

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila

Institut des Sciences et de la Technologie Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé En vue de L'obtention du diplôme de Master

Filière : Biologie

Spécialité : Biologie Appliquée et Environnement

Option : Biochimie et Microbiologie Appliquées

Thème :

**Evaluation de l'activité antimicrobienne des
extraits phénoliques de *Mentha piperita***

Présentée par : BEGHIBEGH Amina

HAMZAOUI Bouchra

Devant le jury composé de :

M^{lle} RABHI Nour El-Houda..... Maitre Assistantes A

M^{lle} GHOUT Aghena..... Maitre Assistantes A

M^{lle} BAKLI Sabrina Maitre Assistantes A

Examinatrice

Présidente

Promotrice

Année Universitaire : 2015/2016

Remerciement

Avant tout, nous remercions le grand Dieu, tout puissant qui nous a donné la force, le courage, la santé et de nous avoir permis d'arriver à ce stade là. Ce mémoire n'aurait pas pu être réalisé sans la contribution de nombreuses personnes qui nous tenons à remercier par ces quelques lignes.

*Mes remerciements s'adressent d'abord, à notre encadreur, Madame **BAKLI Sabrina** Maitresse de Conférence A au centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF de Mila, sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour. Nous ne cesserons jamais de le remercier pour la confiance qu'il a placée en nous pour effectuer ce travail. Sa simplicité, sa compétence et surtout sa rigueur scientifique sont les atouts qui nous ont fasciné, dont nous avons bénéficié tout au long de notre recherche. Il n'a ménagé aucun effort pour la réalisation de ce travail qui est également le sienne.*

*Nous adressons également nos sincères remerciements aux membres jury qui ont accepté d'évaluer ce modeste travail à savoir « M^{elle} **GOUT Agena**, vous nous faites le grand honneur de présider ce jury. Nous vous prie de bien vouloir recevoir le témoignage de notre profond respect, et M^{elle} **RABHI Nour El-Houda** nous vous remercions de nous faire l'honneur de juger ce modeste travail. Veuillez accepter nos chaleureux remerciements pour votre participation à ce jury »*

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



Sommaire

Liste des Abréviations.....	I
Liste des Figures.....	III
Liste des Tableaux.....	IV

Introduction.....	01
-------------------	----

Partie I : Synthèse bibliographique

I. Phytothérapie et plantes médicinales.....	03
I.1. Principes actifs des plantes médicinales.....	03
I.2. Activités biologiques des plantes médicinales	04
I.3. Activité antibactérienne des plantes médicinales.....	04
II. Métabolites secondaires et activité antibactérienne.....	05
II.1. Les alcaloïdes	05
II.2. Les huiles essentielles	08
II.3. Les composés phénoliques	12
II.3.1. Structure et classification	13
II.3.2. Principales classes de composés phénoliques.....	13
II.3.3. Activités biologiques des composés phénoliques	19
II.3.4. Activité antimicrobienne.....	20
II.3.5. Mode d'action	20

Partie II : Matériel et méthodes

I .Matériel végétal.....	25
I.1. Présentation de la famille « Lamiaceae».....	25
I.2. Espèce <i>Mentha piperita</i>	25
II. Récolte du matériel végétale.....	26
III. Extraction	26
IV. Dosage des composés phénoliques.....	28
IV.1. Dosage des phénols totaux.....	28
IV.2. Dosage des flavonoïdes.....	29



V. Étude de l'activité antibactérienne des extraits de <i>Mentha piperita</i>	30
V.1. Souches bactériennes	30
V.2. Repiquage des souches bactériennes.....	30
V.3. Standardisation des inocula microbiens	30
V.4. Détermination de l'effet antibactérien (aromatogramme).....	31
V.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	32
V.6. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	32
V.7. Etude statistique.....	33

Partie III : Résultats et discussions

I. Extraction des composés phénoliques.....	34
II. Dosage des composés phénoliques	35
II.1. Dosage des phénols totaux.....	36
II.2. Dosage des flavonoïdes.....	36
III. Activité antimicrobienne.....	38
III.1. Antibiogrammes.....	38
III.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides (CMI/CMB).....	42

Conclusion	50
-------------------------	----

Annexe

Résumé



- HE** : Huile Essentielle.
- EM** : Extrait méthanolique.
- EA** : Extrait Aqueux.
- **E.coli** : *Escherichia coli*.
- **S.subtilis** : *Bacillus subtilis*.
- **SARM** : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méthicilline.
- **C.albicans** : *Candida albicans*.
- **S.typhi** : *Salmonella typhi*.
- **S.aureus** : *Staphylococcus aureus*.
- **P.aeruginosa** : *Pseudomonas aeruginosa*.
- **ATCC**: American Type Culture Collection.
- **MP** : *Mentha piperita*.
- **P** : Pénicilline.
- **AMX** : Amoxicilline.
- **OX**: Oxacilline.
- **C**: Chloramphénicols.
- **NA**: Acide Nalidixique.
- **CTX**: Céfotaxime.
- **EAG** : Equivalent Acide Gallique.
- **EQ** : Equivalent Quercétine.
- **P₀** : Poids de la poudre avant extraction.
- **P₁** : Poids de l'extrait sec après extraction.
- **DO** : Densité optique.
- UFC** : Unité Formant Colonie.
- **CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice.
- **CMB** : Concentration Minimale Bactéricide.
- **ppm** : (partie par million: 10^{-6}).
- **µl** : Microlitre.
- **mm** : Millimètre.
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **AFNOR** : Association Française de Normalisation.
- **K⁺** : Ion de Potassium.
- **ATP** : Adénosine Tri-Phosphate.
- **pH** : Potentiel d'Hydrogène.

- **Da** : Dalton.
- **ADN** : Acide Désoxyribo-Nucléique.
- **gyrB** : DNA gyrase, sous unité B.
- **NADPH**: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.
- **AMP_c** : Adénosine Mono-Phosphate cyclique.
- **VIH** : Le virus de l'immunodéficience humaine.
- **HSV**: Virus de Herpes.
- **C°** : Degrés Celsius.
- **spp** : Espèce.
- **HPLC** : Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance.
- **EGC_g** : L'épigallocatechine gallate.

Figure 01: Exemples de structures alcaloïdiques.....	06
Figure 02: Structure de la morphine.....	08
Figure 03: Structure de la berbérine.....	08
Figure 04: Exemple de structures : (1) Taxane (deterpène); (2) Squalène (Triterpène) ; (3) Cholestérol (Stérol) ; (4) Cardénolides.....	10
Figure 05: Schéma des différents sites d'action des huiles essentielles.....	11
Figure 06: Structures des composés phénoliques simples. A) Acide benzoïque. B) Acide Cinnamique.....	14
Figure 07: Structure de base des flavonoïdes.....	15
Figure 08: Structures des différentes classes de flavonoïdes.....	16
Figure 09: Structure de l'acide gallique, de l'acide ellagique et d'un tannin hydrolysable (gallotannins).....	17
Figure 10: Structure de la catéchine et d'un tannin condensé (proanthocyanidine)....	18
Figure 11: La menthe poivrée : (A) Feuille. (B) Fleurs.....	26
Figure 12: Schéma récapitulatif du Protocole d'extraction par macération.....	27
Figure 13: Schéma récapitulatif du Protocole de dosage des phénols totaux.....	28
Figure 14 : Schéma récapitulatif du Protocole de dosage des flavonoides.....	29
Figure 15: Teneurs en phénols totaux des différents extraits des feuilles de <i>M.piperit</i>	36
Figure 16: Teneurs en flavonoïdes des différents extraits des feuilles de <i>M.piperi</i>	37
Figure 17: Activité des extraits des feuilles de <i>M. piperita</i> sur <i>SARM</i> et <i>S. aureus</i>	39
Figure 18: Activité des extraits des feuilles de <i>M. piperita</i>	40
Figure 19: Activité des extraits (aqueux et méthanolique) des feuilles de <i>M. piperita</i>	41
Figure 20: Activité des antibiotiques sur <i>S. aureus</i> , <i>SARM</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E.coli</i> , <i>S. typhi</i> et <i>C.albicans</i>	45

Tableau 01: Les différentes classes de composés phénoliques.....	13
Tableau 02: Propriétés biologiques de quelques composés phénoliques dans l'organisme.....	19
Tableau 03: Tableau représentatif des différentes souches microbiennes testées.....	20
Tableau 04: Taux d'extraction des composés phénoliques des extraits de <i>M. piperi</i> ...	35
Tableau 05: Activité antibactérienne à l'égard des Gram positif.....	38
Tableau 06: Activité anti bactérienne et antifongique à l'égard des Gram négatif Et <i>C. albicans</i>	40
Tableau 07: Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des extraits de <i>M piperita</i> (aqueux et méthanolique) étudiées sur les souches bactériennes testées.....	42
Tableau 08: Activité anti bactérienne des antibiotiques vis-à-vis des souches étudiée.	43

Depuis la période préhistorique, les plantes ont été à la base de plusieurs thérapies jusqu'au développement des médicaments de synthèse au 19^{ème} siècle (**Djeridane et al., 2006**).

Malgré les progrès réalisés dans la synthèse de nouveaux médicaments au 20^{ème} siècle, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays industrialisés sont dérivés directement ou indirectement de plantes (**Karou et al., 2005**).

Les chercheurs se sont intéressés à l'activité biologique des composés isolés à partir des plantes contre des microorganismes pathogènes à cause des résistances développées par ces derniers contre les antibiotiques (**Tepe et al., 2005**).

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans les industries : alimentaires, cosmétiques et dermo-pharmaceutiques. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique (**Bahorum, 1997**).

Les métabolites secondaires dans les plantes médicinales sont responsables de leurs effets, il s'agit : des huiles essentielles, des alcaloïdes et des composés phénoliques (**Sacchetti, 2005**). Ces composés restent l'objet de nombreuses recherches *in vivo* et *in vitro*, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques auxquels on attribue un pouvoir inhibiteur des microorganismes.

Mentha piperita est une plante médicinale connue pour ses nombreux effets biologiques divers (**Iscan et al., 2002; Moreno et Bello, 2002; Cherrat et Espina, 2014**) Et leurs infusions sont largement utilisées dans la tradition algérienne soit comme herbe à thé ou comme antiseptique, dans le traitement des maladies.

Dans ce contexte s'inscrit cette étude qui consiste à l'évaluation de l'activité antimicrobienne des composés phénoliques des extraits de la plante *M. piperita* qui appartient à la famille des Lamiacées pour laquelle peu de travaux ont été réalisés. Afin de développer ces aspects, nous avons adopté la méthodologie suivante :

- Extraction des composés phénoliques à partir de l'espèce *M. piperita* récoltées.
- La détermination de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des différents extraits obtenus à partir de la plante de *M. piperita*.
- L'évaluation qualitative et quantitative de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits sur six souches bactériennes (*S. aureus*, *SARM*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* et *S.typhi*) et une levure *C.albicans*.

I. Phytothérapie et plantes médicinales

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. L'étude des activités biologiques des extraits de plantes est d'un grand intérêt ; en effet, les plantes constituent une source de substances naturelles ayant un grand potentiel d'application contre les insectes et d'autres parasites des plantes et du monde animal (**Abdelwahed *et al.*, 2007 ; Bouzouita *et al.*, 2008**).

Les plantes de façon générale et aromatiques en particulier, se caractérisent par deux types de métabolismes: le métabolisme primaire fournit les constituants de base et le métabolisme secondaire produit des métabolites en faibles quantités, mais dont les applications dans différents domaines, en particulier à intérêts pharmaceutique et cosmétique, voir nutritionnel, sont de la plus grande importance. Les huiles essentielles, les alcaloïdes et les composés phénoliques font partie de ce deuxième groupe de métabolites (**Farah et Abdelhafid, 2008**).

Les propriétés médicales des plantes médicinales dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques. Elles sont considérées comme un véritable réservoir de molécules irremplaçables (**Ouraïni *et al.*, 2005 ; Kumaraswamy *et al.*, 2008**).

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) définit la médecine traditionnelle comme une médecine comprenant «diverses pratiques, approches, connaissances et croyances sanitaires intégrant des médicaments à base de plantes, d'animaux et/ou de minéraux, des traitements spirituels, des techniques manuelles et exercices, appliqués seuls ou en association afin de maintenir le bien-être et traiter, diagnostiquer ou prévenir la maladie» (**Robard, 2004**).

I.1. Principes actifs des plantes médicinales

Les métabolites secondaires sont des composés appartenant à des groupes chimiques extrêmement divers. Chacun de ces groupes renferme une très grande

diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité en biologie humaine (**Bruneton, 1999**).

Ils représentent généralement moins de 10% des métabolites totaux de la plante, issus généralement de précurseurs tels que les sucres, l'acétyl CoA, les nucléotides et les acides aminés (**Kintzios et Barberaki, 2004**).

Ce sont des molécules complexes à l'origine de l'activité thérapeutique des plantes médicinales (**Yarnell, 2007**). Ils ne sont pas vitaux pour l'organisme mais jouent nécessairement un rôle important dans le métabolisme interne. Ils ont des rôles écologiques: phéromone,... (**Thomas, 2009**), un rôle dans la défense contre les herbivores et dans les relations entre les plantes et leur environnement (**Gravot, 2008**).

I.2. Activités biologiques des plantes médicinales

Les plantes médicinales ont montré à travers plusieurs études des activités biologiques très importantes pour l'organisme, à savoir l'activité antioxydant (**Kong et al., 2010**), anti-inflammatoire (**Eldeen et al., 2005 ; Ranilla et al., 2010**), anti-ulcère (**De Bruyne et al., 1999**), anti-cancer (**Kong et al., 2010**), anti-parasitaire (**Atindehou et al., 2004**), anti-fongique (**Zhang et al., 2006 ; Naili et al., 2010**), anti-virale (**Lopez et al., 2001**) et antibactérienne (**Basile et al., 1999 ; Cottiglia et al., 2001 ; Kunle et al., 2003 ; Khattak et al., 2005 ; Cushnie et Lamb, 2006 ; Punitha et al., 2008 ; Castro-Vargas et al., 2010 ; Khadri et al., 2010**).

I.3. Activité antibactérienne des plantes médicinales

Les plantes peuvent résister à l'attaque des parasites en utilisant plusieurs mécanismes de défense dont la synthèse de composés à activité antimicrobienne, appelés phytoalexines, qui appartiennent à une large gamme de produits de différentes classes chimiques incluant; les alcaloïdes, les huiles essentielles et les composés phénoliques (**Wang et al., 2008**).

Les plantes médicinales sont connues pour leur propriété de produire certains composés chimiques naturellement toxiques pour les bactéries (**Basile et al., 1999 ; Rauha, 2000**). De nombreux chercheurs ont testé l'activité antibactérienne des extraits de plantes médicinales ainsi que des substances pures d'origine végétale sur de nombreuses souches bactériennes pathogènes pour l'Homme (**Basile et al., 1999**;

Cottiglia *et al.*, 2001 ; Kunle *et al.*, 2003 ; Khattak *et al.*, 2005 ; Cushnie et Lamb, 2006 ; Jimoh *et al.*, 2010).

La plupart des études effectuées pour la mise en évidence ou pour la confirmation de l'activité antibactérienne des extraits de plantes médicinales ont été suivies par des études de caractérisation des substances bioactives. On attribue, généralement, à l'activité antibactérienne de la plante plusieurs principes actifs tel que les huiles essentielles (Navarro *et al.*, 1996; Tepe *et al.*, 2006), les alcaloïdes (Cowan, 1999; Pennachio *et al.*, 2005) et les composés phénoliques (Navarro *et al.*, 1996 ; Cowan, 1999; Rauha, 2000 ; Voravuthikunchai *et al.*, 2005 ; Cushnie et Lamb, 2006 ; Zhang *et al.*, 2010).

II. Métabolites secondaires et activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des métabolites secondaires est étroitement liée à la diversité de leur structure chimique (Orhan *et al.*, 2007).

II.1. Les alcaloïdes

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du XIX^{ème}. La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910.

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés et faiblement basiques issus principalement des végétaux (**Figure 1**). De structure moléculaire complexe plus ou moins doués de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (Bruneton, 1999; Zenk et Juenger, 2007).

Ils présentent des réactions communes de précipitation. Après extraction, ils sont détectés par des réactions générales de précipitation fondées sur leur capacité de se combiner avec des métaux.

En raison de leur puissante activité biologique, la plupart des alcaloïdes connus, environ 12.000, ont été exploités en tant que médicaments, stimulants et comme poisons. Contrairement à la plupart des autres types de métabolites secondaires, les nombreuses classes d'alcaloïdes ont des origines biosynthétiques uniques (Roberts et Wink, 1999; Stöckigt *et al.*, 2002; Ziegler et Facchini, 2008).

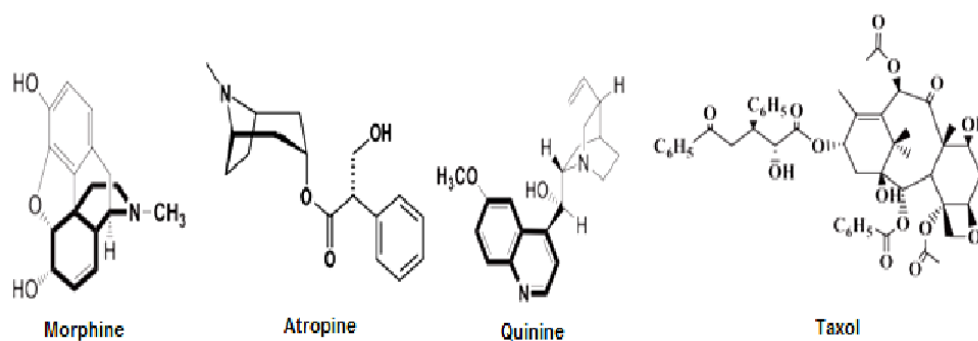


Figure 01. Exemples de structures alcaloïdiques (**Badiaga, 2011**).

II.1.1. Répartition des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont exceptionnels chez les bactéries (*Pseudomonas aeruginosa*) et rares chez les champignons (l'ergot de seigle). Ce sont essentiellement des composés présents dans les Angiospermes (surtout chez certains familles: Annonacées, Ménispermacées, Papavéracées, Fumariacées...); très répandus chez les dicotylédones (**Guignard, 2000**).

Pendant longtemps les alcaloïdes ont été considérés comme des produits strictement du métabolisme végétal. En fait des structures alcaloïdiques ont été décrites chez les animaux (les venins de quelques batraciens et de quelques poissons). Cette répartition des alcaloïdes est assez parcimonieuse et conduit à certains cas à des remarques d'ordre chimiotaxonomiques intéressantes (**Bruneton, 1999**).

II.1.2. Etat naturel, localisation

Dans la cellule végétale, les alcaloïdes sont dissous dans le suc vacuolaire. Ils se trouvent très rarement sous formes libres mais souvent associées à des constituants cytologiques tels que des acides organiques ou des tanins. A l'état de sels on les trouve sous forme de citrates, malates, tartrates, benzoates...etc.

Une plante renferme souvent un ensemble d'alcaloïdes ou l'un des composants est majoritaire. Leur teneur varie de quelques ppm (partie par million: 10^{-6}) à plus de 10% (**Guignard, 2000**).

Les alcaloïdes peuvent être localisés dans toutes les parties de la plante mais se retrouvent le plus souvent dans certains organes, comme les organes végétatifs, les

téguments de la graine, les tissus périphériques, l'épiderme et couches sous épidermiques des feuilles... Ils peuvent être spécifiques de la plante ou de l'organe végétatif. Ils s'accumulent généralement dans des emplacements différents de leur lieu de synthèse (**Bruneton, 1999; Guignard, 2000**).

II.1.3. Rôle des alcaloïdes dans le végétal

La présence de ces composés chez certains végétaux demeure un mystère. Certains ont voulu voir dans les alcaloïdes des formes de stockage de l'azote. D'autres expliquent leur existence comme protecteurs contre les prédateurs, mais la toxicité des alcaloïdes n'est pas la même pour tous les êtres vivants (certains champignons parasites sont insensibles aux alcaloïdes). Ils ont été longtemps considérés comme substances de croissance, ou simplement, des déchets des métabolites. Cette dernière hypothèse n'est pas conforme avec leur localisation ailleurs que dans les feuilles morte et avec leur diversité structurale, ce qui renforce l'hypothèse d'un rôle de défense (**Yunusove, 1966**).

II.1.4. Activité antimicrobienne

Le premier alcaloïde utilisé dans le domaine médical était la morphine, isolée en 1805 de l'opium «*Paver somniferum*». Le mot morphine (**Figure 02**) vient du grec Morpheus, ce qui signifie 'le Dieu des rêves'. La codéine et l'héroïne sont les deux dérivés toxiques de la morphine.

Les alcaloïdes diterpéniques, communément isolés à partir des plantes de la famille *Ranunculaceae*, sont rapportés pour avoir des propriétés antimicrobiennes. Ainsi que Solamargine, un glycoalcaloïde des baies de *Solanum khasianum* et d'autres alcaloïdes qui ont des effets microbicides (y compris contre les espèces de *Giardia* et *Entamoeba*).

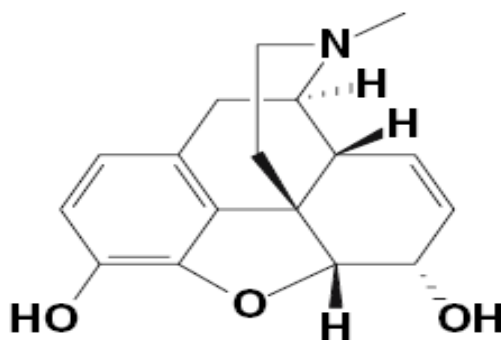
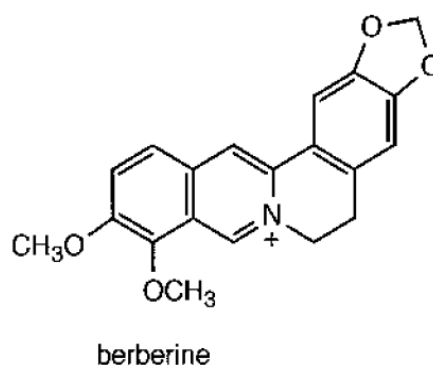


Figure 02. Structure de la morphine (Dembitsky, 2008).

Plusieurs travaux ont mis en évidence l'effet antibactérien des alcaloïdes (El-Seedi *et al.*, 2007; Orhan *et al.*, 2007 ; Delso *et al.*, 2010; Yu *et al.*, 2010 ;) ont rapporté que tous les types d'alcaloïde semblent être plus actifs contre les bactéries Gram⁻ que les bactéries Gram⁺. Une forte activité antibactérienne de la berbérine (Figure 03) a été rapportée contre *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Enterococcus spp.* et *Serratia marcescens*, montrant une meilleure activité que la streptomycine à 50µg/ml par la méthode de diffusion sur disque (Orhan *et al.*, 2007). Par ailleurs, l'activité antimicrobienne de la berbérine est principalement attribuée à son pouvoir de se lier à l'ADN (Stermitz *et al.*, 2000; Gómez-Galera *et al.*, 2007).

**Figure 03.** Structure de la berbérine (Stermitz *et al.*, 2000).

II.2. Les huiles essentielles

Les HE, connues aussi sous le nom d'huiles volatiles ou étherées sont des mélanges complexes de composants oxygénés et des hydrocarbures de formule générale (C₅H₈)_n (Burt, 2004; Dembitsky, 2006; Bakkali *et al.*, 2008 ; Batish *et al.*, 2008 ; Benchaar *et al.*, 2008 ; Bruneton, 2009).

Selon AFNOR : ce sont des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de Citrus

par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques (Garnero, 1996).

Ces procédés ne permettent pas d'extraire tous les principes actifs en raison de leur lourdeur. Ils présentent des inconvénients dus à l'action de la vapeur ou de l'eau bouillante, en milieu plus au moins acide, provoquant la formation d'artefacts (huile essentielle riche en acétates de linalyles (Garnero, 1996).

II.2.1. Synthèse et localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent, en général, dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouverte d'une cuticule. Elles sont alors stockées dans une cellule transformée en cellule à essence, ou dans des poils glandulaires, des poches sécrétrices, des canaux sécréteurs voir des papilles (Teucher *et al.*, 2003).

II.2.2. Composition chimique des huiles essentielles

Le nombre de composants isolés au sein des huiles essentielles est d'environ un millier et il reste beaucoup à découvrir (Belaiche, 1979).

Ces constituants sont surtout des carbures terpéniques et leurs dérivés d'oxydation (Belaiche, 1979). La diversité remarquable des terpènes, rencontrés chez les plantes, et de leurs dérivés, et un nouvel exemple des possibilités chimiques de l'usine végétale (Guignard, 1979, 2000).

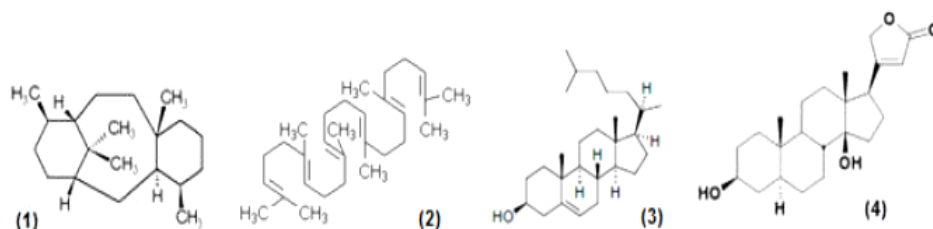


Figure 04. Exemple de structures : (1) Taxane (deterpène) ; (2) Squalène (Triterpène) ; (3) Choletérol (stérois) ; (4) Cardénolides (Bruneton, 2009).

Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles ont été démontrées contre un grand nombre de microorganismes, incluant les bactéries, les protozoaires et les champignons (**Benchaar *et al.*, 2008**).

II.2.3. Propriétés antimicrobiennes

Comme pour leur essence, saveurs et leurs propriétés antiseptiques et préservatives, les plantes et leurs extraits ont été utilisés par l'homme depuis très longtemps (**Burt, 2004**).

La première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (**Boyle, 1955**). Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes. Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques (**Elodie, 2011**).

Les activités antimicrobiennes des huiles essentielles ont été démontrées contre une grande variété de microorganismes, incluant les bactéries Gram positives et les bactéries Gram négatives. L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est attribuée aux terpénoïdes et aux composés phénoliques (**Burt, 2004; Benchaar *et al.*, 2008**).

L'activité des huiles essentielles est souvent assimilée à une activité bactériostatique. Des études ont montré que certains constituants chimiques des huiles essentielles ont des propriétés bactéricides (**Carson et Riley., 1995; Lambert *et al.*, 2001; Kunle *et al.*, 2003; Walsh *et al.*, 2003**) et fongicides (**Hammer *et al.*, 2003**).

II.2.4. Mode d'action

Un nombre de théories ont été proposées pour expliquer le mécanisme par lequel les huiles essentielles exercent leurs activités antimicrobiennes. Les huiles essentielles comprennent un grand nombre de composés, dont l'activité antimicrobienne n'est probablement pas due à un mode d'action spécifique mais englobe plusieurs cibles dans la cellule bactérienne (**Figure 05**) (**Carson *et al.*, 2002; Burt, 2004**).

De nombreuses huiles essentielles exercent leur activité antimicrobienne par interaction avec des processus associés avec la membrane cellulaire bactérienne, incluant le transport d'électrons, les gradients d'ions, la translocation des protéines, la phosphorylation et autres réactions enzymatiques (**Benchaar *et al.*, 2008**).

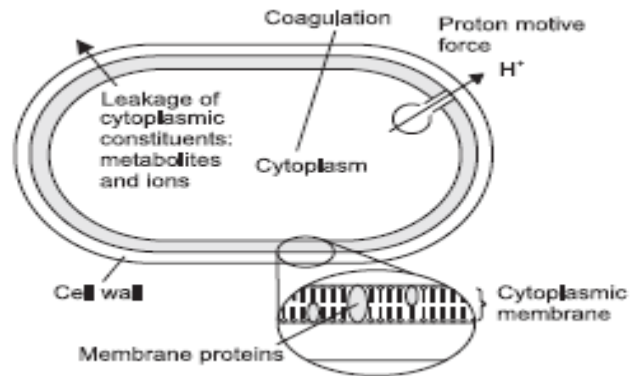


Figure 05. Schéma des différents sites d'action des huiles essentielles
(Burt, 2004).

Les huiles essentielles ont une grande affinité avec les lipides membranaires grâce à leur nature hydrophobe. Leurs propriétés antimicrobiennes sont associées à leurs caractères lipophiles. Ce mécanisme est une fonction des propriétés lipophiles des composés constituant cette huile essentielle et du potentiel de leur groupe fonctionnel (Dorman et Deans, 2000).

Les composés aromatiques exercent leurs effets antimicrobiens sur la membrane cytoplasmique en altérant sa structure et fonction. Le flux de K^+ est habituellement un signe avancé de la désorganisation de la cellule (Walsh *et al.*, 2003). Et il est souvent suivi du flux des constituants cytoplasmiques y compris l'adénosine triphosphate (ATP) (Ultee *et al.*, 2002).

La perte du caractère différentiel de perméabilité de la membrane cytoplasmique est fréquemment identifiée comme cause de la mort de la cellule. Certains chercheurs l'ont exploré, raisonnant que la perte de la fonction membranaire explique en partie l'activité antimicrobienne (Walsh *et al.*, 2003).

D'autres effets, qui pourraient mener au dysfonctionnement et à la rupture membranaire incluent la dissipation des deux composés de la force motrice, des protons dans les cellules (le gradient de pH et le potentiel électrique), soit par changement dans le transport des ions ou par dépolarisation à travers les changements structurels dans la membrane; interférence avec le système de génération de l'énergie (adénosine triphosphate) dans la cellule; ou l'inhibition d'enzymes empêchant ainsi l'utilisation des substrats pour la production d'énergie (Ultee *et al.*, 2002).

II.3. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques représentent un groupe de composés chimiques existant à la fois dans les plantes terrestres et dans les macrophytes aquatiques (**Toth et Pavia, 2001; Koivikko et al., 2008**).

Ils sont synthétisés au cours du développement normal ainsi qu'en réponse aux conditions du stress telles que les infections, les blessures entre autres les rayonnements UV (**Naczk et Shahidi, 2004; Naczk et Shahidi, 2006**). Ils présentent dans leurs structures au moins un cycle aromatique lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (**Hennebelle et al., 2005**).

Ils constituent un groupe de produits phytochimiques très diversifié (**Naczk et Shahidi, 2004; Naczk, 2006**), avec plus de 8000 variantes structurelles, allant de molécules simples, telles que les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés, comme les tannins condensés (**Bravo, 1998; Martin et Andriantsitohaina, 2002; Lugasi et al., 2003; Rahman et al., 2006**). Les composés phénoliques, ne sont pas libres, ils se trouvent généralement sous forme d'esters, liés aux acides organiques, ou de glycosides, liés aux sucres (**Crozier et al., 2006; Vermerris et Nicholson, 2006**).

II.3.1. Structure et classification

Les composés phénoliques sont classés en groupe principal (**Tableau 01**) qui se distingue par le nombre d'atomes de carbone constitutifs et la structure du squelette de base (**Robards et al., 1999; Michalak, 2006**). Les structures chimiques des principaux composés phénoliques sont représentées dans le tableau.

Tableau 01. Les différentes classes de composés phénoliques
(**Balasundram et al., 2006**).

Classe	Structure
Phénols simples, benzoquinones	C6
Acides hydroxybenzoïque	C6-C1
Acétophenones, acides phenylacétique	C6-C2
Acides hydroxycinnamiques, phenylpropanoïdes	C6-C3

(coumarins, isocoumarins, chromones, chromènes)	
Napthoquinones	C6–C4
Xanthones	C6–C1–C6
Stilbenes, anthraquinones	C6–C2–C6
Flavonoïdes, isoflavonoïdes	C6–C3–C6
Lignanes, neolignanes	(C6–C3) ₂
Biflavonoïdes	(C6–C3–C6) ₂
Lignines	(C6–C3) _n
Tannins condensés (proanthocyanidines ou flavolanes)	(C6–C3–C6) _n

II.3.2. Principales classes de composés phénoliques

Il existe différentes classes de polyphénols (**Tableau 01**), notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes, les saponines, les phytostérols ou bien phytostanols. Les plus importants sont: les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins.

II.3.2.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont subdivisés en deux groupes principaux, les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (**Bravo, 1998; Balasundram et al., 2006; Liu, 2007**).

Les hydroxybenzoates ont une structure générale de C6-C1 provenant de l'acide benzoïque. La variation dans la structure de chacun des acides hydroxybenzoïque réside dans les hydroxylations et les méthylations des cycles aromatiques (**Häkkinen, 2000**). Ils incluent les acides vanillique, syringique, p-hydroxybenzoïque et gallique (**Bravo, 1998; Balasundram et al., 2006; Liu, 2007**).

Ils sont souvent présents sous forme liée, généralement ce sont des composés de structures complexes comme les lignines et les tannins hydrolysables. Ils peuvent également dériver des sucres et acides organiques (**Liu, 2007**).

Les hydroxycinnamates (C6-C3) sont issus de la voie des phénylpropanoïdes (**Crozier et al., 2006**). Les plus courants sont les acides p-coumarique, caféique et férulique (**Bravo, 1998; Balasundram et al., 2006; Crozier et al., 2006; Liu, 2007**). Ils sont présents principalement sous forme liée, par des liaisons ester, à des éléments structuraux de la paroi cellulaire tels que la cellulose, la lignine et les protéines (**Liu,**

2007). Ils représentent donc l'un des principaux groupes de composés phénoliques végétaux (Bravo, 1998).

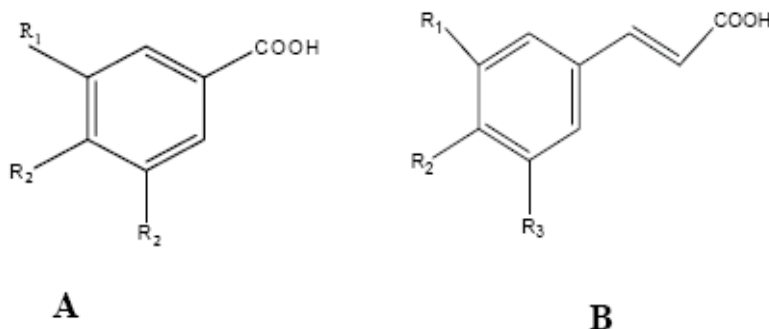


Figure 06. Structures des composés phénoliques simples.

A) Acide benzoïque. **B)** Acide cinnamique (Fleuriet *et al.*, 2005).

II.3.2.2. Flavonoïdes

Le terme «flavonoïdes» est généralement utilisé pour décrire une très large gamme de produits naturels (Marais *et al.*, 2006) formés dans les plantes à partir des acides aminés aromatiques, la phénylalanine et la tyrosine, et du malonate (Pietta, 2000). Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés (Erlund, 2004) qui comprennent un squelette de carbone C6-C3-C6, ou plus précisément une fonction phenylbenzopyrane (Marais *et al.*, 2006).

Ils se composent de deux cycles benzéniques (A et B), qui sont reliés par un cycle pyrane (C) contenant de l'oxygène (Figure 07), (Erlund, 2004).

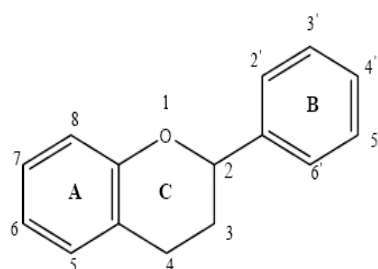


Figure 07. Structure de base des flavonoïdes (Heim *et al.*, 2002).

Les flavonoïdes se retrouvent sous forme d'aglycones, des glycosides et des dérivés méthylés (Heim, 2002). Leur modification se fait par hydroxylation, méthylation, O-glycosylation des groupements hydroxyles ainsi que par C-glycosylation de l'atome de carbone du squelette flavonoïde (Stobiecki et Kachlicki, 2006).

Les différentes classes de flavonoïdes diffèrent par le degré d'oxydation et les modèles de substitution dans le cycle C (**Pietta, 2000**), dans l'emplacement du cycle aromatique B aux positions C-2 ou C-3 du cycle C (**Stobiecki et Kachlicki, 2006**). Des composés de la même classe diffèrent dans le modèle de substitution des cycles A et B (**Pietta, 2000; Balasundram et al., 2006**). Ces substitutions peuvent impliquer l'oxygénation, l'alkylation, la glycosylation, l'acylation et la sulfatation (**Balasundram et al., 2006**).

Les flavonoïdes sont généralement classés en 3-hydroxyflavonoïdes (flavonols, anthocyanidines, leucoanthocyanidines, et catéchines) et en 3-désoxyflavonoïdes (flavanones et flavones) (**Erlund, 2000**). Flavones et flavonols sont les composés flavonoïdiques les plus répandus dont notamment: la quercétine, le kaempférol, la myricétine et l'apigénine (**Ghedira, 2005**).

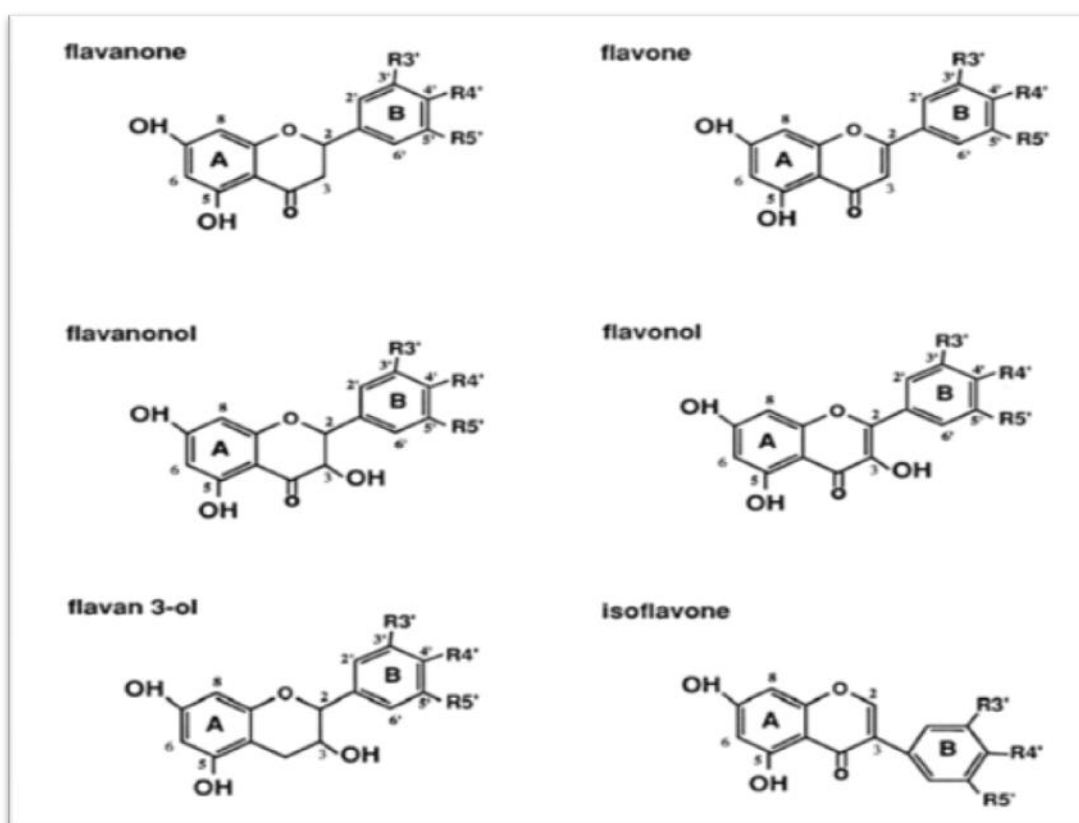


Figure 08. Structures des différentes classes de flavonoïdes (**Gamet-Payraastre et al., 1999**)

II.3.2.3. Tannins

Le terme « tannins » a été utilisé à l'origine pour décrire des substances végétales capables de transformer des peaux d'animaux en cuirs (**Cowan, 1999; Khanbabae et Ree, 2001; Bennick, 2002; Koivikko, 2008; Rahim et Kassim, 2008**). Aujourd'hui, le terme est largement utilisé pour décrire un sous-groupe de composés phénoliques qui sont produits sous forme de métabolites secondaires, par une multitude d'espèces végétales diversifiées. Leur poids moléculaire est de plus de 500 Daltons, ils sont solubles dans l'eau avec la capacité de précipiter les protéines (**Hagerman *et al.*, 1998; Cowan, 1999; Toth et Pavia, 2001; Bennick, 2002; Koivikko *et al.*, 2005; Koivikko, 2008**).

Les tannins sont divisés en deux groupes selon leur nature chimique et leur structure: les tannins condensés (tannins catéchiques) et hydrolysables (**Luthar, 1992 ; Bennick, 2002 ; Makkar, 2003 ; Frutos *et al.*, 2004 ; Elizondo *et al.*, 2010**).

II.3.2.3.1. Tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables sont des esters d'un sucre (généralement le glucose) ou d'un polyol et d'un acide phénol (**Hagerman et Bulter, 1989; Derbel et Ghedira, 2005**).

Ces métabolites peuvent se condenser, par oxydation, à d'autres molécules galloyl hexahydroxydiphénique formant ainsi des polymères de haut poids moléculaire (**Bravo, 1998**). Comme leur nom l'indique, ces tannins sont facilement hydrolysés par les acides, les alcalins, l'eau chaude et par l'action enzymatique, ce qui donne l'alcool polyhydrique et l'acide phénylcarboxylique (**Bravo, 1998; Bennick, 2002**). Selon la nature de ce dernier, les tannins hydrolysables peuvent être subdivisés en gallotannins, qui sont dérivées à partir de l'acide gallique, ou ellagitannins, qui sont issus de l'acide hexahydroxydiphénique (**Bravo, 1998; Bennick, 2002; Rahim et Kassim, 2008**).

Le plus connu des tannins hydrolysables est l'acide tannique, qui est un gallotannin composé d'une molécule de glucose pentagalloyl estérifié avec cinq unités d'acide gallique (**Bravo, 1998**).

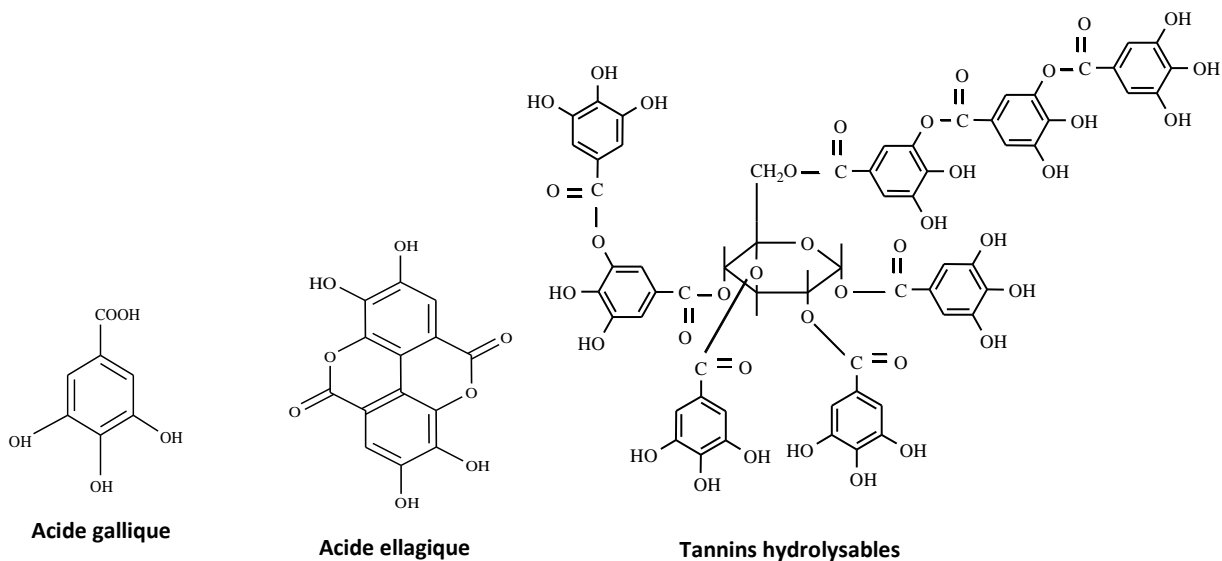


Figure 09. Structure de l'acide gallique, de l'acide ellagique et d'un tannin hydrolysable (gallotannins) (Naczki et Shahidi, 2004 ; Niemetz et Gross, 2005).

II.3.2.3.2. Tannins condensés

Les tannins condensés ou proanthocyanidines sont des oligomères ou des polymères dont l'unité est un flavan-3-ol (catéchine et épicatechine). La condensation oxydative se produit entre le carbone C-4 de l'hétérocycle et les carbones C-6 ou C-8 des unités adjacentes (Bravo, 1998; Khanbabaee et Ree, 2001; Vermerris et Nicholson, 2006; Rahim et Kassim, 2008).

L'hydrolyse des tannins condensés par chauffage dans l'acide produit des anthocyanes (Hagerman et Bulter, 1989; Bennick, 2002; Vermerris et Nicholson, 2006). Les tannins condensés les plus fréquemment décrits ont un poids moléculaire

d'environ 5000 Da, bien que, des polymères à poids moléculaire supérieur à 30,000 Da ont été décrits (Bravo, 1998; Bennick, 2002).

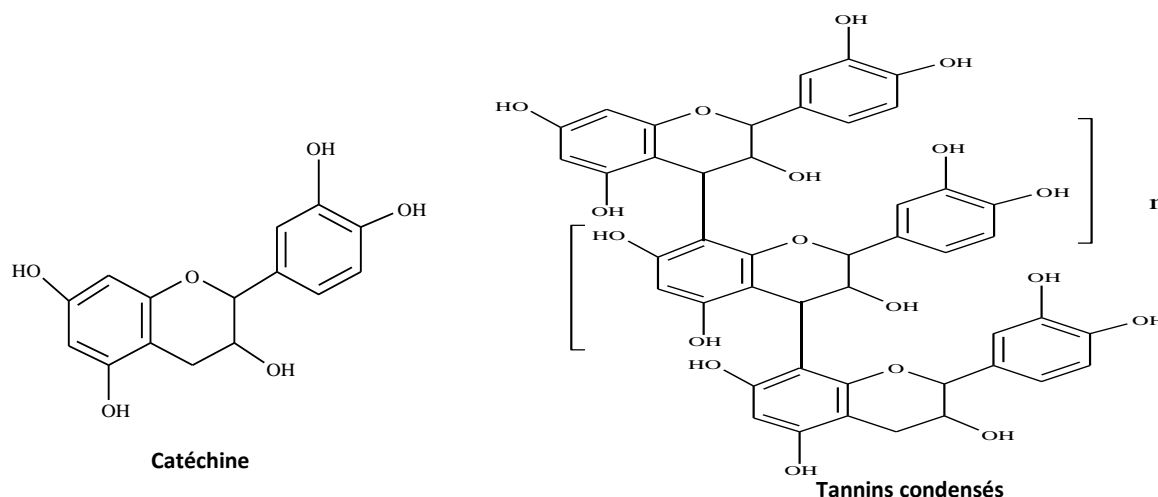


Figure 10. Structure de la catéchine et d'un tannin condensé (proanthocyanidine) (Naczk et Shahidi, 2004).

II.3.3. Activités biologiques des composés phénoliques

Plus de 5000 polyphénols sont identifiés, plusieurs d'entre eux possèdent un large spectre de propriétés biologiques (Ullah et Khan, 2008). Ils sont décrits comme étant des antioxydants, anti-agrégants plaquettaires, anti-inflammatoires, anti-allergiques, anti-thrombotiques, antitumoraux, vasodilatateurs, cardioprotecteurs et antimicrobiens (Puupponen-Pimiä *et al.*, 2001; Balasundram *et al.*, 2006).

Les exemples de quelques composés phénoliques et de leurs activités biologiques sont présentés dans le (Tableau 2).

Tableau 02. Propriétés biologiques de quelques composés phénoliques *in vitro* (Chaouche, 2014).

c. phénoliques	Activités biologiques	Références
Acides phénols	Antiparasitaires, antifongiques, antioxydantes, antibactériennes, anti-ulcéreuses	Flores <i>et al.</i> , 2009 ; Kim <i>et al.</i> , 2010
Coumarines	Analgésiques, anti-inflammatoires, protectrices vasculaires, antiparasitaires, antioedémateuses,	Ito <i>et al.</i> , 2005 ; Smyth <i>et al.</i> , 2009

	anti-tumoral, soins des hémorroïdes et des varices.	
Flavonoïdes	Antitumorales, anti-carcinogènes, antiparasitaires, antivirales, antibactériennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, antiallergique, antithrombotique, antiatherogénique, hypotenseurs, analgésiques, ostéogènes, diurétique	Fiedman <i>et al.</i> , 2006 ; Cushnie <i>et al.</i> , 2007 ; Batovska <i>et al.</i> , 2009
Anthocyanes	Protectrices capillaro- veineux, antioxydant	Bruneton <i>et al.</i> , 2009
Tanins condensés	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydants, antitumorales, antifongiques, anti- inflammatoires	Masquelier <i>et al.</i> , 1979 ; Zhou <i>et al.</i> , 2011
Tanins galliques et catéchiqes	Antioxydantes, antimicrobiens, antiviraux, anti-inflammatoire, hypoglycémiant.	Okamura <i>et al.</i> , 1993 ; Kubata <i>et al.</i> , 2005
Lignanes	Anti-inflammatoires, analgésiques	Kim <i>et al.</i> , 2009

II.3.4. Activité antimicrobienne

Les composés phénoliques sont des précurseurs des polymères structuraux, ils servent de molécules de signalisation ou fonctionnent comme agents antimicrobiens (les phytoanticipines et les phytoalexines) (**Hammer, 2005**).

II.3.5. Mode d'action

Le mode d'action des polyphénols sur les microorganismes peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (protéases et carbohydrases) ou d'autres interactions inactivant les adhésines microbiennes, les protéines de l'enveloppe cellulaire et des interactions non spécifiques avec des hydrates de carbone, etc (**Cowan, 1999; Karou et al., 2005; Mohamed et al., 2009**).

II.3.5.1. Acides phénoliques

Les plantes médicinales contenant des acides phénols se sont avérées efficaces contre les bactéries (**Samy et Gopalakrishnakone, 2008**). Les acides phénoliques (acide cinnamique, acide coumarique, acide caféique et acide férulique) ont montré une bonne activité contre les bactéries Gram⁺ et seulement une faible activité contre les

bactéries Gram⁻ (*Escherichia coli* et *Salmonella enterica*) à de forte concentration (**Rodríguez-Vaquero et al., 2007**).

L'action des phénols sur les microorganismes est liée au (x) site (s) et au nombre de groupements hydroxyles. En effet, l'augmentation d'hydroxylation augmente leur toxicité. En outre, les phénols les plus oxydés sont plus inhibiteurs. Les mécanismes responsables de leur toxicité comprennent une inhibition d'enzymes par les composés oxydés, par réaction de groupements sulfhydryles ou par des interactions non spécifiques avec des protéines (**Cowan, 1999**).

Les phénylpropanoïdes développent leur action contre les bactéries à travers l'interaction avec la membrane cellulaire, cette activité est due au caractère hydrophobe des hydrocarbures cycliques, ce qui leur permet d'interagir avec les membranes cellulaires et de s'accumuler dans la bicouche lipidique des bactéries.

Cette interaction provoque la fluidification de la membrane et son expansion, ce qui entraîne une diminution du gradient ionique transmembranaire (**Calsamiglia et al., 2007**).

II.3.5.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont synthétisés par les plantes en réponse aux infections microbiennes (**Ullah et Khan, 2008**). **Lopez-Lazaro (2009)** a été montré *in vitro*, que ce sont des substances antimicrobiennes efficaces contre une large gamme de microorganismes (**Ullah et Khan, 2008**).

L'action des flavonoïdes sur la cellule bactérienne est pléiotropique, c'est à dire qu'un même composé peut agir sur différentes cibles. Les flavonoïdes peuvent cibler la paroi bactérienne, la membrane cytoplasmique, inhiber la synthèse de l'ADN et interférer avec des voies métaboliques (**Cushnie et Lamb, 2005**).

Les catéchines s'intercalent entre les phospholipides membranaires et provoquent une réduction de la fluidité de la membrane, générant une inhibition de certaines fonctions membranaires (**Huber et al., 2003; Blanco et al., 2005; Stapleton et al., 2006; Stapleton et al., 2007**). Ces composés sont aussi connus pour leur capacité à potentialiser les effets de certains antibiotiques (**Blanco et al., 2005**). L'EGCg inhibe la pompe d'efflux de (K⁺) impliquée dans la résistance des souches *S. aureus* aux tétracyclines ce qui restaure leur sensibilité. Il peut aussi agir en synergie avec les

pénicillines et moduler la résistance de *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) (**Sudano-Roccaro, 2004**). Comme il inhibe la pénicillinase conduisant à la restauration de l'activité de la pénicilline (**Taganna et Rivera, 2008**).

La synthèse de l'ADN peut être inhibée par certains flavonoïdes. La quercétine inhibe la topoisomérase II (ADN gyrase) d'*E. coli* en se liant à la sous unité GyrB (**Cushnie et Lamb, 2005**). Le site de fixation de l'ATP et de la quercétine est chevauchant, il en résulte une inhibition de son activité ATPasique. La galangine (flavonol), un analogue structural de la 4-quinolone semble également avoir la topoisomérase IV comme cible (**Cushnie et Lamb, 2006**).

Les flavonoïdes interfèrent avec la voie de biosynthèse des acides gras, l'EGCg inhibe de façon compétitive les enzymes bactériennes de synthèse des acides gras Fab G et Fab I (bacterial fatty acid synthase) par liaison au site de fixation du cofacteur NADPH, comme il inhibe aussi le complexe déjà formé; le Fab G-NADPH (**Zhang et Rock, 2004**).

L'activité antifongique des flavonoïdes est aussi établie, une étude faite sur *Dianthus caryophyllus* a montré l'efficacité de ses flavonoïdes sur des souches fongiques (**Galeotti et al., 2008**).

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-virale (**Petit et al., 2007**). Ils sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines des virus. **Mucsi et Pragai en 1985** ont également montré une corrélation entre l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes sur divers virus d'herpès et leur capacité à augmenter les taux intracellulaires en AMP_c dans les cellules infectées.

Des travaux ont mis en évidence l'impact des flavonoïdes sur le rétrovirus VIH responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), aussi ils se sont avérés de bons inhibiteurs de transcriptase reverse. Autre étude a montré que, les flavonoïdes pouvaient avoir une action plus sélective en interagissant avec une glycoprotéine de surface du virus VIH, empêchant ainsi la liaison du virus à la cellule hôte. Enfin, les flavonoïdes seraient susceptibles d'inhiber l'intégrase rétrovirale du virus VIH-1. Cette

enzyme permet l'intégration du génome viral à celui de la cellule hôte (**Mahmood et al., 1993 ; Fesen et al., 1994**).

II.3.5.3. Tannins

Plusieurs travaux ont mis en évidence l'effet antibactérien des extraits de plantes riches en tannins (**Luthar, 1992; Al-Momani et al., 2007 ; Briones-Nagata et al., 2007 ; Cimolai et Cimolai, 2007 ; Liu et al., 2008; Kim et al., 2010**).

Les plantes riches en tannins ont une nature astringente et sont utilisés dans le traitement des désordres intestinaux tels que les diarrhées et les dysenteries, de ce fait exhibant une activité antimicrobienne (**Sharma et al., 2009**). Les tannins hydrolysables sont plus toxiques que les tannins condensés et leur toxicité est liée à leur taille moléculaire (**Frutos et al., 2004 ; Widsten et al., 2010 ; Okuda, 2005**) a démontré l'effet inhibiteur de plusieurs tannins hydrolysables sur *Helicobacter pylori*.

La toxicité des tannins pour les microorganismes peut être liée à leur propriété astringente qui peut induire une complication avec les enzymes ou les substrats, à leur action sur les membranes des microorganismes et à leur capacité à complexer les ions métalliques (**Akiyama et al., 2001**).

L'intégrité et la fonction de la membrane plasmique peuvent être affectées par les tannins, à des concentrations sub-inhibitrices d'acide tannique (**Henis et al., 1964**). **Funtagawa et al. (2004)** ont rapporté l'effet bactéricide des tannins hydrolysables sur *Helicobacter pylori*, dû à leur agrégation avec la membrane cytoplasmique. **Jones et al. (1994)** ont démontré l'inhibition des protéases de *Streptococcus bovis* et de *Butyrivibrio fibrisolvens* par les tannins condensés, confirmant ainsi l'action des tannins sur les enzymes bactériennes.

Plusieurs types de champignons sont inhibés par les tanins .Les champignons filamenteux comme *Aspergillus niger* ,*Botrytis cinerea* ,*Chaetomium cupreum* *Collectotrichum graminicola*, *Coniphora olivacea* ,*Coriolus versicolor*, *Crinepellis perniciososa* *Fomes annosus* , *Gloeophyllum trabeum*, *Merulius lacrymans*, *Penicillium*, *Poria monticola* *Trametes hirsuta* et *Trichaderma viride* sont inhibés par les tanins de différentes préparations. De même, différentes levures incluant *Saccharomyces crevisiae* sont aussi sensibles aux tanins (**Chung et Wei, 2001**).

Les tanins ont aussi rapportés d'inactiver le virus *tobacco mosaïque*, et poliovirus. L'acide tannique est capable d'inhiber la réplication du virus d'influenza, *Coxsackievirus*, *echovirus*, *reovirus*, virus d'herpes (**Chung et Wei, 2001**).

Les tanins ont un autre effet inhibiteur de la réplication virale, c'est l'inhibition de la transcriptase inverse des rétrovirus comme virus (HIV) ; cette inhibition est influencée par la galloylation, l'étendue de l'oligomérisation, la différence de la liaison inter-flavan, la stéréochimie de la fonction 3 hydroxyle (**De Bruyne et al., 1999**).

L'activité antivirale des tanins est due à la fixation des molécules des tanins à l'enveloppe protéique du virus ou la membrane de la cellule hôte et par conséquent l'inhibition de l'adsorption et la pénétration virale ; cependant, dans certains cas la fixation cause seulement des changements mineurs à la surface virale, la pénétration reste mais l'enlèvement de l'enveloppe virale est inhibé. Plusieurs types de virus sont inactivés par les tanins, le virus Herpes simplex (HSV-1, HSV-2) est inhibé par les tanins hydrolysables et les tanins condensés galloylés de plusieurs extraits des plantes (**De Bruyne et al., 1999**).

I. Matériel végétal

I.1. Présentation de la famille de Lamiacée

Elle comprend près de 6700 espèces regroupées dans environ 250 genres (Miller *et al.*, 2006). La région méditerranéenne a été le centre principal pour domestication et culture de Labiatae (Naghibi *et al.*, 2005).

Un très grand nombre de genre de cette famille sont des sources riches en terpénoïdes, flavonoïdes, iridiodes glycosylés et composés phénoliques (Naghibi *et al.*, 2005).

C'est une famille d'une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Elle est l'une des famille les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antioxydant, anti-inflammatoire, antifongique et antibactérien (Gherman *et al.*, 2000 ; Bouhdid *et al.*, 2006).

I.2. Espèce *Mentha piperita*

La Menthe poivrée (*Mentha piperita*) est une plante vivace par son rhizome qui se propage sous terre ; elle se propage également par stolons. Ses feuilles mesurent de 4 à 10 cm de long, elles sont ovales, vert foncé et se teignent de nuances rougeâtres au soleil et de rouge cuivré à l'ombre. Elles sont recouvertes de gros poils sécréteurs arrondis dans lesquels s'accumulent les substances volatiles odorantes.

C'est une plante herbacée de la famille des lamiacées. Elle est issue d'un croisement entre la menthe aquatique (*Mentha aquatica*) et la menthe verte (*Mentha spicata*) (Shah et D'Mello, 2004). Elle est considérée comme un astringent, antiseptique, antipyrétique, antispasmodique, antimicrobien,...etc. Elle est surtout efficace pour soigner les troubles de la digestion tels que nausées et ballonnements, elle soulage aussi les maux de tête liés à une mauvaise digestion (Sujana *et al.*, 2013).

Selon Quezel et Santa (1963), la classification de la menthe est la suivante:

Règne:	Plantae
Sous règne:	Plantes vasculaires
Embranchement:	Spermaphytes
Sous embranchement:	Angiospermes
Classe:	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Ordre:	Lamiales (Labiales)
Famille:	<i>Lamiaceae</i>
Tribu:	Mentheae
Genre:	<i>Mentha</i>



Figure 11. La menthe poivrée : (A) Feuilles. (B) Fleurs.

II. Récolte du matériel végétal

❖ Préparation de la poudre végétale

Cette étude est portée sur les extraits actifs « polyphénols » des feuilles de *Mentha piperita* récoltée dans la région de Skikda.

Les parties aériennes récoltées ont été séchées durant 4 semaines à l'ombre à température ambiante avant d'être réduites en poudre à l'aide d'un broyeur. Cette dernière a été conservée dans un flacon opaque qui sert ultérieurement à l'extraction des métabolites secondaires.

III. Extraction

❖ Préparation des deux extraits méthanolique et aqueux

L'extrait méthanolique de la plante de *Mentha piperita* est préparé selon la méthode de Farzana (1997). C'est une extraction de type solide/liquide (macération) est utilisée, avec un mélange hydroalcoolique (Méthanol/ Eau distillée) (Méthanol à 70% ; 70:30, V /V).

Une quantité de 128 g de poudre végétale à été introduite dans un erlenmeyer contenant un mélange hydroalcoolique (méthanol à 70% ; 70:30, v/v). L'ensemble est laissé pour macération pendant une semaine à température ambiante et subit une agitation manuelle tout les 24 h. Puis, l'extrait récupéré par filtration (Whatman N°1) est soumis à une évaporation partielle à 40°C/ 20min.

Le filtrat obtenu est ensuite placé dans des boîtes de Pétri en verre et mit à l'étuve à 40°C.

L'extrait aqueux de la plante de *Mentha piperita* est aussi préparé selon la même méthode de Farzana (1997).

140 g de poudre végétale ont été introduits dans un erlenmeyer contenant un mélange hydroalcoolique (méthanol à 70% ; 70:30, v/v). Et on a procédé de la même manière que pour l'extrait méthanolique. Le filtrat obtenu est ensuite placé pour évaporation à sec sous vide par un rota vapeur à 40°C/30min. Puis, a été repris dans un mélange d'éther de pétrole/eau (1:1, V/V) et laissé décanter dans une ampoule à décanter, la phase organique et aqueuse a été séparée et laissée évaporer dans l'étuve à 40°C.

Les taux d'extraction sont calculés selon la formule décrite par (Owen et Johns, 1999) :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = P_1/P_0 \times 100$$

Où

P_0 : poids de la poudre avant extraction.

P_1 : poids de l'extrait sec après extraction.

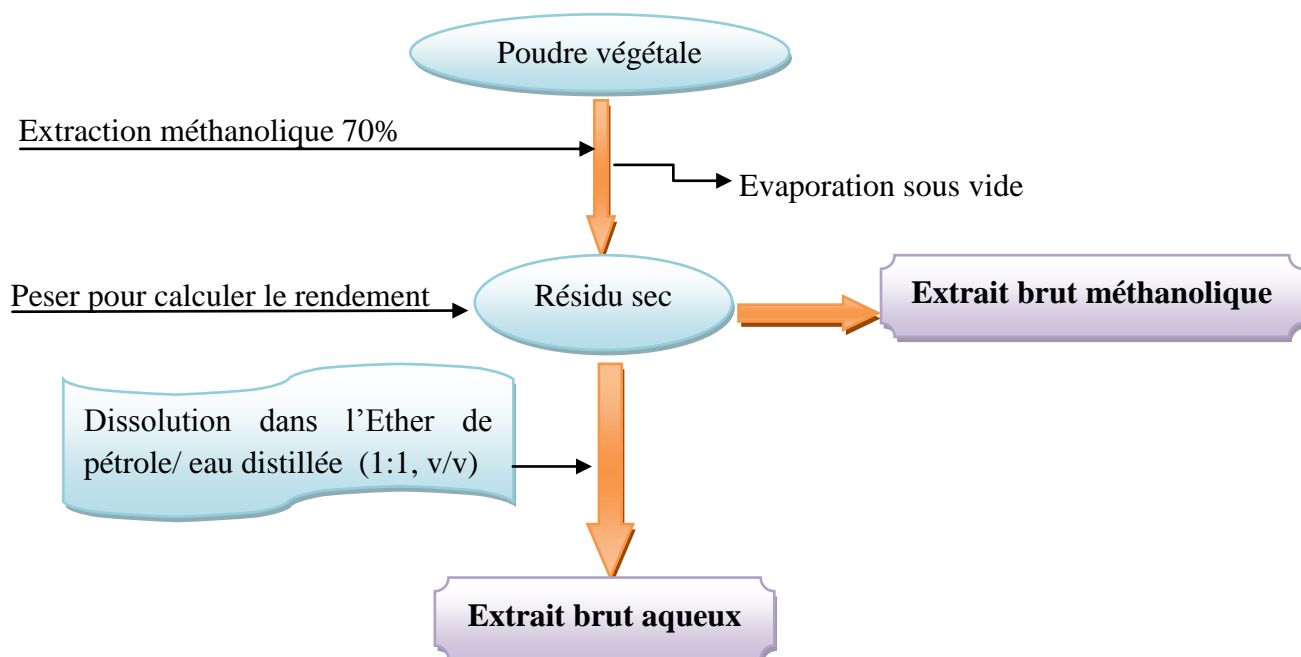


Figure 12. Schéma récapitulatif du Protocole d'extraction par macération (Farzana, 1997).

IV. Dosage des composés phénoliques

IV.1. Dosage des phénols totaux

❖ Principe

Le mélange des acides phosphotungstiques ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et phosphomolybdiques ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) du réactif Folin-Ciocalteu est réduit lors de l'oxydation des composés phénoliques, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), la coloration bleue produite est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans l'extrait (Ribereau-Gayon, 1968 ; Bucic-Kojic *et al.*, 2007).

❖ Mode opératoire

Le contenu en phénols totaux des extraits de *Mentha piperita* est estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu, adoptée par Singleton *et al.* (1965). Un volume de 0.5ml d'extrait est ajouté à 2.5ml de réactif de Folin-Ciocalteu après 5min, 2ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3 , 7.5%) sont additionnées au mélange ; (Annexe I). Après une incubation de 30 min à 40°C et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc sans extrait.

❖ Expression des résultats

La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à une équation extraite à partir d'une courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard ; (Annexe II). Les résultats sont exprimés en μg EAG/g d'extrait sec.

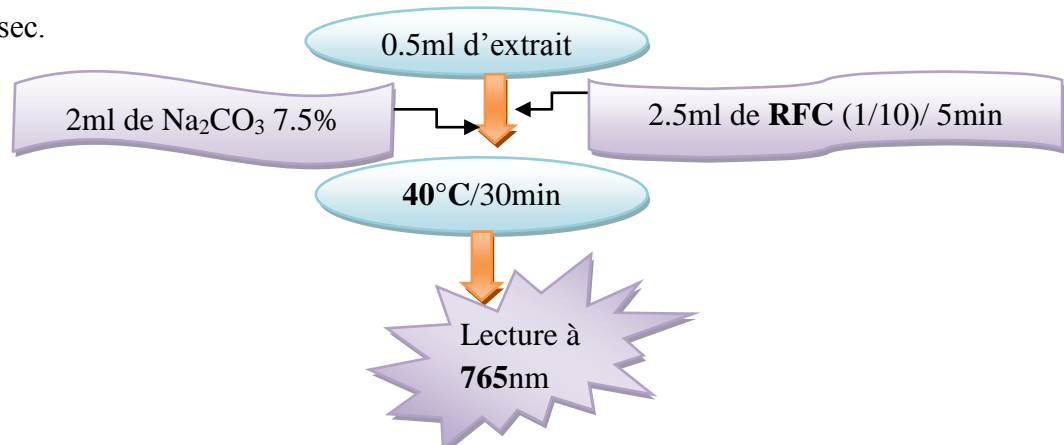


Figure 13. Schéma récapitulatif du Protocole de dosage des phénols totaux (Singleton *et al.*, 1965)

IV.2. Dosage des flavonoïdes

❖ Principe

Les flavonoïdes sont une classe des composés phénoliques de plantes avec des propriétés chélatantes significatives (**Haenena et al., 2006**).

La teneur en flavonoïdes est estimée par la méthode colorimétrique **Queltier Deleu et al. (2000)** In **Djeridane et al. (2006)**. Cette dernière est basée sur la formation de complexe flavonoïdes-métaux tel que l'aluminium sous forme de chlorure d'aluminium (AlCl_3). La liaison des atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes avec le chlorure d'aluminium forme des complexes jaunâtres (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

❖ Mode opératoire

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits de la plante *Mentha piperita*. 1,5ml d'extrait sont mélangés avec 1,5ml d'une solution de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2%; (**Annexe I**). Après incubation à température ambiante pendant 15min, l'absorbance du mélange est mesurée à 430nm avec un spectrophotomètre.

❖ Expression des résultats

La teneur en flavonoïdes est déterminée en se référant à une équation obtenue à partir à une courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard (**Annexe II**). Elle est exprimée en $\mu\text{g EQ/g}$ d'extrait sec.

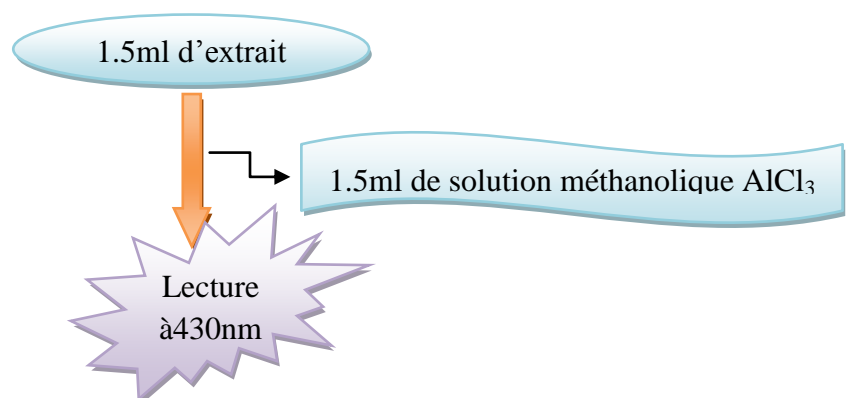


Figure 14. Schéma récapitulatif du Protocole de dosage des flavonoïdes
(**Djeridane et al., 2006**)

V. Étude de l'activité antibactérienne des extraits de *Mentha piperita*

L'étude de cette activité a consisté à tester les effets antibactériens des extraits et les caractériser par la détermination de leurs concentrations minimales inhibitrices (CMI) et leurs concentrations minimales bactéricides (CMB). Pour cela, nous avons utilisé les méthodes de diffusion sur disque et de dilution en milieu solide.

V.1. Souches bactériennes

Les tests antibactériens ont été effectués sur des germes couramment responsables de diverses pathologies (**Annexe IV**). Les microorganismes étudiés et leurs références sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau 03. Tableau représentatif des différentes souches microbiennes testées.

Souches bactériennes		Souche fongique	
Souche	Référence	Souche	Référence
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	<i>Candida albicans</i>	ATCC 1024
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923		
SARM	ATCC 43300		
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922		
<i>Salmonella typhi</i>	ATCC 14028		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853		

ATCC: American Type Culture Collection ;
SARM: *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méthicilline

V.2. Repiquage des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées qui ont servi à préparer l'inoculum bactérien.

V.3. Standardisation des inocula microbiens

L'activité de tout agent antimicrobien dépend de la densité de la suspension cellulaire de la souche cible utilisée. La taille de l'inoculum bactérien est un élément primordial contribuant de façon essentielle à la qualité des résultats de l'antibiogramme,

d'où la nécessité de standardiser l'inoculum bactérien. Ce dernier est préparé, dans de l'eau physiologique, à partir d'une culture pure de 18h.

Les concentrations bactériennes des inocula sont évaluées par turbidité et sont exprimées par la mesure de la Densité Optique (DO à 600 nm) sur un spectrophotomètre. Une DO de 0.08-0.1 correspond à 10^8 UFC/ml.

La même technique est utilisée pour *Candida albicans*. Une densité de 0.12-0.15 correspond à $1-5 * 10^6$ UFC/ml (**Haddouchi et al., 2009**).

L'activité antibactérienne des extraits et des différentes fractions chromatographiques a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion sur disque, selon (**Bauer et al., 1966 ; In Alzoreky et Nakahara, 2003**).

V.4. Détermination de l'effet antibactérien (Aromatogramme)

L'aromatogramme est basé sur la technique utilisée en bactériologie médicale appelé antibiogramme (**De Billerbeck, 2007 ; Kaloustian et al., 2008**).

Le principe de cette méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide, dans une boîte de Pétri, à partir d'un point précis, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme.

L'effet de la substance antimicrobienne sur la cible a été évalué par la mesure d'une zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

❖ Description de la méthode

La gélose Mueller-Hinton (MH) en surfusion, coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4mm. Après solidification, une suspension bactérienne à la concentration standardisée estensemencée à l'aide d'un écouvillon stérile, préalablement trempé dans cette suspension bactérienne, et déchargé au maximum, sur la totalité de la surface gélosée en stries serrées.

L'opération a été répétée deux à trois fois, en tournant la boîte à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Des disques de 6mm de diamètre, découpés du papier Wattman n° 03, stérilisés et imprégnés de 20µl de solution d'extraits (**Ali-Emmanuel et al., 2002**), afin d'obtenir des concentrations de 1, 50, 100 et 200mg/ml, ont été déposés stérilement sur la gélose.

Dans les mêmes conditions, des disques imprégnés d'eau distillée sont utilisés comme témoin négatif et six antibiotiques ont été testés en antibiogramme standard, Pénicilline (P), Oxacilline (OX), Amoxicilline (AMX), Chloramphénicol (C), Céfotaxime (CTX), Acide Nalidixique (NA), réputés actifs sur les souches étudiées, sont utilisés comme témoins positifs. Chaque test a été effectué trois fois. Les boîtes de Pétri sont mises au réfrigérateur pendant trois heures pour la pré-diffusion des extraits à 4°C/3h (Bansemir *et al.*, 2006). Des zones d'inhibition autour disques sont mesurées en millimètres après incubation à 37°C/24 heures pour les souches bactériennes et la levure.

V.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est la plus faible concentration de la substance antibactérienne inhibant toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24h (Martini et Eloff, 1998). Le principe de la méthode consiste à diluer directement la substance antibactérienne à tester dans le milieu de culture gélosé et à inoculer ce milieu avec les microorganismes.

En diluant différentes concentrations de la substance antibactérienne à tester, on peut définir la valeur la plus faible à laquelle la croissance des microorganismes n'est pas observable, et donc une inhibition de la croissance. Cette méthode permet donc d'évaluer qualitativement et surtout quantitativement l'activité antibactérienne d'une substance.

❖ Préparation des géloses à différentes concentrations des extraits

Une série de boîtes de Pétri est coulée par la gélose Mueller Hinton (surfusion à 45°C - 50°C) (Okusa *et al.*, 2007) avec des concentrations d'extrait croissantes allant de 0,05 à 20 mg/ml. L'ensemencement a été réalisé par spot, à l'aide d'un inoculateur (micropipette), de 10µl d'un inoculum de 10⁷cellules/ml (soit 10⁴ cellules/spot) (CASFM, 2009), de chacune des souches à la surface de la gélose (Alzoreky et Nakahara, 2003). La lecture des résultats se fait après 24h d'incubation à 37°C par observation où inhibition de la croissance du microorganisme testé par rapport à la croissance sur une boîte témoin sans extrait et les résultats sont exprimés en mg/ml.

La CMI correspond à la première concentration où aucune croissance n'est observée.

V.6. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB est la concentration de la substance antibactérienne permettant d'obtenir, après 18 à 24h d'incubation à 37°C, 0,1 % de germes, c'est-à-dire une bactérie pour 1000 de l'inoculum initial (**Rodríguez-Vaquero *et al.*, 2010**).

On ensemence dans des tubes contenant du bouillon nutritif la série de boîtes commençant à partir de celle qui a déterminée la CMI par dilution en milieu gélosé. La concentration minimale bactéricide correspond à la plus petite concentration de la substance antibactérienne pour laquelle aucune sub-croissance n'est observée. La lecture est faite par comparaison de la croissance bactérienne après incubation à 37°C pendant 18h-24h.

V.7. Etude statistique

Les résultats rapportés sur l'activité antimicrobienne des extraits de la plante *Mentha piperita* sont exprimés par les moyennes plus ou moins les écarts types des deux mesures par Excel 2007.

I. Extraction des composés phénoliques

Les procédés d'extraction des composés phénoliques à partir des plantes médicinales constituent une étape cruciale, car elle est déterminante de la qualité et de la quantité de principes actifs recherchés, qui reflètent directement leurs activités pharmacologiques.

Considérant la diversité et les propriétés structurales complexes de ces composés, notamment les composés phénoliques, il est impossible de mettre au point des méthodes exhaustives pour leur extraction (**Vercauteren et al., 1998**). Ainsi, les conditions de l'extraction, à savoir le type du solvant, la taille des particules, l'état du matériel végétal (sec ou frais) et les conditions thermiques de l'extraction peuvent influencer significativement le taux et la nature des composés extraits (**Naczk et Shahidi, 2006 ; Lim et Murtijaya, 2007**).

Avant de procéder à l'extraction, nous avons d'abord séché le matériel végétal à l'air libre et à l'abri de la lumière comme préconisé, afin d'éviter la dégradation de certains composés phénoliques sous l'effet des hydrolases qui peuvent exister dans le matériel végétal frais. Par la suite, la matière sèche retenue est réduite en poudre fine, pour augmenter la surface de contact avec le solvant et améliorer le rendement de l'extraction. Par **De-Rijke et al. (2006)**.

Dans notre travail, nous avons opté pour le méthanol comme solvant d'extraction, car les solvants alcooliques (éthanol, méthanol) donnent de meilleurs taux d'extraction et sont hautement sélectifs pour les polyphénols (**Sipgno et al., 2007**).

L'extraction est réalisée par une seule méthode pour obtenir l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux, les taux d'extraction obtenus à partir de la plante de *M. piperita*. (**Tableau 04**) sont exprimés en pourcentage pour chaque extrait à l'aide de la formule décrite par **Owen et Johns (1999)**.

Tableau 04. Taux d'extraction des composés phénoliques des extraits de *M. piperita*

Extraits	Taux (%)
<i>Méthanolique</i>	15,08
<i>Aqueux</i>	12,64

Selon les résultats obtenus, le taux d'extraction le plus important est observé pour l'extrait méthanolique avec un pourcentage de 15.08 %. Par contre le taux le plus faible est remarqué avec l'extrait aqueux (12.64 %).

Différents valeurs ont été observées et ceux selon la méthode d'extraction. Ces résultats s'expliquent par le fait qu'il n'y a aucun procédé complètement satisfaisant qui convient à l'extraction de tous les composés ou à une classe spécifique. Le méthanol, l'éthanol, l'acétone, l'eau, quelques autres solvants et leurs combinaisons sont fréquemment employées (Naczk et Shahidi, 2004 ; Chirinos *et al.*, 2007). De même Alothman *et al.* (2009), ont apporté que l'extraction des composés phénoliques est influencée par leur solubilité dans le solvant utilisé et la polarité de ce dernier joue un rôle dans l'accroissement de la solubilité phénolique.

L'extraction avec le méthanol à 70% a donné un meilleur taux d'extraction, cela peut s'expliquer par le fait que les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant l'extraction d'un plus grand nombre de molécules polaires, de moyenne et de faible polarité (Seidel, 2005).

II. Dosage des composés phénoliques

Il n'existe aucune méthode permettant de doser de manière satisfaisante et simultanée l'ensemble des composés phénoliques présents dans un extrait végétal brut. Néanmoins, une estimation peut être obtenue par différentes méthodes. La méthode de Folin-Ciocalteu est très sensible mais malheureusement peu spécifique, car beaucoup de composés réducteurs non phénoliques peuvent interférer tels que les caroténoïdes et la vitamine E (Kahkonen *et al.*, 1999), cependant, elle reste la méthode la plus utilisée.

II.1. Dosage des phénols totaux

Les résultats du dosage des phénols totaux des extraits de feuille de la plante (Figure 15) révèlent des teneurs variables selon Le solvant d'extraction et que l'extrait aqueux est le plus riche en composés phénoliques suivi de l'extrait méthanolique. En

effet les teneurs obtenues sont de l'ordre de $218,9 \pm 0,02 \mu\text{g EAG/g}$ d'extrait sec, $196 \pm 0,005 \mu\text{g EAG/g}$ d'extrait sec, respectivement.

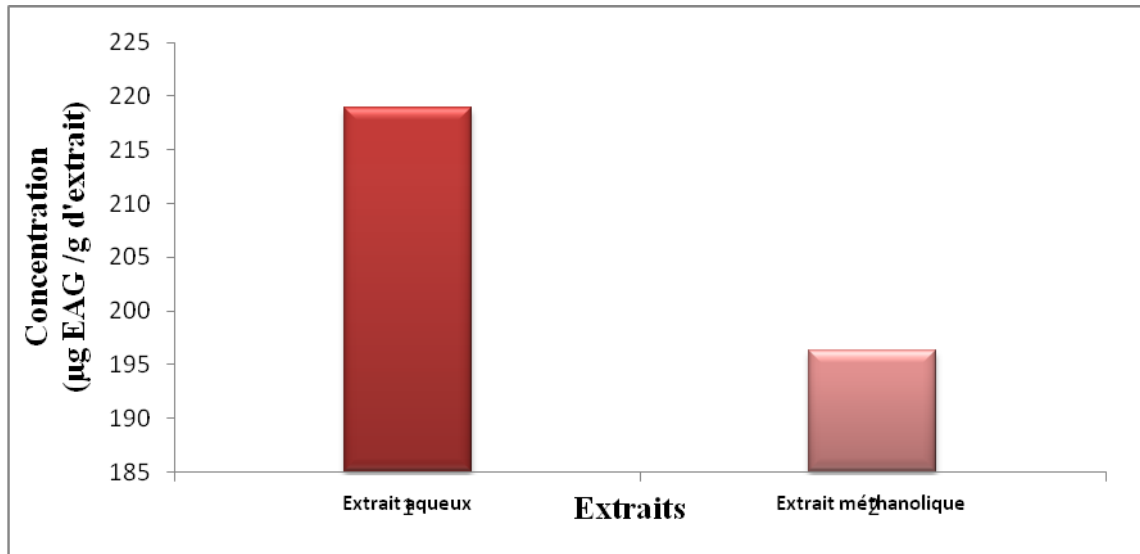


Figure 15. Teneurs en phénols totaux des différents extraits des feuilles de *M.piperita*

II.2. Dosage des flavonoïdes

La raison principale pour laquelle les flavonoïdes ont été dosés, réside dans le fait que ces derniers constituent la classe de polyphénols la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).

Les résultats du dosage des flavonoïdes des différents extraits représentés dans la (Figure 16) montrent que l'extraction méthanolique a révélé une valeur faible qui est de $9,23 \pm 0,01 \mu\text{g EQ/g}$ d'extrait sec. Cette valeur est nettement inférieure à celle obtenue avec l'extrait aqueux qui est de l'ordre de $70,86 \pm 0,01 \mu\text{g EQ/g}$ d'extrait sec.

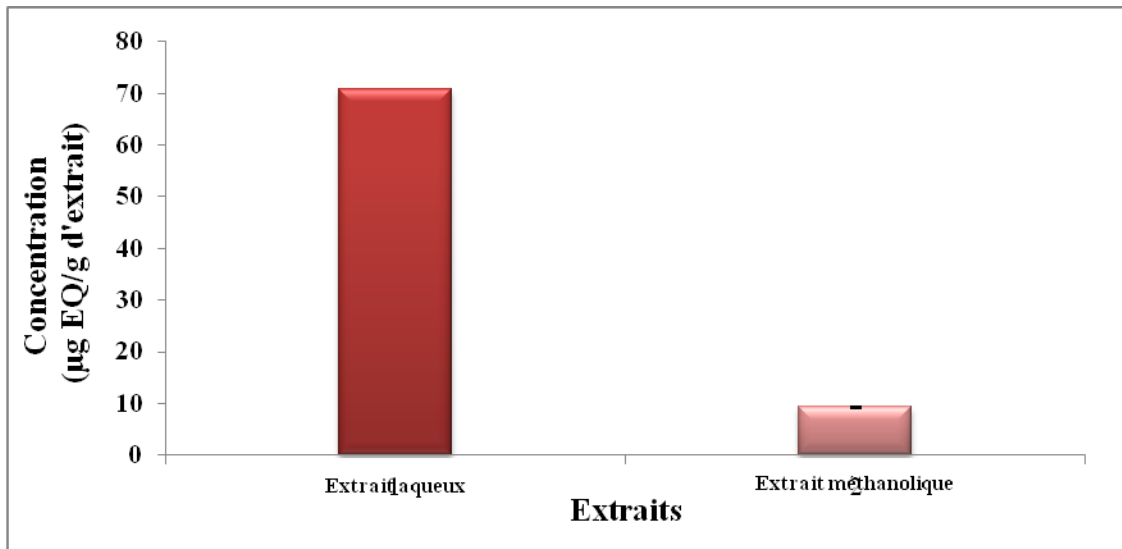


Figure 16. Teneurs en flavonoïdes des différents extraits des feuilles de *M.piperita*

Les teneurs obtenues en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique sont comparables à ceux apportés lors d'une étude faite par **Mariola et al. (2015)** sur les composés phénoliques des extraits des feuilles *Mentha piperita* (*Lamiaceae*). En effet leur étude a montré des teneurs en phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu était $179,90 \pm 2,30$ (mg EAG/ g d'extrait).

Des teneurs en phénols totaux inférieures à celles qu'on a obtenues sont observées par **Sevil et al. (2013)** dans des extraits méthanoliques de *Mentha piperita* (91.42 ± 0.6 mg EAG/g d'extrait). De même, des teneurs en phénols totaux de (71.8 ± 5.1 et 55.1 ± 3.6 mg EAG/g d'extrait) pour l'extrait méthanolique et aqueux, respectivement sont inférieure à nos résultats ; constatée par **Nosheen et al. (2015)** qui ont travaillé sur la *Mentha piperita* par extraction des composés phénoliques par macération.

Une autre étude menée par **Mehmet et al. (2016)** sur l'extrait méthanolique des feuilles de *Salvia cadmica* (*Lamiaceae*) a montré une teneur en phénols totaux de et en flavonoïdes $64.98 \mu\text{mol EAG/ g d'extrait}$ et $12.96 \mu\text{mol ER/g d'extrait}$, respectivement.

Nos résultats sont supérieurs à ceux observés par **Dyab et al. (2015)**, qui ont obtenu des teneurs en composés phénoliques totaux de l'extrait aqueux de la menthe poivrée allant de 90.01 ± 0.123 mg / 100 ml. Ces auteurs ont enregistré des valeurs

élevées en flavonoïdes chez cet extrait allant de 105.49±0.130 mg /100ml, cela est en désaccord avec notre résultat.

Une teneur en flavonoïdes de 33.5±2 et 37.1±2.5 (mg EQ/g d'extrait) pour l'extrait méthanolique et aqueux respectivement a été apportée par **Nosheen et al. (2015)** lors de leur travail sur des feuilles de *Mentha piperita*

III. Activité antimicrobienne

Il a été rapporté que la méthode de diffusion sur disque et la mesure des CMI sont les plus utilisées pour l'étude de l'activité antibactérienne des substances naturelles des extraits des plantes médicinales (**Gülçin et al., 2004 ; VanVuuren, 2008**).

III.1. Antibiogrammes

Dans la présente étude, des extraits méthanolique et aqueux de *M.piperita* sont testés vis-à-vis de six bactéries et une levure. Les résultats sont exprimés selon trois niveaux d'activité: Résistant: $D < 8$ mm, intermédiaire: $15 \text{ mm} \geq D \geq 8$ mm et sensible: $D > 15$ mm (**Bansemir et al., 2006**). L'activité antimicrobienne des extraits étudiés est résumée dans (les tableaux 05-06 et les figures N°17-18-19).

Tableau 05. Activité antibactérienne à l'égard des Gram positif

<i>Mentha piperita</i>	Concentrations (mg/ml)	Diamètre des zones d'inhibition (mm)		
		<i>S. aureus</i>	<i>SARM</i>	<i>B.subtilis</i>
Extrait méthanolique	1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	50	9,5±0.7	14,5±0.7	0.0±0.0
	100	15,5±0.7	20,5±0.7	8.0±0.0
	200	19.0±0.0	22,5±2.1	9,5±0.7
Extrait aqueux	1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	50	10,5±0.7	17,5±2.1	0.0±0.0
	100	14,5±0.7	21±0.0	6,5±0.7
	200	18,5±0.7	23,5±0.7	8.0±0.0

D'après les résultats montrés dans le tableau, pratiquement toutes les concentrations des deux extraits des feuilles ont montré une activité inhibitrice sur SARM dont la meilleure en terme de diamètre de la zone d'inhibition a été obtenue avec l'extrait aqueux, (23.5mm) à une concentration de 200mg/ml. Suivi de l'extrait méthanolique avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 22.5mm à la même concentration vis-à-vis de la même souche. Pour ces mêmes extraits l'augmentation de la concentration s'est accompagnée d'une augmentation significative du diamètre de la zone d'inhibition, ce qui correspond à un effet dose dépendant.

L'extrait méthanolique des feuilles de *M. piperita* exhibe aussi une activité élevée contre *S. aureus*, avec une zone d'inhibition de 19mm (à 200mg/ml). Ces mêmes extraits sont moins actifs sur *B. subtilis* avec des zones d'inhibition inférieures et/ou égales à 9.5mm aux concentrations testées.

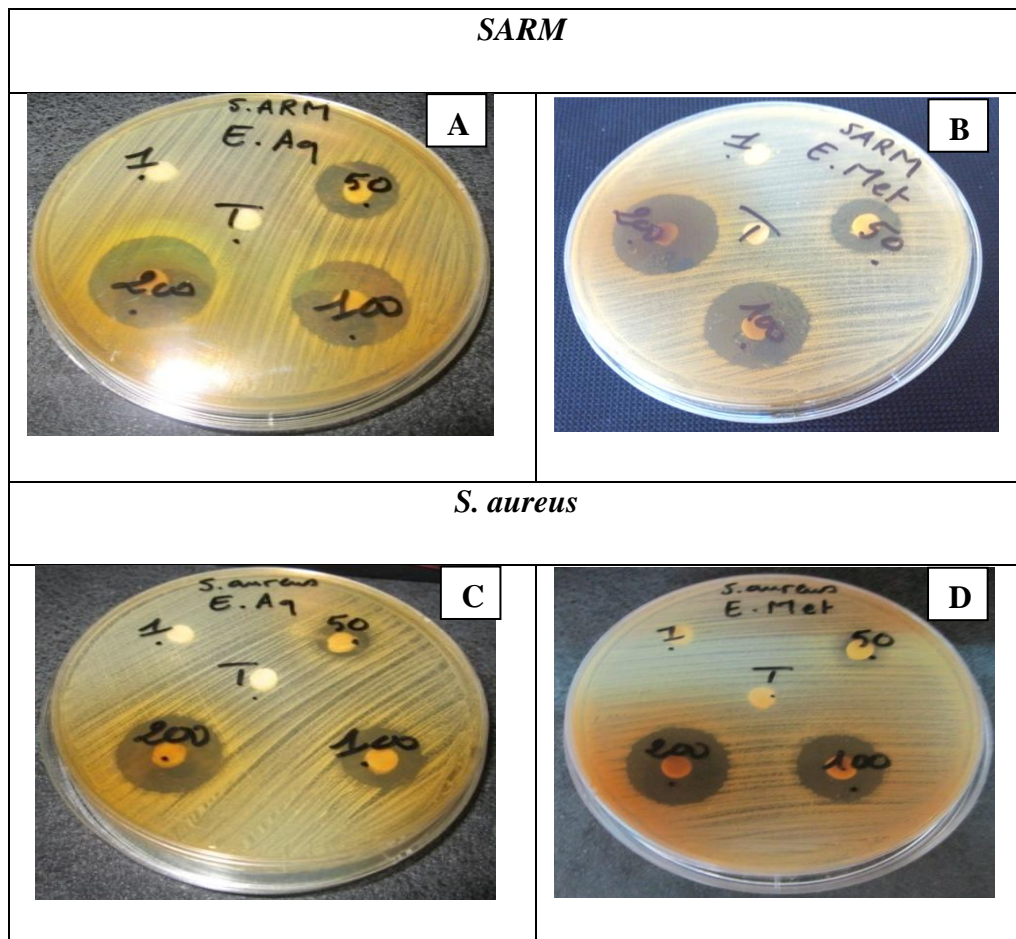


Figure 17. Activité des extraits des feuilles de *M. piperita* sur *SARM* et *S. aureus* à 1mg/ml, 50mg/ml, 100mg/ml et 200mg/ml. **A)** Extrait aqueux sur *SARM*. **B)** Extrait méthanolique sur *SARM*. **C)** Extrait aqueux sur *S. aureus*. **D)** Extrait méthanolique sur *S. aureus*.

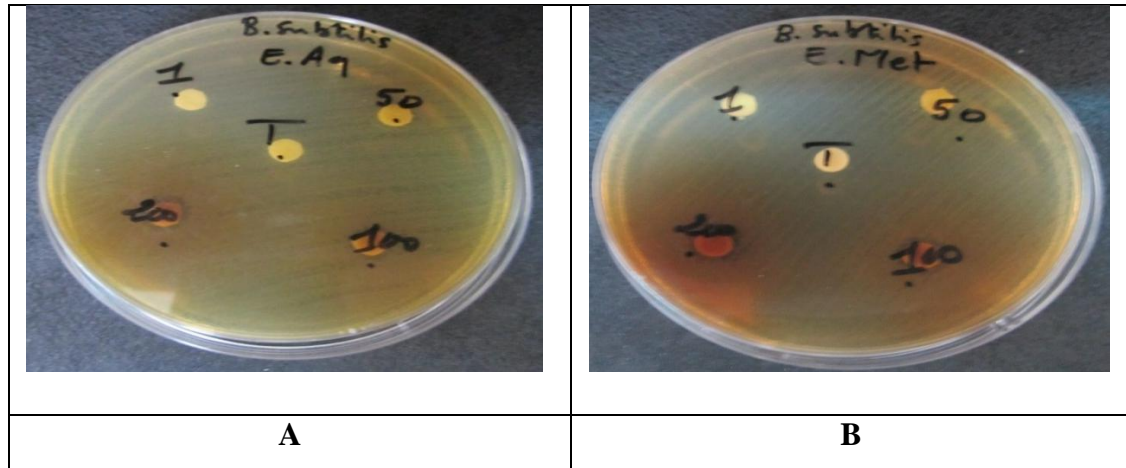


Figure 18. Activité des extraits des feuilles de *M. piperita* sur *B. subtilis*. **A)** Extrait aqueux à 1mg/ml, 50mg/ml, 100mg/ml et 200mg/ml. **B)** Extrait méthanolique à 1mg/ml, 50mg/ml, 100mg/ml et 200mg/ml.

Tableau 06. Activité anti bactérienne et anti fongique à l'égard des Gram négatif et *C. albicans*

<i>Mentha piperita</i>	Concentrations (mg/ml)	Diamètre des zones d'inhibition (mm)			
		Bactéries Gram négatif			Levure
		<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
Extrait méthanolique	1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	50	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	100	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	200	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Extrait aqueux	1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	50	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	100	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	200	7.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0

D'après le tableau, on note que les extraits de *M. piperita* se sont montrés inactif vis-à-vis des souches bactériennes à Gram négatif et la levure *C. albicans* aux concentrations testées.

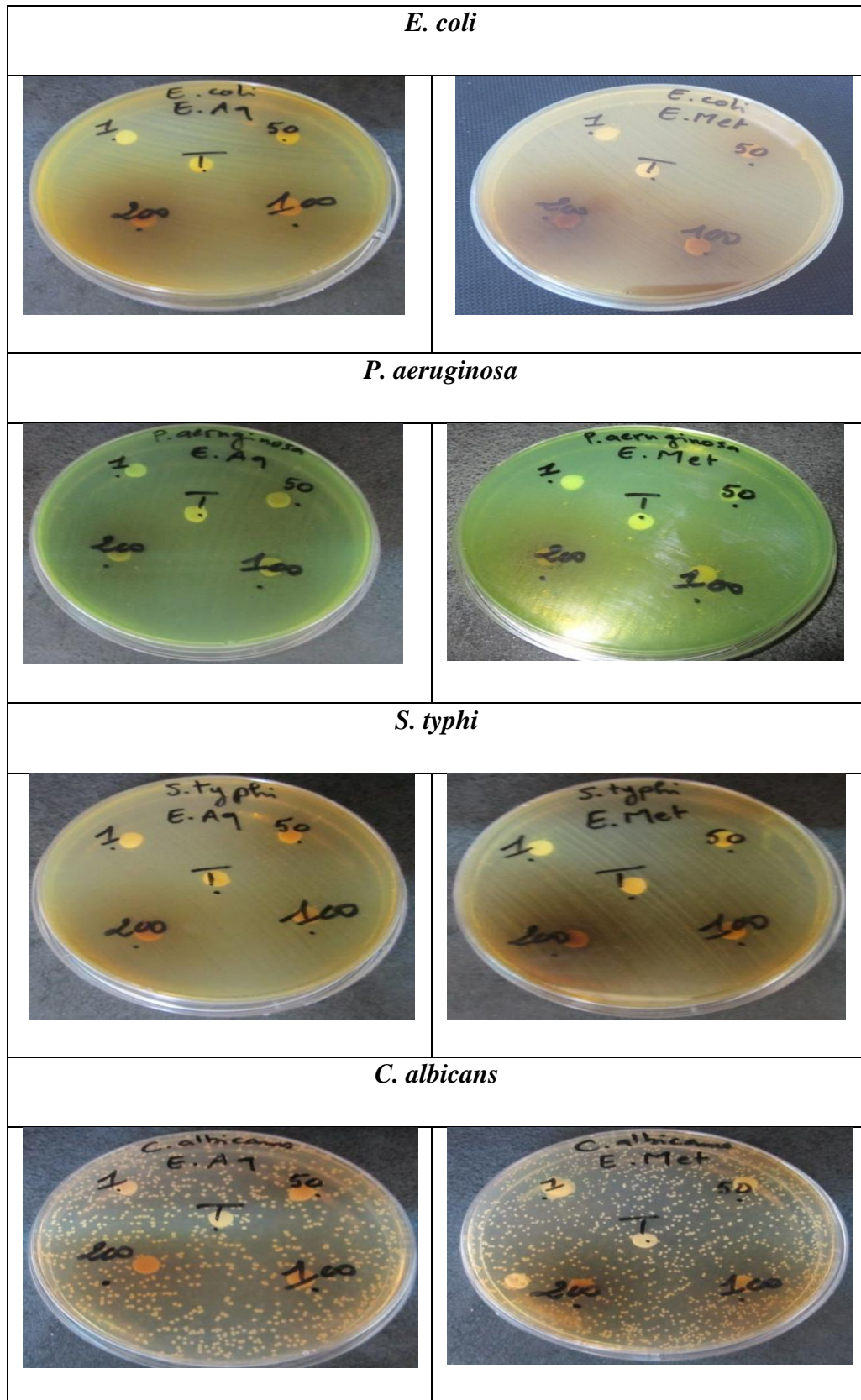


Figure 19. Activité des extraits (aqueux et méthanolique) des feuilles de *M. piperita* sur *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi* et *C. albicans* à 1mg/ml, 50mg/ml, 100mg/ml et 200mg/ml.

III.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides (CMI/CMB)

Tableau 07. Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des extraits de *M. piperita* (aqueux et méthanolique) étudiées sur les souches bactériennes testées.

Extrait de <i>M. piperita</i>	CMI/CMB (mg/ml)			
	<i>SARM</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>
Extrait méthanolique	8/10	9/10	10/12	16/16
Extrait aqueux	8/10	9/10	12/12	>20/>20

On note d'après le tableau 07 que les meilleures activités antibactériennes des extraits méthanolique et aqueux sont exercées vis-à-vis de *SARM* et de *S. aureus*. Ces extraits se sont montrés plus actifs par des valeurs CMI et CMB respectivement de 8 et 10 mg/ml vis-à-vis de *SARM* et de 9 et 10 mg/ml vis-à-vis de *S. aureus*. L'extrait méthanolique expose des valeurs CMI égales à celles des CMB (16 mg/ml) à l'égard d'*E. coli*. Ainsi que l'extrait aqueux CMI=CMB=12mg/ml à l'égard de *B. subtilis*. L'extrait méthanolique et aqueux possèdent des effets inhibiteurs bactéricides à 12mg/ml et exhibent des effets inhibiteurs bactériostatiques à 10 mg/ml et 12mg/ml, respectivement vis-à-vis de *B. subtilis*. Quant à *E.coli*, il y'a un effet inhibiteur plus au moins important pour les deux extraits surtout l'extrait aqueux qui présente une absence d'effet inhibiteur et ceci jusqu'à une concentration de 20mg/ml.

III.3. Sensibilité aux antibiotiques (témoins positifs)

Les résultats illustrés dans le tableau 08 indiquent que les antibiotiques utilisés sont presque tous actifs contre les souches bactériennes testées. On remarque que les meilleures zones d'inhibition sont développées par la pénicilline (48mm), suivi de la céfotaxime (40mm) à l'égard de *S. aureus* et *E. coli*, respectivement. Des résultats similaires ont été rapportés par de nombreux auteurs montrant la sensibilité de *S. aureus* vis-à-vis NA, AMX, P et C (Elazhari *et al.*, 2010; Selvamohan *et al.*, 2012; Bacheer

et al., 2013) et de *E. coli* vis-à-vis de CTX , NA, C et AMX (Elazhari et al., 2010 ; Fabre et al., 2010).

Parmi les antibiotiques testés, seul la céfotaxime et le chloramphénicol ainsi que l'acide nalidixique ont été plus au moins actifs contre *P. aeruginosa* avec des diamètres de zone d'inhibition de 24, 15 et 8mm, respectivement. Ce qui prouve la résistance de celle-ci. Par contre, la souche fongique *C. albicans* s'est révélé la plus résistante aux antibiotiques testés.

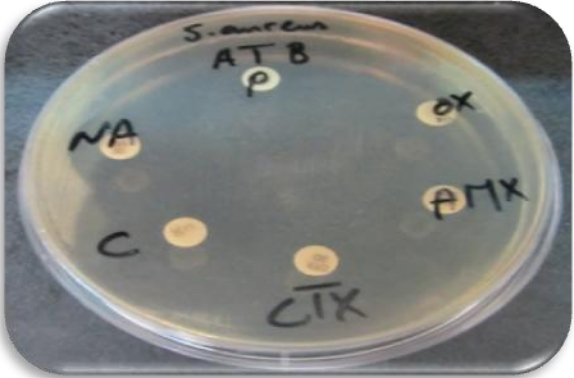
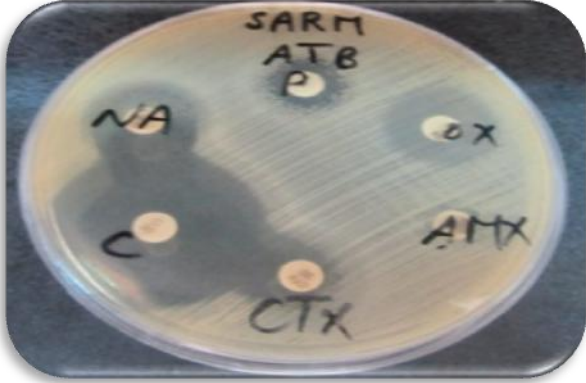

Tableau 08. Activité antibactérienne des antibiotiques vis-à-vis des souches étudiées.

SOUCHES MICROBIENNES		Diamètre des zones d'inhibition (mm)						
		Bactéries Gram positif			Bactéries Gram négatif			Levure
		SARM	<i>S. aureus</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
ANTIBIOTIQUES	P	0.0±0.0	48±0.0	34±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	OX	0.0±0.0	16±0.0	14±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	AMX	0.0±0.0	0.0±0.0	28±0.0	17±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	CTX	8.0±0.0	0.0±0.0	28±0.0	40±0.0	22±0.0	24±0.0	0.0±0.0
	C	34±0.0	34±0.0	34±0.0	38±0.0	30±0.0	15±0.0	0.0±0.0
	NA	16±0.0	16±0.0	24±0.0	30±0.0	34±0.0	8.0±0.0	0.0±0.0

Pénicilline:(P); Oxacilline:(OX); Amoxicilline:(AMX); Céfotaxime:(CTX); Chloramphénicol:(C); Acide Nalidixique:(NA).

Les résultats obtenus concernant la résistance des bactéries Gram négatif (*S. typhi* et *P. aeruginosa*) avec des diamètres d'inhibitions faibles même nulles avec la plus part des antibiotiques testés, s'explique par le fait que les bacilles à Gram négatif notamment, les entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* sont naturellement résistants aux antibiotiques hydrophobes et/ou de masse moléculaire élevée (pénicilline G, 45 pénicilline M, macrolides, rifampicine, acide fusidique, novobiocine, vancomycine) car ces antibiotiques ne peuvent traverser la membrane externe de la paroi (Pina et al., 2000). De plus, la modification des porines est le mécanisme principale de la résistance acquise aux bêta-lactamines, aux quinolones, au chloramphénicol, aux sulfamides, au triméthoprim et aux tétracyclines chez

Escherichia coli, les *Enterobacter spp*, *Serratia spp*, *Klebsiella spp* et *Pseudomonas aeruginosa* (Pleisiat et Zhha-Zarifi, 1996; Fauchère et Avril, 2002).

		Antibiotiques	
		(P), (OX), (AMX), (CTX), (C) et (NA)	
Bactéries Gram positif	<i>S. aureus</i>		Cette bactérie montre une grande sensibilité à tous les antibiotiques utilisés.
	SARM		elle montre une très grande sensibilité au C, et moyennement aux NA, OX, P et CTX et une très faible sensibilité à AMX.
	<i>B. subtilis</i>		Cette bactérie est très sensible vis-à-vis du C, P, CTX et AMX ; moyennement à NA et faiblement à OX.

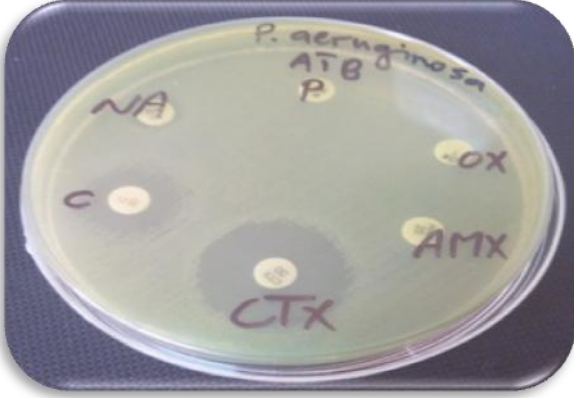
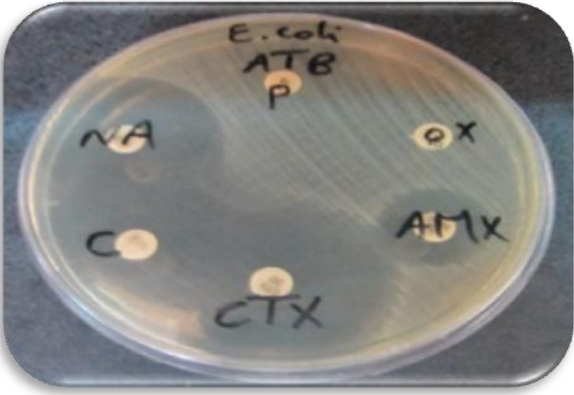
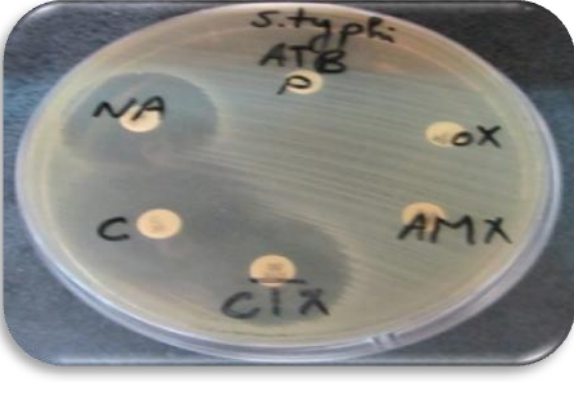
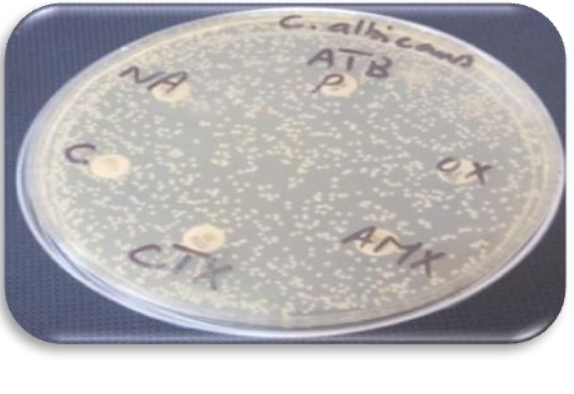
Bactéries Gram négatif	<i>P. aeruginosa</i>		Cette bactérie est la plus résistante aux antibiotiques testés, avec une faible sensibilité vis-à-vis de NA, C, et CTX
	<i>E. coli</i>		Elle présente une sensibilité à NA, C, CTX et AMX et une résistance vis-à-vis de la P et OX.
	<i>S. typhi</i>		Il ya une résistance aux P, OX, AMX mais une sensibilité au C, NA et CTX.
Levure	<i>C. albicans</i>		Cette levure est résistante à tous les antibiotiques testés.

Figure 20. Activité des antibiotiques sur *S. aureus*, *SARM*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. typhi* et *C.albicans*

Plusieurs travaux ont démontré l'activité antimicrobienne des extraits de *M. piperita* (Betoni *et al.*, 2006; Chen et Blumberg, 2008). Dans cette étude, les extraits méthanolique et aqueux de *M. piperita* exercent des activités antibactériennes. Ces activités pourraient être attribuées aux composés phénoliques et résultent probablement de l'action d'un ou de plusieurs composés avec un large spectre d'activité ou bien d'un effet synergique entre ces composés. Cette activité pourrait aussi refléter la variabilité des métabolites secondaires de la plante étudiée.

D'après ces résultats on constate que les bactéries Gram⁺ et Gram⁻ ont présentés des comportements différents vis-à-vis des extraits des feuilles de la plante étudiée. D'ailleurs, les deux extraits de *M. piperita* semblent être plus actifs contre les Gram⁺ que les Gram⁻. Cette différence observée peut être attribuée à une différence au niveau de la structure existante entre ces deux grands groupes de bactéries (Masika et Afolayane, 2002).

L'effet inhibiteur le plus élevé est obtenu par l'extrait aqueux des feuilles de *M. piperita* était contre *SARM*. Rangasamy *et al.* (2007) ont rapporté que le pouvoir antibactérien de la plupart des extraits des plantes médicinales analysées réside dans l'extractant le plus polaire. Cet extrait, bien qu'il soit relativement pauvre en flavonoïdes, exprime une activité antibactérienne assez importante. Ceci pourrait être lié à la présence de composés dont la nature permet une activité antibactérienne élevée, malgré leurs faibles taux et/ou à la présence d'autres types de molécules, à savoir les acides phénols et les tannins, voir même à la présence des unités oligomériques des tannins, connus pour leur effet antibactérien (Navarro *et al.*, 1996; Dall'Agnol *et al.*, 2003; Taguri *et al.*, 2006).

Les extraits de feuilles ont été efficaces vis-à-vis des Gram⁺, avec une activité importante contre *SARM* et *S. aureus*, ce qui peut être liée à l'action des composés antibiotiques ou à la présence des toxines métaboliques (Duraipandiyam *et al.*, 2006 ; Salama et Marraiki, 2010). Ces extraits n'ont démontré aucune activité contre *P. aeruginosa*, *E. coli* et *S. typhi* et la levure *C. albicans*. Ces souches possèdent un potentiel de résistance très élevé contre l'action antibactérienne de ces extraits. Rudi *et al.* (2011), expliquent ce phénomène, en considérant que les microorganismes à Gram-négatif sont généralement plus résistants aux agents antimicrobiens que les bactéries Gram-positives. Cela a été longtemps expliqué par la présence d'une membrane externe chez ces bactéries,

ce qui limite l'accès des agents antimicrobiens à leurs cibles dans les cellules bactériennes (Ali-Shtayeh et Yaghmour, 1998; Basli *et al.*, 2012).

De même Goyal *et al.* (2010) ont considéré que la présence de la couche lipopolysaccharide (LPS) dans la paroi des bactéries Gram négatif, rend la cellule imperméable et empêche l'entrée des molécules étrangères. Toutefois, la paroi cellulaire des bactéries Gram positif n'a que le peptidoglycane. Ce qui facilite le passage des molécules à l'intérieur de la cellule et cela explique la sensibilité de ces bactéries.

Le LPS, grâce à ses charges négatives de surface, empêche la diffusion des molécules hydrophobes, et les protéines excluent le passage des molécules hydrophiles de poids moléculaire élevé. Alors que les bactéries Gram (+) sont moins protégées contre les agents antibactériens, le peptidoglycane n'entrave que la diffusion des molécules supérieures à plus de 50 000 D (Hogan et Kolter, 2002).

A cet effet, la résistance des bactéries Gram négatif n'est pas surprenante, elle est en relation avec la nature de sa membrane externe (imperméable à la plupart des agents biocides) (Faucher et Avril, 2002; Iscan *et al.*, 2002). Aussi l'activité biologique des plantes médicinales peut être liée à leur capacité à inactiver les adhésines bactériennes et de ce fait perturbé les récepteurs de surface bactérienne (Brantner *et al.*, 1996).

Une fréquence élevée de l'activité, à l'égard des Gram positif, est observée dans notre étude, ces résultats concordent avec ceux des études effectuées par Leila *et al.* (2015), portant sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *M. piperita*. Aussi, une autre étude réalisée par Barchan *et al.* (2015) sur l'effet antibactérien et antibiofilm de trois espèces de menthe a montré que la plupart des souches Gram (+) sont plus sensibles vis-à-vis des différents extraits avec des diamètres supérieures à 10 mm dans la plupart des cas. De même, les travaux de Tadesse et Gulliksen (2008) ont révélé que 29 % des extraits aqueux testés ont montré une forte activité contre les bactéries Gram (+) alors que seulement 13 % des extraits étaient actifs contre les souches Gram (-).

Un résultat semblable à été constaté par Sachinkumar *et al.* (2016) lors de leurs études de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *M. piperita* qui a exercé un effet

inhibiteur contre *S.aureus* mais aucun effet contre *S.typhi*. Ces résultats ont confirmé la présence de composés actifs dans les extraits de cette plante.

Ces résultats diffèrent de ceux de **Preeti dixit (2013)**, qui a trouvé que les extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *M. piperita* présentent une activité antibactérienne aussi bien sur Gram positif (*S. aureus*) et les Gram négatif (*E. coli* et *P.aeruginosa*), avec des diamètres de zones d'inhibition presque similaires pour les deux extraits mais avec une sensibilité plus marquée chez *E. coli* avec l'extrait méthanolique. De même, ces résultats ne concordent pas avec ceux des études effectuées par **Pramila et al. (2012)** sur le potentiel de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique des feuilles de *M. piperita* qui ont trouvé que toutes les souches bactériennes (Gram positif et négatif) et fongiques testées étaient sensibles à cet extrait mais avec un degré de sensibilité différent.

Deans et Baratta (1998) ont montré que les composés des extraits des feuilles de *M. piperita* possèdent une activité antimicrobienne puissante et suggérant que ses extraits devraient contenir des principes actifs efficaces responsables de l'élimination des agents pathogènes bactériens.

Il est également probable que ces résultats observés soient dus à une différence d'affinité avec les cibles bactériennes. **Yoda et al. (2004)** ont rapporté que la propriété d'agglutination de l'EGCg aux porines et sa faible affinité avec LPS affectent largement sa perméabilité, limitant ainsi son agglutination au peptidoglycane réduisant la susceptibilité des Gram⁻ à l'EGCg.

Il est probable que la résistance observée soit due à un catabolisme spécifique. **Ogueke et al. (2007)** ont rapporté que l'incapacité de l'extrait éthanolique d'*Euphorbia hirta* à inhiber *Salmonella typhi* peut être due à la présence d'un mécanisme de détoxification des principes actifs de l'extrait. De même, il existe des microorganismes capables de tolérer et même de métaboliser les acides hydroxycinnamiques par réduction de leur chaîne latérale (**Rodriguez-Vaquero et al., 2007**).

Min et al. (2008) ont rapporté dans une étude détaillée sur la dégradation du gallotannin par les bactéries aérobies, et quinze isolats bactériens appartenant aux genres *Klebsiella*, *Bacillus* et *Staphylococcus* utilisant le gallotannin comme unique source de

carbone. Trois acides cinnamiques (acide coumarique, acide caféique et acide férulique) ont été rapportés pour être métabolisés par des souches de *Lactobacillus plantarum* (Landete *et al.*, 2008).

Hironori *et al.* (1996) ont rapporté sur une étude comparative de l'activité antimicrobienne de flavonones substitués isolés à partir de légumineuses contre le SARM, que la relation structure-activité a indiqué que 2', 4' ou 2', 6'-dihydroxylation du cycle B et 5,7- dihydroxylation du cycle dans la structure de flavanone sont importantes pour une activité significative anti-SARM et que la substitution par un groupe aliphatique en position 6 ou 8 améliore également l'activité. Parmi les treize flavonoïdes testés, flavanones tétrahydroxy répondant à ces caractéristiques structurales isolées de *Sophora exigua* et *Echinosophora koreensis* ont montré une activité intense pour inhiber la croissance de toutes les souches de SARM.

Dans la présente étude nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits bruts (méthanolique et aqueux) des feuilles d'une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle « *Mentha piperita* ».

Les résultats des teneurs des extraits en phénols totaux et en flavonoïdes ont montré que l'extrait aqueux est le plus riche ($218,9 \pm 0.02$ µg EAG/g d'extrait sec et $70,86 \pm 0.01$ µg EQ/g d'extrait sec, respectivement) tandis que l'extrait méthanolique en est le plus pauvre (196 ± 0.005 µg EAG/g d'extrait sec et 9.23 µg EQ/g d'extrait sec).

L'étude de l'activité antimicrobienne, des extraits de *M. piperita* à différentes concentrations contre les souches testées (*S. aureus*, *SARM*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S.typhi* et *C.albicans*) ont révélé que l'extrait aqueux des feuilles possède un effet inhibiteur très intéressant vis-à-vis de *SARM* en raison de sa teneur en composés phénoliques. D'autre part, ces extraits ont manifesté aussi des effets relativement importants, notamment contre *S. aureus*. Par contre, aucune activité n'a été déterminée vis-à-vis des autres souches Gram négatif et la levure *C.albicans*.

En ce qui concerne, l'évaluation quantitative de cette activité par la détermination des CMI et CMB, montre que *SARM* est l'espèce la plus sensible vis-à-vis les extraits aqueux et méthanolique des feuilles avec des valeurs de CMI/CMB=8/10mg/ml.

L'évaluation qualitative et quantitative des antibiotiques ont montré que la pénicilline est la plus actif avec un diamètre de la zone d'inhibition le plus important sur *S. aureus* (48mm).

Cette étude a révélé un grand potentiel thérapeutique de cette plante, ce qui peut contribuer à l'élargissement de l'arsenal des plantes douées de propriétés antimicrobiennes. Toutefois, ce travail reste préliminaire et d'autres approches et études sont souhaitables afin de l'approfondir, à savoir :

- Etude des activités antimicrobiennes de ces composés sur d'autres souches microbiennes.
- Etude des autres activités biologiques des polyphénols.
- Une analyse par HPLC permettra de connaître la composition chimique ainsi que les principes actifs de cette plante.

- Effectuer une étude comparative de la composition chimique et des effets antimicrobiens des composés phénoliques.
- Vérification de la toxicité des extraits de cette plante dans des modèles *in vivo*.

Annexe I

Préparation des solutions de dosages

Carbonate de sodium (Na_2CO_3 ; 7.5%)

Na_2CO_37.5g
Eau distillée.....100ml

Chlorure d'aluminium (AlCl_3 , 2%)

AlCl_32g
Eau distillée.....100ml

Réactif de Folin-Ciocalteu (dilué à 1/10)

Réactif de Folin-Ciocalteu.....1ml
Eau distillée.....9ml

Annexe II

Equation extraite à partir des courbes d'étalonnage utilisées pour le calcul des taux de phénols totaux et flavonoïdes.

- Equation de la courbe d'étalonnage avec la quercétine pour le dosage des flavonoïdes :

$$\mathbf{Y = 0,0604x}$$

- Equation de la courbe d'étalonnage avec l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux :

$$\mathbf{Y=0,0201x}$$

Annexe III

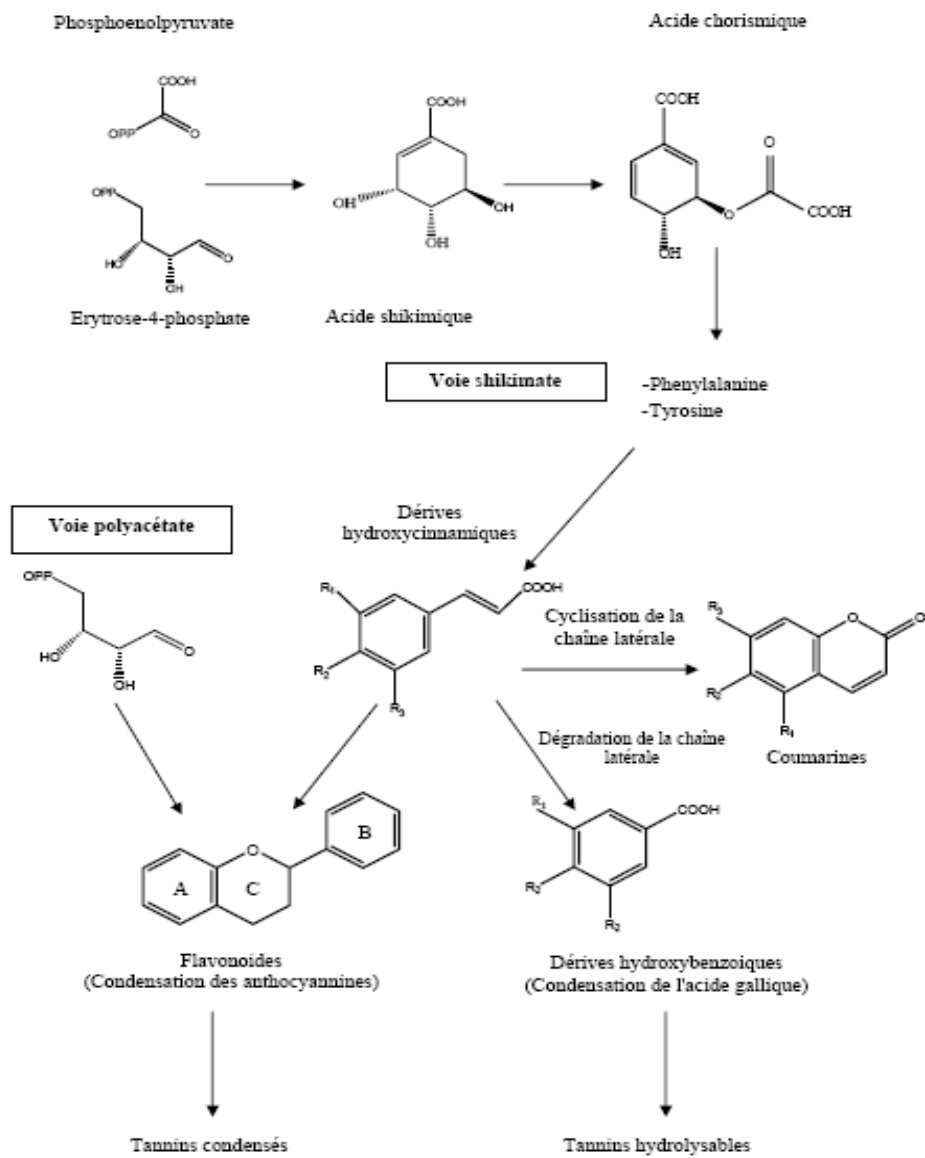


Figure. Voies de biosynthèse des différentes classes de composés phénoliques.

Annexe IV

Tableau. Les caractères des souches microbiennes testées et leurs pathologies

Souches	Famille	Caractères généraux	Sensibilité antibiotiques	Pouvoir pathogène
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	- Cocci Gram positif - température optimal à 37°C.	- Résistantes aux pénicillines G et A mais sensibles aux pénicillines M	-Les septicémies et les endocardites -Les manifestations digestives
<i>SARM</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	-Cocci Gram positif	Résistante à la méthicilline	Les septicémies et les endocardites
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillaceae</i>	-Bacille positif	Gram Sensible	Maladie du charbon
<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	- Bacille négatif - température optimal à 37°C	Gram Sensible	-Infection intestinale et urinaire - Infection néonatale
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	-Bacille négatif -température optimale à 30/43°C	Gram Multiresistante	-Infection urinaire -infection cutanée
<i>Salmonella typhi</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	-Bacille négatif	Gram Sensible à quelques antibiotiques	La <u>fièvre typhoïde</u> , la <u>fièvre paratyphoïde</u> et la <u>salmonellose</u>
<i>Candida albicans</i>	<i>Saccharomycetaceae</i>	-Levure microscopique	Plus résistante	Candidose

Annexe V

Composition des milieux de cultures (pour 1 litre d'eau distillée)

Mueller-Hinton (Senouci Bereksi et Abdelouahid, 2010)

Infusion de viande de bœuf.....	300g
Hydrolysate de caséine.....	17.5g
Amidon.....	1.5g
Agar.....	15.0g
pH finale 7.5 (environ).	

Préparation

Dissoudre 38g de poudre Mueller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Autoclaver à 121 °C pendant 15min.

Bouillon Nutritif (Journal Officiel, 2005)

Macération de viande (eau distillée + extrait de viande).....	1L
Peptone tryptique.....	15g
NaCl ou KCl.....	5g
pH 7.2-7.4	

Préparation

28g de la poudre dans 1L d'eau distillée, puis faire l'agitation. Après la stérilisation dans l'autoclave à 115°C pendant 20min.

Eau Physiologique

NaCl.....	9g
Eau distillé.....	1L

Préparation

Dissoudre 9g de NaCl dans un litre d'eau distillée. Autoclaver à 120 °C pendant 20min.

Résumé

Cette étude a porté sur l'activité antimicrobienne des extraits des feuilles de *Mentha piperita*. Les différents extraits (méthanolique et aqueux) ont été analysés pour leurs teneurs en composés phénoliques ainsi que pour leur activité antimicrobienne. Cette dernière a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose contre trois souches Gram⁺ (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) ATCC 43300 et *Bacillus subtilis* ATCC6633) et trois souches Gram⁻ (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Salmonella typhi* ATCC 14028) et une levure (*C. albicans* ATCC 1024). D'autre part, la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) des extraits actifs ont été déterminées par la méthode de dilution en milieu solide.

Les résultats indiquent que les extraits de feuilles sont riches en polyphénols. D'autre part, les tests antimicrobiens ont montré des activités variables selon la souche bactérienne et la nature de l'extrait (méthanolique ou aqueux). SARM était l'espèce la plus sensible, puisque sa croissance a été inhibée par les deux extraits avec le diamètre le plus large de 23.5mm, alors que les bactéries Gram négatif et la levure *C. albicans* étaient les plus résistantes.

Les résultats de la CMI et de la CMB des extraits actifs ont montré que les deux extraits aqueux et méthanolique des feuilles ont été plus actifs à l'égard de SARM (CMI: 8mg/ml; CMB: 10mg/ml). Les dosages de phénols totaux et flavonoïdes suggèrent que cette activité antibactérienne est attribuée principalement à la richesse de cette plante en composés phénoliques. Ces résultats préliminaires pourraient permettre de justifier l'usage de cette plante dans le traitement de certaines affections d'origine bactérienne et que ses composés phénoliques pourraient être exploités à des fins thérapeutiques, notamment antibactériennes.

Mots clés

Activité antimicrobienne, *Mentha piperita*, composés phénoliques, CMI et CMB.

Abstract

This study focused on the antimicrobial activity of extracts of leaves of *Mentha piperita*. Various extracts (methanolic and aqueous) were analysed for their phenolic content and antimicrobial activity. This was done by the method of diffusion against three Gram⁺ (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300 and *Bacillus subtilis* ATCC6633) and three Gram⁻ (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Salmonella typhi* ATCC 14028) strains and yeast (*C. albicans* ATCC 1024). On the other hand, the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of active extracts; were determined by using the dilution method on solid medium.

The results indicate that the leaves extracts are rich in polyphenols. On the other side, the Antimicrobial tests exhibited different activities depending on the strain used and the nature of the extract (methanol or aqueous). MRSA was the most sensitive since its growth was inhibited by both extracts with the widest diameter of 23.5mm, whereas Gram-negative bacteria and the yeast *C. albicans* were the most resistant.

The results of the MIC and the MBC of active extracts showed that the both extract methanolic and aqueous of leaves showed the best activity against SARM (MIC: 8mg/ml; MBC: 10mg/ml). Determination of total phenols and flavonoids suggested that the antibacterial activity is attributed mainly to the richness of this plant in phenolic compounds. These preliminary results may justify the use of this plant in the treatment of certain bacterial diseases and that phenolic compounds may be exploited for therapeutic purposes, especially antibacterial.

Key words

Antimicrobial activity, *Mentha piperita*, phenolic compounds, MIC and MBC.

ملخص

هذه الدراسة تركز على النشاط المضاد للبكتيريا لأوراق *Mentha piperita*. تم اختبار مختلف المستخلصات لمستويات مركبات الفينول، بالإضافة إلى نشاطها المضاد للبكتيريا. أجري الاختبار المضاد للجراثيم على مختلف المستخلصات بطريقة الانتشار على سطح الجيلوز ضد ثلاثة سلالات من غرام ايجابي (Gram⁺) *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) ATCC 43300، *Staphylococcus aureus* ATCC25923) و ثلاث سلالات من غرام سلبي (Gram⁻) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853، *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Salmonella typhi* ATCC 14028) و *C. albicans*. من ناحية أخرى، تم تحديد الحد الأدنى للتركيز المكبح (CMI) و الحد الأدنى للتركيز القاتل (CMB) للمستخلصات الفعالة بطريقة الانحلال في وسط صلب.

تشير النتائج إلى أن مستخلصات الأوراق غنية بمادة البوليفينول. من جهة أخرى، أظهرت الاختبارات المضادة للبكتيريا مختلف الأنشطة تبعاً لسلالة البكتيرية وطبيعة المستخلص (عضوي أو مائي). SARM كانت البكتيريا الأكثر حساسية اتجاه كل من المستخلصات المائية و ميثانولية حيث كبحت نموها مع أوسع قطر 23,5 مم، في حين أن سلالات غرام سلبي Gram⁻ و *C. Albicans* كانت الأكثر مقاومة.

أظهرت نتائج CMI و CMB للمستخلصات الفعالة أن المستخلص المائي و ميثانولي لأوراق النبتة كانت الأكثر نشاطاً ضد SARM. CMI: 8 مل/مغ؛ CMB: 10 مل/مغ. كمية الفينول الكلية ومركبات الفلافونويد يسندون هذا النشاط المضاد للبكتيريا إلى حد كبير إلى نراء النبتة بالمركبات الفينولية. من هذه النتائج الأولية يمكن تبرير استعمال هذه النبتة في علاج بعض الأمراض التي تسببها البكتيريا والتي يمكن استغلال مركباتها الفينولية لأغراض علاجية، بما في ذلك مضاد للجراثيم.

الكلمات الأساسية

المفعول المضاد الحيوي، *Mentha piperita*، مركبات فينولية، CMI، CMB.

- Abdelwahed A., Bouhlel I., Skamdrani I., Valenti K., Kadri M., Guiraud P., Steiman R., Mariotte A.M., Gherdia K., Laporte F., Dijoux-Franca M.-G. et Chekir-Ghedira L. (2007).** Study of antimutagenic and antioxidant activities pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus* confirmation by microarray expression profiling. *Chemico-Biological Interactions*, **165**: 1-13.
- Akiyama H., Fujii K., Yamazaki O., Oono T. et Iwatsuki T. (2001).** Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial chemotherapy*, **48**: 487-491.
- Ali-Emmanuel N., Moudachirou M., Akakpo A. J. et Quetin-Leclercq J. (2002).** Activité antibactérienne *in vitro* de *Cassia alata*, *Lantana camara* et *Mitracarpus scaber* sur *Dermatophilus congolensis* isolés au Bénin. *Revue Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, **55**: 183-187.
- Ali S.M. et Yaghmour R. (1998).** Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *J Ethnopharmacol*, **60**:265–71.
- Al-Momani W., Abu-Basha E., Janakat S., Nicholas R.A.J. et Ayling R.D. (2007).** *In vitro* antimycoplasmal activity of six Jordanian medicinal plants against three *Mycoplasma* species. *Trop Anim Health Prod*, **39**: 515–519.
- Alothman M., Bhat R. et Karim A.A. (2009).** Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, **115**: 785–788.
- Alzoreky N. S. et Nakahara K. (2003).** Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology*, **80**: 223-230.
- Atindehou K.K., Shmid C., Brun R., Koné M.W. et Traore D. (2004).** Antitrypanosomal and antiplasmodial activity of medicinal plants from Cote d’ivoire. *Journal of Ethnopharmacology*, **90** (2-3): 221-227.

-Badiaga M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. Université de Bamako.

-Bahorun T. (1997). Substances Naturelles Actives : Mauricienne, Une Source D'approvisionnement Potentielle. Amas. Food and Agricultural Research Council. Réduit. Mauritius, 83-94.

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

-Balasundram N., Sundram K. et Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, **99**: 191-203.

-Bansemir A., Blume M., Schröder S. et Lindequist U. (2006). Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*, **252**: 79-84.

-Barchan A., Bakkali M., Arakrak A., Laglaoui A. (2015). Effet antibactérien et anti-biofilm de trois espèces de *Mentha* : *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Mentha piperita*. p: 6-7.

-Basheer A., Al-Sum, Abdullah A. et Al-Arfaj. (2013). Antimicrobial Activity of the Aqueous Extract of Mint Plant. *Science Journal of Clinical Medicin*, p: 110-113.

-Basile A., Giordano, S., López-Sáez J. A. et Cobianchi R. C. (1999). Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. *Phytochemistry*, **52**:1479-1482.

-Basli A. et Chibane M. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf, Phytothérapie. **10**:2–9.

-**Batish D. R., Singh H. P., Kohli R. K. et Kaur S. (2008).** Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, **256**: 2166-2174.

-**Batovska D., Parushev S., Stamboliyska B., Tsvetkova I., Ninova M. et Najdenski H. (2009).** Examination of growth inhibitory properties of synthetic chalcones for which antibacterial activity was predicted. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **44**(5): 2211-2218.

-**Belaiche P. (1979).**Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome1 l'aromatogramme. *Ed Maloine*. Paris.

-**Benchaar C., Calsamiglia S., Chaves A.V., Fraser G.R., Colombatto D., McAllister T.A. et Beauchemin K.A. (2008).** A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, **145**: 209–228.

-**Bennick A. (2002).** Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Crit Rev Oral Biol Med*, **13** (2):184-196.

-**Betoni J.E., Mantovani R.P., Barbosa L.N., Di Stasi L.C. et Fernandes Jr A. (2006).** Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **101**(4):387-90.

-**Blanco R.T., Sudano-Roccaro A. et Spoto G.C. (2005).** Epigallocatechin gallate inhibits biofilm formation by ocular Staphylococcal isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **49** (10): 4339-4343.

-**Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N.S. et Abrini J. (2006).** Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities- Congrès International de Biochimie. Agadir, **09** : p12.

-**Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M. et Chaabouni M.M. (2008).** Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, **10**: 119-125.

-**Boyle W. (1955)**. Spices and essential oils as preservatives. *Am. Perfurmer Essent. Oil Rev*,**66**: 25-28.

-**Brantner A., Males Z., Pepeljnjak S. et Antolic A. (1996)**. Antimicrobial activity of *Paliurus spina-christi* Mill. (Christ's thorn). *J Ethnopharmacol*, **52**(2): 119-22.

-**Bravo L. (1998)**. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, **56** (11): 317-333.

-**Briones-Nagata M. P., Martinez-Goss M. R. et Hori K. (2007)**. A comparison of the morpho-cytology and chemical composition of the two forms of the cyanobacterium, *Nostoc commune* Vauch., from the Philippines and Japan. *Journal of Applied Phycology*, **19**: 675–683.

-**Bruneton J. (1999)**. Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales. 3^{ème} Edition. Éd. *TEC et DOC*. Lavoisier .Paris. 1120p.

-**Bruneton J. (1999)**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} Edition *Technique et Documentation Lavoisier*. p: 784-873.

-**Bruneton J. (2009)**. Pharmacognosie, Phytochimie, Plante médicinales. Lavoisier Technique & Documentation, 4^{ème} Edition. Paris

-**Bucic-Kojic A., Planinic M., Tomas S., Bilic M. et Velic D. (2007)**. Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphénols from grape seeds. *Journal of Food Engeneering*, **81**: 236-242.

-**Burt S. (2004)**. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, **94**: 223– 253.

-**Calsamiglia S., Busquet I.M., Cardozo P.W., Castillejos L. et Ferret A. (2007)**. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal Dairy Science*, **90**: 2580-2595.

- Carson C.F. et Riley T.V. (1995). Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*, **78**: 264-269.
- Carson C.F., Mee B. J. et Riley T.V. (2002). Mechanism of Action of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil on *Staphylococcus aureus* Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage, and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1914–1920.
- Castro-Vargas H.I., Rodríguez-Varela L.I., Ferreira S.R.S. et Parada-Alfonso F. (2010). Extraction of phenolic fraction from guava seeds (*Psidium guajava L.*) using supercritical carbon dioxide and co-solvents. *Journal of Supercritical Fluids*, **51**: 319–324.
- Chaouche T. M. (2014). Contribution à l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. Université Aboubekr Belkaide (Tlemcen). 19p.
- Chen C.Y. et Blumberg J.B. (2008). In vitro activity of almond skin polyphenols for scavenging free radicals and inducing quinone reductase. *J Agric Food Chem*, **56**(12): 4427–34.
- Cherrat L. et Espina L. (2014). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. *Innova Food Sci Emerg Technol*, **22**:221–9.
- Chirinos R., Rogez H., Campos D., Pedreschi R. et Larondelle Y. (2007). Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav'on) tubers. *Separation and Purification Technology*, **55**: 217–225.
- Chung K.T. et Wei C.I. (2001). Are tannins a double edged sword in biology and health. *Trends in Food Science et Technology*, **9**:168-175.
- Cimolai N. et Cimolai T. (2007). The cranberry and the urinary tract. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **26**: 767–776.

-Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM). Communiqué 2009.

-Cottiglia F., Loy G., Garau D., Floris C., Casu M., Pompei R. et Bonsignore L. (2001). Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L. *Phytomedicine*, **8** (4): 302-305.

-Cowan M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *American Society for Microbiology*, **12** (4):12-14.

-Crozier A., Jaganath I.B. et Clifford M.N. (2006). Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview *In* Plant secondary metabolites occurrence, structure and role in the human diet. Ed. *Ltd.* Singapore, P: 1-24.

-Cushnie T.P.T. et Lamb A.J. (2006). Assessment of the antibacterial activity of galangin against 4-quinolone resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Phytomedicine*, **13**: 187–191.

-Cushnie TPT, Hamilton VES, Chapman DG, Taylor PW, Agneau AJ. (2007). Aggregation of *Staphylococcus aureus* following treatment with the antibacterial flavonol galangin. *Journal of Applied Microbiology*, **103**(5): 1562-1567.

-Dall'Agnol R., Ferraz A., Bernardi A. P., Albring D., Nör C., Sarmento L., Lamb L., Hass M., von Poser G. et Schapoval E. E. S. (2003). Antimicrobial activity of some *Hypericum* species. *Phytomedicine*, **10**: 511–516.

-De Billerbeck V. G. (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, **5**: 249–253.

-De Bruyne T., Pieters L., Deelstra H. et Vlietinck A. (1999). Condensed vegetable tannins: Biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematics and Ecology*, **27**: 445-459.

-Deans S.G., Baratta M.T. (1998): Antimicrobial and Antioxidant properties of some essential oils. *Flav.Fragrance*, 235-244.

-Delso I., Tejero T., Goti A. et Merino P. (2010). Synthesis of D-arabinose-derived polyhydroxylated pyrrolidine, indolizidine and pyrrolizidine alkaloids. Total synthesis of hyacinthacine. *Tetrahedron*, **66**: 1220–1227.

-Dembitsky V. M. (2008). Bioactive cyclobutane-containing alkaloids- a review. *J Nat Med*, **62**:1-33.

-Derbel S. et Ghedira K. (2005). Phytothérapie et nutrition: Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, (1): 28-34.

-De-Rijke E., Out P., Niessen W. M. A., Ariese F. Gooijer C. et Brinkman U. A. T. b. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1112: 31- 63.

-Djeridane A., Yous. M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. et Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, **97**: 654-660.

-Dorman H.J.D. et Deans S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, **88** : 308–316.

-Duraipandiyan V., Ayyanar M. et Ignacimuthu S. (2006). Antimicrobial activity of some ethnomedicinal plants used by Paliyar tribe from Tamil Nadu, India. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **6** (35): 1-7.

-Duszenko M, Uradea Y. (2005). *Kola acuminata* proanthocyanidins: a class of anti-trypanosomal compounds effective against trypanosome brucei. *International Journal for Parasitology*, **35**(1): 91-103.

-Dyab A.S., Aly A.M., Matuk H.I. (2015). Enhancement and Evaluation of Peppermint (*Mentha Piperita* L), Egypt International Journal of Life Sciences Research. **3**: (175-185).

-Elazhari M., Zerouali K., Elhabchi D., Cohen N., El malki A. N., Dersi N., Hassar M. Timinouni M. et Saile R. (2010). Sensibilité aux antibiotiques des souches de staphylococcus aureus communautaires à CASABLANCA (MAROC).

-Eldeen I.M.S., Elgorashi E.E. et Van Staden J. (2005). Antibacterial anti-inflammatory anti-cholinesterase and mutagenic effects of extracts obtained from some trees used in South African traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, **102**: 457-464.

-Elizondo A. M., Mercado E.C., Rabinovitz B.C. et Fernandez-Miyakawa M.E. (2010). Effect of tannins on the *in vitro* growth of *Clostridium perfringens*. *Veterinary Microbiology*, **145**: 308–314.

-Elodie G. (2011). Molécules antibactériennes issues d’huiles essentielles : séparation, identification et mode d’action. Thèse de doctorat, L’Universite de Corse, 49-50.

-El-Seedi H.R., Zahra M.H., Goransson U. et Verpoorte R. (2007). Cyclopeptide alkaloids. *Phytochem Rev*, **6**:143–165.

-Erlund I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research*, **24**: 851-874.

-Fabre R., Mérens A., Lefebvre F., Epifanoff G., Cerutti F., Pupin H., Tardif D. et Cavallo J-D. (2010). Sensibilité aux antibiotiques des Escherichia coli isolés d’infections urinaires communautaires Susceptibility to antibiotics of Escherichia coli isolated from community-acquired urinary tract infections. *J Ternois a a Label Bio*, **36** :105-130.

-Farah H. et Abdelhafid B. (2008). Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire*, **8**: 20-27.

-Faucher J.L. et Avril J.L. (2002). *Bactériologie générale et médicale*. Tome 1, Ellipses (Ed.), Paris, 214p.

-Fauchère J. (2002). *Bactériologie générale et médicale*. Ed Ellipses , **15**: 252-253; **10**: 151-176.

-Fesen M. R., Pommier Y., Leteurtre F., Hiroguchi S., Yung J. et Kohn K. W. (1994). Inhibition of HIV-1 integrase by flavones, caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and related compounds. *Biochem Pharmacol.* **48**(3): 595-608.

-Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J.(2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes pp 121-216.

-Flores N., Jiménez I .A., Giménez A., Ruiz G., Gutiérrez D., Bourdy G. et Bazzocchi I.L. (2009). Antiparasitic activity of prenylated benzoic acid derivatives from Piper species. *Phytochemistry*, **70**(5): 621-627.

-Friedman M., Henika P.R., Levin CE., Mandrell R.E. et Kozukue N. (2006). Antimicrobial activities of tea catechins and the aflavins and tea extracts against *Bacillus cereus*. *Journal of Food Protection*, **69**(2): 354-361.

-Frutos P., Hervás G., Giráldez F. J. et Mantecón A. R. (2004). Review. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, **2** (2): 191-202.

-Funatogawa K., Hayshi S., Shimomura H., Yoshida T., Hatano T., Ito H. et Hirai Y. (2004). Antibacterial activity of hydrolysable tannins derived from medicinal plant against *Helicobacter pylori*. *Microbiol. Immunol.*, **48** (4): 251-261.

-Galeotti F., Barile E ., Curir P., Dolci M. et Lanzotti V. (2008). Flavonoids from carnation (*Dianthus caryophyllus*) and their antifungal activity. *Photochemistry Letters*, **1**: 44-48.

-Gamet-Payrastre, L., Manenti, S., Gratacap M.P., Tulliez J., Chap H. et payrastre B.(1999). Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. *General Pharmacology*,**32**: 279- 286.

-Garnero P. (1996). Huiles essentielles. In techniques de l'ingénieur. Ed. TEC et DOC. Paris, P :345.

-Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes: Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, **4**: 162-169.

-Gherman C., Culea M. et Cozar O. (2000). Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS-Talanta, **53**: 253-262.

-Goyal P., Aggarwal B.K. et Garg S. (2010). A Study on Combinatorial Effects of Various Flavonoids for Their Antibacterial Potential against Clinically Significant Bacterial Species. *Journal of Biology and Chemistry*, **38** (4) : 255-258.

-Gomez-Caravaca A.M., Gomez-Romero M., Arraez-Roman D., Segura-Carretero A. et Fernandez-Gutierrez A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **41**: 1220-1234.

-Gómez-Galera S., Pelacho A. M., Gené A., Capell T. et Christou P. (2007). The genetic manipulation of medicinal and aromatic plants-a review. *Plant Cell Rep*, **26**: 1689-1715.

-Guignard J.L (2000). Les composés aromatiques. In Abrégé de Biochimie Végétale. *Edition Dunod* : 116-124.

-Guignard J. L. (1979). Abrégé de biochimie végétal 2^{ème} édition. *Ed. Masson*.

-Guignard J. L. (2000). Biochimie végétale 2^{ème} édition. *Ed DUNOD Paris*.

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

-Haenena G.M.M., Arts M.J.T. J., Bast A. et Coleman M.D. (2006). Structure and activity in assessing antioxidant activity *in vitro* and *in vivo*. A critical appraisal illustrated with the flavonoids. *Environnemental Toxicology and pharmacology*, **211**: 91-198.

-Hagerman A. E. et Bulter L. G. (1989). Choosing appropriate methods and standards for assaying tannin. *Journal of Chemical Ecology*, **15** (6): 1-16.

-Häkkinen S. (2000). Flavonols and phenolic acids in berries and berry products. Ed. *Medical Sciences*. Kuopio, P: 92.

-Hammer K.A., Carson C.F. et Rile T.V. (2003). Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Journal of Applied Microbiology*, **95**: 853–860.

-Hammerschmidt R. (2005). Phenols and plant-pathogen interactions: The saga continues. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **66**: 77-78.

-Heim K.E., Tagliaferro A.R. et Bobilya D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **13**: 572-584.

-Henis Y., Tagari H., et Volcani R. (1964). Effect of water extracts of carob pods, tannic acid, and their derivatives on the morphology and growth of microorganisms. *Applied Microbiology*, **12** (3): 204-209.

-Hennebelle T., Sahpaz S. et Bailleul F. (2005). Pharmacologie: polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, **(1)**: 3-6.

-Hironori T., Masaru S., Takashi M., Shuu F., Shingo T., Masayoshi O., Toshiyuki T.,Munekazu L. (1996). Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, **50**: 27-34.

-Hogan D, Kolter R. (2002). Why are bacteria refractory to antimicrobials. *Curr Op Microbiol*, **5**: 272–4.

-Huber B., Eberl L., Feucht W. et Polster J. (2003). Influence of polyphenols on bacterial biofilm formation and quorum-sensing. *Z. Naturforsch*, **58**: 879-884.

-Isan G., Kirimer N., Kurkcuoglu K., Baser K.H.C. et Demirci F. (2002). Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *J. Agric. Food Chem*, **50** (14), 3943-3946.

-Ito C., Itoigawa M., Onoda S., Hosokawa A., Ruabgrungsi N., Okuda T., Tokuda H., Nishino H. et Furukawa H. (2005). Chemical constituents of *Murraya siamensis*: three coumarins and their anti- tumor promoting effect. *Phytochemistry*, **66**(5): 567-572.

-Jimoh F.O., Adedapo A.A. et Afolayan A.J. (2010). Comparison of the nutritional value and biological activities of the acetone, methanol and water extracts of the leaves of *Solanum nigrum* and *Leonotis leonorus*. *Food and Chemical Toxicology*, **48**: 964–971.

-Jones G.A., McAllister T.A., Muir A.D. et Cheng K.J. (1994). Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, **60** (4): 1374-1378.

-**Journal Officiel** de la République Algérienne Démocratique et Population Convention et Accords Internationaux. 8 Joumada El oula 1426, 15 Juin 2005 ,Milieu de Culture. Réactifs et Sérums N° : 42- 44^{ème} Années. 32p.

-Kahkonen M. P., Hopia A. I., Vuorela H. J., Rauha J. P., Pihlaja K., Kujala T. S. et Heinonen M. (1999). Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, **47**: 3954-3962.

-Kaloustian J., Chevalier J., Mikail C., Martino M., Abou L. et Vergnes M.F. (2008). Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*, **6**: 160–164.

- Karou D., Dicko M. H., Simpore J., et Traore A. S. (2005).** Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, 4 (8): 823-828.
- Khadri A., Neffati M., Smiti S., Falé P., Lino A.R. L., Serralheiro M.L.M. et Araújo M.E.M. (2010).** Antioxidant, antiacetylcholinesterase and antimicrobial activities of *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng (lemon grass) from Tunisia. *LWT - Food Science and Technology*, 43: 331-336.
- Khanbabaee K. et Ree T.V.(2001).** Tannins: Classification and definition. *Natural Products Rep.*, 18: 641-649.
- Khattak S., Rehman S. U., Shah H. U., Ahmad K. et Ahmad M. (2005).** Biological effects of indigenous medicinal plants *Curcuma longa* and *Alpinia galangal*. *Fitoterapia*, 76: 254-257.
- Kim JH, Campbell BC, Mahoney N, Chan KL, Molyneux RJ, Balajee A.(2010).** Augmenting the activity of antifungal agents against aspergilla using structural analogues of benzoic acid as chemosensitizing agents. *Fungal Biology*, 114(10): 817-824.
- Kim JY, Lim H J, Lee DY, Kim DH, Jeon R, Ryu JH. (2009).** *In vitro* anti-inflammatory activity of lignans isolated from *Magnolia fargesii*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19(3): 937-940.
- Kim T.J., Silva J.L., Kim M.K. et Jung Y. S. (2010).** Enhanced antioxidant capacity and antimicrobial activity of tannic acid by thermal processing. *Food Chemistry*, 118: 740-746.
- Kintzios S.E. et Barberaki M.G. (2004).** Plant that fight cancer. Edition CRC Press (Washington, Etats Unis). Pp: 16-18.
- Koivikko R., Loponen J., Eränen J.K. et Jormalainen V. (2008).** Variation of phlorotannins among three populations of *Fucus vesiculosus* as revealed by HPLC and colorimetric quantification. *Journal of Chemical Ecology*, 34: 57-64.

-Koivikko R., Loponen J., Honkanen K. et Jormalainen V. (2005). Contents of soluble, cell-wall-bound and exuded phlorotannins in the brown alga *Fucus vesiculosus*, with implications on their ecological functions. *Journal of Chemical Ecology*, **31** (1): 195-212.

-Kong C.S., Um Y.R., Lee J.I., Kim Y.A., Yea S.S. et Seo Y. (2010). Constituents isolated from *Glehnia littoralis* suppress proliferations of human cancer cells and MMP expression in HT1080 cells. *Food Chemistry*, **120**: 385–394.

-Kubata B.K., Nagamune K., Murakami N., Merkel P., Kabututua Z., Martin S.K, Kalulug T.M., Mustakuk H., Hoshida M., Ohnishi-kameyama M., Kinoshita T., Duszenko M, Uradea Y. (2005). *Kola acuminata* proanthocyanidins: a class of anti-trypanosomal compounds effective against trypanosome brucei. *International Journal for Parasitology*, **35**(1): 91-103.

-Kumaraswamy M.V., Kavitha H.U. et Satish S. (2008). Antibacterial Evaluation and Phytochemical Analysis of *Betula utilis* D. Don Against Some Human Pathogenic Bacteria. *World Journal of Agricultural Sciences*, **4** (5): 661-664.

-Kunle O., Okogun J., Egamana E., Emojevwe E. et Shok M. (2003). Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomedicine*, **10**: 59–61.

-Lambert R.J.W., Skandamis P.N., Coote P.J. et Nychas G.J.E. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, **91**: 453-462.

-Landete J. M., Curiel, J. A., Rodríguez H., las Rivas B. et Muñoz R. (2008). Study of the inhibitory activity of phenolic compounds found in olive products and their degradation by *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Chemistry*, **107**: 320–326.

-Leila., Ali A., Isa A. et Razieh R . (2015). Bioactive Potential of Peppermint Extract Against Some Human Bacterial and Fungal Pathogens. *Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection*, **2**(4): 290-693.

-
- Lim H J., Lee D.Y, Kim D.H., Jeon R. et Ryu J.H. (2009).** *In vitro* anti-inflammatory activity of lignans isolated from *Magnolia fargesii*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **19**(3): 937-940.
- Lim Y.Y. et Murtijaya. J. (2007).** Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *LWT*, **40**: 1664-1669.
- Liu J., Ando R., Shimizu K., Hashida K., Makino R., Ohara S. et Kondo R. (2008).** Steroid 5 α -reductase inhibitory activity of condensed tannins from woody plants. *The Japan Wood Research Society*, **54**: 68–75.
- Liu R.H. (2007).** Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science*, **46**: 207-219.
- Lopez A., Hudson J.B. et Towers G.H.N. (2001).** Antiviral and antimicrobial activities of Colombian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, **77**: 189-196.
- Lopez-Lazaro M. (2009).** Distribution and biological activities of the flavonoids luteolin. *Mini-reviews in Medicinal Chemistry*, **9**: 31-59.
- Lugasi A., Hóvári J., Sági K.V. et Bíró L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica szegediensis*, **47** (1-4): 119-125.
- Luthar Z. (1992).** Polyphenol classification and tannin content of buckwheat seeds (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Fagopyrum*, **12**: 36-42.
- Mahmood N., Pizza C., Aquino R., De Tommasi N., Piacente S., Colman S., Burke A., Hay A. J. (1993).** Inhibition of HIV infection by flavanoids. *Antivir. Res.* **46**(7): 1257- 71.
- Makkar H. P. S. (2003).** Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, **49**: 241-256.
- Marais J.P.J., Deavours B., Dixon R.A. et Ferreira D. (2006).** The Stereochemistry of Flavonoïds *In* The science of flavonoïds. Ed. *BS/DH*. USA, P: 1-46.

- Mariola K., Agnieszka E. L., Jarosław P., Małgorzata Z., Ewa M. (2015).** Chemical composition and antibacterial activity of some medical plants from *lamiaceae* family. Polish Pharmaceutical Society, 72 (4): 757-767.
- Martin S. et Andriantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, **51**: 304-315.
- Martini N. et Eloff J. N. (1998).** The preliminary isolation of several antibacterial compounds from *Combretum erythrophyllum* (Combretaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **62**: 255-263.
- Masika P. et Afolayane A. (2002).** Antimicrobial activity of some plants used for the treatment of live stock diseases in Eastern Cape, South Afr. *Journal Ethnopharmacology*, **83**: 129-134.
- Masquelier J, Dumon M, Dumas J. (1979).** Stabilisation des collagènes par des oligomères procyanidoliques. *Acta thérapeutiques*, **1**: 101- 104.
- Mehmet S. K., Cengiz S., Mustafa C., Serpil K., Mehmet C. U., Bektas T. (2016).** *Salvia cadmica*: Phenolic composition and biological activity. [Industrial Crops and Products](#), **85**:204–212.
- Michalak A. (2006).** Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environ. Stud*, **15** (4): 523-530.
- Miller R.E., Mc Conville M.J. et Woodrow I.E. (2006).** Cyanogenic glycosides from the rare Australian endemic rainforest tree *Clerodendrum grayi* (Lamiaceae)-*Phytochemistry*, **67**: 43-51.

- Min, B. R. 1.; Pinchak, W. E. 1.; Merkel, R.; Walker, S.; Tomita, G. et Anderson, R. C. (2008).** Comparative antimicrobial activity of tannin extracts from perennial plants on mastitis pathogens. *Scientific Research and Essay*, **3** (2): 66-73.
- Mohamed A.A., Khalil A.A. et El-Beltagi H.E.S. (2009).** Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of kaff maryam (*Anastatica hierochuntica*) and doum palm (*Hyphaene thebaica*) cultivated in Egypt. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, **2** (2): 71-79.
- Moreno L. et Bello R. (2002).** Pharmacological properties of the methanol extract from *Mentha suaveolens* Ehrh. *Phytother Res*, **16**:10–3.
- Nacz M. et Shahidi F. (2006).** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **41**: 1523-1542.
- Nacz M. et Shahidi F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, **1054**: 95–111.
- Naghibi F., Mosaddegh M., Mohammadi M.S. et Ghorbani A. (2005).** Labiatae Family in folk Medicine in Iran : from Ethnobotany to Pharmacology-*Iranian journal of pharmaceutical research*, **2**: 63-79.
- Naili M. B., Alghazeer R. O., Saleh N.A. et Al-Najjar A.Y. (2010).** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arabian Journal of Chemistry*, **3**: 79–84.
- Navarro V., Villarreal M. L., Rojas G. et Lozoya X. (1996).** Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, **53**: 143-147.
- Niemetz R. et Gross G.G. (2005).** Enzymology of gallotannin and ellagitannin biosynthesis-a review. *Phytochemistry*, **66**: 2001–2011.
- Nosheen A., Ihsan H., Bushra M. (2015).** Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species, p: 05.

- Ogueke C. C., Ogbulie J.N., Okoli I.C. et Anyanwu B. N. (2007). Antibacterial Activities And Toxicological Potentials Of Crude Ethanolic Extracts Of *Euphorbia hirta*. *Journal of American Science*, **3** (3): 11-16.
- Okamura H., Mimura A., Yakou Y., Niwano M. et Takahara Y. (1993). Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. *Phytochemistry*, **33**(3): 557-561.
- Okuda T. (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*, **66**: 2012–2031.
- Okusa P. N., Penge O., Devleechouwer M. et Duez P. (2007). Direct and indirect antimicrobial effects and antioxidant activity of *Cordia gillettii* De Wild (Boraginaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **112**: 476- 481.
- Orhan I., Özcelik B. et Şener B. (2007). Antiviral and antimicrobial evaluation of some heterocyclic compounds from Turkish plants. *Top Heterocycl Chem*, **11**: 303-323.
- Ouraini D., Agoumi A., Ismaïli-Alaoui M., Alaoui K., Cherrah Y., Amrani M. et Belabbas M.-A. (2005). Étude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. *Phytothérapie*, **4**: 147-157.
- Owen P.K. et Johns T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*, **64** (2): 149-160.
- Pennachio M., Kemp A. S., Taylor R. P., Wickens K. M. et Kienow L. (2005). Interesting biological activities from plants traditionally used by Native Australians. *Journal of Ethnopharmacology*, **96**: 597-601.
- Petit P ., Granier T ., Langlois d'Estaintot B ., Manigand C., Bathany K ., Schmitter J-M ., Lauvergeat V ., Hamdi S ., Gallois B. (2007). Crystal Structure of grape dihydroflavonol 4-reductase, a key enzyme in flavonoid biosynthesis. *J. Mol. Biol*, **368**:1345-1357.
- Pietta P.G. (2000). Flavonoïds as antioxidants. *Journal of Natural Products*, **63**: 1035-1042.

- **Pina P, Pangon B, Rio Y, Chardon H, Lallali A.K, Allouch P.Y. (2000).** Sensibilité des Entérobactéries aux antibiotiques en Unités de soins intensifs. *J Path Biol*, **48**: 485-489.

-**Plesiat P., Zhha-Zarifi I. (1996).** Résistance par imperméabilité et par efflux chez les bacilles à Gram négatif. *La lettre de l'infetiologue* , **16** : 495-507.

-**Pramila D. M., Xavier R., Marimuthu K., Kathiresan S., Khoo M. L., Senthilkumar M. Sathya K and Sreeramanan. (2012).** Phytochemical analysis and antimicrobial potential of methanolic leaf extract of peppermint. *Journal of Medicinal Plants Research*, **6**(2): 331-335.

-**Preeti Dixit. (2013).** Comparative screening of antibacterial activity of andica with *Mentha piperita* against human pathogenic micro-organisms. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*. **3**(1): 85-88.

-**Punitha S.M.J., Babu M.M., Sivaram V., Shankar V.S., Dhas S.A., Mahesh T.C., Immanuel G. et Citarasu T. (2008).** Immunostimulating influence of herbal biomedicines on nonspecific immunity in Grouper *Epinephelus tauvina* juvenile against *Vibrio harveyi* infection. *Aquacult Int*, **16**: 511–523.

-**Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Meier C., Kähkönen M., Heinonen M., Hopia A. et Oksman-Caldentey K.M. (2001).** Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*, **90**: 494-507.

-**Quezel, P., Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des Régions Désertiques et Méridionales, Tome I et II, Editions CNRS, Paris.

-**Rahim A.A. et Kassim J. (2008).** Recent development of vegetal tannins in corrosion protection of iron and steel. *Recent Patents on Materials Science*, **1**: 223-231.

-**Rahman I., Biswas S.K. et Kirkham P.A. (2006).** Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphénols. *Biochemical pharmacology*, **72**: 1439-1452.

-Rangasamy O., Raelison G., Rakotoniriana F. E., Cheuk K., Urverg-Ratsimamanga S., Quetin-Leclercq J., Gurib-Fakim A. et Hussein Subratty A. (2007). Screening for anti-infective properties of several medicinal plants of the Mauritian flora. *Journal of Ethnopharmacology*, **109** (2): 331–337.

-Ranilla L.G., Kwon Y.-I., Emmanouil Apostolidis E. et Shetty K. (2010). Phenolic compounds, antioxidant activity and *in vitro* inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. *Bioresource Technology*, **101**: 4676–4689.

-Rauha J. P., Remes S., Heinonen M., Hopia A., Kähkönen M., Kujala T., Pihlaja K. Vuorela H. et Vuorela P. (2000). Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International Journal of Food Microbiology*, **56**: 3–12.

-Ribéreau-Gayon, P. (1968). Notions générales sur les composés phénoliques, méthodes générales d'étude des composés phénoliques. *In* : Les composés phénoliques des végétaux. *Edition Dunod*, Pp: 1-27.

-Robard I. (2004). Plantes médicinales d'outre-mer et pharmacopées : aspects juridiques, économiques et culturels. *Phytothérapie*, **1**: 16-21.

-Robards K., Prenzler P.D., Tueker G., Swatsitang P. et Glover W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, **66**: 101-136.

-Roberts M.F. and Wink M. (1999). Alkaloids - Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications. *Book Reviews / Phytochemistry*, **52**:1177 – 1180

-Rodríguez-Vaquero M. J., Tomassini Serravalle L. R., Manca de Nadra M. C. et Strasser de Saad A. M. (2010). Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from Argentinean herbs infusions. *Food Control*, **21**: 779–785.

- Rodriguez-Vaquero M.J., Alberto M.R. et Manca de Nadra M.C. (2007).** Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, **18**: 93-101.
- Rudi., Syahida., Aspollah., Yunus M. et Oskoueian. (2011).** Flavonoid Analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl Fruit. *International Journal of Molecular Sciences*, 1422–0067.
- Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M. et Bruni R. (2005).** Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem.*, **91**: 621- 632.
- Sachinkumar C. R., Rahul S., Godghate A. G. (2016).** Mentha piperita linn: phytochemical, antibacterial and dipterian adulticidal approach. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **8**: 0975-1491
- Salama H. M. H. et Marraiki N. (2010).** Antimicrobial activity and phytochemical analyses of *Polygonum aviculare* L. (Polygonaceae), naturally growing in Egypt. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **17**: 57-63.
- Samy R.P. et Gopalakrishnakone P. (2008).** Therapeutic potential of plants as antimicrobials for drug discovery—a review. *eCAM*, 1-12.
- Seidel V. (2005).** Initial and Bulk Extraction. *In*: Sarker S. D., Latif Z. and Gray A. I. Natural products isolation. Humana Press (Totowa), pp: 27-37.
- Selvamohan T., Ramadas V et . Shibila S. K. (2012).** Antimicrobial activity of selected medicinal plants against some selected human pathogenic bacteria. *Advances in Applied Science Research.*, **3** (5):3374-3381.
- Senouci B.M. et Abdelouhid D. E. (2010).** Méthodes et Techniques en Bactériologie. Office des Publications Universitaires (Ben-Aknoun ; Alger),131p.

-Sevil A., Ahmet A., Songul A. and Osman S. (2013). In vitro antioxidant and antimicrobial activity of some Lamiaceae species, *Iranian Journal of Science and Technology*. **1**: 3.

-Shah P.P. et D'Mello P.M. (2004). A review of medicinal uses and pharmacological effects of *Mentha piperita*. *Natural Product Radiance*, **3** (4): 214-221.

-Sharma A., Patel V.K. et Ramteke P. (2009). Identification of vibriocidal compounds from medicinal plants using chromatographic fingerprinting. *World J Microbiol Biotechnol*, **25**: 19-25.

-Smyth T, Ramachandran V.N. et Smyth WF. (2009). A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. *International journal of antimicrobial agents*, **33**(5): 421-426.

-Spigno G., Tarmelli L. et De Faveri D.M. (2007). Effect of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, **81** (1): 200-208.

-Stapleton P.D., Shah S., Hara Y. et Taylor P.W. (2006). Potentiation of catechin gallate-mediated sensitization of *Staphylococcus aureus* to oxacillin by nongalloylated catechins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **50** (2): 752-755.

-Stapleton P.D., Shah S., Hara Y., Ehlert K. et Taylor P.W. (2007). The β -lactam-resistance modifier (-)-epicatechin gallate alters the architecture of the cell wall of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology*, **153**: 2093-2103.

-Stermitz F. R., Lorenz P., Tawara J. N., Zenewicz L. A. et Lewis K. (2000). Synergy in a medicinal plant: Antimicrobial action of berberine potentiated by 5'-methoxyhydronecarpin, a multidrug pump inhibitor. *Applied biological sciences*, **97** (4): 1433-1437.

-Stobiecki M. et Kachlicki P. (2006). Isolation and identification of flavonoids *In The science of flavonoids*. Ed. BS/DH. USA, Pp: 47-70.

-Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzech H., Stöckigt D.(2002). High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups Review Journal of Chromatography A, **967**: 85–113.

-Sudano R. A. (2004). Epigallocatechin-gallate enhances the activity of tetracycline in staphylococci by inhibiting its efflux from bacterial cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **48** (6): 1968-1973.

-Sujana P., Sridhar T. M., Josthna P. et Naidu C.V. (2013). Antibacterial Activity and Phytochemical Analysis of *Mentha piperita* L. (Peppermint)-An Important Multipurpose Medicinal Plant. *American Journal of Plant Sciences*, **4**: 77-83.

-Tadesse M. et Gulliksen B. (2008). Screening for antibacterial and antifungal activities in marine benthic invertebrates from northern Norway. *J Invertebr Pathol*, **99**: 286–93.

-Taganna J.C. et Rivera W.L. (2008). Epigallocatechin gallate from *Camellia sinensis* L. (Kuntze) is a potential quorum sensing inhibitor in *Chromobacterium violaceum*. *Science Diliman*, **20** (1): 24-30.

-Taguri T., Tanaka T. et Kouno, I. (2006). Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. *Biology Pharmacology Bulltin*, **29** (11): 2226-2235.

-Tepe B., akpulat H. A., Sokmen M., Daferera D., Yumrutas O., Aydin E., Polissiou M. et Sokmen A. (2006). Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of *Pimpinella anisetum* and *Pimpinella flabellifolia* from turkey. *Food Chemistry*, **97**: 719-724.

-Tepe B., Sokmen M., Sokmen A., Daferera D. et Polissiou M. (2005) . Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium origanifolium* (Labill.) Manden. & Scheng. *Journal of Food Engineering*, **69**: 335–342.

-Teucher E., Anton R. et Lobstein A. (2003). Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. : Lavoisier. P3.

-Thomas O.P. (2009). Métabolisme secondaire et Biosynthèse. Master 2 VEM. Université Nice Sophia Antipolis.

-Toth B.G. et Pavia H. (2001). Removal of dissolved brown algal phlorotannins using insoluble polyvinylpyrrolidone (PVPP). *Journal of Chemical Ecology*, **27** (9): 1899-1910. **68**:1561-1568.

-Ullah M.F. et Khan M.W. (2008). Food as medicine: Potential therapeutic tendencies of plant derived polyphenolic Compounds. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **9**: 187-196.

-Ultee A., Kets E.P.W. et Smid E.J. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the foodborn pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Envir. Microbiol.*, **68**:1561-1568.

-Vercauteren. J., Cheze, C. et Triaud. J. (1998). Polyphénols 96, 18th international conference on polyphenols. *INRA*, p: 32-33.

-Vermerris W. et Nicholson R. (2006). Phenolic compound biochemistry. Ed. *Springer*. USA, P: 267.

-Voravuthikunchai S. P., Sririrak T., Limsuwan S., Supawita T., lida T. et Hond T. (2005). Inhibitory effect of active compounds from *Punica granatum* on verocytotoxin production by Enterohemorrhagic *Escherichia coli* 0157:H7. *Journal of Health Science*, **51** (5):590-596.

-Walsh S.E., Maillard J.-Y., Russell A.D., Catrenich C.E., Charbonneau D.L. et Bartolo R.G. (2003). Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and -negative bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, **94**: 240-247.

-Wang, Y.-C.; Hsu, H.-W. et Liao, W.-L. (2008). Antibacterial activity of *Melastoma candidum* D. Don. *LWT-Food Science and Technology*, **41**: 1793-1798.

- Widsten P., Heathcote C., Kandelbauer A., Guebitz G., Nyanhongo G.S., Prasetyo E.N. et Kudanga T. (2010).** Enzymatic surface functionalisation of lignocellulosic materials with tannins for enhancing antibacterial properties. *Process Biochemistry*, **45**: 1072–1081.
- Yarnell E. (2007).** Plant chemistry in veterinary medicine: Medicinal constituents and their mechanisms of action. In: *Veterinary herbal medicine*, ed. Mosby Elsevier, St Louis, pp : 159-182.
- Yoda Y., Hu Z.Q., Zhao W. H. et Shimamura, T. (2004).** Different susceptibilities of *Staphylococcus* and Gram-negative rods to epigallocatechin gallate. *J Infect Chemother*, **10**: 55-58.
- Yu H., Zhang L., Li L., Zheng C., Guo L., Li W., Sun P. et Qin L. (2010).** Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. *Microbiological Research*, **165**: 437-449.
- Yunusove S.Y. (1966).** Dynamics of accumulation, Formation of alkaloids and their role in plants. *Nuk. Uz. SSR. (2)*, p: 104-106.
- Zenk M.H., Juenger M. (2007).** Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry Review*, **68**: 2757 – 2772.
- Zhang J. D., Xu Z., Cao Y. B., Chen H. S., Yan L., An M.M., Gao P.H., Wang Y., Jia X.M. et Jiang Y.Y. (2006).** Antifungal activities and action mechanisms of compounds from *Tribulus terrestris* L. *Journal of Ethnopharmacology*, **103**: 76-84.
- Zhang J., Shen Q., Lu J.C., Li J.-Y., Liu W.Y., Yang J.J., Li J. et Xiao K. (2010).** Phenolic compounds from the leaves of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Ijinskaja and their inhibitory activity against PTP1B. *Food Chemistry*, **119**: 1491-1496.

-Zhang Y.M. et Rock C.O. (2004). Evaluation of epigallocatechin gallate and related plant polyphenols as inhibitors of the FabG and FabI reductases of bacterial type II fatty-acid synthase. *The Journal of Biological Chemistry*, **279** (30): 30994-310.

-Ziegler J. et Facchini P.J. (2008). Alkaloid Biosynthesis : Metabolism and Trafficking. *Annu Rev Plant Biol.*, **59**: 735 – 769.