

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Master
en
Médecine vétérinaire
THEME

**Contribution à l'évaluation de l'activité
antibactérienne et antifongique de l'huile
essentielle de thym**

Présenté par : Mr, LARIBI AKRAM

Soutenu publiquement, le 2 Juillet 2023 devant le jury :

Mme Hani Fatma Amira	MCA (ENSV)	Présidente
Mme Azzag Naouelle	Professeur (ENSV)	Examinatrice
Mr Zaouani Mohamed	MCA (ENSV)	Promoteur
Mme Ouarek Salima	Responsable du laboratoire microbiologie à CRD SAIDAL	Co-promotrice

Promotion 2022-2023

Déclaration sur l'honneur

Je soussigné **Monsieur LARIBI AKRAM**, déclare être pleinement conscient que le plagiat de document ou d'une partie de document publié sous toute forme de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.

En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour rédiger ce mémoire.

Signature

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Laribi', is written over a horizontal line.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et le tout miséricordieux, qui m'a donné la force, la patience, courage et la volonté de réaliser et d'accomplir ce modeste travail.

Je remercie tout aussi expressément, Monsieur Zaouani Mohamed, Maitre de conférence en Pharmacotoxicologie à l'école nationale supérieure vétérinaire, pour la confiance qu'il m'a accordée en me proposant ce sujet de thèse. J'ai ainsi eu la chance de bénéficier de son soutien sans faille et de ses encouragements pendant les durs moments de doute. Il m'a donné de son temps pour approfondir mon travail. Grâce à vous, j'ai pu apprendre et appréhender un monde qui m'était inconnu jusqu'alors ; « monde des huiles essentielles ». Merci pour vos précieux conseils, pour la grande compétence et l'humanisme qui vous caractérisent et que ton étudiant reconnaît en toi. Vous avez tout mon respect.

Je tiens à remercier Madame Azzag Naouelle, Professeur en microbiologie à l'école nationale supérieure vétérinaire, pour tout ce que vous m'avez apporté durant mes études. Merci pour la qualité de vos enseignements, votre écoute et votre soutien en toutes circonstances. Votre présence dans ce jury était pour moi une évidence et je suis ravi d'avoir partagé ce travail avec vous.

Je suis honoré de la présence de Madame Hani Fatma Amira, Maitre de conférence en pathologie du bétail, pour le plaisir qu'elle m'a fait en acceptant d'être présidente de cette thèse. Que vous receviez ici l'expression de mes sincères remerciements.

Mes plus vifs remerciements s'adressent à Madame Halli et Madame Ouarek pour leur accueil au sein des 2 laboratoires de substances naturelles et de microbiologie lors de mon stage de recherche et pour leur disponibilité, leur gentillesse et leur bienveillance en tant que personne.

J'adresse également mes remerciements à madame Belkadi et madame Tata. Veuillez trouver ici toute ma considération ainsi que mon profond respect.

Dédicace :

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,

L'amour, Le respect, la reconnaissance...

Aussi, c'est tout simplement que ...

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail
que je dédie :*

*A mes chers parents, d'avoir fait de moi ce que je suis et de m'avoir appris à vivre dans
l'honneur et la dignité.*

*Vous m'avez aimé, soutenu et encouragé tout au long de ces nombreuses années
parfois plus difficiles pour vous que pour moi mais si j'en suis là c'est en grande partie grâce
à vous alors merci infiniment.*

Je vous aime.

*À moi-même pour tous les efforts que j'ai
déployés afin de pouvoir réaliser ce
travail*

Akram



Liste des abréviations :

AFNOR : association française de normalisation

ATCC : american type culture collection

ATP : Adinosine triposphate

BLSE : β -Lactamases à spectre élargi

C° : Degré Celsius

g : gramme

h : heure

HE : Huile essentielle

HEs : Huiles essentielles

m : masse

ml : Millilitre

mm: Millimètre

R : rendement

RHE : rendement en huile essentielle

SARM : les staphylocoques dorés résistants à la méticilline

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification du Thym.....	9
Tableau 2 : Classification du thymus vulgaris	11
Tableau 3 : Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de Thymus vulgaris	25

Liste des Figures :

Figure 1 : Différentes espèces du genre Thymus.....	9
Figure 2 : Feuilles de différentes espèces du genre Thymus.....	9
Figure 3 : Fleurs de différentes espèces du genre Thymus.....	10
Figure 4 : Actions des huiles essentielles et de leur constituant sur la cellule bactérienne.....	15
Figure 5 : Montage de l'hydrodistillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle	19
Figure 6 : Zone d'inhibition de l'huile essentielle sur bactérie gram+ Bacillus subtilis (65)	25
Figure 7 : Zone d'inhibition de l'huile essentielle sur la levure Candida albicans (65)	26
Figure 8 : Zone d'inhibition de l'huile essentielle sur la levure Saccharomyces cerevisiae (65) ..	26
Figure 9 : Zone d'inhibition de l'huile essentielle sur la bactérie gram + Staphylococcus aureus (65).....	27

Sommaire :

Remerciements	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Sommaire	
Introduction générale	2
Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles	4
I .1 Définition de l'aromathérapie:	4
I . 2 Définition des huiles essentielles:.....	4
I .3 Localisation des huiles essentielles:	4
I .4 Propriétés et actions des huiles essentielles utilisées en médecine vétérinaire:	4
I .5 Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles:	5
I .6 Les procédés d'extraction des huiles essentielles:	5
I .6.1 Entraînement à la vapeur d'eau:	5
I .6.1.1 Hydrodistillation simple:.....	5
I .6.1.2 Distillation à vapeur saturée:.....	6
I .6.2 Extraction assistée par ultra-sons:.....	6
I .6.3 Extraction par enfleurage:	6
I .6.4 Expression à froid:	6
I .7 Toxicité des huiles essentielles chez les animaux:.....	6
Chapitre II Description du Thymus vulgaris	8
II .1 Le genre thymus:	8
II . 1 Historique:.....	8
II . 1. 1 Répartition géographique:.....	8
a) Dans le monde :	8
b) En Algérie :	8
II . 1. 2 La classification du thym:.....	8
II . 1. 3 Caractéristiques botaniques du Thymus:.....	9
II . 1. 4 Principes actifs du Thym:	10
II . 1. 5 Pathologies vétérinaires leurs traitements par l'huile essentielle du thym:.....	10
II . 2 thymus vulgaris	11

II . 2. 1 Classification du Thymus vulgaris:	11
II . 2. 2 Composition chimique du Thymus vulgaris:	11
Chapitre III : Activités biologiques des huiles essentielles du thymus vulgaris.....	13
III.1 Activité antifongique:	13
III. 2 Activité anti oxydante:.....	13
III. 3 Activité antispasmodique:	13
III. 4 Activité anti-inflammatoire:	14
III. 5 Activité antibactérienne:	14
III. 5. 1 Activité antibactérienne et mécanismes d'action des huiles essentielles:	14
III. 5. 2 Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles:	15
Chapitre IV : Matériels et méthodes	17
IV.1 Matériels:	17
IV.1.1 Matériel végétal:	17
IV.1.1.1 L'identification:.....	17
IV.1.1.2 La récolte:.....	17
IV.1.2 Matériels non végétal (pour la microbiologie):	17
IV.2 Méthodes:	17
IV.2.1 Etudes analytique de l'huile essentielle:	17
IV.2.1.1 Rendement:.....	17
IV.2.1.2 Propriétés organoleptiques:	18
IV.2.2 Extraction de l'huile essentielle:.....	18
IV.2.2.1 Principe:.....	19
IV.2.2.2 Mode opératoire:	19
IV.2.3 La conservation de l'huile essentielle:	20
IV.2.4 Etude qualitative de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du thym:	20
IV.2.4.1 Principe:.....	20
IV.2.4.2 Les souches microbiennes choisies:	20
IV.2.4.3 Protocole expérimental:	21
Chapitre V : Résultats et discussion	24
V.1 Les caractéristiques organoleptiques:	24

V.2 Rendement:	24
V.3 Evaluation de l'activité antimicrobienne:	24
V.3.1 Bactéries à gram +:	27
V.3.2 Les levures:	27
Conclusion :	30
Bibliographie :	32
Résumé	
Abstract	
التلخيص	

Introduction général

Introduction générale

Introduction générale :

La thérapeutique des infections microbiennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques et antifongiques. Cependant, la prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a abouti à l'émergence et la propagation de bactéries multirésistantes. L'utilisation des essences précieuses semble être une alternative fiable face à la résistance aux antibiotiques qui constitue un problème majeur de la santé publique (1).

Plus récemment, les plantes médicinales et leurs extraits telles les huiles essentielles, ont regagné l'intérêt des chercheurs et des industries en raison d'une prise de conscience et le besoin de revenir aux moyens de traitement naturels et efficaces. En effet, les plantes offrent un espoir de guérison dans le domaine des maladies contemporaines, ce qui explique que le malade tend de plus en plus à fuir les substances chimiques et à éviter les éventuels effets secondaires qu'elles peuvent induire (2).

En outre, l'Algérie, par sa position géographique, jouit de plusieurs facteurs de pédogenèse et de grandes variations climatiques à laquelle s'ajoutent les ressources hydriques, tous favorables au développement des cultures intensives des plantes aromatiques médicinales, dont le Thymus de la famille des Lamiacées, qui est très répandu dans notre pays, largement utilisé comme épice dans le domaine culinaire, reconnu par ses vertus thérapeutiques, et pouvant être utilisé en industrie agroalimentaire comme adjuvant dans certains aliments.

Dans notre travail, on s'intéressera à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite à partir d'une plante de *Thymus vulgaris*. Le choix de cette plante est basé sur l'importance de son rendement ainsi qu'à l'intérêt thérapeutique que promet son huile essentielle (3).

Mon étude sera scindée en deux parties : Une partie théorique comprenant trois chapitres, où le premier est consacré à l'étude des plantes médicinales et des huiles essentielles d'une manière générale, tandis que le deuxième concernera la description de la plante de thymus et le troisième chapitre englobera les différentes activités biologiques de l'huile essentielle du *thymus vulgaris*.

Une partie expérimentale, quant à elle, comprendra une monographie de la plante étudiée, les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail à savoir l'étude botanique de la plante, l'extraction et la caractérisation organoleptique et physicochimique de l'huile essentielle, l'évaluation de l'activité antimicrobienne de celle-ci, ainsi qu'une présentation des différents résultats obtenus et leur discussion par rapport aux références issues d'une recherche bibliographique.

Ce travail est clôturé par une conclusion générale résumant les résultats obtenus et dégageant les principales perspectives.

Chapitre I

Généralités sur les huiles essentielles

Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles

I .1 Définition de l'aromathérapie:

C'est une méthode thérapeutique basée sur l'utilisation des essences aromatiques extraits des plantes. Ces composés aromatiques possèdent diverses propriétés thérapeutiques, selon la végétale dont elles sont extraites. Le recours à cette thérapie exige des connaissances et un certain nombre de précautions (4).

I . 2 Définition des huiles essentielles:

L'association française de normalisation (**AFNOR**) définit une huile essentielle comme étant un produit obtenu à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec. L'HE est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques (5).

I .3 Localisation des huiles essentielles:

Les huiles essentielles sont produites dans le protoplasme cellulaire des plantes aromatiques et représentent les produits du métabolisme secondaire. La biosynthèse et l'accumulation de ces métabolites dans les organes sont associées à la présence de structures histologiques spécialisées : cellules sécrétrices. Ces dernières sont rarement isolées, mais le plus souvent regroupées dans des poches, dans des canaux sécréteurs ou dans des poils sécréteurs. Ces cellules sont le plus souvent à la périphérie des organes extérieurs de la plante (6).

I .4 Propriétés et actions des huiles essentielles utilisées en médecine vétérinaire:

Les HEs possèdent une action antibactérienne puissante en exerçant des lésions irréversibles sur la paroi des bactéries, ce qui entraîne une perte de cytoplasme, de substrats énergétiques (glucose, ATP), et elles inhibent la production et l'action de toxines (7) (8). Le pouvoir antibactérien des HE peut être déterminé par un aromatogramme, qui est le pendant d'un antibiogramme.

Les HEs exercent également une action antifongique, en établissant un gradient de pH et en bloquant la production d'énergie des champignons (8), et une action antivirale par fixation à la membrane externe du virus, par destruction de cette membrane ce qui provoque la mise à nu des particules virales devenant alors détectables et détruites par les défenses immunitaires de l'hôte (7).

Une autre grande propriété des HEs est leur pouvoir antiparasitaire, très intéressant pour les animaux, souvent hôtes de nombreux parasites. Cette activité s'exerce sur les parasites externes, en détruisant leur système respiratoire ou en entraînant leur paralysie, et sur les parasites internes (8).

Leur action insecticide et insectifuge rend leur utilisation particulièrement intéressante en médecine vétérinaire (9) (10).

En ce qui concerne le système immunitaire, les HEs ont une activité immunostimulante et anti-inflammatoire, soit par élimination de l'agent infectieux, soit en agissant sur les foyers inflammatoires, soit par échauffement local ce qui accélère le recrutement de globules blancs.

Les HEs possèdent également des propriétés antalgique, antispasmodique, digestive, décontracturante grâce à une action musculotrope et neurotrope directe, en interagissant au niveau de la transduction du message nerveux et en bloquant sa propagation en inhibant les courants d'ions sodium (11).

Au niveau du système nerveux central, les HE ont une action calmante et sédative.

En ce qui concerne la sphère respiratoire, elles exercent une activité mucolytique, bronchodilatatrice et expectorante (11) (12).

Enfin, on peut noter une activité hormonale et cicatrisante (13).

I .5 Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles:

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques.

- Elles sont généralement des liquides à la température ordinaire.
- Elles sont généralement incolores ou jaune pâle. Il existe cependant quelques exceptions (huiles essentielles à azulène, de coloration bleue).
- Leur densité est, le plus souvent, inférieure à 1.
- Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire.
- Peu soluble dans l'eau, elles sont solubles dans les alcools de titres élevés, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques.
- Elles sont également très sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser pour former des produits résineux (14).

I .6 Les procédés d'extraction des huiles essentielles:

I .6.1 Entraînement à la vapeur d'eau:

I .6.1.1 Hydrodistillation simple:

Le procédé d'hydrodistillation est traditionnellement le plus utilisé car il est le plus économique (6). Cette technique consiste à plonger la matière végétale à traiter (entière ou éventuellement broyée) directement dans un alambic rempli d'eau et à la porter à ébullition. La vapeur irrégulière se condense sur la surface froide. Les huiles essentielles se séparent par différence de densité (15)

I .6.1.2 Distillation à vapeur saturée:

Ce procédé consiste à obtenir les huiles essentielles des plantes en les faisant passer à travers le courant de vapeur d'eau. La vapeur endommage les structures des cellules végétales libérant ainsi des molécules volatiles, qui sont entraînées vers le fluide frigorigène, puis condensés et récupérés par décantation. Cette méthode permet d'avoir des huiles essentielles de bonne et meilleure qualité en minimisant les altérations hydrolytiques ; le matériel végétal n'étant pas en contact avec l'eau bouillante (16) (17).

I .6.2 Extraction assistée par ultra-sons:

C'est un nouveau procédé d'extraction permettant d'extraire des molécules de faibles poids moléculaires (18). Dans les secteurs pharmaceutique et agroalimentaire, les ultrasons permettent d'extraire les composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les huiles essentielles, les polysaccharides et les esters. Cette technologie s'est développée jusqu'au niveau industriel (19).

I .6.3 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 (20).

I .6.4 Expression à froid:

C'est une méthode traditionnelle pour extraire les HEs à partir de zeste d'agrumes. Elle est basée sur la rupture mécanique des parois des sacs oléifères présents dans l'écorce des fruits, en appliquant une pression à froid. L'huile contenue dans ces sacs est ainsi libérée sous forme d'émulsion aqueuse, puis, récupéré par centrifugation (21). Dans ce cas, le produit obtenu est appelé « essence végétale » de zeste d'agrumes, qui est très utilisée dans l'industrie pharmaceutique et alimentaire (22).

I .7 Toxicité des huiles essentielles chez les animaux:

La pratique de l'aromathérapie n'est pas sans danger. Leur utilisation doit être rigoureuse, et leur faible volume d'utilisation nécessite le respect des posologies et des excipients particuliers (23).

Les doses et dilutions sont variables selon la voie d'administration, la sensibilité de l'animal, son espèce, son état pathologique comme par exemple la gestation, son âge (13) (24).

Les principales toxicités des HEs sont la neurotoxicité, l'hépatotoxicité et la photosensibilisation (25).

Chapitre II
Description du Thymus
vulgaris

Chapitre II Description du *Thymus vulgaris*

II.1 Le genre thymus:

II. 1 Historique:

Le thym a toujours fait partie de la vie quotidienne des gens, à la fois à des fins médicinales, cosmétiques et culinaires (26). Les anciens Sumériens et Égyptiens l'utilisaient pour embaumer les morts, tandis que les Romains brûlaient du thym pour purifier l'air et éloigner les parasites. Le nom thym vient du mot grec thymos, qui signifie parfum, c'est pourquoi le thym est si couramment utilisé comme plante aromatique (27).

Le genre *Thymus* appartient à la famille des Lamiacées, anciennement appelée Labiées en raison de la corolle en deux lèvres de ses petites fleurs. C'est l'une des familles les plus larges dans le règne végétal. Elle comprend approximativement 240 genres et 7200 espèces (28). Elle est une des principales familles productrices d'huiles essentielles et ce sont des plantes qui sont énormément utilisées et connues en tant que herbes aromatiques (29).

Au sein de la famille des lamiacées, le genre *Thymus* est l'un des huit genres les plus importants (30), il regroupe environ 110 espèces différentes se concentrant dans le bassin méditerranéen (3).

II. 1. 1 Répartition géographique:

a) Dans le monde :

Le thym est distribué dans le vieux continent, sur les côtes du Groenland et dans la région macaronisienne (les canaries, Madère et les Açores). C'est une plante très répandue dans le nord-ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye) ainsi que dans les montagnes d'Éthiopie, les montagnes d'Arabie du sud-ouest et la péninsule de Sinaï. Passant par les régions arides de l'Asie occidentale jusqu'à l'Himalaya, il peut même atteindre les limites de la région tropicale et du Japon. Dans le nord, il pousse en Sibérie et en Europe nordique (3).

b) En Algérie :

Le genre *Thymus* inclut environ 300 espèces à travers le monde dont 11 sont localisées en Algérie et 9 d'entre elles sont endémiques. Ces espèces sont réparties du Nord algérois à l'Atlas saharien, et du constantinois à l'oranais (31).

II. 1. 2 La classification du thym:

La classification est présentée dans le tableau ci-dessous :

Tableau 1 : Classification du Thym

Règne	Plantae (végétal)
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Etudicots
Sous classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	Thymus

II. 1. 3 Caractéristiques botaniques du *Thymus*:

Botaniquement, le thym appartient à la famille des Labiées qui est une importante famille de plantes dicotylédones qui sont souvent : des plantes herbacées, des arbustes et rarement des arbres ou lianes, producteurs d'huiles essentielles, largement répandus dans tout type de milieux. La forme de lèvres de la fleur et la présence d'huiles essentielles signent cette famille. Pour la plupart des genres, la section carrée de la tige et des feuilles opposées sont aussi des caractéristiques (32).



Figure 1 : Différentes espèces du genre *Thymus*



Figure 2 : Feuilles de différentes espèces du genre *Thymus*



Figure 3 : Fleurs de différentes espèces du genre *Thymus*

II. 1. 4 Principes actifs du Thym:

- Les acides phénoliques : acide caféique, acide rosmarinique.
- Les flavonoïdes : hespéridine, eriotrécine, narirutine, lutéoline.
- Les polyphénols : tanins (33).

II. 1. 5 Pathologies vétérinaires leurs traitements par l'huile essentielle du thym:

- Pathologies digestives : Manque d'appétit, indigestion, Diarrhées (13) (34).
- Pathologies infectieuses : les infections mammaires, utérines ou vaginales (34) (8).
- Affections parasitaires : parasites internes tel que Ténias, ascaris, strongles, oxyures et les parasites externes (13) (24).
- Affection fongique Mycoses cutanées et des muqueuses (24) (8).
- Pathologies respiratoires Spasmes bronchique et emphysème du cheval, Bronchite, Pneumonie (13) (24).
- Troubles de la sphère génitale : Difficultés à mettre bas, Endométrite, Mammite (13) (35) (36).
- Pathologies psychiques et comportementales : Isolement, tristesse, dépression (37).

Chapitre II

Description du *Thymus vulgaris*

II. 2 *thymus vulgaris*

II. 2. 1 Classification du *Thymus vulgaris*:

La classification botanique du *Thymus Vulgaris* est la suivante (38) :

Tableau 2 : Classification du *thymus vulgaris*

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

II. 2. 2 Composition chimique du *Thymus vulgaris*:

Thymus vulgaris renferme une huile volatile de couleur pâle, jaune ou rouge, avec une odeur riche, et aromatique et un goût persistant, corsé et épicé. L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* est composée d'une quantité très variable en phénols dont le thymol et le carvacrol en sont les majeurs constituants (39).

Chapitre III

Activités biologiques des huiles essentielles du *thymus vulgaris*

Chapitre III Activités biologiques des huiles essentielles du thymus vulgaris

Chapitre III : Activités biologiques des huiles essentielles du thymus vulgaris

L'activité biologique d'une huile essentielle est en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son « totum » ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses Composés majoritaires. Les HES du genre thymus en général, et *Thymus vulgaris* en particulier possèdent des activités biologiques très importantes qui sont liées à leur grande biodiversité structurale (40).

III.1 Activité antifongique:

Les infections fongiques sont d'une actualité criante aujourd'hui. En effet, leur extension est largement favorisée par l'utilisation abusive et parfois trop légère des antibiotiques. Ici les groupes moléculaires cités en priorité pour leur action antibactérienne se révèlent également actifs sur les champignons. Néanmoins, la durée d'un tel traitement sera plus longue que pour celle d'un traitement antibactérien (41).

Il a été démontré que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* pouvait inhiber la croissance d'un certain nombre de souches fongiques dont *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus*, *Saprolegnia* et *Zygorhynchus* (42).

III. 2 Activité anti oxydante:

Un antioxydant est un agent qui empêche ou ralentit l'oxydation en neutralisant des radicaux libres. Ces en excès sont responsables de dommages cellulaires, notamment sur l'ADN, et peuvent favoriser des maladies. À l'inverse, les antioxydants luttent contre le stress oxydatif responsable du vieillissement cellulaire.

Des travaux antérieurs sur l'espèce *Thymus vulgaris* ont montré que son huile essentielle présentait des propriétés anti oxydantes marquée (43). En effet, administrée à des rats par leur alimentation, l'huile stabilise la perte du potentiel antioxydant lié au vieillissement, aux niveaux hépatiques, cardiaque et cérébral (44).

Toutes les huiles essentielles de l'espèce *T. vulgaris* d'Algérie et d'autres régions du monde testées ont présenté une activité antioxydante variable qui s'est traduite par leur pouvoir réducteur des radicaux libres. Ce pouvoir réducteur des radicaux libres qui sont à l'origine de l'oxydation confirme l'utilisation traditionnelle de ces plantes pour traiter entre autres, des maladies oxydatives (45).

III. 3 Activité antispasmodique:

Les effets du thymol sur l'activité contractile spontanée ont été mis en évidence lors d'expériences *in vitro* avec les muscles lisses de l'estomac et de la veine des cobayes. Le thymol s'est avéré avoir un effet agoniste sur les récepteurs α_1 , α_2 et β -adrénergique.

L'activité spasmolytique du thym est le plus souvent attribuée au thymol et au carvacrol de l'huile essentielle. En fait, les phénols s'opposent aux contractions provoquées sur l'iléon et la trachée du Cobaye par l'histamine, l'acétylcholine ou autres (46).

Chapitre III Activités biologiques des huiles essentielles du thymus vulgaris

III. 4 Activité anti-inflammatoire:

Une action anti-inflammatoire due au thymol a aussi été retrouvée. Elle a révélé que le thymol améliorerait considérablement les réponses inflammatoires et possédait un potentiel de cicatrisation des plaies chez plusieurs modèles de rongeurs.

Le traitement des rats au thymol a entraîné une réduction significative de l'œdème des pattes. Ces données suggèrent que le thymol peut inhiber l'augmentation de la perméabilité microvasculaire (œdème) et l'afflux de leucocytes (47).

III. 5 Activité antibactérienne:

Empiriquement reconnues depuis des siècles, l'activité antibactérienne des huiles essentielles n'a été prouvée que récemment. Elle remonte au début du siècle dernier avec les travaux du Dr. Gattefosse, le père de l'aromathérapie française. Depuis lors, l'utilisation des huiles essentielles s'est imposée comme une alternative importante à l'antibiothérapie des infections.

De nombreuses études traitent de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, qu'elles soient citées dans des ouvrages, dans des journaux spécialisés de microbiologie ou présentées lors de congrès d'aromathérapie scientifique (48).

III. 5. 1 Activité antibactérienne et mécanismes d'action des huiles essentielles:

Les HEs affecte la croissance bactérienne. Elles agissent en empêchant leur multiplication, leur sporulation et la synthèse de toxines. Ces dernières reçoivent actuellement beaucoup d'attention car elles ont montré une activité contre les agents pathogènes résistants aux antibiotiques tels que les staphylocoques dorés résistants à la méticilline (SARM), les β -Lactamases à spectre élargi (BLSE) (49).

Compte-tenu de la diversité des molécules présentes dans les HEs, l'activité antibactérienne semble résulter d'une combinaison de plusieurs modes d'action, impliquant différentes cibles cellulaires (50).

D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases (51) (52) :

- Attaque de la paroi bactérienne, ce qui provoque une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ;
- Acidification de l'intérieur de la cellule provoquant la coagulation des constituants cellulaires par la dénaturation des protéines, ce qui bloque la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;
- Destruction du matériel génétique, ce qui cause la mort de la bactérie.

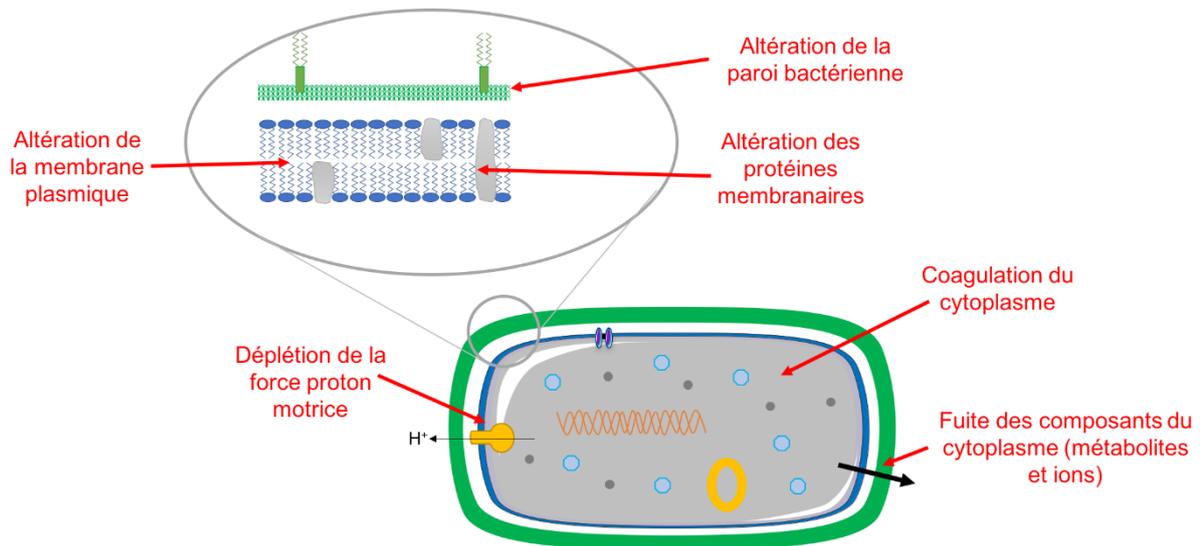


Figure 4 : Actions des huiles essentielles et de leur constituant sur la cellule bactérienne

III. 5. 2 Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles:

Les techniques utilisées pour déterminer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits ont un impact important sur les résultats. Des défis pratiques découlent de l'insolubilité des constituants de ces huiles dans l'eau, de leur volatilité, de la nécessité de les tester à des faibles concentrations et des problèmes de standardisation des méthodes (53).

La méthode la plus utilisée actuellement est l'aromatogramme qui consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différents produits à tester. Les disques sont ensuite déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension bactérienne à étudier. Après incubation, les bactéries se développent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'HE ou d'extrait suffisante pour inhiber leur croissance. On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée « zone d'inhibition ». Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible au produit testé. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante (54) .

Chapitre IV

Matériels et méthodes

Chapitre IV : Matériels et méthodes

IV.1 Matériels:

Notre travail a porté sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles des parties aériennes de la plante de thymus. L'extraction des huiles essentielles a été réalisée au niveau du laboratoire de substance naturelle de centre de recherche et de développement SAIDAL, et l'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de centre de recherche et de développement SAIDAL.

IV.1.1 Matériel végétal:

IV.1.1.1 L'identification:

L'identification de la variété de *Thymus vulgaris* a été basée sur les différents caractères morphologiques : les feuilles sont de couleur vert grisâtre, les fleurs sont de petite taille de couleur blanche à rose.

IV.1.1.2 La récolte:

Thymus vulgaris a été récolté en mois de septembre dans la wilaya de tizi-ouzou.

Seule la parties aérienne (feuilles et tiges) qui a été utilisée pour l'obtention de l'huile essentielle.

IV.1.2 Matériels non végétal (pour la microbiologie):

Boite de pétri – milieu de culture – eau physiologique – souches bactériennes – disques (avec un diamètre de 9 mm) – tubes à essai – Poupinel – étuve – bec benzen.

IV.2 Méthodes:

IV.2.1 Etudes analytique de l'huile essentielle:

IV.2.1.1 Rendement:

Selon la norme AFNOR, le rendement en huile essentielle (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après l'extraction (m') et la masse de la matière végétale utilisée (m) (55).

Le rendement est calculé par la formule suivante (56) :

$$R (\%) = m'/m \times 100$$

Avec :

R : rendement en H.E exprimée en pourcentage ;

m' : masse en gramme de l'HE ;

m : masse en gramme de la matière végétale sèche

IV.2.1.2 Propriétés organoleptiques:

Chaque huile essentielle est caractérisée par ces caractères organoleptique tels que : l'odeur, l'aspect physique et la couleur

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.

L'odeur : elle appartient aux sens chimiques les plus sensibles.

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 (57).

IV.2.2 Extraction de l'huile essentielle:

L'huile essentielle du Thymus est extraite par la méthode d'hydrodistillation par un appareil de type Clevenger, au niveau du laboratoire de substance naturelle à CRD SAIDAL.

Cet appareil est constitué d'un chauffe ballon qui permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon, où l'on place la matière végétale séchée et l'eau distillée et une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant).

IV.2.2.1 Principe:

La technique de l'hydrodistillation est basée sur l'immersion d'un matériel végétal dans l'eau portée à l'ébullition. La vapeur contenant les huiles essentielles traverse un serpentin où elle se condense pour donner deux phases :

Phase organique : huileuse et très odorante appelée « huile essentielle » contenant la majorité des composés odorants.

Phase aqueuse : odorante appelée « eaux aromatiques » contenant que très peu des composés odorants (58).

IV.2.2.2 Mode opératoire:

Le procédé consiste à placer 100 g de masse végétale séchée dans un grand flacon en verre et à ajouter suffisamment d'eau distillée sans remplir le flacon pour éviter les débordements de l'ébullition. Faire bouillir le mélange à l'aide d'un chauffe ballon.

Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où se produit la condensation. Les gouttelettes résultantes se rassemblent dans un tube rempli d'eau distillée.

Les huiles essentielles, moins denses que l'eau, flottent à la surface. L'huile ainsi obtenue est recueillie dans des bouteilles opaques scellées à basse température (4-5 C°). Le processus d'extraction est de 3 heures à partir du début de l'ébullition.



Figure 5 : Montage de l'hydrodistillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle

IV.2.3 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 comprise entre 4 et 6°C pour la préserver de l'air et de la lumière et éviter toute dégradation (59).

IV.2.4 Etude qualitative de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du thym:

L'effet inhibiteur de l'huile essentielle du thym sur les microorganismes testés est évalué par la méthode de diffusion sur un milieu solide appelé aussi aromatogramme ou méthode de disque. Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisé dans une boîte de pétri.

Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque absorbant sur lequel on dispose une quantité donnée de l'huile essentielle.

IV.2.4.1 Principe:

Le principe de la méthode est tiré du tirage des antibiotiques 'Pharmacopées Européenne 2002' et validé par le laboratoire de microbiologie du CRD SAIDAL.

Cette méthode consiste à mettre en évidence une éventuelle activité antibactérienne et antifongique ou les deux à la fois de l'huile essentielle, en la mettant en présence des germes testés.

Des disques absorbants stériles de 9 mm imprégnés d'huile essentielle sont déposés sur une gélose inoculée avec les souches testées. La diffusion de l'huile essentielle dans la gélose permet d'inhiber la croissance des germes toute au tour du disque ; ce qui permet d'avoir comme résultat positif après incubation une zone claire et distincte autour du disque, appelée « Halo ou Zone d'inhibition » et la lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenues pour chaque souche.

IV.2.4.2 Les souches microbiennes choisies:

Les souches microbiennes utilisées proviennent de la collection ATCC du laboratoire de microbiologie du C.R.D Saidal.

Notre choix s'est porté sur 02 souches bactériennes à gram+ et 02 levures.

Les bactéries : Bacillus subtilis ATCC 6633 et Staphylococcus aureus ATCC 6538.

Les levures : *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 et *Candida albicans* ATCC 10231

IV.2.4.3 Protocole expérimental:

- **Préparation de la première couche de milieu :**

On fait fondre les deux milieux de culture Muller-Hinton (pour les bactéries) et Sabouraud (pour les levures) dans un bain marie à 95°C, puis on verse aseptiquement dans les boîtes de pétri de 90 mm de diamètre une couche à raison de 15 ml par boîte avec deux répétitions par boîte. On laisse refroidir et solidifier sur la paillasse.

- **Préparation de l'inoculum :**

- **Pour les bactéries :**

A partir d'une culture jeune de 18h, on réalise des suspensions en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées, qu'on dépose dans 5 à 6 ml d'eau physiologique stérile, puis on agite au vortex pendant quelques secondes.

- **Pour les levures :**

La préparation pour les levures est la même que celle pour les bactéries sauf que, pour les levures, la culture doit être jeune de 48h.

- **Préparation de la deuxième couche de milieu :**

On fait fondre les deux milieux de culture Muller-Hinton et Sabouraud dans un bain marie à 95°C, puis on les refroidit jusqu'à atteindre une température de 45°C. Des flacons en verre stériles sont remplis avec 50 ml de Muller-Hinton pour les bactéries et 50 ml de Sabouraud pour les levures, ceci pour chacune des souches. 200 µl de chaque suspension sont ensuite prélevés pour ensemer les milieux de culture, puis on agite manuellement les flacons et on transvase rapidement 4 ml de chaque milieu inoculé en deuxième couche sur la surface des boîtes contenant déjà la première couche de gélose. On étale rapidement la seconde couche en faisant pivoter la boîte sur elle-même pour avoir une surface uniforme, et enfin on laisse solidifier sur la paillasse.

- **Dépôt des disques :**

Les disques en cellulose stérile de 9 mm de diamètre, imbibés d'une quantité d'huile essentielle à tester, sont déposés sur la surface de la gélose, puis laissés sur la paillasse pendant 30 mn. Incubation s'effectue à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries et 25°C pendant 48 heures pour les levures.

- **Expression des résultats :**

Le diamètre des zones claires autour des disques (zone d'inhibition) est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse.

Chapitre V

Résultats et discussion

Chapitre V : Résultats et discussion

V.1 Les caractéristiques organoleptiques:

Les caractéristiques organoleptiques (couleur, odeur et aspect) de l'HE du Thym sont représentés ci-dessous (60):

- **Aspect** : liquide limpide
- **Odeur** : forte odeur caractéristique aromatique
- **Couleur** : jaune foncé

V.2 Rendement:

L'hydrodistillation de la partie aérienne sèche de la plante dans un appareil Clevenger, a donné un rendement de 2,3.

Le plus faible rendement enregistré est celui de l'espèce Brésilienne avec un rendement de 0.25% (61), et le rendement le plus élevé est celui de l'espèce Jordanienne avec 5% de rendement (62).

Pour les espèces Algériennes, la région de Tlemcen enregistre le rendement le plus élevé, avec 4.2% (28). Le rendement de l'espèce étudiée (2.3%) s'approche de celui cité dans la littérature, pour les régions Algériennes.

Tel que rapporté par les travaux antérieurs, on peut constater que le rendement peut s'affecter par plusieurs paramètres tels que l'origine de récolte de l'espèce, la période de récolte, l'organe de la plante, la durée de séchage et la méthode d'extraction sont des facteurs parmi d'autres qui peuvent aussi avoir un impact direct sur les rendements en huile essentielle (63) (64).

V.3 Evaluation de l'activité antimicrobienne:

Les résultats de l'activité antimicrobienne de notre extrait obtenus par mesure de la moyenne des diamètres d'inhibition de la croissance microbienne sont reportés dans le tableau. Les illustrations sont données par les figures.

Tableau 3 : Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*

Souches	Diamètres d'inhibitions (mm)		Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle
	1ère répétition	2ème répétition	
<i>Staphylococcus aureus</i>	47 mm	50 mm	Fortement inhibitrice
<i>Bacillus subtilis</i>	51 mm	55 mm	Fortement inhibitrice
<i>Candida albicans</i>	64 mm	63 mm	Fortement inhibitrice
<i>Saccharomyces</i>	64 mm	50 mm	Fortement inhibitrice



Figure 6 : Zone d'inhibition de l'huile essentielle sur bactérie gram+ *Bacillus subtilis* (65)

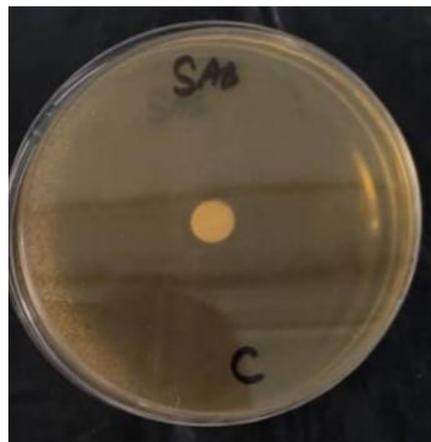


Figure 7 : Zone d'inhibition de l'huile essentielle sur la levure *Candida albicans* (65)



Figure 8 : Zone d'inhibition de l'huile essentielle sur la levure *Saccharomyces cerevisiae* (65)

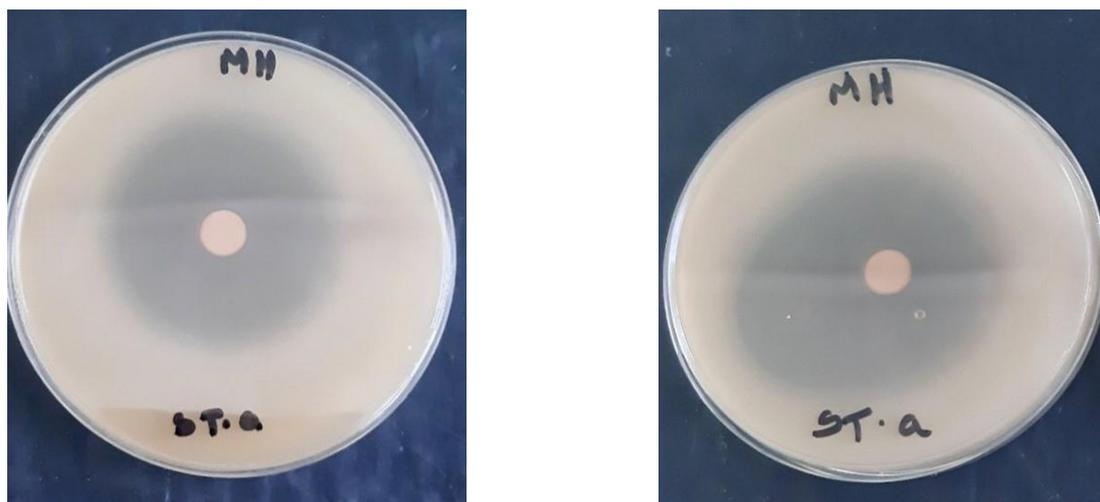


Figure 9 : Zone d'inhibition de l'huile essentielle sur la bactérie gram + Staphylococcus aureus (65)

Les résultats montrent que cette huile essentielle a un effet inhibiteur sur toutes les souches testées.

V.3.1 Bactéries à gram +:

D'après les résultats obtenus et en se référant à l'échelle citée par **G. YAKHLEF et al., 2011** et **J.Kaloustian et al., 2008**, on constate que l'huile essentielle de thymus vulgaris a une forte action inhibitrice sur les deux bactéries étudiées : Staphylococcus aureus et Bacillus subtilis .

Plusieurs études ont été réalisées pour la détermination de pouvoir antimicrobien de certains extraits de Thymus vulgaris, en citant celles de **Tabak et ses assistants .,1996**, **Ettayebi et ses collaborateurs ., 2000**, **Thuille., 2003**, **Bouhdid., 2006** et plusieurs autres qui ont indiqué que les extraits de thymus vulgaris portent une forte activité antimicrobienne surtout contre les bactéries à Gram +, ce qui confirme nos résultats vu que les extraits de Thymus vulgaris ont inhibé presque toutes les souches testées.

V.3.2 Les levures:

Ces résultats sont similaires à ceux de **Varga E et al., 2015** qui a testé l'effet de quatre extraits différents de thym sur C.albicans et S.cerevisiae, ces extraits avaient une activité antimicrobienne significatives contre tous les microorganismes testés.

Les résultats obtenus confirment ainsi les hypothèses données par **G. YAKHLEF et al., 2011** : l'effet inhibiteur de l'huile sur la levure *Candida albicans* est spectaculaire.

Nous concluons de cette étude que l'huile essentielle de *thymus vulgaris* possède un spectre antimicrobien plus large et à des doses plus faibles.

Conclusion

Conclusion

Conclusion :

Le genre thymus fait partie des plantes aromatiques ; il est riche en huiles essentielles qui lui confèrent une grande variété biologique. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressées à extraire l'huile essentielle de thymus sp, en vue de l'optimisation du rendement d'extraction, de la caractérisation et l'évaluation de l'activité antimicrobienne de celle-ci.

L'optimisation du procédé d'extraction en utilisant la méthodologie d'hydrodistillation de type Clevenger a permis d'avoir les conditions optimales permettant d'atteindre un rendement avec une valeur de 2,3.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE de thym a été réalisée sur une gamme de microorganismes référenciés afin d'apprécier son pouvoir antimicrobien. La méthode d'aromatogrammes a montré que l'huile essentielle extraite de thymus a une action inhibitrice vis-à-vis des souches testées. L'ensemble des résultats obtenus montrent que le thym peut être de bon candidat pour explorer de nouveaux agents antibactérien et antifongique pour combattre les infections d'origine bactérienne ou fongique qui sont dues par des souches qui développent une résistance contre les antibiotiques de synthèse.

Afin de mettre en valeur l'exploitation des huiles essentielles dans le domaine thérapeutique, ces résultats peuvent être complétés par d'autres études plus approfondies envisagées par les perspectives proposées :

- Il est intéressant d'utiliser d'autres techniques d'analyses plus sophistiquées telle que la méthodologie de surface de réponse et la spectrométrie de masse pour l'identification et la quantification de la composition chimique de l'huile essentielle de thym.
- Il est très souhaitable d'étudier l'activité antibactérienne par des méthodes automatisées permettant ainsi un gain de temps et une exploitation plus efficace du pouvoir antimicrobien dans les industries pharmaceutiques.
- Elargir la gamme des souches testées et l'étude de nouvelles activités biologiques de l'huile essentielle de thym.

Bibliographie

Bibliographie

Bibliographie :

1. Blair J.M.A. (2018). A climate for antibiotic resistance. *Nature Climate Change*, Vol n°8. Macmillan Publishers Limited, part of Springer Nature. P : 458–461. 2018.
2. A. Attou. « Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques de l'Ouest Algérien étude de leurs activités antioxydante et antimicrobienne ». Thèse de Doctorat. Université de Tlemcen (Algérie), 2017.
3. Jalas J. (1971). Note of *Thymus* .L (Labiatae) in Europe. I. Supraspecific Classification and Nomenclature. *Bot .J. Linn.Soc*, 64 :199-215.
4. Roberto C. les plantes médicinales guide vert. Paris : Solar, 1982.
5. Afnor, (2000). Association française de normalisation. Normes française : huile essentielle. Ed. Afnor, Paris.
6. Kaloustian J, Hadji-Minaglo F. La connaissance des huiles essentielles : qualité et aromathérapie. Paris. Edition Springer. 2012.
7. Carson, C.F., Hammer, K.A. et Riley, T.V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*. Arthur Gilmour, 1999, 86, pp. 985-990.
8. Kalembe, D et Kunicka, A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*. Bentham Science, 2003, Vol. 10, pp. 813-829.
9. Bernadet, M. La phyto-aromathérapie pratique. Escalquens : Dangles, 2007. 448 p.
10. Baudoux, D., Baudry, F. et Debauche, P. Les Cahiers Pratiques d'Aromathérapie selon l'Ecole Française. Paris : Inspir Development, 2004. Vol. 3 Vétérinaire. 314 p.
11. Baudoux, D. et Debauche, P. Guide pratique d'Aromathérapie chez l'animal de compagnie. Bruxelles : Amyris, 2012. 174 p.
12. Bayer, L. et Staub, H. Traité approfondi de phyto-aromathérapie. Paris : Grancher, 2013. pp. 211-301 et 423-516.
13. Labre, P. Phytothérapie et aromathérapie chez les ruminants et le cheval Tome 2. Thônes : FEMENVET, 2012. Vol. 2. 352 p.
14. Bruneton J. 1993. Pharmacognosie — Phytochimie : Plantes médicinales. Tec et Doc Lavoisier, Paris. 425.
15. Franchome P, Jollois R, Pénoel D. L'aromathérapie exactement : encyclopédie de l'utilisation des extraits aromatiques. Paris : Edition Roger Jollois. 2001.
16. Benayache, F., Etude phytochimique et biologique de l'espèce *Thymus numidicus* Poiret.
17. Chikhoun, A., Huiles essentielles de thym et d'origan. 2007, INA.
18. Hromadkova, Z., Ebringerova, A., & Valachovič, P., 2002. Ultrasound-assisted extraction of water-soluble polysaccharides from the roots of valerian (*Valeriana officinalis* L.). *Ultrasonics Sonochemistry*, 9(1): 37-44.

Bibliographie

19. Entezari, M. H., Nazary, S. H., & Khodaparast, M. H., 2004. The direct effect of ultrasound on the extraction of date syrup and its micro-organisms. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11(6): 379-384.
20. Laurent, J. (2017). *Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine*. Mémoire de Doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse, France.
21. Ferhat, M.A., Meklati, B.Y. et Chemat, F. (2007). Comparison of different isolation methods of essential oil from citrus fruits: cold pressing: hydrodistillation and microwave dry distillation. *Flavour Fragr. J.* 22: 494-504.
22. Hesham, H.A.R., Abdurahman, H.N. et Rosli, M.Y. (2016). Techniques For Extraction of Essential Oils From Plants: A Review. *Australian journal of basic and applied sciences*, 10(16): 117-127.
23. Scimeca, D. et Tétou, M. *Votre santé par les huiles essentielles*. Monaco : Alpen, 2013. 94 p.
24. Dudok van Heel, M. *Essentiële oïlen voor honden en paarden*. Amsterdam : De Driehoek, 2001. 128 p.
25. Valnet, J. *L'Aromathérapie*. 10^{ème} édition. Paris : Livre de Poche, 1984. pp. 121-203 et 345-476.
26. Mouhi, L. (2017). *Etude des activités biologiques de l'association des huiles essentielles de plantes de la flore Algérienne. Élaboration d'une forme pharmaceutique*. Thèse de Doctorat, Université Houari Boumediene, Algérie.
27. Richard H., Benjilali B., Bauquour N., Baritoux O., (1985). *Etude de diverses huiles essentielles de thym du Maroc*. *Lebensm-Wiss U-Technol*.
28. Abdelli, W. (2017). *Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de Juniperus phoenicea et de Thymus vulgaris*. Thèse de Doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem, Algérie.
29. Boulade, K. (2018). *Lamiaceae : caractéristiques et intérêts thérapeutiques à l'officine*. Thèse de Doctorat, Université Toulouse III, Paul Sabatier, France.
30. Stahl-Biskup, E et Saez, F. (2002). *Thyme: The genus Thymus*. London et New York, USA: Taylor & Francis.
31. Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Ait-Kaki Z., Benlabeled K., (2005). Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *The International Journal of Aromatherapy*, 15, 129–133.
32. Quezel P., S. S. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (Tome II)*. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique Paris 7e: 781, 804, 819.
33. Zeghad, N. (2009). *Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne*. Diplôme de Magister, Université des Frères Mentouri, Constantine.

Bibliographie

34. Torres, M. 100 huiles essentielles pour votre santé. Paris : Delville, 2005. pp. 53-124 et 188-271.
35. Marsden, S. et Wynn, S. Manual of Natural Veterinary Medicine : Science and Tradition. Maryland Heights : Mosby, 2002. pp. 125-234 et 451-488.
36. Fougère, B. et Wynn, S. Veterinary Herbal Medicine. Maryland Heights : Mosby Elsevier, 2007. pp. 275-439.
37. May, P. Guide Pratique de Phyto-Aromathérapie pour les animaux de compagnie. Paris : Med'Com, 2014. 256 p.
38. Goetz, P. Ghedira, K. (2012) Phytothérapie anti-infectieuse .Springer Science & Business Media. 394.
39. Erica A., Juan F., Jorge A., Eva N. (2006). Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*. Chemical composition and fungicidal, 4 (16): 1-7.
40. Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy research*, 18(6), 435-448.
41. Zaid, B et Tifourghi, H. (2020). Contribution d'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de thym (*Thymus vulgaris*) contre *Aspergillus niger*. Mémoire de Master, Université Mohamed khider, Biskra, Algérie.
42. Giordani R., Regli P., Kaloustian J., Mikail C., Abou L., Portugal H (2004). Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. 18(12), 990-995.
43. Dapkevicius A., Venskutonis R., Van Beek T.A., Linssen J.P.H. (1998). Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of Science Food and Agriculture*, 77(1):140-146.
44. Youdim, K.A et Deans, S.G. (2000). Effect of thyme oil and thymol dietary supplementation on the antioxidant status and fatty acid composition of the ageing rat brain. *British Journal of Nutrition*, 83(1), 87-93.
45. Wesolowska, A et Jadcak, D. (2019). Comparison of the Chemical Composition of Essential Oils Isolated from Two Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Cultivars. *Not Bot Horti Agrobo*, 47(3): 829-835.
46. Dauqan, EM & Abdullah, A. (2017). Medicinal and functional values of thyme (*Thymus vulgaris* L.) herb. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 5(2), p17-22. .
47. David, M. (2019). Le thymol - sources propriétés et applications. Thèse de Doctorat, Université de Limoges, France.
48. De Billerbeck G., 2000. Activité fongique de l'huile essentielle de *cymbopogon nardus* sur l'*Aspergillus niger*. Evaluation d'un bioréacteur pour l'étude de l'effet inhibiteur des substances volatiles en phase vapeur. Faculté des sciences pharmaceutiques,.

Bibliographie

49. Sivropoulou A., Papanikolaou E., Nikolaou C., Kokkini S., Lanaras T., and Arsenakis M., 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of origanum essential oils. *Journal of Food Chemistry*, 44, 1202-1205.
50. Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017). Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. *Medicines*, 4(3), 58.
51. Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L et Ferret A. (2007). Invited Review : Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*. 90, 2580-259.
52. Goetz P et Ghedira K. (2012). *Phytothérapie anti-infectieuse*. Edition : Springer-Verlag France, Paris. Pp 4-194.
53. V Hulin, AG Mathot , P Mafart , L Dufosse . *Sciences des Aliments (France)* .1998.
54. Fauchère J.L. et Avril J.-L., (2002). *Bactériologie générale et médicale*: Ellipses Editions Paris, 365.
55. AFNOR (Association Française de Normalisation), *Recueil des Normes Françaises : Huiles Essentielles*, Edition AFNOR, 2000.
56. Chaoui, M et Chegroune, S. (2019). Contribution à la caractérisation chimique des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales de la steppe du sud-algérois. *Mémoire de Master*. Université Ziane Achour, Djelfa, Algérie.
57. 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.
58. Benkeblia, N. (2005) Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*), 37 : 263-268.
59. 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.
60. Zaid, B et Tifourghi, H. (2020). Contribution d'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de thym (*Thymus vulgaris*) contre *Aspergillus niger*. *Mémoire de Master*, Université Mohamed khider, Biskra, Algérie.
61. Alexandre, P et Ronoel, L.O. (2007). Chemical composition of *Thymus vulgaris* L. (thyme) essential oil from the Rio de Janeiro state. *Journal of the Serbian chemical society*, 73(3): 307-310.
62. Hudaib, M et Aburjai, T. (2007). Volatile components of *Thymus vulgaris* L. from wildgrowing and cultivated plants in Jordan. *Flavour and fragrance journal*, 22: 322–.
63. Vekiari SA, Protopapadakis EE, Papadopoulou P, P. D., & Panou C, V. M. . (2002). Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a Cretan lemon variety. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 147-153.

Bibliographie

64. Russo MT, Galletti GC, Bocchini P, C. A. (1998). . Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice: a preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. *I.J Agric Food Chem* 46: 3741-3746.
65. Photos Personnelles .
66. J. Kaloustian, J.Chevalier , C.Mikali , M.martini , L.Abou , M-F. Vergnes . Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne 2008 . 6:160-164.
67. G. Yakhlef, S. laroui , L. Hambaba , M-C. Aberkane , A. Ayachi . Evaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis* , plantes utilisées en médecine traditionnelle 2011 . 9:209-218.
68. Tabak, M. , Armon, R. , Potasman, I. , Neeman, I. (1996). In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* by extracts of thyme. *J. Appl. Bacteriol.* 8: 667-672.
69. 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.* 183:191-195.
70. Thuille N., Fille M., Nagl M. (2003) Bactericidal activity of herbal extracts. *Int. J. Hug. Environ. Health.* 206 : 217-221.
71. Bouhdid S., Idaomar, M., et al.
72. Varga E. Anna Bardocz Györgyi Horváth Agnes Belak., 2015. Antimicrobial activity and chemical composition of thyme essential oils and the polyphenolic content of different *Thymus* extracts. *journal of Farmacia* 63(3).

Résumé :

Le thym « *Thymus vulgaris* » est une plante aromatique, très répandue en Algérie et très utilisée par les populations locales pour ses vertus médicinales. L'objectif de la présente étude est de déterminer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* sur certains agents pathogènes. L'huile de *Thymus vulgaris* a été préparée par hydrodistillation et testée contre quatre souches microbiennes, à savoir : staphylococcus aureus, bacillus subtilis, saccharomyces cerevisiae, candida albican par la méthode de diffusion sur disque. L'huile de *Thymus vulgaris* a montré une forte activité inhibitrice avec des zones d'inhibition allant de 47 à 64 mm avec des sensibilités différentes selon l'espèce. Le rendement d'huile essentielle et d'extrait obtenu est de 2,3%. Ainsi, cette étude permet de conclure que l'huile de thym possède forte une activité antibactérienne ce qui mérite une étude plus approfondie afin d'exploiter d'autres propriétés.

Mots clé : thymus vulgaris, huile essentielle, activité antibactérienne, hydrodistillation.

Abstract :

Thyme "*Thymus vulgaris*" is an aromatic plant, widespread in Algeria and widely used by local populations for its medicinal properties. The objective of the present study is to determine the antimicrobial activity of essential oils of *Thymus vulgaris* on certain pathogens. *Thymus vulgaris* oil was prepared by hydrodistillation and tested against four microbial strains, namely: staphylococcus aureus, bacillus subtilis, saccharomyces cerevisiae, candida albican by disk diffusion method. *Thymus vulgaris* oil showed strong inhibitory activity with zones of inhibition ranging from 47 to 64 mm with different sensitivities depending on the species. The yield of essential oil and extract obtained is 2.3%. Thus, this study leads to the conclusion that thyme oil has strong antibacterial activity, which deserves further study in order to exploit other properties.

Key words : thymus vulgaris, essential oil, antimicrobialactivity, hydrodistillation.

التلخيص:

الزعر نبتات عطري منتشر في الجزائر ويستخدم على نطاق واسع من قبل السكان المحليين لخصائصه الطبية. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد النشاط المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية من *Thymus vulgaris* على بعض مسببات الأمراض. تم تحضير زيت *Thymus vulgaris* بالتقطير المائي واختباره ضد أربع سلالات ميكروبية وهي: Staphylococcus aureus، bacillus subtilis، saccharomyces cerevisiae، candida albican بطريقة الانتشار القرصي. أظهر زيت *Thymus vulgaris* نشاطاً مثبطاً قوياً مع مناطق تثبيط تتراوح من 47 إلى 64 ملم مع حساسيات مختلفة حسب النوع. عائد الزيت العطري والمستخلص الذي تم الحصول عليه هو 2.3%. وهكذا توصلت هذه الدراسة إلى استنتاج مفاده أن زيت الزعر له نشاط قوي مضاد للجراثيم، الأمر الذي يستحق المزيد من الدراسة لاستغلال الخصائص الأخرى.

الكلمات المفتاحية: الزعر البري، الزيت العطري، النشاط المضاد للميكروبات، لتقطير المائي.