



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2021

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

Ouazzi Sabrina & Hadjou Matia

Thème

Recherche d'effet synergique entre les huiles essentielles extraits d'une plante
médicinale et les antibiotiques sur les souches bactériennes.

Soutenu le: 12/07/2021

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

MELOUK Salima

MAA

Univ. de Bouira

Président

SAIT-DIB Sabrina

MCB

Univ. de Bouira

Promotrice

YOUSFI Massilia

MAB

Univ. de Bouira

Examinatrice

BOUDEHANE Rima

Univ. de Bouira

Invitée

Année Universitaire : 2020/2021

Remerciements

D'abord, nous remercions « ALLAH » le tout puissant pour nous avoir donné le courage et la patience et la force nécessaire de mener au terme ce travail.

*Nous tenons à remercier sincèrement Madame **SAIT-DIB Sabrina** pour son aide et orientation ses encouragements, sa patience, sa confiance et surtout pour les conseils qu'elle nous a prodigué tout au long de notre projet de fin d'étude.*

Nous tenons également à remercier tous les membres de notre jury d'avoir acceptés d'évaluer notre travail :

A qui nous a fait l'honneur de présider notre jury.

A Madame Yousfi d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Un remerciement spécial s'adresse à tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre de l'université Akli Mohand Oulhadj -Bouira.

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

Dédicace

Je dédie ce modeste travail ce modeste travail, fruit de mes études

A

Mes chers et adorables parents qui ma toujours fort encouragé et aide

Dans la

*Recherche du savoir durant tout mon parcours avec beaucoup de tendresse de
dévouement de*

Gentillesse d'amour, et leurs affections et qui ont toujours éclairé mon chemins.

Mon unique frère Yacine, Pour tous les sacrifices que vous avez consentis

Pour moi durant mes longues années d'études, vous trouverez

*Dans ce travail un modeste témoignage de mon amour et toute ma gratitude, de
mon Affection la plus sincère et de mon attachement le plus profond. Je vous
souhaite une Belle vie*

*A tout mes sœurs Hakima, Samira, Zahra, Lila, Karima et en particulier ma grande
sœur Nassima et son marie Omar pour leurs encouragements et leur aide.*

A ceux avec qui j'ai partagé les meilleurs moments de ma vie, à vous mes amis :

Nacera, Ghania, cylvia, Hanane, Dyhia, Wassilia (je vous aime)

A ma chère binôme Matia et sa famille

A tout la promotion Microbiologie appliquée 2020/2021

Ouazzi Sabrina.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui sont chers à mon égard :

À la mémoire de mon très cher père que j'espère que dieu l'accueil dans son vaste paradis.

À celle qui m'a appris le sens de la patience et celle qui n'a jamais cessé de donner l'aide à chaque fois que j'en ai besoin, ma chère mère.

À mon très cher fiancé Slimane (mon porte bonheur) qui m'a encouragé et qui m'a aidé et eu toujours à mes cotés et qui m'a souhaité du succès.

À mon frère Tarik et sa femme Fahima ; mon frère Samir et sa femme Hayat et mon frère Mourad.

À ma grande sœur Linda (ma sœur idéal) et son mari Malek et ma sœur Dyhia avec ses petits bébés Ziad et Mahdi.

À ma belle-mère Saliha et mon beau-père Madjid, mes belles-sœurs (Linda, Siham, Aziza et Assia), mon beau-frère Anis.

À ma très chère binôme Ouazzi Sabrina que je la souhaite beaucoup de réussite dans sa vie.

À mes chères tantes Souraya (ma 2 ème mère) et Naima (ma douce tante) et ma grande mère (que dieu la garde pour nous).

À tous mes chers amis que j'aime en particulier Sarah, Wissam, Zahra, Ahlam, Fairouz, Sara, Widad.

Hadjou Matia.....

Liste des abréviations

ATB : Antibiotique

CTX30 : Céfotaxime

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

HE : Huile essentielle

MH : Muller-Hinton

SM : Solution mère

VAN : Vancomycine

Liste des figures

Figure 1. Principales cibles de l'action antibactérienne.....	4
Figure 2. Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne.....	11
Figure 3. La méthode d'aromatogramme.....	12
Figure 4. Illustration de la méthode de micro atmosphère.....	13
Figure 5. Aspects morphologiques de <i>Thymus</i>	18
Figure 6. <i>Thymus lanceolatus</i> Desf.....	23
Figure 7. Situation géographique du lieu de récolte de l'échantillon de <i>Thymus lanceolatus</i> Desf.....	23
Figure 8. Le dispositif d'extraction.....	24
Figure 9. Méthode des disques.....	26
Figure 10. Photographie des témoins négatifs réalisé avec le DMSO	31
Figure 11. Photographie des témoins positifs des souches testées vis-à-vis des antibiotiques utilisés : vancomycine (VAN), Céfotaxime (CTX 30).....	33
Figure 12. Photographie des résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle pure de <i>Thymus lanceolatus</i> sur les quatre souches étudiées.....	34
Figure 13. Photographies des tests de sensibilités des souches bactériennes vis-à-vis de l'huile essentielle de <i>Thymus lanceolatus</i>	36
Figure 14 : Evolution des diamètres d'inhibition en fonction des concentrations en HE.....	38
Figure 15. Photographie des tests synergique de l'huile essentiel de <i>Thymus lanceolatus</i> avec les ATB (CTX-30 et VAN) , vis-à-vis les quatre souche étudiées.....	40

Liste des tableaux

Tableau I : Les méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	09
Tableau II : Localisation des différentes espèces principales de thym en Algérie.....	17
Tableau III : Les principaux constituants des huiles essentielles de diverses espèces de <i>Thymus</i>	21
Tableau IV : Les rendements de l'huile essentiel de <i>T. lanceolatus</i> dans les différentes extractions.....	30
Tableau V : Tableaux récapitulatifs des zones d'inhibition des témoins positifs (en mm).....	32
Tableau VI : Résultats des diamètres d'inhibition en mm de l'activité antibactérienne de le H.E pure sur les quatre souches étudiées.....	35
Tableau VII : Résultats des diamètres d'inhibition en mm de l'activité antibactérienne de le H.E vis-à-vis les quatre souches étudiées.....	37
Tableau VIII : Comparaison des résultats de l'activité antibactérienne de l'HE étudiée avec d'autres études.....	39
Tableau IX : Résultats des zones d'inhibition des tests synergique de l'huile essentiel de <i>Thymus lanceolatus</i> avec les ATB (CTX-30 et VAN), vis-à-vis les quatre souches étudiées.....	41

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Antibiotiques et plantes médicinales

I. Antibiotiques et plantes médicinales3

I.1. Les antibiotiques.....3

I.1.1. Définition et conditions d'action des antibiotiques3

I.1.2. Mécanisme d'action des antibiotiques3

I.1.3. L'antibiorésistance.....4

I.2. Les plantes médicinales4

I.2.1. La phytothérapie.....5

I.2.2. Qu'est-ce qu'une plante médicinale ?.....5

I.2.3. Pouvoir d'une plante médicinale.....6

I.3. Les huiles essentielles6

I.3.1. Définition.....6

I.3.2. Répartition et lieu de synthèse.....7

I.3.3. La composition chimique des huiles essentielles7

I.3.4. Utilisation des huiles essentielles8

I.3.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles9

I.3.6. Activité antimicrobienne des huiles essentielles.....10

I.3.7. Méthodes de détermination d'activité des huiles essentielles11

Chapitre II: Monographie de la plante étudiée genre Thymus

II. Monographie de la plante étudiée genre Thymus14

II.1. Présentation des Lamiaceae.....14

II.2. Genre Thymus(Thym).....15

II.2.1. Histoire et traditions.....15

II.2.2. Etymologie et noms vernaculaires16

II.2.3. Habitat et écologie.....16

II.2.4. Répartition géographique.....	17
II.2.5. Description botanique.....	17
II.2.6. Classification.....	19
II.2.7. Composition chimique.....	19
II.2.8. Vertus et activités biologiques de ses huiles essentielles du thym.....	21
II.2.9. Effet synergique entre les huiles essentielles et les antibiotiques	21

Partie pratique

Chapitre III : Matériels et méthodes

III. Matériels et méthodes.....	23
III.1. Matériel végétal.....	23
III.2. Préparation des échantillons.....	24
III.2.1. Lavage et Séchage.....	24
III.2.2. Extraction des huiles essentielles.....	24
III.3. Etude de l'activité antibactérienne.....	25
III.3.1. Les souches bactériennes.....	25
III.3.2. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Thymus lanceolatus</i> en milieu solide.....	27
III.3.3. Etude de l'association d'huile essentielle et l'antibiotique par la méthode des disques.....	28
III.4. Etude statistique.....	28

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV. Résultats et discussions.....	28
IV.1. Rendement en huile essentielle.....	28
IV.2. Etude de l'activité antibactérienne.....	30
IV.2.1. Antibiogramme.....	31
IV.2.2. Témoins négatifs réalisés avec le DMSO.....	33
IV.2.3. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Thymus lanceolatus</i> sur les quatre souches étudiées.....	33
IV.3. Effet de l'association de l'huile essentielle de <i>Thymus lanceolatus</i> avec les deux antibiotiques sur les quatre souches étudiées.....	40
IV.3.1. Activité antibactérienne de l'association antibiotique et huile essentielle.....	42

VI.4. Discussion générale sue l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du thym...43

Conclusion.....45

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

INTRODUCTION

Introduction

Les bactéries sont des micro-organismes ubiquitaires présents dans la vie courante (**Fan et al., 2019**), dans lesquels on peut les rencontrer notamment dans les sols, les eaux douces, marines ou saumâtres, dans l'air, la croûte terrestre, les aliments souillés, sur la peau et à l'intérieur de l'intestin des animaux etc. (**Faugier, 2010**). Il a été évalué que la totalité des colonies bactériennes présentes sur terre comprend entre 10^7 et 10^9 espèces bactériennes, dont les espèces pathogènes pour l'homme sont au nombre de 500 à 1000 qui sont responsables de plusieurs maladies appelées infections bactériennes et qui atteignent tous les individus, quel que soit leur âge (**Goarant, 2010**).

Les antibiotiques, depuis leur découverte au début du 20^e siècle, font de grands progrès en matière de thérapeutique et ont contribué au développement de la médecine moderne. En effet, l'introduction et l'utilisation clinique des premières classes d'antibiotiques ont considérablement diminué la mortalité liée à des maladies auparavant incurables. La capacité de l'antibiothérapie à contrôler et à limiter la propagation des agents pathogènes a conduit à la création des pathogènes a fait naître l'espoir de pouvoir éradiquer toutes les maladies infectieuses. Cependant, le développement de résistances bactériennes aux antibiotiques a mis un terme à cette vague d'optimisme.

Afin de se protéger de l'action des antibiotiques, les bactéries ont ainsi développé différentes stratégies conduisant à une décroissance de la concentration intracellulaire des médicaments et donc à l'inefficacité de ces derniers.

Face à ces problématiques, les chercheurs se sont dirigés vers la recherche de nouvelles solutions, en particulier les médicaments dits doux, reposant sur les caractéristiques des plantes médicinales en général et les plantes aromatiques en particulier, qui représentent un véritable argument thérapeutique et une source d'agents antimicrobiens très efficaces grâce à leur richesse en métabolites secondaires (alcaloïdes, composés phénoliques, huiles essentielles, etc.) et sans apparition de résistance à long terme (**Haddouchi et Benmansour, 2008; Girard, 2010**). La mise en œuvre des huiles essentielles dans la médecine traditionnelle a permis de donner naissance à une nouvelle thérapie appelée "aromathérapie" qui consiste à utiliser l'essence ou l'échantillon aromatique végétal pour soigner, calmer ou prévenir les maladies, les infections et les difficultés respiratoires (**Lahlou, 2004; Alexopoulos et al., 2011**).

Un grand nombre d'études, principalement in vitro, se sont concentrées sur l'association d'antibiotiques et d'huiles essentielles pour surmonter les problèmes de résistance et d'effets secondaires associés aux médicaments. Ces recherches révèlent une synergie intéressante entre les antibiotiques et les huiles essentielles étudiés (**Rosato et al., 2010; Zafar et al., 2010**).

Nous nous sommes proposé dans ce travail d'étudier l'effet antibactérien et l'effet d'association des antibiotiques et l'huile essentielles de *Thymus lanceolatus* qui est l'une des plantes les plus connues sur le littoral méditerranéen, sur les quatre souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus fecalis*).

Notre travail est divisé en trois principale partie : La première partie de ce document est consacrée à une synthèse bibliographique, dans laquelle sont abordés des généralités sur les antibiotiques et les plantes médicinales, des généralités sur la morphologie de la plante étudier genre *Thymus*, La seconde partie du manuscrit est consacrée à la partie expérimentale, à savoir:

- Extraction des huiles essentielles.
 - Evaluation de l'activité antibactérienne sur milieu solide.
 - Etude de l'effet synergique entre l'huile essentielle et les antibiotiques.
- Enfin la troisième partie présente les résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I

Antibiotiques et plantes médicinales

I. Antibiotiques et plantes médicinales

Les antibiotiques ont constitué une découverte thérapeutique importante pour la santé humaine. Leur utilisation a permis de diminuer le taux de mortalité et de morbidité mondiale depuis longtemps (**Bouyahya et al., 2017**).

Cependant, le mauvais usage de ces agents antimicrobiens, leur utilisation accrue, la flexibilité et plasticité génétique des souches microbiennes ont eu pour conséquence de mettre en place un programme de résistance spécifique et faire apparaître certaines formes de résistances contrebalançant l'action des antibiotiques (**Bouyahya et al., 2017**).

Face à ce problème, la recherche et le développement de molécules alternatives efficaces contre ces microorganismes ont été orienté vers la phytothérapie et incitent de plus en plus à mettre des combinaisons entre les molécules bioactives des plantes médicinales et aromatiques et les antibiotiques.

I.1. Les antibiotiques

I.1.1. Définition et conditions d'action des antibiotiques

Sur base de l'étymologie du mot « antibiotique » (du grec *anti* : contre, *biotikos* : concernant la vie), et selon la définition proposée par **Turpin et Velu**, on définit un composé de ce type comme toute substance chimique, élaborée par un microorganisme ou produit par synthèse, dont l'activité se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des microorganismes (**Yves & Michel, 2009**).

Pour agir efficacement, l'antibiotique doit interagir avec l'organisme d'une part et avec la bactérie d'autre part. Il doit donc remplir certaines conditions à savoir :

- Avoir une cible ;
- Atteindre la cible ;
- Interagir efficacement avec la cible.

I.1.2. Mécanisme d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent sur les bactéries de diverses manières (figure01). À l'échelon moléculaire, ils agissent par toxicité sélective au niveau de :

- La synthèse de la paroi bactérienne ;
- La membrane cytoplasmique ;
- La synthèse des protéines ;
- Des acides nucléiques.

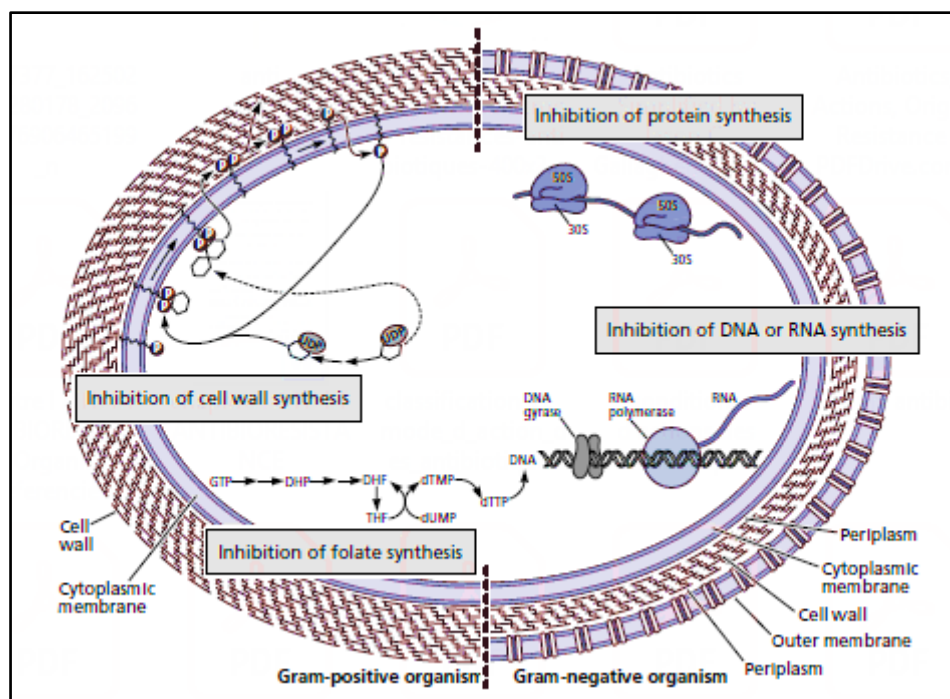


Figure 01: Principales cibles de l'action antibactérienne.

I.1.3. L'antibiorésistance

Depuis l'avènement de l'antibiothérapie, l'utilisation des antibiotiques semble s'accompagner inexorablement de l'émergence de bactéries résistantes (**Cattoir, 2004**).

Une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place (**Muylaert & Mainil, 2012**).

La résistance bactérienne aux antibiotiques aurait deux origines essentielles, naturelle et acquise. La première est programmée au niveau du pool génomique alors que la seconde est développée en fonction des conditions métaboliques (**Bouyahya et al., 2017**).

L'antibiorésistance peut être soit :

- Le résultat de mutations spontanées avec activation ou modification de déterminants chromosomiques déjà présents dans le génome bactérien.
- La conséquence de l'acquisition de gènes situés sur des éléments génétiques mobiles (**Cattoir, 2004**).

I.2. Les plantes médicinales

Les plantes s'imposent sur la planète par leur aspect, leur exubérance et leur mystère. Depuis les temps les plus reculés l'homme a cherché un moyen d'assouvir sa faim. Il a trouvé chez les végétaux des aliments nourrissants, mais aussi des remèdes à ses maux et il a appris à ses dépens à discerner les plantes toxiques. Ces connaissances, transmises d'abord oralement,

l'ont ensuite été dans les écrits et il subsiste des traces de l'emploi des plantes comme médicaments par les anciens dans les plus vieilles civilisations (**Chabrier, 2010**).

La phytothérapie, le soin par les plantes, est considérée aujourd'hui comme une excellente alternative à la pharmacie chimique. Cette alternative n'est pas récente. Elle existe depuis des centaines d'années pour ne pas dire des millénaires et refont surface au cours des dernières années (**Jorite, 2015**).

I.2.1. La phytothérapie

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques: « *phuton* » et « *therapeia* » qui signifient respectivement « plante » et « traitement », C'est une science à la fois ancestrale et moderne c'est-à-dire : elle exploite des savoirs transmis oralement de génération en génération à certaines catégories d'individus initiés.

C'est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe (**Sanogo, 2006; Csupor, 2015**).

I.2.2. Qu'est-ce qu'une plante médicinale ?

Dans le monde, les plantes ont toujours été utilisées comme médicaments. Ces dernières, constituent des ressources précieuses pour la grande majorité des populations rurales en Afrique, où plus de 80% de cette population s'en sert pour assurer les soins de santé (**Tahri et al., 2012**).

En Algérie, les plantes médicinales occupent une place importante dans la médecine traditionnelle et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. En effet, L'Algérie est l'un des pays méditerranéens qui ont une longue tradition médicale et un savoir-faire traditionnel à base de plantes médicinales, d'ailleurs, il existe plus de 3000 sortes de plantes, dont plus de 300 sont utilisées en médecine traditionnelle ou moderne (**Belaidi et Hellal, 1996**).

Selon la liste de la flore du parc national de Taza de 2011, 403 plantes ont été identifiées à Jijel, et près de 164 plantes médicinales ont été identifiées à Bejaia (**Laouer, 2004**).

Une plante médicinale est une drogue végétale possédant des propriétés médicamenteuses bénéfiques pour la santé humaine et dont au moins une de ses parties (tige, feuille ou racine) possède des vertus curatives (**Lesley, 2005**). Son action provient de ses composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanogo, 2006**).

Toutefois cette plante peut être toxique selon son dosage comme *Paracelse* dit dans sa citation célèbre : « *Tout est poison et rien n'est sans poison, c'est la dose qui fait le poison* ».

I.2.3. Pouvoir d'une plante médicinale

A. Métabolites secondaires

Les composés naturels peuvent être divisés en trois grandes catégories :

1. **Catégorie 01** : englobe les composés, métabolites primaires, qui se produisent dans toutes les cellules et jouent un rôle central dans le métabolisme et la reproduction de ces cellules.
2. **Catégorie 02** : englobe les polymères de haut poids moléculaire tels que la cellulose.
3. **Catégorie 03** : englobe les composés qui sont caractéristiques d'une gamme limitée d'espèces, les métabolites secondaires. Ces métabolites, ont souvent attiré des intérêts en raison de leur effet biologique sur d'autres organismes (**Hanson, 2003**).

Les métabolites secondaires, sont des produits phytochimiques souvent complexe, très dispersés et très différents selon les espèces. Ils pourraient jouer un rôle dans la défense contre les herbivores, et dans les relations entre les plantes et leur environnement (**Hanson, 2003**).

À première vue, les structures de ces métabolites peuvent sembler extrêmement diverses. Cependant, la majorité de ces composés appartiennent à l'une des nombreuses familles dont chacune présente des caractéristiques structurelles particulières résultant de la manière dont ils sont construits dans la nature et de leur biosynthèse (**Hanson, 2003**).

B. Principes actifs

Les principes actifs font partie des métabolites secondaires. Ce sont des substances chimiques se trouvant dans une plante médicinale agissant directement sur l'organisme, de façon isolée ou en association pour un intérêt thérapeutique curatif ou préventif (**Iserin, 2001**). Ces substances actives sont issues de plantes fraîches ou desséchées, se trouvant souvent dans la racine, parfois dans les fleurs, feuilles ou dans l'écorce (**Iserin, 2001**). Les différents groupes des principes actifs sont les polyphénols, flavonoïdes, tanins, saponines, alcaloïdes et les huiles essentielles. Leur recherche est d'une importance capitale car elle permet la mise au point de médicaments essentiels.

I.3. Les huiles essentielles

I.3.1. Définition

On définit les huiles essentielles (**HE**) encore « essences » ou « essences aromatiques végétales » comme étant des extraits volatils, odorants et de consistance huileuse, tirés de certaines plantes par la distillation à la vapeur, le pressage ou l'incision des plantes qui les composent. Elles apparaissent dans un grand nombre de plantes en tant que sous-produits du

métabolisme secondaire((Bruneton, 1999;Lardry et Haberkorn, 2007; Bakkali *et al.*, 2008).

Les HE ont ainsi des propriétés et des modes d'utilisation et elles ont fait naître une nouvelle branche de la phytothérapie : l'aromathérapie (Bruneton, 1999; Bakkali *et al.*, 2008). Elles sont distribuées dans un nombre limité de familles, à savoir : Apiaceae, Lamiaceae, Apiaceae, Poaceae, Rutaceae, Lauraceae, Fabaceae, Cupressaceae, Myrtaceae, Zingiberaceae et Pinaceae (Bruneton, 1999; Paul, 2006).

I.3.2. Répartition et lieu de synthèse

Les HE sont fabriquées à partir des sucres issus de la photosynthèse, par des cellules spécialisées (ou sécrétrices) situées le plus souvent dans les fleurs et les feuilles mais aussi dans le bois ou encore la racine du végétal considéré. Il est possible ainsi que plusieurs types de tissus sécrétoires coexistent au sein d'une même espèce, voire dans un même organe (Bruneton, 1999 ; Lardry et Haberkorn, 2007).

Ces essences peuvent être stockées dans différents organes :sève (encens, myrte), feuilles (citronnelle, eucalyptus), écorce (cannelle), bois (bois de rose, bois de santal), racines (vétiver), rhizomes (acore, gingembre), fleurs (origan), bourgeons (pin), fruits (anis étoilé) ou graines (carvi)(Bruneton, 1999).Cependant, les caractéristiques chimiques peuvent être variables d'un organe à l'autre (Foudil-Cherif, 2005).

La diversité des structures anatomiques spécifiquement spécialisées dans la sécrétion des HE est très importante : cellules sécrétoires isolées (Lauraceae, Magnoliaceae et Piperaceae), poches sécrétoires (Myrtaceae), canaux sécrétoires (Conifères et Apiaceae), poils sécrétoires (Lamiaceae et Asteraceae) (Belaiche, 1979; Paris et Hurabielle, 1981; Bruneton, 1999; Ghestem *et al.*, 2001).

I.3.3. La composition chimique des huiles essentielles

La teneur des plantes en huiles essentielles est généralement faible, de l'ordre de 1% à 1*o à l'exception de la Badiane de Chine et le clou de girofle où la teneur en essence est supérieure à 5% et 1 5% respectivement (Guignad, 2000).

Comme n'importe quelle substance, les HE ont une composition chimique très variable. Les composants isolés sont au nombre de plusieurs milliers et il en reste encore beaucoup à découvrir. Ces constituants adhèrent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpenoïdes (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, nettement moins répandus. Ils peuvent également contenir divers produits du processus de dégradation impliquant des constituants non volatils (Bruneton, 1999).

Chaque **HE** se compose de plusieurs éléments biochimiques parfois très nombreux, qui, tous ensemble, déterminent ses propriétés thérapeutiques. Il s'agit de liaisons d'hydrocarbures classées selon leurs caractéristiques en différentes classes comme les monoterpénols, les sesquiterpénols, les monoterpènes, les sesquiterpènes, les esters, les aldéhydes, les oxydes, les phénols, les coumarines, les cétones ou d'autres encore qui n'apparaissent que sous forme de traces. Beaucoup d'**HE** recèlent un constituant chimique majoritaire, sorte de « race chimique », appelé « chémotype », dont l'action est influencée et complétée par des molécules secondaires. La nature du sol, l'altitude, les conditions climatiques, l'ensoleillement et les populations végétales avoisinantes, entraînent des variations dans la composition biochimique de l'essence qui déterminent ces différents chémotypes (**Lardry et Haberkorn, 2007**).

I.3.4. Utilisation des huiles essentielles

« Un parfum produit le même effet qu'un beau morceau de musique ou une caresse empreinte d'amour : il réjouit le cœur et les sens. Il n'y a donc rien d'étonnant à ce que les huiles essentielles connaissent, depuis quelques années, un vif succès surtout si l'on songe que, au-delà du simple plaisir olfactif, elles peuvent exercer une action bienfaisante, voire thérapeutique, aussi bien sur le corps que sur l'esprit » (**Lardry et Haberkorn, 2007**).

Les **HE** doivent être utilisées à très faibles doses, car leurs principes actifs sont hyper concentrés. Elles peuvent être utilisées en :

- Parfumerie ;
- Liquoristerie;
- Esthétique et cosmétique;
- Hygiène (désinfection des locaux par exemple);
- Cuisine (pour aromatiser certains plats);
- Etenthérapeutique.

En thérapeutique, les **HE** peuvent :

1. Lutter contre les infections et les maladies infectieuses d'origine bactérienne, comme les bactéries endocanaliaires ou la microflore vaginale, et d'origine fongique, comme les dermatophytes, les moisissures allergisantes ou les champignons opportunistes;
2. Permettre d'assainir l'air ambiant ou les systèmes de ventilation et limiter ainsi la propagation des germes microbiens;
3. Etre utilisées comme antiseptiques et désinfectants à large spectre ;
4. Etre ainsi utilisées, pour augmenter la capacité défensive de l'organisme en rééquilibrant la flore intestinale et les fonctions déficientes(**De Billerbeck, 2007**).

I.3.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Le tableau ci-dessous résume les différentes méthodes utilisées pour extraire les huiles essentielles :

Tableau I : les méthodes d'extraction des huiles essentielles.

Techniques conventionnelles		
Hydrodistillation	Méthode consiste à plonger la matière première dans un bain-marie et la porter à ébullition, Les vapeurs se concentrent dans un réfrigérateur et l'HE se sépare de l'hydrolysate. Elle présente des inconvénients liés à l'action de la vapeur à cause de la fragilité de certains organes végétaux.	(Boukhatem et al., 2019)
La distillation par entraînement à la vapeur	Méthode où la masse végétale ne macère pas immédiatement dans l'eau, elle est posée sur un écran percé à travers lequel transite la vapeur d'eau, qui endommage la structure des cellules végétale et dégage des molécules volatiles, qui sont ensuite acheminées vers le refroidisseur, elle entraîne une amélioration de la qualité de l'HE en réduisant au minimum les altérations hydrolytiques.	
Techniques innovantes		
Extraction par solvant volatiles	Technique alternative utilisé pour les organes végétaux dont la concentration en essence faible qui ne sont pas susceptibles d'être extraites par distillation, basé sur la capacité de certains solvants organiques à solubiliser les composants des HEs.	(Belaïche, 1979; Mebarka, 2007)
Extraction par micro-ondes	Technique où les plantes sont chauffé par micro-ondes et placée dans des chambres à pression réduite. Ou les composants volatiles sont transporté par vapeur et récupéré par un processus De condensation, de refroidissement et de décantation.	(Benoali, 2016)

<p>Extraction par fluides supercritiques</p>	<p>Technique avec un avantage de combiné les caractéristiques des gazes et des liquides pendant le processus d'extraction, avec un temps réduit dont tous les processus de dégradation possibles tels que l'oxydation ou l'isomérisation sont minimisés, elle présente un inconvénient ceci la faible polarité du dioxyde de carbone supercritique.</p>	<p>(Piochon, 2008)</p>
---	---	-------------------------------

I.3.6. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Une substance antimicrobienne est un composé synthétique ou naturel, employé dans le but de détruire ou de bloquer le développement des micro-organismes, particulièrement des bactéries (Courvalin *et al.*, 1990). Un grand nombre de plantes aromatiques et leurs essences possèdent une action antimicrobienne susceptible de stopper le développement des microorganismes pathogènes et nuisibles, ce qui améliore considérablement la sécurité alimentaire (Sacchetti *et al.*, 2005; Souza *et al.*, 2006).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est essentiellement associée à la composition chimique, et plus particulièrement à celle des principaux composés volatils. A ce jour, aucune étude ne permet de donner une connaissance nette et exacte du mode d'action de ces huiles essentielles. Des HE Compte tenu en effet de la spécificité de leur composition chimique, tout indique que ce mode d'action est assez complexe et difficile à mettre en évidence d'un point de vue moléculaire. Il est donc très possible que chacun des composants des HE présente un mécanisme d'action qui lui est propre (Guinoiseau, 2010).

Les propriétés des huiles essentielles sont dues aux résidus terpénoïdes et phénylpropanoïdes dont elles sont constituées. Les molécules bioactives ont une action liée à la fois aux propriétés lipophiles du squelette hydrocarboné et aux caractères hydrophiles des groupements fonctionnels. De manière générale, les molécules oxygénées présentent une activité supérieure à celle des molécules hydrocarbonées (Guinoiseau, 2010). Les terpènes de même que les flavonoïdes sont susceptibles de traverser la double couche phospholipidique de la membrane cellulaire bactérienne et de provoquer son éclatement. Ensuite, le contenu cytoplasmique est libéré à l'extérieur de la cellule, entraînant sa destruction (Wendakoon et Sakaguchi, 1995; Tsuchiya, 1996). En outre, on peut observer une désorganisation chimiosmotique et des pertes de potassium intra-cytoplasmique, ainsi que la libération

d'acides nucléiques, d'ATP et de phosphate inorganique (Tsuchiya *et al.*, 1996; Daroui Mokaddem, 2011).

Généralement, le processus d'action des huiles essentielles se fait en trois phases (Figure 02).

1. Une attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, entraînant une hausse de la perméabilité, puis la disparition des composants cellulaires.
2. Une acidification de la cavité cellulaire, qui empêche la synthèse des éléments structuraux et le développement de l'énergie cellulaire.
3. Une destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

I.3.7. Méthodes de détermination d'activité des huiles essentielles

Dans le but de déterminer l'activité antimicrobienne des HE, les biologistes ont élaboré différentes méthodes qui sont basées sur un même principe, celles-ci sont simples, efficaces, reproductibles et peu coûteuses (Klančnik, 2010). Le choix de la méthode utilisée pour mesurer le pouvoir antimicrobien des HE influence fortement les résultats. Dans la pratique, certaines complications découlent de l'insolubilité des composants des HE dans l'eau, de leur instabilité et du besoin de les analyser à des concentrations faibles (Rhayour, 2002).

Actuellement, on peut prouver l'activité antimicrobienne *in vitro* d'une substance au moyen d'un vaste éventail de techniques classiques, tant en milieu solide que liquide (Rhayour, 2002).

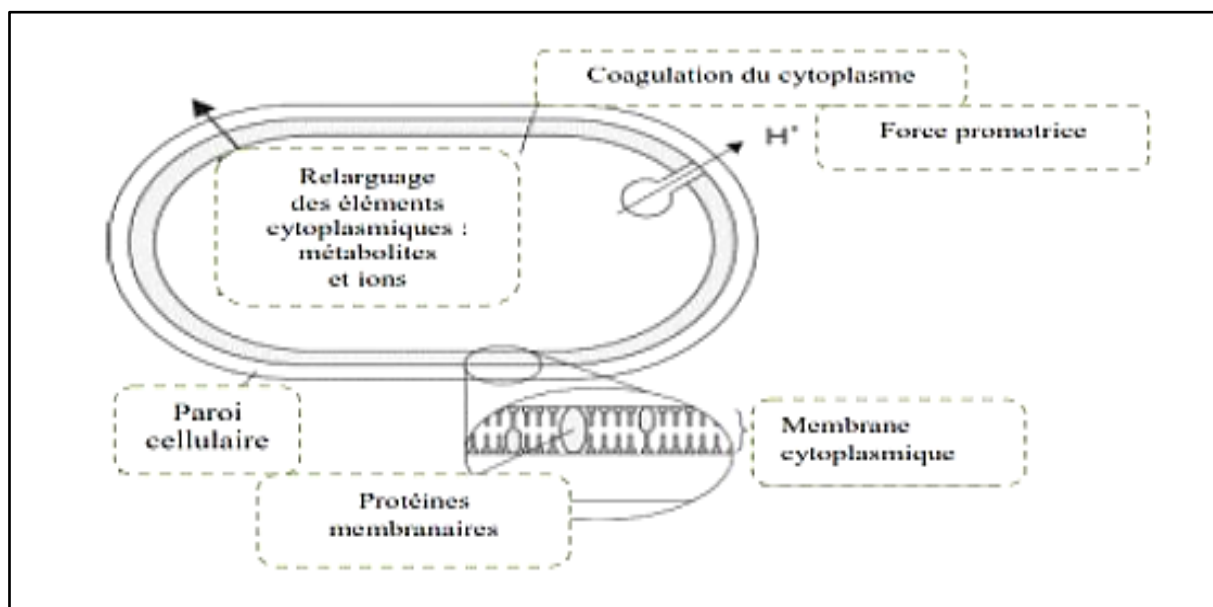


Figure 02 : Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne (Burt, 2004).

A. Méthode de diffusion dans l'agar ou aromatoگرامme

La méthode d'aromatoگرامme est une technique utilisée en bactériologie médicale, dite antibiogramme ou bien méthode de diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Elle permet de mettre en œuvre des disques de papier imbibés d'une quantité variable de l'huile essentielle sélectionnée. Ces disques sont disposés à la surface d'une boîte de gélose précédemment inoculée avec une suspension de la bactérie à étudier (Fauchère et Avril, 2002).

A la fin de l'incubation, et en absence de croissance bactérienne on obtient un halo transparent autour du disque nommé zone d'inhibition et son diamètre est exprimé en centimètres ou en millimètres(Figure 03)(Fauchère et Avril, 2002).

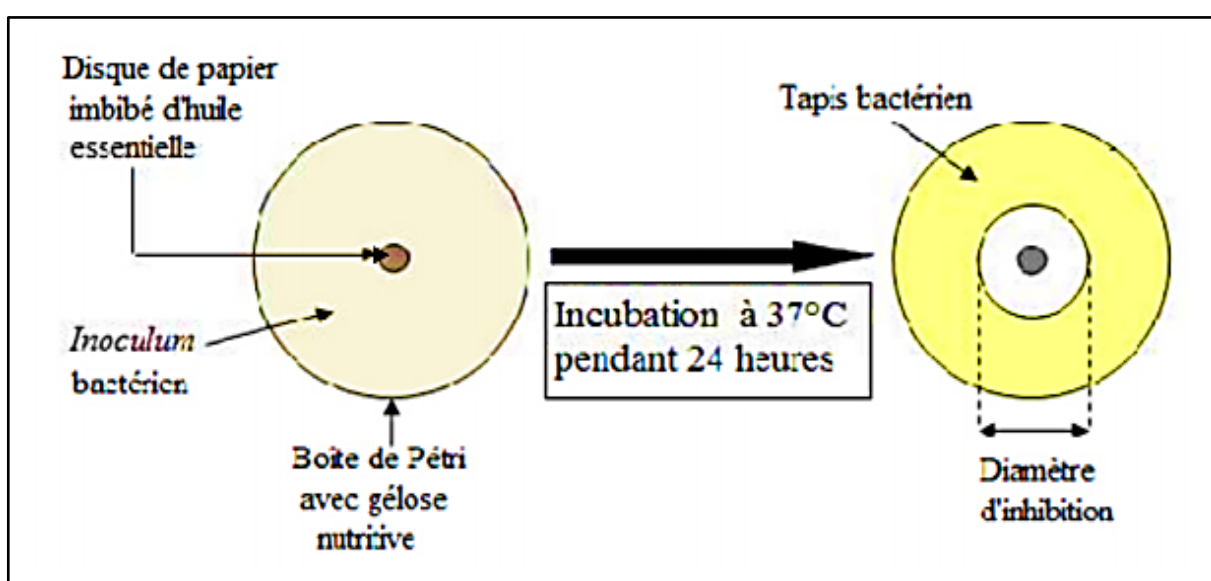


Figure 03 : La méthode d'aromatoگرامme(Zaibet, 2016).

B. Méthode de diffusion en puits

Ce procédé consiste à réaliser un trou circulaire vertical au niveau de la gélose et à y introduire une solution d'EH de concentration connue. L'EH qui se diffuse de manière radiale a permis de créer une zone circulaire d'inhibition à la surface de la gélose précédemmentensemencée avec la suspension bactérienne (Dorman et Deans, 2000).

C. Méthode de micro-atmosphères

En effet, dans cette technique, la culture du germe à tester est réalisée sur une gélose adéquate et ensuite on dépose une imprégnée d'une quantité donnée d'HE au centre géométrique du couvercle de la boîte de Pétri et non plus en contact avec la gélose (Labiod, 2016), la boîte de Pétri est refermée tout de suite et posé à l'envers (Zaibet, 2016), après incubation l'HE se volatilise dans l'atmosphère de la plaque et le bilan est donné par la

prolifération ou non de l'inoculum et puis mesuré par un pied à coulisse (Figure 04) (Labioud , 2016).

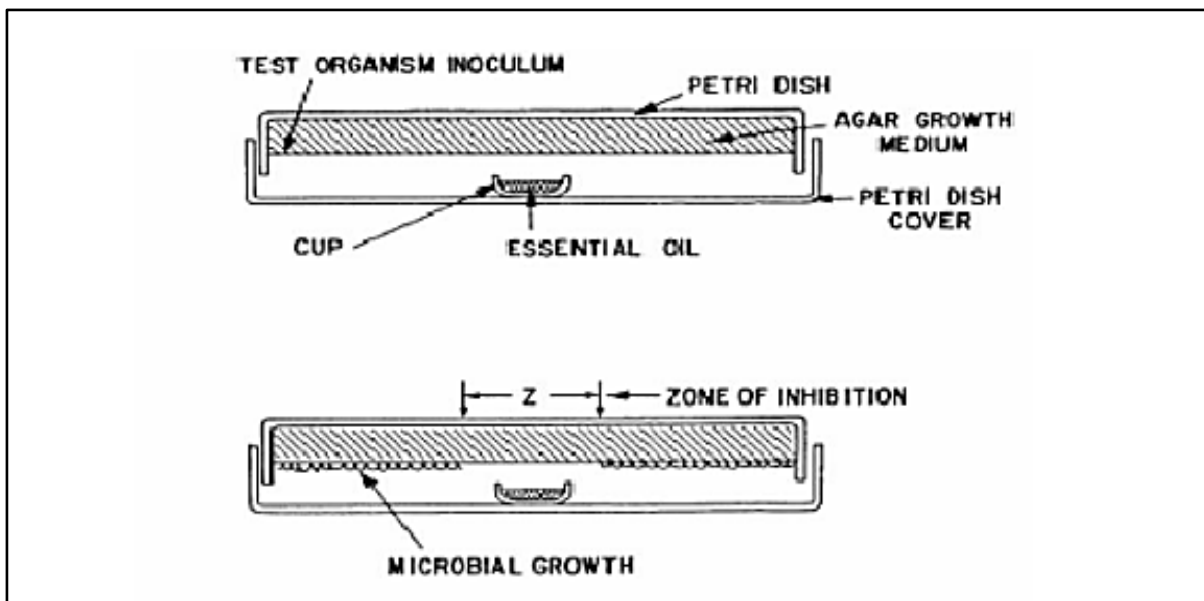


Figure 04 : Illustration de la méthode de micro atmosphère (Zaika, 1988).

Chapitre II

Monographie de la plante
étudiée genre Thymus

II. Monographie de la plante étudiée genre *Thymus*

Par sa position géographique et son contexte orographique et géologique, l'Algérie est caractérisé par une diversité climatique et lithologique. Cette diversité écologique a abouti à une très grande diversité floristique et à un taux élevé d'endémisme (**Moussa et al., 2020**).

La flore algérienne est caractérisée par de nombreuses espèces végétales, utilisées depuis longtemps comme plantes aromatiques et médicinales. Ces plantes sont utilisées aujourd'hui dans la pharmacopée traditionnelle, dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique, ainsi dans la parfumerie et cosmétique (**Moussa et al., 2020**).

Le mot thym est un nom général pour plus de 300 espèces de *Thymus*, hybrides, variétés et écotypes, toutes étant de petites herbes vivaces originaires d'Europe et d'Asie (**Moussa et al., 2020**).

Le genre *Thymus* (Lamiaceae) est un groupe taxinomiquement complexe de plantes aromatiques utilisées depuis longtemps comme épices ou médicaments, et il figure parmi les herbes médicinales les plus utilisées au monde, en partie grâce à ses huiles essentielles (**Moussa et al., 2020**).

II.1. Présentation des Lamiaceae

Connues pour les nombreuses espèces aromatiques facilement reproductibles et largement cultivées, les plantes de la «famille des Lamiaceae» sont considérées d'une grande importance en raison de leur utilisation en médecine traditionnelle, culinaires, en cosmétique, en tant qu'aromatisants et pour la production des huiles essentielles commercialisées à travers le monde, en particulier dans la région méditerranéenne (**Formisano et al., 2014 ; Enache et Neagoie, 2020**).

La famille des Lamiaceae est l'une des principales familles de plantes de l'ordre des Lamiales (**Enache et Neagoie, 2020**). Elle contient de nombreuses plantes médicinales précieuses, et comprend 236 genres et entre 6900 et 7200 espèces (**Karpiński, 2020**). Il existe des espèces de Lamiaceae qui sont des plantes mellifères importantes, des plantes ornementales ou qui ont une signification religieuse (par exemple le basilic) (**Enache et Neagoie, 2020**).

Les Lamiacées sont généralement des plantes herbacées ou arbustives, rarement des arbres ou des vignes, avec des tiges souvent carrées en section transversale et des feuilles opposées sans stipules et des inflorescences verticillées. Les organes reproducteurs et végétatifs aériens sont recouverts de trichomes glandulaires (sécrétoires) (poils) qui produisent de l'huile volatile (**Enache et Neagoie, 2020**).

Cette huile essentielle, est constituée d'un mélange de composés volatils, qui jouent un rôle dans le système de défense des plantes supérieures. Elle peut contenir plus de 300 composés différents, principalement de poids moléculaire inférieur à 300. Parmi les composés actifs de ces **HE**, on trouve diverses classes chimiques, par exemple les alcools, les éthers, les aldéhydes, les cétones, les esters, les phénols, les terpènes (monoterpènes, sesquiterpènes) et les coumarines (**Karpiński, 2020**).

La famille des Lamiacées est très importante dans la flore d'Algérie et elle est divisée taxonomiquement en plusieurs genres dont certains sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (**Quezel et Santa, 1963**).

Selon le botaniste **Quezel et Santa 1963** et selon **Gaussen et al., 1982**, la classification botanique de cette famille est comme suit :

- **Règne :** Plantae
- **Embranchement :** Spermaphytes
- **Sous embranchement :** Angiospermes
- **Classe :** Dicotyledonae
- **Sous-classe :** Asteridac
- **Ordre :** Lamiales
- **Famille :** Lamiaceae

II.2. Genre *Thymus* (Thym)

Élément caractéristique de la flore méditerranéenne, le thym est la célèbre farigoule des garrigues. Connu surtout pour ses qualités aromatiques, il a aussi de très nombreuses propriétés médicinales. Fortifiant et antiseptique, le thym soulage aujourd'hui encore de multiples affections, plus particulièrement les troubles respiratoires (**Iserin, 2001**).

II.2.1. Histoire et traditions

L'utilisation du thym dans la vie humaine date depuis très longtemps; il a été surtout utilisé en médecine et dans les rituels religieux ou magiques, ses rituels culinaires se limitent à aromatiser le fromage et les liqueurs (**Zeghib, 2013**).

Mélangé aux onguents, il a été utilisé par les Égyptiens et les Étrusques pour embaumer leurs morts (**Zeghib, 2013**).

Pensant que cette plante était source de courage, les Grecs en brûlaient devant l'autel de leurs dieux, les places publiques et les riches demeures. En plus des rituels culinaires, ils s'en servaient aussi pour parfumer l'eau des bains (**Zeghib, 2013**).

Le thym est diffusé en Europe par les Romains, qui en faisaient de nombreuses sortes de cosmétiques et s'en servaient pour purifier leurs pièces d'habitation et pour « donner du parfum aux fromages et liqueurs» (Zeghib, 2013).

Ce symbole de courage se perpétue au Moyen Âge, notamment lors des Croisades. Il était placé sous les oreillers (car il favoriserait le sommeil en chassant les cauchemars et la mélancolie) et sur les cercueils, lors des funérailles, car on pensait qu'il facilitait le passage dans l'autre vie (Zeghib, 2013).

Au XVII^{ème} siècle, l'herboriste Nicholas Culpeper recommande le thym pour soigner hémorragies internes, toux et vomissements. À ses yeux, cette plante «soulage et fortifie la tête, l'estomac, les reins « uretères », la matrice, chasse les flatulences et brise les pierres» (Iserin, 2001).

Au siècle suivant, le botaniste suédois Cari von Linné l'utilise pour soulager les maux de tête et la «gueule de bois» (Iserin, 2001).

Dans le langage des fleurs, il est symbole de courage, amour durable, esprit de créativité, dynamisme et résistance physique (Zeghib, 2013).

II.2.2. Etymologie et noms vernaculaires

Thymus provient du grec « thumon » qui signifie « offrande (quel'on brûle) » et « parfum », à cause de l'odeur agréable que la plante dégage naturellement ou lorsqu'on la fait brûler (Zeghib, 2013).

Les espèces du genre *Thymus* possèdent plusieurs nominations. Elle sont connues sous le nom: « Azukni, Tazuknite, Tijrarhyène » en Amazigh, « Ziiitra, zaatar » et encore « djertil, hamria, hamzoucha, khieta et mazouqach » en Arabe, « Thym » en Français et « Thyme » en Anglais (Beloued, 2001 ; Belmalha *et al.*, 2015).

II.2.3. Habitat et écologie

Le thym a besoin d'un climat chaud et sec et de plein soleil pour se développer et libérer son parfum piquant. Il pousse spontanément dans les paysages rocailloux du midi de la France, où il est également appelé farigoule, dans d'autres pays du bassin méditerranéen mais aussi dans les landes, les bruyères et les lieux isolés (Iserin, 2001).

Originaire d'Europe du Sud, il est aujourd'hui cultivé dans le monde entier, par semis ou bouturage au printemps, sur les sols calcaires (Iserin, 2001).

La récolte de ses parties aériennes se fait en été, à la floraison (Iserin, 2001).

II.2.4. Répartition géographique

A. Dans le monde

Le genre *Thymus* est distribué principalement dans les pays méditerranéens, la partie du nord de l'Afrique et le Groenland du Sud (Sunar *et al.*, 2009).

Le thym est réparti entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée et il est très répandue dans le nord-ouest africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye), dans les montagnes d'Ethiopie ainsi que dans la péninsule du Sinaï de l'Egypte. Traversant les zones arides de l'Asie occidentale jusqu'à l'Himalaya, on le trouve en Sibérie et en Europe du Nord (Chikhoun, 2007; Benayach, 2013).

B. En Algérie

Plusieurs auteurs, rapportent que la région de la Méditerranée peut être décrite comme le centre de ce genre (Zeghib, 2013).

Le thym est représenté par plus de 300 espèces à travers le monde dont 12 sont localisées en Algérie et 9 d'entre elles sont endémiques. Ces espèces sont réparties le long du territoire national, du Nord algérois à l'Atlas saharien, et du constantinois à l'oranais (Kabouche *et al.*, 2005).

Le tableau ci-dessous présente les espèces principales de thym en Algérie et leur localisation.

Tableau II : Localisation des différentes espèces principales de thym en Algérie (Mebarki, 2010).

Espèces	Découverte par	Localisation
<i>Thymus capitatus</i>	Hoffman et Link Rare	À Tlemcen
<i>Thymus fontanasii</i>	Bois et Reuter	Une commune dans le Tell Endémique Est Algérie Tunisie
<i>Thymus commutatus</i>	Battandier	Endémique Oran
<i>Thymus numidicus</i>	Poiret	Rare dans la grande et la petite Kabylie

II.2.5. Description botanique

Le thym est un sous arbrisseau touffu à tige dressée, ligneuse, érigées ou prostrées, odorantes (figure 05) (Quezel et Santa, 1963; Soto-Mendivil *et al.*, 2006 et Goetz *et al.*, 2012).

L'inflorescence en faux verticilles, rameuse et tortueuse à la base, peut atteindre 40 cm de hauteur (Quezel et Santa, 1963; Soto-Mendivil *et al.*, 2006; Goetz *et al.*, 2012).

Les rameaux blanchâtre, courtement velus, portent des feuilles plus ou moins contractées, persistantes, de petite taille (3 à 12mm de long sur 0.5 à 3 mm de large), opposées, lancéolées ou linéaire, à limbe entier, et de couleur vert grisâtre. Beaucoup sont le point de départ de remuscles très courtes, formant des faisceaux de petites feuilles issues de celles des tiges, leur face inférieure est feutrées et ponctuées de poiles sécréteurs, alors que leur face supérieure est glabre et marquée par une nervure centrale déprimée. Les marges du limbe sont généralement enroulées sur la face ventrale, ce qui donne à la feuille une forme générale d'aiguille (Quezel et Santa, 1963; Soto-Mendivil *et al.*, 2006; Goetz *et al.*, 2012).

Les fleurs du thym sont regroupées par 2 ou à l'aisselle de feuilles, rassemblées en glomérule ovoïdes, de petite taille et zygomorphe. Le calice est velu, hérissé de poils durs, en forme de tube ventru à la base et de 3 à 4 mm de long, formé de 5 sépales soudées en deux lèvres inégales, celle du haut étant tridentée et celle du bas bilobée, ciliés et arquée. La corolle est de taille variable, bilabée et de couleur mauve (Goetz *et al.*, 2012).

Le fruit est un tetrakène qui renferme à maturité 4 minuscules graines (1mm). Brun clair à foncé. La floraison a lieu de juin à octobre (Goetz *et al.*, 2012).

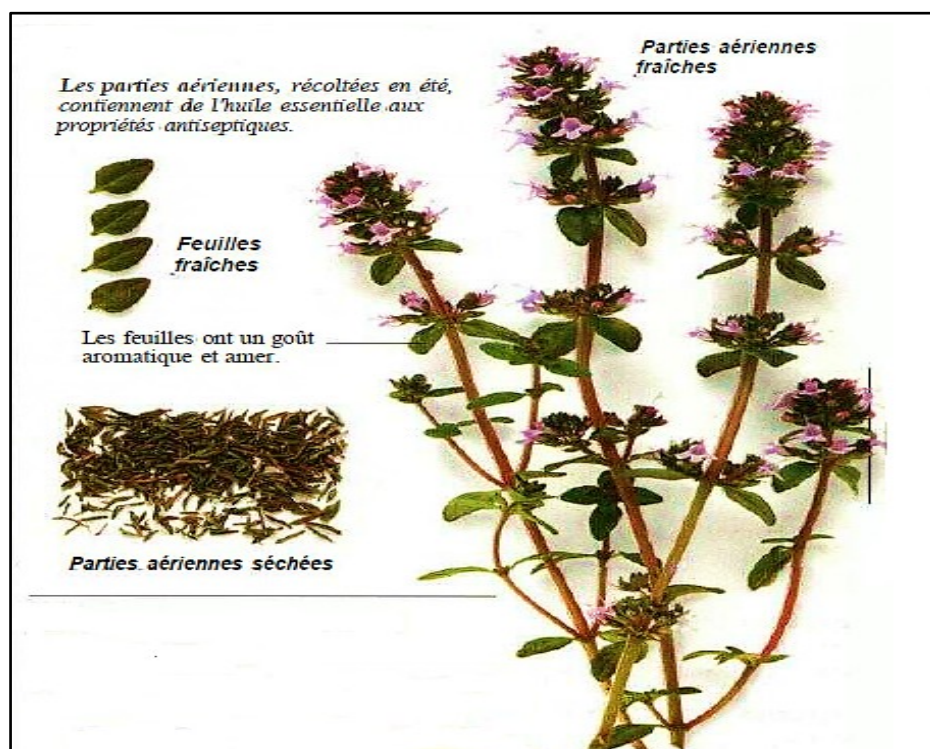


Figure 05 : Aspect morphologiques de *Thymus* (Iserin, 2001).

II.2.6. Classification

Le *Thymus* avec 220 espèces, appartient aux genres les plus abondants de la famille des Lamiacées (Enache et Neagoie, 2020). Il appartient au :

- Règne: Plantae
- Sous-règne: Tracheobionta
- Division: Magnoliophyta
- Classe: Magnoliopsida
- Sous-classe: Asteridae
- Ordre: Lamiales
- Famille: Lamiaceae
- Genre: *Thymus*

II.2.7. Composition chimique

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes des espèces appartenant au genre *Thymus* sont très riche en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, de séchage, de stockage et des méthodes d'études (extraction et détection). L'hybridation facile des espèces mène à une grande variabilité intraspécifique, qui affecte l'homogénéité du rendement d'extrait et donc leur composition en produits chimique (Amiot,2005).

Les principaux constituants du thym sont :

1. Les huiles essentielles aux composants variables (thymol,carvacrol, linalol etc.) ;
2. Flavonoïdes ;
3. Et les acides phénoliques.

A. Les acides phénoliques

Le terme acide phénolique s'applique à tous les composés organiques possédant une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservée aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique (Zeghib, 2013).

Les acides phénoliques ne sont pas seulement connus pour leurs activités antioxydantes, mais aussi pour leur activités anti-inflammatoires et anti-carcinogènes (Zeghib, 2013).

Ces dernières vont dépendre de plusieurs critères, à savoir : le nombre de groupements hydroxyles de la molécule (les composés polyphénoliques ont une activité supérieure aux

composés monophénoliques), la présence ou non d'un méthoxyle sur le cycle, et enfin, les dérivés de l'acide cinnamique présentent une meilleure activité que leurs homologues dérivés de l'acide benzoïque car ils sont dotés de la double liaison (Cuvelier *et al.*, 1992; Terao *et al.*, 1993; Natella *et al.*, 1999).

B. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune, orange ou rouge. Ils contiennent 15 atomes de carbone rangés dans la configuration C6-C3-C6 ; soit deux noyaux aromatiques A et B reliés entre eux par un hétérocycle oxygéné (C) (Erlund, 2004; Balasundram *et al.*, 2006).

Les flavonoïdes ne sont pas seulement des composés capables de piéger les radicaux libres, mais aussi ils présentent des propriétés anti-carcinogènes, œstrogéniques, inhibitrices de certaines enzymes et antimicrobiennes (Zeghib, 2013).

C. Les huiles essentielles

Par définition, une HE est un mélange complexe de constituants hétérogènes qui s'obtient à partir d'une matière première végétale (plante ou arbre aromatique) par entraînement à la vapeur, procédé mécanique ou distillation à sec. Ces constituants appartiennent, de façon exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes, le groupe des terpénoïdes, d'une part, et le groupe des aromatiques et des aliphatiques (alcane, alcène, alcénol, phénol etc...), de l'autre (Couic-Marinier, 2018).

L'essence du thym fait partie des huiles essentielles les plus actives (Mebarki, 2010). Sa composition comprend des phénols, des alcools et des aldéhydes, des esters, des cétones, et quelques dérivés du phénylpropane (Ložienė *et al.*, 1998).

Le thymol et le carvacrol représentent les constituants les plus importants du genre *Thymus* à l'exception de l'espèce *Thymus serpyllum*, qui se caractérise par une absence de ces composés (tableau III) (Ložienė *et al.*, 1998).

Tableau III : Les principaux constituants des huiles essentielles de diverses espèces de *Thymus*.

Espèce	Composés majoritaires	Composition	La référence
<i>Thymus officinalis</i>	Thymol	10 à 64%	(Guinoiseau, 2010)
	Carvacrol	2 à 11%	
	γ -terpinène	2 à 31%	
	p-cymène	10 à 56%	
<i>Thymus herbarbarone</i>	Thymol	50.3 %	(Cosentino et al., 1999)
	p-cymène	27.6 %	
<i>Thymus capitatus</i>	Carvacrol	70.92%	(El Ajjouri, 2008)
	p-cymène	6.34%	
	γ -terpinène	4.92%	

II.2.8. Vertus et activités biologiques de ses huiles essentielles du thym

Les végétaux fabriquent leurs huiles essentielles pour se réparer, attirer les insectes pollinisateurs, se protéger du soleil, du froid, des prédateurs et des maladies, ou encore à guérir les blessures et attaques diverses (Zeghib, 2013).

HE du thym (thymol et/ou carvacrol) est un puissant antioxydant (assure des doses élevées d'acides gras essentiels dans le cerveau), antiseptique, antifongique et décontractant musculaire. Elle a une action expectorante, vermifuge et préventive contre vieillissement.

Les extraits de thym ont un puissant rôle antibactérien contre *Helicobacter pylori*, une bactérie souvent liée aux ulcères de l'estomac (Iserin, 2001).

En outre, les HE du thym contribuent à l'équilibre des écosystèmes, attirent les insectes responsables de la pollinisation « les abeilles » et confèrent à leur miel un arôme particulier (Iserin, 2001).

II.2.9. Effet synergique entre les huiles essentielles et les antibiotiques

Le phénomène de synergique entre les huiles essentielles et les antibiotiques a été observé dans diverses études. Elle correspond à un ensemble d'interactions positives obtenues suite à la combinaison de deux agents, qui entraînent une inhibition plus importante que celle de la somme de leurs effets individuels. De plus, les huiles essentielles sont capables de

sensibiliser à un antibiotique l'agent pathogène auparavant inefficace (**Aiyegoro et Okoh, 2009**).

Ainsi, il est prouvé et confirmé que quelques composés végétaux sont capables d'inhiber de façon efficace les pompes d'efflux participant au fonctionnement des mécanismes de résistance aux antibiotiques. Cette action peut entraîner la récupération de la sensibilité aux antibiotiques et diminuer leurs doses (**Fadli et al., 2012**).

En effet, il est possible d'utiliser la combinaison d'huiles essentielles avec des antibiotiques afin de renforcer le champ d'action antimicrobien (**Fadli et al., 2012**), empêcher la formation de résistances mutantes, réduire la toxicité et diminuer les risques d'effets secondaires des antibiotiques (**Lv et al., 2011**), ce qui permet d'offrir une possibilité d'alternative à la monothérapie pour les patients atteints d'infections invasives difficiles à traiter, telles que celles dues à des espèces multi résistantes. (**Aiyegoro et Okoh, 2009**).

Partie pratique

Chapitre III

Matériel et méthodes

III. Matériel et méthodes

III.1. Matériel végétal

Dans le présent travail, la partie aérienne de *Thymus lanceolatus* Desf issue de la flore Algérienne a fait l'objet de cette étude (figure 06). L'échantillon a été cueilli dans la région Tigejda commune El Asnam wilaya de Bouira, pendant le mois de Mai, leur identification est effectuée en se référant à la flore d'Algérie (Quezel et Santa 1963) par le professeur Sahnoune botaniste à l'Université de Bejaia.



Figure 06: *Thymus lanceolatus* Desf (Khadir et al., 2013).



Figure 7: Situation géographique du lieu de récolte de l'échantillon de *Thymus lanceolatus* Desf.

III.2. Préparation des échantillons

III.2.1. Lavage et Séchage

Après cueillette des parties aériennes de la plante, les grandes tiges ont été éliminées et seules les parties recouvertes de feuilles ont été utilisées après nettoyage. Ces dernières ont été étalées de façon homogène sur la paille du laboratoire à température ambiante en les retournant régulièrement (10 à 15 jours). les parties aériennes sèches ont été conservées dans des sacs en papier dans un endroit sec et à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation. Selon **Ribéreau-Gayon, 1968**, le séchage a une importance majeure pour l'extraction des composés phénoliques, car les cellules végétales contiennent des enzymes susceptibles de provoquer des modifications dans la composition phénoliques de la plante.

Cet inconvénient peut être éliminé par un séchage rapide du matériel végétal, aussitôt après sa récolte. En effet, le séchage assure une bonne conservation du matériel végétal (**Abou elkhair et al., 2010**).

III.2.2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée sur le matériel végétal sec au laboratoire du plateau technique d'analyses physico-chimiques (**Ptaps Bejaia Craps**) à l'université de Bejaia. L'huile essentielle a été extraite par la méthode de l'hydrodistillation, selon le protocole de **Bayder et al (2004)**. 150g de la plante sont introduits dans un ballon de 250 ml imprégné d'eau distillé, puis le tout est porté à ébullition pendant 3 heures.

Les vapeurs gorgées d'HE se condensent en passant dans un réfrigérateur et descendent dans un flacon pour ensuite être transférées dans une ampoule pour décanter.

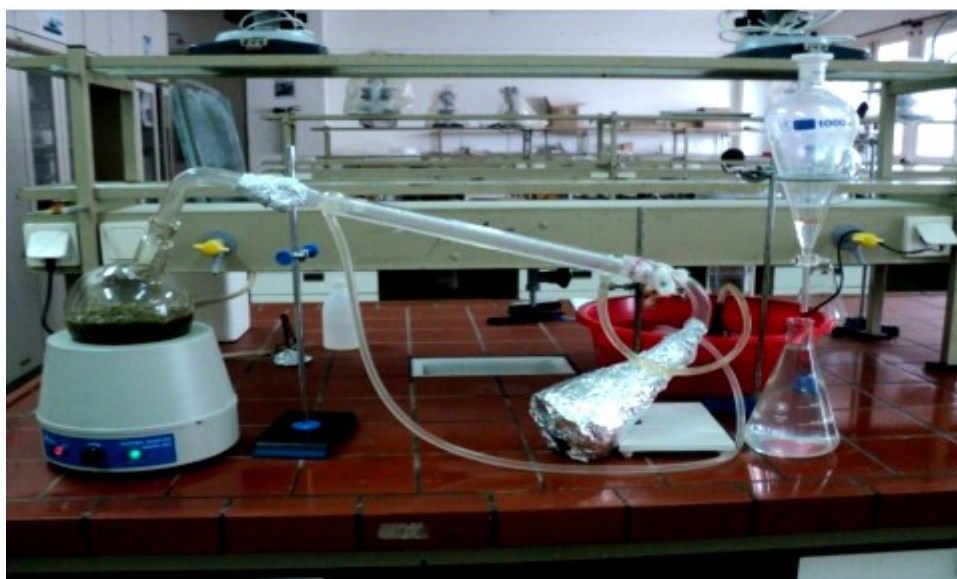


Figure 08 : le dispositif d'extraction

Après avoir laissé reposer le contenu un certain temps on peut distinguer deux phases, l'huile essentielle ; l'huile essentielle moins dense se trouve au-dessus de l'eau aromatique, on peut alors éliminer presque toute l'eau. Il nous reste l'huile essentielle dans l'ampoule à décanter et une petite quantité d'eau qui pourra être éliminée en additionnant du sulfate de sodium anhydride.

Après l'extraction de l'huile essentielle, le rendement est calculé par le rapport entre le poids de l'huile essentielle extraite et le poids du matériel végétal. Ce rapport permet de déterminer la production en HE des plantes.

Le rendement en huile essentielle a été calculé par la formule ci-dessous ; il est exprimé en ml/100 g de matière sèche (%).

$$\text{Rendement (\%)} = \left(\frac{V}{P} \right) \times 100$$

Avec :

Rendement: rendement en huile essentielle (exprimé en volume d'huile essentielle recueillie en ml/100 g de la matière sèche)

V : volume récupéré (ml)

P : Poids de la matière sèche du matériel végétal utilisé (g)

Une fois HE récupérée, elle est conservée à 4C° dans des flacons opaques à l'abri de la lumière et l'humidité pour une utilisation ultérieure.

III.3. Etude de l'activité antibactérienne

III.3.1. Les souches bactériennes

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus lanceolatu* est testée sur quatre souches bactériennes. Les souches utilisées proviennent de la collection de l'institut Pasteur (Alger).

✓ **Bactéries à Gram positif**

Enterococcus faecalis

Staphylococcus aureus ATCC 25923

✓ **Bactéries à Gram négatif**

Escherichia coli ATCC 25922

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

III.3.2. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thymus lanceolatus* en milieu solide

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été testée selon la méthode d'aromatogramme par diffusion sur gélose Mueller Hinton. La gélose Mueller Hinton (M H) (Annexe) a été coulée dans des boîtes de pétri avec épaisseur de 4mm. Les boîtes ont été ensuite séchées à 37°C pendant 20 minutes afin d'éliminer l'excès d'humidité. 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 18 h. cette suspension bactérienne initiale, d'une opacité équivalente à une absorbance de 0,5 à une longueur d'onde de 625 nm, est préparée. Ensuite une série de dilutions décimales est effectuée dans l'eau physiologique stérile (10^{-1} jusqu'à 10^{-8}). Un volume de 0,1 ml de chaque dilution est ensemencé en surface se servant d'un râteau étaleur sur gélose PCA, des dénombrements sont alors effectués après incubation à 37°C pendant 24 heures.

Après ensemencement de la souche à tester, des disques de papier Whatman N°1 ont été disposés à égale distance les uns des autres (6 disques maximum par boîte) sur la gélose M H. Par la suite, 10 μ l de chaque huile essentielle ainsi que les dilutions (1/2, 1/4, 1/8 et 1/16) préparées dans du Dimethyl sulfoxyde (DMSO) ont été déposés sur chaque disque. Les boîtes ont été laissées à 4°C pendant 2h, puis incubées à 37°C pendant 24h (**Belaiche, 1979; Laouer et al., 2003**).

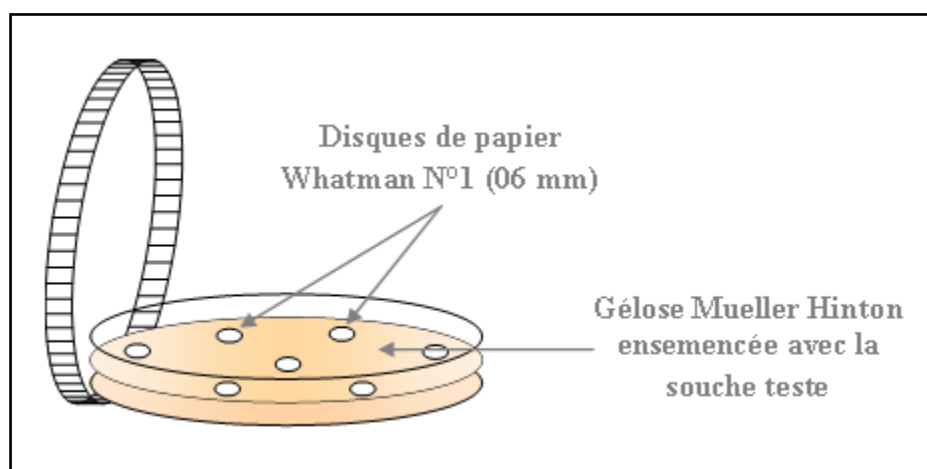


Figure 09: Méthode des disques

Les diamètres des zones d'inhibition autour des disques ont été mesurés. Les essais en triples, et le résultat a été exprimé comme la moyenne des trois essais plus au moins Ecart-type.

III.3.3. Etude de l'association huiles essentielles et antibiotiques par la méthode des disques

Dans cette partie la méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de l'association l'huile essentielle de thymus avec les antibiotiques (HE/ATB) (Annexe) à l'encontre de quatre souches bactériennes (deux Gram positifs et deux Gram négatifs) est celle de diffusion sur milieu solide (**Halawani, 2009**).

Après ensemencement des souches à tester par écouvillonnage sur gélose MH, des disques d'antibiotiques ont été déposés et sur lesquels 10 µl d' HE ont été ajoutés. Après une pré-diffusion à 4°C pendant 2 heures, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures.

Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et le résultat a été exprimé comme la moyenne des trois essais plus au moins Ecart-type.

III.4. Etude statistique

Analyse statistique des résultats effectuée à l'aide de l'application "ANOVA" Utilisez ensuite le logiciel STATISTICA 5.5 pour le test Newman-Keuls. Le degré de signification des résultats sont obtenus avec la probabilité de $p < 0,05$.

Chapitre IV

Résultats et discussion

IV. Résultats et discussion

Chaque année plusieurs antibiotiques sont retirés des pharmacies à cause de leurs effets secondaires, de l'apparition des maladies qui avant étaient rares et de la résistance aux antibiotiques (Karou *et al.*, 2005; Zampini *et al.*, 2005).

Ces situations ont motivé les scientifiques à chercher de nouvelles substances antibactériennes à partir de sources multiples telles que les plantes médicinales et à combiner leur effet avec celui d'antibiotiques.

Cette partie est consacrée aux résultats de l'activité antibactérienne des antibiotiques, de l'huile essentielle du *T. lanceolatus* et de l'effet synergique de ceux-ci sur 4 souches bactériennes responsables de diverses pathologies chez l'homme et connues comme étant des agents d'intoxications alimentaires.

L'activité antibactérienne est déterminée par la technique de diffusion sur gélose Muller-Hinton qui est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les antibiotiques seules, l'huile essentielle seule et les deux à la fois. Les résultats sont exprimés selon trois niveaux d'activité : résistant, intermédiaire et sensible.

Les diamètres des zones d'inhibition obtenus sont interprétés par rapport au diamètre critique rapporté par plusieurs auteurs, qui est de 10mm (Fu *et al.*, 2007).

Une huile essentielle est considéré active lorsque son activité antibactérienne donne un diamètre de zone d'inhibition \geq à 10 mm (Fu *et al.*, 2007).

IV.1.Rendement en huile essentielle

La valorisation des ressources naturelles végétales passe principalement par l'extraction de ses huiles essentielles. Ces produits ont une forte valeur ajoutée et sont utilisés dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agricoles (Amarti *et al.*, 2011).

Le genre *Thymus* englobe de nombreuses espèces et variétés, et la composition chimique ainsi que l'activité biologique des HE de certaines d'entre elles a été étudiée et depuis longtemps (Zeghib, 2013).

L'huile essentielle de *Thymus lanceolatus* obtenue est caractérisée par une couleur jaune verdâtre, une consistance peu visqueuse et une odeur très aromatique avec des rendements d'extraction variables présentés dans le tableau ci-dessous.

Le rendement moyen en huiles essentielles a été calculé par rapport à la matière végétale sèche, et les échantillons du thym ont fourni un taux d'environ $1,152 \pm 0,07\%$

Tableau IV : Les différents rendements de l'huile essentielle de *T. lanceolatus* obtenus.

La plante (g)	L'huile (g)	Rendement (%)
152,000	1,640	1,079
173,000	1,880	1,087
147.000	1,790	1,218
159.000	1,950	1,226
Rendement moyen :		1.152

Dans le tableau ci-dessus, nous avons remarqué :

- 1) Le poids de la matière végétale n'a pas d'effet ni sur la teneur en huile ni sur le rendement de la plante .
- 2) Le rendement moyen en huile essentielle de *T. lanceolatus* est :
 - ❖ Beaucoup plus important que celui obtenu par **Khadir et al., (2013)** à partir de la partie aérienne de *T. lanceolatus* de Tlemcen, qui est de 0.9%
 - ❖ Proche à celui obtenu par **Amarti et al., (2011)** à partir de la partie aérienne de *Thymus zygis* du Maroc, qui est de 1.1%
 - ❖ Très faible par rapport à celui obtenu par **Hadouchi et al., (2009)** à partir des feuilles de *Thymus fontanesii* de la région de Mostaganem, qui est de 2%.

Ces variations peuvent être attribuées aux techniques d'extraction, aux conditions climatiques et édaphiques (facteur écologique lié au sol) ainsi qu'au stade végétatif de la plante (**Moldão et al., 1999**).

IV.2. Etude de l'activité antibactérienne

Afin de déterminer le potentiel, en termes d'activité antibactérienne de l'HE de *T. lanceolatus* et son effet sur les antibiotiques, nous avons commencé, d'abord, par déterminer le profil de sensibilité des 4 souches utilisées par un antibiogramme sur gélose Muller-Hinton. Par la suite, nous avons déterminé l'effet de cette huile sur les bactéries Gram positif et Gram négatif afin d'étudier en dernier lieu son effet synergique ou antagoniste sur l'activité des antibiotiques.

IV.2.1. Antibiogramme

Le spectre de diffusion antibactérien en milieu gélosé est basé sur le principe de compétition entre la croissance bactérienne et la diffusion des antibiotiques en milieu gélose à partir du support papier préimprégné (Denis *et al.*, 2016).

Il est réalisé dans le but de tester la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes vis-à-vis des antibiotiques (témoin positif) (figure 10).

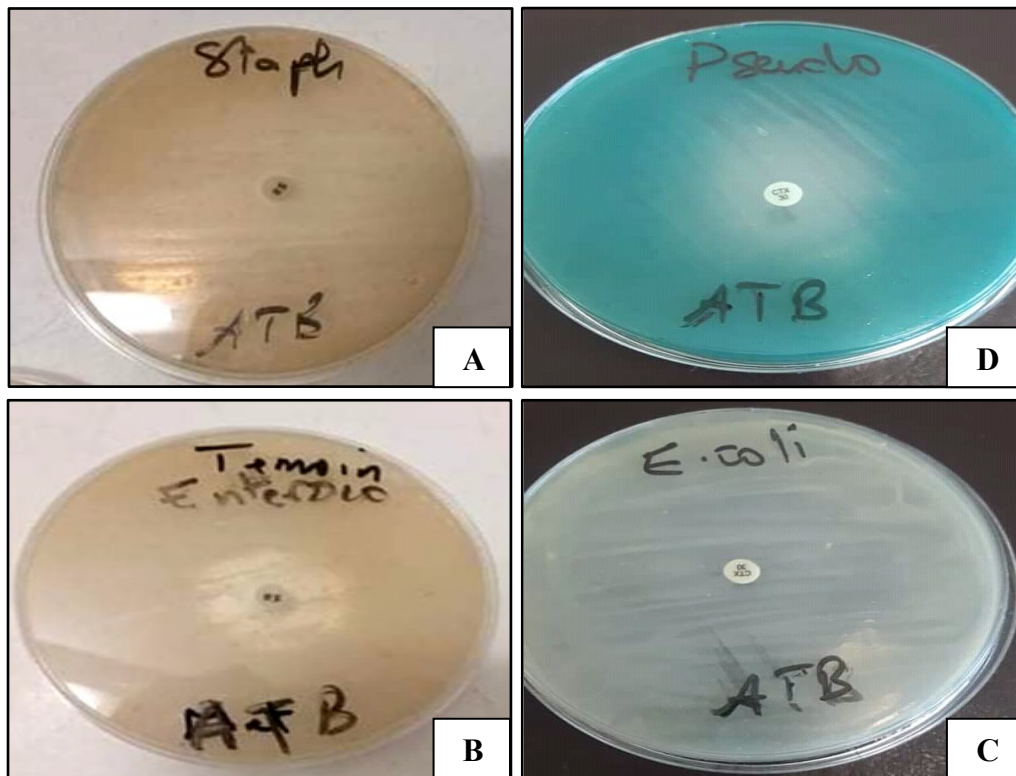


Figure 10 : Photographies des différents résultats d'antibiogramme obtenus après 24h d'incubation à l'étuve. (A) et (B) : *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* testées vis-à-vis la vancomycine (VAN) ; (C) et (D) : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* testées vis-à-vis la céfotaxime (CTX).

Pour les bactéries à Gram positif, des petites colonies non diffusibles jaune d'or et des colonies légèrement opalescentes de plus ou moins 1,5 mm caractéristiques de *S. aureus* et *E. faecalis* ont été observées dans la boîte (A) et (B) respectivement.

Pour celles à Gram négatif, des colonies diffusibles avec une coloration du milieu en vert caractéristiques de *P. aeruginosa* ont été observées dans la boîte (D) alors que *E. coli* a formé de petites colonies lisses de forme rondes, non bombées à bords réguliers et de couleur blanchâtre à crème dans la boîte C.

D'après la lecture des boîtes, des zones d'inhibition de diamètres variables ont été observées autour des disques d'antibiotiques.

Le tableau suivant récapitule le profil de résistance des souches bactériennes étudiées vis-à-vis les antibiotiques utilisés (CTX pour les Gram négatives et VAN pour les Gram positives).

Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des zones d'inhibition.

Tableau V : Tableau récapitulatifs des diamètres des zones d'inhibition des témoins positifs (en mm).

Antibiotique Souches bactériennes	(CTX)	(VAN)
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	12mm
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	28mm
<i>Escherichia coli</i>	6mm (pas de zone d'inhibition)	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10mm	-

D'après les résultats obtenus et le tableau ci-dessus, on peut dire que les antibiotiques testés ont une activité plus ou moins intense sur les bactéries étudiées à l'exception d'*E. coli* qui est résistante à la CTX (selon le CA-SFM / EUCAST 2021, *E. coli* est considérée comme résistante si le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 17mm et c'est le cas).

Les bactéries durant l'étuvage vont se développer et les disques d'antibiotiques vont quant à eux diffuser l'antibiotique, plus on s'écarte des disques moins l'antibiotique est puissant du fait de la dilution de l'antibiotique (Denis *et al.*, 2016).

- ❖ Si les bactéries sont sensibles aux antibiotiques, elles ne vont pas se développer dans les zones où ils se trouvent ; cela va créer des zones plus ou moins importantes sans croissance bactérienne autour d'eux.
- ❖ Si elles sont résistantes, on n'aura pas la formation des zones d'inhibitions.

Donc c'est ce qu'explique notre résultat que plusieurs zones d'inhibitions plus ou moins importantes sont apparues autour des disques d'antibiotiques utilisés.

La raison pour laquelle on a utilisé la CTX pour les Gram négatives et la VAN pour les Gram positives est ainsi :

La céfotaxime et la vancomycine appartiennent à 2 différentes familles d'antibiotiques mais partagent en commun le même mode d'action. En effet, la différence entre eux s'étend sur leur spectre d'activité : la CTX est une céphalosporine active sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif alors que la VAN est un glycopeptide réservé aux bactéries à Gram positif (Denis *et al.*, 2016).

IV.2.2. Témoins négatifs réalisés avec le DMSO

Pour ne pas confondre l'activité du solvant dispersant (ici le DMSO) avec celle de l'HE et afin d'évaluer son impact sur la diffusion de l'HE dans le milieu de culture gélosé, ce test a été réalisé (figure 11).

Les souches utilisées doivent être résistantes au DMSO tout seul (blanc) pour s'assurer qu'il n'a pas d'influence (activité) sur l'HE.

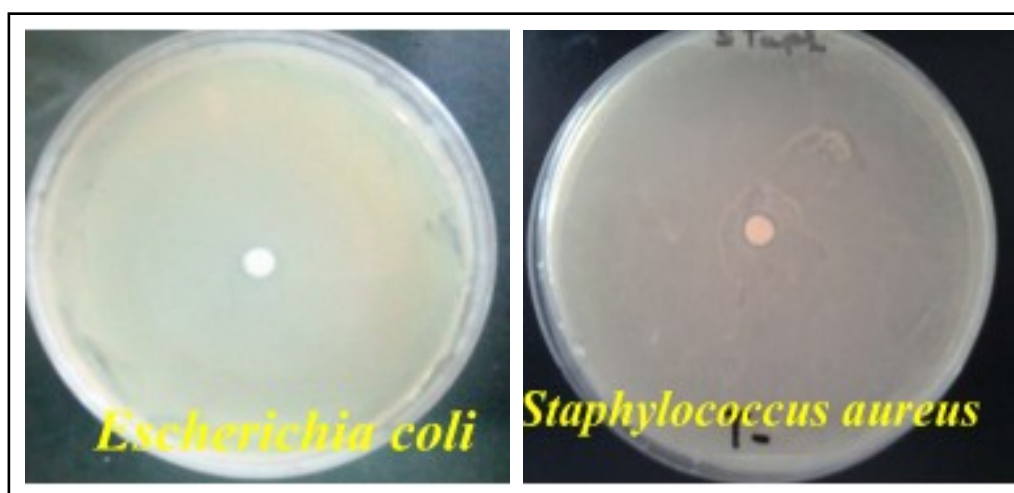


Figure 11 : Photographie des témoins négatifs réalisés avec le DMSO.

Aucune activité n'est observée autour des disques contenant le DMSO. Donc le DMSO ne présente aucun effet antimicrobien envers les souches testées, il est donc inerte vis-à-vis cette activité.

IV.2.3. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thymus lanceolatus* sur les quatre souches étudiées

A) Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle pure

Il est connu de puis l'antiquité que les huiles essentielles présentent une activité

antiseptique non négligeable. Des études récentes ont montré que les huiles essentielles et leurs constituants, présentent un potentiel important en tant qu'agents antimicrobiens, dans plusieurs domaines industriels et médicaux (Baseretal.,2000; Dorman& Deans,2000).

Le genre *Thymus* possède une grande importance pharmacologique, puisque son huile essentielle est dotée d'activité antibactérienne expectorante(Zeghib, 2013).

La mesure des diamètres de zones d'inhibitions de la croissance bactérienne par les l'huile essentielle de *Thymus*, a été faite après 24h d'incubation à 37°C (figure 12).

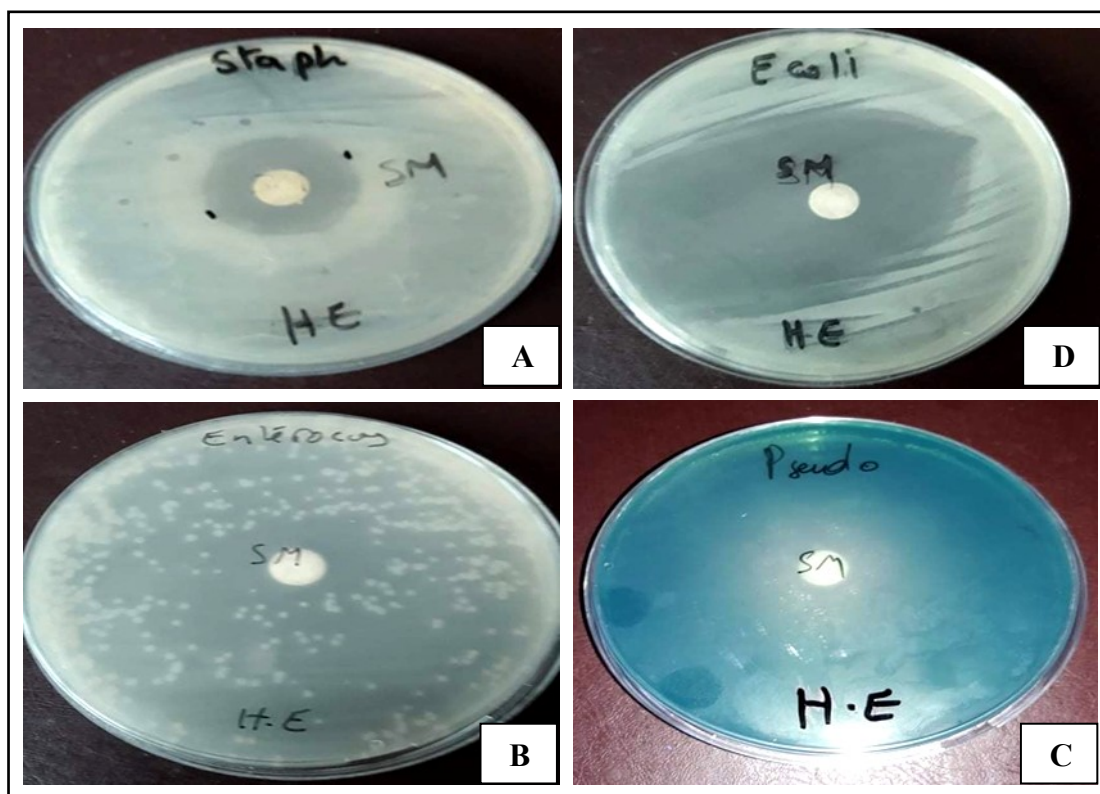


Figure 12 : Photographies des résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle pure de *Thymus lanceolatus* sur les quatre souches étudiée. SM : Mother Solution, HE : huile essentielle, (A) :*Staphylococcus aureus*,(B) : *Enterococcus faecalis*, (C) :*Pseudomonas aeruginosa* et (D) :*Escherichia coli*.

L'huile essentielle du thym non diluée c'est-à-dire : pure (SM : Mother Solution) a montré qu'elle était très active contre *E.coli*, suivie par *S.aureus*, *E. faecalis* et *P. aeruginosa*.

En effet, il est bien connu que les bactéries Gram-positives sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries Gram-négatives. D'ailleurs, de nombreuses études examinant l'activité inhibitrice des HE ont confirmé ces résultats (Poole, 2001 ; Burt, 2004 et Busatta et al., 2008). Par ailleurs, dans notre cas, la souche la plus sensible était *E. coli* (Gram-négative) avec une zone d'inhibition de 45mm par rapport à *Staphylococcus*,

Enterococcus et *Pseudomonas* qui étaient moins sensibles avec des diamètres d'inhibition de 28mm, 22mm et 20mm respectivement.

Selon **Poole (2001)** ; **Burt(2004)** et **Busatta et al., (2008)**, la résistance élevée des bactéries Gram négative à l'HE est partiellement liée à la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces micro-organismes qui comporte une double membrane, en contraste avec la structure membranaire simple des bactéries Gram positive. Par ailleurs, **Moreira et al., (2005)** ont démontré que les bactéries Gram négative peuvent être sensibles à l'action des HE.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle pure s'est illustrée dans le tableau VI. Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des zones d'inhibition.

Tableau VI : Résultats des diamètres d'inhibition en mm de l'activité antibactérienne de l'HE pure sur les quatre souches étudiées.

Les Souches bactériennes	Diamètre des zones d'inhibition (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	28
<i>Escherichia coli</i>	45
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
<i>Enterococcus faecalis</i>	22

B) Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle pure et ses dilutions

La sensibilité des différentes souches microbiennes se manifeste par un halo entourant le disque imbibé du composé testé. On mesure le diamètre de ce halo à l'aide d'un pied à coulisse.

Les résultats du test de sensibilité des quatre souches bactériennes étudiées vis-à-vis l'HE de *Thymus lanceolatus* avec les différentes dilutions sont présentés dans les photographies ci-dessous :

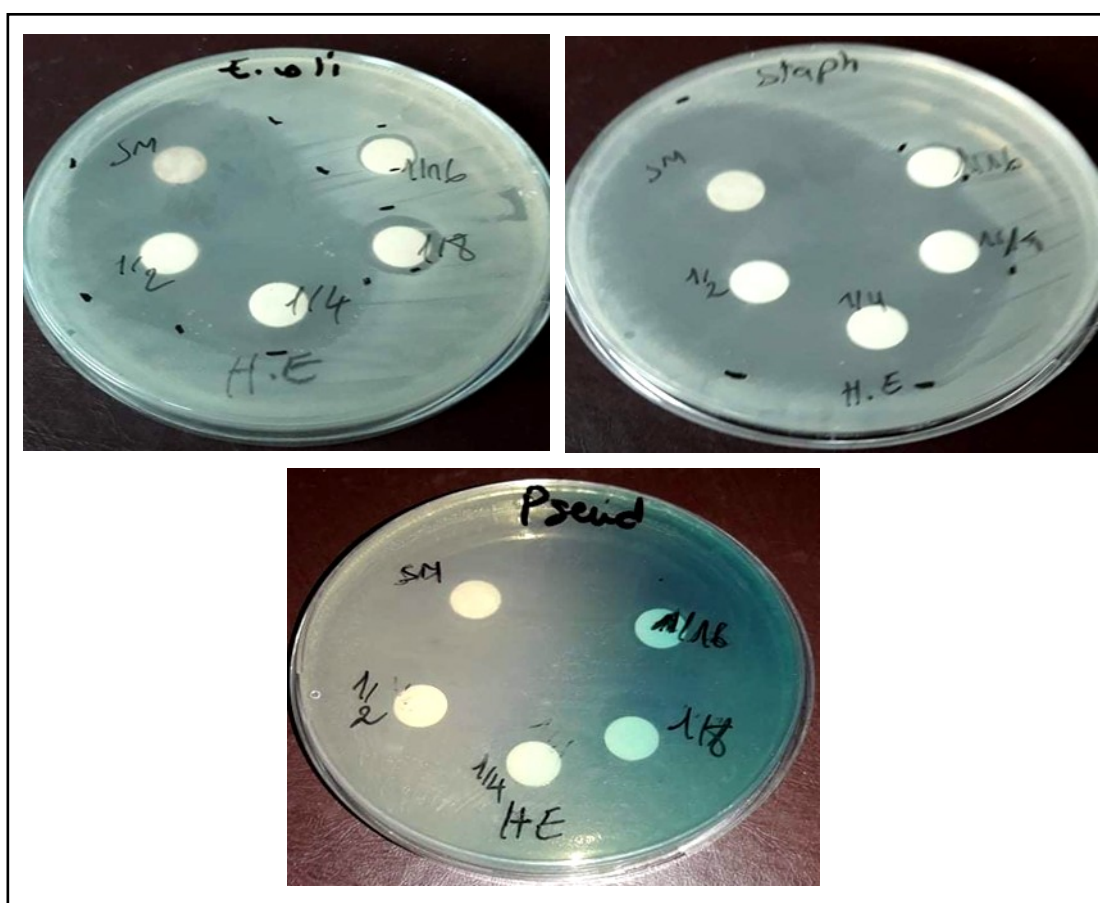


Figure 13 : Photographies des tests de sensibilités des souches bactériennes vis-à-vis de l'huile essentielle de *Thymus lanceolatus*.

Nous reprenons, dans le Tableau VII, les différents diamètres de zones d'inhibition de la croissance bactérienne par l'HE et ses dilutions.

Tableau VII : Résultats des diamètres d'inhibition en mm de l'activité antibactérienne de l'HE vis-à-vis les quatre souches étudiées.

Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des zones d'inhibition.

Dilution Souches bactérienne	SM	DMSO	1/2	1/4	1/8	1/16
	<i>Staphylococcus aureus</i>	++++ 44mm	-	++++ 40mm	++++ 30mm	+++ 20mm
<i>Escherichia coli</i>	++++ 37mm	-	++++ 46mm	++++ 30mm	++ 15mm	++ 11mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++ 11mm	-	++ 7mm	++ 7mm	++ 7mm	++ 11mm
<i>Enterococcus faecalis</i>	+++ 25mm	-	++ 15mm	++ 12mm	++ 12mm	++ 15mm

- : pas de zone d'inhibition,++++ : très forte activité, +++ : forte activité ++ : faible activité.

Sur la base de ces résultats, nous avons remarqué que l'huile essentielle de *Thymus lanceolatus* a une forte activité antibactérienne contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* et une activité modérée contre *Enterococcus faecalis*, contrairement aux souches de *Pseudomonas aeruginosa* qui sont plus résistantes pour cette HE et ses différentes dilutions.

Cette résistance de *Pseudomonas* n'est pas surprenante car elle est en relation avec la nature de sa membrane externe qui lui confère la résistance à la plupart des agents biocides (Mann *et al.*, 2000).

L'HE de *Thymus lanceolatus* a aussi une forte activité contre *Staphylococcus aureus* ($D \geq 40$ mm). Ces résultats sont cohérents avec les résultats de Haddouchi *et al.*, (2009), indiquant que la plupart des HEs sont très actifs contre les *Staphylococcus*.

Selon Boukhatem *et al.*, (2014), les bactéries Gram négatives sont intrinsèquement résistantes aux agents antibactériens, ce qui est lié à la nature de la paroi bactérienne. Chez les bactéries à Gram positif, le peptidoglycane est très épais et est associé aux protéines de la paroi. En revanche, chez les bactéries à Gram négatif, le peptidoglycane est très petit et est associé à une enveloppe externe complexe qui définit l'espace périplasmique. La membrane

externe est une bicouche lipidique hydrophobe asymétrique composée de phospholipides, de protéines (porines) et de lipopolysaccharides (LPS). L'espace périplasmique regorge d'enzymes qui dégradent et inactivent les substances complexes.

À l'exception de *Pseudomonas* dont les dilutions 1/2, 1/4 et 1/8 n'exercent aucune activité excepté de la dilution 1/16 qui est un peu active sur lui avec un diamètre d'inhibition de 11 mm, les dilutions 1/2, 1/4, 1/8 et 1/16 sont toujours actives avec des diamètres de zone d'inhibition ≥ 10 mm.

Staphylococcus aureus et *Escherichia coli* montrent une diminution du diamètre d'inhibition parallèlement à la diminution des concentrations en huile essentielle tandis que *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus faecalis* montrent une stabilité dans les diamètres d'inhibition (figure 14).

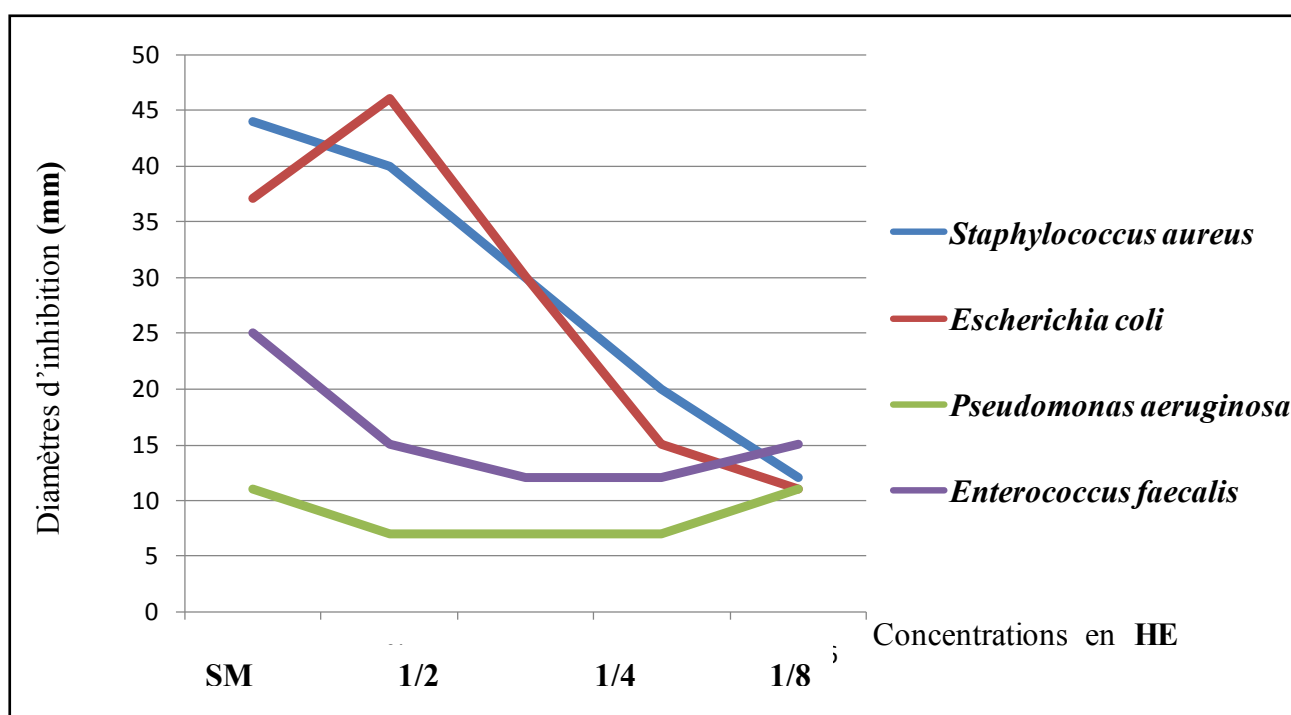


Figure 14 : Evolution des diamètres d'inhibition en fonction des concentrations en HE.

Les espèces du genre *Thymus* sont reconnues par leurs activités antibactériennes importantes, cette activité est liée à leur composition chimique riche en composés phénoliques tels que le thymol et le carvacrol (Khadir *et al.*, 2013)

Par ailleurs, d'autres études sur l'activité antibactérienne des HEs de thym « carvacrol » vis-à-vis certaines bactéries testées dans la présente étude ont été trouvées. Les résultats obtenus varient d'une étude à l'autre, comme le montre le tableau ci-dessous.

Tableau VIII : Comparaison des résultats de l'activité antibactérienne de l'HE étudiée avec d'autres études.

Etude	Amrouni <i>et al.</i> ,(2014) (20µl/disque)	Sidali <i>et al.</i> , (2014) (20µl/disque)	Bekhechi <i>et al.</i> ,(2007) (3µl/disque)
Souches bactérienne			
<i>Staphylococcus aureus</i>	28mm	13mm	26mm
<i>Escherichia coli</i>	37.2 mm	10mm	23mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13.5 mm	-	8mm

Comme le tableau montre, les résultats trouvés dans la littérature sont significativement différents de nos résultats :

Le diamètre d'inhibition de *Staphylococcus aureus* testé est supérieur au diamètre trouvé par Amrouni *et al.*, (2014) et Sidali *et al.*, (2014) et Bekhechi *et al.*, (2007).

Le diamètre d'inhibition d'*E.coli* testé est presque le même que celui trouvé par Amrouni *et al.*, (2014), et il est supérieur aux résultats de Sidali *et al.*, (2014) et Bekhechi *et al.*,(2007).

Le diamètre inhibiteur du *Pseudomonas aeruginosa* testé est inférieur par rapport à celui trouvé par Amrouni *et al.*, (2014) et il est supérieur aux résultats de Sidali *et al.*, (2014) et Khadir *et al.*, (2013). Cet effet antibactérien est attribué à la sensibilité de *Pseudomonas* au carvacrol doté d'une activité inhibitrice de l'ATPase pouvant induire la dissipation de la force proton motrice et affecter la fonction des cellules bactériennes (Amrouni *et al.*, 2014).

Cette variation de résultats peut s'expliquer par :

- ❖ La quantité variable d'huile essentielle utilisée dans chaque disque. Cependant, dans l'étude d'Amrouni *et al.*, (2014) et Bekhichi *et al.*, (2007) bien que le même volume soit utilisé, le diamètre obtenu par Bekhichi *et al.*, (2007) est beaucoup plus petit. Cela peut s'expliquer par la teneur plus faible en carvacrol.
- ❖ Différences d'activité entre les différentes espèces d'huiles essentielles du thym à carvacrol: les études d'HE de Sidali *et al.*, (2014) et de Bekhechi *et al.*, (2007) sur *Thymus fontanesii* illustrent ce point, ce dernier présentant des activités antibactériennes différentes.
- ❖ Plusieurs auteurs rapportent que l'abondance des dérivés phénoliques rend les huiles essentielles de très forte activité antibactérien (Kaloustian, 2008 ; Satrani *et al.*, 2010).

Ces études concorde avec celle de **Dormane et Dean, (2000)** et de **Satrani et al., (2010)**, qui ont testé beaucoup d'ingrédients purs des huiles essentielles vis-à-vis 25 bactéries différentes et montrent que le thymol est le composé avec le spectre d'activité antibactérien le plus large, suivi du carvacrol et du α -terpinéol. Ce sont les mêmes auteurs qui ont expliqués la différence d'efficacité antibactérienne observée entre le thymol et le carvacrol par la position du groupe hydroxyle sur la structure phénolique de deux molécules.

IV.3. Effet de l'association de l'huile essentielle de *Thymus lanceolatus* avec les deux antibiotiques sur les quatre souches étudiées

L'effet synergique de l'huile essentielle de *T. lanceolatus* avec les deux antibiotiques est présenté dans la figure suivante :

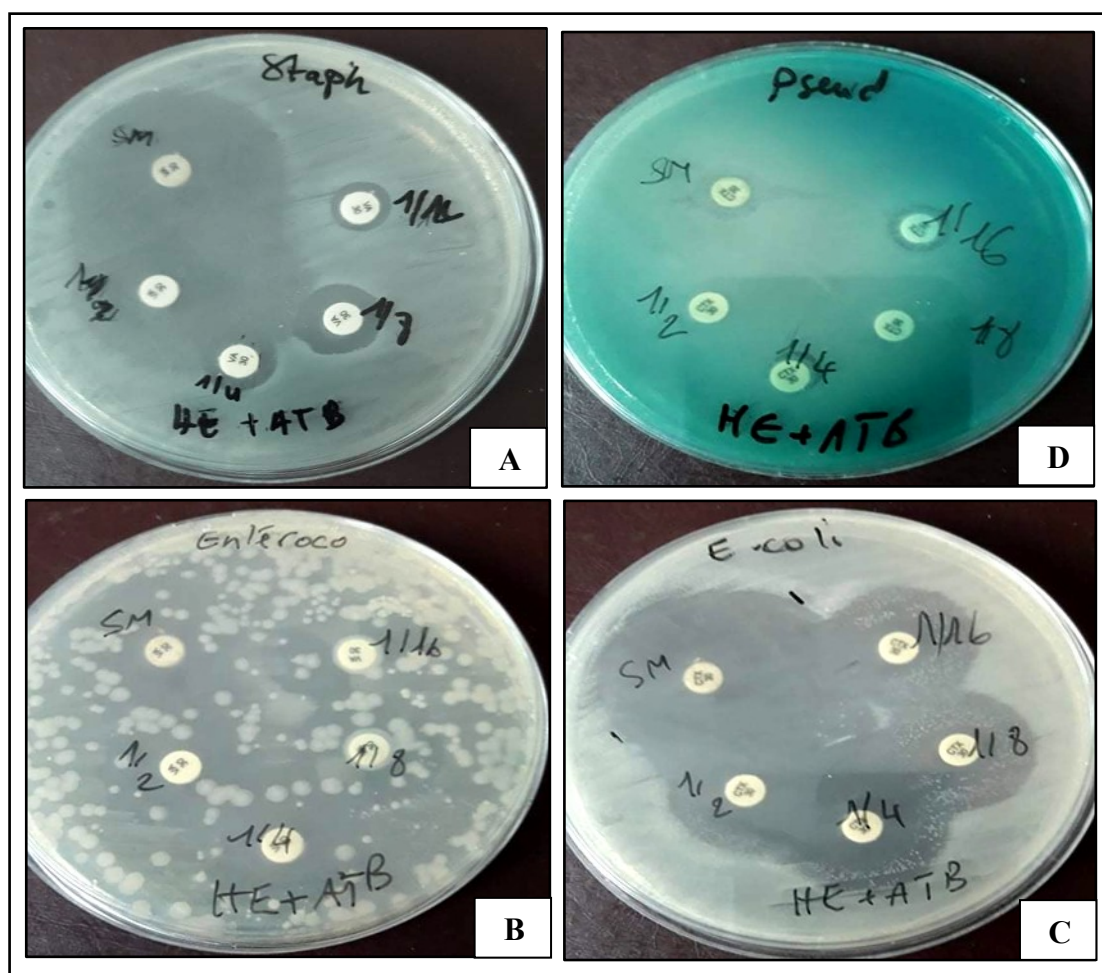


Figure 15 : Résultats des tests synergiques de l'huile essentielle de *Thymus lanceolatus* avec les ATB (CTX-30 et VAN), vis-à-vis les quatre souches étudiées : (A) :*Staphylococcus aureus*, (B) : *Enterococcus faecalis*, (C) : *Escherichia coli* et (D) : *Pseudomonas aeruginosa*.

Les diamètres des zones d'inhibition des associations huile essentielle de *Thymus lanceolatus* et antibiotiques (CTX-30 et VAN) contre les souches à Gram positif et à Gram négatif sont présentés dans le tableau VIII.

En comparant les diamètres inhibiteurs obtenus avec ceux des deux agents séparément (HE et ATB), il apparaît bien que cette combinaison a un effet double : synergique et antagoniste.

Tableau IX : Résultats des zones d'inhibition des tests synergique de l'huile essentiel de *Thymus lanceolatus* avec les ATB (CTX-30 et VAN), vis-à-vis les quatre souches étudiée.

Souches bactérienne	Mélange ATB + HE				
	SM	1/2	1/4	1/8	1/16
<i>Staphylococcus aureus</i>	++++ 40mm	++++ 40mm	++ 12mm	++ 14mm	++ 10mm
<i>Escherichia coli</i>	++++ 40mm	+++ 24mm	+++ 24mm	+++ 22mm	+++ 22mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++ 11mm	++ 7mm	++ 7mm	++ 7mm	++ 11mm
<i>Enterococcus faecalis</i>	+++ 20mm	+++ 20mm	++ 16mm	++ 12mm	++ 15mm

SM : solution mère, ++++ : très forte activité, - : pas de zone d'inhibition, +++ : activité forte, ++ : faible activité.

D'après les résultats obtenus on constate que :

- ❖ Il ya une très forte activité du mélange sur *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* contrairement à *Pseudomonas* qui apparaît moins sensibles avec des diamètres d'inhibition variables de 7 à 11mm.
- ❖ La synergie se manifeste plus souvent chez les Gram positives mais aussi sur les Gram négatives. Cela ne concorde pas avec le résultat de **Fadli et al., (2012)** qui a testé l'effet de l'association de deux huiles de thym avec 27 antibiotiques sur un ensemble

- ❖ des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, et qui montre que la synergie se manifeste chez les Gram positives que les Gram négatives.

IV.3.1. Activité antibactérienne de l'association antibiotique et huile essentielle

A) Vis-à-vis *Staphylococcus aureus*

La combinaison de la vancomycine (VAN) avec l'huile essentielle de *Thymus lanceolatus* a augmentée considérablement l'effet antibactérien vis-à-vis *S. aureus*. En effet, le diamètre de la zone d'inhibition marquée par cette association (40mm) a augmenté par rapport aux diamètres de la zone d'inhibition résultante de l'utilisation des deux agents séparément (12 et 28mm pour l'antibiotique seule et l'HE seule respectivement).

D'après ces résultats, on constate que les diamètres des zones d'inhibitions du mélange sont plus important par rapport à la somme de ceux de antibiotique et l'HE testés séparément. Ceci explique l'effet synergique entre les composés du mélange et concorde avec des travaux antérieurs montrant que cette association donne le plus souvent un effet synergique (Nazer *et al.*, 2005 ; Rosato *et al.*, 2007).

B) Vis-à-vis *Enterococcus faecalis*

La combinaison de l'antibiotique vancomycine avec l'huile essentielle du *Thymus lanceolatus* donne une zone d'inhibition qui est de 20mm moins importante que celle obtenu avec l'huile seule (25mm) et l'ATB seul (28mm), donc il s'agit d'un effet antagoniste.

Dans ce cas, il est préférable soit de les utiliser séparément que de les combiner, soit n d'associer cette HE avec d'autre antibiotiques ou d'autre huiles essentiel pour avoir un effet synergique.

C) Vis-à-vis *Escherichia coli*

L'effet apparu de la combinaison de la céfotaxime (CTX 30) avec l'huile essentielle de *Thymus lanceolatus* est beaucoup plus important que celui marqué par l'emploi de cet antibiotique seul. D'ailleurs, la zone d'inhibition dans le cas de cette combinaison est de 40mm le moment où *E.coli* est résistante à la CTX30 seule.

D) Vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*

Avec l'emploi de l'antibiotique céfotaxime (CTX-30) combiné avec l'huile essentiel de *Thymus lanceolatus*, on a eu une faible augmentation de l'activité antibactérienne de 10 mm avec l'antibiotique seul à 11 mm lors de la combinaison

À partir de ce résultat, il est préférable d'utiliser le mélange ATB/HE sur *Pseudomonas* que d'utiliser l'antibiotique seul.

IV.4. Discussion générale sur l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du thym

La nature, le plus grand laboratoire du monde, reste encore et sans doute pour longtemps le plus perfectionné de tous les grands laboratoires du monde. De nombreuses expérimentations nous permettent, maintenant, d'expliquer certains traitements anciens qui, jusqu'ici faisaient parfois sourire (Couic-Marinier, 2018).

En dehors des propriétés antiseptiques et microbiennes largement utilisées à l'heure actuelle, les huiles essentielles possèdent des propriétés antitoxiques, antivirales, une action énergétique puissante, un pouvoir cicatrisant incontesté et l'avenir leur réserve un rôle plus important encore (Couic-Marinier, 2018).

Les résultats obtenus en milieu solide de l'activité antibactérienne de l'HE du thym associée aux antibiotiques dévoilent un effet très prononcé vis-à-vis toutes les souches testées, excepté d'*Enterococcus faecalis*.

Dans l'ensemble, les souches bactériennes testées à Gram positif étaient plus sensibles que les Gram négatifs. En règle générale, les extraits de plantes sont habituellement plus actifs contre les bactéries Gram positives que les bactéries Gram négatives. Ces variations d'inhibition peuvent être dues à des différences de composition et de structure de surface entre les bactéries Gram positives et Gram négatives (Kandler, 1992). En plus de la paroi cellulaire et de la membrane cellulaire, les bactéries à Gram négatif possèdent une membrane externe composée d'une bicouche phospholipidique, qui peut constituer une barrière protectrice contre ces composés (Oussalah *et al.*, 2007).

Selon Bolla *et al.*, (2011), pour améliorer l'efficacité des antibiotiques, il est nécessaire de trouver des méthodes permettant d'améliorer la diffusion des antibiotiques à travers les membranes bactériennes ou d'entraver les pompes d'efflux qui constituent un mécanisme de résistance général chez les bactéries Gram à négatif.

Plusieurs études ont décrit l'activité synergique ou additive pour les antibiotiques existants et les HE entières.

À titre d'exemple, d'après les travaux de **Si *et al.*, (2008)** et **Rosato *et al.*, (2010)**, l'origan en combinaison avec la doxycycline, le florfenicol, la sarafloxacinine ou la gentamicine montre des effets synergiques contre une *E. coli*, contre *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et une souche de *S. aureus*.

Pour conclure, parmi les diverses propriétés biologiques signalées pour le thym, certaines sont très bien établies, telles que les activités antioxydantes, insecticides, antibactériennes, antifongiques et antivirales, ainsi que l'effet stimulant des sécrétions gastriques. Toutes ces activités sont liées à la teneur élevée en composés phénoliques, avec un accent particulier sur le thymol et le carvacrol (**Moussa *et al.*, 2020**).

En Algérie, peu de travaux ont été consacrés à l'étude du profil chimique de l'HE de *Thymus* et son effet en combinaison avec des antibiotiques demeure encore relativement peu étudiée et ne connaît pas une application en médecine conventionnelle malgré que ce type d'association peut offrir des possibilités de trouver une solution au problème de la résistance bactérienne.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales constituent toujours une source fiable de principes actifs connus pour leurs propriétés thérapeutiques. Avec la prévalence de micro-organismes pathogènes résistants aux antibiotiques, on constate un regain d'intérêt pour les molécules naturelles extraites des plantes.

Notre étude nous a permis d'évaluer l'activité antimicrobienne de cette huile essentielle de *Thymus lanceolatus* sur quatre souches bactériennes multirésistantes référencées (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus fecalis*), ainsi que l'effet de sa combinaison avec des antibiotiques ; la vancomycine (VAN) pour les Gram positif, et la céfotaxime (CTX-30) pour les Gram négatif.

Les échantillons de *Thymus lanceolatus* récoltés au niveau de la région de Tigejda en mois de Mai ont fournis un rendement en huile essentielle qui est de 1.1525%.

Les résultats de l'antibiogramme réalisé par la céfotaxime sur les bactéries à Gram négatifs montrent que *E coli* et *avéré* résistante a cette antibiotique par contre *pseudomonas aeruginosa* et *avéré* moins sensible avec un diamètre d'inhibition de 10 mm.

L'antibiogramme réalisé par la vancomycine sur les Gram positif montre une très forte activité inhibitrice sur *Enterococcus fecalis* avec un diamètre d'inhibition de 28mm et de 12 mm sur *staphylococcus aureus*.

Les résultats de l'aromatogramme ont démontré que notre HE présente un important pouvoir inhibiteur contre *Escherichia coli* avec une zone d'inhibition de 45mm et une zone d'inhibition de 28mm pour *staphylococcus aureus* et un pouvoir inhibiteur moyen contre *Enterococcus fecalis* et *Pseudomonas aeruginosa* avec des zones d'inhibition de 22 mm et 20 mm respectivement.

Les résultats de l'association de l'huile essentielle étudiée avec les antibiotiques à donné divers actions ;

- Pour *E coli* interaction synergique
- Pour *staphylococcus aureus* interaction synergique
- Pour *Enterococcus fecalis* interaction antagoniste
- Pour *pseudomonas aeruginosa* interaction synergique

Ces résultats obtenus sont prometteurs dans l'élargissement de l'arsenal thérapeutique des plantes à propriétés antibactériennes. Leur criblage permettrait de trouver de nouveaux

agents antibactériens qui pourraient constituer une alternative à l'utilisation des antibiotiques classiques devenus inefficaces. D'étudier d'autres propriétés biologiques de ces huiles essentielles, à savoir anti-inflammatoire, hémolytique, et propriétés antivirales et autres.

Cependant, les méthodes in Vitro utilisées pour confirmer l'activité antibactérienne des différents extraits sont insuffisantes et exigent d'autres tests plus avancés tels que l'étude des tels que l'étude de l'activité antibactérienne in Vivo

*Références
bibliographiques*

Références
bibliographiques

Références bibliographiques

[A]

- **ABOU EL KHAIRE .,FADDA.H .,ABOU MOHSEN.U. (2010),** Antimicrobial activity and phytochemical analysis of some medicinal plants from Gaza Strip-Palestine. Publiée par *Deanship of postgraduate studies and scientific research Al- Azhar University-Gaza Palestine. Vol(12). ISSN 1810-6366, P: 48.*
- **AFOUN L, AFOUN O., (2011).** Etude de mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* sur *Staphylococcus aureus*. Université Abderrahmane Mira de Bejaia. Mémoire d'ingénieur. P : 31.
- **AIYEGORO OA ET OKOH AI. (2009).** Use of bioactive plant products in combination with standard antibiotics: *Implications in antimicrobial chemotherapy. Journal of Medicinal Plants Research.3(13), 1147-1152.*
- **ALEXOPOULOS A, KIMBARIS AC, PLESSAS S, MANTZOURANI I, THEODORIDOU I, STAVROPOULOUE,POLISSIOU MG ET BEZIRTZOGLOU E. (2011).**Antibacterial activities of essential oils from eight Greek aromatic plants against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Anaerobe. 17, 399-402.*
- **AMARTI F, EL AJJOURI M, GHANMI M, SATRANI B, AAFI A, FARAH A, KHIA A, GUEDIRA A, RAHOUTI M, CHAOUCH A., (2011).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydant de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. *Phytothérapie, 9:149–157.*
- **AMIOT, J. (2005).** *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires. Doctoral dissertation, École nationale supérieure agronomique (Montpellier).
- **AMROUNI, S., TOUATI, M., HADEF, Y., & DJAHOUDI, A. (2014).** Effet de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* et de *Thymus ciliatus* sur *Pseudomonas aeruginosa* VIM-2 carbapénémase. *Phytothérapie, 12(5), 309–313.*

[B]

- **BAKKALI F., AVZEBZCK S., AVERBEK D., ET IDAOMAR M., (2008).** Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology, 46, 446-475.*
- **BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K. ET SAMMAN, S. (2006).** Composés phénoliques dans les plantes et sous-produits agro-industriels: activité antioxydante, occurrence et utilisations potentielles. *Chimie alimentaire, 99 (1), 191-203.*

- **BAYDAR, H.,SAGDIC, O.,OZKAN,G.,KARADOGAN, T. (2004).** Antimicrobial activity and composition of essential oil from *Origanum, Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in turkey. *Food Control*, **15**: 169-172.
- **BELAICHE P., (1979).** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. *Tome 1 : l'aromatogramme*. éd. Maloine. Paris
- **BELMALHA, S., M. EL IDRISSE, ET AL. (2015).** "caracterisation chimique de certaines especes de thym marocain du moyen atlas (region de midelt) chemical characterization of some species of moroccan middle atlas thyme (region of midelt)." *Global Journal of Pure and Applied Chemistry Research* **3**(2): 43-52.
- **BELOUED ABDELKADER. (2001),** plantes médicinales d'Algérie, édition : 2.01.4267, ISBN : 9961.1. 0304.7 page 206.
- **BENAYACHE, F. (2013).** Etude phytochimique et biologique de l'espece *Thymus numidicus* Poiret.
- **BENOUAL, DJILALI. (2015-2016).**Séparation et analyse des biomolécules : Extraction et identification des huiles essentielles.[en ligne]. Oran : université des sciences et de la technologie, cour, 17p.
- **BLAIDI, F. ET HELLAL, H. (1996).** Plantes médicinales et phytothérapie. *Santé plus*. **51**: 1-52.
- **BOLLA J-M, ALIBERT-FRANCO S,ET HANDZLIK J.(2011).** Strategies for bypassing the membrane barrier in multidrug resistant gram-negative bacteria. *FEBS Lett* **585**:1682–90.
- **BOUKHATEM MN, FERHAT MA, SAIDI F. (2014).** Valorisation de l'essence aromatique du Thym(*Thymus vulgaris* L.) en aromathérapie anti-infectieuse. ISSN 2028-9324, **8** No. 4 , pp. 1418-1431.
- **BOUKHATEM ,M N ., FERHAT, A et KAMELI,A.(2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles Essentielles : revue de littérature. *Revue Agrobiologia* **9**(2): 1653-1659.
- **BOUYAHYA, A., BAKRI, Y., ET-TOUYS, A., TALBAOUI, A., KHOUHLAA, A., CHARFI, S., ... & DAKKA, N. (2017).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, **1**-11.
- **BRUNETON J., (1999).** Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Edition *Technique et documentation, 3ème Edition Lavoisier*, Paris. 1120

- **BURT S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *Int. J. Food Microbiol.* **94**: 223-253.
- **BUSTTA C., VIDAL R.S, POPLOLSKI A.S ,MOSSI A.J, DARIVA C., RODRIGUEZ M.R.A, CORAZZA M.L, VLADIMIR O.J ET CANSIAN R.I.(2008).** Application of *origanum majorana* L.essential oil as an antimicrobial agent in sousage. *Food Microbiology*,**25**:207-211.

[C]

- **CATTOIR, V. (2004).** Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathologie Biologie*, **52**(10): 611–612.
- **CHARBIER.J.(2010).**Plantes Médicinales et forme d'utilisation en phytothérapie. Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Henri Poincaré-Nancy 1,France.
- **CH BEKHECHI, F ATIK BEKKARA AND DJ E ABDELOUAHID, F TOMI, J CASANOVA. (2007).**Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii* Boiss et Reut from Algeria. *Jornal of Essential Oil Research*, **19**:594–596.
- **CHIKHOUNE, A., (2007)** Huiles essentielles de thym et d'origan, INA.
- **COUIC-MARINIER, F. (2018).** Les huiles essentielles en pratique, administration et précautions d'emploi. *Actualités Pharmaceutiques*, **57**(580):26-29.
- **COSENTINO, S., ET AL. (1999).** In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Sardinian thymus* essential oils. *Letters in applied microbiology*. **29**(2): p. 130-135.
- **COURVALIN, P., H. DRUGEON, J.P. FLANDROIS, AND F. GOLDSTEIN. (1990).** Bactericide, Aspects théoriques et thérapeutiques: p. 110.
- **COWAN, M. M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, **12**(4): 564–582.
 - **CUVELIER, M. E., RICHARD, H., & BERSET, C. (1992).** Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structure-activity relationship. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, **56**(2):324-325.

[D]

- **DAROUI-MOKADDEM H. (2011).** Etude phytochimique et biologique des especes :Eucalyptus globulus(Myrtaceae), Smyrniolumusatrum(Apiaceae), Asteriscus maritimus

et *Chrysanthemum trifurcatum*(Asteraceae). Thèse de Doctorat, UniversitéBadji-Mokhtar, Annaba.

- **DE BILLERBECK, V. G. (2007).** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, **5**(5):249-253.
- **DENIS, F., CATTOIR, V., MARTIN, C., PLOY, M.-C., & POYART, C. (2016).** *Bactériologie médicale: techniques usuelles: Elsevier Masson.*
- **DORMAN, H.J.D., ET DEANS, S.G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.***88** (2): 308–316.

[E]

- **EL AJJOURI, M., ET AL. (2008).** Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'oeuvre. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, **12**(4): 345-351.
- **ENACHE, M., & NEAGOIE, A. (2020).** Microscopic characteristics of some Lamiaceae species-a selection of light microscopy images. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, **24**(2):211-220.
- **ERLUND, I. (2004).** Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition research*, **24**(10):851-874.

[F]

- **FADLI M, SAAD A, SAYADI S, CHEVALIER J, MEZRIOUI N, PAGÈS J.M ET HASSANI L.(2012).**Antibacterial Activity of *Thymus Maroccanus* and *Thymus Broussonetii* essential oils against nosocomial infection bacteria and their synergistic potential with antibiotics. *Phytomedicine*. **19**:464–471.
- **FAN, CHUNLAN; LI, YANPENG; LIU, PENGXIA ET AL. (2019).** Characteristics of air borne opportunistic pathogenic bacteria during autumn and winter in Xi'an, China [en ligne]. *In : Science of The Total Environment.*, **672**:834-845.
- **FAUCHERE, J.L. ET AVRIL J.L., (2002).** "Bactériologie générale et médicale". *In : détermination "in vitro " du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'eucalyptus, myrte, clous de girofle et sarriette, et leur application à la conservation de la viande fraiche type hachée. Ellipses Ed Paris, (365).*

- **FAUGIER, AURELIE.(2010).** Diversité bactérienne des sols : accès aux populations à effectifs minoritaires" the rare biosphere". [En ligne] Thèse de doctorat. Lyon : École Centrale de Lyon, 175 p. Format PDF.
- **FORMISANO, C., OLIVIERO, F., RIGANO, D., SAAB, A. M., & SENATORE, F. (2014).** Chemical composition of essential oils and in vitro antioxidant properties of extracts and essential oils of *Calamintha organifolia* and *Micromeria myrtifolia*, two Lamiaceae from the Lebanon flora. *Industrial Crops and Products*, **62**: 405–411.
- **FOUDIL-CHERFI, YAZID. (2005).** Etude chimiotaxonomique des huiles essentielles de neuf espèces d'eucalyptus poussant en Algérie. Distribution en antiomérique de cinq monoterpènes par chromatographie multidimensionnelle. [en ligne] Thèse de doctorat d'état en chimie. Alger : Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, 117 p.

[G]

- **GAUSSEN H, LEROY JF ET OZENDA P. (1982).** Précis de botanique : Végétaux supérieurs. *Edition :Masson*, Paris. 579p.
- **GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS M. ET ORECCHIONI A.M. (2001).** Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. *Ed. TEC et DOC*, Paris.
- **GIRARD G. (2010).** Les propriétés des huiles essentielles dans les soins bucco-dentaires d'hier à aujourd'hui. Mise au point d'un modèle préclinique de lésion buccale de type aphte pour tester les effets thérapeutiques des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Henri Poincaré, Faculté de Pharmacie, Nancy1. 116 p.
- **GOARANT, CYRILLE. (2010).** Bactéries pathogènes, hôtes, et environnement : une approche multifactorielle pour l'étude de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie. [Enligne] Thèse de doctorat. Université Montpellier 2 ,. 84p. Format PDF.
- **GOETZ PAUL, GHEDIRA KAMEL. (2012).** Phytothérapie anti-infectieuse, *springer verlag*. france paris. Page : 358.
- **GUINOISEAU, E. (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat, Université de Corse.
- **GUIGNARD J.L. (2000).** Biochimie végétale. 2ème Ed. *De l'abrégé Dunod*, Paris, pp.177-185.

[H]

- **HADDOUCHI F ET BENMANSOUR AH. (2008).** Huiles essentielles, utilisation et activités biologiques .Application à deux plantes aromatiques. *Les Techniques de Laboratoire*. **8**: 20-27.
- **HADDOUCHI F, LAZOUNI HA, MEZIANE A ET BENMANSOUR A., (2009).** Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. Université Aboubekr BELKAID, *Tlemcen, Algérie*. **05(2)**: 246 – 259.
- **HALAWANI E. (2009)** .Antibacterial Activity of Thymoquinone and Thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and Their Interaction with Some Antibiotics. *Advan. Biol. Res.* **3** (5-6):148-152.
- **HANSON, J. R. (2003).** Natural products: the secondary metabolites **17**. *Royal Society of Chemistry*. **17**. .

[I]

- **ISERIN, P., MASSON, M., RESTELLINI, J. P., YBERT, E., DE LAAGE DE MEUX, A., MOULARD, F., ... & BOTREL, A. (2001).** Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins. *Editions Larousse, Paris*, **15**.

[J]

- **JORITE, S. (2015).** La phytothérapie, une discipline entre passé et futur: de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel. *Sciences pharmaceutiques*.
- **JEHL, F., & CATTOEN, C. (2020).** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie(CA-SFM / EUCAST 2021) *I. I* Avril, 181.

[K]

- **KABOUCHE, A., KABOUCHE, Z., & BRUNEAU, C. (2005).** Analysis of the essential oil of *Thymus numidicus* (Poiret) from Algeria. *Flavour and fragrance journal*, **20(2)**: 235-236.
- **KALOUSTIAN J, CHEVALIER J, MIKAIL C. (2008)** .Étude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie* **6** (3): 160–4.
- **KANDLER, O. (1992).** Cellwall structure and their phylogenetic implications. A concise overview of the various kinds of bacterial walls and their chemical composition, including the archaeobacteria. *Syst Appl. Microbiol* **3**:149-160.

- **KAROU D., DICKO M.H., SIMPORE J. & TRAORE A.S. (2005).** Antioxidant and antibacterial activities of polyphénols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, **4**(8): 823-828.
- **KARPIŃSKI, T. M. (2020).** Essential oils of Lamiaceae family plants as antifungals. *Biomolecules*, **10**(1), 103.
- **KHADIR, A., BENDAHO, M., BENBELAID, F., ABDOUNE, M. A., & ABDELOUAHID, D. E. (2013).** Pouvoir antimicrobien de *Thymus lanceolatus* Desf., récolté en Algérie. *Phytothérapie*, **11**(6), 353–358.

[L]

- **LABIOD, RYMA. (2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. [en ligne]Thèse de doctorat en Biochimie appliquée. Université Badji Mohktar–Annaba: Faculté des Science, p.162.
- **LAHLOU M. (2004).** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy research*. **18**, 435-448.
- **LAOUER H, ZERROUG MM, SAHLI F ET CHAKER AN. (2003).** Composition and antimicrobial activity of *Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr. essential oil. *Journal of Essential Oil Research*. **15**:135-138.
- **LAOUER, H. (2004).** Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de sétif, de Béjaia, de M'sila et de Djelfa. Composition et activité antimicrobienne des huiles essentielle d'*Ammoides pusilla* (Brot) Breistr. et de *Magydaris pastinacea* (Lamk) Paol. Thèse de Doctorat. Université de Sétif. 119 p.
- **LARDRY, J.-M. ET HABERKORN, V. (2007).** L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie, La Revue*, **7** (61):14-17.
- **LOŽIENĖ, K., J. VAIČIŪNIENĖ, AND P.R. VENSKUTONIS,** Chemical composition of the essential oil of creeping thyme (*Thymus serpyllum sl*) growing wild in Lithuania. *Planta medica*, 1998. **64(08)**: p. 772-773.
- **LV F, LIANG H, YUAN Q ET LI C. (2011).**In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Research International*. **44**:3057–3064.

[M]

- **MANN C.M. COX S.D. ET MARKHAM J.L. (2000).** The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to the oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Lett. Appl. Microbiol.* **30**: 294-297.
- **MEBARKA, L.(2007).** Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarrasicula*.. Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbas-Setif.
- **MEBARKI, N. (2010).** Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse antimicrobienne.
- **MOLDÃO-MARTINS M., BERNARDO-GIL M.G., BEIRÃO DA COSTA M.L. (2002).** Sensory and chemical evaluation of *Thymus zygis* L. essential oil and compressed CO₂ extracts. *European Food Research and Technology A*, **214**: 207 – 211.
- **MOUSSA, M. B., BELHADI, A., DOUAK, I., LAOUAR, A. K., BOUDJEMAA, S., HADEF, Y., & BOUARICHA, A. (2020).** Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* Boiss & Reut. de la région de Batna Algérie. *Revue Aurassienne du laboratoire*,**3**(1):85-90..
- **MOREIRA M.R., PONCE A.G., DEL VALLE C.E. ET ROURA S.I. (2005).**Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *Food Science and Technology*, **38**:565-570.
- **MUYLAERT, A ; MAINIL, J. (2013).** Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur " contagiosité" [en ligne]. In : *Annales de Médecine vétérinaire. Université de Liège*, p. 109-123.

[N]

- **NATELLA, F., NARDINI, M., DI FELICE, M., & SCACCINI, C. (1999).** Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants: Structure– activity relation. *Journal of agricultural and food chemistry*, **47**(4):1453-1459.
- **NAZER, A.I., KOBILINSKY, A., THOLOZAN, J.L., DUBOIS-BRISSENET, F. (2005).** Combinaisons d'antimicrobiens alimentaires à faibles niveaux pour inhiber la croissance de *Salmonella* sv. *Typhimurium* : un effet synergique ? *Food Microbiol.* **22**:391–398.

[O]

- **OUSSALAH M., CAILLET S., SAUCIER L. & LACROIX M. (2007).** Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria : *E. coli*

O157 : H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*.
Food Control, **18**: 414-420.

[P]

- **PARIS M. ET HURABIELLE M. (1981).** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed. Masson p.339.
- **PAULI, A. (2006).** Anticandidal LowMolecular Compounds from Higher Plants with Special Reference to Compounds from Essential Oils. *Medicinal Research Reviews*. **26** (2):223-268.
- **PIOCHON M. (2008).** Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activité pharmacologiques et hémi-synthèse. Mémoire, Université du Québec à Chicoutimi, Canada.
- **POOLE K. (2004).** Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clinical Microbiology and Infection*. **10**: 12-26.

[Q]

- **QUEZEL, P ET SANTA, S. (1963).** Nouvelle flore d'Algerie régions désertiques méridionales. *CNRS Paris*. France. P806

[R]

- **R. BRUNI. (2005).** Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food chemistry*. **91**(4):621-632.
- **RHAYOUR K.H. (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed ben Abdellah Faculté des sciences Dhar Mehraz-Fés.
- **RIBEREAU-GAYOU, J.B. (1968).** The phenolic compounds of vegetals, *Edition Dunod*, Paris
- **ROSATO, A., VITALI, C., DE LAURENTIS, N., ARMENISE, D., MILILLO, M.A. (2007).** Effet antibac- terial de certaines huiles essentielles administrées seules ou en combinaison avec la norfloxacine. *Phytomedicine* **14**:727-732.
- **ROSATO A, PIARULLI M, ET CORBO F. (2010).** In vitro synergistic antibacterial action of certain combinations of gentamicin and essential oils. *Curr Med Chem* **17**:3289–95.

[S]

- SACCHETTI, G., S. MAIETTI, M. MUZZOLI, M. SCAGLIANTI, S. MANFREDINI, M. RADICE, ET SOTO-MENDIVIL E.A, MORENO-RODRIGUEZ J.F, ESTARRON-ESPINOSA M, GARCIA-FAJARDO JA ET OBLEDO-VAZQUEZ E.N.(2006), chemical composition and fungical activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria .citri-E-Gnosis* [online], **4**(16).
- SATRANI B, FARAH A, FECHTAL M, ET AL. (2001). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Satureja calamintha* et *Satureja alpina* du Maroc. *Ann Fals Exp Chim* **94**(956): 241–50
- SATRANI B, GHANMI M, FARAH A. (2010). Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*. *Bull Soc Pharm* **146**: 85–96.
- SIDALL, BRADA.M , FAUCONNIER. M-L & LOGNAY G. (2014). Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* du Nord d'Algérie. *Publié par PhytoChem & BioSub Journal*.**8**(3) ISSN 2170-1768. DOI:10.163.pcbsj/2014.8.3.156
- SI H, HU J, LIU Z, ET ZENG Z-L. (2008). Antibacterial effect of oregano essential oil alone and in combination with antibiotics against extended-spectrum b-lactamase-producing *Escherichia coli*. *FEMS Immunol Med Microbiol* .**53**:190–4.
- SOUZA, E.L., N.B. GUERR, T.L.M. STAMFORD, ET E. DE OLIVEIRA LIMA. (2006). Spices: Alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. *Rev. Bras. Farm*, 2006. **87**(1): 22-25.
 - SUNAR, S., AKSAKAL, O., YILDIRIM, N., AGAR, G., GÜLLÜCE, M., & ŞAHİN, F. (2009). Genetic diversity and relationships detected by FAMES and RAPDs analysis among *Thymus* species growing in eastern Anatolia region of Turkey. *Romanian Biotechnological Letters*, **14**(2):4313-4318.

[T]

- TAHRI, N., EI BASTI, A., ZIDANE, L., ROCHDI, A., & DOUIRA, A. (2012). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans La province De Settat (Maroc). *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, **12**(2): 192-208.
- TANAKA, ET M. IINUMA. (1996). Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of ethnopharmacology*. **50**(1): 27-34.

- **TERAO, J., KARASAWA, H., ARAI, H., NAGAO, A., SUZUKI, T., & TAKAMA, K. (1993).** Peroxyl radical scavenging activity of caffeic acid and its related phenolic compounds in solution. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, **57**: 1204-1205.
- **TSUCHIYA, H., M. SATO, T. MIYAZAKI, S. FUJIWARA, S. TANIGAKI, M. OHYAMA, T. TANAKA, ET M. IINUMA. (1996).** Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of ethnopharmacology*. **50**(1): 27-34.

[V]

- **VAN VUUREN SF, SULIMAN S, ET VILJOEN AM. (2009).** The antimicrobial activity of four commercial essential oils in combination with conventional antimicrobials. *Lett Appl Microbiol*,**48**:440–461.

[W]

- **WENDAKOON, C.N. ET M. SAKAGUCHI. (1995).** Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal of Food Protection*. **58**(3): 280-283.

[Z]

- **ZAFAR A, SHAUKAT S, MAHNAZKH, ARSHIYA T ET ZAHOOR A. (2010).** Synergistic Effect of *Salvadora persica* Extracts, Tetracycline and Penicillin Against *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Basic et Applied Sciences*. **2** (1-2):25-29.
- **ZAIBET, WAFAA. (2016).** Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de *Daucus aureus* (Desf) et de *Reutera lutea* (Desf.) Maire, et leur application comme agents antimicrobiens dans le polyéthylène basse densité (PEBD). [en ligne] Thèse de doctorat en Génie des procédés pharmaceutiques .Université Ferhat Abbas-Sétif-1: faculté de technologie Département de génie des procédés, 119 p.
- **ZAIKA L. (1988).** «Spices and herbs-their antimicrobial activity and its determination». In : risques et bénéfices possible des huiles essentielles. *Journal of Food Safety* **9-2**: 97-118.
- **ZEGHIB, A. (2013).** Etude phytochimique et activités antioxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huiles essentielles de quatre espèces endémiques du genre *Thymus*. Thèse de doctorat en sciences, chimie organique, Université de Constantine 1, 250 p.
- **ZAMPINI, I.C., VATTUONE, M., ISLA, M. (2005).** Antibacterial activity of *Zuccagnia punctata* Cav. ethanolic extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, **102**: 450-456.

Annexes

Annexe

- ✓ Milieu de culture Muller-Hinton : PH= 7,4

Extrait de viande	2g
Hydrolysate acide de caséine	17,5g
Amidon	1,5g
Gélose	10g

- ✓ Milieux de culture PCA (plate Count Agar) ou « Gélose de dénombrement »: PH=7.2

Extrait de levure	2.50g
Peptone de caséine	5g
Glucose	1g
Agar	15g

Résumé

L'objectif de cette étude a eu dans le but d'étudier l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extrait à partir d'une plante aromatique locale (*Thymus lanceolatus*) et de rechercher l'effet de l'association de cette l'huile avec certains antibiotiques sur quatre souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*). L'huile essentielle a été extrait par hydrodistillation avec un rendement de 1.1525%.

L'étude de l'activité antibactérienne de HE de *Thymus lanceolatus* a révélé un faible effet vis-à-vis *pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus faecalis* et une forte activité vis-à-vis *Escherichia coli*, et *Staphylococcus aureus*. Avec des diamètres de 20mm, 22mm, 45mm, 28mm respectivement.

L'étude de l'effet de l'association de l'huile essentielle avec l'antibiotique a montré chez *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* un effet synergique et chez *Enterococcus faecalis* les résultats montre un effet antagoniste

Mot clés : Huile essentielle, *Thymus lanceolatus*, aromatoگرامme, activité antibactérienne, antibiotiques, association.

Abstract

The objective of this study was to study the antibacterial activity of the essential oil extracted from a local aromatic plant (*Thymus lanceolatus*) and to investigate the effect of the association of this oil with some antibiotics on four bacterial strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*). The essential oil was extracted by hydrodistillation with a yield of 1.1525%.

The study of the antibacterial activity of EO of *Thymus lanceolatus* revealed a weak effect towards *pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus faecalis* and a strong activity towards *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*. With diameters of 20mm, 22mm, 45mm, 28mm respectively.

The study of the effect of the association of the essential oil with the antibiotic showed in *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* a synergistic effect and in *Enterococcus faecalis* the results show an antagonistic effect

Key words: Essential oil, *Thymus lanceolatus*, agar diffusion, Antibacterial activity, antibiotics, association.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا للزيت العطري المستخرج من نبات عطري محلي و تتمثل في نبات الزعتر والبحث عن مفعول تأثير مزيج هذا الزيت مع بعض المضادات الحيوية على أربع سلالات بكتيرية (العصيات القولونية، المكورات العنقودية، الزائفة الزنجارية، المكورات المعوية البرازية) تم استخلاص الزيت العطري بالتقطير المائي بحاصل 1.1525%.

كشفت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا ل الزيت الاساسي لنبات الزعتر عن تأثير ضعيف مقابل الزائفة الزنجارية، المكورات المعوية البرازية، و نشاط قوي مقابل العصيات القولونية، المكورات العنقودية، بأقطار 20 مم، 22 مم، 45 مم، 28 مم على التوالي.

أظهرت دراسة تأثير ارتباط الزيت العطري بالمضاد الحيوي تأثيرًا تأخرًا مقابل العصيات القولونية، المكورات العنقودية، الزائفة الزنجارية وأظهرت النتائج تأثيرًا مضادًا مقابل المكورات المعوية البرازية.

الكلمات المفتاحية : زيت عطري، نبات الزعتر، الانتشار في وسط صلب، نشاط مضاد للجراثيم، المضادات الحيوية، المزج.