

MINISTERE 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/2019

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

BOUKRIF RYM & BOUKABOUS SALIHA

Thème

***Étude de l'activité antibactérienne de
Thymus vulgaris.***

Soutenu le : 04 /07/ 2019

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

M. LAMINE .S

MCB

Univ. de Bouira

Président

M. LIBDIRI.F

MAA

Univ. de Bouira

Promoteur

M^{me}. BOUTELDJA .R

MCB

Univ. de Bouira

Examinatrice

Année Universitaire : 2018/2019



Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.



Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à mon encadreur **Mr. LEBDIRI FARID** pour sa confiance, son soutien, son attention, ses bons conseils, ses qualités humaines. Pour tout cela, je tiens à lui exprimer toute ma gratitude. Pour ces encouragements et surtout pour la grande patience qu'il a manifestée, je me trouve incapable de formuler mes remerciements à lui. Aujourd'hui je témoigne que je vous suis redevable et je vous remercie par l'occasion, pour avoir bien voulu examiner mon travail

Nos vifs remerciements vont également adressés aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions

Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants

Impliqués dans notre formation durant les 5 années des études.

Un grand merci aux membres des Clubs Biochimie (faculté SNV), ainsi que toutes nos amies de la promotion, pour leur aide, leur amitié, leur gentillesse et leur soutien moral.

Nous remercions également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à toutes et à tous

Dédicaces

Avec l'aide d'Allah le tout puissant, ce travail est achevé.

Je le dédie à toutes personnes qui me sont chère ;

Au deux être les plus chers au monde qui ont donnés sens à mon existence, et qui m'ont soutenu nuits et jours durant tout mon parcours.

Ma très chère mère qui a consacré sa vie pour bâtir la mienne, je lui serai éternellement reconnaissante, merci maman.

Mon très cher père qui m'a donné un magnifique modèle de volonté, merci papa, Avec mes prières qu'ils soient toujours en bonne santé.

A mes très chers frères : Nassim, Toufik, Younes.

A mes cousins(es), oncles, tantes.

A mon binôme Salíha et sa famille

A toute la promotion de biochimie Appliquée 2019-2020.

A tous ceux qui me sont chers

Que dieu les protège tous



RYM



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A mes très chers parents,

Pour tout l'amour qu'ils me portent et pour leurs encouragements qu'ils m'ont apportés au cours de ce projet, je leur dédie ce travail en témoignage d'un grand amour et reconnaissance infinie, qu'ils trouvent ce travail en témoignage de ma profonde gratitude.

Mon très cher père pour tous ce qu'il a fait pour moi durant toutes mes années d'étude, pour ses encouragements et ses orientations.

Ma très chère mère pour son sacrifice, son aide, ses conseils et sa patience.

Mes chers parents que Dieu vous garde.

A mes chers frères : Saïd ,Samir ,Nourddinne .

A mes chères sœurs : Anïssa et ses enfant, Hanane et ses enfant et nawel et ses enfant.

Pour leur soutien de tous les instants qu'ils m'ont apportés, avec mes souhaites de bonheur de sante et succès

Et à tous les membres de ma famille surtout ma belle jumeaux Malika en vous souhaitons un avenir radieux.

Mes très chère ami Imane En témoignage de l'amitié sincère qui nous a liées et des bons moments passés ensemble.

A mon chère binôme Rym.

Que dieu les protège tous.

Salîha

Résumé

Le Thym est un arbrisseau appartenant à la famille des Lamiacées utilisé depuis l'antiquité en médecine traditionnelle pour ses vertus thérapeutiques et préventives. Le but de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne de l'huile et de l'extrait brut de *Thymus vulgaris* par une technique de diffusion sur puits d'agar et déterminé leur concentration minimale inhibitrice contre les bactéries pathogènes. Ainsi que l'étude de propriétés physico-chimiques. L'extraction de nos l'huile essentielle est réalisée par la méthode d'hydro distillation ainsi l'extrait brut obtenus par macération. Le test de mise en évidence de son pouvoir antibactérienne est réalisé sur trois souches bactérienne (*Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*). Les résultats montrent que l'extrait du *Thymus vulgaris* possède une forte activité antibactérienne représentée avec des diamètres d'inhibition variant entre 24mm et 34mm pour l'extrait brut et avec un diamètre de 13 mm à 32 mm pour huile essentielle. Le rendement d'huile essentielle et d'extrait obtenu est de 1,11% et 3.43% successivement., et nos résultats des analyses physicochimiques sont conformes aux normes AFNOR. Concernant les souches bactériennes montré que *Staphylococcus aureus* était la plus sensible que *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* et la Concentration minimale inhibitrice de l'extrait Brut de thymus vulgaris vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* est de 1/16, et de *Pseudomonas aeruginosa* est de 1/32, par contre *Staphylococcus aureus* est de 1/8, et de *Pseudomonas aeruginosa* est de 1/16. Dans la présente étude, l'huile et l'extrait brut de *thymus vulgaris* il est efficace contre les organismes à Gram+ et à Gram-. Ainsi, cette étude permet de conclure que l'huile et l'extrait brut de thym possède une activité antibactérienne.

Mots clés: *Thymus vulgaris*, huiles essentielle, Extrait brut, activité antibactérienne, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Abstract

The Thyme is a shrub belonging to the Lamiaceae family used since ancient times in traditional medicine for its therapeutic and preventive properties. The purpose of this study is to evaluate the antibacterial activity of the oil and crude extract of *Thymus vulgaris* by a diffusion technique on agar wells and determine their minimal inhibitory concentration against pathogenic bacteria as well as the study of physico-chemical properties. The extraction of our essential oil is carried out by the hydrodistillation method and the crude extract obtained by maceration. The test to demonstrate its antibacterial power is performed on three bacterial strains (*Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*). The results show that the extract of *Thymus vulgaris* has a high antibacterial activity represented with inhibition diameters varying between 24mm and 34mm for the crude extract and with a diameter of 13mm to 32mm for essential oil. The yield of essential oil and extract obtained is 1.11% and 3.43% successively, and our physicochemical analysis results are in compliance with AFNOR standards. Concerning the bacterial strains shown that *Staphylococcus aureus* was the most sensitive than *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* and the minimum inhibitory concentration of the crude extract of thymus vulgaris against *Staphylococcus aureus* is 1/16, and *Pseudomonas aeruginosa* is 1/32, whereas *Staphylococcus aureus* is 1/8, and *Pseudomonas aeruginosa* is 1/16. In this study, the oil and crude extract of thymus vulgaris it is effective against Gram+ and Gram- organisms. Thus, this study leads to the conclusion that the oil and crude thyme extract have antibacterial activity.

Key Words : *Thymus vulgaris* , antibacterial activity, crude extract , *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

ملخص

الزعر هو شجيرة تنتمي إلى عائلة Lamiaceae المستخدمة منذ العصور القديمة في الطب التقليدي لفضائلها العلاجية والوقائية. والغرض من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا من النفط والمستخلص الخام من الغدة الصعترية الشائع بواسطة تقنية نشر بئر أجار وتحديد الحد الأدنى من تركيز مثبت ضد البكتيريا المسببة للأمراض. دراسة الخواص الفيزيائية والكيميائية. يتم استخراج زيتنا الأساسي من خلال طريقة التقطير المائي وكذلك المستخلص الخام الذي يتم الحصول عليه عن طريق التعقيم. يتم إجراء اختبار لإثبات قدرته المضادة للبكتيريا على ثلاث سلالات بكتيرية (الإشريكية القولونية ، المكورات العنقودية الذهبية ، الزائفة الزنجارية). تظهر النتائج أن مستخلص الزعر له نشاط مضاد للجراثيم متباين بأقطار تثبيط مختلفة. بين 24 مم و 34 مم للمستخلص الخام ويبلغ قطرها من 13 مم إلى 32 مم للزيوت الأساسية ، يكون ناتج الزيوت الأساسية والمستخلص المتحصل عليه هو 1.11 ٪ و 3.43 ٪ على التوالي. ، ونتائج من التحليلات الفيزيائية والكيميائية تتوافق مع معايير AFNOR. فيما يتعلق بالسلالات البكتيرية ، كان المكورات العنقودية الذهبية هو الأكثر حساسية من الإشريكية القولونية و الزائفة الزنجارية وأقل تركيز مثبت للمستخلص الخام للزعر الشائع ضد المكورات العنقودية الذهبية كان 16/1 ، والبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية هو 32/1 ، في حين أن المكورات العنقودية الذهبية هي 8/1 ، و الزائفة الزنجارية هي 16/1. في هذه الدراسة ، يكون مستخلص الزيت الزعر فعالاً ضد الكائنات الحية الغرامية وبالتالي ، فإن هذه الدراسة تجعل من الممكن استنتاج أن الزيت والمستخلص الخام للزعر له نشاط مضاد للجراثيم.

الكلمات الرئيسية: الزعر ، الزيوت الأساسية ، النشاط المضاد للبكتيريا ، الإشريكية القولونية ، المكورات العنقودية الذهبية ، الزائفة الزنجارية

Liste des figures :

| N° | Titre | Page |
|----|--|------|
| 1 | Les plantes aromatiques et médicinales | 06 |
| 2 | Photo de la plante (<i>Thymus vulgaris</i>), région M'chedallah Wilaya de Bouira | 07 |
| 3 | Aspect morphologiques de <i>Thymus vulgaris</i> | 08 |
| 4 | Structures Histologiques des plantes | 13 |
| 5 | Exemples de quelques monoterpènes. | 14 |
| 6 | Exemples de quelques sesquiterpènes. | 14 |
| 7 | Exemples de composés aromatiques. | 15 |
| 8 | Schéma de distillation des huiles essentielles à échelles industrielle par entraînement à la vapeur d'eau. | 17 |
| 9 | Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation | 18 |
| 10 | Les étapes de l'extraction d'une huile essentielle. | 21 |
| 11 | Les sites d'action des constituants des huiles essentielles sur les bacteries. | 22 |
| 12 | Formes principales des bactéries | 23 |
| 13 | Forme bâtonnet et d' <i>Escherichia coli</i> et Cocci de <i>Staphylococcus</i> | 24 |
| 14 | Paroi bactérienne des Gram positif et Gram négatif | 24 |
| 15 | Observation microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i> | 25 |
| 16 | Observation microscopique du <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . | 26 |
| 17 | Observation microscopique d' <i>Escherichia coli</i> | 27 |
| 18 | Photo montrant l'espèce de <i>Thymus vulgaris</i> et Séchage des plantes à l'ombre dans un endroit aéré | 29 |
| 19 | L'Appareil d'hydrodistillateur de type Clevenger | 30 |
| 20 | La récupération de l'huile essentielle de <i>thymus vulgaris</i> | 30 |

Liste des figures :

| N° | Titre | Page |
|----|--|------|
| 21 | Les étapes de Préparation des Extraits de thymus vulgaris par macération | 32 |
| 22 | Les étapes appliquées pour l'extraction par macération de l'extrait brut | 32 |
| 23 | Principe de la méthode de diffusion par disque | 34 |
| 24 | Étapes de réalisation du test d'activité antibactérienne. | 35 |
| 25 | Le milieu de Mueller-Hinton | 36 |
| 26 | Les souches bactériennes | 37 |
| 27 | Préparation de l'inoculum | 37 |
| 28 | Ensemencement par écouvillon. | 38 |
| 29 | Préparation des dilutions de l'huile essentielle | 40 |
| 30 | Huile de thymus vulgaris | 41 |
| 31 | Évaluation de l'activité antibactérienne d'extrait et d'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> sur différentes Souches testés | 46 |

Liste des tableaux :

| N° | Titre | Page |
|----|---|------|
| 1 | Les composants actifs des PAM | 04 |
| 2 | Classification taxonomique de <i>Thymus vulgaris</i> | 09 |
| 3 | Quelques plantes médicinales et leurs usages. | 10 |
| 4 | Quelques composés des huiles essentielles et leurs indications thérapeutiques. | 15 |
| 5 | Liste des matériels non biologiques utilisés pendant la manipulation | 28 |
| 6 | Les Bactéries utilisés et les références des souches | 29 |
| 7 | Caractéristiques organoleptiques de nos huiles essentielles | 41 |
| 8 | Résultat du rendement de l'huile et l'extrait. | 42 |
| 9 | Résultat de pH de l'huile et l'extrait brut de <i>T. vulgaris</i> | 43 |
| 10 | Évaluation de l'activité antibactérienne d'extrait et d'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> sur différentes Souches testés. | 45 |
| 11 | L'effet de concentrations décroissantes de thymus vulgaris et l'extrait Brut sur la croissance des bactéries | 48 |
| 12 | Les CMI de l'HE et de l'Extrait Brut vis-à-vis des trois souches testé et leur pouvoir. | 49 |

Liste des abréviations :

- **AFNOR** : Association Française de Normalisation
- **ATCC**: American Type Culture Collection.
- **BN** :Bouillon nutritive
- **C°** : Degré Celsius
- **CMI** : concentration minimale inhibitrice.
- **D** : Diamètre
- **DO** : densité optique
- **DMSO**:Diméthylsulfoxyde.
- **EB**: Extrait Brut
- **Ec** : Escherichia coli.
- **EP** : Extrait polaire.
- **g** : gramme
- **H** :Hydrogène.
- **HE** : Huile essentielle
- **HEs** : Huiles essentielles
- **ISO** : Organisation internationale de normalisation
- **M** : masse
- **min**: Minute
- **MH** :Muller-Hinton.
- **ml** : Millilitre
- **Mm**: Millimètre
- **NaCl** : chlorure de sodium

Liste des abréviations

- **NM**: Nanomètre
- **Pa** : Pseudomonas aeruginosa
- **PAM** :Plante médicinale aromatique **µl** : microlitre
- **PH** : potentiel hydrogène
- **R** : rendement
- **Sa** : staphylococcus aureus
- **T°** : Température
- **T. vulgaris** : Thymus vulgaris
- **UFC** : Unité Faisant Colonie
- **UV**: Ultraviolet
- **%** : Pourcentage

Sommaire

Résumé

Table des Figures

Liste des Tableaux

Abréviations

Introduction01

Synthèse Bibliographique

Chapitre I : les plantes médicinales

| | |
|--|----|
| I.1.Généralité..... | 03 |
| I.2.Les plantes médicinales en Algérie..... | 06 |
| I.3.Exemples de quelques plantes médicinales..... | 07 |
| I.3.1.Thymus vulgaris..... | 07 |
| I.3.1.1.Description botanique..... | 08 |
| I.3.1.2.Classification..... | 09 |
| I.3.1.3.Propriétés médicinales de thymus vulgaris..... | 10 |
| I.4.Autres plantes médicinales..... | 10 |

Chapitre II : les huiles essentielles

| | |
|---|----|
| II.1.Définition | 12 |
| II.2. Répartition et localisation des huiles essentielles | 12 |
| II.3.Caractéristiques physiques | 13 |
| II.4. Composition chimique..... | 13 |
| II.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles | 16 |
| II.5.1. Distillation et entraînement à la vapeur..... | 17 |
| II.5.2. Hydrodistillation | 17 |
| II. 5.3Extraction par solvants volatils..... | 18 |
| II.5.4. Extraction par enfleurage..... | 18 |
| II.6. Domaines d'utilisation des huiles essentielles | 19 |
| II.6.1. En pharmacie..... | 19 |
| II.6.2. En cosmétologie | 19 |
| II.6.3. En industries agroalimentaires..... | 19 |
| II.6.4. En agriculture | 20 |
| II.7. Conservation des huiles essentielles. | 20 |

| | |
|--|----|
| II.8. Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle | 20 |
| II.9. Mécanisme d'action antibactérienne des huiles essentielles | 22 |

Chapitre III : Le monde microbien

| | |
|--|----|
| III.1. Généralités sur le monde microbien | 23 |
| III.1.1. Généralités | 23 |
| III. 1.2. Définitions des bactéries..... | 23 |
| III. 1.3. La morphologie bactérienn | 23 |
| III.1.4. La paroi des bactéries à Gram positif et négatif..... | 24 |
| III.1.4.1. Gram positif | 25 |
| III. 1.4.1.1. Staphylococcus aureus | 25 |
| III.1.4.2. Gram negative | 26 |
| III.1.4.2.1. Pseudomonas aeruginosa..... | 26 |
| III. 1.4.2.2. Escherichia coli..... | 27 |

Partie Expérimentale

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

| | |
|--|----|
| IV.1. Matériel | 28 |
| IV.1.1. Matériel non biologiques..... | 28 |
| IV.1.2. Matériel végétale..... | 28 |
| IV.1.3. Microorganismes | 29 |
| IV.2. Méthodes | 30 |
| IV.2.1. Méthode d'extraction | 30 |
| IV.2.1.1. Hydrodistillation | 30 |
| IV.2.1.2. Macération | 31 |
| IV.3. Les analyses d'huile essentielle et l'extrait de plant | 33 |
| IV.3.1. Caractérisation d'huile essentielle | 33 |
| IV.3.2. Analyse physique | 33 |
| IV.3.2.1. Le Rendement | 33 |
| IV.3.2.2. Mesure de PH | 33 |
| IV.4. Méthode d'évaluation l'activité antibactérienne | 34 |

| | |
|--|----|
| IV.4.1.Les étapes de l'activité antibactérienne par méthode de disque..... | 36 |
|--|----|

Chapitre V : Résultat et discussion

| | |
|--|-----------|
| V.1.Déscription d'huile essentielle obtenue | 41 |
| V.2.Les analyses physiques d'huile essentielle et de l'extrait brut..... | 42 |
| V.3.L'activité antibactérienne | 45 |
| V.3.1.L'activité antibactérienne des huiles essentielles et l'extrait brut | 48 |
| Conclusion | 52 |

Références bibliographiques

Annexes

Depuis des milliers d'années, l'homme utilisé les plantes trouvées dans la nature pour traiter et soigner des maladies (SANAGO, 2006), L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt au près du public, selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S.,2003) environ 65- 80% de la population mondiale a recours au médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d' accès à la médecine moderne (MA *et al.*, 1997).

La phytothérapie est la science des plantes médicinales ou la médication par les plantes, c'est l'une des sources de traitement des maladies qui demeurent basé sur l'observation ou l'analyse vient confirmer ce qu'on observe depuis déjà des millénaires (BELOUD, 2001 ; PROVOST, 1991).

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remède à diverses maladies humaines. Ces plantes doivent leur pouvoir thérapeutique à des substances, dites alors actives, qu'elles renferment. Pour l'évaluation de l'activité biologique de ces plantes, il est impératif de recourir à des tests biologiques appropriés et à des méthodes de screening chimique (Tyihák *et al.*, 2007).

Le climat méditerranéen en Algérie favorise la croissance des plantes sauvages, mais malheureusement, parmi les différentes espèces de la flore algérienne, jusqu'à présent, peu d'entre elles sont étudiées. La valorisation de ces ressources naturelles végétales passe essentiellement par l'extraction de leurs huiles essentielles (Haoui *et al.*, 2015).

Les huiles essentielles et les arômes constituent dans ce contexte la majeure partie des composés aromatiques naturels qui sont aujourd'hui de plus en plus utilisés dans différents domaines. Ces extraits sont obtenus par distillation et par extraction aux solvants et possèdent un large éventail d'activités biologiques.

Thym En raison de sa saveur aromatique, est provoqué une stimulation réflexe des sécrétions salivaires, gastriques et biliaires. Il est ainsi utilisé pour ses propriétés régulatrices de l'appétit et comme stimulant digestif, cicatrisantes, vermifuge, antiseptique. Des extraits de thym ainsi que son huile essentielle sont fortement antimicrobiens. Tous les chimiotypes sont actifs, mais l'activité bactéricide est plus marquée pour les types à thymol et à carvacrol (Teuscher *et al.* 2005). L'huile essentielle du Thym est caractérisée par un fort potentiel antimicrobien (Cosentino et Palmas, 1999).

L'objectif de notre travail vise en particulier à étudier l'effet antibactérienne l'huile essentielle de *thymus vulgaris* extraits par la méthode d'hydrodistillation afin de tester in vitro son activité par la méthode de contact direct sur milieu solide. Ainsi déterminant la concentration minimale inhibitrice(CMI).

Ce travail est devisé en deux parties, la première partie est une synthèse bibliographique consacré à l'étude des plantes médicinales, description botanique, les propriétés thérapeutiques de l'espèce *Thymus vulgaris*. Puis généralité sur huiles essentielle (composition, répartition, mécanisme d'action). Suivi des généralités sur le monde microbienne (morphologie, la résistance bactérienne).

La deuxième partie de ce travail, est une étude expérimentale, concerne l'étude de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles, suivie par une discussion qui synthétise l'ensemble des résultats obtenus et nous achevons notre travail par une conclusion générale.

I.1.Généralité :

Depuis l'antiquité l'homme utilise les plantes médicinales comme une source principale de nourriture, par la suite s'est développé pour les utiliser comme médicaments et remèdes afin de soigner les différentes maladies, jusqu'à maintenant les plantes sont encore destinées à la santé humaine (Damintoti et *al*, 2005).

Selon (SANAGO, 2006). Les plantes médicinales ce sont des plantes qui utilisées en médecine traditionnelle Et possède une partie qui ont une propriété médicamenteuse. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents.

Ces plantes contiennent des métabolites secondaires peuvent être considérées comme des substances indirectement essentiels à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu'ils sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température ...). Ces composés sont des composés phénoliques, des terpènes et stéroïdes et des composés azotés dont les alcaloïdes. (SARNI- MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

Différentes parties de plante médicinale peuvent présenter des constituants chimiques très différents et qui n'ont pas la même action thérapeutique. En médecine traditionnelle, Généralement, la partie qui contient le plus de principes actifs est la plus employée. (Racine, Rhizome, Feuilles,) (Gurib-Fakim, 2006).

Le principe actif c'est une molécule contenue dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (PELT, 1980). Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animale, elle est issue de plantes fraîches ou des séchées, nous pouvons citer comme des parties utilisées : les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines (BENGHANOU, 2012).

La plupart des plantes médicinales et aromatiques possèdent des vertus thérapeutiques, Dans ce cas il est indispensable de connaître leur composition et comprendre comment elles agissent sur l'organisme (Bruneton, 1999). Selon le (Tableau 1), On classe les plantes et leurs effets en fonction de leur principe actif.

Tableau 01 : Les composants actifs des PAM source de tableau (Iserin, 2001).

| Principe actifs | Exemples de plante |
|--------------------|--|
| Huile essentielles | L'arbre à thé(<i>Melaleuca alternifolia</i>), La camomille allemande (<i>Matricaria recutita</i>) |
| phénols | Thym (<i>thymus vulgaris</i>), la gaulthérie(<i>gaultheria procumbens</i>) |
| Tanins | Acacia (<i>Acacia cathu</i>) Le chenepédonculé(<i>Quercus robur</i>) |
| Flavonoïdes | Le citron (<i>citrus limon</i>), Sarrasin (<i>fagopyrum esculentum</i>) |
| Couramines | Le mélilot(<i>Melilotus officinalis</i>), Le celeri(<i>Apium graveolens</i>) |
| Principe amers | L'absinthe (<i>Artemisia absinthium</i>), L'aurone (<i>Artemisia abrotanum</i>) |
| Alcaloïdes | Groupe très large : la belladone(<i>Atropa belladonna</i>), les jusquiames(<i>Hyoscyamus niger et H. falezlez</i>) |
| Mucilages | L'orme rouge(<i>lilmus rubra</i>) |
| Glucosides | Digitale pourpre(<i>Digitalis purpurea</i>), |
| G cardiotoniques | Les mugets(<i>convallaria magilis</i>) |
| G cyanogéniques | Cerisier sauvage (<i>prunus serotina</i>) |

| | |
|----------------|---|
| Antraquinones | La rubarbe de chine (<i>Rheumpalmatum</i>), le séné (<i>cassia senna</i>) |
| Saponines | L'igname sauvage (<i>Discoreavillosa</i>) |
| Triterpénoïdes | |

Avant de l'utilisation des plantes médicinales, il faut connaître les cinq points qui sont essentiels

- ✓ L'identification de la plante qui basée sur l'observation des fleurs, feuilles, fruits, ainsi que basée sur l'odeur et le gout.
- ✓ Le mode de préparation (type et le dosage de la préparation ainsi que la partie de la plante à utiliser).
- ✓ La quantité de préparation à absorber par jour.
- ✓ La durée du traitement.
- ✓ Les restrictions, contre-indication et précautions à observer.

Selon (Hosttman ,1997), Les plantes médicinales peuvent être utilisées sous plusieurs formes :

➤ L'infusion

Infusion c'est la méthode la plus simple ; elle consiste à verser de l'eau bouillante sur la plante, couvrez et laissez à infuser pendant 5 à 10 minutes, puis le filtre (Kothe et al, 2007)

➤ Les décoctions

La décoction permet d'extraire les principes actifs des morceaux d'écorces ou de racines ; on fait cuire le morceau de la plante dans l'eau chaude pendant plusieurs minutes (10 à 30 minutes) à feu doux, on laisse infuser puis filtrer (Kothe et al, 2007).

➤ Les macérations

Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, ou plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser (Kraft et Hobbs, 2004).

Cette méthode est utilisée pour préserver le plus possible des principes actifs de certaines plantes qui ne supportent pas la chaleur (Kothe *et al*, 2007).

➤ Cataplasme

Ce sont des préparations de plante appliquée sur la peau, les cataplasmes calmant les douleurs musculaires et les névralgies, soulagent les entorses et les fractures et permettent d'extraire le plus des paires infectées, des Ulcères et des furoncles (Iserin *et al*, 2001).



Figure 01: Les plantes aromatiques et médicinales.

I.2. Les plantes médicinales en Algérie :

Les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement de plusieurs maladies en Algérie et cela grâce à son climat très diversifié, les plantes poussent en abondance dans les régions côtières, montagneuses et également sahariennes. Ces plantes constituent des remèdes naturels potentiels qui peuvent être utilisés en traitements curatifs et préventifs (Belouad, 1998 ; Mahmoudi, 2006).

Selon (Baba Aissa, 1991). La richesse et l'originalité de l'étude de la flore algérienne présente un intérêt scientifique fondamental pour la connaissance de la pharmacopée traditionnelle, et le domaine de la valorisation des substances naturelles. La diversité et la fertilité du sol qui caractérisent les différentes régions d'Algérie influencent sur la qualité et la composition chimique des plantes médicinales, ce qui les dote de caractéristiques spécifiques.

Dans ce cas On peut classer les plantes médicinales comme une source naturelle renouvelable, c'est- à-dire, que l'apparition et la disparition des plantes se fait périodiquement et continuellement dans des saisons définies par la nature. Ces ressources subissent des dégradations irréversibles, comme on l'assiste aujourd'hui en Algérie (Mokkadem, 1999).

I.3.Exemples de quelques plantes médicinales :

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Parmi ces plantes on prend le *thymus vulgaris* comme un exemple.

I.3.1. *Thymus vulgaris* :

Le genre *Thymus* parmi les 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées (Morales, 2002). L'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ses qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales (Iserin, 2001).

Selon (Pariante, 2001), Le nom « *Thymus* » dérive du mot grec « thymos » qui signifie « parfumer » à cause de l'odeur agréable que la plante dégage.

Thymus vulgaris est l'un des plus populaires plantes aromatique utilisé dans le monde entier, ces applications sont très vastes et touchent le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle (Adwan *et al*, 2009).



Figure 02:Photo de la plante (*Thymus vulgaris*), Région M'chedallah Wilaya de Bouira.

I.3.1.1. Description botanique :

Thymus vulgaris est un sous-arbrisseau touffu, vivace et aromatique pouvant atteindre de 20 à 30 cm de hauteur, Ses tiges sont dressées, ligneuses, rameuses et tortueuses à la base et ses racines sont assez robustes, ses branches sont minces, denses, ramifiées, blanchâtres et courtement velues, portant des feuilles persistantes de couleur vert grisâtre, subsessiles, opposées, oblongues-lancéolées à linéaires et mesurant de 3 à 12 mm de long et de 0.5 à 3 mm de large.

Les marges de leurs limbes sont enroulées sur la face ventrale ce qui donne aux feuilles une forme générale d'aiguille. Les fleurs sont de petite taille (4 à 6 mm de long), de couleur blanche à rose, bilabiées, zygomorphes, regroupées par 2 ou 3 à l'aisselle des feuilles et rassemblées en glomérules ovoïdes. La période de floraison de de l'espèce dans la période mai à août (Prasanth *et al*, 2014).



Figure 03 : Aspect morphologiques de *Thymus vulgaris*.

I.3.1.2. Classification : La situation botanique de l'espèce *Thymus vulgaris*L est donnée ci-dessous (Goetz et Ghédira, 2012).

Tableau 02 : Classification taxonomique de *Thymus vulgaris* (Goetz et Ghédira, 2012).

| | |
|---------------------------|--------------------------|
| Règne | <i>Plantae</i> |
| Sous-règne | <i>Tracheobionta</i> |
| Embranchement | <i>Magnoliophyta</i> |
| Sous-embranchement | <i>Magnoliophytina</i> |
| Classe | <i>Magnoliopsida</i> |
| Sous-classe | <i>Asteridae</i> |
| Ordre | <i>Lamiales</i> |
| Famille | <i>Lamiaceae</i> |
| Genre | <i>Thymus</i> |
| Espèce | <i>Thymus vulgaris</i> L |

I.3.1.3 Propriétés médicinales de *thymus vulgaris* :

Selon (Jiminez-Arellanes *et al*, 2006), Le Thym est excellent contre plusieurs maladies y compris la bronchite, la pleurésie, les déficiences nerveuses, l'hypotension, la chlorose, les infections pulmonaires, la tuberculose et l'asthme. On s'en sert aussi pour traiter les parasites intestinaux, les infections urinaires et les infections dues au froid. **Annexe 01.**

Pour cela nous pouvons prendre du Thym comme condiment dans nos potages, ou le prendre en infusion constitué d'une branche de Thym, comme nous pouvons prendre de l'huile essentielle de raison de 3 à 5 gouttes en solution alcoolique ou dans du miel (Iserin, 2001).

I.4. Autre plantes médicinales :

Parmi les ressources naturelles les plantes médicinales et aromatiques jouent un rôle non négligeable dans le cadre de la valorisation du patrimoine naturel, elles sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments grâce à leur efficacité à traiter diverses maladies Tableau 3. L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt du public vu leur disponibilité et grande diversité (Ameenah, 2006).

Tableau 03: Quelques plantes médicinales et leurs usages.

| Plante | Nom scientifique | L'effet thérapeutique |
|------------------|-----------------------------|---|
| Menthe poivrée | <i>Mentha X piperita..L</i> | Anesthésiant (Santoroet al,2011) ;(Scopeletal.,2014) |
| Clou de girofle | <i>Syzygiumaromaticum</i> | |
| Frêne | <i>Fraxinusexcelsior</i> | Anti-inflammatoire et anti-rhumatologique (Woodhead et al, 1998 ; Garcia et al ,2011) |
| Prêle des champs | Equisetum arvence | |
| Géglisse | <i>Glycyrrizaglabra</i> | Diurétiques (Steven et al, 1997) |
| Galga | <i>Galgaofficinalis</i> | |
| Genivère | <i>Juniperuscommunis.L</i> | |

| | | |
|---------|-----------------------------|--|
| Ail | <i>Allium sativum</i> | Antiseptique (Bailen <i>et al</i> , 2006 ;Pirbalouti <i>et al</i> ,2013) |
| Lavande | <i>Lavendulaofficinalis</i> | |
| Curcuma | <i>Curcuma longa</i> | Anticancéreux (Ferreira <i>et al</i> , 2013 ; John <i>et al</i> , 2014) |
| If | <i>Taxusbaccata</i> | |

II.1.Définition :

Une huile essentielle selon la pharmacopée est un produit de composition complexe renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux. (AFNOR).

Les huiles essentielles appelées aussi essence végétale, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal : elles sont odorantes et très volatiles, c'est -à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air (Pardini et Lucheroni, 1996).

Selon La Norme ISO 9235, elle désigne un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des plantes contenant des citrals, soit par distillation sèche.

II.2.Répartition et localisation des huiles essentielles :**➤ Répartition :**

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les huiles essentielles sont réparties dans une cinquantaine de familles dont beaucoup sont des Lamiaceae, des Myrtaceae, des Rutaceae, des Asteraceae, mais aussi des Apiaceae. Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : sommités fleuries des Lamiacées (lavande vraie, sauge officinale), graines (ambrette), racines (vétiver), rhizome (gingembre), fruits (anis, fenouil), bois (santal), feuille (eucalyptus), oléorésines (myrrhe), encens et du baume de tolu (Franchomme et pénoël, 1990).

➤ Localisation des huiles essentielles :

Selon (Bakkali *et al*, 2008), Les HEs peuvent être synthétisées par tous les organes de la plante, notamment les bourgeons, les fleurs, les feuilles, les tiges, les rameaux, les graines, les fruits, les racines, le bois ou l'écorce. Les huiles essentielles localisées dans les cellules sécrétoires, les cavités, les canaux, les cellules épidermiques ou les trichomes glandulaires.

Les teneurs en HE sont généralement très faibles, à l'exception de celle du bouton floral de giroflie où le rendement en HE atteint largement les 15%(Makhlouf, 2002).

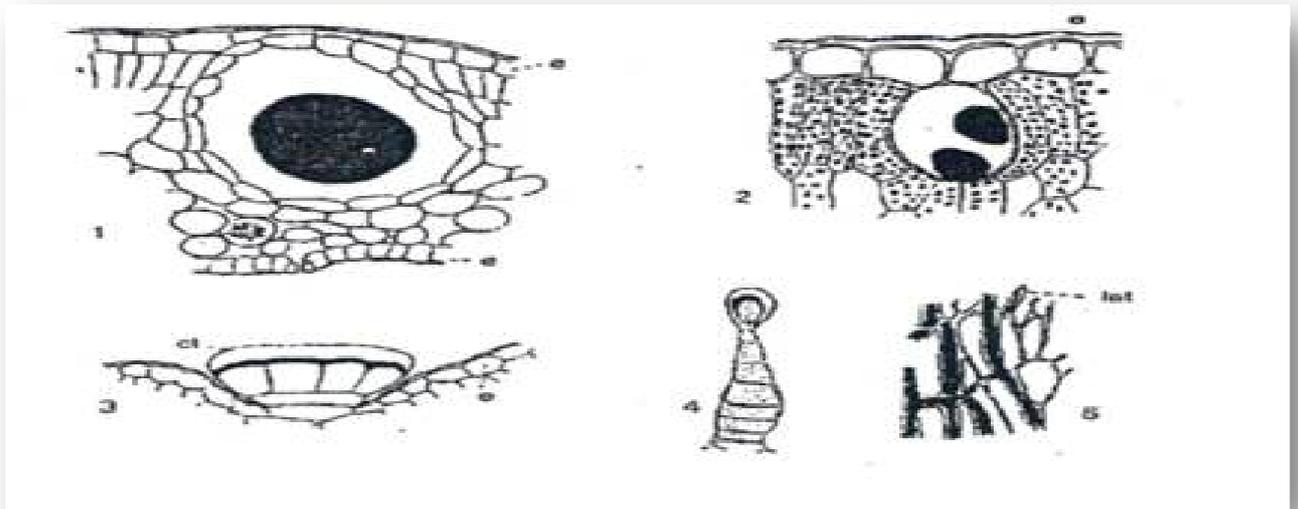


Figure 04 : Structures Histologiques des plantes (Guignard, 1996).

II.3. Caractéristiques physiques :

- Ce sont des liquides à température ordinaire et parfois visqueux ou cristallisés.
- Volatiles, odorant.
- Généralement incolores ou jaune pâle.
- Non miscibles à l'eau, elles sont aussi moins denses qu'elle pour la grande majorité.
- Elles sont solubles dans les huiles grasses, les alcools et les solvants organiques.
- Leur indice de réfraction souvent élevé avec un pouvoir rotatoire.
- Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. (Paris et Hurabielle, 1980).

II.4. Composition chimique :

Les huiles essentielles ont une composition assez complexe, contenant de nombreuses espèces chimiques, (Degryse *et al*, 2008). Et peut varier selon l'organe, les facteurs climatiques, la nature du sol, les pratiques culturales et le mode d'extraction. Les HE sont un mélange de constituants qui appartiennent à trois catégories de composés : terpéniques, aromatiques et variés. (Guignard J, 2000).

➤ Les Terpénoïdes :

Les terpènes sont une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Ce sont des composants majeurs de la résine et de l'essence de térébenthine produite à partir de résine. (Padua, 1999). Ce sont les plus volatiles ils ont la

masse moléculaire la moins élevée on distingue les monoterpènes et les sesquiterpènes. (Wichtl et Anton, 1999).

✓ Les Monoterpènes:

Ils sont cycliques ou monocycliques ou bicycliques, ils contribuent parfois plus de 90% de l'huile essentielle, (Bruneton, 1993).

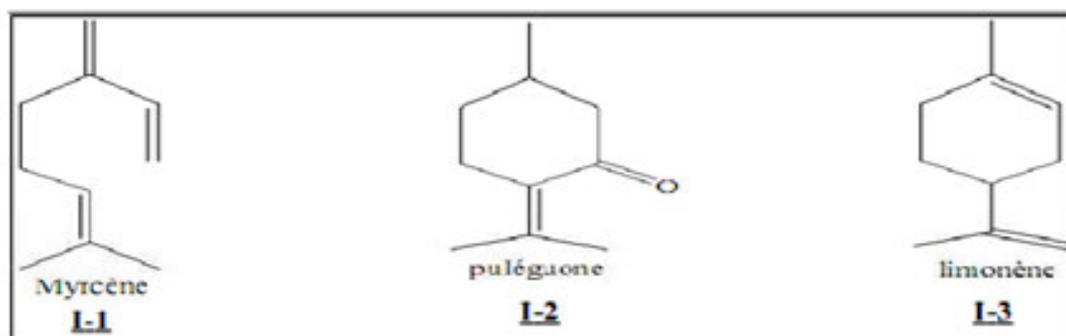


Figure 05:Exemples de quelques mon terpènes. (Bruneton, 1993).

✓ Les sesquiterpènes :

L'allongement de la chaîne accroît le nombre de cyclisation possibles. Ainsi, plus d'une centaine de squelettes différents ont été décrits, (Couderc, 2001).

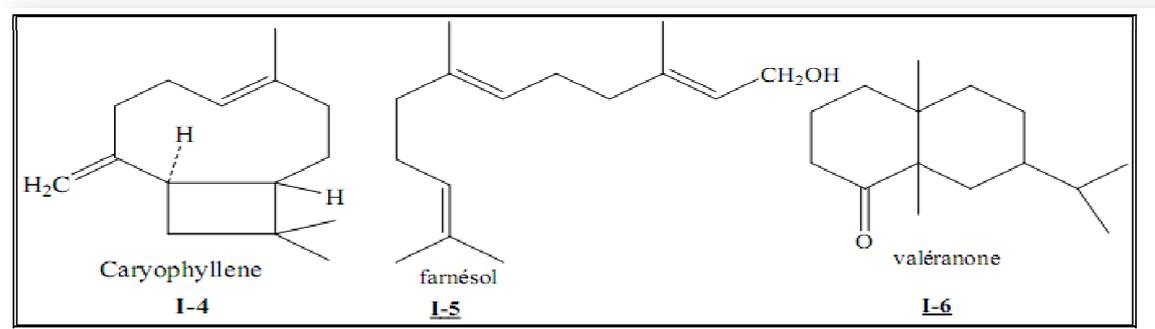


Figure 06 : Exemples de quelques sesquiterpènes. (Couderc, 2001).

➤ Les composés aromatiques :

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Kurkin, 2003).

Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol l'anéthole, l'estragole et bien d'autres (Bruneton, 1999).

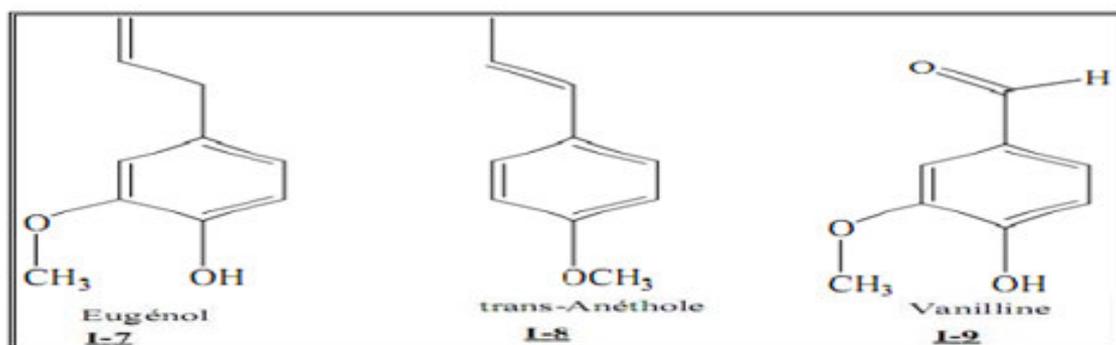


Figure 07 : Exemples de composés aromatiques. (Bruneton, 1999).

➤ Les composés d'origines diverses :

Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînaibles par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras, de terpènes. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares. (Bruneton, 1999).

Le tableau suivant résume quelques composés des HEs et leurs indications thérapeutiques. (Belghazi *et al*, 2002), (Chevalier, 1996), (Lopes *et al*, 1999), (Lubinic, 2003), (Zhiri A, et Baudoux, 2005).

Tableau 04 : quelques composés des huiles essentielles et leurs indications thérapeutiques.

| Les composés majoritaires d'HE | La plante productrice | Quelques indications thérapeutiques |
|--------------------------------|--|--|
| Thymol, Carvacrol, linalol | Thym (<i>Thymus vulgaris</i>) | -Expectorante et vermifuge -Lutte contre le vieillissement. |
| Thuyone, azulène, terpène | Absinthe(<i>Artemisiaabsinthium</i>) | -Stimule les sécrétions biliaires. -Vermifuge et anti-inflammatoire |
| Vérbenone, camphre, cinéol | Romarin(<i>Rosmarinusofficinallis</i>) | -Analgésique et cicatrisant. -Bactéricides. -Hepatodrenante |

| Les composés majoritaires d'HE | La plante productrice | Quelques indications thérapeutiques |
|--------------------------------|---|---|
| Cinéol ou eucalyptol | Eucalyptus(<i>Eucalyptus globulus</i>) | -En cas d'incapacité à se concentrer ou le cas d'affaiblissement physique ou psychique. -Aide à remettre de l'ordre dans les idées |
| Quinine | Quinquina(<i>Cinchona sp</i>) | -Traitement de malaria. -Antipaludéen et antispasmodique. |
| Pulégone(82%) | Menthe pouliot (<i>Menthapulegium</i>) | -Pouvoir antifongique contre <i>Penicillium</i> et <i>Mucor</i> . |
| Nerolidol | Amazon viola surenamensis | -Anti malaria par inhibition de biosynthèse de glycoprotéine d'agent infectieux |
| Eugénol,acétate d'eugényle | Girofle(Clou de girofle)(<i>Eugenia caryophyllus</i>) | -Hypotension. -Infection urinaires -Arthrite,rhumatisme. |
| Limonéne | Citron(<i>Citrus limonum</i>) | -Fatigue digestive, hépatique et pancréatique. Obésité, drainage lymphatique. -Perte de concentration. -Convalescence. -Fatigue cérébrale. |

II.5.Méthodes d'extraction des huiles essentielles :

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales (Sallé, 2004). Les HE sont obtenus à partir des plantes naturelles par plusieurs méthodes d'extraction, telles que la distillation à la vapeur d'eau, l'enfleurage... (Li et Chemat, 2014).

Le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), de la nature des composés (les flavonoïdes ou les tanins), qui détermine la qualité des huiles essentielles. (Tongnuanchan et Benjaku, 2014).

II.5.1. Distillation et entrainement à la vapeur :

Dans ce type de distillation, le matériel végétal est placé sur une grille perforée à travers laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. (Bassereau *et al*, 2007).

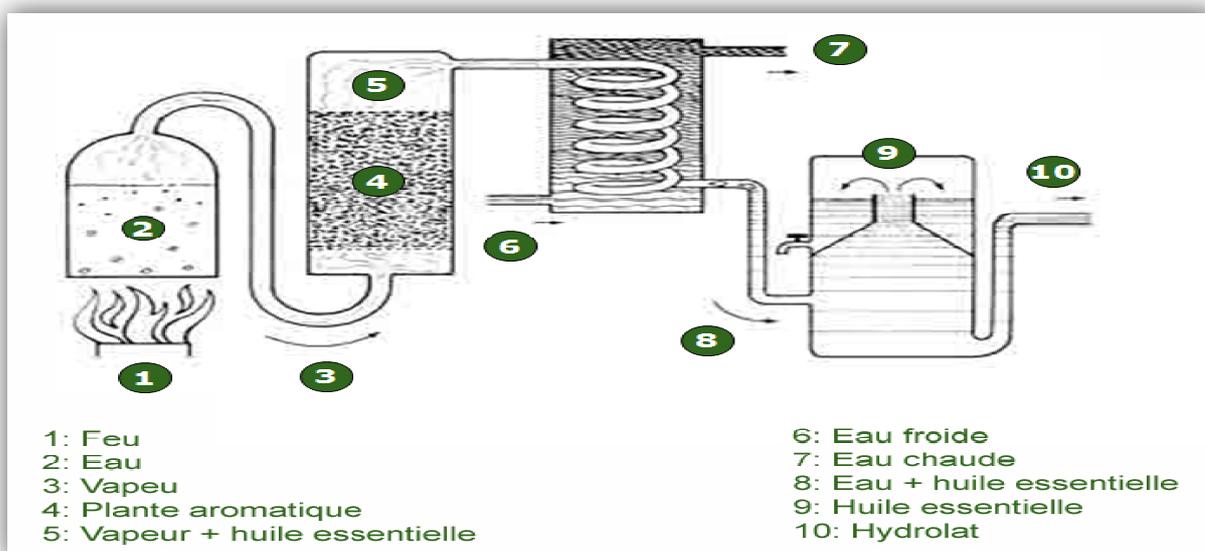


Figure 08 : Schéma de distillation des huiles essentielles à échelle industrielle par entrainement à la vapeur d'eau. (Bassereau *et al*, 2007).

II.5.2. Hydrodistillation :

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple et de ce fait, la plus anciennement utilisée. Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans

un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité.

Cependant, l'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (Li et Chemat, 2014).

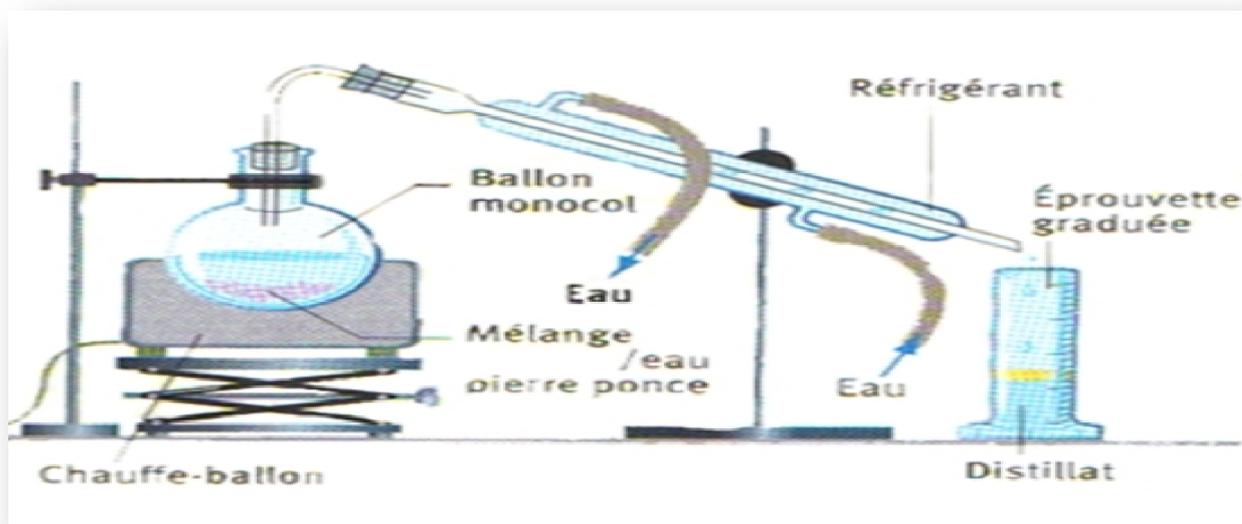


Figure 09 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (Rassem, 2016).

II.5.3. Extraction par solvants volatils :

C'est une méthode qui est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation. Elle est basée sur le pouvoir qu'ont certains solvants organiques à dissoudre les composants des huiles essentielles.

Dans ce procédé un épuisement des plantes est effectué à l'aide d'un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé « concrète ». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à « l'absolu » (Belaiche, 1979 ; Duraffourd *et al*, 1990).

Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques : sélectivité, stabilité, inertie chimique, température d'ébullition pas trop élevée pour permettre son élimination totale et pas trop faible pour éviter les pertes, sécurité de manipulation c'est-à-dire non toxique ou inflammable (Bruneton, 1999).

II.5.4. Extraction par enfleurage :

Cette technique est réservée aux fleurs fragiles (jasmin, rose) ne supportant pas les températures élevées (cependant la rose de Damas peut être distillée dans un but thérapeutique). Les fleurs mises dans un corps gras pendant plusieurs jours, le saturent en essence et produisent des pommades aromatiques. Les préparations obtenues peuvent être dissoutes dans de l'alcool à 35 °C et évaporées sous vide afin de donner des absolus (Larousse, 2014).

II.6. Domaines d'utilisation des huiles essentielles :

En raison de leurs diverses propriétés, les plantes médicinales et leurs essences présente un grand intérêt, en Alimentation (par leur activité anti-oxydante et aromatisant), en pharmacie (par leur pouvoir antiseptique, analgésique...), en parfumerie et en cosmétique (par leur propriété odoriférante), Et en agriculture. Les HEs sont devenues une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance. (Sallé, 2006).

II.6.1. En pharmacie :

Les huiles essentielles sont majoritairement destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses administrées par voie orale (Bruneton, 1999). De même, elles peuvent être utilisées pour leur activité antiseptique, en particulier dans le milieu hospitalier (Edris, 2007). Les propriétés pharmacologiques des HE leur confèrent un pouvoir antiseptique contre les bactéries, champignons et levures, en plus des propriétés bactériostatiques, bactéricides, vermicide, fongicides, antiseptique, insecticides.

En pharmacie On distingue nombreux produits tels que les pommades, les crèmes et les gels à base d'huiles essentielles permettraient de faciliter l'administration des médicaments par voie transdermique et grâce à la propriété de ces huiles à pénétrer aisément dans la peau. Généralement ces produits sont destinés à soulager les entorses, les courbatures, les allergies articulaires ou musculaires (Razafindrakoto, 1988 ; Dethier, 1996 ; Edris, 2007).

II.6.2. En cosmétologie :

Dans le domaine cosmétologie, les HEs sont employés en tant qu'agent conservateurs grâce à leurs propriétés antimicrobiennes qui permettent d'augmenter la durée de conservation du produit. Et grâce à leurs caractéristiques odorantes en raison de leur forte volatilité permet de ne laisse pas de trace grasse. Ils ont utilisé dans la formulation de parfums

de produits d'entretien personnels ou ménagers domestiques ou industriels (Aburjai et natsheh, 2003).

II.6.3.En industries agroalimentaires :

Selon (Conner, 1993), les HEs possèdent des profils de composition chimique différents, elles sont utilisées comme agents naturels de conservation des aliments. Leur utilisation comme agents de conservation est due à la présence de composés ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes.

Elles sont utilisés comme agents aromatisants naturels, les HEs dans l'aromatisation ne cesse de croître au dépend des composés aromatiques de synthèse(Bruneton,1993).

II.6.4.En agriculture :

Dans ce contexte environnemental, les pesticides naturels basés notamment sur les huiles essentielles, représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons (Isman, 2000 ; Dayan *et al*, 2009). D'après (Regnault- Roger et Hamraoui, 1995), Les modes d'application sont très variés soit par fumigation, attractif ajouté aux pièges à phéromones, répulsif ou par contact.

Les HEs présentent d'autres caractéristiques qui en font des produits adaptés dans la lutte contre les nuisibles. Parmi celles-ci (leur prix faible et approvisionnement assurés par une production mondiale importante pour de nombreuses huiles essentielles, leurs multiples modes et sites d'action sur les insectes, leur faible toxicité pour les mammifères, leur faible persistance dans l'environnement due à leur volatilité (Isman *et al*, 2010).

II.7.Conservation des huiles essentielles :

La conservation des huiles essentielles est difficile, ceci est dû à l'instabilité de leurs molécules. De ce fait, les possibilités de dégradation sont nombreuses. Il est possible de limiter celles-ci en utilisant des flacons de faible volume en aluminium, en acier inoxydable ou en verre brun, entièrement remplis et fermés de façon étanche, stockés à basse température, ou conservés sous atmosphère d'azote (J. Bruneton ,1993).

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque cinq ans, sauf les essences de Citrus qui se garde un peu moins

longtemps (Raynaud, 2006).

Selon les (Norme AFNOR NF T 75-001, 1996), Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles, ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HEs.

II.8. Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle :

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origines végétales restent identiques quel que soit le « type » d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale, les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation.

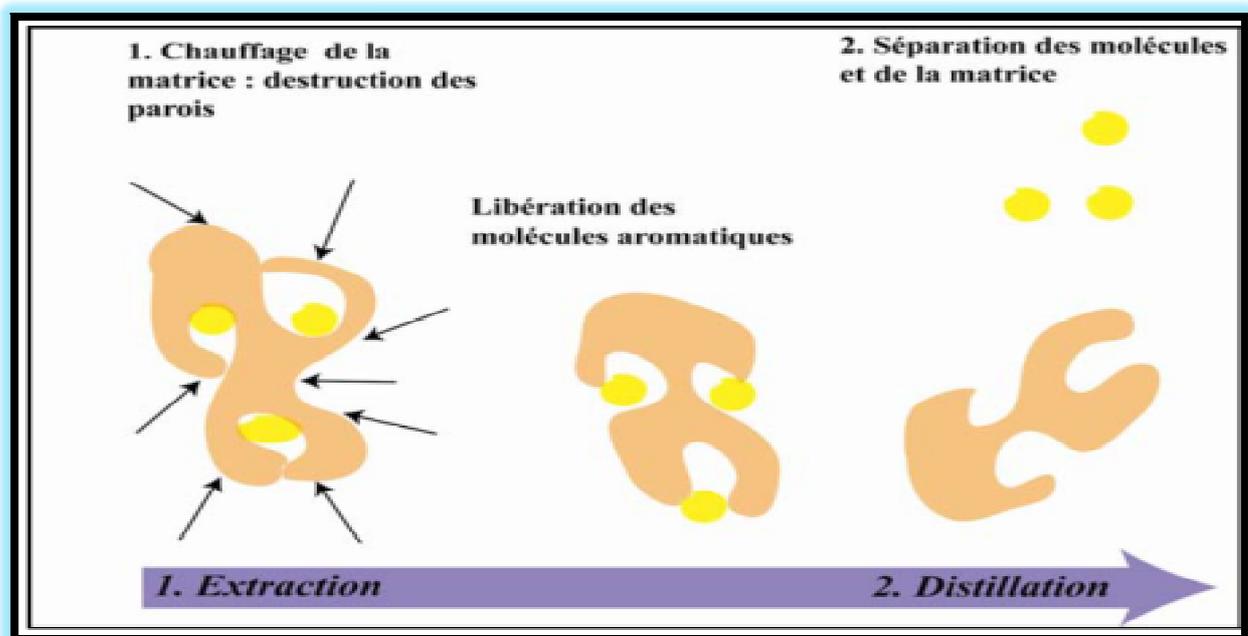


Figure 10 : Les étapes de l'extraction d'une huile essentielle (Hamadou&Touki, 2007).

II.9. Mécanisme d'action antibactérienne des huiles essentielles :

Les principaux mécanismes et sites d'action des différents constituants des Huiles essentielles sont :

- L'altération de la paroi cellulaire.
- La dégradation de la membrane cytoplasmique et L'altération des protéines membranaires.
- La fuite du contenu cellulaire et la coagulation du cytoplasme.
- L'épuisement de la force de mouvement des protons (Goetz&Ghedira, 2012).

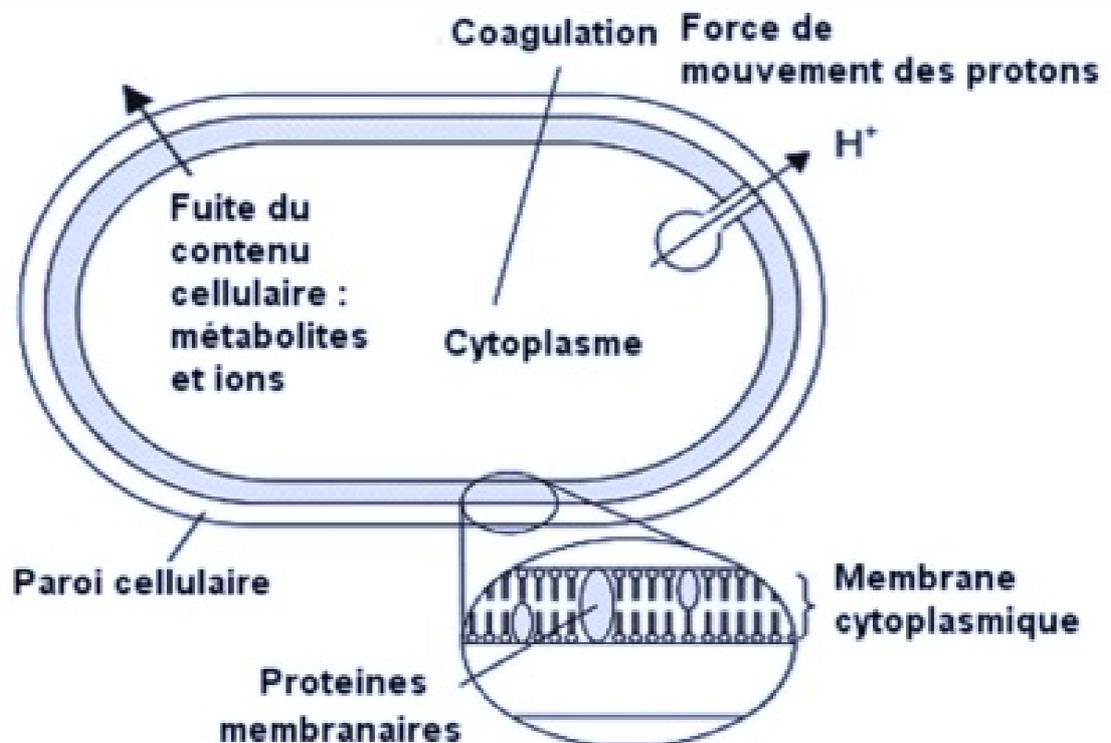


Figure 11: Les sites d'action des constituants des huiles essentielles sur les bactéries
(Goetz&Ghedira, 2012).

III.1.Généralités sur le monde microbien :

III.1.1.Généralités :

Selon Bourgeois, 1999, dans les pays en développement, les maladies infectieuses sont des problèmes de santé courants en raison de leur fréquence et de leur gravité. Mais malgré les dommages causés par ces micro-organismes nocifs, le monde scientifique a découvert de nombreux traitements pour soulager les patients. Ces traitements ont réduit la propagation des maladies infectieuses. (Traoré, Ouattara, Yéo, Doumbia, & Coulibaly, 2012).

III.1.2.Définitions des bactéries :

Les bactéries sont des micro-organismes remarquablement adaptables. Elles sont capables de survivre et se multiplier dans l'environnement. Ont un important potentiel d'adaptation génétique. Elles contiennent souvent de l'ADN plasmidique, capable de transférer du matériel génétique au sein de l'espèce ou vers des espèces différentes (Pandey & Singh, 2011). Cette adaptabilité génétique peut accroître à la fois leur pouvoir pathogène et leur résistance aux antibiotiques. (Bouyahya *et al*, 2017).

III.1.3.La morphologie bactérienne :

Taille des bactéries de l'ordre du micromètre : de 0,5 μm à plus de 10 μm , la grande majorité mesurant de 1 à 4 μm . (Troglia, 2014). Trois formes principales : coques, bacilles, bactéries spiralées.

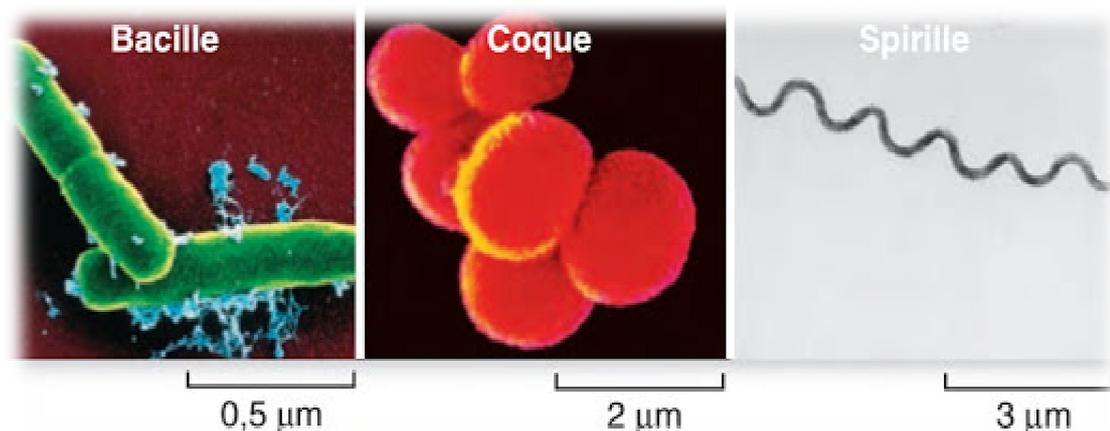


Figure 12: formes principales des bactérie (Johnson, Raven, Losos, Bouharmont, & Singer, 2011).

A titre d'exemple, *Escherichia coli* a la forme d'un bâtonnet, *Staphylococcus aureus* à forme cocci et s'assemble en amas (Bouyahya *et al*, 2017).

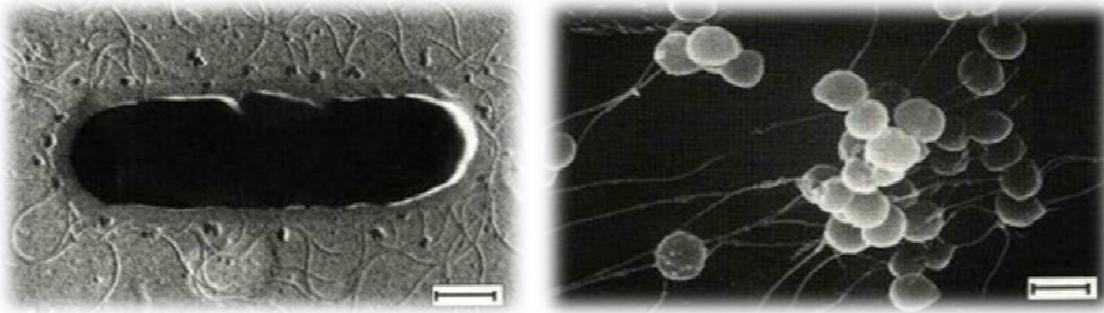


Figure 13: Forme bâtonnet d'*Escherichia coli* et cocci *Staphylococcus*. (Hart & Shears, 1997).

III.1.4. La paroi des bactéries à Gram positif et négatif :

La paroi est une structure rigide et résistante qui protège la bactérie et lui donne sa forme. Sa nature variable est à l'origine de la coloration de Gram qui permet de distinguer deux grands groupes bactériens, les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif. (Chevalet et al., 2010).

✓ Gram positif

Les bactéries Gram positif possèdent une paroi bactérienne qui se compose d'une couche peptidoglycane d'une épaisseur approximative de 20 à 80 nm. Elles représentent 90% des constituants de la paroi bactérienne. Cette couche est constituée d'acides teichoïques (polymères contenant du ribitol, du glycérol phosphate et des sucres) et d'acides lipoteichoïques qui s'enfoncent jusqu'à la membrane cytoplasmique par leur partie lipidique.

✓ Gram négatif

La couche peptidoglycane des bactéries Gram négatif est plus fine et ne dépasse pas 20 nm, elle est recouverte par une membrane externe dans laquelle on trouve des protéines et des lipopolysaccharides, qualifiés d'endotoxines pour leurs propriétés inflammatoires.

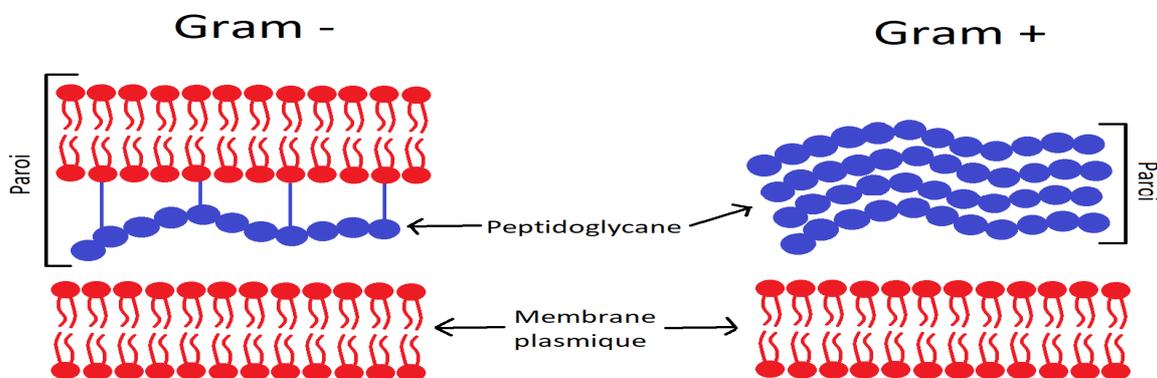


Figure 14: Paroi bactérienne des Gram positif et Gram négatif (Johnson *et al.*, 2011).

III.1.4.1. Bactéries à gram positif :**III.1.4.1.1. *Staphylococcus aureus*****✓ Caractère bactériologique :**

Staphylococcus aureus est une cocci bactérie Gram positif, aéro-anaérobies facultatifs appartenant à la famille des Staphylococcaceae (Becker et al, 2004, Murray et al, 2003). Elle a un diamètre d'environ 0,5 à 1,5 µm, immobile, sporulé; et habituellement disposé en grappe.

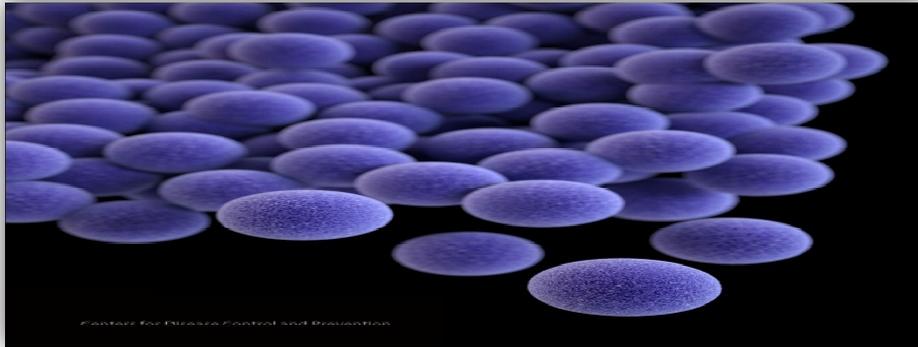


Figure 15: Observation microscopique de *Staphylococcus aureus*. (Becker et al, 2004, Murray et al, 2003).

✓ Habitat :

Staphylococcus aureus fait partie de la flore humaine, elle est présente à plusieurs endroits chez les humains : nez, aine, aisselle, région périnéale (hommes), muqueuse, bouche, glandes mammaires, cheveux, tractus intestinal, appareil génito-urinaire et voies respiratoires supérieures (Murray et al 2003, Le Loir et al 2003, Spendlove et al 1983).

✓ Pouvoir pathogène :

Staphylococcus aureus est un pathogène opportuniste qui peut causer diverses maladies chez les humains, allant des affections qui évoluent spontanément vers la guérison à des pathologies mortelles (Murray et al, 2003). Cette bactérie est une des principales causes de toxi-infections alimentaires, résultant de la consommation d'aliments contaminés par des entérotoxines (Le loir et al, 2003). L'intoxication alimentaire par les staphylocoques se caractérise par une apparition brutale de nausées, vomissements, douleurs abdominales, crampes et de diarrhée (Murray et al, 2003, Le Loir et al, 2003). Les symptômes disparaissent habituellement après 24 heures.

III.1.4.2. Bactéries à gram négatif :**III.4.2.1. *Pseudomonas aeruginosa*****✓ Caractère bactériologique :**

La *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie gram-négative du genre *Pseudomonas*. Les souches de cette espèce sont constituées de bacilles de 0,5 à 0,8 μm de diamètre sur 1,5 à 3,0 μm de longueur, se présentant de manière isolée ou groupée par deux ou en courtes chaînes, très mobiles grâce à un flagelle polaire : ciliature monotriche, dépourvue de spores et de capsules. Elles apparaissent la plupart du temps isolées ou en diplobacilles (Schachter, 1999).



Figure 16: observation microscopique du *Pseudomonas aeruginosa*. (Schachter, 1999).

✓ Habitat :

Germe ubiquitaire, vivant dans les sols et en milieu humide (évier, robinets et bouchons), fréquent en milieu hospitalier, entraînant l'apparition de véritables souches d'hôpital. Il peut survivre dans de l'eau distillée ou salée, voire se développer dans certaines solutions antiseptiques ou antibiotiques. L'exploration instrumentale lors d'exams médicaux (cathéter veineux, sondes, endoscopies) favorise la pénétration de ce germe dans l'organisme (Fauchère *et al*, 2002, Prescott *et al*, 2010).

✓ Pouvoir pathogène :

Les formes de pathologie qu'elle engendre sont diverses : infection de l'œil, des plaies telles que les brûlures et les plaies opératoires, des infections urinaires gastro-intestinales et des poumons (Tortora *et al*, 2012).

III.1.4.2.2. Escherichia coli**✓ Caractère bactériologique :**

Escherichia coli est un bacille à gram négatif, radiorésistant de la famille des *Enterobacteriaceae*, *asporulé*. Sa taille varie en fonction des conditions de croissance (entre 0,5 à 3 μm), pesant de 0,5 à 5 picogrammes .Il peut se déplacer au moyen de flagelles péritriches comme il peut être immobile .Les bactéries se développent sur gélose Mac Conkey (les colonies, rouges ou incolores, atteignent un diamètre de 2 à 3 mm). Elles peuvent croître dans des conditions aérobies ou anaérobies (Farmer *et al*,2007).

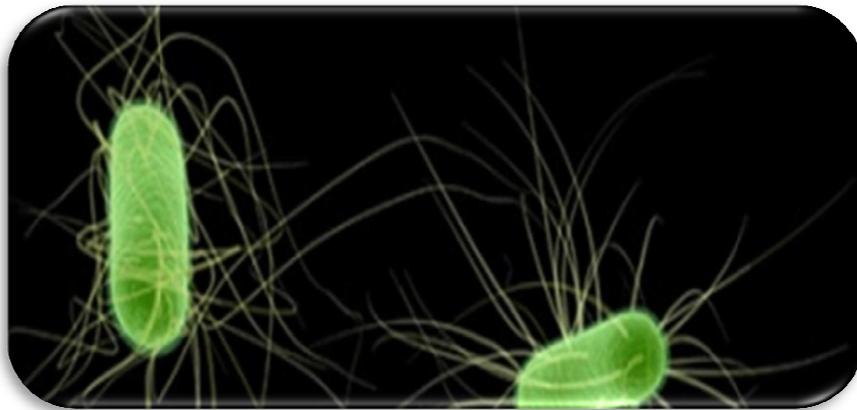


Figure 17: Observation microscopique d'*Escherichia coli* (Farmer *et al*,2007).

✓ Habitat :

Escherichia coli est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Il représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne aérobie de l'intestin (espèce aérobie dominante). Ce germe se rencontre aussi au niveau de diverses muqueuses.

✓ Pouvoir pathogène :

Escherichia coli peut provoquer plusieurs types d'infections, il se manifeste par une gastro-entérite, mais peut également provoquer des infections de plaies péritonites et des voies urinaires, des méningites et l'insuffisance rénale (Donnenberg *et al*,1992). *Escherichia coli* est aussi la cause fréquente de diarrhée du voyageur, qui peut se produire après avoir ingéré ou bu des aliments et de l'eau contaminés (Donnenberg *et al* ,1992).

Notre travail consiste à l'étude de l'activité antibactérienne d'huile essentielle extraite à partir de plante médicinale aromatique d'espèce du genre *Thymus vulgaris* récoltées de la région de M'chedallah. L'extraction d'huile essentielle a été effectuée au Laboratoire de Microbiologie (LM), Université de Bouira, par hydrodistillation.

IV.1. Matériel :

IV.1.1. Matériels non biologique : utilisé pour réaliser cette étude est résumée dans le tableau suivant :

Tableau 05 : liste des matériels non biologiques utilisés pendant la manipulation

| Verreries et petits matériels | Appareils | Réactifs et produits chimiques |
|--|---|--|
| -Bécher 250 ml -Fiole 100 ml -Entonnoirs -Tubes à essais -Boîtes de pétris -Bec benzène -Micropipettes -Pipettes pasteures -Erlenmeyer -Burette | -Agitateur magnétique -Balance analytique -Étuve -Spectrophotomètre -Hydrodistillateur de type Clevenger -Ph mètre -Réfrigérons | -Milieu gélose nutritive - MilieuMueller-Hinton -Diméthylsulfoxyde(DMSO) - Chlorure de sodium(NaCL) -Ethanol -Dichlorométhane |

IV.1.2. Matériel végétal :

La plante de *Thymus vulgaris* a été récolté au mois de février 2019, dans la région de M'chedallah de la wilaya BOUIRA. L'échantillon est séché à l'abri de la lumière et d'humidité pendant 20 jours. Le matériel végétal séché est divisé en deux parties, une partie consacrée pour l'extraction par macération est passée dans un broyeur électrique, la poudre obtenue est conservée dans un flacon opaque. Le reste est découpé en petits morceaux (feuille ; rameau) pour l'extraction des huiles essentielles.



(A)

(B)

Figure 18:(A) : photo montrant l'espèce de *Thymus vulgaris*. (Original) (B) : Séchage des plantes à l'ombre dans un endroit aéré (Original).

IV.1.3. Microorganismes :

- **Origine et choix des souches bactériennes**

Le choix des bactéries s'est porté sur deux souches de bactéries fréquentes en pathologie humaine, appartenant à deux catégories différentes (Gram positive et Gram négative). L'efficacité des produits testés ainsi que leur modalité de pénétration dans la bactérie sont différentes. Les souches bactériennes utilisées sont illustrées dans le tableau 06.

Tableau 06 : Les Bactéries utilisés et les références des souches.

| Bactéries | Souches | Références |
|--------------|-------------------------------|------------|
| Gram positif | <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC 25923 |
| Gram négatif | <i>E. coli</i> | ATCC 25922 |
| Gram négatif | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27853 |

- ✓ Ces souches nous ont été fournies par l'hôpital de BaïnemAlger.
- ✓ Elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance à l'obscurité pendant 24h à 37°C.

IV.2.Méthodes :

IV.2.1.Méthode d'extraction :

IV.2.1.1.Hydrodistillation :

l'extraction de HE de *thymus vulgaris* a été faire par un Hydro-distillation de type Clevenger .Il est constitué d'une chauffe à plaque, une ballon et chauffe ballon où l'on place le materiel végétal et de l'eau de roubine,d'une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) qui vient de l'échauffement de ballon et erlenmeyer qui reçoit les extraits de la distillation .

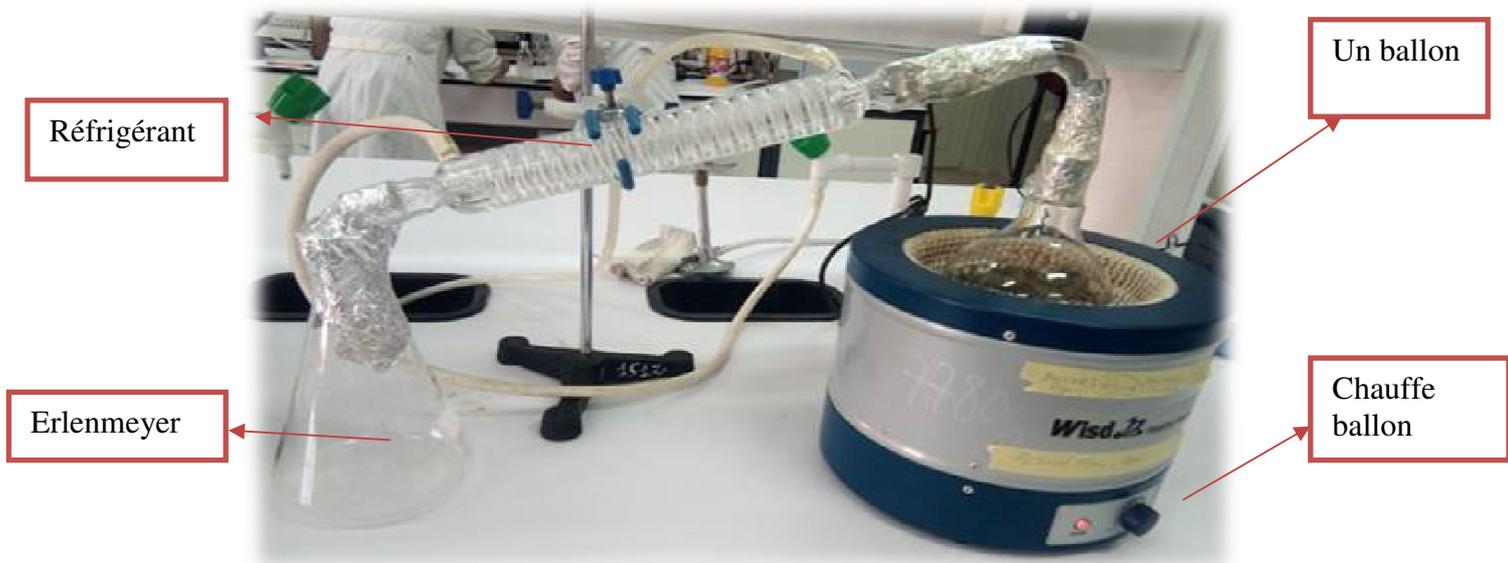


Figure19 : L'Appareil d' hydrodistillateur de type Clevenger.



Figure 20: la récupération de l'huile essentielle de *thymus vulgaris*.

- **Le principe et Procédés d'extraction :**

L'opération a consisté à introduire 50 g de masse végétale séchée et broyé dans un ballon Bicol de 1000 ml en verre, on ajoute une quantité suffisante d'eau distillée environ 500ml sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition

- ✓ Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon.
- ✓ Les vapeurs chargées d'huile essentielle sont passés à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation.
- ✓ Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube remplis auparavant d'eau distillée.
- ✓ L'opération d'extraction dure 3 H à partir du début d'ébullition II est en général formé de 2 liquides non miscibles encore appelés phase, la phase aqueuse la plus abondante, est constituée d'eau dans laquelle sont dissoute très peu d'espèces odorantes, la phase organique (l'huile essentielles) est constituée des espèces odorantes.
- ✓ Traiter l'huile par un déshydratant, 15 g de chlorure de sodium Na Cl car la solubilité de l'huile essentielle du *thymus vulgaris* étant moins importante dans l'eau salée que dans l'eau.
- ✓ Notre huile essentielle est très soluble dans le dichlorométhane, c'est pourquoi dans une ampoule à décanter on a versé 15 ml du dichlorométhane et agiter en effectuant, de temps en temps, un dégazage et ont à laisser décanter afin de récupérer à la fin l'huile essentielle.

- **La conservation de l'huile essentielle :**

Une fois l'HE est obtenue, elle est conservée dans un flacon en verre enveloppé de papier d'aluminium fermé hermétiquement, à une température compris entre 4 et 6°C pour la préserver de l'air et de la lumière et éviter toute dégradation (Tirel *et al*, 2015).

IV.2.1.2.Préparation d'Extrait brut de *thymus vulgaris* par macération :

L'extraction par macération est une extraction à froid par contact entre le support solide et le solvant et la séparation se fait par filtration, elle consiste à prendre 30 g de poudre et les macérés dans 300 ml de l'éthanol. Alors les solutions ont été versées dans un erlenmeyer et ont été mise dans un agitateur pendant 24 H (Figure21), la filtration est ensuite effectuée sous vide à l'aide d'un fiole à vide et un entonnoir (Bendahou *et al*, 2007).

Le filtrat recueilli est soumis à une évaporation sous vide dans un rota-vapeur muni d'une pompe à vide pour éliminer l'éthanol jusqu'à ce que le volume de chaque solution atteigne 30 ml (ajustées à un niveau standard 1g dans 10 ml), ce mélange constitue l'extrait brut à tester. Les solutions ont été versées dans le flacon, numérotées et stocké à 4°C.

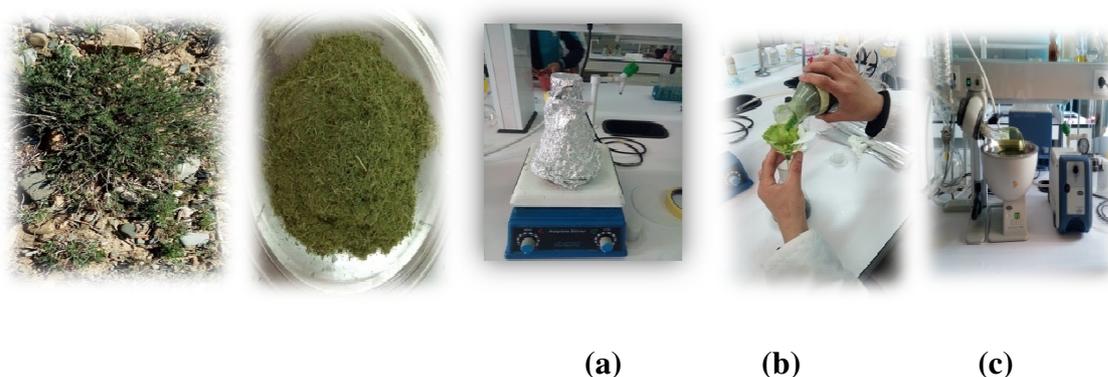


Figure 21: Les étapes de Préparation d'extrait brut de *thymus vulgaris* par macération.

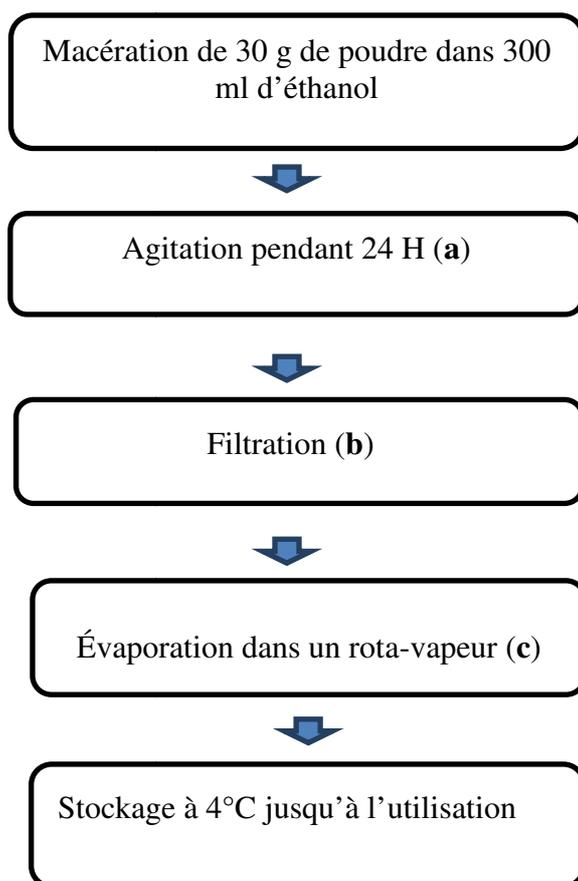


Figure 22: Les étapes appliquées pour l'extraction par macération de l'extrait brut.

IV.3. Les analyses de l'huile essentielle et l'extrait brut du *thymus vulgaris*

IV.3.1. Caractérisation d'HE :

- **Caractérisation organoleptique :**

Selon (Bentchicou, 1999 ; Hameurlaine, 2009), Chaque huile essentielle est caractérisées par ces caractères organoleptique tels que: l'odeur, l'aspect physique et la couleur.

- ✓ **L'aspect physique** : l'aspect d'une huile dépend des produits qui la constituent, elle peut apparaître sous forme liquide, solide ou bien semi solide.
- ✓ **L'odeur** : elle appartient aux sens chimiques les plus sensibles.
- ✓ **La couleur** : la coloration d'une huile essentielle dépend des produits qui la constituent, donc la couleur change d'une huile essentielle à l'autre ; elle peut être déterminée à l'œil nu.

IV.3.2. L'analyse physique :

IV.3.2.1. Rendements :

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE} = \frac{M'}{M} \times 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en %.

M' : Masse d'huile essentielle en gramme.

M : Masse de la plante en gramme.

IV.3.2.2. La mesure de pH :

Le pH d'abréviation de potentiel d'hydrogène mesure l'activité chimique des ions Hydrogènes (H+) en solution. Plus couramment, le ph mesure l'acidité ou la basicité d'une solution.

Il s'agit d'un coefficient permettant de savoir si une solution est acide ou basique ou neutre : Elle est acide si son pH est < 7 , neutre s'il est égal à 7, basique s'il est > 7 .

IV.4.Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne :

Deux méthodes différentes sont employées pour l'évaluation de l'effet antibactérien de l'HE de thym (*thymus vulgaris*) : la méthode de l'aromatogramme a (Essawi et Srour, 2000) qui permet la mise en évidence de l'activité antibactérienne des différents extraits et la méthode des micro dilutions (Billerbeck *et al*, 2002) qui a pour objectif la détermination des CMI (concentrations minimales inhibitrices) à partir d'une gamme de concentrations de produit dans un milieu de culture.

✓ Aromatogramme sur milieu solide :

L'étude a été réalisée par méthode de diffusion, conçue initialement pour les antibiotiques, mais en substituant les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés d'huiles essentielles.

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques, ils permettent de comparer les efficacités des HEs entre elles (Sivapriya & John, 2016). Les disques étant tous chargés de la même quantité d'HE, cette méthode permet de choisir pour une bactérie donnée, l'HE la plus efficace. (Fontanay & Mougnot, 2015) .

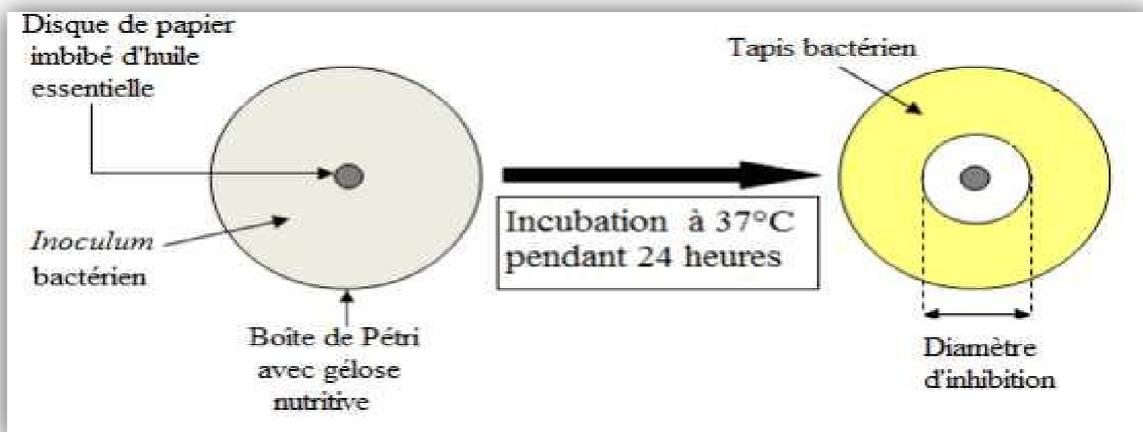


Figure 23 : Principe de la méthode de diffusion par disque.

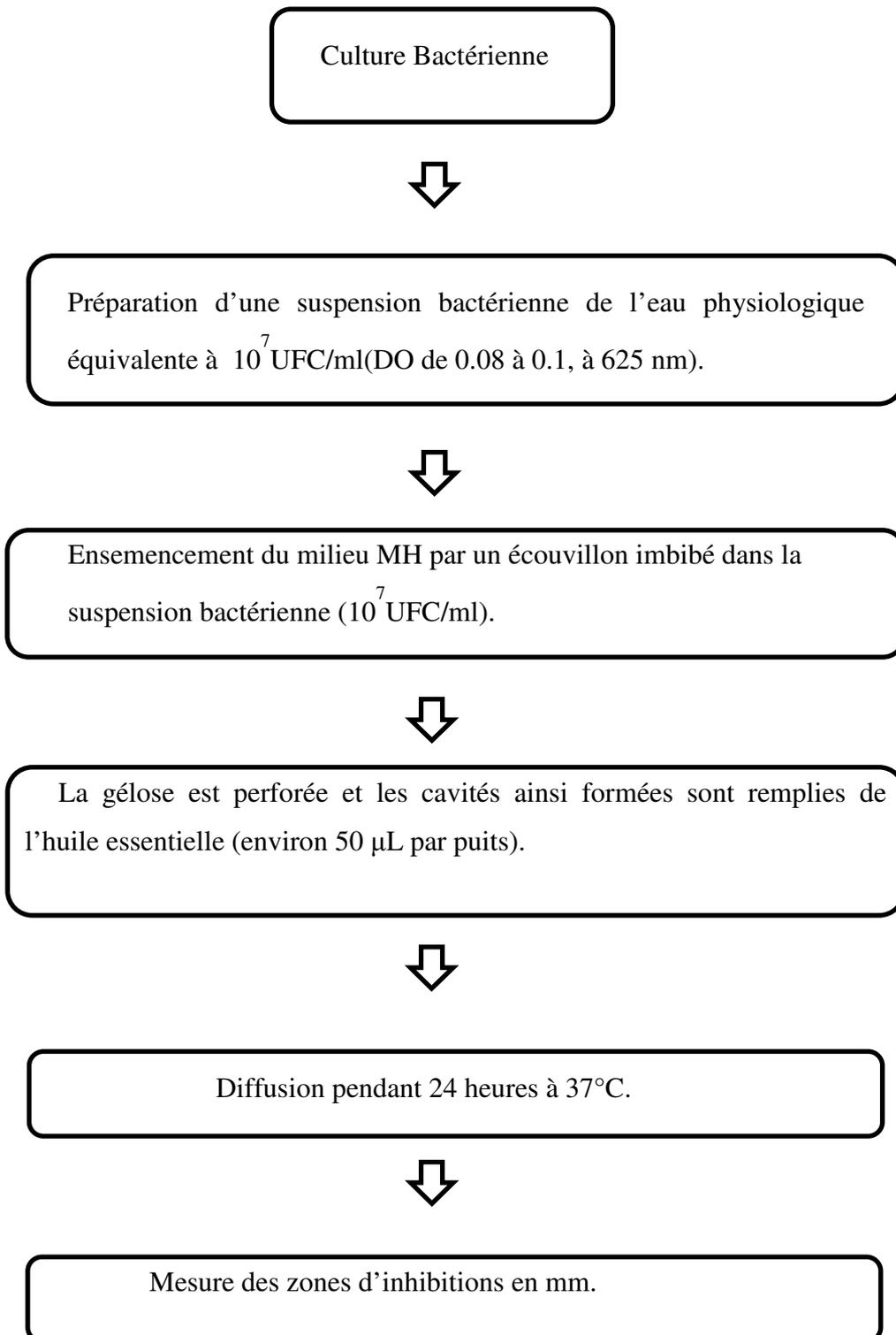


Figure 24 : Étapes de réalisation du test d'activité antibactérienne.

IV.4.1. Les étapes de l'activité antibactérienne par méthodes des disques :

➤ Le protocole de préparation du milieu de culture :

Le milieu retenu pour la majorité des espèces bactériennes est celui de Mueller-Hinton. Ce milieu permet la croissance de nombreuses bactéries.

- ✓ On pèse 38g de la poudre dans un litre d'eau distillé.
- ✓ Porter à l'ébullition jusqu'à dissolution complète.
- ✓ Répartir en tubes ou flacons et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

Au moment de l'emploi. Faire fondre le milieu au bain marie bouillant et le couler en boîtes de pétri. L'épaisseur de la couche de gélose doit être de 4mm. Sécher les boîtes 30 min à 37°C.

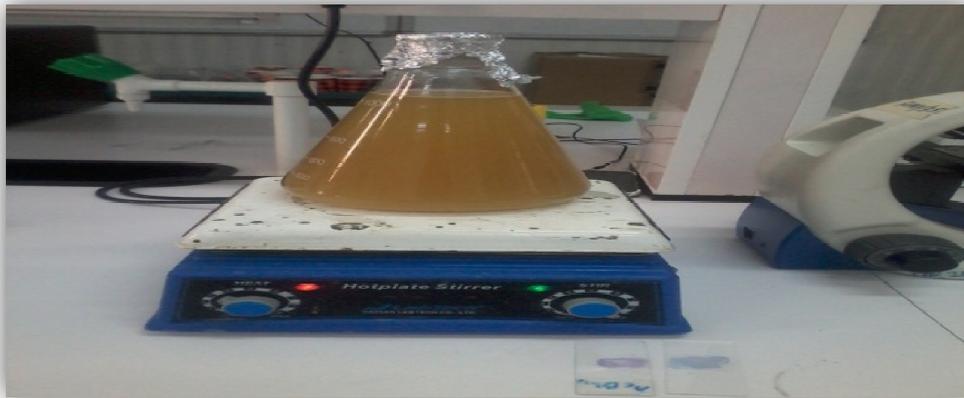


Figure 25: Le milieu de Mueller-Hinton.

1) Le ré-isolément des souches bactériennes :

Le bouillon nutritif (BN) (**annexe 04**) est utilisé pour la vérification de la vitalité des bactéries

- ✓ A l'aide d'une pipette pasteur ou anse de platine on prend un échantillon de la culture ; et on le met dans le BN.
- ✓ Mettre dans l'étuve pendant 24h à 37°C. Après 24 h d'incubation, ces tubes sont conservés à la T° de réfrigération (4 °C). Dans le but de garder toujours la disponibilité en souches.

2) La culture bactérienne :

Les colonies bien isolées des cultures bactériennes à partir d'une culture de plaque d'agar ont été transférées dans un milieu de bouillon contenant du flaon. La culture en bouillon a été incubée à 37 °C pendant une nuit et la turbidité de la culture de bouillon a été ajustée à 0,5 McFarland standards avec une solution saline stérile (Sharma & Baranwal, 2014).

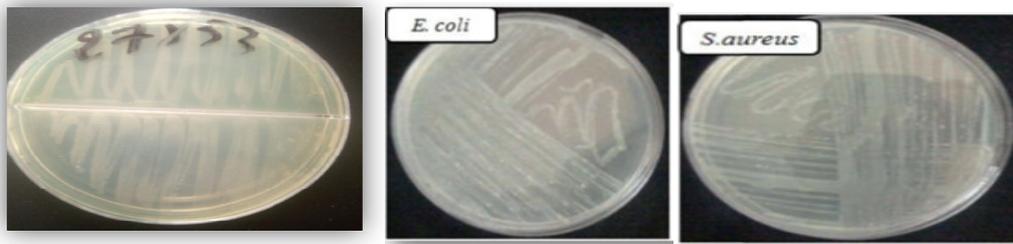


Figure26 : Les souches bactériennes.

3) Préparation de l'inoculum :

A partir des boîtes contenant les germes pathogènes on a préparé des suspensions pour chaque espèce. A l'aide d'une pipette pasteur on prélève deux ou trois colonies pures et bien isolées qu'on décharge dans un tube contenant 5 ml de l'eau physiologique stérilisée. (0.9% NaCl) de façon à obtenir un inoculum d'une opacité équivalente à une DO de 0.08 à 0.1, lue à 625 nm. Soit environ 10^7 CFU/ml L'enrichissement dure pendant 2 à 3 heures.

Selon (Bonnet *et al*, 2017) ajuster l'inoculum, soit en ajoutant l'eau physiologique stérile, s'il est trop fort ou bien en ajoutant la culture s'il est trop faible.



Figure 27: Préparation de l'inoculum.

4) L'ensemencement :

Ensemencer la gélose Mueller-Hinton est avec la suspension bactérienne par la méthode d'écouvillonnage et laisser bien sécher.

- Muller-Hinton c'est le milieu de culture utilisé, qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens. (**Annexe 03**).
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse) l'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, à chaque fois en tournant la boîte de pétri, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Lorsque l'ensemencement est fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (De Cliff&Harerimana, 2013).

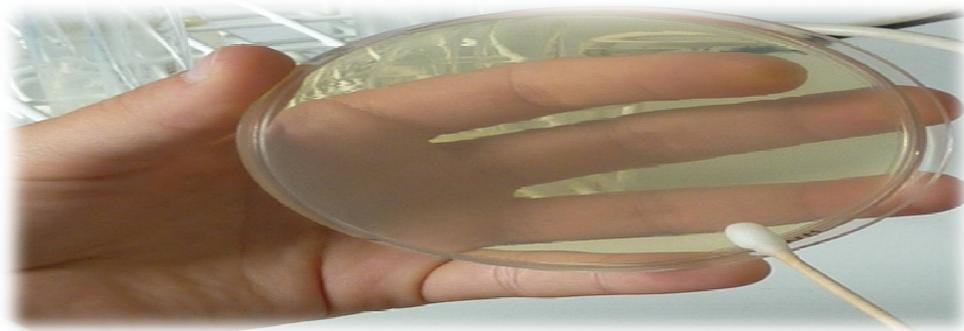


Figure 28:Ensemencement par écouvillon.

5) Tests d'inhibitions :

Nous avons utilisé deux méthodes (la méthode de diffusion en puits et la méthode de détermination des (CMI) sur milieu solide), Ces procédés ont été réalisés selon (Hernandez Ochoa, 2005) avec quelques modifications.

5.1. La méthode de diffusion en puits :

- Des boîtes de pétri contenant du Mueller Hinton agar sont ensemencées aseptiquement par une suspension de 10^7 CFU/ml

- L'ensemencement se fait par écouvillonnage, après le séchage des boîtes, la gélose est perforée à l'aide de la partie supérieure d'un embout stérile (6mm).
- Les cavités ainsi formées sont remplies de la solution huileuse avec une concentration (50ul par puits).
- Le solvant DMSO a été utilisé comme contrôle négatif.
- Les boîtes sont mises à 4°C pendant 2 à 4 H pour assurer la diffusion des extraits testés dans le milieu ensemencé, les boîtes sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 24H.
- La lecture des résultats se fait après l'incubation par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque par le pied coulisse. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible.

Selon (ponce, Fritz, Del valle, &Roura, 2003), La sensibilité des souches envers l'HE est classée selon les diamètres des Halos d'inhibitions.

L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne

| Diamètre(mm) | Sensibilité des souches |
|--------------|-----------------------------|
| D <8 mm | Non sensible /résistance(+) |
| 9< D <14 mm | Sensible(+) |
| 15 <D<19 mm | Très sensible(++) |
| D >20 mm | Extrêmement sensible(+++) |

5.2. La méthode de détermination des (CMI) sur milieu solide :

La concentration minimale inhibitrice est la plus petite concentration en HE, en extrait brut capable d'inhiber la croissance bactérienne (Hacini et Djelloul ,2017).

Cette technique consiste à inoculer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en HE, En extrait brut. Après l'incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).

Les essais de détermination de la CMI sont effectués selon la méthode de dilution en série sur milieu Mueller Hinton agar selon le protocole décrit par (Baudry&Brézellec, 2006).

- Diluer l'HE, Extrait Brut dans le Diméthylsulfoxyde (DMSO) (1/2 :1/4,1/8,1/16).
Le DMSO est le solvant préférable pour la majorité des auteurs, notamment, (Gachkar *et al*, 2007) qui ont prouvé que le DMSO n'a aucun pouvoir antibactérien puissant.
- Ensemencée la suspension bactérienne par écouvillonnage et déposé dans chaque puits 50ul de chaque dilution.
- Essais de diffusion de l'HE durant 1 heure.
- Incubation à 37°C pendant 24 heures.
- Après incubation, tous les puits sont examinés et la CMI ($\mu\text{l/ml}$) est déterminée en prenant en compte la plus faible concentration en HE qui inhibe tout développement bactérien.

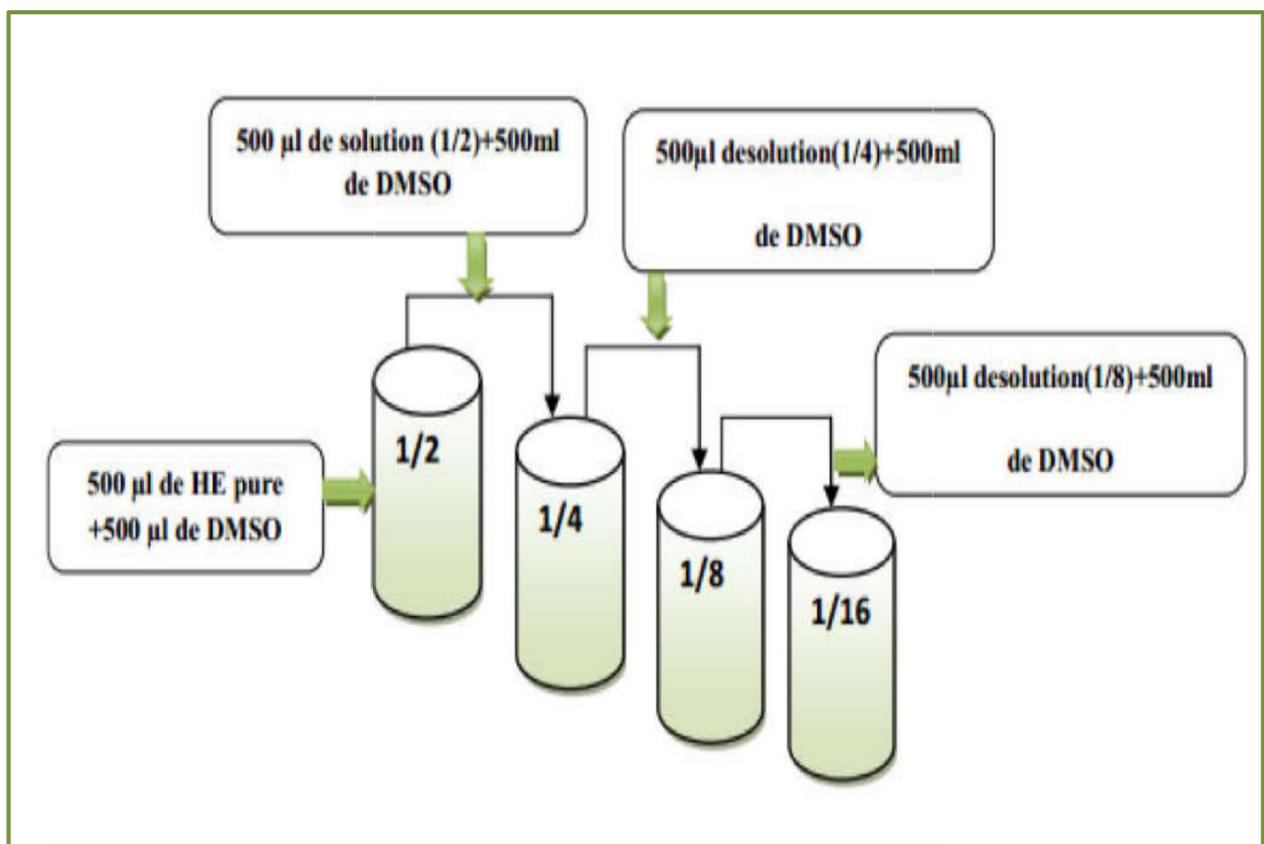


Figure 29:Préparation des dilutions de l'huile essentielle.

V.1.Description d'huile essentielle obtenue :

✓ Caractéristiques organoleptiques :

Les caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle sont présentées dans le tableau 07.

Tableau 07: Caractéristiques organoleptiques de *Thymus vulgaris*.

| Caractéristiques Espèces | L'odeur | La couleur | L'aspect physique |
|-----------------------------|--|--------------|-------------------|
| <i>Thymus vulgaris</i> | Aromatique âcre, caractéristique de l'espèce végétale. | Jaune claire | Liquide |

L'aspect physique, la couleur et l'odeur d'huiles essentielle sont en accord avec ceux rapportées par (Haddouchi *et al*, 2009).

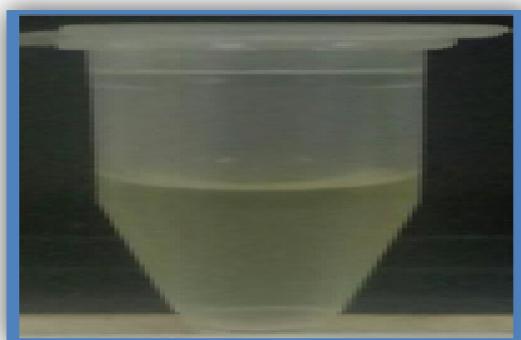


Figure 30 : Huile de *thymus vulgaris*.

V.2. Les analyses physiques de l'huile essentielle et de l'extrait brut de *thymus vulgaris*:

✓ Le Rendement :

Le rendement de l'huile essentielle extraite par hydrodistillation et le rendement de l'extrait brut obtenu par macération au niveau de laboratoire à partir de *thymus vulgaris* est montré dans le tableau suivant :

Tableau 08 : Résultat du rendement de l'huile et l'extrait brut de *T.vulgaris*.

| | Huile essentielles | Extrait brut | Norme AFNOR |
|------------------------------------|--------------------|--------------|----------------|
| Rendement en pourcentage(%) | 1.11 | 3.43 | Min=5 Max=8 |

Le rendement d'extrait brut obtenus par macération est plus grand que le rendement d'HE obtenus par hydrodistillation parce que le rendement d'extrait brut et le rendement en HE varient suivant diverses conditions : la méthode utilisée, les parties végétales utilisées, le produit et les réactifs utilisés pendant l'extraction, la période de la récolte de cette plante, le degré de séchage, les conditions de séchage, la température et la durée de séchage, l'environnement, son origine géographique, présence de parasites, de Verus. (Benbouali, 2006 ; Touré, 2015 ; Abdelli, 2017).

La faiblesse de rendement en HE est probablement due à une perte d'HE dans la phase aqueuse du distillat et la simplicité de notre dispositif d'Hydrodistillation. Lors de l'hydrodistillation, le matériel végétal se trouve immergé dans l'eau qui dissout plusieurs constituants de l'HE.

Une étude faite par (Bouguerra *et al*, 2017) sur la plante *T. vulgaris* de Blida a donné un taux de 1.58%. Benbouali a trouvé en 2015 la valeur de 1.13% comme rendement en huile essentielle de *T. vulgaris* récolté en printemps. Ce résultat est proche du notre (1.11%).

Une autre étude faite par Abdelli en 2017, a permis d'obtenir des rendements moyens en huiles essentielles à partir des feuilles sèches de *T. vulgaris* de Tlemcen et de Mostaganem allant respectivement de 4.2 à 2.2%. Ces résultats sont cependant supérieurs aux rendements de nos huiles.

En dehors de l'Algérie, une étude faite par (Jordán *et al.* 2006) sur *T. vulgaris* d'Espagne a donné des résultats semblables aux nôtres (de 2.17 à 4.73%). Un rendement plus élevé en huile essentielle a été noté par (Badi *et al.* 2004) pour le thym de Jordanie (5.40%). Tandis que des concentrations plus faibles ont été rapportées en Iran (1.87%) (Kazemi *et al.*, 2012), au Mexique (1.7%) (Soto-Medivil *et al.*, 2006), au Maroc (1.0%) (Imelouane *et al.*, 2009; El-Akhal *et al.*, 2015) et en Inde (0.3%) (Syamasundar *et al.*, 2008).

✓ Mesure de pH :

Les propriétés physico-chimiques, Le pH est constitué comme un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle (AFSSAPS, 2008). Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles et l'extrait Brut analysé ont été déterminés selon les normes de l'association française de normalisation (AFNOR). Les moyennes des paramètres étudiés sont représentées dans le tableau 09.

Tableau 09: Résultat de pH de l'huile et l'extrait brut de *T. vulgaris*.

| | HE | Extrait brut | Norme AFNOR |
|----|------|--------------|------------------|
| pH | 5.98 | 6.08 | Min=5.5 Max=7 |

Selon nos résultats pH sont acide (pH < 7) ceci est due à la composition chimique de ces produits illustrés en figures dans l'annexe 02. Ce résultat peut amener à un bon caractère stabilisateur dans les produits alimentaires.

Puisque nos extrais sont acides donc sont conformes aux normes internationales des HEs. Le pH obtenu indique que nos HE et l'extrait Brut sont légèrement acides.

Nos résultats ont été mis en parallèle avec ceux de (Haddouchi *et al*, 2009). Les paramètres physico-chimiques diffèrent suivant l'origine de l'huile essentielle. Ainsi, une huile essentielle provenant de la France n'aura pas les mêmes valeurs de paramètres que celle provenant de l'Algérie, de la Tunisie, de Madagascar. Tous ces paramètres sont influencés par les conditions édaphiques, climatique ainsi que les conditions de culture des plantes (Rajeswara *et al*, 1993).

II.3. Activité antimicrobienne :

Cette activité a été réalisée par la méthode d'aromatogramme par diffusion pour les bactéries, le pouvoir antimicrobien a été obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions (D) en millimètre pour les bactéries.

II.3.1. L'activité antibactérienne des huiles essentielles et l'extrait brut de *thymus vulgaris* :

L'évaluation de l'activité antibactérienne et des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles de *T. vulgaris* et de l'Extrait Brut par la méthode de diffusion des disques sur le milieu MH, nous a permis d'obtenir les résultats présentes dans **le tableau 10** et illustrés dans **l'annexe 05**.

Tableau 10 : l'évaluation de l'activité antibactérienne d'extrait et d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur différentes Souches testés.

| Les souches | Huile essentielle | Extrait brut | DMSO |
|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| E.coli | Diamètre(mm) | Diamètre(mm) | Diamètre(mm) |
| | 32 mm | 34 mm | 0 |
| <i>S. aureus</i> | 23 mm | 26mm | 0 |
| <i>P.aeruginosa</i> | 13mm | 24mm | 0 |

R : résistance <8mm S : sensible 9 à 14 mm Ts : Très sensible 15 à 19mm Es : Extrêmement sensible >20mm.

Nous remarquons que toutes les souches bactériennes ont été inhibées par l'huile essentielle extraite respectivement des feuilles sèches de *T. vulgaris*. Elles ont toutes montrées une sensibilité à l'HE. Les diamètres des zones d'inhibition varient de 13 à 32 mm pour l'HE de *T. vulgaris*. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère donc d'une bactérie à une autre.

Selon (Ponce *et al.* 2003) et (Moreira *et al.* 2005), la sensibilité des germes à été classée par le diamètre des halos d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour les diamètres moins de 8 mm ; sensible (+) pour les diamètres de 9 à 14 mm ; très sensible (++) pour les diamètres de 15 à 19 mm et extrêmement sensible (+++) pour les diamètres de plus de 20 mm.

Les grandes zones d'inhibition ont été constatées chez toutes les souches bactériennes testées avec l'extrait Brut de *T. vulgaris*. Les diamètres des zones d'inhibition varient de 24 à 34 mm.

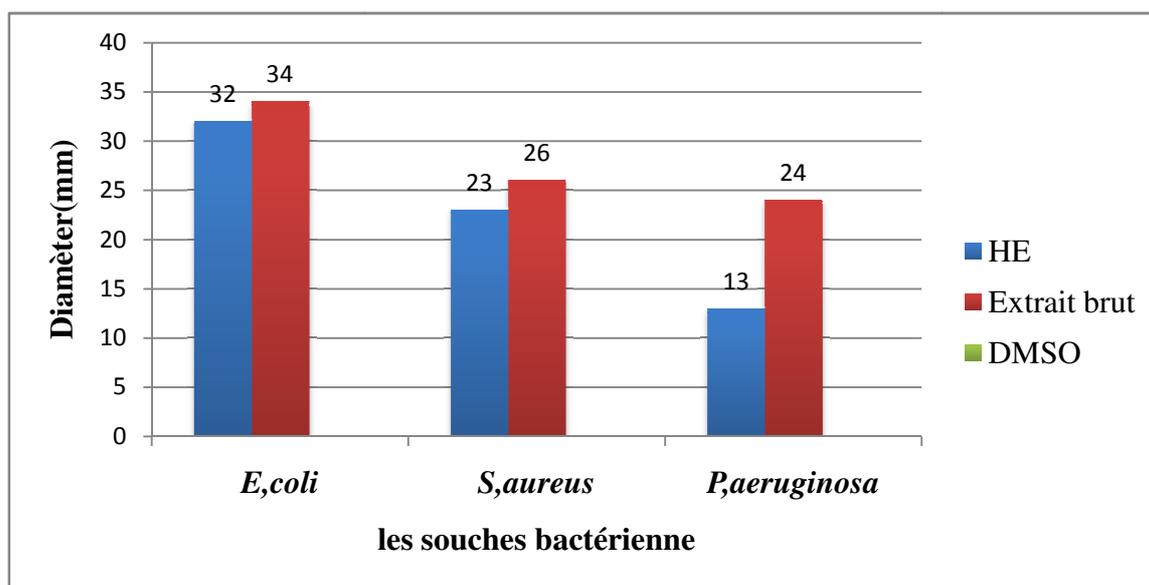


Figure 31 : l'évaluation de l'activité antibactérienne d'extrait et d'huile essentielle de *T. vulgaris* sur différentes Souches testés.

Par ailleurs, nous avons comparé nos résultats obtenus avec l'extrait EP (extrait polaire) de *Thymus vulgaris* avec ceux de Bouhdid et ses collaborateurs (2006), qui ont étudié le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de *T. vulgaris* à chémotypes thymol (36.58 %), sur plusieurs souches, notamment *P. aeruginosa*, *E. coli*, et *S. aureus* ; ils ont obtenu les résultats suivants : 8.0 mm, 20.0 mm et 22.0 mm respectivement. Nos résultats sont beaucoup plus élevés par rapport à ces dernières, Pa 13mm, E. Coli 32 mm, S, aureus 23 mm.

cela est dû à plusieurs raisons, premièrement, leurs souches sont peut-être plus résistantes que les nôtres ; deuxièmement, au fait que les échantillons de plante (*Thymus vulgaris*) utilisés sont d'origine géographiques différentes, ce qui fait intervenir le phénomène de polymorphisme chimique ; enfin, ces chercheurs ont utilisé comme extrait l'huile essentielle pure alors que notre extrait (EP) contient en plus de l'huile essentielle d'autres composés chimiques à activité antimicrobienne (surtout les flavonoïdes apolaires) qui travaille en synergie au sein de l'extrait.

Nos résultats obtenus avec les extraits polaires de *Thymus vulgaris* ont été comparé avec ceux de (Essawi et Srour, 2000), ces deux savants ont étudié l'activité antibactérienne des extraits alcoolique de *Thymus vulgaris*. Ils ont enregistré une faible activité par rapport à nos résultats pour l'extrait alcoolique : *S. aureus* (26.0 mm), *E. coli* (18.5 mm), *E. coli* ATCC

(0.0 mm) et *P. aeruginosa* ATCC (0.0 mm). Nous avons obtenu des résultats cela est dû au fait que nous avons utilisé des méthodes d'extraction différentes.

Les résultats obtenus montrent que l'activité antibactérienne est fonction de la bactérie cible. Il s'est avéré que toutes les bactéries testées ont été sensibles vis-à-vis de HE et de l'extrait Brut.

En revanche, *Pseudomonas* possède un potentiel de résistance un peu enlevé par rapport au *S. aureus* suite au faible zone d'inhibition observées vis-à-vis de le HE de *Thymus vulgaris* et de l'extrait Brut. Les Résultats observés montrent qu'un important effet antibactérien a été exercé par l'extrait Brut.

Concernant *S. aureus*, cette bactérie a manifesté une sensibilité à l'HE et de l'extrait brut, Il faut noter que l'activité antibactérienne la plus élevée a été enregistrée avec l'extrait brut .

Ces Résultats ont montré que *S. aureus* était plus sensible qu'*E. Coli* et *P. aeruginosa*. Cette sensibilité plus marquée des Gram (+) par rapport aux Gram (-), a été déjà observée dans plusieurs études antérieures (Cox,S,D *et al* ,2001).

II.3.2. La méthode de détermination des (CMI) sur milieu solide :

La méthode par dilution a pour but d'évaluer les concentrations minimales inhibitrices. Elle consiste à déterminer la plus faible concentration d'un agent antimicrobien, nécessaire pour inhiber la croissance d'un microorganisme. L'efficacité d'HE et de L'extrait Brut testée.les résultat présente dans le **tableau 11** et illustré en figure dans **l'annexe 06**.

Tableau 11: L'effet de concentrations décroissantes de *thymus vulgaris* et l'extrait brut sur la croissance des bactéries.

| Souches bactérienne | Dilution HE(mg/ml) | | | | | Dilution d'(EB) (mg/ml) | | | | |
|----------------------|--------------------|-----|-----|------|------|-------------------------|-----|-----|------|------|
| | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 | 1/32 | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 | 1/32 |
| E. Coli | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| <i>S. aureus</i> | - | - | - | + | + | - | - | - | - | + |
| <i>P. aeruginosa</i> | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - |

(+) :Croissance (-) :Inhibition

La valeur de CMI de l'HE de *thymus vulgaris* vis-à-vis de *S. aureus* est de 1/8, et de *Pa* est de 1/16. (Dans laquelle on n'observe aucun développement microbien).

Concernant la CMI de l'extrait Brut de *thymus vulgaris* vis-à-vis de *S.aureus* est de 1/16, et de *Pa* est de 1/32. (On n'observe aucun développement microbien).

Staphylococcus aureus à gram positif sont plus sensibles que les autres souches bactériennes testées à gram négatif.

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* se révèlent les plus résistantes, cela est liée à sa grande capacité de développer des résistances vis-à-vis de nombreux agents antimicrobiens, d'où son implication fréquente dans les infections hospitalières (Mann *et al.*, 2000).

Plusieurs auteurs rapportent la faible sensibilité des souches de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* (Thuille *et al.*, 2003 ; Bouhdid *et al.* 2006).

Tableau 12: Les CMI de l'HE et de l'Extrait Brut vis-à-vis des trois souches testé et leur pouvoir bactériostatique ou bactéricide.

| Les bactéries | Valeur de CMI (μ l/ml) de HE | Valeur de CMI (μ l/ml) de l'EB | pouvoir |
|---------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------|
| E.coli | ND | ND | ND |
| S. aureus | 0.015 (1/8) | 0.0063 (1/16) | bactéricide |
| P.aeruginosa | 0.007 (1/16) | 0.0031 (1/32) | bactéricide |

Selon nos résultats, *Pseudomonas* était la souche la plus sensible à l'action de l'huile essentielle avec une CMI de L'ordre de 0.007 μ l/ml. Et de 0.0031 μ l/ml avec l'extrait Brut.

La souche ayant présenté la valeur de CMI la plus faible est *Escherichia coli*, A l'opposé, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, ont montrées les valeurs de CMI les plus élevées.

D'après ces résultats nous remarquons que l'effet antibactérien est proportionnel à la concentration utilisée.

✓ **On regarde globale de nos résultats obtenus, il ressort que :**

Les études mettant en évidence l'activité antibactérienne des huiles essentielles à la fois sur les bactéries Gram⁺ et Gram⁻ ont été effectuées. En effet, l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* testée in vitro à inhibé la prolifération d'*Helicobacter pylori* (Haristoy *et al.*, 2003). L'huile de *Thymus vulgaris* témoigne d'une activité antibactérienne intéressante sur les bactéries Gram⁺ comme sur les bactéries Gram⁻ (Cheurfa *et al.*, 2013). (Treki *et al.*, 2009) ont

montrés que la plante *Thymus hirtus* démontra une activité antibactérienne importante vis-à-vis de *Bacillus amyloliquefaciens*, *Staphylococcus sp*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp* et *Proteus vulgaris*.

Par ailleurs, certaines études ont montrées que les bactéries Gram négatifs apparaissent plus résistantes que les Gram positifs vis-à-vis des huiles essentielles grâce à la structure de leur membrane externe (Mebarki, 2010). C'est le cas de *Pseudomonas aeruginosa* qui a une faible sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle de *T. vulgaris* (Yakhlef *et al*, 2011). Des résultats similaires ont été obtenus par (Ettayebi *et al*, 2000) qui ont montré que l'activité de l'huile de thym a été plus efficace contre les bactéries Gram positives (*Staphylococcus aureus*) que les Gram négatifs (*Escherichia coli*).

Ainsi, la membrane extérieure des Gram négatifs est plus riche en lipo-polysaccharides et en protéines que celle des Gram positifs qui la rendent plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer.

D'autres études ont cependant montré que les bactéries à Gram positifs seraient plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries à Gram négatifs (Marzouk *et al*, 2006 ; Lakhdar, 2015).

Alors que nos résultats (tableau 10,11) révèlent bien la sensibilité extrême des bactéries Gram⁻ et des bactéries Gram⁺.

L'extrait Brut de *thymus vulgaris* à exercés un effet inhibiteur sur l'ensemble des bactéries pathogènes testées.

D'une manière générale, Huiles et l'extrait brut testé ont montrées leurs efficacités remarquables sur les bactéries Gram⁺ et Gram⁻. HE de plante aromatique étudiée semblent avoir un pouvoir bactéricide vis-à-vis des souches testées. En effet, après 24 H d'incubation, aucune croissance bactérienne n'a été observée dans les différentes zones d'inhibition.

Le travail de tous ces auteurs confirme donc nos résultats dans la mesure où toutes les souches testées ont été extrêmement sensible à l'HE. (Mebarki 2010) et (Abdelli 2017) ont aussi démontrés l'effet bactéricide de l'HE du thym sur *Escherichia coli*, *Pseudomonas*

aeruginosa, *Staphylococcus aureus* avec des CMI allant de 1.25 à 0.312 µl / ml et de 1 à 0.06 %.

Cette grande activité antibactérienne des huiles essentielles est liée à la présence des phénols (thymol, Carvacrol) illustrés en figures dans l'**annexe 02** qui sont majoritaires dans l'huile du thym (Valero *et al*, 2006 ; Kaloustian *et al*, 2008). Plus les teneurs en phénols sont élevées, plus les huiles essentielles sont efficaces (Zhiri, 2006 ; Mebarki, 2010). Cependant, les phénols ne sont pas les seuls responsables de l'intégralité de cette activité. (Lahlou, 2004) a prouvé que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est supérieure à celle de ses composés majoritaires testés séparément.

L'activité antibactérienne de nos extraits peut être attribuable à la présence des composés phénoliques dans leurs compositions chimiques. En effet, les flavonoïdes sont reconnus pour leur toxicité contre les micro-organismes. Le mécanisme de la toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (protéases et autres interactions) pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et l'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

La quercétine provoque une augmentation de la perméabilité de la membrane bactérienne interne et une perturbation du potentiel membranaire (Mirzoeva *et al*, 1997), elle exerce aussi une activité antibactérienne contre presque toutes les bactéries responsables des problèmes respiratoires, gastro-intestinaux et urinaires (Rigano *et al*, 2006).

L'acide caféique quant à elle est efficace contre les bactéries (Brantner *et al*, 1996). Les tannins ont une action antibactérienne puissante leur permettant d'inhiber la croissance des bactéries ruminales (dont certaines sont sporogènes) comme *Clostridium aminophilum*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *C. proteoclasterium* (Chatterjee *et al*. 2004 ; Leitao, 2005), ainsi que les bactéries responsables de différentes infections chez l'homme : *Escherichia coli*, *S. aureus*, *Helicobacter pylori*, *Proteus mirabilis*.

Cette étude confirme donc la possibilité d'utiliser les feuilles sèches de *T. vulgaris* et celles de l'extrait Brut dans la prévention de plusieurs pathologies telles que ; les maladies infectieuses et les gastroentérites, et aussi de valoriser leur utilisation en industrie pharmaceutique et agroalimentaire (Chebaibi *et al*, 2011 ; Cheurfa et Allem, 2017).

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

La plante, *Thymus vulgaris* été choisie pour cette présente étude pour ces propriétés antibactériennes et son utilisation large en médecine traditionnelle.

Dans le présent travail, nous avons intéressé aux effets antibactériens d'HE et de l'extrait éthanolique des feuilles de *thymus vulgaris*.

Les résultats obtenus indiquent que le rendement d'extraction de l'huile essentielle par hydro distillation est de 1.11% et 3.43% pour l'extrait brut pour la cinétique d'extraction a montré que la quasi- totalité de l'huile essentielle est extraite au bout des 80 premières minutes.

L'extrait éthanolique et l'HE de *thymus vulgaris* ont été testés *in vitro*, pour leur pouvoir inhibiteur contre les souches bactériennes pathogènes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats montrent que l'extrait de *thymus vulgaris* possède une forte activité antibactérienne représentée avec des diamètres d'inhibition variant entre 24 mm et 34 mm pour les souches bactérienne et avec un diamètre de 13 mm à 32 mm pour huile essentielle.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) permet de déterminer la plus petite concentration qui inhibe la croissance des bactéries, d'après notre résultat *Pseudomonas* c'est la souche la plus sensible à l'action de l'huile essentielle avec une CMI de L'ordre de 0.007 µl/ml. Et de 0.0031 µl/ml avec l'extrait Brut.

Concernant *Escherichia coli* présenté la valeur de CMI la plus faible A l'opposé, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

Notre résultat montre que les bactéries testées sont toutes sensibles aux extraits de *thymus vulgaris* ainsi des zones d'inhibitions supérieures à celles engendrées par les HEs.

L'utilisation des extraits des feuilles pourrait constituer une source naturelle contre le problème de résistance des bactéries aux antibiotiques.

Au bout de cette étude, nous retiendrons que les extraits biologiques de notre plante exercent un fort effet antibactérien sur les souches étudiées et pourrait par conséquent être utilisé dans le traitement des maladies infectieuses.

Dans L'avenir On Suggérons :

- Testant d'autres méthodes d'extraction et leurs influences sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles.
- Extrayant les huiles de d'autres parties des plantes et les étudier.
- L'huile essentielle et l'extrait de *thymus vulgaris* mériterait une place importante à l'officine. Des études complémentaires, sur sa toxicité chez l'Homme, pourraient motiver son utilisation dans le cadre de nouvelles stratégies thérapeutiques.
- Déterminer les principes actifs présents dans ces extraits qui sont responsables de cette activité antibactérienne et de les utilisés comme médicament.
- Élargissant le spectre des propriétés biologiques que peuvent posséder les huiles essentielles en évaluant d'autres activités tant au niveau *in vitro* qu'*in vivo* telles que l'activité antitumorale, antivirale, insecticide et allélopathique.
- Les plantes médicinales peuvent offrir une nouvelle source d'agents antibactériens à utiliser.

(A)

- Aburjai, T. & Natsheh, F. M. (2003) Plants used in cosmetics, *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 17, 987-1000.
- Abdelli, W. (2017). *Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de Juniperus phoenicea et de Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat 3ième cycle LMD, Microbiologie Appliquée, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, 1-2 ; 15-16 ; 31-35 ; 70-72 ; 80 ; 90 ; 104.
- Adwan, G. M., Abu-Shanab, B., Adwan, K. & Abu-Shanab, F. (2007) Antibacterial effects of nutraceutical plants growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa*, *Turkish Journal of Biology*, 30, 239-242.
- AFNOR : 1989-normes des huiles essentielles. Ed. AFNOR. Paris.
- Agence Française de sécurité sanitaire des produits de santé. (2008). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. *Contribution pour l' évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles*.
- Al-Bayati, F. A. (2008) Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts, *Journal of ethnopharmacology*, 116, 403-406.
- Ameenah, Gurib-Fakim. (2006) Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow, *Molecular aspects of Medicine*, 27, 1-93.
- Andriamanampisoa, B. S. R. (1988). *Huiles essentielles d'eucalyptus de Madagascar: variabilité de la composition et du rendement en fonction de la période de récolte: essais de classement chemotaxonomique et propriétés pharmacodynamiques* (Doctoral dissertation, Montpellier 2), France, 225.
- A.P. S (Algérie Press Service).2015.plantes aromatiques et médicinale en Algérie : une marche potentielle non structuré. Université Mohamed khider-Biskra Faculte des Sciences de la Nature et de la vie. Exacts et de la vie. Département des sciences Agronomique, Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région médicinale des Aurès.

(B)

- **Baba Aissa, F.** (1991) Les plantes médicinales en Algérie, *coédition Bouchene et ad. Diwan, Alger*, 29.
- **Badi, H. N., Yazdani, D., Ali, S. M., & Nazari, F.** (2004). Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris L. Industrial crops and products*, 19(3), 231-236.
- **Bahekar, S. S. & Shinde, D. B.** (2004) Samarium (III) catalyzed one-pot construction of coumarins, *Tetrahedron Letters*, 45, 7999-8001.
- **Bailen, Babatunde. & Bakare, A.** (2006) Genotoxicity screening of wastewaters from Agbara industrial estate, Nigeria evaluated with the Allium test, *Pollution Research*, 25, 227.
- **Basrai, M. A., Hieter, P. & Boeke, J. D.** (1997) Small open reading frames: beautiful needles in the haystack, *Genome research*, 7, 768-771.
- **Baudry, C., & Brézellec, H.** (2006). *Microbiologie, immunologie*. Wolters Kluwer France.
- **Bazylo, A. & Strzelecka, H.** (2007) A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts, *Fitoterapia*, 78, 391-395.
- **Belaiche, P.** (1979) *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie: Les maladies infectieuses* (Maloine). p. 9-20.
- **Belghazi, L. Lahlou, N. Alaoui, I. Abou Saouiria T, Habti N, Tantaoui Iraki A, Talbi M, Blaghen M Et Fellat-Zarrouck K.** (2002) Extraction et analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de la menthe pouliot. Test antifongique [Extraction and analysis by gas chromatography of essential oil of pennyroyal mint tested as antifungal], *Congrès de biochimie. Casablanca. Biochimie et santé*, 38.
- **Beloued, A.** (1998) Medicinal plants in Algeria, *Alger: Office of University Publications*, 62.
- **Beloued, A.** (2001) Les plantes médicinales d'Algérie. (Ed) OPU, *Ben Aknoun, Algérie*, 100-227.
- **Benbouali M.** (2006). *Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de: «Mentha rotundifolia et Thymus vulgaris»* (Doctoral dissertation, Université de Chlef-Hassiba Benbouali). , 6-10 ; 17 ; 20-24 ; 29-37 ; 68-73.

- Bendahou, M., Benyoucef, M., Benkada, D., Elisa, M. S., Galvao, E. L., Marques, M. M. O., & Costa, J. (2007). Influence of the processes extraction on essential oil of *Origanum glandulosum* Desf. *Journal of Applied Sciences*, 7(8), 1152-1157.
- Benghanou M., (2012). La phytothérapie entre la confiance et mefiance. Memoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical CHETTIA (Alger): 56.
- Bentchicou A., (1999). *Extraction, caractérisation et analyse de l'huile essentielle de Thym d'Algérie par chromatographie en phase gazeuse (CPG)*. Thèse d'ingénieur, Univ.Médéa.
- Blaghen M et Fellat-Zarrouck K.(2002). Extraction et analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de la Menthe pouliot. Test antifongique. In: étude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Congrès de biochimie. Casablanca. Biochimie et Santé.38-40.
- Bonnet, R.,Jehl, F., Bru, J., Caron, F., Cattoen, C., & Cattoir, V. (2016). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. *Recommandations 2016. VI. 0 Février*, 117.
- Bouhdid, S., Idaomar, M., Zhiri, A., Baudoux, D., Skali, N. S., & Abrini, J. (2006). Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Congrès international de biochimie*, 324, 327.
- Bouguerra, N., Tine-Djebbar, F., & Soltani, N. (2017). Algerian *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition and larvicidal activity against the mosquito *Culex pipiens*. *International Journal of Mosquito Research*, 4(1), 37-42.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S.,Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 1-11.
- Brantner, A., Maleš, Ž., Pepeljnjak, S., & Antolić, A. (1996). Antimicrobial activity of *Paliurus spina-christi* Mill.(Christ's thorn). *Journal of ethnopharmacology*, 52(1), 119-122.
- Bruneton, J. (1993) Pharmacognosie: Phytochimie Plantes Médicinales, Technique Et Documentation—Ed, *Lavoisier, Paris*, 218.
- Bruno, M. (2007). Antibacterial activity of flavonoids and phenylpropanoids from *Marrubium globosum* ssp. *libanoticum*. *Phytotherapy Research: An International*

Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 21(4), 395-397.

(C)

- Chaker El Kalamouni. (2010) Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées.
- Chatterjee, A., Yasmin, T., Bagchi, D., & Stohs, S. J. (2004). Inhibition of *Helicobacter pylori* in vitro by various berry extracts, with enhanced susceptibility to clarithromycin. *Molecular and cellular biochemistry*, 265(1-2), 19-26.
- Chebaibi, A., Filali, F. R., Amine, A., & Zerhouni, M. (2011). Effet bactéricide (in vitro) des extraits aqueux des feuilles du grenadier marocain (*Punica granatum* L.) sur des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 9(3), 158.
- Cheurfa, M., & Allem, R. (2017). Effet des extraits de quelques plantes sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites. *Phytothérapie*, 15(6), 395-400.
- Cheurfa, M., Allem, R., Sebahia, M., & Belhireche, S. (2013). Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites. *Phytothérapie*, 11(3), 154-160.
- Chevallier, A. (1996) *The encyclopedia of medicinal plants:[a practical reference guide to over 550 key herbs & their medicinal uses]* (Dorling Kindersley London, UK).
- Chevalet, P., Fournel, S., Giraud, N., Gros, F., Laurenti, P., Pradère, F., & Soubaya, T. (2010). *Biologie: tout le cours en fiches: Licence, CAPES, Prépas*: Dunod.
- Conner, D. (1993) Naturally occurring compounds, *Antimicrobials in foods*, 441-468.
- Couderc V.L. (2001). Toxicité des huiles essentielles. Thèse de doctorat pour l'obtention du grade de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse. p 84.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
- Cox, S. D., Mann, C. M., & Markham, J. L. (2001). Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Microbiology*, 91(3), 492-497.

- Crespo, M., Jiménez, J. & Navarro, C. (1991) Special methods for the essential oils of the genus *Thymus* *Essential Oils and Waxes*, pp. 41-61. *Springer-Verlag, Berlin*.

(D)

- Damintoti Dicko, Karou, Mamoudou H Simporé, Jacques Yameogo, Saydou Sanon, Souleymane Traoré, Alfred S. (2005) Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du burkina faso, *Maitrise des procédés en vue d'améliorer la qualité et la sécurité des aliments, utilisation des OGM, analyse des risques en agroalimentaire. ouagadougou*, 8-11.
- De Cliff, S., & Harerimana, P. C. (2013). Extraction de l'Huile Essentielle Complète des Fleurs de *Cananga Odorata* de la Plaine de l'Imbo: Vers la Vulgarisation d'une Nouvelle Filière de Plante Industrielle au Burundi. *Revue de l'Université du Burundi-Série Sciences Exactes N° 28*, S. De Cliff et PC Harerimana.
- Degryse, A., Delpla, I. & Voinier, M. (2008) Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles, *Rapport de stage en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur du génie sanitaire*.
- Dethier Tordeur, M. (1996) Contribution à l'étude des plantes aromatiques du Burundi (Montpellier 2). 182.
- Donnenberg, M. & Kaper, J. (1992) Enteropathogenic *Escherichia coli*, *Infection and immunity*, 60, 3953.

(E)

- Edris, A. E. (2007) Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review, *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21, 308-323.
- El-Akhal F., Greche H., Ouazzani Chahdi F., Guemmouh R., El Ouali Lalami A. (2015). Composition chimique et activité larvicide sur *Culex pipiens* d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* cultivées au Maroc. *J. Mater. Environ. Sci*, 6(1), 214-219.

- Essawi, T., & Srour, M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of ethnopharmacology*, 70(3), 343-349.
- Ettayebi, K., El Yamani, J., & Rossi-Hassani, B. D. (2000). Synergistic effects of nisin and thymol on antimicrobial activities in *Listeria monocytogenes* and *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiology Letters*, 183(1), 191-195.

(F)

- Farmer Iii, J., Boatwright, K. & Janda, J. (2007) Enterobacteriaceae: introduction and identification, p 649–669, *Manual of clinical microbiology, 9th ed. ASM Press, Washington, DC.*
- Fauchère, J.L. Avril, J.L. (2002) *Bactériologie générale et médicale*. Ed., Ellipse. 213-281.
- Ferreira, F. D., Kemmelmeier, C., Arrotéia, C. C. Mallmann, C. (2013) Inhibitory effect of the essential oil of *Curcuma longa* L. and curcumin on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* Link, *Food Chemistry*, 136, 789-793.
- Folliard, T. (2014). *Le petit Larousse des huiles essentielles*. Larousse. Paris – 8 vol., p447.
- Fontanay, S., & Mougnot, M. E. (2015). Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires. *HEGEL*.
- Franchomme, P., Jollois, R., Pénoël, D. & Mars, J. (1990) *L'aromathérapie exactement: encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles: fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle* (R. Jollois). *Limoges*.445.
- Friedman, M. (2002). Henika Ph. R., Mandrell RE Bactericidal Activities of Plant Essential Oils and Some of Their Isolated Constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *Journal of Food Protection*, 65(10), 1545-1560.

(G)

- Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*, 102(3), 898-904.

- Garcia, D., Garcia-Cela, E., Ramos, A. J., Sanchis, V. & Marín, S. (2011) Mould growth and mycotoxin production as affected by Equisetum arvense and Stevia rebaudiana extracts, *Food control*, 22, 1378-1384.
- Goetz, P. Ghedira, K. (2012) *Phytothérapie anti-infectieuse* .Springer Science & Business Media. 394.
- Guignard J-L. (1996).Métabolites secondaires-Biochimie végétal. Edition MASSON. 169- 231 p.
- Gurib-Fakim, A. (2006) Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow, *Molecular aspects of Medicine*, 27, 1-93.

(H)

- Hacini, N., Djelloul, R. (2017). Study of the Antibacterial and Antifungal Activities of Oils of Pistacia lentiscus l. *International Journal of Applied Environmental Sciences*, 12(1), 133-143.
- Haddouchi, F., Lazouni, H. A., Meziane, A., & Benmansour, A. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de Thymus fontanesii Boiss & Reut. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 5(2).
- Haoui, I. E., Derriche, R., Madani, L., & Oukali, Z. (2015). Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian Inula viscosa (L.) Aiton. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(4), 587-590.
- Haristoy, X., Angioi-Duprez, K., Duprez, A., & Lozniewski, A. (2003). Efficacy of sulforaphane in eradicating Helicobacter pylori in human gastric xenografts implanted in nude mice. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 47(12), 3982-3984.
- Hernandez Ochoa, L. R. (2005). *Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combiné «solvant/actif» d'origine végétale* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Toulouse).

(I)

- Imelouane B., Amhamdi H., Wathelet J.P., Ankit M., Khedid K., El Bachiri A. (2009).Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *International Journal of Agriculture & Biology*, 11(2), 205-208.

- Iserin, P., Moulard, F., Rachel, R., Biaujeaud, M Ringuet., J Bloch. J Ybert. E Vican.,P Masson, M. (2001) La rousse: encyclopédie des plantes médicinales; identification, *préparation, soins*, 2, 155-291.
- Isman, M. B. (2000) Plant essential oils for pest and disease management, *Crop protection*, 19, 603-608.
- Isman, M. B., Miresmailli, S. & Machial, C. (2011) Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products, *Phytochemistry Reviews*, 10, 197-204.

(J)

- Jiménez-Arellanes A., Martínez R., García R., León-Díaz R., Aluna-Herrera J., Molina – Salinas G. et Saïd-Fernández S. (2006) Thymus vulgaris as a potential source of antituberculous compounds, *Pharmacologyonline*, 3, 569-574
- John, L. Devaney., Marcel, A., Jansen, M. and Whelan, W. (2014). Spatial patterns of natural regeneration in stands of English yew (*Taxus baccata* L.); Negative neighbourhood effects. *Forest Ecology and Management* 321, 52-60.
- Johnson, G. B., Raven, P. H., Mason, K. A., Losos, J. B. & Singer, S. R. (2011) Biologie-Version luxe, *France: De Boeck Supérieur*, 825-837.
- Jordán, M. J., Martínez, R. M., Goodner, K. L., Baldwin, E. A., & Sotomayor, J. A. (2006). Seasonal variation of Thymus hyemalis Lange and Spanish Thymus vulgaris L. essential oils composition. *Industrial crops and products*, 24(3), 253-263.

(K)

- Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L., & Vergnes, M. F. (2008). Étude de six huiles essentielles: composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*, 6(3), 160-164.
- Kazemi, M., Mousavi, E., & Bandrez, N. (2012). Chemical compositions and antibacterial activity of the essential oils of Thymus vulgaris and Tanacetum parthenium. *Res. J. Soil Biol*, 4, 21-31.
- Kothe, A. (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. Ed : Terre édition. P7-13V.

- Kurkin, V. (2003) Phenylpropanoids from medicinal plants: distribution, classification, structural analysis, and biological activity, *Chemistry of natural compounds*, 39, 123-153.

(L)

- Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(6), 435-448.
- Lakhdar L., (2015). *Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur Aggregatibacter Actinomycetemcomitans : Etude in vitro*. Thèse de doctorat, Sciences Odontologiques, Université Mohammed de Rabat, 6 ; 38-45.
- Leitão, D. P., Polizello, A. C. M., Ito, I. Y., & Spadaro, A. C. C. (2005). Antibacterial screening of anthocyanic and proanthocyanic fractions from cranberry juice. *Journal of medicinal food*, 8(1), 36-40.
- Le Loir, Y., Baron, F. & Gautier, M. (2003) Staphylococcus aureus and food poisoning, *Genetics and Molecular Research.*, 2, 63-76.
- Li, Y., Fabiano-Tixier, A.-S. & Chemat, F. (2014) *Essential oils as reagents in green chemistry* Springer International Publishing .p. 9-20.
- Lopes, N. P., Kato, M. J., Eloisa, H. D. A. Maia J.G.S, Yoshida M., Planchart A.R.et Katzin A.M. (1999) Antimalarial use of volatile oil from leaves of *Virola surinamensis* (Rol.) Warb. by Waiapi Amazon Indians, *Journal of Ethnopharmacology*, 67, 313-319.
- Lubinic, E. (2003) *Manuel Pratique D'aromathérapie: Les Huiles Essentielles Et Leur Utilisation* (Vigot).

(M)

- Makhlof, H. (2002) Les Huiles Essentielles Du Romarin Et Du Clou De Girofle: Approche Analytique Et Activité Antioxydante Sur Une Huile Alimentaire, *Mémoire D'ingénieur., Ina. El-Harrach*.
- Mann, C. M., Cox, S. D., & Markham, J. L. (2000). The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Letters in Applied Microbiology*, 30(4), 294-297.
- Marzouk, Z., Neffati, A., Marzouk, B., Chraief, I., Fathia, K., Ghedira, L. C., & Boukef, K. (2006). Chemical composition and antibacterial and antimutagenic activity

of Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. oil from Kasrine. *journal of food agriculture and environment*, 4(3/4), 61.

- Mebarki N., (2010). *Extraction de l'huile essentielle de Thymus fontanesii et application à la formulation d'une forme médicamenteuse antimicrobienne*. Magister, Génie des procédés chimiques et pharmaceutiques, Université M'hamed Bougara Boumerdes, 1 ;14 ; 29 ; 31 ; 51 ; 107.
- Mirzoeva, O. K., Grishanin, R. N., & Calder, P. C. (1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiological research*, 152(3), 239-246.
- Mekkadem, A. (1999) Cause de Dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie, *Revue Vie et Nature*, 24-26.
- Morales, R. (2002) the history, botany and taxonomy of the genus *thymus thyme: the genus thymus*, pp. 1-43. Taylor & Francis London.
- Moreira, M. R., Ponce, A. G., Del Valle, C. E., & Roura, S. I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT-Food Science and Technology*, 38(5), 565-570.
- Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., & Pfaller, M. A. (2007). *Manual of clinical microbiology*. 9th ed Washington. DC: ASM, 2488.

(N)

- Nogaret, A. S. (2011). *La phytothérapie: se soigner par les plantes*. Editions Eyrolles. Paris, 191.

(P)

- Padua, L.S. (1999). Bunyapraphatsara, R.H.M.J. Lemmens, *Plant Resources of South-East Asia*, 1.
- Pandey, A., & Singh, P. (2011). Antibacterial activity of *Syzygium aromaticum* (clove) with metal ion effect against food borne pathogens. *Asian journal of plant science and research*, 1(2), 69-80.
- Pardini F. ; Lucheroni M. T (1996) : *Le grand livre des Huiles essentielles*. Ed. de Vecchi.
- Pariente L. (2001) *Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique*. 2 ème Ed.

Académie nationale de pharmacie. Paris .p1643 .

- Pelt, J. M. (1980). *Les drogues: leur histoire, leurs effets*. Doin.
- Piochon, M. (2008) *Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse* (Université du Québec à Chicoutimi).
- Pirbalouti, A. G., Hashemi, M., & Ghahfarokhi, F. T. (2013). Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. *Industrial Crops and Products*, 48, 43-48.
- Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.
- Prasanth Reddy, V., Ravi Vital, K., Varsha, P. V., & Satyam, S. (2014). Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties. *Med. Aromat Plants*, 3, 164.
- Prescott, L.; Harley, J.; Klein, D. (2010). Microbiologie 3ème Ed., De Boeck. P, 520-582.
- Provost, M. (1991). Des plante qui guérissent .Ed .bibliothèque Quebécoise, Canada p13.

(R)

- Rajeswara Rao, B. R., Bhattacharya, A. K., Kaul, P. N., Chand, S., & Ramesh, S. I. (1993). Changes in profiles of essential oils of rose-scented geranium (*Pelargonium* sp.) during leaf ontogeny. *Journal of Essential Oil Research*, 5(3), 301-304.
- Rassem, H. H., Nour, A. H., & Yunus, R. M. (2016). Techniques for extraction of essential oils from plants: a review. *Aust. J. Basic Appl. Sci*, 10, 117-127.
- Raynaud, J. (2006). *Prescription et conseil en aromathérapie*. Tec & Doc. 16.
- Regnault-Roger, C., & Hamraoui, A. (1995). Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say)(Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Stored Products Research*, 31(4), 291-299.
- Rigano, D., Formisano, C., Basile, A., Lavitola, A., Senatore, F., Rosselli, S., &

(S)

- Sallé, J. L., & Pelletier, J. (1991). *Les huiles essentielles: synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie*. Ed. Frison-Roche, 168.
- Sarni-Manchad, P., & Cheynier, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire, Éd Tec & Doc. *Coll. Sci. & Techn. Agroaliment.*, Lavoisier, Paris, 398.
- Sanago R., (2006). Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53.
- Santoro, M. V., Zygadlo, J., Giordano, W., & Banchio, E. (2011). Volatile organic compounds from rhizobacteria increase biosynthesis of essential oils and growth parameters in peppermint (*Mentha piperita*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(10), 1177-1182.
- Sauvage, C. H. (1961). Recherches géobotaniques sur le chêne liège au Maroc. *Trav. Inst. Sci. Chérif., Ser. bot*, 21.
- Schaechter, M., Medoff, G., & Eisenstein, B. I. (1999). *Microbiologie et pathologie infectieuse*. De Boeck Supérieur, 81,181.
- Scopel, R., Falcão, M. A., Lucas, A. M., Almeida, R. N., Gandolfi, P. H., Cassel, E., & Vargas, R. M. (2014). Supercritical fluid extraction from *Syzygium aromaticum* buds: Phase equilibrium, mathematical modeling and antimicrobial activity. *The Journal of Supercritical Fluids*, 92, 223-230.
- 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.
- Sharma, P., & Baranwal, M. G. (2014). *Effect of Syzygium aromaticum on the growth of cancer cells and microbes* (Doctoral dissertation).
- Sivapriya, T., & John, S. (2016). A comparative study on the antibiotic property of commonly used culinary spices.
- Soto Mendívil, E. A., Moreno Rodríguez, J. F., Estarrón Espinosa, M., García Fajardo, J. A., & Obledo Vázquez, E. N. (2006). Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*. *e-Gnosis*, (4).
- Spendlove, J. C., & Fannin, K. F. (1983). Source, significance, and control of indoor microbial aerosols: human health aspects. *Public Health Reports*, 98(3), 229.
- Steven, J., Clifton, K., Ward, D. and Ranner, S. (1997). The status of juniper *Juniperus*

communis L. in northeast England. *Biological Conservation*, 79(1), 67-77.

- Syamasundar, K. V., Srinivasulu, B., Stephen, A., Ramesh, S., & Rao, R. R. (2008). Chemical composition of volatile oil of *Thymus vulgaris* L. from Western Ghats of India. *Journal of Spices and Aromatic Crops*, 17(3), 255-258.

(T)

- Teuscher, E., Anton, R., & Lobstein, A. (2005). *Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 521.
- Thuille, N., Fille, M., & Nagl, M. (2003). Bactericidal activity of herbal extracts. *International journal of hygiene and environmental health*, 206(3), 217-221.
- Tirel, M., Penot, E., Jahiel, M., & Danthu, P. (2015). Enquête sur la production d'huile essentielle de girofle: le point de vue des propriétaires d'alambics dans la région de Fénériver-est. France. 46
- Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231-R1249.
- Traoré, Y., Ouattara, K., Yéo, D., Doumbia, I., & Coulibaly, A. (2012). Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'*Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae). *Journal of Applied biosciences*, 58, 4234-4242.
- Treki A.S., Merghem, R., & Dehimat, L. (2009). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée: *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, (29), 25-29.
- Troglia, P. (2014). *150 fiches visuelles de biologie*. Paris: Dunod.
- Tortora, G. J.; Funke, B. R.; Case, C. L. (2012). Introduction à la microbiologie 2ème édition, Ed., ERPI Science. p, 141-145.
- Touré D., (2015). *Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire*. Thèse de doctorat, Biochimie, Université Felix Houphoet Boigny, Côte d'Ivoire, 5-15 ; 41 ; 49 ; 81p.
- Tyihák, E., Móricz, Á. M., & Ott, P. G. (2008). Biodetection and determination of biological activity of natural compounds *Thin Layer Chromatography in Phytochemistry* (pp. 214-235): CRC Press.

(V)

- Valero, M., & Frances, E. (2006). Synergistic bactericidal effect of carvacrol, cinnamaldehyde or thymol and refrigeration to inhibit *Bacillus cereus* in carrot broth. *Food microbiology*, 23(1), 68-73.

(W)

- Wichtl, M., & Anton, R. (1999). Plantes thérapeutiques, Ed. *TEC & DOC Lavoisier, Paris*, 270-9.
- Woodhead, M., Taylor, M. A., Brennan, R., Mcnicol, R. J., & Davies, H. V. (1998). Cloning and characterisation of the cDNA clones of five genes that are differentially expressed during ripening in the fruit of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.). *Journal of Plant physiology*, 153(3-4), 381-393.

(Y)

- Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*, 9(4), 209.

(Z)

- Zhiri, A. (2006). Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré, *Nutra News. Science, Nutrition, Prévention et santé. Edité par la Fondation pour le libre choix*, 12(8).
- Zhiri, A., & Baudoux, D. (2005). Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. *Luxembourg: Éditions Inspir.09*.

Annexe 01 : liste des médicaments à base de thym.

| Médicament | Propriété |
|---|--|
|  | <p>Thymoseptine est utilisé comme expectorant en cas de toux associée à un refroidissement.</p> <p>Thymoseptine contient de l'extrait de thym, pour son action apaisante de la gorge. Cette plante aromatique typique des régions méditerranéennes possède des propriétés assainissantes précieuses dans les irritations de la gorge et les enrouements.</p> <p>Ingrédients 200 mg d'extrait sec de <i>Thymus vulgaris</i> L., herba (équivalent à 1,2 g - 2,0 g de feuilles et fleurs de thym). Solvant d'extraction : éthanol 70 % V/V.</p> |
|  | <p>Ce médicament est une association d'huiles essentielles végétales (terpènes) qui possède une action locale antiseptique sur les muqueuses des voies respiratoires. Il est utilisé dans le traitement d'appoint des affections bronchiques aiguës bénignes.</p> <p>Composition : Thym, huile essentielle 0,465 mg Alcool 100 mg</p> |
|  | <p>Pommade de Thym Il en faut peu pour soulager les symptômes du rhume et les bronches encombrées</p> <p>Ingrédients Thymus, calendula, chamomilla</p> <p>Poids 125 g</p> |

| | |
|---|--|
|  | <p>Complément alimentaire à base du thym Contribue au confort digestif. 100% d'origine naturelle. Extrait sec de thym 500mg</p> |
|  | <p>Médicament de phytothérapie. Traditionnellement utilisé dans le traitement symptomatique de la toux. Composition du médicament ARKOGELULES THYM Principes actifs: Thym Excipients: Tunique de la gélule : Hypromellose (E464).</p> |
|  | <p>Crème de soin à usage externe Bienfaisante et libératrice. Avec sa senteur aromatique intense et son effet rafraîchissant, vivifiant, la Crème au thym favorise le bien-être.</p> |
|  | <p>L'infusion MEDIFLOR® Thym DAYANG Infusion bio thym apporte un effet apaisant et agréable sur la gorge, le pharynx et les cordes vocales. Composition : Thym, feuilles (<i>Thymus vulgaris</i>) 100%. Une boîte contient 24 sachets-dose.</p> |

Annexe 02 : Les composés chimiques de thym.

| Espèce | Familles | Compositions |
|--------------------|------------------------------|--|
| Thymus Vulgaris | Phénols (20-80%) | Thymol (30-70%) Carvacrol (3-15 %) |
| | Alcools | Linalool (4 - 6.5%) α -terpinéol (7.8 – 8.9%) |
| | Monoterpènes hydrocarbonés | p-cymène (15 – 20%) γ -terpinène (5 – 10%) bornéol, camphre, limonène, myrcène, β -pinène, transsabinène hydrate et terpinène-4-ol (0.5 – 1.5%) |
| | Sesquiterpènes hydrocarbonés | β -caryophyllène (1 – 3%). |

Annexe 03 :Gélose Muller-Hinton.

Composition :

- Infusion de viande de bœuf 300 ml
- Peptone de caséine :17,5 g
- Amidon de maïs :1.5 g
- Agar :17 g
- PH : 7,4



Annexe 04 : Préparation de la gélose nutritive.

- On pèse 28g de la poudre dans un litre d'eau distillé.
- Porter à l'ébullition jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes ou flacons et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

Au moment de l'emploi. Faire fondre le milieu au bain marie bouillant et le couler en boîtes de pétri. L'épaisseur de la couche de gélose doit être de 4mm. Sécher les boîtes 30 min à 37°C



Annexe 05: Résultats de l'aromatogramme de *Thymus vulgaris*.

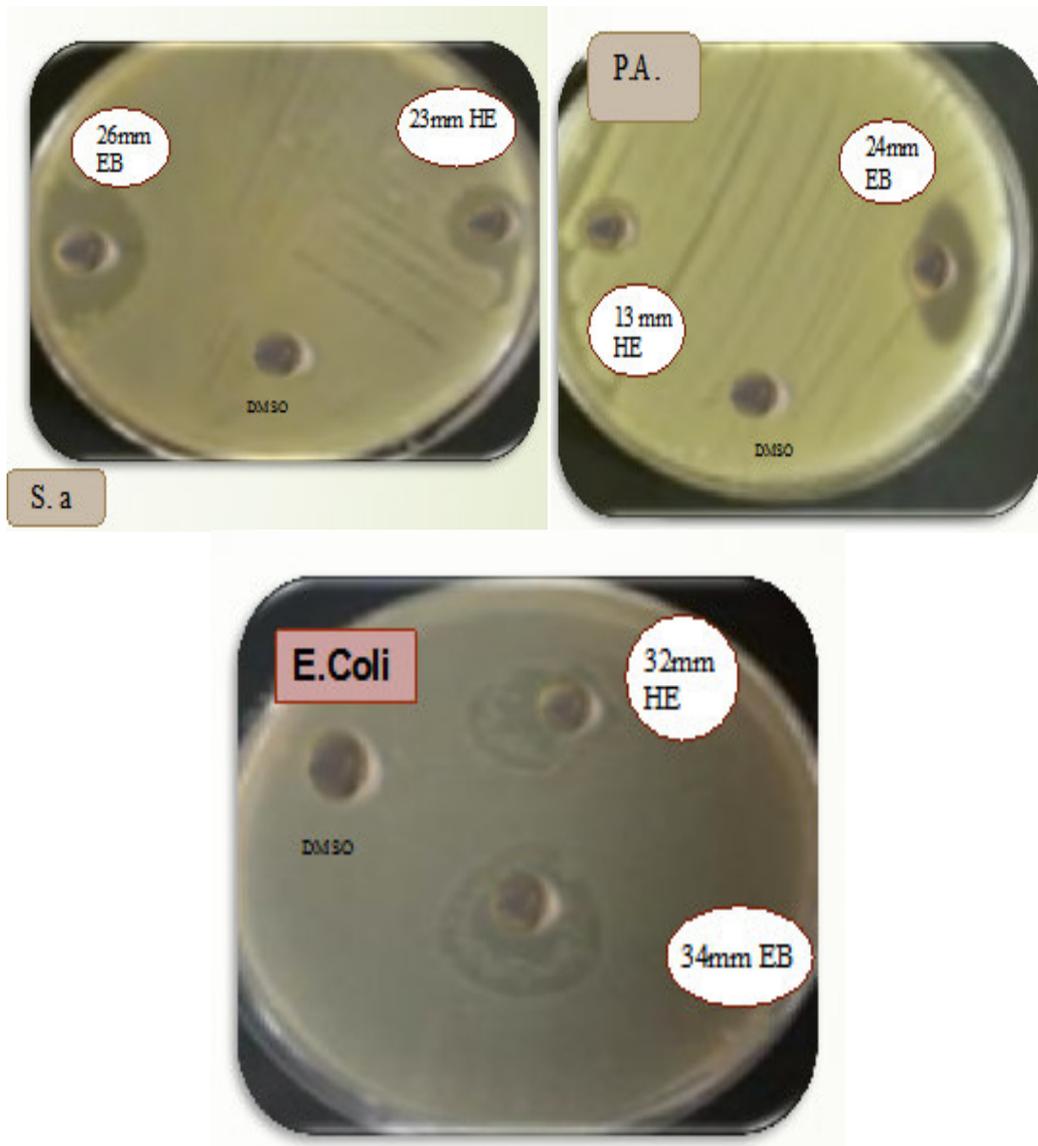


Figure 01 : Résultats de l'aromatogramme de l'huile essentielle et de l'extrait brut de *T. Vulgaris*.

Annexe 06 : Résultats de la CMI de l'extrait brut et l'huile essentielle.

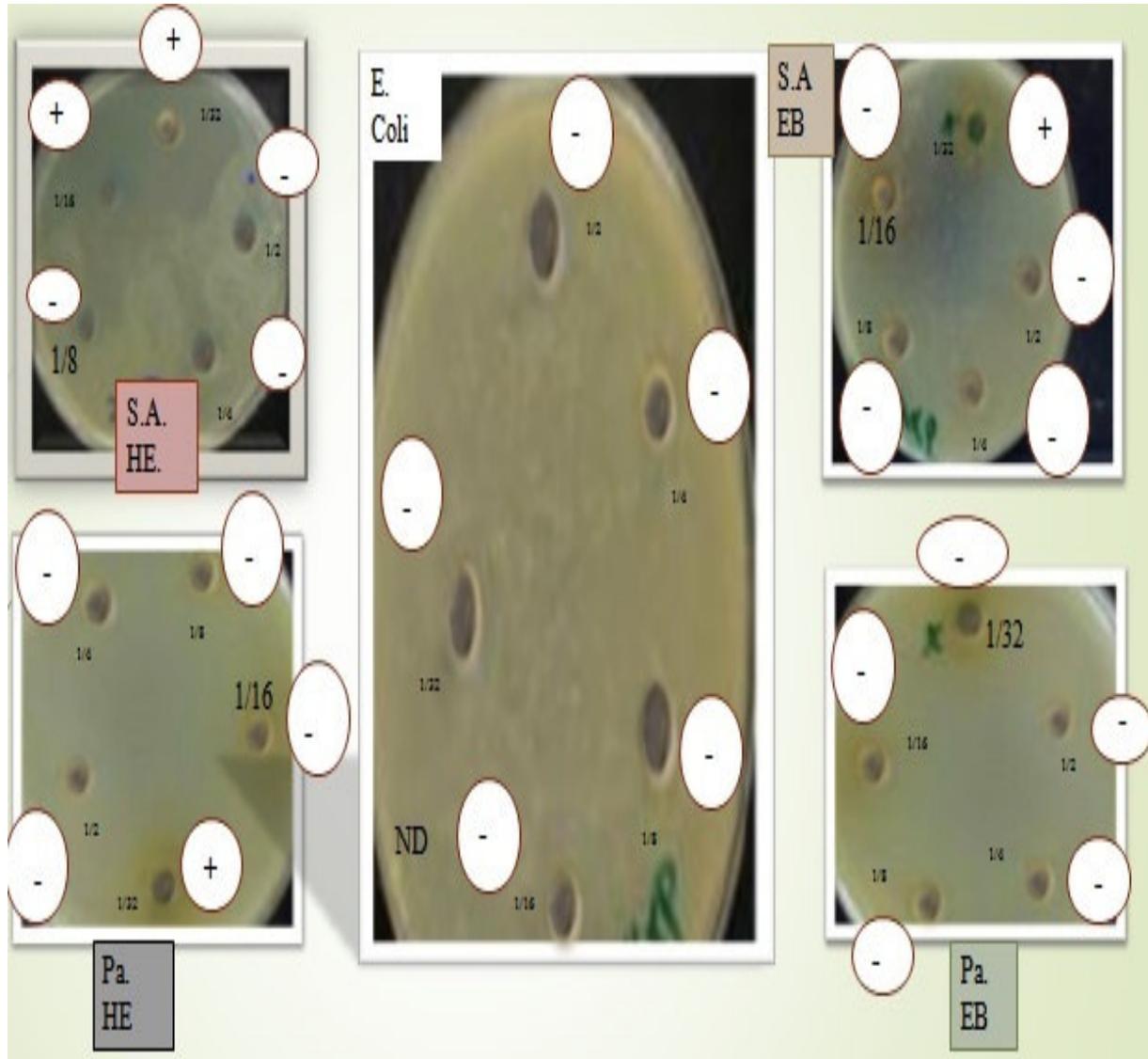


Figure 02 : Résultats de la CMI de l'extrait brut et l'huile essentielle de *T. Vulgaris*.