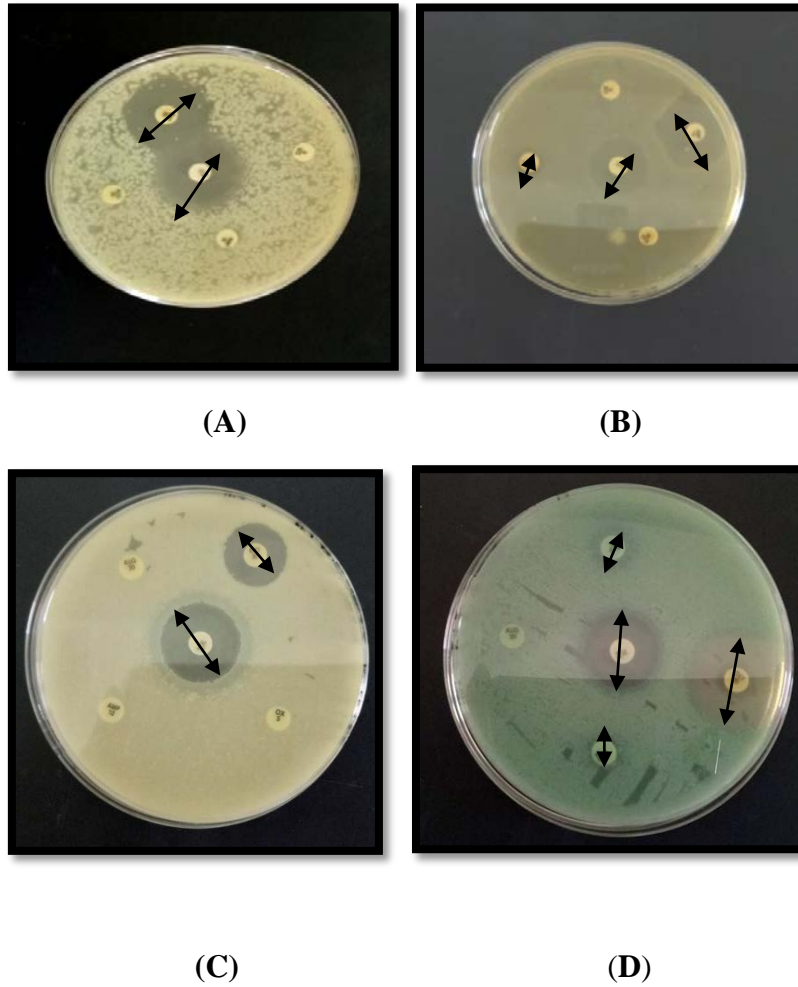


Figure n° 21: Montre les résultats de l'effet des antibiotiques testés sur la croissance des bactéries étudiés : *Escherichia coli*(A), *Proteus mirabilis*(B), *Bacillus cereus*(C) et *Pseudomonas aeruginosa*(D).

V.4. Antifongi-gramme

L'éconazole s'est avéré actif sur *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 avec 22mm (**Tableau n° 9:** et **Figure n° 23:** (A)). Par contre clotrimazole s'est avéré actif sur *Candida albicans* ATCC 10231 avec 22 mm ((**Figure n°22 :** (A)) (**Figure n° 22:** (B)).

Tableau n° 9: Montre les résultats des Antifongiques.

ATF \ Souche	Clotrimazole	Econazole
<i>Candida albicans</i>	20 mm	8 mm
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	9 mm	22 mm

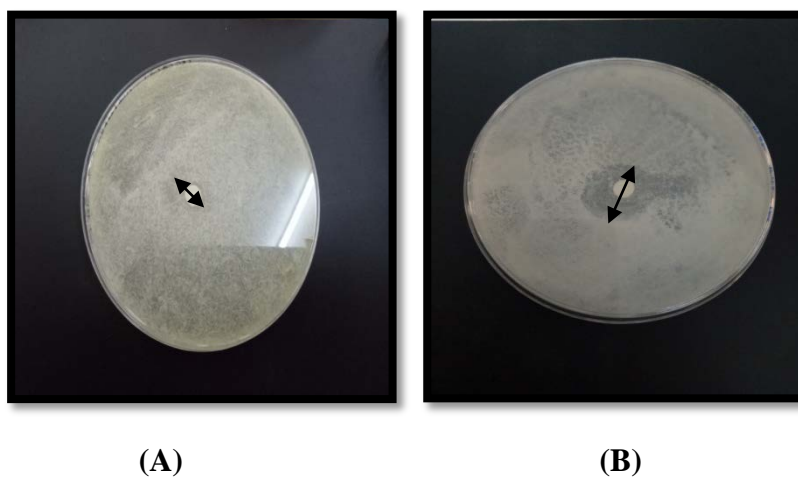


Figure n° 22 : Effet d'Econazole (A) et de Clotrimazole (B) sur la croissance de *Candida albicans*

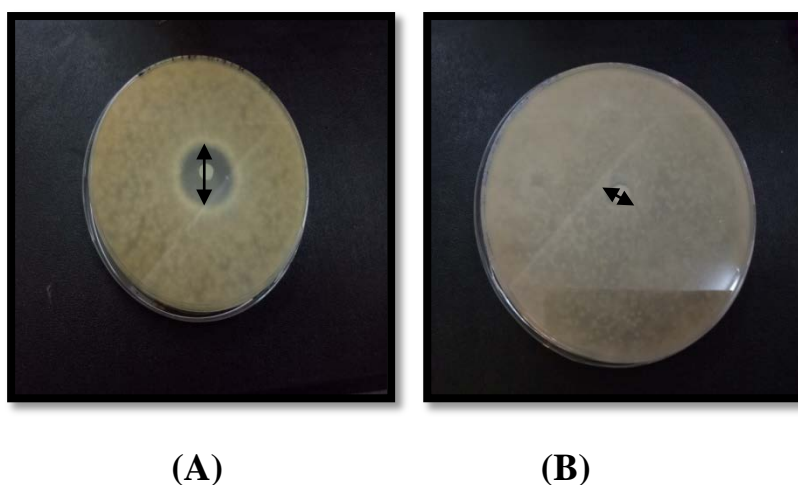


Figure n° 23: Effet d'Econazole (A) et de clotrimazole (B) sur la croissance d'*Aspergillus brasiliensis*

V.5. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

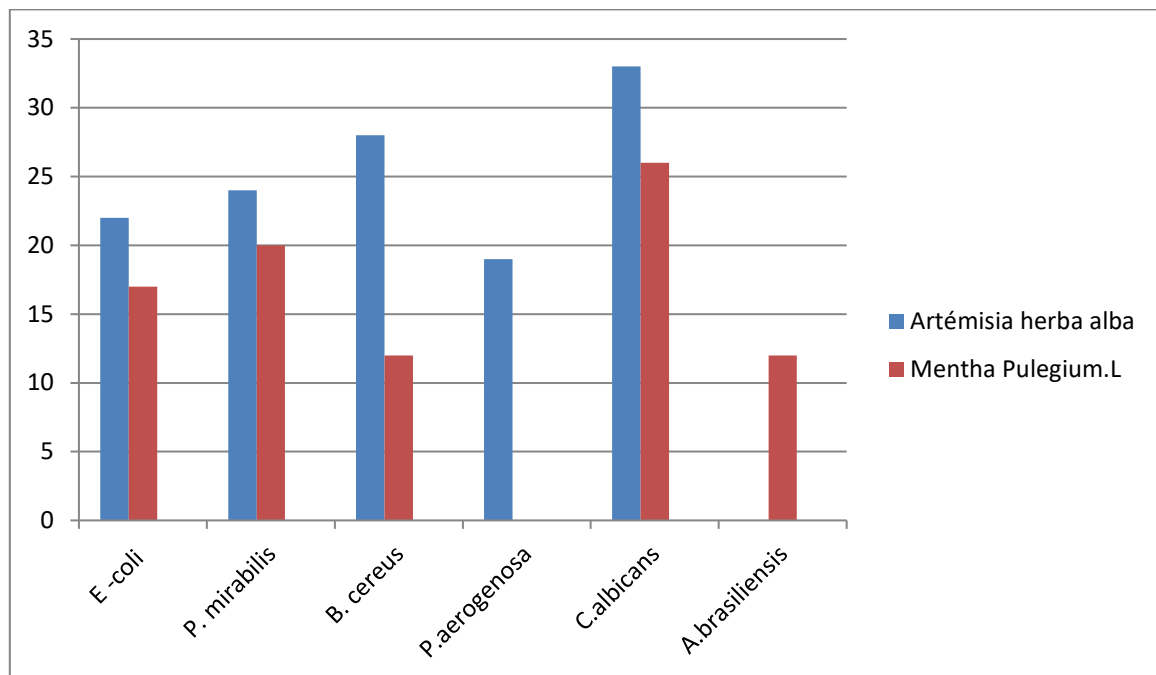
V.5.1. Technique de l'antibio-aromatogramme (méthode de Vincent)

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des feuilles sèches d'*Artemisia herba alba* et de *Mentha pulegium* par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé, nous a permis d'obtenir les résultats présentés dans le **tableau n° 10** et l'histogramme n° 1.

Tableau n° 10: Résultats de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et de *Mentha pulegium* exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm

Huiles essentielles	Feuilles sèches <i>Artemisia herbe alba</i>	Feuilles fraîches <i>Mentha Pulegium</i> L.
Soucs		
<i>E.coli</i> ATCC 25922	22	17
<i>P.mirabilis</i> ATCC 35659	24	20
<i>B.cereus</i> ATCC 10876	28	12
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	19	-
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	33	26
<i>A.brasiliensis</i> ATCC 16404	-	12

(-) : Absence d'inhibition ; ATCC: American Type Culture Collection



Histogramme n° 1 : Effet des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et du *Mentha pulegium* L. sur la croissance des souches de références testées en fonction du diamètre de la zone d'inhibition en mm.

Le **tableau n° 10** montre que les souches les plus sensibles ont été *Escherichia coli* ATCC 25922 ; *Proteus mirabilis* ATCC 35659, *Bacillus cereus* ATCC 10876 et *Candida albicans* ATCC 10231. En effet, celles-ci ont été inhibées par les deux huiles essentielles testées. Nous remarquons que les huiles d'*Artemisia herba alba* ont exercé un pouvoir antimicrobien très important comparé à celui des huiles du *Mentha pulegium*. Les diamètres des zones d'inhibition varient entre 22 et 33 mm pour la première et entre 12 et 26 mm pour la seconde. Par comparaison entre les souches, la bactérie la moins sensible aux huiles du *Mentha pulegium* semble être *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 a été la moins sensible aux huiles d'*Artemisia herba alba*.

Les plus grands diamètres ont été enregistrés avec les huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* chez *Candida albicans* ATCC 10231 et *Bacillus cereus* ATCC 10876 avec des diamètres de 33mm et 28mm respectivement (**Figure n° 24**).

Bouzi en 2016 a également constaté une grande sensibilité de *Candida albicans* vis-à-vis des huiles essentielles extraire de la même espèce d'*Artemisia herba alba* avec un diamètre de 30mm.

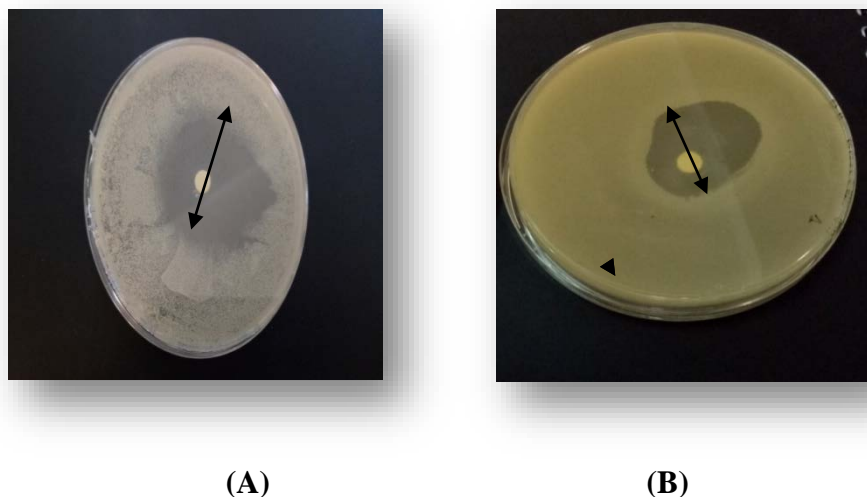


Figure n° 24 : Effet des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* sur *Candida albicans* (A : 33mm) et *Bacillus cereus* (B 28mm).

Les huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* testées ont provoqués un effet inhibiteur sur *Escherichia coli* ATCC 25922. La zone d'inhibition obtenue était de 22mm (**Figure n° 25**). Des études avec les huiles essentielles de la même espèce et sur la même bactérie ont enregistrés des diamètres inférieurs à ceux enregistrés par nos huiles essentielles qui sont 12mm, 10mm et 17mm respectivement pour **Goudjil, (2016)**, **Talbaoui et al.,(2012)** et **Younsi et al., (2016)**.

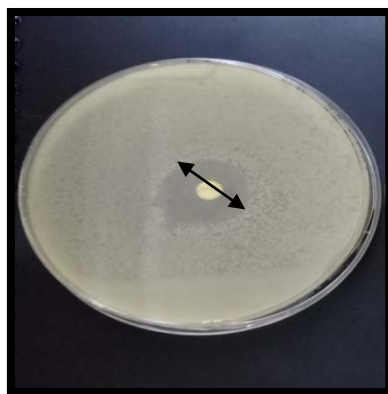


Figure n° 25 : Effet des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* sur *Escherichia coli* ATCC 25922 (**22mm**)

Proteus mirabilis ATCC 35659 s'est révélée sensible à l'effet des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*. Le diamètre de la zone d'inhibition était de 24 mm (**Figure n° 26**). Par contre **Goudjil** en **2016** a obtenu un diamètre de 11.13 mm avec les huiles essentielles de la même plante collectée de la même région. Cette différence est peut-être due à la période et la région de collecte.

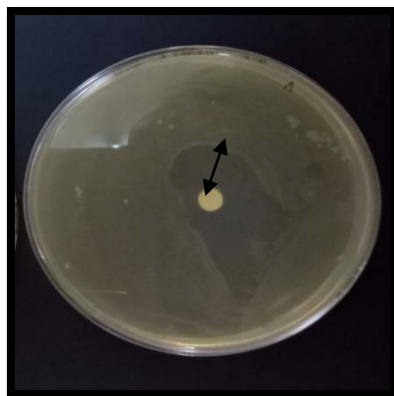


Figure n° 26: Effet des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* sur la croissance de *Proteus mirabilis* ATCC (24mm).

La croissance de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 a été inhibée en présence des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*. Le diamètre enregistré était de 19mm (**Figure n° 27**). Des résultats semblables ont été obtenus par **Younsi et al.,(2016)** avec un diamètre de 20 mm. Par contre, le diamètre d'inhibition obtenu par **Goudjil en 2016** était de 12.03 avec la même bactérie et les mêmes huiles essentielles. **Zossoungbo en 2013** n'a enregistré aucun effet inhibiteur des huiles essentielles *Artemisia herba alba* sur la croissance de *P.aeruginosa*. Peut-être que cette souche appartienne aux souches de *Pseudomonas* les plus résistantes et qui ont la capacité à développer des résistances à de nombreux agents antimicrobiens, d'où leur implication fréquente dans les infections hospitalières (**Mann et al., 2000**).

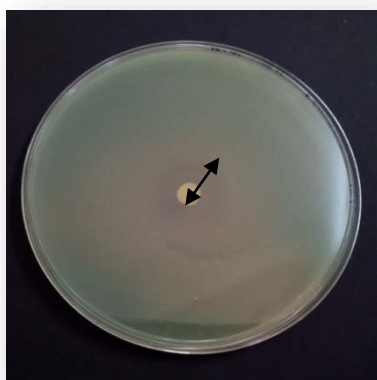


Figure n° 27: Effet des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853(19mm)

Aspergillus brasiliensis ATCC 16404 a montré une résistance aux huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* (**Figure n° 28**) ;



Figure n° 28: Effet des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* sur *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404

Ces différences de sensibilité des microorganismes contre les huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* peuvent être expliquées par la quantité et la qualité des molécules bioactives ou la nature et la composition de la paroi cellulaire ainsi que la puissance du système enzymatique de la cellule qui contrôle son métabolisme.

Selon **Friedman et al., (2002)**, les facteurs qui peuvent influencer l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle sont :

- La composition et la solubilité de l'huile essentielle et
- Le microorganisme et la vitesse de sa croissance.

Les résultats du **tableau n° 10** : montrent que les huiles essentielles de *Mentha pulegium* ont un effet mois sur la croissance des microorganismes étudiés que huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*.

Les résultats du **tableau n° 10** : montrent que les huiles essentielles de *Mentha pulegium* ont été beaucoup plus actives contre *Candida albicans* ATCC 10231 et *Proteus mirabilis* ATCC 35659 avec des diamètres de 26mm et 20mm (**Figure n° 29**). **Lahrech** en **2010** a également constaté une forte sensibilité de *Candida albicans* vis-à-vis les huiles essentielles de *Mentha pulegium* avec un diamètre d'inhibition de 25mm.

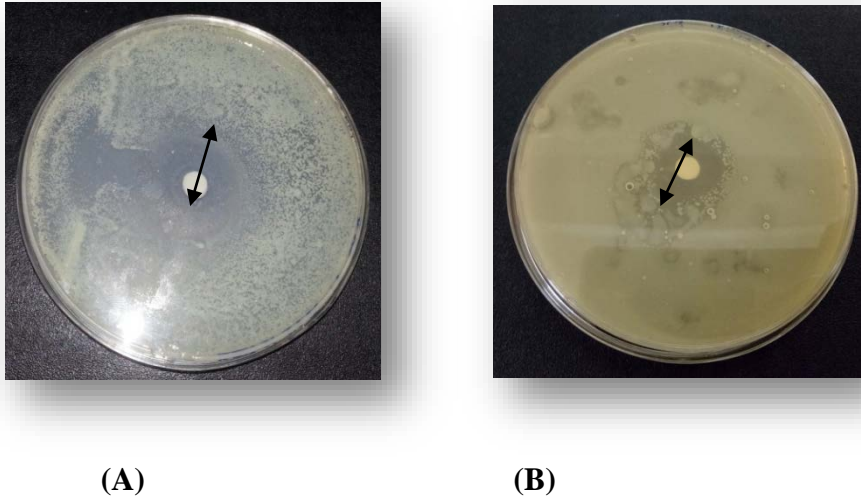


Figure n° 29 : Effet des huiles essentielles de *Mentha pulegium* L. sur la croissance de *C. albicans* (26 mm) et *P. mirabilis* (20mm).

Escherichia coli ATCC 25922 s'avère être très sensible au pouvoir antimicrobien que présente les huiles essentielles de *Mentha pulegium*. Le diamètre d'inhibition enregistré était de 17 mm (**Figure n° 30** :). Par contre la souche d'*E. coli* étudié par **Lahrech** en **2010** était moins sensible une zone d'inhibition de 09 mm.



Figure n° 30: Effet des huiles essentielles de *Mentha pulegium* sur la croissance *Escherichia coli* ATCC 25922 (17mm)

Bacillus cereus s'est avérée moins sensible à l'action antibactérienne des huiles essentielles de *Mentha pulegium* avec une zone d'inhibition de 12 mm de diamètre (**Figure n° 31**).



Figure n° 31: Effet des huiles essentielles de *Mentha pulegium* sur la croissance de *Bacillus cereus* ATCC 10876 (12mm)

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* est totalement nulle contre la souche *Pseudomonas aeruginosa* (**Figure n° 32**).



Figure n° 32: Effet des huiles essentielles de *Mentha pulegium* sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Aspergillus brasiliensis enregistrée une zone d'inhibition de 12mm avec les huiles essentielles de *Mentha pulegium* (**Figure n° 33**). Un diamètre de 14mm a été obtenu par **Lahrech** en **2010** sur l'effet des huiles essentielles de la même espèce sur le même champignon.



Figure n° 33: Effet des huiles essentielles de *Mentha pulegium* sur la croissance d'*A.brasiliensis* ATCC 16404

V.5.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles (CMI)

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et de *Mentha pulegium* a été effectuée seulement sur les germes ayant présenté une sensibilité par le test d'aromatogramme. Les résultats obtenus sont résumés ci-dessous (**tableaux n° 11** et **n° 12**).

V.5.2.1. *Artemisia herba alba* :

Les résultats de la CMI sont représentés dans le **tableau n° 11**. Nous constatons que les huiles essentielles des feuilles sèches d'*Artemisia herba alba* ont été efficace contre tout les souches précédentes.

Tableau n° 11 : Détermination des CMI des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*

concentration v/v souche	1/100	1/250	1/500	1/1000	1/3000	1/5000	1/10000	1/30000
<i>E.coli</i> ATCC	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>B.cereus</i> ATCC	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>P.mirabilis</i> ATCC	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>P.aerogenosa</i> ATCC	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>C.albicans</i> ATCC	-	-	-	+	+	+	+	+

v/v : le volume de l'huile essentielle sur le volume de la solution d'agar.

(+) : croissance ;(-) : pas de croissance.

Les résultats ci-dessus (**tableau n°11**) montrent que *P. mirabilis* ATCC35659 et *C. albicans* ATCC10231 ont été plus sensible vis-à-vis de l'huile essentielle de *Artemisia herba alba*. La CMI de cette dernière vis-à-vis des deux souches a été déterminée à 1/500 (v/v), suivi par *E. coli* ATCC 25922 et *B. cereus* ATCC 10876 dont la croissance a été inhibée à la même concentration (1/250 v/v). Par ailleurs, *P aeruginosa* ATCC 27853 a été la souche la moins sensible, celle-ci n'a pu être inhibée qu'à la concentration de 1/100 (v/v).



Figure n° 34: CMI de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* sur l'*Escherichia coli*



Figure n° 35: CMI de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* sur *Bacillus cereus*



Figure n° 36: CMI de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* sur *Proteus mirabilis*



Figure n° 37: CMI de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* sur *Pseudomonas aeruginosa*



Figure n° 38: CMI de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* sur *Candida albicans*

V.5.2.1. *Mentha pulegium.L* :

Tableau n° 12 : détermination des CMI de l'huile essentielle de *Mentha pulegium.L*

concentration v/v souche	1/100	1/250	1/500	1/1000	1/3000	1/5000	1/10000	1/30000
<i>E.coli</i> ATCC	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>B.cereus</i> ATCC	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>P.mirabilis</i> ATCC	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>C.albicans</i> ATCC	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>A.brasiliensis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+

v/v : le volume de l'huile essentielle sur le volume de la solution d'agar.

(+) : croissance ;(-) : pas de croissance.

D'après les résultats obtenus dans le **tableau n° 12** : nous constatons que *E. coli* ATCC 25922, *P. mirabilis* ATCC 35659 et *C. albicans* ATCC 10231 ont été plus sensible vis-à-vis de l'huile essentielle de *Mentha pulegium.L*, La CMI de cette dernière vis-à-vis des deux

souches a été déterminée à 1/500 (v/v), suivi par *B. cereus* ATCC 10876 et *A. brasiliensis* ATCC 16404 dont la croissance a été inhibée à la même concentration (1/250 v/v).

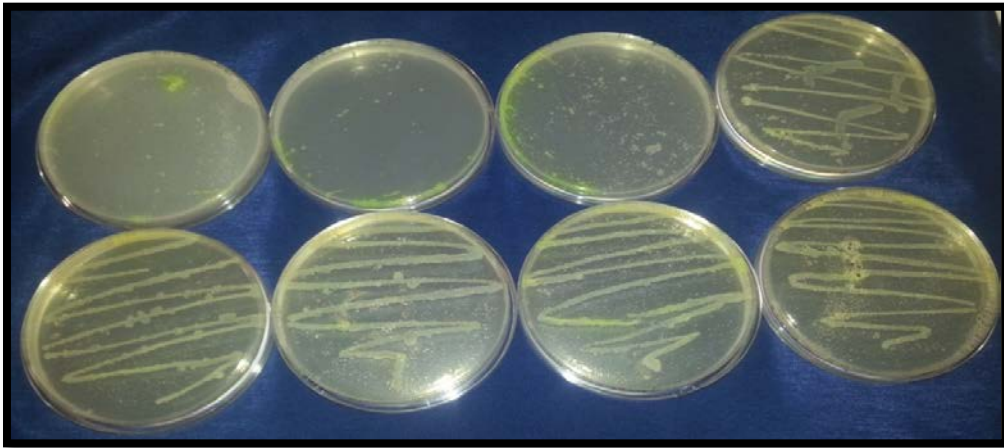


Figure n° 39: CMI de l'huile essentielle de *Mentha pulegium.L* sur *l'Escherichia coli*

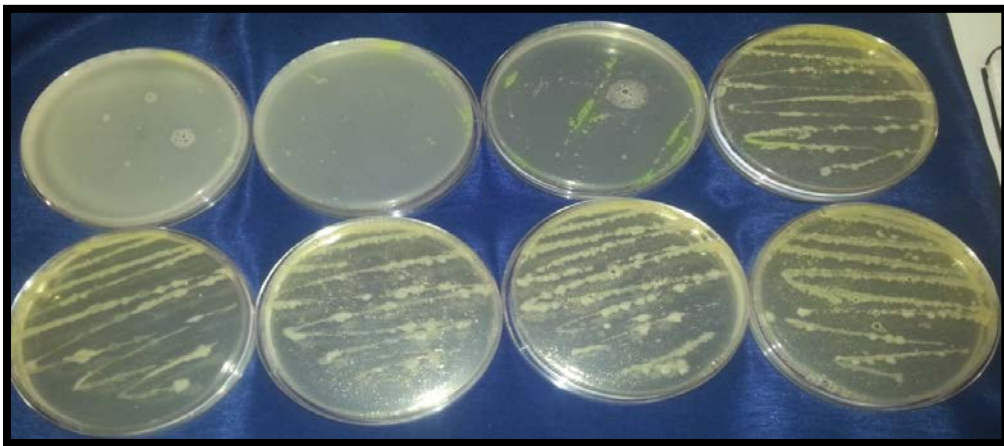


Figure n° 40: CMI de l'huile essentielle de *Mentha pulegium.L* sur *Bacillus cereus*

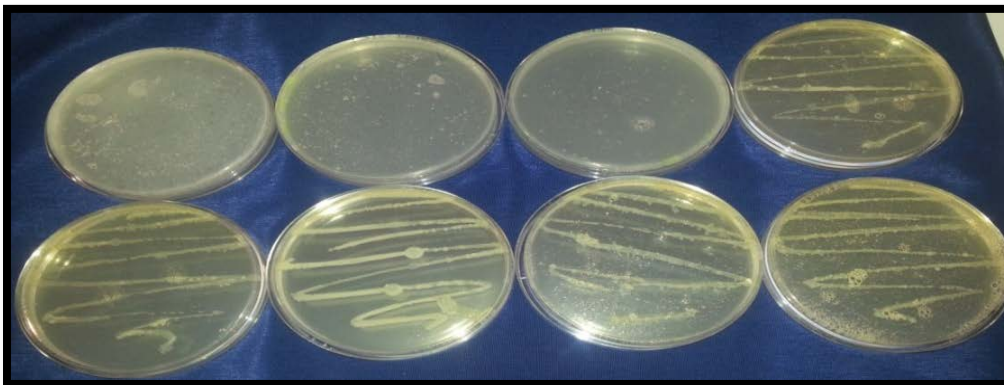
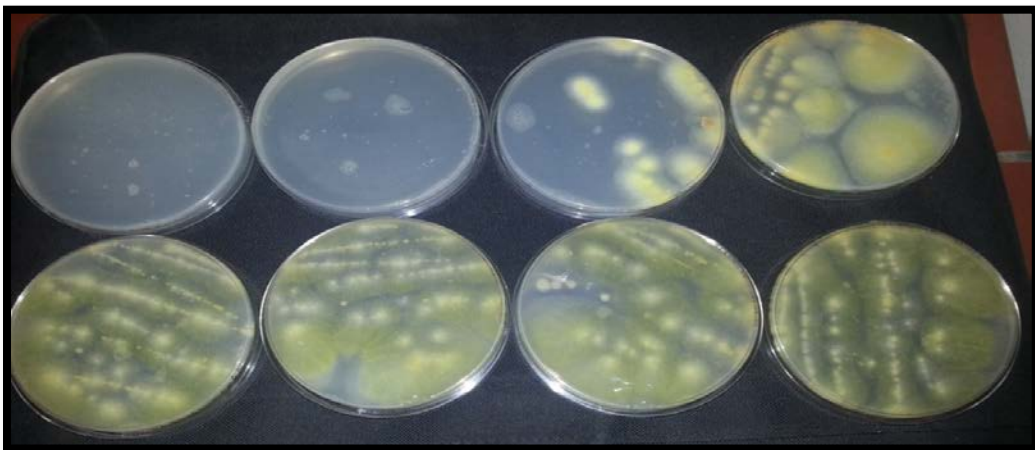


Figure n° 41: CMI de l'huile essentielle de *Mentha pulegium.L* sur *Proteus mirabilis*



Figure n° 42: CMI de l'huile essentielle de *Mentha pulegium.L* sur *Candida albicans*



W

Figure n° 43: CMI de l'huile essentielle de *Mentha pulegium.L* sur *Aspergillus brasiliensis*

Généralement les bactéries agissent différemment à l'action antimicrobienne des huiles essentielles de *Mentha pulegium .L* et *Artémisia herba alba*(Smith –Plamer ,1998),(Mangena et Muyima,1999).

Nos résultats montrent que les bactéries Gram négative sont généralement les plus sensibles à l'action des huiles essentielles que les bactéries Gram positif, selon les résultats de (Hussein, 1990) Les bactéries Gram + sont plus sensible aux huiles essentielles que les bactéries que les bactéries Gram -.

Pseudomonas aeruginosa qui d'être très résistance à tout sorte d'agents antimicrobiens, des études réalisés par (Pibiri ,2006), dit que L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Mentha pulegium.L* est totalement nulle contre la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

Selon (chang et al , 2001) , le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles est en relation directe avec plusieurs paramètres à savoir :

- La nature des composées majoritaires.
- Concentration des ces composés.
- Nature et structure des groupements fonctionnels
- L'interaction probable entre les différents constituants.

Conclusion

Conclusion

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'effet antimicrobien des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et de *Mentha pulegium*L.

L'extraction des huiles essentielles de *Mentha pulegium* L et d'*Artemisia herba alba* par hydrodistillation a montré un rendement de 0.23% et 0.28% respectivement.

Les résultats de l'antibiogramme, nous ont permis de constater que les antibiotiques agissent d'une manière différente chez les souches testés. L'antibiotique qui a eu l'effet inhibiteur le plus efficace a été la Doxycycline contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 et *Escherichia coli* ATCC25922 avec des zones d'inhibition respectivement de 27 mm et 25mm.

Escherichia coli ATCC25922 et *Bacillus cereus* ATCC10876 ont résisté à l'ampicilline. En ce qui concerne l'antifongique, l'Econazole et le Clotrimazol ont provoqués l'inhibition des deux souches fongiques testées. Econazole a provoqué un effet inhibiteur important sur la croissance d'*Aspergillus brasiliensis* ATCC16404. Le diamètre enregistré était de 22mm.

Toutes les souches testées ont un effet sensibles aux huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* à l'exception d'*Aspergillus brasiliensis* ATCC16404. Elle est résistante à l'effet des HES d'*Artemisia herba alba*.

S'agissant des huiles essentielles de *Mentha pulegium*, elles ont un effet inhibiteur sur la croissance de toutes les souches testées à l'exception de *P. aeruginosa*ATCC27853.

A propos de la détermination de la concentration minimale inhibitrice les souches *P. mirabilis* et *C. albicans* ont été plus sensible vis-à-vis aux huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*. La CMI de cette dernière vis-à-vis des deux souches a été déterminée à 1/500 (v/v), suivi par *E. coli* et *B. cereus* dont la croissance a été inhibée à la même concentration (1/250 v/v). Par ailleurs, *P aeruginosa* a été la souche la moins sensible, celle-ci n'a pu être inhibée qu'à la concentration de 1/100 (v/v).

Pour l'effet des huiles essentielles de *Mentha pulegium*, nous constatons que *E. coli*, *P. mirabilis* et *C. albicans* ont été les plus sensible, La CMI de cette dernière vis-à-vis *E. coli*, *P. mirabilis* et *C. albicans* a été déterminée à 1/500 (v/v), suivi par *B. cereus* et *A. brasiliensis* avec une CMI de 1/250 (v/v).

Les résultats obtenus montrent que les huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et *Mentha pulegium* L. possèdent des activités antimicrobienne importante sur la croissance des souches testées à l'exception d'*Aspergillus brasiliensis* et de *Pseudomonas aeruginosa* respectivement.

Références bibliographiques

Les références

- Abass O.A. (2012).** Therapeutic effect of *Artemisia herba-alba* aqueous extract added to classical therapy of acquired hyperlipidemia. *Iraqi Journal of community Medicine* 4: 320-323.
- **Abayomi. S, (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. I. Karthala (Ed.). Académie Suisse des sciences naturelles Barenplatz 2/3011Berne. Diffusion 22-24 oulevard Arago 75013. Paris. France. 978-2-8111-0330-9.
 - **Abdel, H, 2003** Biosystématique végétale ., INA EL –Harrach ,1-17
 - **Addadi hanaa et Ferradji siham milouda ,2014.**extraction d'huile essentielle d'une plante médicinale « la menthe mémoire de master chimie organique université Dr Molay tahar Saida faculté de science département de chimie.
 - **Achak,N. 2006.** Contribution à la valorisation naturelles : Etude des huiles Université Cadi Ayyad , Fac ;Sciences Marrakech,304,P
 - **Achour Ait Hellal,Khemissi Haderbache,2010** ,éditions universitaire de béjaia,achour,les techniques d'extarction des huiles essentielles par Micro ondes.
 - **AFNOR NF T 75-006. 2000**, Association Française de Normalisation, Recueil de normes Françaises “Huiles essentielles”, AFNOR, Paris..
 - **Agnihotri V.K., Agarwal S.G., Dhar P.L.,Thappa Baleshwar R.K., Kapahi B.K., Saxena R.K. & Qazi G.N., 2005.** Essential oil composition of *Mentha pulegium L.* growing wild in the north-western Himalayas India. *Flavour Frag. J.* 20: 607–610.
 - **Aidoud A,1983**-Contribution à l'étude des écosystèmes steppiques du sud 3^{ème} cycle, univ, sci, tech, Houari Boumédiène, Alger.,.
 - **Alami M,Filali A,Lahlou ,Mohmoud M,2011.**Profil De Résistance des souches D'Escherichia Coli Isolees dans les urines Au chu Hassan Ii de Fes laboratoire de microbiologie , CHU Hassan II Fés Infection urinaire chez le diabétique.
 - **Al-Khazraji S.M., Al-Shamaony L.A., Twaij H.A.A. (1993).** Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba alba*. I. Effect of different parts and influence of the solvent on hypoglycaemic activity. *Journal of Ethnopharmacology* 40 : 163-166.
 - **Arvy M.P. & Gallouin F., 2003.** Epices, aromates et condiments. Ed. Belin, Paris. 412 p

- **Ayad N.Hellal B ., Maatoug M .,2007**, dynamique des peuplements d'Artémisia herba-alba asso dans les steppes du sud oranais ,Algérie Occidentale, Sécheresse vol.18.

Baba Aissa , F,2000.Encyclopédie des plantes utiles ., Librairie Moderne,Rouiba,368p

- **Bakkali F., Averbeck S and Averbeck D, 2008**. Review MI-Biological effects of essential oils- A review Food and Chemical Toxicology; Vol. 46; pp 446–475. Association Française de Normalisation, Recueil de normes Françaises “Huiles essentielles”, AFNOR, Paris. AFNOR NF T 75-006. 2000.
- **Bakkali F., 2007**. Biological effects of essential oils – A review, Food. Chem., Toxicol.
- **Bansod S and Rai M, 2008**. Antifungal activity of essential oils from Indian medicinal plants against human pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus niger*, world J. Med. Sci 3(2), pp81-88.
- **Bardeau. F, (1978)**. La médecine par les fleurs. Robert Laffont (Ed.).440P.47-61.
- **Bekhechi C., 2008**. Analyse des huiles essentielles de quelques espèces aromatiques de la région de Tlemcen par CPG, CPG-SM et RMN 13 C et étude de leur pouvoir antibactérien. Thèse de Doctorat. Université de Tlemcen, Algérie.
- **Belas R**. Proteus *mirabilis* Swarmer Cell Differentiation and Urinary Tract Infection in Urinary Tract Infections: Molecular Pathogenesis and Clinical Management." J.W. Warren, Editor, ASM Press: Washington, D.C, 1996, pp 271-298
- **Beloued ,A,1998**,.Plantes médicinales d'Algérie .OPU, Alger,270p
- **Bendahou, M., 2007**-*Composition chimique et propriétés biologiques des extraits de quelques plantes aromatique et médicinales de l'ouest algérien* 2007. Thèse de Doctorat, Université Aboubekr Belkaid-Tlemcen, p.
- **Benayad N., 2008**. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Faculté des Sciences Rabat, Maroc.
- **Bentzmann, S., Plésiat, P., (2011)**. *Pseudomonas aeruginosa*: Une virulence complexe. Revue Francophone des Laboratoires, issue 435, pp : 73–81.

- **Besombes C. (2008).** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermo- mécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. *Thèse de Doctorat de l'Université de la Rochelle*.France.
- **Béniston Ws. Nt. ; 1984,** Fleurs d'Algérie. Ed. Entreprise Nationale du livre.
- **Bonnet R., Sirot D and Chnal C.1994.**bactériologie :les bactéries des infection humaines ,Diversity of TEM mutans in proteus mirabils .médecines –science , Flammarion ,2^{ème}tirage , P 156
- **Bornert G, 2000.** Importance des bactéries psychrotrophes en hygiène des denrées alimentaires. *Revue Mèd. Vèt ;* 151, 1003-1010.
- **Botineau M, 2010,** botanique systématiqueet appliquée des plantes à fleurs, édition TEC DOC, rue LAVOISIER,paris, 1143p.
- **Bouchonnet S. & Libong D. (2002).** Le couplage chromatographique en phase gazeuse-spectrométrie de masse. Département de Chimie, Laboratoire des Mécanismes Réactionnels. Ecole Polytechnique, PALAISEAU Cedex.
- **Boukhalfa. M , (2014).** Etude de l'activité antioxydant (test d'ABTS) des huiles essentielles et la pédologie haloxylon Scoparium pomel (remth) de la région de Naama. Mémoire de master en production et amélioration végétal. Université Abou Bakr Belkaid. Tlemcen. Algérie.
- **Bousbia. N, (2011).** Extractions des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat. L'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique. Ex- INA El Harrach. Alger.
- **Bovenot G., Devulder B., Guillevin L et Queneau P, 1996.** Pathologie médicale, dermatologie, rhumatologie, endocrinologie, toxicologie. Masson, p 122.
- **Bouzidi N., 2016**-Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche« Artemisia herba alba Asso »,thèse de Doctorat en Sciences de la Vie, Universite Mustapha Stambouli Mascara,133p.
- **Burnichon N,et Taxier A. 2003,** L'antibiogramme :la Détermination des sensibilités aux antibiotiques des bactériologie.
- **Braga F.G., Bouzada M.L.M., Fabri R.L., Matos M.O., Moreira F.O., Scio E., Coimbra E.S., 2007,** Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil., *Journal of Ethnopharmacology*, 111, 396-402p.

- **Brmness, L, 2001.** Plantes aromatiques et médicinales, BORDAS, France, 303p.
- **Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc Lavoisier, Paris. P: 915.
- **Bruneton J, 1999** pharmacognoise-phytochimie-plantes médicinales.3^{ème} édition technique & documentation.lavoisier, Paris.
- **Buagnicont F.1995.**Laboratoire d'analyse biochimique , le cahier des techniques l'INRH , p 23.67

Cantino P.D., 1998. Binomials, hyphenated uninominals, and phylogenetic nomenclature.*Taxon.* 47: 425–429.

- **Carole. B.M, (2008).** La Phytothérapie pour les animaux. I. Le Manuscrit (Ed). 20 Rue des petits Champs 75002. Paris. France. 978-2-304-00885-2
- **Caroline. G, (2013).** Guide de poche de phytothérapie: Parce qu'il y a forcément une plante qui vous fera du bien. Leduc.s (Ed.).France. 978-2-84899-771-1.
- **Cavalli F., (2002).** Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM etRMNdu carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar.Thèse de Doctorat, Université de Corse Pascal Paoli.
- **Chalchat J.C., Gorunovic M.S., Maksimovic Z.A. & Petrovic S.D., 2000.** Essential oil of wild growing *Mentha pulegium L.* from Yugoslavia. *J. Essent. Oil Res.* 12: 598–600.
- Delille L., 2007. Les plantes médicinales d'Algérie. Berti Editions, Alger. 240 p.
- **Charpentier B., Hamon-lorleac'h F., Harlay A., Huard A., Ridoux L., & Chanselle S. (2008).** Guide du préparateur en pharmacie. 3^{ème} édition, Elsevier Masson, 1358.
- **Chemat F., Lucchesi ME., Smadja J and Visoni F.2006.**microwave accelarted stream distillation of essentiel oil from lavender :a rapide clean and environmentally friandly approach .eanl chim .Acta 555,157-160
- **Chibani S, 2013-**étude phytochimique et biologique de six plantes médicinales de l'est algérien,thèse de doctorat,Université Constantine 1 faculté des sciences de la nature,163p.

- **Coello M.S., 2007.** Volatile composition and olfactory profile of pennyroyal (*Mentha pulegium L.*) plants. *Flavour Frag. J.* 22: 114-118

Delille L., 2007. Les plantes médicinales d'Algérie. Berti Editions, Alger. 240 p.

- **Denis, F.,E. Bingen, C. Martin, M.C. Poly and R. Quentin, 2011.** Bactériologie Médicale. 2nd Edn., Elsevier Masson, Paris, ISBN :9782294725944, Pages :640.
- **Djebaili S., 1978-** Recherches phytosociologique et phytoécologique sur la végétation des hautes plaines steppiques et de l'Atlas saharien algérien, Thèse de Doctorat, Montpellier, 229p.
- **Diaz-Maroto M.C., Castillo N., Castro-Vazquez L., Gonzalez-Vinas M.A. & Perez-Coello M.S., 2007.** Volatile composition and olfactory profile of pennyroyal (*Mentha pulegium L.*) plants. *Flavour Frag. J.* 22: 114-118.
- **Duraffourd. C, Lapraz. J.C, Chemli. R, (1997).** La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès International. Tunis (Ed.). Granche. Paris. France.
- **Duraffourd. C, D'hervicourt. L, Lapraz. J.C, (1990).** Cahiers de phytothérapie. Masson édition, 2 ème (Ed.), Paris. France.
- **Dupont F, 2004,** Botanique - Systématique Moléculaire. Edétion : Masson, Paris, 110-125p.
- **Dupont F, Guignard J L, 2012,** botanique les familles de plantes, 15 édition, elsevier masson SAS, Paris, France, 266p.

Edzard. E et Max. H. P, (2005). Médecines alternatives : le guide critique.

Médecines

- alternatives: le guide critique, Kraus Biomédical. Elsevier Masson (Ed.). Codex15. 23 Rue
- Linois 75724. Paris. France. 2-84299-641-0.
- **Ehling –schulz M., Svenddon B., Guinebretière MH .,Lindback T., Andersson M., Shulz A., Fricher M.,Christianson A., Granum PE., Martlbauer E., Nguyen – The C, Salkinija –Salonen M and Scherer S.2004.** Emetic toxin formation of *bacillus cerues* is restricted to a single evolutionary lineage of closely related strains *.Microbiol*,151 :183-197.

- **E1-Massry K., E1-Ghorab A., farouk A., 2012** Antioxydant activity and volatile components of Egyptian *Artemisia judaica* L. Vol 79, n°3, pp, 331-336
- **EL Rhaffari L, 2008**, Catalogue des plantes potentielles pour la conception de tisanes. Faculté des Sciences et Techniques d'Errachidia, Equipe Environnement et Santé.
- **Ernandez-ochoa L.R. (2005)**. Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné « Solvant/ Actif ». D'origine végétale. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechniques de Toulouse. France.
- **Eyquen A.I et Montgner L.2000**. Traitement microbiologique chimique , édition Lanor Paris, P66-121.

Florine. B et Paul. G, 2014. Phytothérapie en odontologie. Guide clinique. Projet scientifique à l'Institut Français de la Recherche en odontologie (IFRO). . Collection Initiative Santé .CdP (Ed.). France. 978-2-84361-244-2

- **Francis J, 2001**, Dictionnaire de la civilisation mésopotamienne. *Ed Robert Laffoni*.
- **Friedman M., Hemika P. R. and Mandrell R. E., 2002**: Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. Journal of food protection, vol 65 (10): 1545-1560
- **Fillatre Y, 2011**, Produits phytosanitaires : développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat. Université d'Angers . France, 290p

Ghrabi Z. and Al-Rowaily S.L.R, 2005, A guide to medicinal plants in north Africa. *Artemisia herba alba* Asso, Ed : IUCN, Spain : Malaga, pp : 43-44.

- **Goris A, 1967**, Manuel de botanique, édition Vigot Frères,
- **Goudjil M B, 2016**-Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques, thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah Ouargla, 132p.
- **Gseyra N, 2006**-Etude phytochimique de deux espèces pastorales: *Artemisia herba alba* Asso. et *Peganum harmala* L. et l'évolution de la toxicité de *Peganum harmala*

pendant son cycle phénologique, thèse de doctorat, Université Mohamed Premier Faculté des sciences Oujda, 127p.

- **Guignard. J. L, Cosson. L, Henry. M, (1985).** Abrégé de phytochimie. Masson (Ed.). Paris. France.
- **Guignard J.L., & Dupont F., 2004.** Botanique : Systématique moléculaire, 13^{ème} éd. Ed. Masson, Paris. 237 p.
- **Guinebrière MH., Thompson FL ., Sorokin A., Normand P., Dawyndt P., Ehling Schulz M., Svensson B., Sanchis V., Nguyen –The C., Heyndrickx M and De Vos P. 2008.** Ecological diversification in the *Bacillus cereus* Group. *Environ Microbiol* 10 :851-65.

Hellal Z, 2011, Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de magister. Université de Tizi-Ouzou, 120p.

- **Hernandez-ochoa L.R. (2005).** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné « Solvant/ Actif ». D'origine végétale. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechniques de Toulouse. France.
- **Hussein A.M.S ., 1990.** Antibacterial and antifungal activities of some Libyan aromatic plants. *Planta Medica*, 56:644-649

Jacques. M, (2005). CAPES externe 2000-2005 Agrégation de physique 2000-2005: Problèmes de chimie avec solutions et annexes. II. Bréal (Ed.). 1 Rue de Rome 93561 Rosny-sous-Bois Cedex. Centre Française d'exploitation du droit de Copie (CFC). 3 Rue d'Hautefeuille 75006. Paris. France. 2-7495-05-10-0.

- **Jacques. K, Francis. H. M, (2013).** La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie: Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Collection Phytothérapie pratique. Springer Science & Business Media (Ed.). Springer-Verlag. Paris. France. 978-2-8178-0308-1.
- **Jahandiez E. & Marie R., 1934.** Catalogues des plantes du Maroc, spermatophytes et ptéridophytes. Tome III. Ed. Paul Le chevalier, Paris.
- **Jacques K, Francis H-M, 2012,** la connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie, Springer-Verlag France, Paris,

- **Jean-noël Joffin, et Guy Leyral, 2014.** Microbiologique technique : dictionnaire des techniques. Edition 2014. Bordeaux, 411p
- **Julien P., (2005).**Caracterisation des Huiles Essentielles par CPG/IR, CPG/SM-(IE et IC) et RMN du carbone-13 de cistus albidus et de deux asteraceae endemiques de corse : eupatorium cannabinum subsp. corsicum et doricum corsicum- docteur de l'Universite de Corse
- **Jones T., Federspiel NA., Chibana H., Dungan J., Kalman S., Magee BB., Newport G., Thorstenson YR., Agabian N., Magee PT., Davis RW & Scherer S. 2004.** The diploid genome sequence of *Candida albicans*. *Proceeding of the National Academy of sciences of the United States of America* 101,7329-7334.
- .
- **Jouault. S, (2012).** La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de doctorat d'état en pharmacie. Faculté de pharmacie. Université de Lorraine. France.

Kebissi , H, 2004. Encyclopédie des herbes et plantes médicinales , Dar AL-Kotob AL-Iiyah, Beyrouth-Liban, 566p

- **Kelly Struble , Michael Stuart Bronze , Rhett L Jackson , Gus Gonzalez ,** *Proteus Infectionc : Overview , Médecine, 2009.*
- **Khafagy, S.M., S.A. Ghardo, I.M. Sarg, 1971,** Phytochemical investigation of *Artemisia herba-alba*. *PlanaMed.*, 20: 90-96
- **Knobloch, K., A. Pauli, B. Iberl, H. Weigand, and N. Weis, 1989 ,** *Antibacterial and antifungal properties of essential oil components.* *Journal of Essential Oil Research.*, 1(3): p. 119-128.
- **Kotiranta A., Lounatmaa K., Haapasalo M. 2000.** Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus specien*. *Marrcel Dekker , Inc ., New –York.*
- **Kunle O; Okogun J., et al ., 2003** Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol.

Lahrech Khadîdja, 2010. Extraction et Analyse des huiles essentielles de *Mentha Puleguim.L* et de *Saccocalyx satureioides* , tests d'activités antimicrobiennes et

antifongiques ,Mémoire de Magister spécialité chimie Moléculaire (Analyse ,Modalisation ,synthèse) Université d'Oran ES –sénia.

- **Lahlou M, 2004, *Methods to study the Phytochemistry and Bioactivity of Essentiel Oils***, Phytother, Res, 18. 435-448.
 - **Lamrani K.2009.**Etude de la biodiversité des moisissures nuisibles et utiles isolées à partir des Maasra du Maroc .Thèse de doctorat , Université mohamed v – agdal,Rabat,187p.
 - **Larpent J.P 2000.** Introductio a la nouvelle classification bactérienne .les principaux groupes bactériens .Edition Tec &Doc Lavoisier Paris .280p.
 - **Leclerc H, 1976.** Précis de phytothérapie ., Masson, Paris 363p.
 - **Laurence. B, (2013).** Mes huiles essentielles: 30 plantes pour me soigner au quotidien. I. l'Institut Français d'Aromathérapie (IPAL-IFA). Fleurus (Ed.). 2 Rue du Pouget 34570 Saussane. France. 978-2-31700-439-1.
 - **Laurent. T, (2016).** Le grand livre des automassages chinois pour se soigner: Troubles digestifs, nervosité, insomnie... Le massage des points d'acupuncture pour soulager + de 70 pathologies. Leduc.s (Ed.). 979-10-285-0179-2.
 - **Lis-Balchin, M., *Lavender: the genus Lavandula*, 2003:** CRC press.
 - **Liu D.** Molecular Detection of Foodborne Pathogens, 2010, CRC Press: Boca Raton
 - **Lucchesi. M. E, (2005).** Extractions sans solvants assistée par micro-onde conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat en chimie. Faculté des Science et Technologies. Université de la Reunion.
- M**angera T.et Muyima N.Y.O 1999. comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of artemisia afra , Pteronia incana and Rosmarinus officinalis on selevted bacteria and yeast strains .Letters in applied Microbiology ,28,291-296
- **Mann, C.M., S.D. Cox, and J.L. Markham, 2000,** *The outer membrane of Pseudomonas aeruginosa NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil)*. Letters in Applied Microbiology, 2000. **30**(4): p. 294-297

- **Mansour S, 2015**-Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales Artemisia absinthium L, Artemisia herba alba Asso et Hypericumscarboïdes - Etude in vivo,thèse de doctorat,Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf,
 - **Margulis L.,Jorgensen J.Z.,Dolan S.,Kolchinsky R.,Rainey F.A and Loo S.C.1998.** The Arthoromitus stage of bacillus cereus :intestinal symbionts of animals .Proc Natl Acad Sci USA 95,1236-1241.
 - **Mélinda. W, (2010).** Huiles essentielles Pour la cuisine et le bien-être. Fides (Ed.). FIDES. Catalogage avant publication de Bibliothèque et Archives nationales du Québec et Bibliothèque et Archives Canada. 978-2-7621-3185-7.
 - **Mengel P., Beh D., Bellido G.M et Monpon B.1993.** VHMD : extraction d'huile essentielle par micro-ondes .Parf .Cosm .Arom .114,66-67
 - **Messai, I, 2011**-Etude phytochimique d'une plante medicinale de l'est algerien (Artemisia Herba Alba), thèse de Doctorat, Universite Mentouri Constantine, 96p.
 - **Moatti. R, (1990).** Utiliser les plantes médicinales à bon escient. Albin Michel (Ed.). Paris.
 - France. 13- 978- 22260- 3759- 6.
 - **Mohamed,A., Magdi H., El-Sayed A., Hegazy M., E. Helaly1 S., Esmail A et Mohamed NS, 2010,** Chemical Constituents and Biological Activities of Artemisia herba-alba. Rec. Nat. Prod. 4:1
 - **Mokhtari Hamza et Toubale mohamed Nadir, 2016.** Etude de l'ctivité antimicrobienne des huiles essentielles , de Thymus Vulgaris et d' Origanum elongatum de quelque région de Nedroma .(Wilaya de Telemcen) .Mémoire de Master spécialité Microbiologie Fondamentale et Appliquée , université abdelhamid Ibn Badis ,Mostaganem ,97p.
 - **Moufid A; Eddouks M, 2012**-Artemisia herba alba :a popular plant with potentiel medicinal properties,*Pakistan journal of biological sciences*,15(24),1152-1159.
- N**abli M. A., 1989, Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I, Edétion : MAB, (Faculté des sciences de Tunis) ,186-188 p.
- **Nauciel Cet vildé J.L.2005.**Bactériologie médicale vétérinaire ,2^{eme}édition, Paris ,P52.
 - **Noudin,C ;Grumbach,N,2000.**Larousse médicale .,Larousse&Bardas,Paris,1203p

Olle M. and Bender I, 2010, The content of oils in Umbelliferous corps and its formation. *Agronomy Research*, 8(3), 687-696p.

- **Ozenda P, 1985**, Flore du Sahara 2^{ème} Edition CNRS : du centre nationale de la recherche Scientifique, Paris, 441p.

Parize P, 2008.Antifungal therapy of *Aspergillus* invasive Otitis externa: efficacy of Voriconazole and Review, *Antimicrob. Agents Chemother.*

- **Pellerine P.1991**.suparcritical extraction of nature raw materiels for the flavour and perfum industry .*Perfum* .16,4,37-39.
- **Pelikan W, 2002**, l’homme et les plantes médicinales, tome 1, 3 eme édition : TRIADES, PARIS, 292p.
- **Pessini G. L., Prado Dias Fiiho Celso B., Nakamura V and Cortes D.A.G, 2003**. Antibacterial activity of Extracts and neolignans from Piper Regnellii (Miq.) C.DC. Var. Pallescens (C. DC) yunk. *Memorias do instituto Oswaldo Cruz*, 98p.
- **Pibiri. P, (2005)**. Assainissement microbiologie de l’air et de systèmes de ventilation au moyen d’huiles essentielles. Thèse de doctorat : Faculté Environnement Naturel, Architectural et Construit. EPFL (Suisse).
- **Pibiri M.C, 2006** .Assainissement microbiologique de l’air et des systèmes de ventilation.
- **Pillet C.H., Bourdon B., Toma N.,Marghal C et Balbaste N.1986**. Bactériologie médicale et vétérinaire , systématique bactérienne , 2^{ème}édition, Masson.
- **Ponce A.G ; Fritz R ; Del Valle C et Roura S.I, 2003**. Antimicrobial activity of essentiel oils on the native microflora of organic Swiss chard.*lebensmittel-wissenschaft und Technologic*, 36, 679-684p.
- **Porter N, 2001**. Essential oils and other production: crop and food research, number 9, edition Reader, p 282-286.
- **Pottier G, 1981**, *Artemisia herba-alba. Flore de la Tunisie: angiospermes–dicotylédones–gamopétales*. 1012 p
- **Pourrat Y, 1974**-Propriétés éco-physiologiques associées à l’adapt *d’Artemisia herba alba*, plante d’intérêt pastoral au milieu désertique, thèse du 3ème cycle, l’Université de Paris, p.

Quézel P. & Santa S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. CNRS. Ed. Paul Le chevalier, Paris.

Rana B.K., Singh U.P. & Taneja V., 1997. Antifungal activity and kinetics of inhibition by essential oil isolated from leaves of *Aegle marmelos*. *J. Ethnopharmacol.* 57: 29–34.

- **Raphaële. G, (2007).** Des simples à l'essentiel: de l'herboristerie à l'aromathérapie, pratiques et représentations des plantes médicinales. Presses Université du Mirail (Ed.). université de Toulouse-le Mirail. 5 allées Antonio Machado 31058 Toulouse Cedex 9. 978- 2-85816-886-6.
- **Remmal A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettayebi M and Tantaoui-Elaraki A, 1993.** Improved method of determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *J. Ess,Oil Res*, 5 (2), 179-184p
- **Roquebert M.f ,1998.** Taxonomie des moisissures, Méthodes de culture et techniques d'observation, identification, in « moisissure des aliments peu hydraté », Ed Tec & Doc, *Rosmarinus officinalis* essential oil ; antiproliferative, antioxidant and antibacterial.
- **Rožman T.and Jeršk B, 2009.** Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of *Listeria*. *Acta agriculturae slovenica*, Vol. 93 ; N°1, pp 51-58
- **Rubin. M, (1988).** Que Sais-Je? Phytothérapie, 1ere (Ed.). Presses universitaires de France.

Samah D, 2012. Les huiles essentielles Des mystérieux métabolites secondaires ; Deutsche Nationalbibliografie ; page 64.

- **Samson R. A., Houbraken J.Q., Kujipers A.F., Frank J.M and Frisvad J.C, 2004.** New ochratoxin A or sclerotium Producing species in *Aspergillus*. *Studies in Mycology*, 50, 45-61.
- **Schauenberg. P et Paris. F, (2006).** Guide des plantes médicinales : analyse description et utilisation de 400 plantes. Delachaux et Nestlé (Ed.). collection les guides du naturaliste. France. 2-603-01454.

- **Seddiek S.A., Ali M.M., Khater H.F. and El-Shorbagy M.M. (2011).** Anthelmintic activity of the white wormwood, *Artemisia herba-alba* against *Heterakis gallinarum* infecting turkey poults. *Journal of Medicinal Plants Research* 5 (16) : 3946-3957.
 - **Segal E.2005.***Candida* ,still number one –what dowe know and where are going from there .*Mycoses* 48Suppl1,3-11.
 - **Setrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Fougrach H., Bourkhiss B., Bousta D and Talbi M, 2007.**Composition chimique et activité antimicrobienne de l’huile essentielle de *Cladanthus mixtus*. *Bull. Soc. Pharm*, **146**
 - **Shunying Z., Yang Y., Huaidong Y., Yue Y. and Guolin Z, 2005.** Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum* J ethnopharmacol. 96, pp.151-158.
 - **Silby MW.,Rainey PB and Levy SB.2011.**IVET experiments in *Pseudomonas Fluorescens* reveal cryptic promoters atassociated xith recognizable overlapping genes *Microbiology* 150:518-520.
 - **Skandamis P., Koutsoumanis k., Fasseas K et Nychas G-J-E, 2001.** Inhibition of oregano essential oil and EDTA on *Escherichia coli* O157:H7. *Italian Journal of Food Science*, 13 (1), 65-75p.
 - **Smith –Plamer A., Stewart J.and FYFE L,1998.** Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food –bome pathigens .*Letters in Applied Microbiology* ,26,118-22.
- Tahri Mustapha et Takouk, 2013.** L’effet antimicrobien et insecticide des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et *Thymus vulgaris* de la région de Mostaganem. Mémoire de master Spécialité Microbiologie Fondamentale et Appliquée, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, 109p.
- **Talbaoui A, Jamaly N, Aneb M, Idrissi A, Boukasaim M, Gmouh S, Amzazi S, El Moussaouiti M, Benjouad A, Bakri Y, 2012,** *Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from six Moraccan plants*, *Journal of medicinal plants research* vol(6), 1996-0875;
 - **Twindell E.,K.,WagnerJ.J.et Thiex NancyJ.2007.**Une a microbiologie Owen to determine Moisture Content of Forages Exex 8077.p2

Valnet. J, (1983). La phytothérapie, traitement des maladies par les plantes.

Malione. S. (Ed.).

- **Vila R.,MundinaM.,Tomi F.,FurSan R.,Zaccahino S.,Cassanova J.,Canigural S.2002.**Planta med. :cryances et réalités .Edition ESTEM68,164-167.
- **Vilain S., Luo Y.,Hildreth MB and Brozel VS.2006.**Analysis of the Life Cycle of the Soil Saprophyte *Bacillus cereus* in Liquid soil Extract and soil .Appl Environ Microbiol,72 :4970-4977.

Younsi F, Trimech R, Boulila A, Ezzine O, Dhahri S, Boussaid M & Messaoud

C,2016, *Essential Oil and Phenolic Compounds of Artemisia herba-alba (Asso.): Composition, Antioxidant, Antiacetylcholinesterase, and Antibacterial Activities, International Journal of Food Properties, V:19, 1425-1438.*

Zaidi ,F. ;Voirin ,B. ;Jay , M.,Viricel,M.R,1998.phytochemistry,48,991,994

- **Zargari A., 1990.** Herbal Medicines. Publication of Tehran University, Iran. pp: 14-18.
- **Zossoungbo F, 2013.** Etude de l'effet synergique des huiles essentielles sur l'activité antibiotique d'un aminoside : la streptomycine, mémoire de master,Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté des Sciences et Techniques,41p

Annexes

Annexe I**Milieux de culture****Mueller-Hinton (gélose) (g/l)**

Infusion de viande de bœuf300 cm³

Peptone de caséine 17.5 g

Amidon de maïs 1.5 g

Agar 17 g

pH = 7.4

Sabouraud (gélose) (g/l)

Peptone10 g

Glucose massé 20 g

Agar15 g

pH = 6

Bouillon nutritif(BN) (g/l)

Peptone.....05 g

Extrait de viande.....03 g

Chlorure de soduim05 g

pH=7.4

Gélose nutritive (g/l)

Extrait de viande01 g

Extrait de levure02 g

Peptone.....05 g

Chlorure de sodium.....05 g

Agar-agar.....15 g

Ph=7,4

Potato Dextrose Agar (PDA) (g/l)

Filtrate de pomme de terre.....	200 g
Glucose	20 g
Agar.....	20 g
Eau distillé.....	1000 ml
pH=5.6	

(Jean-noël Joffin, Guy Leyral 2014)