

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2018

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Physiologie cellulaire et Physiopathologie

Présenté par :

NOUAL Nour el houda & MADI Dyhia

ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE ET ANTIOXYDANTE DE L'HUILE ESSENTIELLE DU Thymus numidicus.

Soutenu le : 01 / 07/ 2018

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme. SAYAH Sihem</i>	<i>MAB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>M. KHERRAZ karim</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>Mme. AMMOUCHE Zahia</i>	<i>MAB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2017/2018

Remerciements

*A*vant tout nous remercions Dieu « ALLAH » le tout puissant pour nous avoir donné la santé, la force, le courage et l'intelligence nécessaires pour réaliser ce modeste travail.

*Un remerciement particulier et sincère
pour vous M. Kherraz
pour tous vos efforts fournis.
Vous avez toujours été présente.*

*Que ce travail soit un témoignage de notre gratitude et
notre profond respect.*

*Nous remercions les membres de jury, Mme. SAYAH et
Mme. AMMOUCHE, d'avoir accepté de
juger notre travail.*

*Nous remercions également M. CHERGUI et M. ADRAR
pour leurs aides et leurs bonnes orientations.*

*Enfin nous voulons dire merci à tous les enseignants du
département de Biologie de
l'université Akli Mohand Oulahdj Bouira pour l'aide
pendant notre formation d'étude.*



Dédicaces

Au meilleur des pères

À ma très chère maman

*Qu'ils trouvent en moi la source de leur
fierté À qui je dois tout*

À mes deux Frères

Fatah ET Samir

*À qui je souhaite un avenir radieux plein
de réussite*

À mes Amis

À tous ceux qui me sont chers

MADI DYHIA

*À la mémoire de mon père
J'aurais tant aimé que tu sois présent
Que Dieu ait ton âme dans sa sainte
miséricorde.*

*À ma très chère mère
Aucune dédicace ne saurait être assez
éloquente pour
exprimer ce que tu mérites pour tous les
sacrifices que tu n'as
cessé de me donner depuis ma naissance,
durant mon enfance
et même à l'âge adulte*

À mes Frères Abd al rahman Et fares

À mes sœurs Nadjat Et faten

À Zulikha Et Yasmine

*À mes chères amies À tous les gens qui
m'aiment*

NOUAL NOUR EL HOUDA

Sommaire

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Introduction 1

Chapitre I : Les huiles essentielles

I.1. Définition 3

I. 2. Production mondiale des huiles essentielles 3

I.3. Localisation des huiles essentielles dans la plante 3

I.4. Rôles des huiles essentielles..... 4

I.5. Propriétés physiques..... 4

I.6. Composition chimique 4

I.6.1.Composés terpéniques 4

 I.6.1.1.Les monoterpènes (C₅H₁₆) 5

 I.6.1.2.Les sesquiterpènes (C₁₅ H₂₄) 5

I.6.2.Composés aromatiques dérivés du phénylpropane 5

I.7. Facteurs influençant la composition chimique..... 5

 I.7.1.Facteurs intrinsèques..... 5

 I.7.2.Facteurs extrinsèques 6

I.8. Toxicité des huiles essentielles 6

I.9. Activités biologiques des huiles essentielles..... 7

 I.9.1. Activité antioxydante..... 7

 I.9.2. Activité antibactérienne 7

 I.9.3. Activité antifongique 8

I.10. Méthodes d'extraction des huiles essentielles..... 8

 I.10.1. Extraction par hydro distillation de l'huile essentielle..... 9

I.11. Description de la plante.....	9
I.12. Répartition géographique de l'espèce	10
I.13. Taxonomie	10
I.14. Propriétés de la plante	10
I.15. Les huiles essentielles du <i>Thymus numidicus</i>	11
I.16. Usage de la plante	11

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Matériel végétal	13
II.1.1. Origine et période de récolte de <i>Thymus numidicus</i>	13
II.2. Extraction de l'huile essentielle	13
II.2.1. Dispositif d'extraction	13
II.2.2. Procédé d'extraction	14
II.2.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue	14
II.2.4. Détermination du rendement d'extraction.....	14
II.3. Activités biologiques	15
II.3.1. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	15
II.3.1.1. Origine et choix des souches bactériennes	15
II.3.1.2. Conservation des souches	15
II.3.1.3. Choix des milieux de culture	15
II.3.1.4. Méthode des puits.....	16
II.4. Activité antioxydante	18
II.4.1. Méthode de DPPH	19

Chapitre III: Résultats et discussions

III.1. Rendement de l' huile essentielle	19
III.2. Activités biologiques	19
III.2.1. Activité antimicrobienne	19
III.2.2. Activité antioxydante.....	24

Conclusion	27
Références bibliographiques	28

Liste des abréviations

A : Absorbance.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

ARN : Acide Ribonucléique.

BHIB : Boillon cœur-cervele.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazile.

DMSO : Diméthylsulfoxyde..

GCMS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

GN : Gélose nutritif

HE: Huile Essentielle

IC50 : Concentration inhibitrice médiane.

MH: Muller Hinton.

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

M' : Masse de l'huile obtenue en gramme.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

PAM : Plantes aromatiques et médicinales.

Rd : Rendement de l'huile essentielle.

RNS: Reactive nitrogen species.

ROS: Reactive oxygen species.

Listes des figures

Figure 1. Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne.	8
Figure 2. Montage d'extraction par hydrodistillation.	9
Figure 3. Le thym : <i>Thymus numidicus</i> (poiret)	10
Figure 4. Montage d'hydrodistillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle.	13
Figure 5. Les étapes d'extraction d'huile essentielle.	14
Figure 6. <i>Faecalis enterococcus</i>	20
Figure 7. <i>Staphylococcus aureus</i>	20
Figure 8. <i>E.coli</i>	21
Figure 9. Histogramme présentant les zones d'inhibition pour toutes les souches bactériennes.	22
Figure 10. Activité antiradicalaire de l'huile de <i>Thymus numidicus</i>	25
Figure 11. Activité antiradicalaire de l'acide ascorbique	25

Liste des tableaux

Tableau II.1. : Les noms botaniques et les références des souches bactériennes utilisées.....	15
Tableau III.1 : Résultats de l'aromatogramme (diamètres des zones d'inhibition en mm de dilution et de DMSO).....	21
Tableau III.2 : Activité antiradicalaire par la méthode de DPPH.....	26

Introduction générale

Introduction générale

Introduction

L'utilisation des plantes pour leurs vertus médicinales est une pratique très ancienne. Elle trouve ses origines dans les plus grandes civilisations de l'orient et de l'occident. Comme en témoignent les textes rédigés plusieurs millénaires avant notre époque, les sumériens, les égyptiens, les chinois et les indous, possédaient toute une panoplie de remèdes à base de plantes (**Clément, 2005**).

L'Algérie, pays connu pour ces ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques(**Savona et al., 1982**).

De nombreux composés naturels isolés à partir de plantes ont montré un large spectre d'activités biologiques. Parmi ces différents types de substances naturelles, les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales ont reçu une attention particulière comme agents naturels à grand potentiel pour la conservation des aliments. En outre, les huiles essentielles ont effets pharmacologiques variées comme : antispasmodique, carminative, hépatoprotecteur, antiviraux, anticancéreux, et antioxydantes (**Viuda-Martos et al., 2011**).

La composition chimique en huile essentielle est fortement influencée par des facteurs biotiques et abiotiques. Elle dépend des conditions climatiques, saisonnières et géographiques ainsi que de la période de récolte de la plante voire de la technique d'extraction. En outre, l'activité antibactérienne des huiles essentielles est en relation directe avec la composition et la concentration en composés volatils, le type de microorganismes cibles, les conditions et les méthodes de traitement (**Baydar et al., 2004**).

Les espèces réactives oxygénées et azotées ROS / RNS sont produites en continu dans le corps humain et elles sont contrôlées par les enzymes endogènes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, la catalase). Quand il y'a une surproduction de ces espèces, suite à une exposition à des substances oxydantes externes ou un déséquilibre dans les mécanismes de défense, les dommages aux biomolécules majeures (ADN, acides aminés, lipides, protéines) peuvent survenir, ce qui donne lieu au stress oxydatif qui est impliqué dans diverses pathologie à savoir le cancer, le diabète, le vieillissement et plusieurs autres maladies (**Aruoma, 1998**).

Introduction générale

Au fil du temps, la résistance des microorganismes aux antibiotiques se manifeste de plus en plus, et l'utilisation de produits chimiques comme agents antimicrobiens a donné naissance à des maladies infectieuses graves (**Davies, 1994**).

Au cours de ces dernières années, la recherche de nouveaux procédés basés principalement sur l'utilisation de molécules extraites de façon naturelle a connu un regain d'intérêt dans la plupart des recherches scientifiques. De ce fait nous nous sommes intéressés à étudier une plante du Nord algérien dont le but est d'exploiter de nouveaux composés comme alternatives aux produits chimiques.

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont le but principal est d'étudier les activités antioxydants et antimicrobiennes de différentes huiles essentielles de *Thymus numidicus*. La majorité des recherches ont étudié les polyphénols, flavonoides, alors que certaines d'entre elles ont étudié les extraits organiques et aqueux.

L'objectif général de notre travail consiste à la valorisation de la flore de la région Nord Algérien, par la recherche des composés qui peuvent avoir une utilisation thérapeutique. Pour cela, une plante, de la famille des *Lamiaceae* a fait l'objet d'une étude phytochimique : *Thymus numidicus*.

La présente étude, vise à évaluer les activités antibactériennes et antioxydantes de l'huile essentielle issue de *Thymus numidicus* récoltée à Bouira.

Dans le premier chapitre nous effectuons un rappel bibliographique sur les huiles essentielles, la botanique de la famille *Lamiaceae*, l'espèce *Thymus numidicus* et son utilisation.

Le deuxième chapitre présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail à savoir : l'extraction des huiles essentielles de *Thymus numidicus*, test de sensibilités des bactéries vis-à-vis de notre huile essentielle et l'activité antiradicalaire DPPH.

Le troisième chapitre aborde les différents résultats et leurs discussions.

Enfin, une conclusion générale qui portera sur une lecture attentive des différents résultats obtenus.

Chapitre I :
Revue
bibliographique

I.1. Définition

Une huile essentielle est définie comme un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques. La pharmacopée européenne définit les huiles essentielles comme : « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (**Bencheikh, 2017**).

I. 2. Production mondiale des huiles essentielles

Plusieurs pays tirent une grande partie de leurs ressources de l'exploitation des plantes à huiles essentielles. On estime aujourd'hui à environ 40 000 le nombre d'espèces aromatiques croissant dans le monde dont 3 000 ont été étudiées et 300 espèces sont exploitées industriellement (**De Souza et al., 2006**). Plus de 90 % des espèces à étudier et à valoriser poussent dans les pays tropicaux (**Ouamba, 1991**).

I.3. Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles sont produites dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors stockées dans des cellules à huiles essentielles (Lauraceae ou Zingiberaceae), dans des poils sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (Apiaceae ou Asteraceae). Elles peuvent aussi être transportées dans l'espace intracellulaire lorsque les poches à essences sont localisées dans les tissus internes. Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes (**Laib, 2012**).

En raison de leur caractère lipophile et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air (**Laib, 2012**).

I.4. Rôles des huiles essentielles

Les essences fabriquées par les plantes servent à attirer les insectes et à en repousser d'autres. Elles jouent un rôle relationnel. Les plantes émettent des molécules volatiles pour attirer les pollinisateurs éventuels.

Ces essences, qui sont des molécules chimiques naturelles, sont produites pour inhiber la croissance des plantes voisines, ayant une implication anti-germinative. Elles sont tout aussi bien élaborées quand la plante est attaquée par des prédateurs (herbivores) (**Khamouli & Grazza, 2007**).

I.5. Propriétés physiques

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques : Elles sont généralement des liquides à la température ambiante, incolores ou jaune pâle et peu soluble dans l'eau et solubles dans les alcools de titres élevés, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1 et possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire. Elles sont également très sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser pour former des produits résineux (**Bruneton, 1993**).

I.6. Compositions chimiques

La composition chimique d'une huile essentielle est très complexe et soumise à de très nombreuses variables.

Une huile essentielle renferme majoritairement des terpènes volatils, issus de la condensation d'unités isopréniques, et des dérivés aromatiques dérivés du phénylpropane.

I.6.1. Composés terpéniques

Seuls les monoterpènes en C₁₀ et les sesquiterpènes en C₁₅ peuvent être extraits par distillation, les autres terpènes (diterpènes en C₂₀ et triterpènes en C₃₀) n'étant pas entraînés par la vapeur d'eau. Ils sont classés selon :

- leurs fonctions : alcools (géraniol, linalol), esters (acétate de linalyle), aldéhydes (citral, citronellal), cétones (menthone, camphre, thuyone), éthers-oxydes (cinéole) ;

• leur structure : linéaire (farnésène, farnésol), monocyclique (humulène, zingibérène), bicyclique (cadinène, caryophyllène, chamazulène) ou tricyclique (cubébol, patchoulol, viridiflorol) (**Couic-Marinier & Lobstein, 2013**).

I.6.1.1. Les monoterpènes (C₅H₁₀)

Les monoterpènes sont surtout présents chez les conifères. Composés anti-infectieux (bactéricides, virucides et fongicides), qui doivent être utilisés parallèlement aux phénols, selon les cas, lors d'infections, ce sont également d'excellents immunostimulants. Ils ont une action révulsive sur la peau et sont utiles en cas de douleurs localisées : ce sont de bons antalgiques à action percutanée. Moins violents que les phénols (**Couic-Marinier & Lobstein, 2013**).

I.6.1.2. Les sesquiterpènes (C₁₅H₂₄)

Les sesquiterpènes sont légèrement hypotenseurs, calmants et anti-inflammatoires. Les azulènes confèrent aux HEs qui les renferment une couleur bleu sombre (HE de matricaire). Ils peuvent être dermocaustiques et néphrotoxiques (**Couic-Marinier & Lobstein, 2013**).

I.6.2. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et sesquiterpènes. Citons l'acide cinnamique et l'aldéhyde cinnamique (HE de cannelle), l'eugénol (HE de girofle), l'anéthole et l'aldéhyde ainsi que (HE de badiane, d'anis, de fenouil), ainsi que le safrole (HE de saffran) (**Couic-Marinier & Lobstein, 2013**).

I.7. Facteurs influençant la composition chimique

Le rendement et la composition chimique des huiles essentielles varient d'une espèce à une autre. Cette variabilité peut être liée à des facteurs extrinsèques et intrinsèques.

I.7.1. Facteurs intrinsèques

Une huile essentielle doit avant être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue pour éviter toutes dénominations trompeuses du matériel végétal, L'influence du stade végétatif, l'organe de la plante et le polymorphisme chimique « chimio types ou formes

physiologiques » sont les principaux facteurs intrinsèques qui influencent la composition et le rendement des huiles essentielles (Aissani, 2015).

I.7.2. Facteurs extrinsèques

Il s'agit de l'indice des facteurs de l'environnement et des pratiques culturelles. La température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime des vents exercent une influence directe, surtout chez les espèces qui possèdent des structures histologiques de stockage superficielles (ex : poils sécréteurs des lamiaceae). Lorsque la localisation est plus profonde la qualité est beaucoup plus constante (Jean, 2009).

I.8. Toxicité des huiles essentielles

Les substances naturelles peuvent présenter des effets néfastes pour l'homme au même titre que certaines substances synthétiques. Les huiles essentielles contenant surtout des phénols et des aldéhydes peuvent irriter la peau, les yeux et les muqueuses. De plus, certaines huiles essentielles peuvent provoquer des réactions cutanées allergiques (Beidjord, 2015).

Les huiles essentielles qui sont utilisées en parfumerie peuvent irriter les muqueuses respiratoires et favoriser le déclenchement de crises d'asthme pour les asthmatiques (comme par exemple les sprays désodorisants) (Beidjord, 2015).

Une ingestion accidentelle d'huile essentielle peut, selon la sorte et la quantité, générer une intoxication grave qui peut conduire à un coma et même la mort. Les huiles essentielles très liquides peuvent parvenir dans les voies respiratoires si elles sont malencontreusement avalées ou vomies. Cela peut conduire à une inflammation des poumons (pneumonie) (Beidjord, 2015).

Certaines huiles essentielles issues de l'extrait du : citron, l'orange amère et la bergamote deviennent toxiques sous l'influence de la lumière.

De plus, les huiles essentielles contenant des phénols sont toxiques pour le foie (clou de girofle, thym, origan). Les cétones et dans une moindre mesure les lactones sont neurotoxiques (romarin, sarriette, cèdre, camphre, thuya, aneth, hysope).

La toxicité des huiles essentielles peut aussi provenir des contaminants (si l'huile essentielle est impure) et/ou des produits de dégradation de celles-ci car elles se modifient à l'air, à la chaleur et à la lumière. En effet la combustion de bâtons d'encens et de bougies parfumées ou seulement l'évaporation à chaud d'huile essentielle peut libérer des substances

de combustion, des poussières fines, du formaldéhyde et d'autres substances volatiles qui peuvent affecter les voies respiratoires (Beidjord, 2015).

I.9. Activités biologiques des huiles essentielles

Les extraits d'huiles essentielles possèdent des propriétés antioxydantes, antibactériennes et antifongiques connues de longues dates (Dongmo *et al.*, 2002).

L'activité biologique d'une huile essentielle est en relation avec sa Composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son «totum» ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses Composés majoritaires (Lahlou, 2004).

I.9.1. Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir.

Il existe deux sortes d'activité antioxydante selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne autocatalytique de l'oxydation). En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène... etc (Chemloul, 2014).

I.9.2. Activité antibactérienne

Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles sont bien connues et bien documentées. En effet, de nombreux travaux de recherche ont mis en évidence leur puissante activité antiseptique agissant aussi bien sur les bactéries, les champignons pathogènes que les virus.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles est la plus étudiée. On distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur ces microorganismes :

- Effet bactéricide (bactéricidie) : exerçant une activité mortelle
- Effet bactériostatique (bactériostase) : entraînant une inhibition de la croissance.

Plusieurs mécanismes sont mis en jeu : Précipitation des protéines et des acides nucléiques ; Inhibition de la synthèse des macromolécules (ADN, ARN, protéines et peptidoglycane) et de la perméabilité membranaire sélective et détérioration membranaire ; Modification de la morphologie de la cellule bactérienne et l'absorption et la formation d'un film autour de la cellule bactérienne avec inhibition des processus de respiration, d'absorption et d'excrétion (Figure 1) (Bencheikh, 2017).

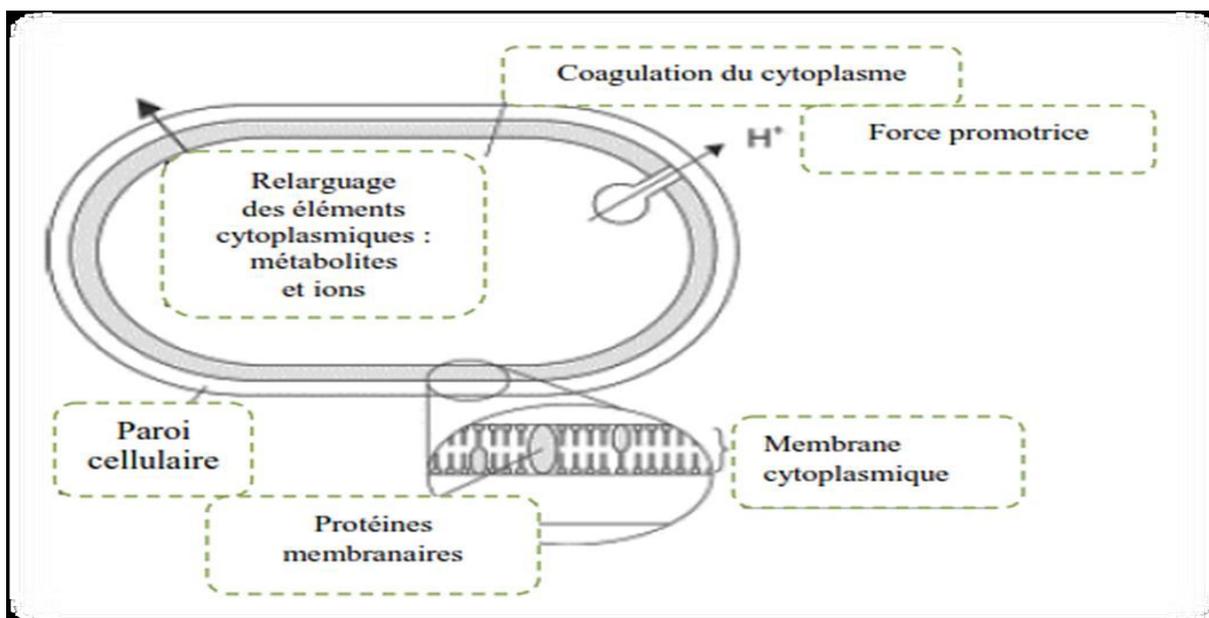


Figure 1. Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne. (Burt, 2004)

I.9.3. Activité antifongique

Les huiles essentielles ont un grand pouvoir antifongique aérien et cutané. Les modes d'actions antifongiques sont assez semblables à ceux décrits pour les bactéries. Cependant, il faut y ajouter deux phénomènes supplémentaires inhibant l'action des levures: l'établissement d'un gradient de pH et le blocage de la production d'énergie des levures ("**phénomène de respiration**").

La plupart des composés terpéniques sont de très bons agents antifongiques. Le thymol, le carvacrol, et l'eugénol sont les composés les plus actifs (Khaldi, 2017).

I.10. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Plusieurs méthodes existent pour extraire les huiles essentielles. Elles sont basées principalement sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de plusieurs paramètres tels que la

nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, et l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction.

I.10.1. Extraction par hydro distillation de l'huile essentielle

Ce mode d'extraction a été proposé par Garnier en 1891, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les HE et pouvoir les séparer à l'état pur mais aussi de fournir de meilleurs rendements. Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparée par différence de densité (figure 2) (Bruneton, 1993).

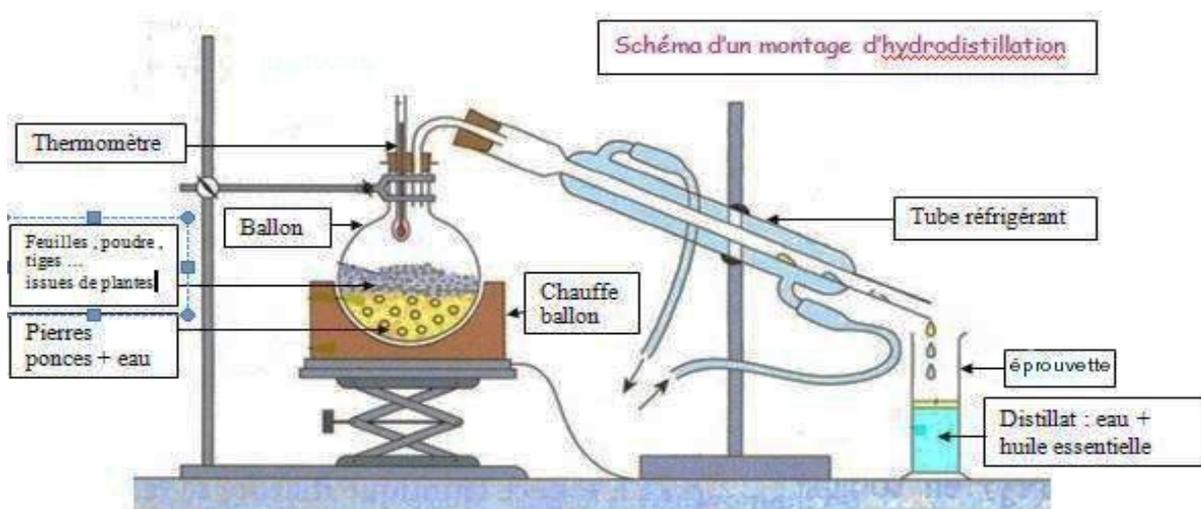


Figure 2. Montage d'extraction par hydrodistillation (anonyme 1)

I.11. Description de la plante (*Thymus numidicus*)

Thymus numidicus est un petit arbuste à tiges érigées haut de 5 à 6 pouces, qui se divise dès sa base en branches et en rameaux nombreux, garnis de feuilles linéaires, 2 à 5 fois plus longues que larges, sessiles, plus longues que les entrenœuds. Les fleurs sont petites, purpurines, réunies à l'extrémité des rameaux en épis courts, épais, et formant la tête; leur calice est très velu (figure 3). Cette plante croit dans les lieux arides et pierreux, en Barbarie (Kouch, 2014).



Figure 3. Le thym : *Thymus numidicus* (poiret) (Saidj, 2007).

I.12. Répartition géographique de l'espèce

Thymus numidicus est une espèce endémique algérienne, que l'on retrouve dans le secteur de l'Atlas tellien, la grande et la petite Kabylie, au niveau du Tell constantinois et de Skikda à la frontière tunisienne.

I.13. Taxonomie

La classification du *Thymus numidicus* (El Ajjouri, Satrani *et al.*, 2008)

Embranchement	Phanérogames
Classe	Dicotylédones
Ordre	Tribuflorales
Famille	Lamiaceae
Sous-famille	Nepetoideae
Tribu	Menthone
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>numidicus</i>

I.14. Propriétés de la plante

Le *Thymus numidicus* est attribué dans l'Assaisonnement des aliments et des boissons, un bon antiseptique, désinfectant dermique et un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures. Les principaux

constituants du thym montrent des propriétés vermifuges et vermicides (**Bazylo & Strzelecka, 2007**), Propriétés antivirales, antifongiques, anti inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes de *Thymus vulgaris* inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose) (**Camacho-Arroyo et al., 2017**), Propriétés antioxydants (**Golmakani & Rezaei, 2008**) . En raison de ces propriétés, le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons *Thunnus thynnus* durant leur stockage (**Selmi & Sadok, 2008**).

I.15. Les huiles essentielles de *Thymus numidicus*

Les huiles essentielles de thym (*Thymus numidicus* (Poiret)) d'Algérie ont été isolées par distillation à la vapeur, analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GCMS).L'huile essentielle de thym a un aspect liquide mobile, de couleur jaune et une agréable odeur aromatique et légèrement épicée.

Cette huile est caractérisée par un contenu important dans le composé oxygéné. Thymol et carvacrol sont les principaux composés avec 51,0% et 9,4% respectivement; linalol et thymol-méthyl-éther qui sont les seconds composés plus abondants sont présents respectivement à 3,3% et 3,2% et le p-cymène présent avec 0,5%, est le seul monoterpène identifié. Parmi les sesquiterpènes identifiés, le l'isocaryophyllène est le plus abondant avec 2,7% (**Saidj et al., 2008**).

I.16. Usage de la plante

Le thym est utilisé fréquemment par les populations autochtones grâce à ses diverses propriétés importantes. C'est une plante aromatique très odorante, utilisée dans la cuisine algérienne pour faire les différents plats ; recommandée contre tous les types de faiblesse, et indiquée pour les crampes d'estomac, les inflammations pulmonaires et les palpitations, ainsi que les affections de la bouche, les contusions (lésion produite par un choc sans déchirure de la peau), et les accidents articulaires (**Haddouche, 2011**).Il est considérée aussi comme l'un des remèdes populaires les plus utiles et efficaces, dans le traitement des affections respiratoires ; rhume, grippe, et angine. Il contribue également dans le nettoyage et la cicatrisation des plaies, et aussi l'expulsion des gaz intestinaux (**Hans, 2007**).

Il entre aussi dans la composition de produits cosmétiques. Son huile essentielle riche en thymol est couramment utilisée pour la confection de savons et d'autres produits (**Saidj *et al.*, 2008**).

Chapitre II :
Matériels et méthodes

L'extraction et l'étude de l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus numidicus* est réalisée au laboratoire pédagogique de la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre de l'université Akli Mohand Oulahdj Bouira.

II.1. Matériel végétal

II.1.1. Origine et période de récolte de *Thymus numidicus*

Thymus numidicus a été récolté au début de mois de mai de l'année 2018, dans la région de Ait laziz dans la wilaya de Bouira.

Seule la partie aérienne (feuilles et tiges) est utilisée pour l'obtention des huiles essentielles.

II.2. Extraction de l'huile essentielle

II.2.1. Dispositif d'extraction

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clévenger. Il est constitué d'une chauffe ballon, un ballon en verre pyrex où l'on place le matériel végétal et de l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et un collecteur en verre pyrex également qui reçoit les extraits de la distillation.

(Figure 4)



Figure 4. Montage d'hydrodistillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle.

II.2.2. Procédé d'extraction

L'extraction de l'huile essentielle du *T.numidicus* est faite selon le plan suivant (figure 5)

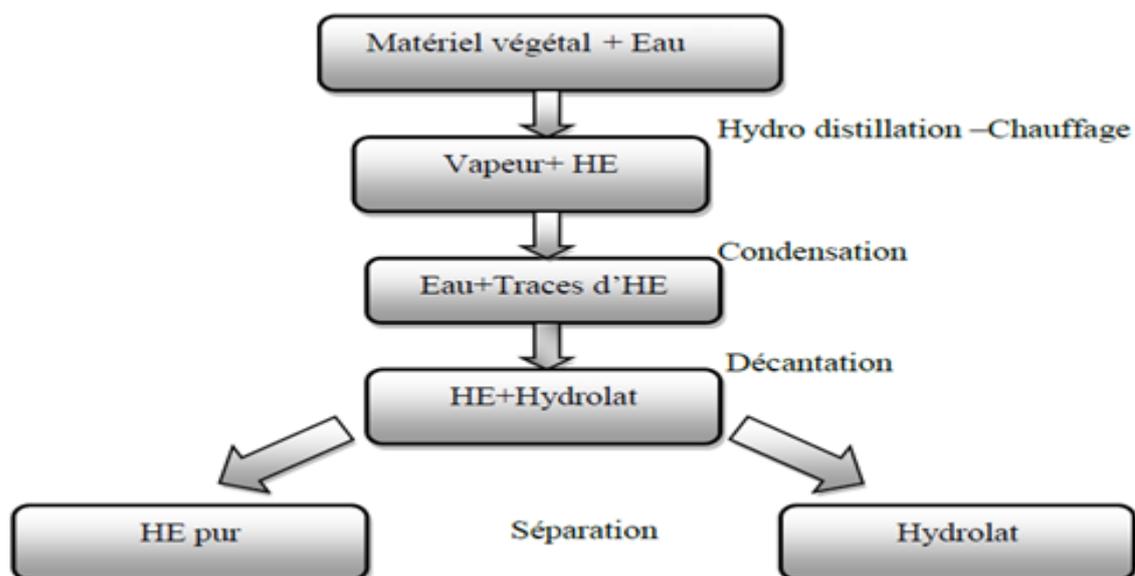


Figure 5. Les étapes d'extraction d'huile essentielle (Belkhiri, 2015).

II.2.3. Conservation de l'huile essentiel obtenue

L'huile essentielle extrait est conservée à une température de 4°C, dans un flacon en verre stérile fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière (en utilisant le papier d'aluminium).

II.2.4. Détermination du rendement d'extraction

Selon la norme (Association française de, 1986), le rendement en huile essentielle (Rd), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est donné par la formule suivante :

$$Rd = \frac{M'}{M} \cdot 100$$

Rd: Rendement en huile essentielle exprimée en pourcentage (%).

M': Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme (g).

M: Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme (g).

II.3. Activités biologiques :

II.3.1. Evaluation de l'activité antibactérienne

C'est une méthode in-vitro du pouvoir antibactérien des composés. La technique utilisée est celle du contact direct, qui compte deux méthodes : la méthode des puits et la méthode des disques.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thymus numidicus* est réalisée par la méthode des puits, au niveau du laboratoire pédagogique du département des sciences Biologiques de l'Université Akli Mohand Oulhadj Bouira.

II.3.1.1. Origine et choix des souches bactériennes

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus numidicus* a été évaluée sur trois souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*).

Ces souches nous ont été fournies par le laboratoire de recherche de biologie de l'Université de Bouira (**Tableau II.1**)

Tableau II.1 : Les noms botaniques et les références des souches bactériennes utilisées

Bactéries	Souches	Références
Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
Gram négatif	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922

II.3.1.2. Conservation des souches

Les souches bactériennes ont été conservées à 4°C, dans la gélose nutritive inclinée.

II.3.1.3. Choix des milieux de culture

Suivant les méthodes employées dans l'essai et selon les souches. Les milieux de culture utilisés sont comme suites : Gélose nutritif (GN), Muller Hinton (MH) et boillon cœur cervelle (BHIB).

II.3.1.4. Méthode des puits

La méthode des puits est la technique choisie pour déterminer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle à tester. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des huiles essentielles sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri. Cette méthode nous permet de mettre en évidence l'effet antibactérien de l'huile essentielle sur les bactéries, ainsi que la détermination de la résistance ou la sensibilité de ces bactéries vis-à-vis de cette huile essentielle. Cette méthode consiste à faire des puits remplis d'une quantité de l'huile essentielle à la surface de la géloseensemencée par les germes à tester et de mesurer les diamètres d'inhibition en millimètre (mm) après incubation.

Mode opératoire**➤ Isolement des souches bactériennes**

Le prélèvement des souches bactériennes sont testés par anse et ensemencés selon la méthode de stries sur une boîte de Pétri coulée par gélose nutritive puis incubé 18 à 24 heures à 37 °C, pour l'obtention des souches pures et jeunes.

➤ Préparation de milieu de culture MH

Faire fondre le milieu de culture Mueller –Hinton dans un bain marie à 95°C, puis couler aseptiquement dans les boîtes de Pétri à raison de 15 ml (la moitié de la boîte) par boîte, on laisse refroidir et solidifier sur la paillasse.

➤ Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture jeune de 18h, on réalise des suspensions en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées, qu'on dépose dans 9 ml d'eau physiologique stérile, puis on agite au vortex pendant quelques secondes.

Pour le calcul de la transmittance, on utilise un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 625 nm. La transmittance doit être entre 0.08 et 0.1, ce qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 germes /ml.

➤ **Ensemencement**

Cette opération se fait après la préparation de l'inoculum, avec un écouvillon on prend des colonies bactériennes, puis on flotte l'écouvillon sur la totalité de la surface de MH, en haut et bas, en strie serrées, un étalement uniforme en nappe et laisser sécher les boîtes pendant 15 à 20 min.

➤ **Préparation de dilution**

Le but est d'avoir une dilution de 1%. Prendre 100 µl de l'huile essentielle de *Thymus numidicus* puis ajouté 9900 µl de DMSO et bien agité.

➤ **Dépôt des puits**

Creuser des puits de 6 mm de diamètre à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Dans le but d'éviter la surfusion des extraits sous la gélose et on remplit chaque puits comme suite :

-1er puits : 10 µl d'HE dilué de *Thymus numidicus*.

-2ème puits : 10 µl de DMSO comme témoin négatif.

Les boites de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à la température ambiante pendant 30 minutes, ensuite mises à l'étuve à la température de 37 °C pendant 24h.

➤ **Lecture**

L'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibitions de la croissance microbienne autour des puits contenant l'extrait à tester.

Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibitions et peut être symbolisés par des croix. La souche ayant un diamètre :

Non sensible (-) pour $\text{Ø} < 8$ mm.

Sensible (+) pour 9-14 mm.

Très sensible (++) pour Ø 15-19 mm.

Extrêmement sensible (+++) pour $\text{Ø} > 20$ mm. (Ponce *et al.*, 2003)

II.4. Activité antioxydante

II.4.1. Méthode de DPPH

Pour évaluer l'activité antioxydante de l'huile essentielle nous avons utilisé la méthode du DPPH (1,1-diphényl-di-picrylhydrazyl) avec des modifications.

La solution de DPPH est obtenue en dissolvant 4 mg de la poudre dans 100 ml de l'éthanol. L'huile essentielle a été préparée par dissolution dans l'éthanol absolu. Le test s'effectue en mélangeant 1 ml de la solution précédente de DPPH avec 1ml de l'huile à tester à différentes concentrations. Après une période d'incubation de 30 minutes à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm.

Selon (Chen *et al.*, 2004; Leitão *et al.*, 2002), L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est calculé de la manière suivante

$$I \% = ([A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}] / A \text{ blanc})$$

Avec :

A blanc : l'absorbance du témoin (contenant tous les réactifs sans le produit à tester).

A échantillon : l'absorbance du test.

Le graphique de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'huile essentielle permet de déterminer l'IC 50 correspondant à 50 % d'inhibition et qui constitue l'activité antioxydante de l'huile essentielle. Cette valeur est comparée à celle trouvée pour le composé de référence.

Chapitre III
Résultats et discussions

III.1. Rendement de l'huile essentielle

Les échantillons de *Thymus numidicus* ont fourni un taux relativement faible d'environ 0,4%. Ce rendement peut être considéré comme faible par rapport des rendements plus élevés ont été rapportés par (Hadeb *et al.*, 2007), lors d'un travail réalisé sur la même espèce qui est de 1,1%. Même constatation quant aux résultats de (Djeddi *et al.*, 2015) qui ont obtenu un rendement de 1,02% pour la même espèce récoltée à Annaba en période de floraison, Et par (Ghorab, Kabouche, & Kabouche, 2014), ils sont de l'ordre de 2% pour l'huile essentielle de *T. numidicus* de la région de Constantine et de 2,4% pour l'huile essentielle de *T. numidicus* de la région d'Azzazga.

Les divergences observées seraient dues à plusieurs facteurs, notamment les facteurs bioclimatiques et environnementaux, la période de la récolte, l'effet de la technique d'extraction sur le rendement (Sánchez *et al.*, 2010).

III.2. Activités biologiques

III.2.1. Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles sont reconnues par leurs composants naturels, comme les monoterpènes, diterpènes et les hydrocarbures avec des groupes fonctionnels divers. Dans les années 1990, Muanza et ses collaborateurs ont recherché des extraits de plantes potentiellement bioactifs contre les bactéries et les moisissures (Muanza *et al.*, 1995; Muanza *et al.*, 1994). Depuis, beaucoup d'autres chercheurs ont rapporté l'effet antimicrobien (Cowan, 1999; Hoffman *et al.*, 2004; Mau, Chen, & Hsieh, 2001; Sivropoulou *et al.*, 1997) et antifongique (Adam *et al.*, 1998; Daferera *et al.*, 2000; Moretti *et al.*, 1998; Mueller-Riebau *et al.*, 1995; Rakotonirainy & Lavédrine, 2005; Sridhar *et al.*, 2003) des huiles essentielles dans l'application agroalimentaire, la recherche pharmaceutique et dans d'autres domaines. Plusieurs composés sont souvent cités comme responsable des propriétés antiseptiques des huiles essentielles: le thymol, le carvacrol, le cinnamaldéhyde, l'eugénol, le 1,8-cinéole, le camphre et les thujones (Hubert & Schäfer, 2008).

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *T. numidicus* est évaluée sur trois germes pathogènes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C.

Cette activité est évaluée par la méthode de diffusion des puits, le pouvoir antibactérien de cette huile essentielle est obtenu par la mesure du diamètre de zone d'inhibition en (mm) à l'aide d'une règle (Figures 6, 7,8).



Figure 6. *Faecalis enterococcus*



Figure 7. *Staphylococcus aureus*

Figure 8 *E.coli*

Pour l'huile essentielle de *T. numidicus*, les résultats de l'activité antibactérienne est résumée dans le **tableau III.1**.

Tableau III.1 : Résultats de l'aromatogramme (diamètres des zones d'inhibition en mm de dilution et DMSO)

Produits testés	Témoin DMSO	HE PURE	HE Diluée
<i>Escherichia coli</i>	-	-	6 mm
	-	-	10mm
	-	-	10mm
Moyenne	-	-	8.66mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	6mm
	-	-	10mm
	-	-	10mm
Moyenne	-	-	8.66mm
<i>Faecalis enterococcus</i>	-	-	10mm
	-	-	30mm
	-	-	30mm
Moyenne	-	-	23.33mm

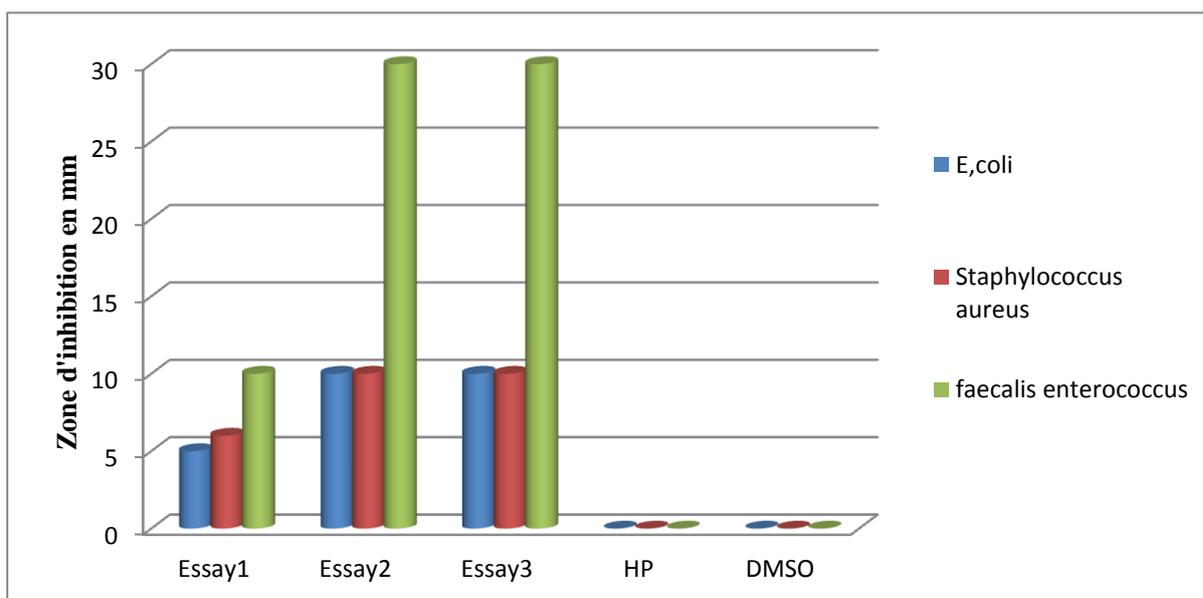


Figure 9. Histogramme présentant les zones d'inhibition pour toutes les souches bactériennes.

A partir des résultats des diamètres des zones d'inhibition dans le (**Tableau III.1**) et (**Figure 9**). L'HE de *Thymus numidicus* a montré une activité antibactérienne par rapport à toutes les souches bactériennes testées, la concentration de 1% a été largement suffisante pour arrêter la croissance de *Faecalis enterococcus* (Gram +) qui s'est montré le plus vulnérable à cette HE par des zones d'inhibitions (10mm / 30mm/ 30mm), suivi du *Staphylococcus aureus* (Gram +) par des zones d'inhibitions (6mm/ 10 mm/ 10mm) et d'*Escherichia coli* (Gram -) par des zones d'inhibitions (6mm/ 10mm/ 10mm) .

Selon les études antérieures (**Ponce et al., 2003**) :

- *Faecalis enterococcus* : Extrêmement sensible (+++)
- *Staphylococcus aureus* : Sensible (+)
- *Escherichia coli* : Sensible (+)

➤ *Escherichia coli*

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'HE sur ces souches sont tout à fait satisfaisants, les diamètres obtenus vont de 49,1 à 69 mm et la CMI varie entre 0,34 et 0,67 mg/ml (**Kouch et al., 2014**).

➤ *Staphylococcus aureus*

Ces mêmes souches se sont montrées très sensibles à l'huile essentielle testée puisque les diamètres des zones d'inhibitions sont très importants, ils sont compris entre 32 et 78 mm, la CMI quant à elle est de 0,34 mg/ml (Kouch *et al.*, 2014).

➤ *Faecalis enterococcus*

L'HE de *Thymus fontanesii* pure a une forte activité sur toutes les souches bactériennes testées (D >30 mm) sauf sur *Pseudomonas aeruginosa* (D <16mm). Elle diminue la masse mycélienne de *Staphylococcus aureus*, de *Bacillus subtilis*, de *Faecalis enterococcus*.

Le thymol a une activité très fortement inhibitrice sur *Faecalis enterococcus* (26mm) (Mebarki, 2010).

L'étude de l'activité antimicrobienne des deux types d'huiles essentielles nous a permis de constater que l'huile essentielle de *Thymus pallezens* est efficace sur la totalité des souches testées.

L'activité inhibitrice de ces huiles est aussi plus accentuée sur les bactéries Gram positif que sur les bactéries Gram négatif avec *Enterococcus faecalis* comme bactérie la plus sensible aux deux huiles (Bélilia Belkheir *et al.*, 2012).

Des études antécédentes ont montré que la majorité des HEs testées pour leurs propriétés antibactériennes ont un effet plus prononcé contre les Gram +. La résistance des Gram – est attribuée à leur membrane externe hydrophile qui peut bloquer la pénétration de composés hydrophobes dans la membrane cellulaire cible (Wan, Wilcock, & Coventry, 1998).

Cette activité antibactérienne des HEs pourrait être expliquée par l'interaction moléculaire des groupements fonctionnels des composants des HEs avec la paroi des bactéries ce qui provoque de profondes lésions. On peut conclure donc que cette activité peut être le résultat d'un effet synergique entre plusieurs composés de cette HE (Senatore *et al.*, 2005).

Les espèces du genre *Thymus* sont connues par leurs activités antibactériennes importantes, cette activité est due à leur composition chimique riche en composés phénoliques tels que le thymol et le carvacrol. En effet, la composition chimique de 162 espèces

différentes analysées appartenant au genre *Thymus* a montré que 77 espèces contient plus de 10 % en thymol et 73 espèces ont plus de 10 % en carvacrol (**Sthal-Biskup & Saez, 2002**).

III.2.2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante est tributaire de la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des composés phénoliques de l'huile essentielle. En présence d'un radical libre DPPH, l'atome H est transféré sur ce dernier alors transformé en une molécule stable DPPH, ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre et également l'absorbance au cours du temps de réaction jusqu'à l'épuisement de la capacité d'antioxydant donneur d'hydrogène (**Masuda et al., 1999; Villano et al., 2007**).

Le DPPH présente une coloration violette sombre mais lorsqu'il est piégé par des substances antioxydantes sa couleur vire vers le jaune pâle, le virage vers cette coloration et l'intensité de cette coloration dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance anti-radicalaire (**Rolland, 2004**).

L'utilisation du radical par le DPPH a le même mécanisme que celui des antioxydantes des aliments (**Bounatirou et al., 2007**).

L'activité antiradicalaire de l'huile essentielle a été évaluée par le test du piégeage du DPPH, cette valeur a été comparée à celle de l'acide ascorbique qui est un antioxydant synthétique de référence. **Les figures 10 et 11** représentent respectivement le suivi de la réduction du DPPH en solution par l'acide ascorbique et par l'huile essentielle de *Thymus numidicus*.

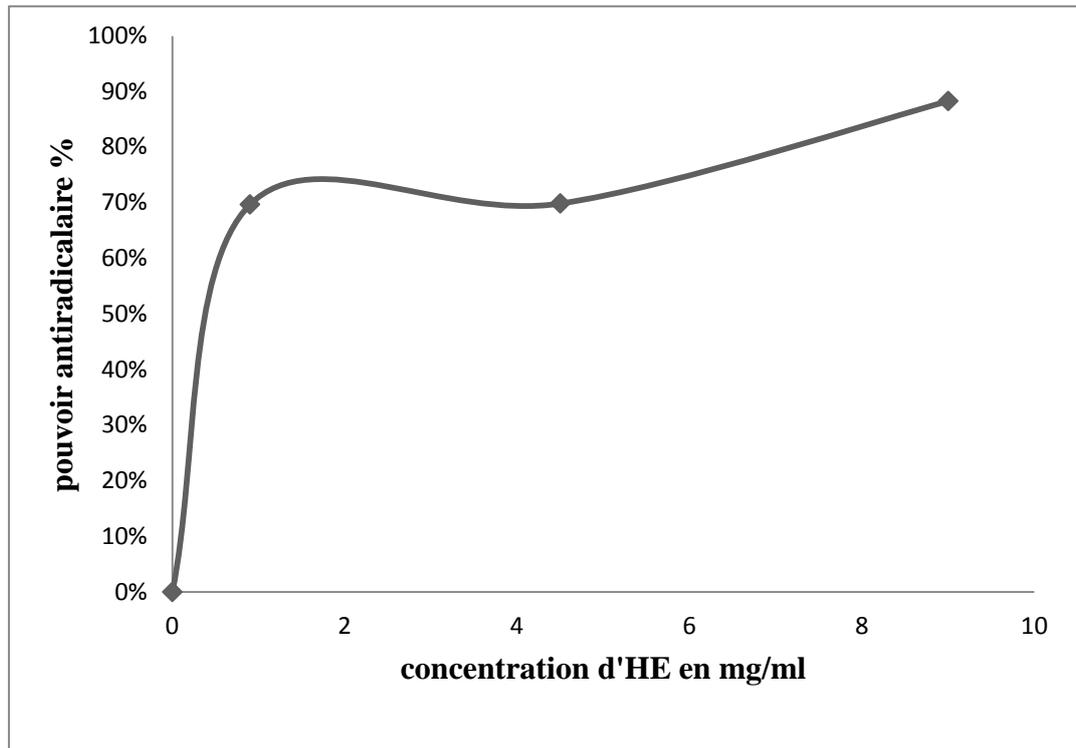


Figure 10. Activité antiradicalaire de l'huile essentielle du *Thymus numidicus*.

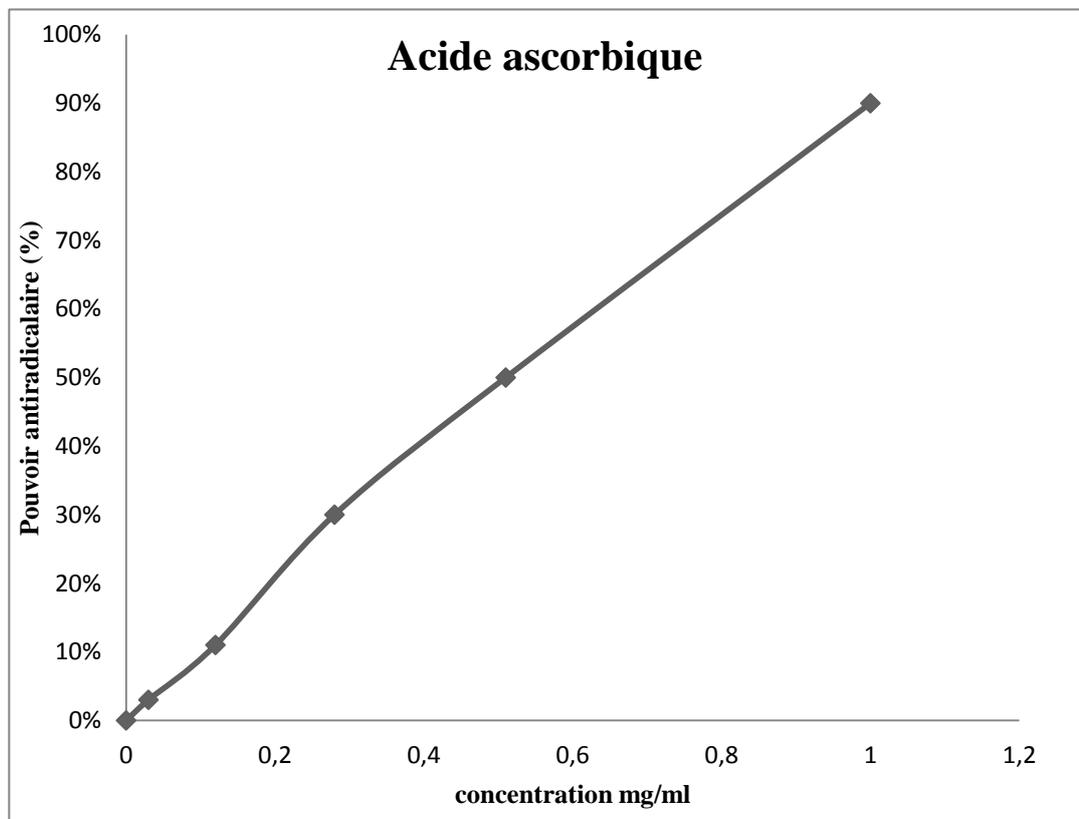


Figure 11. Activité antiradicalaire de l'acide ascorbique.

Tableau III.2 : Activité antiradicalaire par la méthode de DPPH

	Huile essentielle du <i>Thymus numidicus</i>	Acide ascorbique
DPPH IC50 (mg/ml)	0.5± 0,03 mg/ml	0.51± 0,004 mg/ml

Les résultats obtenus nous permettent de constater que l'activité antiradicalaire est dose dépendante, comme cela a été rapporté par plusieurs auteurs (**Dongmo et al., 2002**), car elle augmente avec l'augmentation de la concentration de l'antioxydante dans le milieu réactionnel, aboutissant à un plateau qui correspond à l'éradication presque totale du DPPH.

L'activité antioxydant des huiles essentielles du thym a été évaluée au moyen du test DPPH. Les concentrations qui fournissent 50% d'inhibition (IC50) sont calculées à partir des courbes de la **figure 10 et 11** et sont présentées dans le **tableau III.2** (les IC50).

Dans la présente étude, l'IC50 de l'huile essentielle de *T. numidicus* a été estimé à (0.5± 0,03 mg/ml). Ce résultat témoigne d'un potentiel antiradicalaire satisfaisant, comparée à celui du de l'acide ascorbique (0.51± 0,004 mg/ml). Les résultats des travaux réalisés sur *T. numidicus* sont divergents, ceux de (**Djeddi et al., 2015**) qui ont travaillé sur *T. numidicus* d'Annaba sont en accord avec les nôtres, puisque l'IC 50 rapporté s'élève à 0.5mg/ml. Alor que les résultats obtenus par (**Hazzit, Baaliouamer, Faleiro, & Miguel, 2006**) attestent que l'huile essentielle de *T. numidicus* récolté au centre algérien (*Azzazga*) est dotée d'un fort potentiel antioxydante.

D'après (**Ruberto & Baratta, 2000**), les composés terpéniques sont à l'origine de l'activité antioxydante des huiles essentielles, leur mécanisme d'action est le piégeage des radicaux libres par transfert d'un atome d'hydrogène sur le DPPH qui devient stable sous sa forme DPPH (**Sánchez-Moreno, Larrauri, & Saura-Calixto, 1998**).

Conclusion générale

Conclusion générale

Conclusion générale

Un grand nombre de plantes aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés biologiques différentes. Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les huiles essentielles extraites de ces plantes aromatiques. Cependant, les travaux de recherche sur les propriétés antioxydantes, antibactériennes et antifongiques de certaines plantes sont rares. Par conséquent, l'évaluation de telles propriétés demeure une tâche intéressante et utile, en particulier pour trouver de nouvelles sources d'agents antimicrobiens naturels. Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer *in vitro* des activités antibactériennes et antioxydantes de l'huile essentielle extraite des fleurs de *Thymus numidicus*.

L'extraction de l'huile essentielle de *T.numidicus* a été réalisée par hydrodistillation. Le rendement a été voisin de 0.4%.

L'évaluation de l'activité antibactérienne, par la méthode des puits nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de *Thymus numidicus* vis-à-vis des trois bactéries. Ce pouvoir est relativement fort, avec des zones d'inhibition variant entre 6 et 30 mm.

Concernant l'activité antiradicalaire, l'IC50 de l'huile essentielle de *T. numidicus* a été estimé à $(0.5 \pm 0,03 \text{ mg/ml})$. Ce résultat témoigne d'un potentiel antiradicalaire satisfaisant, comparée à celui du de l'acide ascorbique $(0.51 \pm 0,004 \text{ mg/ml})$

En fin, nos résultats indiquent que l'huile essentielle de *Thymus numidicus* a une très grande activité antibactérienne.

A l'essor de la présente étude, il serait intéressant de mener une étude plus approfondie sur l'huile essentielle des fleurs de *Thymus numidicus* afin d'isoler, de purifier et d'identifier les composés ayant une activité antibactérienne.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., & Arsenakis, M. (1998). Antifungal activities of *Origanum vulgare subsp. hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46*(5), 1739-1745.
2. Aissani, F. (2015). Analyse sensorielle de la viande bovine additionnée aux huiles essentielles *Thymus ciliatus (Zaitra)* et *Ammoïdes verticillata (Nunkha)*.
3. Aruoma, O. I. (1998). Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American oil chemists' society*, *75*(2), 199-212.
4. Association française de normalisation, n. (1986). Huiles essentielles recueil de normes françaises (2e éd ed.). Paris-La Défense: AFNOR.
5. Belkhiri, F. Z. (2015). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L.
6. Bélilia Belkheir, M., Bertouche, S., Sahraoui, N., Hellal, A., & Boutekdjiret, C. (2012). Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* extraite par un procédé assisté par micro-ondes.
7. Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G., & Karadoğan, T. (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*, *15*(3), 169-172.
8. Bazyłko, A., & Strzelecka, H. (2007). A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts. *Fitoterapia*, *78*(6), 391-395.
9. Beidjord, A. (2015). Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*Ammoïdes Verticillata* de la région de Tlemcen.
10. Bencheikh, S. E. (2017). Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium ssp Aurasianum Labiatae*.
11. Bounatirou, S., Smiti, S., Miguel, M. G., Faleiro, L., Rejeb, M. N., Neffati, M., . . . Pedro, L. (2007). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food chemistry*, *105*(1), 146-155.
12. Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales.

Références bibliographiques

13. Camacho-Arroyo, I., González-Arenas, A., Jiménez-Arellano, C., Morimoto, S., Galván-Rosas, A., Gómora-Arrati, P., . . . González-Flores, O. (2017). Sex hormone levels and expression of their receptors in lactating and lactating pregnant rats. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*.
14. Chemloul, F. (2014). Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* de la région de Tlemcen.
15. Chen, C.-N., Weng, M.-S., Wu, C.-L., & Lin, J.-K. (2004). Comparison of radical scavenging activity, cytotoxic effects and apoptosis induction in human melanoma cells by Taiwanese propolis from different sources. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1(2), 175-185.
16. Clément, R.-P. (2005). Aux racines de la phytothérapie: entre tradition et modernité (1 re partie). *Phytothérapie*, 3(4), 171-175.
17. Couic-Marinier, F., & Lobstein, A. (2013). Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(525), 22-25. doi: 10.1016/j.actpha.2013.02.006
18. Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
19. Daferera, D. J., Ziogas, B. N., & Polissiou, M. G. (2000). GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2576-2581.
20. Davies, J. (1994). Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science*, 264(5157), 375-382.
21. De Souza, E. L., Guerr, N. B., Stamford, T. L. M., & de Oliveira Lima, E. (2006). Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. *Rev. Bras. Farm*, 87(1), 22-25.
22. Djeddi, S., Yannakopoulou, E., Papadopoulos, K., & Skaltsa, H. (2015). Activités anti-radicalaires de l'huile essentielle et des extraits bruts de *Thymus numidicus* Poiret., Algérie. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 11(2), 58-65.
23. Dongmo, P. M. J., Kuate, J., Boyom, F. F., Ducelier, D., Damesse, F., Zollo, P. H. A., . . . Bessiere, J. M. (2002). Composition chimique et activité antifongique in vitro des huiles essentielles de Citrus sur la croissance mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*. *Fruits*, 57(2), 95-104.

Références bibliographiques

- 24.Ghorab, H., Kabouche, A., & Kabouche, Z. (2014). Comparative compositions of essential oils of *Thymus growing* in various soils and climates of North Africa. *Sahara*, 355(2), 13.
- 25.Golmakani, M.-T., & Rezaei, K. (2008). Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food chemistry*, 109(4), 925-930.
- 26.Haddouche, K. Étude de l'effet antibactérien des huiles essentielles de *Thymus ciliatus ssp coloratus*.
- 27.Hadef, Y., Kaloustian, J., Giordan, R., Regli, P., Chefrou, A., Abou, L., Mikail, C., & Portugal, H. (2004). Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L. et *Thymus numidicus* Poiret d'Algérie, 6^{ème} symposium international d'aromathérapie scientifique et plantes médicinales, Grasse, France, 2004, pp 5.
- 28.Hans, W. (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. *Terre édition*, 6-7.
- 29.Hazzit, M., Baaliouamer, A., Faleiro, M. L., & Miguel, M. G. (2006). Composition of the essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(17), 6314-6321.
- 30.Hoffman, B., DelasAlas, H., Blanco, K., Wiederhold, N., Lewis, R., & Williams, L. (2004). Screening of antibacterial and antifungal activities of ten medicinal plants from Ghana. *Pharmaceutical Biology*, 42(1), 13-17.
- 31.Hubert, A., & Schäfer, R. (2008). *Magnetic domains: the analysis of magnetic microstructures*: Springer Science & Business Media.
- 32.Imène, L. (2012). Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*: application aux moisissures des légumes secs. *Nature & Technology*(7), 44.
- 33.Jean, B. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4^e éd.): Lavoisier.
- 34.Khaldi, A. (2017). Etude des effets antifongiques et antimycotoxiques des extraits des plantes médicinales de la région de Béchar.
- 35.Kouch, M., Bennadji, S., Djahoudi, A., & Aouadi, S. (2014). Anti pseudomonal Activity of the Essential Oil of *Thymus numidicus* Poiret. *Int J Pharm Sci Rev Res*, may-Apr2014, 25(2), 29.

Références bibliographiques

36. Kouche, M., (2015). Etude phytochimique et biologique d'une espèce végétale endémique algérienne « *Thymus numidicus* Poiret ».
37. Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy research*, 18(6), 435-448.
38. Leitão, G. G., Leitão, S. G., & Vilegas, W. (2002). Quick preparative separation of natural naphthopyranones with antioxidant activity by high-speed counter-current chromatography. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57(11-12), 1051-1055.
39. Masuda, T., Yonemori, S., Oyama, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., Andoh, T., . . . Nakata, M. (1999). Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1749-1754.
40. Mau, J.-L., Chen, C.-P., & Hsieh, P.-C. (2001). Antimicrobial effect of extracts from Chinese chive, cinnamon, and corni fructus. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1), 183-188.
41. Mebarki, N. (2010). Extraction de l'huile essentielle de thymus fontanesii et application à la formulation d'une forme médicamenteuse antimicrobienne.
42. Moretti, M. D. L., Peana, A. T., Franceschini, A., & Carta, C. (1998). In Vivo Activity of *Salvia officinalis* Oil against *Botrytis cinerea*. *Journal of Essential Oil Research*, 10(2), 157-160. doi: 10.1080/10412905.1998.9700868
43. Muanza, D., Euler, K., Williams, L., & Newman, D. (1995). Screening for antitumor and anti-HIV activities of nine medicinal plants from Zaire. *International Journal of Pharmacognosy*, 33(2), 98-106.
44. Muanza, D., Kim, B., Euler, K., & Williams, L. (1994). Antibacterial and antifungal activities of nine medicinal plants from Zaire. *International Journal of Pharmacognosy*, 32(4), 337-345.
45. Mueller-Riebau, F., Berger, B., & Yegen, O. (1995). Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(8), 2262-2266.
46. Okba, K. Détection et comparaison de composition chimique de plusieurs variétés de basilic *Ocimum basilicum* L. cultivées en trois régions différentes de sud de l'Algérie.

Références bibliographiques

- 47.Ouamba, J.-M. (1991). Valorisation chimique des plantes aromatiques du Congo: extraction et analyse des huiles essentielles: oximation des aldéhydes naturels. Montpellier 2.
- 48.Ponce, A., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-food science and technology*, 36(7), 679-684.
- 49.Rakotonirainy, M., & Lavédrine, B. (2005). Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives storage areas. *International biodeterioration & biodegradation*, 55(2), 141-147.
- 50.Rolland, Y. (2004). Antioxydants naturels végétaux. Oléagineux, Corps gras, Lipides, 11(6), 419-424.
- 51.Ruberto, G., & Baratta, M. T. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food chemistry*, 69(2), 167-174.
- 52.Saidj, F., Rezzoug, S.-A., Bentahar, F., & Boutekedjiret, C. (2008). Chemical composition and insecticidal properties of *Thymus numidicus* (Poiret) essential oil from Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11(4), 397-405.
- 53.Sánchez- Moreno, C., Larrauri, J. A., & Saura- Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2), 270-276.
- 54.Sánchez, E., García, S., & Heredia, N. (2010). Extracts of edible and medicinal plants damage membranes of *Vibrio cholerae*. *Applied and environmental microbiology*, 76(20), 6888-6894.
- 55.Savona, G., Piozzi, F., Rodriguez, B., & Servettaz, O. (1982). Galangustin, a new flavone from *Galeopsis angustifolia*. *Heterocycles*, 19(9), 1581-1584.
- 56.Selmi, S., & Sadok, S. (2008). The effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris* Linnaeus) on flesh quality of tuna (*Thunnus thynnus* (Linnaeus)) during chilled storage. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3(1), 36-45.
- 57.Senatore, F., Napolitano, F., Apostolides Arnold, N., Bruno, M., & Herz, W. (2005). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea falcata* L.(Asteraceae). *Flavour and fragrance journal*, 20(3), 291-294.
- 58.Sivropoulou, A., Nikolaou, C., Papanikolaou, E., Kokkini, S., Lanaras, T., & Arsenakis, M. (1997). Antimicrobial, cytotoxic, and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 3197-3201.

Références bibliographiques

- 59.Sridhar, S. R., Rajagopal, R. V., Rajavel, R., Masilamani, S., & Narasimhan, S. (2003). Antifungal activity of some essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(26), 7596-7599.
- 60.Sthal-Biskup, E., & Saez, F. (2002). Thyme: the genus *Thymus* (Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles). *J Essent Oil Res*, 330, 415-848.
- 61.Saidj, F. (2007).Extraction de l'huile essentielle de thym: *Thymus numidicus*(kabylica).
- 62.Villano, D., Fernández-Pachón, M., Moyá, M., Troncoso, A., & García-Parrilla, M. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71(1), 230-235.
- 63.Viuda-Martos, M., Mohamady, M., Fernández-López, J., ElRazik, K. A., Omer, E., Pérez-Alvarez, J., & Sendra, E. (2011). In vitro antioxidant and antibacterial activities of essentials oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food Control*, 22(11), 1715-1722.
- 64.Wan, J., Wilcock, A., & Coventry, M. (1998). The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology*, 84(2), 152-158.

Références électronique

Site1 :<http://spcgaylu.pagesperso-orange.fr/hydrodistillation.html>

Annexes

Annexe 1 : Principales espèces

Les principales espèces du thym et leur localisation en Algérie.

Espèces	Découverte par	Localisation
<i>Thymus capitatus</i>	Hoffman et Link	Rare dans la région de Tlemcen
<i>Thymus fontanesii</i>	Boiss et Reuter	Commun dans le Tell Endémique Est Algérie-Tunisie
<i>Thymus commutatus</i>	Battandier	Endémique Oran
<i>Thymus numidicus</i>	Poiret	Assez rare dans : Le sous secteur de l'atlas tellien La grande et la petite Kabylie De Skikda à la frontière tunisienne Tell constantinois
<i>Thymus guyoni</i>	Noé	Rare dans le sous secteur des hauts plateaux algérois, oranais et constantinois
<i>Thymus lancéolatus</i>	Desfontaine	Rare dans : le secteur de l'atlas tellien (Terni de Médéa Benchicao) et dans le sous secteur des hauts plateaux algérois, oranais (Tiaret) et constantinois
<i>Thymus pallidus</i>	Coss	Très rare dans le sous secteur de L'Atlas Saharien et constantinois
<i>Thymus hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur le littoral
<i>Thymus glandulosus</i>	Lag	Très rare dans le sous secteur

Annexes

		des hauts plateaux algérois
<i>Thymus algériensis</i>	Boiss et Reuter	Très commun dans le sous secteur des hauts plateaux algérois, oranais
<i>Thymus munbyanus</i>	Boiss et Reuter	Endémique dans le secteur Nord algérois

Annexe 2 : Récapitulation des principales huiles essentielles produites et des principaux
Pays producteurs dans le monde en 2008.

Huiles essentielles	Production (Tonnes)	Principaux pays producteurs
Huiles d'oranges	51000	USA, Brésil, Argentine
Huiles du citron	9200	Argentine, Italie, Espagne
Huiles de l'eucalyptus	4000	Chine, Inde, Australie, Afrique du Sud
Huile de la menthe poivrée	3300	Inde, USA, Chine
Huile du clou de girofle	1800	Indonésie, Madagascar
Essence de la citronnelle	1800	Chine, Sri Lanka
Huiles de la menthe verte	1800	USA, Chine
Huiles du bois de cèdre	1650	USA, Chine
Huile de la lavande	1100	France

Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle du *Thymus numidicus* .

Résumé

Plusieurs travaux de recherche ont été concentrés sur les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques. Les différents résultats publiés indiquent qu'elles sont douées de plusieurs propriétés biologiques.

Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer *in vitro* l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle extraite de *Thymus numidicus*.

L'extraction a été réalisée par hydrodistillation des tiges et feuilles de la plante, le rendement a été voisin de 0.4 %.

D'après les résultats de l'activité antibactérienne obtenus suite à la méthode des puits on peut conclure que l'huile essentielle de *Thymus numidicus*. a une forte activité antibactérienne.

L'activité antiradicalaire de l'huile essentielle a été évaluée par le test du piégeage du radical libre DPPH, l'étude s'est soldée par des bons résultats, comparés aux antioxydantes de référence.

Mots clés : Huile essentielle, activité antibactérienne, *Thymus numidicus*, activité antiradicalaire

Study of the antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Thymus numidicus*

Abstract

Several research studies have focused on the essential oils extracted from aromatic plants. The different results indicate that they are endowed published several biological properties.

In this context, we tried to evaluate *in vitro* the antibacterial and antioxidant activity of the essential oil extracted from stems and leaves of *Thymus numidicus* .

The extraction was carried out by hydrodistillation of the stems and leaves of the plant, the yield was close to 0.4%.

And according to the results obtained following the method of wells it can be concluded that the essential oil of *Thymus numidicus* has a strong antibacterial activity.

Antiradical activity of the essential oil was evaluated by testing the free radical scavenger of DPPH; the study has given good results, compared to standards antioxidants.

Key words: Essential oil, Antibacterial, *Thymus numidicus*, antioxidant

دراسة النشاط المضاد للبكتيريا و المضاد للأكسدة لزيت الزعتر

ملخص

قد ركزت العديد من الدراسات على الزيوت الأساسية المستخرجة من النباتات العطرية. النتائج المختلفة المنشورة تشير إلى أنها تتميز بالعديد من الخصائص البيولوجية. في هذا السياق حاولنا في المختبر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا و النشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية المستخرجة من نبتة الزعتر.

تم إجراء الاستخلاص بواسطة التقطير بالبخار لأوراق و اغصان نبتة الزعتر، و كان العائد قريبا من 0.4 % . و من خلال النتائج المحصل عليها بعد طريقة الثقوب يمكننا الاستنتاج أن الزيوت الأساسية لأوراق و أغصان نبتة الزعتر لديها نشاط قوي ضد البكتيريا.

تم تحديد النشاط المضاد للأكسدة للزيوت العطرية باستعمال اختبار DPPH ، من خلال النتائج المتحصل عليها يتضح بان هذا المستخلص يملك قدرة مضادة للأكسدة جيدة مقارنة بمضادات الأكسدة القياسية.

الكلمات الدالة : الزيوت الأساسية، النشاط المضاد للبكتيريا ، الزعتر، النشاط المضاد للأكسدة.