

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de thym, de la lavande et de l'hydrolat de figue de barbarie.

Présenté par : Moussaoui Fatima Zohra

Soutenu le : 22/07/2019

Devant le jury composé de:

- Président : Zenad Wahiba	MAA	ENSV
- Promoteur : Linda Ainouz	MAA	ENSV
- Examineur 1: Zaouani Mohamed	MCB	ENSV
- Examineur 2 : Ben Mohand Chabha	MAA	ENSV

Remerciements

Nous remercions Dieu le Tout Puissant de nous avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce présent travail.

Ce travail de fin d'études est le fruit de longues années de labeur assidu et d'apprentissages studieux, ainsi que le résultat de singulières découvertes et de rencontres enrichissantes.

Je souhaite tout d'abord exprimer ma gratitude à ma promotrice Linda AINOUIZ pour son encadrement, ses précieux conseils, son soutien indéfectible.

J'ai énormément apprécié l'atmosphère à la fois si appliquée et bienveillante au sein du laboratoire de SAIDAL, je remercie autant Madame CHADER pour son affable disponibilité et pour son appui inconditionnel. C'est un endroit où les chercheurs communiquent à la fois intellectuellement et socialement tout en interagissant et en tissant des liens humains empreints d'une forte solidarité.

Je remercie chaleureusement toutes ces personnes qui me sont si chères en particulier Kahina et qui m'ont entourées et assistées pendant les différentes étapes de ma recherche.

Je me dois de remercier tous mes professeurs. Qu'ils trouvent ici dans ce travail l'expression de ma reconnaissance.

Merci à Madame Zenad Wahiba, Ben mohand Chabha et Messieurs Zahouani Mohamed pour avoir accepté la lourde tâche d'évaluer ce travail et de me faire part de ses suggestions.

C'est avec une grande émotion que je remercie tendrement ma chère mère et mon cher père avec une attention toute particulière.

Enfin, je remercie aussi tous les membres de ma famille pour leur écoute et pour leur appui.

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 je dédie ce travail à ma très chère mère Escid Sassia autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A mon très cher père Lamri Moussaoui Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

A mes adorables frères Redha et Ahmed qui ont été toujours là à mes côtés, qui m'ont aidé en toute étape de ma vie.

A mes chère sœurs Asma, Hadjer et leurs époux, qui font une partie de mon bonheur.

A mes adorables neveux Firas, Amir, Zaid, Wafi,ouais.

A Ma chère grand-mère maternelle, Que ce modeste travail, , soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous préserve santé et longue vie.

A ma tante Abla, Sara et son époux Karim, qui m'a appris beaucoup de chose et qui m'a toujours encouragé. A mes tantes maternelles et paternelles,

A mes chères cousines Anfel et Maya, à tous mes cousins petits et grands et toute ma famille sans exception.

A la mémoire de de ma grand-mère paternel et mon grand-père maternelle, la mémoire, qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

Une pieuse pensée à notre chère regrettée l'étudiante DRISS Roumaïssa qui nous a quitté durant l'année 2018. Que Dieu le Tout Puissant l'accepte dans son vaste paradis.

A tous mes amis, en particulier Kahina, mimer, Madiha et Raja et sans oublier tous les étudiants de ma promotion.

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Liste des annexes	
Introduction	1

Revue bibliographique

Chapitre 1 : Les huiles essentielles

1.1 Historique:	4
1.2 Définition.....	4
1.2.1 Huile essentielle (HE).....	4
1.2.2 Essence	4
1.2.3 Hydrolat :.....	5
1.3 Production mondiale des huiles essentielles.....	5
1.4 Caractéristiques physiques des huiles essentielles.....	5
1.5 Composition chimique.....	6
1.6 Répartition et localisation des huiles essentielles	6
1.7 Les critères de qualité.....	6
1.8 Toxicité des huiles essentielles :	6
1.9 Aromathérapie.....	7
1.9.1 Aromathérapie en médecine vétérinaire	7
1.10 Contre-indications et précautions d'emploi des huiles essentielles.....	15

Chapitre 2 : Procédure d'extraction et activités biologiques des huiles essentielles

2.1 Méthodes d'extraction des huiles essentielles	16
2.1.1 Distillation et entraînement à la vapeur	16
2.1.2 Hydrodistillation	16
2.1.3 Extraction par solvants volatils	17
2.1.4 Extraction par enfleurage.....	17
2.2 Activité biologique des huiles essentielles	17
2.2.1 Antibactériennes.....	17
2.2.2 Antivirales.....	18
2.2.3 Antifongiques.....	18
2.2.4 Antiparasitaires	19
2.2.5 Antiseptiques.....	19

Sommaire

2.2.6	Insecticides.....	19
2.2.7	Anti-inflammatoires	19
2.2.8	Régulatrices du système nerveux	19
2.2.8.1	Antispasmodiques	19
2.2.8.2	Calmantes, anxiolytiques	20
2.2.8.3	Analgésiques, antalgiques.....	20
2.2.9	Drainantes respiratoires	20
2.2.9.1	Expectorantes	20
2.2.9.2	Fluidifiantes	20
2.2.10	Digestives.....	20
2.2.11	Cicatrisantes	20
2.2.12	Activité antioxydante.....	Error! Bookmark not defined.
2.3	Conservation des huiles essentielles:	Error! Bookmark not defined.
Chapitre 03 : Monographie des plantes étudiées		
3.1	Thym	Error! Bookmark not defined.
3.1.1	Historique.....	Error! Bookmark not defined.
3.1.2	Description botanique :.....	23
3.1.3	Classification.....	23
3.1.4	Principales utilisations du Thym	Error! Bookmark not defined.
3.1.5	Localisation et répartition géographique	Error! Bookmark not defined.
3.1.5.1	Dans le monde	Error! Bookmark not defined.
3.1.5.2	En Algérie	Error! Bookmark not defined.
3.2	La lavande.....	Error! Bookmark not defined.
3.2.1	Description botanique.....	26
3.2.2	Classification.....	26
3.2.3	Répartition géographique de l'espèce	26
3.2.4	Propriétés médicinales.....	27
3.2.5	Culture de la lavande	27
3.2.5.1	Conditions de culture.....	27
3.2.5.2	Multiplication	27
3.2.5.3	Plantation	27
3.2.5.4	Entretien.....	27
3.2.5.5	Maladies et ravageurs	27
3.2.5.6	Taille	28
3.2.5.7	La récolte	28

Sommaire

3.2.6 L'huile essentielle de lavande	28
3.2.7 Caractères organoleptiques	28
3.2.8 Usage de la lavande	29
3.2.8.1 Usage cosmétique	29
3.2.8.2 Usage thérapeutique	29
3.2.8.3 Usage culinaire	29
3.3 Le Figue de barbarie	30
3.3.1 Définition de Figue de barbarie (Opuntia ficus indica)	30
3.3.2 Appellations du figue de Barbarie	Error! Bookmark not defined.
3.3.3 Distribution géographique d'Opuntia ficus indica :	Error! Bookmark not defined.
3.3.4 Position systématique	Error! Bookmark not defined.
3.3.5 Importance agro économique du figue de barbarie	Error! Bookmark not defined.
3.3.6 Utilisation des fruits	Error! Bookmark not defined.
3.3.7 Utilisation des raquettes	Error! Bookmark not defined.
3.3.7.1 Production fourragère	Error! Bookmark not defined.
3.3.8 Utilisations médicinales	Error! Bookmark not defined.

Partie expérimentale

1 Matériels et méthodes	38
1.1 Matériel végétal	38
1.2 Matériel microbiologique:	39
1.2.1 Souches microbiennes :	39
1.2.2 Milieu de culture :	39
1.3 Matériels non biologiques :	Error! Bookmark not defined.
2 Méthodes	Error! Bookmark not defined.
2.1 Méthode d'extraction :	Error! Bookmark not defined.
2.1.1 Principe :	Error! Bookmark not defined.
2.1.2 Calcul de rendement d'extraction :	Error! Bookmark not defined.
2.2 Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique:	Error! Bookmark not defined.
2.2.1 Principe :	Error! Bookmark not defined.
2.2.2 Préparation de l'inoculum :	Error! Bookmark not defined.
2.2.3 Technique (Kinby-Baner) recommandée par l'OMS	Error! Bookmark not defined.
2.2.4 Dépôt des disques imprégnés :	46
2.3 Etude d'Association d'huiles essentielles	47
2.4 Evaluation de l'Activité antioxydante :	48
2.4.1 Principe	48

Sommaire

2.4.2 Protocole :	49
2.4.3 Détermination du pouvoir antioxydant.....	52
1 Résultats et discussions	54
1.1 Rendement d'extraction en HE	Error! Bookmark not defined.
1.2 Résultats de l'évaluation de l'activité anti microbienne:	Error! Bookmark not defined.
1.2.1 Résultats de l'activité antimicrobienne de Thym	Error! Bookmark not defined.
1.2.2 Activité antimicrobienne de la lavande	58
1.2.3 Activité antimicrobienne de l'hydrolat de Figue de Barbarie	60
1.2.4 Résultats d'association des substances naturelles par l'aromatogramme.....	Error! Bookmark not defined.
defined.	
1.3 Résultats de l'activité antioxydante	Error! Bookmark not defined.
1.3.1 Détermination d'IC50	66
Conclusion et perspectives.....	69
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Liste des figures

Figure 1 : méthode d'extraction des huiles essentielle par hydrodistillation	15
Figure 2: la plante de Thym	20
Figure 3: répartition géographique du thym dans le monde	21
Figure 4 : la morphologie de <i>Lavandula</i>	23
Figure 5 : <i>Opuntia ficus-indica</i>	26
Figure 6 : distribution géographique du figue de Barbarie	27
Figure 7 : fruits de Figue de Barbarie	28
Figure 8 : raquettes de figue de barbarie	29
Figure 9 : les plantes de territoire algériens utilisées (a : la plante de Thym, b : les graines de Figue de barbarie)	31
Figure 10 : les huiles essentielles provenue de France (a : l'HE de Thym, b : l'HE de la Lavande)	31
Figure 11 : les différentes souches microbiennes a : <i>Bacillus subtilis</i> , b : <i>Staphylococcus Aureus</i> , c : <i>E.Coli</i> , d : <i>Candida Albicans</i> , e : <i>Aspergillus brasiliensis</i>	32
Figure 12 : gélose Muller Hinton et gélose Sabouraud	33
Figure 13 : les étapes d'hydrositilation	35
Figure 14 : dispositif d'hydrodistilation	36
Figure 15 : illustration de la méthode d'aromatogramme	37
Figure 16 : solutions bactériennes et fongiques	38
Figure 17 : boîtes de pétriensemencées par des bactéries (a,b,c) et avec des levures (d,e)	38
Figure 18 : disque imbibé par l'HE déposé au centre de la gélose	39
Figure 19 : les différents types d'associations	40
Figure 20 : structure chimique du radical libre DPPH	41
Figure 21 : les antioxydants utilisés dans le test de DPPH	41
Figure 22: les Différentes étapes du test de DPPH.	44
Figure 23 : photos montrant l'effet antimicrobien de l'HE de Thym de territoire algérien et celui provenue de France par la méthode d'aromatogramme.	47
Figure 24 : diamètre des zones d'inhibition d'HE de Thym provenance Algérie et France	48
Figure 25 : photos montrant l'effet antimicrobien de l'HE de la Lavande.	49
Figure 26 : diamètre des zones d'inhibition de l'HE de Lavande (mm)	50

Liste des figures

Figure 27 : photos montrant l'effet antimicrobien de l'HD de Figue de barbarie.	51
Figure 28 : diamètres des zones d'inhibition de L'HD de Figue de barbarie	52
Figure 29 : photos montrant l'effet antimicrobien de différentes associations.	53
Figure 30 : effet d'association des substances utilisées	54
Figure 31 : décoloration de DPPH et piège de radical libre	55

Liste des tableaux

Tableau 1 : récapitulation des principales huiles essentielles produites et des principaux pays producteurs dans le monde en 2008	04
Tableau 2 : comparaison entre l'aromathérapie et phytothérapie	06
Tableau 3 : liste des huiles essentielles autorisées en médecine vétérinaire	07
Tableau 4 : principales localisations géographiques de différentes espèces de thym en Algérie	22
Tableau 5 : composition de la figue de barbarie <i>Opuntia ficus-indica</i>	29
Tableau 6 : les différentes souches microbiennes	33
Tableau 7 : les Matériels non biologiques utilisés	34
Tableau 8: les différentes dilutions effectuées pour la réalisation de test de DPPH	43
Tableau 9 : Rendement d'huile essentielle de Thym	45
Tableau 10 : les zones d'inhibitions des croissances microbiennes	46
Tableau 11: Diamètres (en mm) des zones d'inhibition de l'HE de Thym de	48
Tableau 12 : les résultats des diamètres (en mm) des zones d'inhibition, obtenus par le test de d'Aromatogramme	50
Tableau 13 : les résultats des diamètres (en mm) des zones d'inhibition, obtenus par le test de d'Aromatogramme.	51
Tableau 14 : les résultats du diamètre d'inhibition qu'on a obtenue	54
Tableau 15 : les différentes valeurs d'IC50	56

Liste des abréviations

AFNOR : association française de normalisation.

BHT : hydroxytoluène butylé.

Bc : bêta-carotène.

D : diamètre.

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

Ec : concentration efficace médiane.

g: gramme.

H : heure.

HD : hydrolat.

HE : huile essentielle.

Ic50 : concentration inhibitrice médiane.

mg : milligramme.

ml : millilitre.

mm : milimetre

NaCl : chlorure de sodium.

OMS : organisation mondiale de la santé.

T.A : thym provenue d'Algérie.

T.F : thym provenue de France.

Vit C : Acide ascorbique.

Liste des annexes

Annexe 01 : les différentes courbes qui représentent la variation d'activité antioxydante en fonction de concentration des échantillons.

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques et ils possèdent un très large éventail d'activité biologique. Cependant, l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut susciter l'intérêt de nombreuses études.

Dans le réservoir chimique des plantes, les huiles essentielles représentent des molécules de fortes valeurs, utilisées dans la pharmacologie car elles ont un effet spécifique sur d'autres organismes (**Remmal *et al*,1993**). En cosmétologie, comme base de fabrication de parfum et de produits dermatologiques.

En agroalimentaire pour rehausser le goût, parfumer et colorer les aliments et leur conservation, les huiles essentielles ont un spectre d'activité très large due principalement à leur grande affinité grâce à leur natures, pour cela les activités antibactériennes de ces produits ont été rapportées dans de très nombreux travaux (**Bouzouita *et al.*, 2008**).

Dans la lutte perpétuelle contre les infections microbiennes, les antibiotiques ont été considérés comme l'arme absolu, mais le phénomène de l'antibiorésistance à travers les différents genres et espèces et les effets secondaires des médicaments de synthèse, sous-estimé ont remis d'actualité la phytophilières (**Mazari *et al*, 2010**).

L'utilisation des antioxydants de synthèse dans les domaines agroalimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques qui devait apporter une solution a été largement décriée ces dernières années. En effet, l'utilisation des antioxydants synthétiques sont suspectés à long terme d'effets tétragènes, mutagènes et cancérigènes (**Chavéron, 1999**). Les plantes constituent des antioxydants naturels. Ces dernières sont apparues comme une alternative aux antioxydants de synthèse.

Comme on peut le constater, la recherche de substances naturelles à activité antimicrobienne et antioxydante issue de la plante constitue un enjeu scientifique important.

L'objectif de ce travail est d'étudier les propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles de Thym de la Lavande et de l'hydrolat de Figue de Barbarie

Après avoir évalué la bioactivité des HEs et HD seuls et comparer entre les HEs locales et celles provenue de France, des mélanges entre eux, seront réalisés afin de mettre en évidence des interactions moléculaires bénéfiques en termes d'activité biologique

En vue de rendre compte de la démarche scientifique adoptée, ce travail comportera trois parties.

Dans la première partie, il sera présenté la revue bibliographique sur les huiles essentielles, leurs méthodes d'extraction, les effets biologiques ainsi qu'une description des espèces végétales utilisées dans ce travail.

Dans la deuxième partie de l'étude, il sera présenté le matériel et les méthodes utilisés, notamment l'extraction des huiles essentielles ainsi que l'étude de leur activité antimicrobienne ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante.

Les résultats obtenus, suivis de la discussion ainsi que la conclusion et les perspectives seront traités dans la dernière partie de notre étude.

Revue
bibliographique

Chapitre 1 : Les huiles essentielles

1.1 Historique:

L'utilisation connue des plantes se prolonge sur environ 5000 années, commençant par les civilisations égyptiennes, chinoises, et indiennes antiques.

Les huiles essentielles sont des substances naturelles existant depuis l'antiquité. Les arômes et les parfums furent parmi les premiers signes de la reconnaissance qui marquèrent la vie de l'Homme (**Delaigne, 1930**).

Elles sont à l'origine de l'industrie des arômes. Bien qu'on connaisse plus de 3000 essences, il n'y en a guère que 150 qui aient actuellement une importance commerciale (**Friedland, 1975**).

1.2 Définition

1.2.1 Huile essentielle (HE)

Une huile essentielle selon la pharmacopée est un produit de composition complexe renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux. **Conner, (1993)** les définit comme suit: « Les HE sont des produits odorants, volatils du métabolisme secondaire d'une plante aromatique, normalement formés dans des cellules spécialisées ou groupes de cellules ».

Selon l'AFNOR (L'association française de normalisation), 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 (**www.afnor.org**).

Une huile essentielle contient en moyenne soixante-quinze molécules actives. **Bouguerra A.2011**

1.2.2 Essence

L'essence se différencie de l'huile essentielle, il s'agit d'une substance aromatique naturelle que secrète la plante dans ses organes producteurs. Ce terme ne peut être employé que pour certaines plantes comme celles contenant des citrals (orange, citron, mandarine...) avec des principes trop lourds pour être entraînés par la vapeur d'eau utilisée pour la distillation des huiles essentielles.

L'huile essentielle est donc une « essence distillée ».

1.2.3 Hydrolat :

Lors du processus d'obtention d'HE par hydrodistillation, un sous-produit se forme à partir de l'eau ayant servi à l'extraction des molécules odorantes. Ce produit est l'hydrolat.

1.3 Production mondiale des huiles essentielles

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

Les principales huiles essentielles produites et les principaux pays producteurs sont résumés dans le tableau01.

Tableau 01 : Récapitulation des principales huiles essentielles produites et des principaux pays producteurs dans le monde en 2008 (**Perfumer&Flavorist, 2009**)

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

1.4 Caractéristiques physiques des huiles essentielles

Les HE possèdent en commun un certains nombres de propriétés physiques (**Bardeau, 1976; Legrand, 1978 ; Lemberg, 1982 ; Bruneton, 1999**) :

- Elles sont solubles dans : l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la pluparts des solvants organiques.
- La densité est généralement inférieure à celle de l'eau.
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont très altérables et sensibles à l'oxydation.
- Elles sont liquides à température ambiante.
- Elles sont incolores ou de couleur jaune pale.
- Elles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes (**Roux et Catier, 2007**).

1.5 Composition chimique

La composition des huiles essentielles est très complexe, ce sont des mélanges fortement variables et analysables, ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par les origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoides (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane, elles peuvent également renfermer

divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (**Benayad, 2008 ; Guinoisseau, 2010**).

1.6 Répartition et localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent être présentes dans différents organes végétaux : feuilles (mélisse, eucalyptus, pins ...), fleurs (jasmin, rose, fleur d'oranger...), écorces(cannelles, bouleau jaune ...), bois(bois de rose, cèdre de l'atlas...), racines des rhizomes(curcuma, gingembre, vétiver...), fruits(anis, coriandre...) et graines (**Bruneton, 1999**).

1.7 Les critères de qualité

L'huile essentielle utilisée en thérapeutique doit posséder de nombreux critères de qualité :

- L'espèce botanique exacte de la plante qui a fournie l'huile essentielle.
- L'organe producteur ou la partie du végétal distillée.
- La spécificité biochimique ou chémotype.
- La provenance géographique et le mode de culture éventuel.
- Le mode d'extraction : distillation par entraînement à la vapeur d'eau, extraction par expression.

1.8 Toxicité des huiles essentielles :

La majorité des intoxications par les plantes connues est la cause d'un surdosage car leur accumulation dans l'organisme crée des affections dégénératives et même des effets secondaires plus banales (vomissements, vertiges, syncopes). L'abus d'essences concentrées peut aussi provoquer l'engorgement du foie et la rétention d'urine. (**Schauemberg et Paris,2010**)

Il existe également des huiles essentielles qui peuvent provoquer des irritations cutanées lorsqu'on les utilise de façon externe (**Kothe, 2007**). Les effets toxiques se manifestent par des réactions allergiques (eczémas, abcès). Ce sont surtout les huiles essentielles et purifiées qui provoquent ces inflammations. (**Schauemberg et Paris, 2010**)

Les huiles essentielles sont des médicaments et une dose peut entraîner des troubles très graves, seul un praticien averti et apte à vous prescrire par contre les baumes, les huiles de corps, les huiles de bains vendus dans le commerce, sont sans danger, si bien sûr en respectent la posologie. (**Salle, 1987**)

1.9 Aromathérapie

L'aromathérapie est l'utilisation médicale des extraits aromatiques de plantes. Ce mot vient du latin « aroma »signifiant odeur et du grec « therapeia » signifiant traitement. Il s'agit donc de soigner à l'aide de principes odorifères.

Tableau 2 : Comparaison entre l’aromathérapie et phytothérapie

Phytothérapie	Aromathérapie
Faible teneur en principe volatils	Concentration de principes volatils
Richesse en principes actifs hydrosolubles	Absence dans les hydrolats
Tanins,sels minéraux, principes amers, alcaloides, hétéroside	
Thérapeutique de drainage Reminéralisation, équilibration du terrain organique et des fonctions physiologiques surtout par la voie interne	Effets énergétique au niveau cellulaire Action anti-infectieuse Equilibre au niveau neuroendocrinien
Gout	Odorat
Eau	Feu-distillation (soleil)

1.9.1 Aromathérapie en médecine vétérinaire

Les premières traces importantes d’utilisation d’extraits concentrés de plantes chez des animaux se situent au XVIIIème siècle (Ecole de Cavalerie Française) avec des potions à base de plantes pour soigner les chevaux. Puis Gattefossé et Sévelinge, pères de l’aromathérapie, ont testé les huiles essentielles (HE) sur les hommes mais aussi sur des modèles animaux au XXème siècle. En 1985, plusieurs laboratoires ont investi dans la recherche et le développement de nombreuses spécialités vétérinaires composées exclusivement d’extraits végétaux aromatiques. Et depuis quelques années, c’est le monde de l’élevage qui se penche sur l’aromathérapie, car il y a de plus en plus d’interdictions de drogues synthétiques dans les aliments, Les HE constituent de véritables alternatives pour le propriétaire d’un animal de compagnie, mais aussi pour le vétérinaire, tant qu’elles sont intégrées dans le cadre d’une gestion correcte de la santé animale, lui proposant des conditions de vie et d’hygiène optimales et en prônant une prophylaxie d’entretien régulier.

Tableau 0 3 : Liste des huiles essentielles autorisées en médecine vétérinaire (May, P, 2014).

HE	Partie Utilisée	Actions	Indications	Mode d'emploi
Ajowan	Fruits	Anti-infectieuse, antivirale, antiparasitaire, antalgie	Infections, parasitisme (respiratoires, digestifs, cutanés), Arthrites	Voie interne, externe (usage local et général)
Basilic exotique	Sommités fleuries	Antispasmodique, tonique digestif, anti-inflammatoire, antalgique, antiviral	Spasmes, coliques, diarrhées, arthrite, tendinite, anxiété	Voie interne, externe (usage local et général)
Baume du Pérou	Baume	Antiseptique, antibactérien, antiparasitaire, cicatrisant	Dermatologique (blessures, plaies, escarres, brûlures)	Externe uniquement (usage local)
Cajeput	Feuilles	Anti-infectieuse, antivirale, expectorante, décongestionnant	Affections respiratoires, circulatoires, viroses cutanées	Voie interne et externe
Camomille noble	Fleur	Antalgique, antispasmodique, sédative, anti-inflammatoire	Sédation, spasmes digestifs, prurit, dystonies Neurovégétatives	Voie interne et externe

Suite tableau 3 :

HE	Partie Utilisée	Actions	Indications	Mode d'emploi
Gaulthérie couchée	Feuilles	Anti-inflammatoire, antispasmodique, vasodilatatrice	Inflammation articulaire, tendineuse, crampes, contractures,	Externe surtout (action locale)
Genévrier commun	Rameaux, baies	Diurétique, antiseptique urinaire, antispasmodique, antalgique, antiseptique, anti-inflammatoire	Infections urinaire, diurèse, spasmes digestifs, colites, arthrites, tendinites, plaies, eczéma	Voie externe
Géranium rosat	Feuilles	Antispasmodique, anti-inflammatoire, antimicrobienne, calmante, cicatrisante, antalgique, Répulsive	Stress, anxiété, plaies, crevasses, répulsion des insectes, infections cutanées, mycoses, DAPP, dermites séborrhéiques	Voie interne, externe (action locale)
Gingembre	Rhizome	Tonique digestive, expectorante, antalgique, aphrodisiaque	Manque d'appétit, stimulation des chaleurs, arthrites	Voie interne, externe
Giroflier	Bouton floral	Antalgique, antimicrobienne, antiparasitaire, stimulant général	Infections buccales, dentaires, digestives, tiques, puces, mise-bas, asthénie ; CI chez	Voie interne et externe

Suite tableau 3 :

HE	Partie Utilisée	Actions	Indications	Mode d'emploi
Helichryse italienne	Sommités fleuries	Anticoagulante, antalgique, anti-inflammatoire, Cicatrisante	Hématome, phlébite, induration des tissus, fourbure, arthrite, tendinite, claquage	Voie interne, externe
Inule odorante	Sommités fleuries	Mucolytique, anti-inflammatoire, antitussive, antibactérienne, antivirale	Bronchite obstructive, emphysème, coryza du chat, toux du chenil, laryngite	Voie interne, externe
Laurier noble	Feuilles	Expectorante, anti-infectieuse, antalgique, anti-nécrosante, antispasmodique, anti-inflammatoire	Bronchite, stimulation digestive, arthrite, nécrose, gangrène, maladies infectieuses chroniques	Voie interne, externe
Lavande aspic	Sommités fleuries	Bactéricide, fongicide, expectorante, cicatrisante, anti-inflammatoire	Infections ORL, pyodermites, mycoses cutanées, envenimation par piqûre	Voie interne, externe
Lavandin	Sommités fleuries	Antispasmodique, calmante, anti-inflammatoire, cicatrisante	Nervosité, spasmes, crampes, dermatoses infectieuses, plaies	Voie interne, externe
Litsée citronnée	Fruits	Anti-inflammatoire, antiparasitaire externe, calmante	Inflammations articulaires, traumatiques, ectoparasites, insectifuge, agitation, anxiété	Surtout voie externe (voie interne pour les pathologies nerveuses)

Suite tableau 3 :

HE	Partie Utilisée	Actions	Indications	Mode d'emploi
Marjolaine	Sommités fleuries	Antibactérienne, sédative, calmante, antalgique	Agitation, anxiété, agressivité, spasmes, infections respiratoires et digestives, névralgies, myalgies, arthralgies	Voie orale, externe
Menthe poivrée	Parties aériennes	Anti-infectieuse, tonique digestive, cardiaque, antalgique, anti-inflammatoire, stimulation des chaleurs	Indigestion, ballonnements, vomissements, fatigue cardiaque, arthrite, chaleurs inapparentes ; CI chez le chat, en gestation, chez les jeunes demoins de 3 mois	Voie orale, externe (action locale et générale)
Niaouli	Feuilles	Antibactérienne, antimycosique, stimulation de l'immunité, expectorante, anti-catarrhale, hormone-like, cicatrisante	Infection respiratoire, stimulation des chaleurs, plaies, escarres, mycoses cutanées, pyodermites, furoncles, coryza, herpès viroses et calci viroses chez le chat	Voie oral, externe (action locale et générale)

Suite tableau 3 :

HE	Partie Utilisée	Actions	Indications	Mode d'emploi
Marjolaine	Sommités fleuries	Antibactérienne, sédatrice, calmante, antalgique	Agitation, anxiété, agressivité, spasmes, infections respiratoires et digestives, névralgies, myalgies, arthralgies	Voie orale, externe
Menthe poivrée	Parties aériennes	Anti-infectieuse, tonique digestive, cardiaque, antalgique, anti-inflammatoire, stimulation des chaleurs	Indigestion, ballonnements, vomissements, fatigue cardiaque, arthrite, dermatite inflammatoire, chaleurs inapparentes ; CI chez le chat, en gestation, chez les jeunes de moins de 3 mois	Voie orale, externe (action locale et générale)
Origan compact	Sommités fleuries	Anti-infectieuse puissante, stimulation immunitaire	Infections sévères et résistantes (respiratoires, digestives, cutanées, cystites, maladies vectorielles), fatigue	Voie interne, externe

Suite tableau 3 :

HE	Partie Utilisée	Actions	Indications	Mode d'emploi
Palmarosa	Herbe	Anti-infectieuse puissante, anti-inflammatoire, immunostimulante, cicatrisante	Infections utérines, génitales, mammites, entérites, bronchites, infections cutanées (acné du chat, eczéma, pyodermite, mycose)	Voie orale, locale (usage interne et externe)
Pin maritime	Ecorce, aiguilles, Résine	Antiseptique respiratoire, expectorante, rubéfiante (voie externe)	Pathologies respiratoires, rhumatismes, effet révulsif	Aérosol (aiguilles), frictions (résine)
Pin sylvestre	Aiguilles	Antiseptique respiratoire, expectorante, antitussive, tonique	Pathologies respiratoires, insuffisance sexuelle (mâle), antalgie et révulsion (voie externe), asthénie	Voie orale, externe
Ravintsara	Feuilles	Antivirale puissante, expectorante	Maladies respiratoires virales, viroses cutanées, grippe, parvovirose canine, herpès, calicivirus du chat	Voie interne (orale et locale), externe
Romarin	Sommités fleuries	Mucolytique, expectorante, régulation ovarienne, cicatrisante	Bronchites, toux grasses, hépatites, cycles irréguliers, plaies	Voie orale, externe (action locale et générale)

Suite tableau 3 :

HE	Partie Utilisée	Actions	Indications	Mode d'emploi
Tea-tree	Feuilles	Antibactérienne puissante, antivirale, antiparasitaire, antifongique, anti-Inflammatoire	Infections en général (respiratoires, digestives, génitales, dermatologiques)	Voie interne et externe
Thym (vulgaire)	Sommités fleuries	Anti-infectieuse, stimulant immunitaire, tonique (thujanol), utérotonique (thym à géraniol), antiparasitaire (thym à linalol et à thymol)	Infections bactériennes et virales respiratoires, buccales, herpès, calicivirose (thujanol, thymol), diarrhées, parasitoses gastro-intestinales (thymol, carvacrol), arthrites (thujanol), infection des plaies, parasitoses cutanées	Voie interne et externe
Thym saturéïde	Sommités fleuries	Anti-infectieuse, antiparasitaire, régulation immunitaire, tonique	Maladies infectieuses (surtout chroniques), mammites, asthénie, chaleurs silencieuses, infections cutanées	Voie interne et externe
Ylang-ylang	Fleurs	Antistress, anti-inflammatoire, antalgique	Dystonies neurovégétatives, stress, tachycardie, anxiété, algies	Voie interne et externe
Sarriette des montagnes	Sommités fleuries	Antiseptique majeure, antalgique, anti-inflammatoire, immunostimulante	Affections respiratoires, diarrhées infectieuses et parasitaires, affections dermatologiques bactérienne	Voie interne, externe

1.10 Contre-indications et précautions d'emploi des huiles essentielles

Pendant la gestation, les HE utilisées par voie interne doivent être administrées avec la plus grande précaution, notamment les HE riches en cétone, oestrogéniques et à action ocytotique. Certaines HE sont contre-indiqués pendant la gestation et la lactation (**Baudoux, D., Baudry, F. et Debauche, P. 2004**). En ce qui concerne l'usage externe, les HE sont dans la plupart des cas diluées, le cas échéant il convient de rester particulièrement vigilant et de respecter strictement les posologies.

L'utilisation d'HE pure sur les muqueuses telles les narines, lèvres, museau, oreilles, zones anogénitales, est contre-indiquée (**May, 2014**). Tout contact avec les yeux de l'animal est à proscrire. L'utilisation des HE par voie intraveineuse ou intramusculaire est contre-indiquée (**Baudoux, D. et Debauche, P.2012**).

L'utilisation d'HE allergisantes comme le laurier noble, l'achillée millefeuille, la cannelle, le baume du Pérou, impose un suivi rigoureux de l'animal, afin de stopper toute réaction allergique éventuelle (**Labre, P.2012**). Il est préférable de faire un essai, en appliquant l'HE sur une petite zone et attendre 48 heures (**May, P.2014**)

Chapitre 2 : Procédure d'extraction et activités biologiques des huiles essentielles

2.1 Méthodes d'extraction des huiles essentielles

2.1.1 Distillation et entrainement à la vapeur

C'est le procédé le mieux adapté à l'extraction des essences (Bego, 2001). Le matériel végétale n'est pas en contact avec l'eau, son principe réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « Vapeur d'eau- huile essentielle » dispersé dans la matière végétale.

Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entrainant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation, le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat (Belaiche, 1979 ; Benjilali, 2004).

2.1.2 Hydrodistillation

Selon Bruneton (1999), l'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétale à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition, les vapeurs hétérogènes condensées sur une surface froide se transforme à l'état liquide, le mélange l'huile- eau se sépare par différence de densité. Cette méthode est généralement utilisée en cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants.

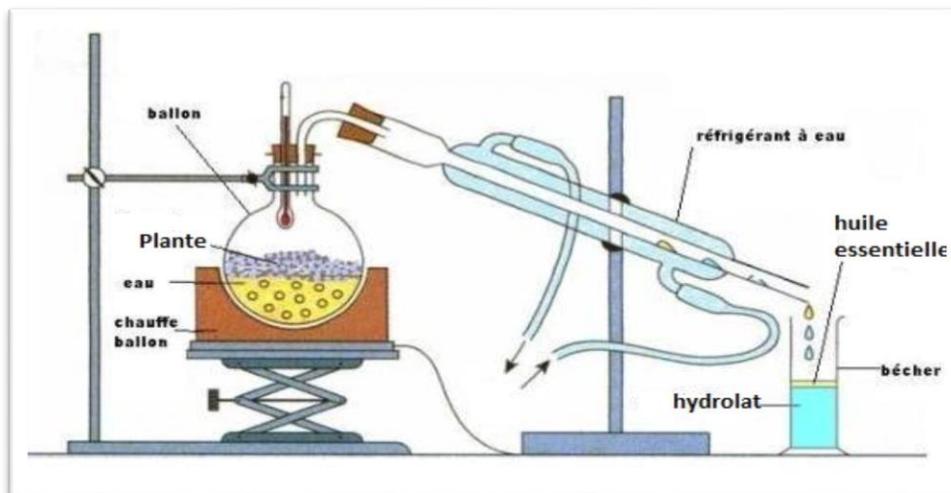


Figure 01 : Méthode d'extraction des huiles essentielle par hydrodistillation

2.1.3 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**).

2.1.4 Extraction par enfleurage

Ce procédé met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras, elle consiste à déposer des plantes en particulier les organes fragiles (pétale des roses) sur une couche mince de graisse.

Selon les espèces, l'absorption des huiles essentielles des pétales par le gras peut prendre de 24 heures à 72 heures. Les pétales sont éliminés et remplacés par des pétales frais jusqu'à saturation du corps gras. On épuise ce corps gras par un solvant que l'on évapore ensuite sous vide (**Belaiche, 1979 ; France-Ida, 1996**).

2.2 Activité biologique des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés. Biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son « totum » ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (**Lahlou, 2004**).

2.2.1 Antibactériennes

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Carson et al., 2002**).

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HEs sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules. (**Davidson, 1997**) Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane. (**Cox et al., 2000; Carson et al., 2002**).

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été

rapportée (**Wendakoon et Sakaguchi, 1995**).

Les HES peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides. (**Cox et al., 1991**) Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (**Dorman et Deans, 2000**).

2.2.2 Antivirales

Les virus sont assez sensibles aux huiles essentielles à phénol et à monoterpénol. Plus d'une dizaine d'huiles essentielles possèdent des propriétés antivirales. Nous pouvons citer l'huile essentielle de Ravintsara, l'huile essentielle de Bois de Hô, ou l'huile essentielle de Cannelle de Ceylan.

2.2.3 Antifongiques

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phyto pathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (**Lis-Balchin, 2002**).

Selon **Voukou et al. (1988)**, les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des Labiatae : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc...

Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques. Ils concluent que les phénols (eugénol, chavicol 4-allyl-2-6- diméthoxyphénol) sont plus antifongiques et que les aldéhydes testés (cinnamique et hydrocinnamique).

Ils présentent également des propriétés fongistatiques très marquées. Les groupements méthoxy, à l'inverse, ne semblent pas apporter à ce type de molécules une fongitoxicité significative

2.2.4 Antiparasitaires

Les molécules aromatiques possédant des phénols ont une action puissante contre les parasites. Le thym à linalol, la sarriette des montagnes sont d'excellentes huiles essentielles antiparasitaires

2.2.5 Antiseptiques

Les propriétés antiseptiques et désinfectantes sont souvent retrouvées dans les huiles essentielles possédant des fonctions aldéhydes ou des terpènes comme l'huile essentielle d'Eucalyptus radiata.

2.2.6 Insecticides

Certaines huiles essentielles sont insectifuges ou insecticides comme celles possédant des fonctions aldéhydes comme le citronnellal contenu dans l'Eucalyptus citronné ou la citronnelle.

2.2.7 Anti-inflammatoires

Les huiles essentielles possédant des aldéhydes ont des propriétés actives contre l'inflammation par voie interne comme l'huile essentielle de Gingembre.

2.2.8 Régulatrices du système nerveux

2.2.8.1 Antispasmodiques

Les huiles essentielles possédant des esters ou des éthers possèdent une action sur les spasmes des muscles lisses ou striés comme l'huile essentielle d'Hélichryse

2.2.8.2 Calmantes, anxiolytiques

Les aldéhydes type citrals contenu par exemple dans l'huile essentielle de Mélisse ou celle de Verveine citronnée favorisent la détente et le sommeil.

2.2.8.3 Analgésiques, antalgiques

Les huiles essentielles les plus connues pour leur action antalgiques sont les huiles essentielles d'Eucalyptus citronné, de Gingembre, de Lavande vraie.

2.2.9 Drainantes respiratoires

2.2.9.1 Expectorantes

Les huiles essentielles riches en oxyde (1, 8 cinéole) comme l'huile essentielle *d'Eucalyptus globulus* ou de Romarin agissent sur les glandes bronchiques et sur les cils de la muqueuse bronchique.

2.2.9.2 Fluidifiantes

Les huiles essentielles possédant des cétones (comme la verbénone contenu dans l'huile essentielle de Romarin) ont une action mucolytique en dissolvant les sécrétions accumulées au niveau de la muqueuse.

2.2.10 Digestives

Les huiles essentielles de cumin (avec la molécule de cuminal), d'anis étoilé ou par exemple d'estragon ont une action digestive et apéritive. Elles permettent la stimulation de la sécrétion des sucs digestifs. L'huile essentielle de menthe poivrée atténue les nausées.

2.2.11 Cicatrisantes

Les huiles essentielles cicatrisantes sont les huiles essentielles de Ciste (*Cistus ladaniferus*), de Lavande vraie (*Lavand ulavera*), d'Immortelle (*Helichrysum italicum*), de Myrrhe (*Commiphoramyrrha*). On utilise souvent un mélange de plusieurs huiles essentielles cicatrisantes avec une huile végétale comme l'huile d'amande douce.

2.2.12 Activité antioxydante

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

(Richard, 1992) Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte).

Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto catalytique de l'oxydation (Multon, 2002). En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que le complexe formé par des ions métalliques ou la réduction d'oxygène.(Madhavi *et al.*, 1996). Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à le préserver des phénomènes d'oxydation.(Caillet et Lacroix., 2007).

2.3 Conservation des huiles essentielles:

Les huiles essentielles sont des substances sensibles et très délicates, ce qui rend leur conservation difficile et obligatoire dans le but de limiter les risques de dégradation, ces dégradations peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons opaques à l'abri de la chaleur et de la lumière (Valnet., 2000).

Chapitre 03 : Monographie des plantes étudiées

3.1 Thym

3.1.1 Historique

Le thym a toujours accompagné la vie quotidienne de l'homme à des fins médicaux, cosmétiques et culinaires.

Connu par les Hippocrates et Dioscorides il était parmi les premières plantes médicinales dans la région méditerranéenne. Le nom thym provient du mot Grec « *thymos* » qui veut dire odeur, et à ce titre le thym est très largement utilisé en qualité de plante aromatique, en particulier dans la cuisine méditerranéenne en tant que condiment (Richard *et al.*, 1985).

- Nom: Thym.
- Nom scientifique: *Thymus vulgaris*.
- Parties utilisées : Feuilles, fleurs, Huiles essentielles rectifiées (sans substance irritantes).
- Origine : Europe du sud.
- Habitat: Originaire de l'ouest des régions méditerranéennes (Ozcan et Chalchat, 2003).

3.1.2 Description botanique :

Le thym est un sous arbrisseau ramifié à tiges ligneuses, ne dépasse pas les 40 cm de hauteur, retrouvé un peu partout sur le pourtour Ouest du bassin méditerranéen, caractérisé Par ses tiges portant de nombreuses petites feuilles pointues très odorantes, ses racines forment une touffe dense ce qui permet à la plante de pousser n'importe où (Iserin, 2001). La Figure 02 illustre la morphologie de *Thymus*.



Figure 02 : La plante de Thym

3.1.3 Classification

- Règne : Plantae
- Sous règne : Tracheobionta

- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Genre : Thymus

3.1.4 Principales utilisations du Thym

Le thym possède un Large spectre d'utilisation, parmi lesquelles on peut citer :

- Confection de savons, parfums et détergents.
- Considéré comme une herbe médicinale avec une action antispasmodique, fluidifiante réduisant la flatulence.
- Son usage est très reconnu pour soulager les symptômes de la bronchite, inflammation des voies respiratoires, troubles gastro-intestinaux, traiter la stomatite, la laryngite et les blessures cutanées superficielles.
- L'herbe séchée est employée pour donner de la saveur à la viande, sauces.
- Le thym produit un miel distinctif qui commence à trouver des marchés de place en Europe et en Asie.

3.1.5 Localisation et répartition géographique

3.1.5.1 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'Ethiopie, 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.

(Jalas, 1971)

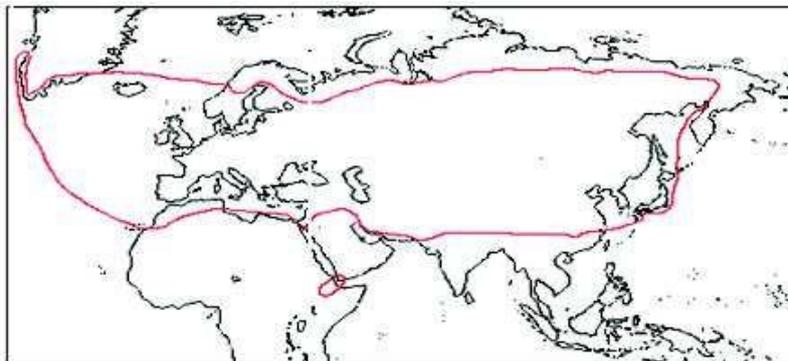


Figure 03: Répartition géographique du thym dans le monde (Stahl-Biskup, 2002).

3.1.5.2 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 (**Kabouche et al, 2005**). Ces espèces sont réparties du Nord algérois à l'Atlas saharien, et du constantinois à l'oranais.

Tableau04 : Principales localisations géographiques des différents espèces de thym en Algérie (**Quezel et Santa, 1963**).

Espèce	Localisation et caractéristique
<i>Thymus pallescens</i> Boiss.et Reuter	Commun dans le tell Endémique Algérien.
<i>Thymus capitatus</i> L.	Très rare dans le sous-secteur de l'atlas tellien
<i>Thymus dreatensis</i> Batt.	Très rare dans le sous-secteur du tell constantinois et de la petite Kabylie.
<i>Thymus numidicus</i> Poiret	Assez rare dans : Le sous-secteur de l'atlas tellien, le secteur du tell constantinois et petite et grande Kabylie.
<i>Thymus guyonii</i> De Noé	Rare dans : Le sous-secteur des hauts plateaux Algérois, Oranais et constantinois.
<i>Thymus lanceolatus</i> Desf.	Rare dans : Le sous-secteur de L'atlas tellien (Terni) et de L'atlas tellien (Médéa, Benchicao). Le sous-secteur des hauts plateaux Algérois, Oranais (Tiaret) et constantinois (Aumale).
<i>Thymus pallidus</i> Coss	Très rare dans le sous-secteur de l'atlas Saharien constantinois.
<i>Thymus glandulosus</i> Lag.	Très rare dans le sous-secteur des hauts plateaux Algérois et Oranais.
<i>Thymus hirtus</i> Willd.	Commun sauf sur le littoral.
<i>Thymus algériensis</i> Boiss.et Reuter	Très commun dans toutes les régions montagneuses et rares ailleurs.
<i>Thymus munbyanus</i> Desf.	Endémique dans le nord du secteur algérois.

3.2 La lavande

- Nom commun : Lavande, Lavande officinale, aspic, Lavandin.
- Nom scientifique : *Lavandula angustifolia*
- Parties utilisées : Sommités fleuries.
- Habitat et origine : Plante originaire des montagnes du bassin méditerranéen, aujourd'hui elle est cultivée à travers le monde, partout où elle peut trouver du soleil à profusion.

3.2.1 Description botanique

La lavande est un sous-arbrisseau vivace, caractérisé par ses feuilles linéaires et persistantes portant des épis au bout de ses tiges, sa hauteur peut atteindre 1 mètre, ses fleurs sont bilabiées bleues pourpre à violettes, elles représentent les parties les plus aromatiques de la plante (Morigane).



La Figure 04 : Illustre la morphologie de *Lavandula*

3.2.2 Classification

- Règne : Plantae
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae Genre : *Lavandula*
- Espèce : *Lavandula strikas*

3.2.3 Répartition géographique de l'espèce

Elle pousse à l'état indigène dans certaines îles de l'Atlantique et depuis le bassin méditerranéen jusqu'au nord de l'Afrique tropicale, au Moyen Orient, à l'Arabie et à l'Inde. (Small et Deutsch, 2001)

Certaines se plaisent dans les collines incultes, d'autres préfèrent les bordures de forêts de chênes verts ou les lisières de bois d'oliviers. Leurs stations naturelles s'étendent du bord de mer jusqu'à

des altitudes de 2500 m. Mais toutes aiment les terrains secs, légers, sablonneux et pierreux, bien drainés. (Vialard, 2008)

3.2.4 Propriétés médicinales

La lavande est utilisée contre plusieurs maladies, y compris, les spasmes, les insomnies, les maladies infectieuses, les affections des voies respiratoires (asthme, bronchite, tuberculose...). Pour cela, il est possible de l'utiliser sous forme d'infusion, ou d'utiliser ses huiles essentielles qui sont riches en Linalol et l'acétate de linalyl.

Sa toxicité est quasiment nulle, d'où l'usage sécuritaire de cette huile essentielle devenue incontournable (Iserin, 2001).

3.2.5 Culture de la lavande

3.2.5.1 Conditions de culture

Avant toutes choses, les lavandes se plaisent en plein soleil où elles développent pleinement leurs fragrances caractéristiques. Comme de nombreuses plantes à feuilles velues, voire grises, elles n'aiment guère les sols lourds, argileux et sont capables de prospérer dans la pierraille. Avant chaque culture, le sol est défoncé sur toute la surface, pour assurer la pénétration des pluies et des racines en profondeur. On enfouit la fumure de fond P/K/Ca/Mg suivant l'analyse. (Small et Deutsch, 2001)

3.2.5.2 Multiplication

Elle se pratique par : semis direct au début d'Octobre, par bouturage au printemps ou en fin d'été ou par repiquage des jeunes plants en Avril ou Octobre. (Gilly, 1997)

3.2.5.3 Plantation

Installation lorsque les grosses gelées passées, au printemps ou en été ou bien, dans le Midi, en automne. En sol un peu lourd, optez pour une plantation sur butte. L'arrosage se fait uniquement à la reprise complète. La densité de plantation à l'hectare est variable suivant l'altitude, le pourcentage de la Terre fine du sol et le mode de plantation (en ligne/ au carré). (Small et Deutsch, 2001)

3.2.5.4 Entretien

Pour la lavande il ne faut ni croûte ni herbes ; Binage et sarclage sont nécessaires. (Gilly, 1997)

3.2.5.5 Maladies et ravageurs

La lavande est sujette aux infections de cercopes et de chenilles et sensible aux maladies à champignons telles que la tache foliaire. Les plantes poussent en sol trop humide sont également sujettes à la pourriture de racines. (Small et Deutsch, 2001)

3.2.5.6 Taille

Opérée après la floraison, en fin d'été, elle permet de maintenir les touffes basses, compactes et durables. (Gilly, 1997)

3.2.5.7 La récolte

Le moment de la récolte se situe au stade fleur, de Juillet à Septembre suivant le lieu de la culture et les possibilités d'accueil de la distillerie. La récolte se fait tôt le matin pour qu'on ne soit pas gênés par les abeilles. Autrefois, à la faucille, un homme récoltait 400 Kg de fleurs par jour, aujourd'hui la machine récolte un hectare en deux heures. (Gilly, 1997)

3.2.6 L'huile essentielle de lavande

L'extraction de l'huile essentielle de lavande se fait par distillation à la vapeur d'eau. Ce processus demande patience et douceur et passe par un appareil bien connu sous le nom d'alambic. C'est à la sortie de cet alambic que se trouve un essencier qui permet d'obtenir deux produits en même temps: l'huile essentielle concentrée à la surface, et en dessous l'hydrolat (appelé aussi eau florale de lavande ou eau de lavande), qui correspond à l'eau de distillation. (Festy et Dupin, 2012). L'huile essentielle qui en est extraite par distillation est jaune très claire, presque incolore et il faut 100 Kg de fleurs de lavande pour obtenir $\frac{3}{4}$ de litre d'huile essentielle.

3.2.7 Caractères organoleptiques

Liquide limpide, jaune pâle, d'une odeur suave et herbacée parfois un peu âcre. (Festy et Dupin, 2012)

3.2.8 Usage de la lavande

3.2.8.1 Usage cosmétique

En cosmétique, elle était à l'honneur chez les Romains et reprend aujourd'hui du galon, portée par l'engouement retrouvé pour les produits nature. (Festy et Dupin, 2012) L'huile essentielle de Lavande est largement employée dans l'industrie duparfum (savons, eaux de Cologne, lotions pour la peau, vernis, démaquillants...).

En parfumerie, la Lavande fixe et stabilise toutes les essences de fleurs entre elles pour éviter que le parfum ne vire. De plus, la Lavande fine est indispensable pour la tenue des parfums puisqu'elle sert de note de cœur, apparaissant entre deux et quatre heures après la pose duparfum. (Schauenberg et Paris, 2010).

3.2.8.2 Usage thérapeutique

En aromathérapie, c'est une panacée à elle toute seule, tant elle traite les maux les plus courants et les plus variés, même les plus incommodes. (Festy et Dupin, 2012) La lavande tonifie les nerfs, calme et fait dormir ; Elle résout aussi les crampes, combat les syncopes, est vivifiante. Elle dirige dans de bonnes voies le sang qui monte à la tête, elle excite les activités métaboliques. Elle est

précieuse, sous forme d'adjonction aux bains, dans la sciatique, la goutte et le rhumatisme. (Palikan, 2002)

3.2.8.3 Usage culinaire

La lavande aromatique n'est pas uniquement utilisée et cultivée à grande échelle pour la fabrication de parfums et de cosmétique, elle peut aussi servir à aromatiser des sauces, des soupes, des poissons, de la viande hachée et des ragoûts. On lui prête en outre des propriétés antiseptiques, sédatives, antidépressives et antispasmodiques (Kothe, 2007).

En alimentaire, la Lavande fine est la seule consommable : boissons (sirop, liqueur, limonade...), glaces, sucreries, viennoiseries et chewing-gums. Elle agrmente différentes préparations culinaires (miel, yaourts, thés, crème brûlée, confiture...) (RezaFakhari *et al.*, 2005).

On peut faire infuser des fleurs de lavande dans du lait, utilisé ensuite pour la préparation de glace ou de crème à la lavande. Dans certaines régions du Maghreb (Algérie), elle est utilisée dans quelques préparations culinaires, dont le couscous (RezaFakhari *et al.*, 2005).

3.3 Le Figue de Barbarie

3.3.1 Définition de Figue de barbarie (*Opuntia ficus indica*)

Le figue de barbarie est originaire du Mexique, il est bien adapté aux zones arides et semi-arides (Reynolds *et al.*, 2003). Il occupe une partie importante dans l'alimentation humaine et il est également utilisé comme fourrage pour le bétail. C'est une plante intéressante en raison de condition environnementales dans lesquelles elle se développe et sa résistance aux conditions climatiques extrêmes (Hernández-Urbiola *et al.*, 2011).



Figure 05 : *Opuntia ficus-indica*

3.3.2 Appellations du figue de Barbarie

Le Nopal c'est le nom mexicain de la plante, vient du nom Nochtli en nahuatl, langue classique des Aztèques. Opuntia, son appellation savante, vient du latin Opuntius, d'Oponthe (Schweizer, M. 1997).

3.3.3 Distribution géographique d'Opuntia ficus indica :

Elle est cultivée à grande échelle au Maghreb, en Chine et au Mexique. En Afrique du nord, on l'appelle « *tchimbu* », « *tahendit* », et « *taknarit* », « *takermust* » en tamazight ; dans le nord et dans d'autres régions, on la surnomme *hanndia* (l'indienne) ou *kermus en nsara* (la figue des chrétiens), ces deux appellations évoquant l'introduction en Afrique du Nord par les Européens à partir des Indes occidentales. On la trouve en pousse spontanée partout en Afrique du Nord, mais elle y était inconnue avant 1492 date de la découverte des Amériques et ne s'y est propagée à grande échelle qu'à partir du XIX^e siècle. La plante constitue par ailleurs de bonnes haies.

Le fruit est également très populaire dans le pourtour méditerranéen, poussant notamment dans les régions chaudes d'Italie comme la Sicile, la Sardaigne ou encore les Pouilles, consommé localement ou exporté. En Italie, on l'appelle *fico d'india* (littéralement, « figue d'Inde »).

Dans la nature, ce fruit sert d'aliment à de nombreuses espèces animales, rongeurs, oiseaux et insectes (<https://fr.wikipedia.org>)

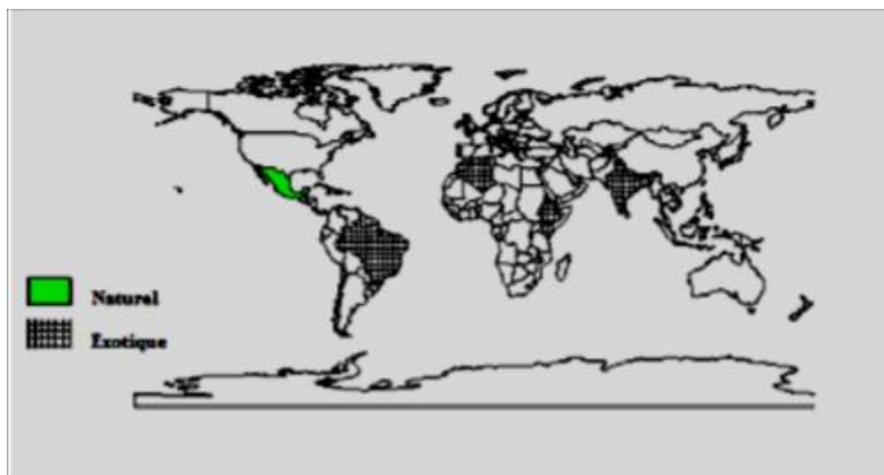


Figure 06 : Distribution géographique du figue de Barbarie (Orwa *et al.*, 2009).

3.3.4 Position systématique

La position systématique du figue de Barbarie est la suivante :

- Règne : Plantae
- Sous règne : Tracheobionta
- Division : Magnoliophyta

- Classe : Magnoliopsida
- Sous classe : Caryophyllidae
- Ordre : Caryophyllales
- Famille : Cactaceae
- Sous-famille : Opuntioideae
- Tribu : Opuntieae
- Genre : Opuntia
- Espèce : *Opuntia ficus indica* (L Miller, 1768).

3.3.5 Importance agro économique du figue de barbarie

L'adaptation du figue de barbarie aux conditions désertiques et semi-désertiques lui permet de constituer une culture à intérêts écologiques et socio-économiques indéniables. Il constitue un bouclier contre la désertification et l'érosion des sols. Cette plante est utilisé comme aliment Ils sont en général consommés frais, très rafraîchissants et nutritifs. Ils sont utilisés dans fabrication des confitures et les boissons. Le cactus est considéré comme une réserve fourragère sur pied; il peut constituer un appoint alimentaire pour les périodes de transition en été et en automne et lors des années de sècheresse (Shoop, M.C.1977)

3.3.6 Utilisation des fruits

Les fruits du figue de barbarie sont plus au moins gros (30 à 150 g), bacciformes ou piriformes (4-9 cm), verdâtres et deviennent jaune à rouge à maturité, à pulpe molle juteuse, sucrée, contenant dans un mucilage de nombreuses petites graines.



Figure 07 : Fruits de Figue de Barbarie

Ils sont, en général, consommés frais, très rafraîchissants et nutritifs. Ils se caractérisent par rapport aux autres fruits par un pH relativement élevé (pH \approx 5.6).

Tableau 05 : Composition de la figue de barbarie *Opuntia ficus-indica* (Anonyme, 1993).

Constituants	Fruit (%)	Pulpe et graine (%)	Pulpe sans graine(%)
Eau	80.0	84.5	83.6
Protéines	1.0	1.3	0.8
Lipides totaux	0.7	1.3	0.3
Glucides disponibles	14.8	8.0	10.8
Fibres brutes	2.3	4.4	3.6

3.3.7 Utilisation des raquettes

3.3.7.1 Production fourragère

Le cactus est considéré comme une réserve fourragère sur pied; il peut constituer un appoint alimentaire pour les périodes de transition en été et en automne et lors des années de sécheresse (Shoop, M.C., 1977).



Figure 08: Raquettes de figue de barbarie

3.3.8 Utilisations médicinales

En Australie et en Afrique du Sud, l'effet hypoglycémique des "Nopalitos" est utilisé dans le traitement des diabètes non dépendants de l'insuline. Le mucilage isolé des raquettes permet de réduire le cholestérol total dans le sang. Les femelles des cochenilles *Dactylopius coccus* costal ou *Dactylopius punctata* cockerell, qui prolifèrent sur des raquettes de l'*Opuntia ficus-indica*, sont utilisées pour la production d'un colorant de couleur rouge le carmin ou l'acide carminique. Ce colorant (E-120) est très utilisé par les industries alimentaires, cosmétiques et médicinales. Récemment au Mexique et en Afrique du Sud, des producteurs ont adopté des systèmes de production intensifs en micro-tunnels pour la culture de ces cochenilles (Pimienta-Barrios., 1993)

Partie

Expérimentale

Objectif

Ce travail a pour objectif de mettre en évidence l'activité biologique de différents échantillons: thym, lavande et l'hydrolat de figue de barbarie, effectuer une comparaison entre eux, ainsi que la possibilité d'une association entre ces derniers.

On a réparti notre travail en trois parties :

- **Partie 1 :** extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation, cette partie a été réalisée au sein du laboratoire d'agronomie de l'ENS Kouba ;

- **Partie 2 :** l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique vis-à-vis des cinq germes pathogènes choisis (3 bactéries et 2 levures), cela a été réalisée au sein du laboratoire de microbiologie de SAIDAL ;

- **Partie 3 :** l'évaluation de l'activité antioxydante de mes échantillons, au laboratoire de biochimie médicale de l'ENSV.

Matériels

Et

Méthodes

1 Matériels et méthodes

1.1 Matériel végétal

Les plantes sélectionnées pour cette étude ont été achetées au marché local d'Alger **figure 09**, elles ont été bien nettoyées. Les échantillons ont été récupérés et conservés dans des sacs propres jusqu'au moment d'extraction.

Ajouté à cela les huiles essentielles importées de France afin de réaliser une comparaison entre les effets :

- L'huile essentielle de la Lavande vrai:

Son nom latin est *Lavandula angustifolia*, provient principalement de France de la marque puressentielle, elle est dotée d'une odeur caractéristique, fraîche, florale, de couleur jaune claire et d'un aspect liquide et limpide **figure 10**.

- Huile essentielle de thym provenue de France :

C'est une l'huile de la marque Panarom doté d'une couleur jaune foncé à orangé, aspect liquide, odeur agreste, caractéristique, forte **figure 10**.



Figure 09 : les plantes de territoire algériens utilisées (a : la plante de Thym, b : les graines de Figue de barbarie)

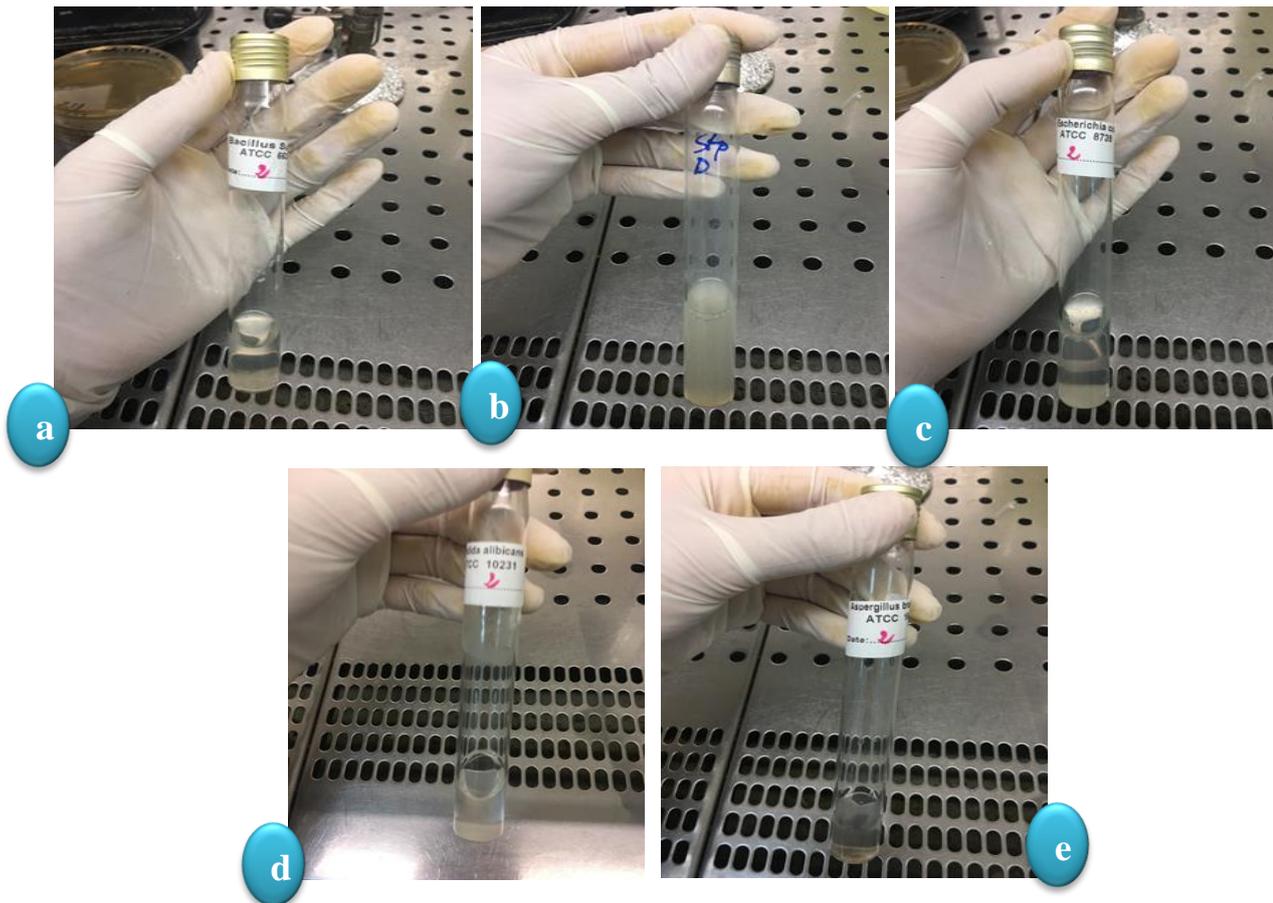


Figure 10 : Les huiles essentielles provenue de France (a : l'HE de Thym, b : l'HE de la Lavande).

1.2 Matériel microbiologique:

1.2.1 Souches microbiennes :

Les souches bactériennes utilisées dans ce travail ont été fournies par le Laboratoire de microbiologie de SAIDAL provenant d'une collection de culture type américaine (ATCC) voir **Annexe 06**. Ces souches ont été utilisées afin d'évaluer *in vitro* le potentiel antimicrobien et antifongique de nos huiles essentielles. Les souches sont représentées dans la **figure 11**.



a : Bacillus subtilis, b : Staphylococcus Aureus, c :E.Coli, d :Candida Albicans, e : Aspergilus brasiliensis

Figure 11 : Les différentes souches microbiennes

Tableau 06 : Les différentes souches microbiennes

Espèces	Nature du micro-organisme	Références	Origine
Bacillus Subtilis (B.S)	Bactérie	ATCC 6633	Institut Pasteur (Paris)
Staphylococcus Aureus	Bactérie	ATCC 6538	Institut Pasteur (Paris)
Escherichia Coli	Bactérie	ATCC 8739	Institut Pasteur (Paris)
Candida Albicans	Champignon	ATCC 10231	Institut Pasteur (Paris)
Aspergillus Brasiliensis	Champignon	ATCC 16404	Institut Pasteur (Paris)

1.2.2 Milieu de culture :

- Gélose Mueller Hinton : c'est un milieu favorable pour la croissance des bactéries
- Gélose saboraud à 4% : connu comme étant favorable au développement des levures **figure 12.**



Figure 12: Gélose Muller Hinton et Gélose Sabouraud

1.3 Matériels non biologiques :

Les Matériels non biologiques utilisés sont présentés dans le **tableau 07** ci-dessous :

Tests	Matériel et appareillages	
	Matériel	Appareillages
Extraction de l'HE	Eprouvette de 1000 ml, entonnoir	Dispositifs de type clevenger, Balance analytique
Activité Antibactérien et antifongique	Boite de pétri, Ecouvillons, disque non imbibé de 6mm, les pinces, Pied à coulisse	Agitateur, incubateur
Activité antioxydante	Tube à essai, fiole à jaugee (50 ml, 100ml), Bêchers micropipettes (25µ, 50µ, 100µ), portoirs, Entonnoirs, spatule, cuves	Spectrophotomètre, balance analytique

2 Méthodes

2.1 Méthode d'extraction :

2.1.1 Principe :

Les extractions des huiles essentielles ont été réalisées par hydrodistillation au niveau du laboratoire de l'ENS (Kouba), en utilisant un appareil de type Clevenger (**Figure 14**), les extractions durent environ 2h à partir de début d'ébullition en suivant les étapes représentées dans la **figure 13**. 100g de matière végétale a été mise dans un ballon à fond rond, additionnée de 1 litre d'eau distillée, puis chauffée, l'huile essentielle a été entraînée par la vapeur d'eau, les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant, le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'huile essentielle mince à la surface. Après repos du liquide, l'huile se sépare de l'eau par différence de densité l'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière.

L'huile essentielle obtenue a été récupérée dans des flacons en verre opaques bien scellés, puis gardée au réfrigérateur à 4°C et à l'obscurité.

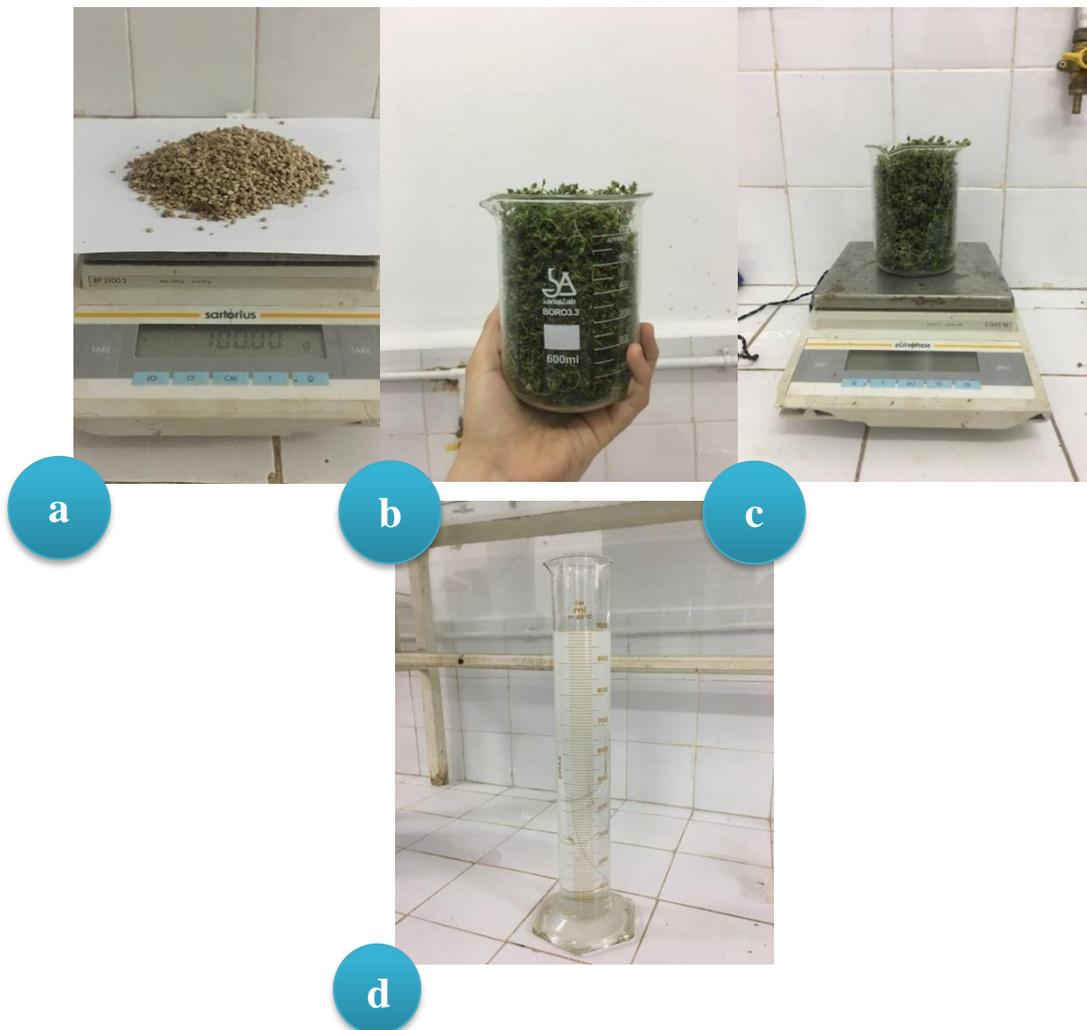


Figure 13: Les étapes d'hydrosittation

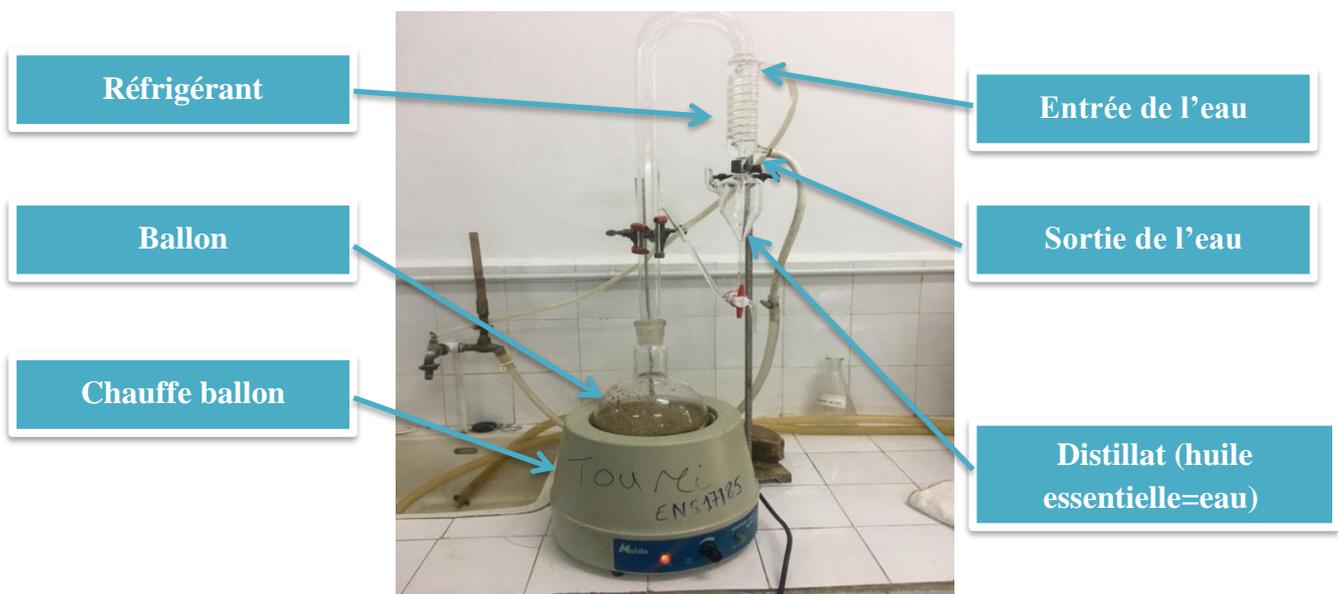


Figure 14: Dispositif d'hydrodistillation

2.1.2 Calcul de rendement d'extraction :

Le rendement en huile essentielle (R) est le rapport entre le poids de l'huile extraite (P') Et le poids de la plante traitée (P) (Benattia, 2017). Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R\%=(P'/P)*100$$

- R% : Rendement de l'huile en (%)
- P' : poids de l'huile en (g)
- P : Poids de la plante en(g)

2.2 Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique:

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, c'est une technique microbiologique, très récente, qui permet d'étudier comme un antibiogramme la sensibilité des germes.

2.2.1 Principe :

La méthode des aromatoigrammes (figure 15) est la technique choisie pour évaluer l'activité antimicrobienne des HE étudiées, repose sur le pouvoir migratoire des huiles essentielles à l'intérieur d'une boîte de Pétri, dans un milieu nutritif solide.

Elle consiste à déposer des disques de papier buvard (wattman) stérile de 6mm imbibés d'une concentration connue de l'huile essentielle sur une géloseensemencée préalablement avec le microorganisme testé.

L'huile essentielle diffuse à partir du centre du disque vers la périphérie, après la durée d'incubation (24h bactéries, 48h levures), il se produit un halo (zone) d'inhibition circulaire ; la mesure de ce diamètre se fait à l'aide d'un pied à coulisse. **Figure ci-dessous :**

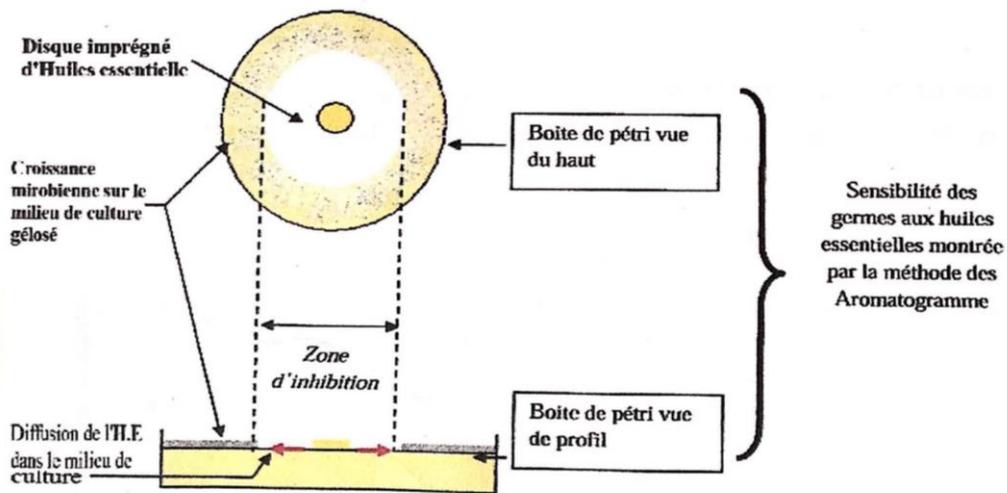


Figure 15: Illustration de la méthode d'aromatogramme

2.2.2 Préparation de l'inoculum :

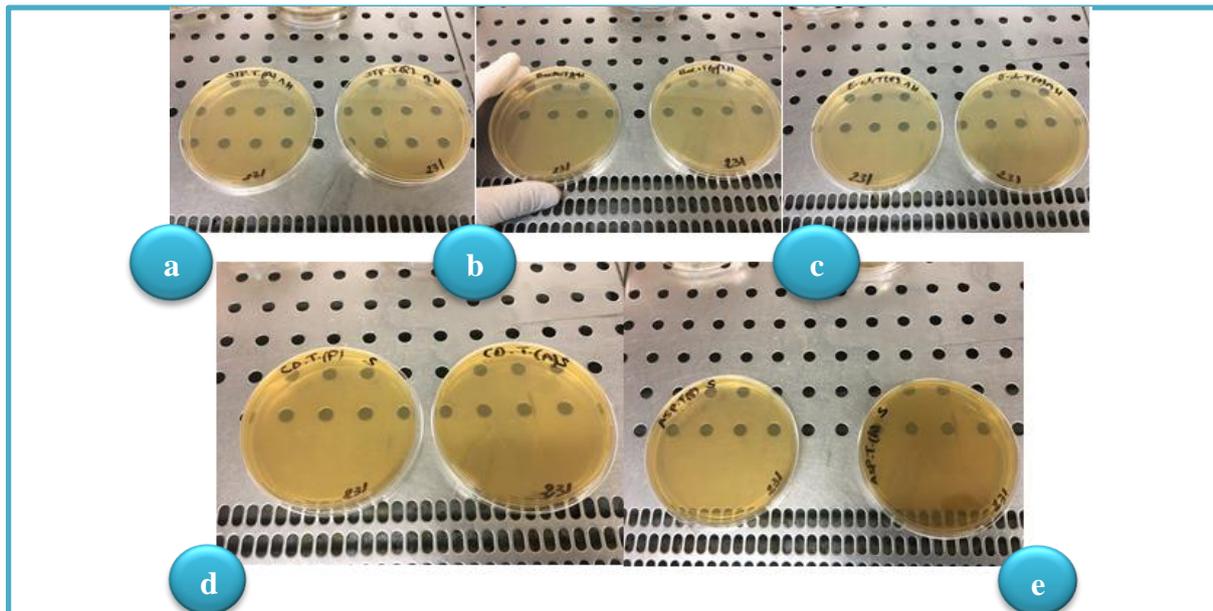
La méthode consiste à préparer une suspension en prélèvement 2 à 3 colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes et fongiques à tester .une culture de 18h à 24h, les introduire dans des tubes à essais de 5ml d'eau physiologique (Nacl à 0,9 %) stérile.la suspension est bien homogénéisée (**figure16**), dont l'opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Ferland ou à une DO de 0,08 à 0,10 pour les bactéries et de 1 à 2 pour les levures et moisissures à 625 nm qui correspondant à une concentration de 10^7 - 10^8 UFE/ml (**standardisation de l'antibiogramme selon l'OMS,1999**).



Figure 16 : Solutions bactériennes et fongiques

2.2.3 Technique (Kinby-Baner) recommandée par l’OMS

L’ensemencement est réalisé à l’aide d’un écouvillon stérile imbibé de la suspension bactérienne ou fongique puis l’essorer à la surface de la gélose probablement solidifiée dans des boîtes de pétris stériles. Répéter l’opération deux (02) fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. Finir l’ensemencement en passant l’écouvillon sur la périphérie de la gélose **figure 17**. Laisser imprégner les boîtes pendant 5 minutes à température ambiante. Les couvercles des boîtes doivent être fermés.



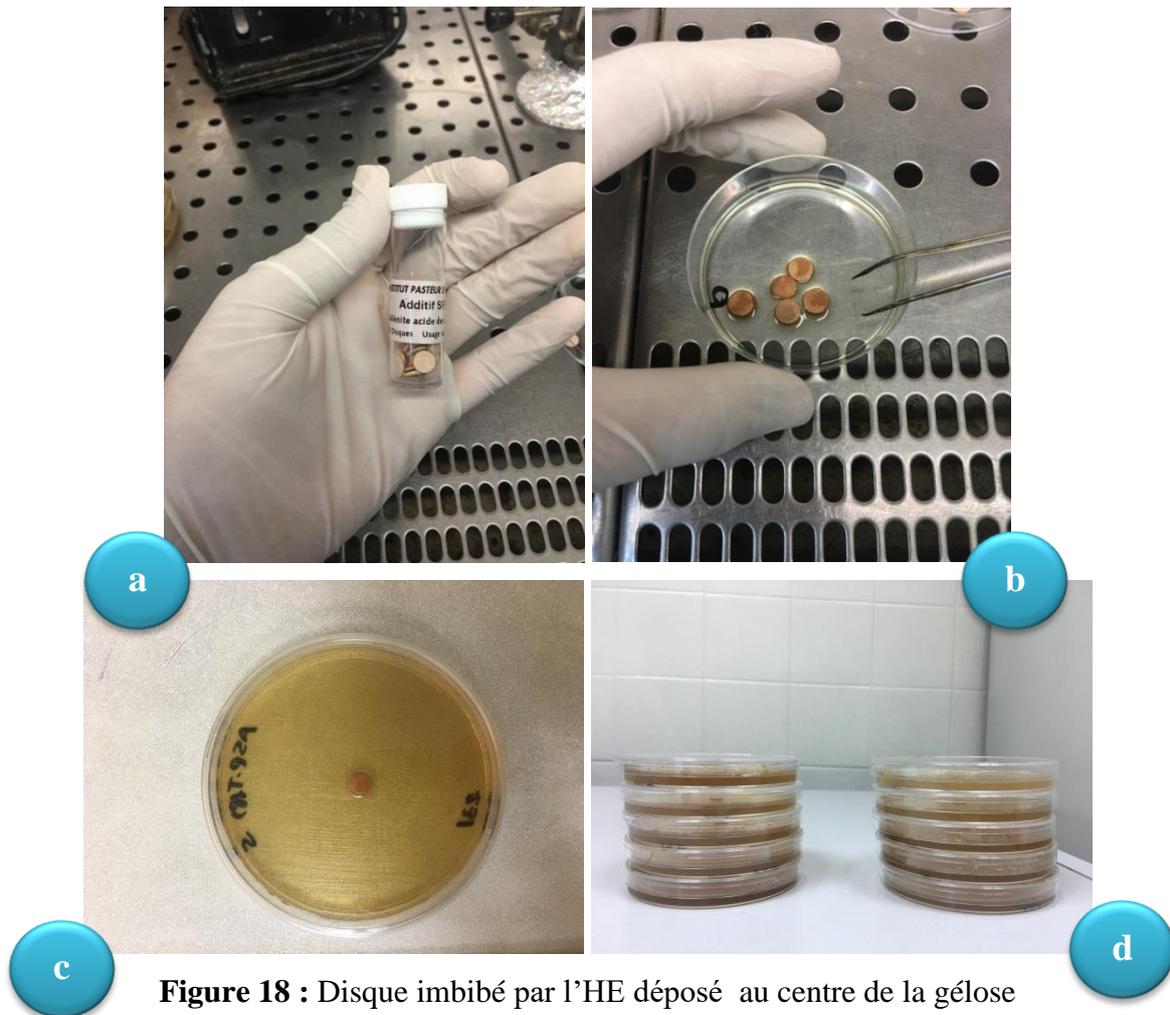
a :Staphylococcus Aureus b :Bacillus subtilis c :E.Coli d :Candida Albicans e :Aspergillus brasiliensis

Figure 17 : Boîtes de pétri ensemencées par des bactéries (a,b,c) et avec des levures (d,e)

2.2.4 Dépôt des disques imprégnés :

- Prélever aseptiquement à l’aide d’une pince stérile un disque buvard (wattman) imprégné dans l’huile essentielle (**figure 18**), ensuite le déposer délicatement à la surface des boîtes contenant la gélose inoculée.
- Appuyer doucement sur le disque imbibé pour assurer un contact uniforme avec le milieu (**figure 18**).
- Laisser les boîtes pendant quelques instants (15mn) à la surface de la hotte (à température ambiante) pour permettre la diffusion de l’échantillon étudié.

On a procédé aux mêmes étapes pour les différentes substances étudiées puis incubation pendant 24h pour les bactéries et 48h pour les levures .



2.3 Etude d'Association d'huiles essentielles

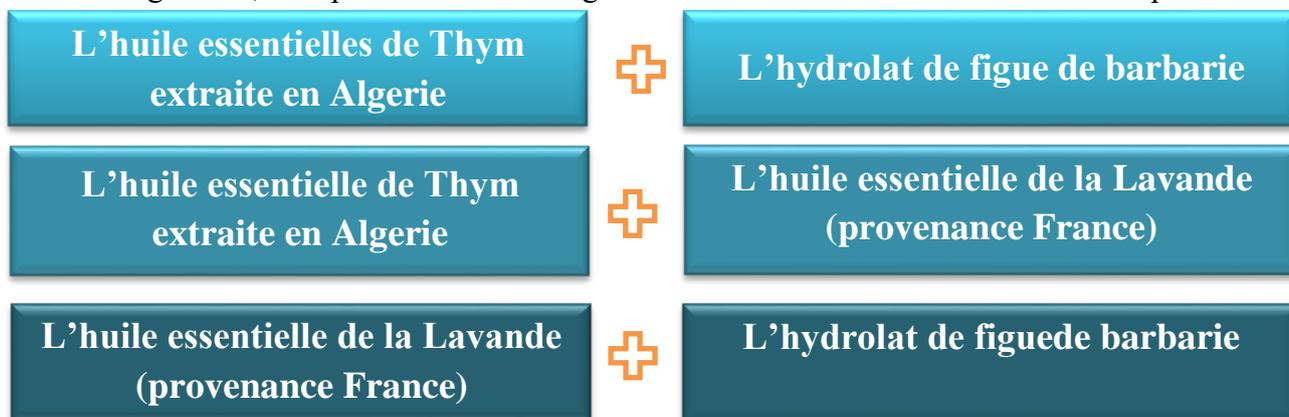
Les effets antimicrobiens des associations d'huiles essentielles, comme pour les associations d'antibiotiques, sont définies selon quatre interactions possibles **figure 19**:

- **Indifférence:** l'activité d'une huile essentielle n'est pas affectée par l'autre.
- **Addition:** l'effet de l'association est égal à la somme des effets de chaque huile essentielle étudiée isolément, à la même concentration que dans l'association.
- **Synergie:** l'effet est significativement supérieur à la somme de chaque huile essentielle étudiée isolément, à la même concentration.
- **Antagonisme:** l'association diminue l'activité de l'une ou l'autre des huiles essentielles.



Figure 19 : Les différents types d'associations

Cette étude a pour but d'évaluer les associations possibles entre les substances étudiées par l'aromatogramme, on a procédé à un mélange des différentes substances avec la même quantité :



Après l'obtention de mélanges on passe directement à l'aromatogramme.

2.4 Evaluation de l'Activité antioxydante :

2.4.1 Principe

L'activité antioxydante in vitro a été évaluée par le test de piégeage du radical DPPH, qui a été initialement développée par **Blois (1958)**. La réduction du radical libre DPPH (2,2-di phényl-1 - picrylhydrazyle) par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits.

Le DPPH est initialement violé, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques (Boubekri, 2014). Dans ce test, le substrat est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule antioxydante, se transforme en DPPH-11 (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) (figure 20).

Les réactions ont lieu à température ambiante et en milieu méthanolique, qui permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants.

Ce test est très utilisé, car il est rapide, facile et non couteux (Boubekri, 2014).

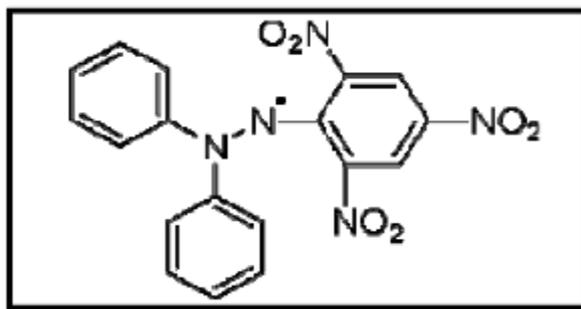


Figure 20 : Structure chimique du radical libre DPPH

Le pouvoir antioxydant des échantillons testés a été estimé par comparaison avec des antioxydants (BHT, Beta carotène, Vit C) figure 21.



Figure 21: Les antioxydants utilisés dans le test de DPPH

2.4.2 Protocole :

Préparation des solutions mères des différentes substances étudiées (HE de Thym, HE de la lavande, de l'HD de Figue de barbarie, mélange d'HE de Thym et l'HD de Figue de barbarie, mélange de l'HE de Thym et la lavande, mélange d'HE de la Lavande et l'HD de Figue de barbarie)

- Préparation de solution mère des échantillons testés :

0,2g = 200mg → 100ml de méthanol

- Préparation de solution de Hydroxytoluène butylé (BHT) :

Il s'agit du 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol ou 2,6-bis (1,1-diméthyléthyl)-4-méthylphénol. Puissant antioxydant synthétique.

20mg → 100ml de méthanol

- Préparation de la solution BC :

C'est un Précurseur de la vitamine A, le bêta-carotène possède des propriétés antioxydantes. En effet, il peut neutraliser des radicaux libres et des formes très réactives de l'oxygène, impliqués dans le vieillissement des cellules.

20mg → 100ml de méthanol

- Préparation de solution de Vitamine C :

La vitamine C ou acide ascorbique est une molécule antioxydante, comme la vitamine E, puissant agent réducteur, elle protège les cellules contre les radicaux libres.

20mg → 100ml de méthanol

- Préparation de la solution méthanolique de DPPH :

0,008g → 200ml de méthanol

- Préparation des substances à tester, les différentes dilutions effectuées pour la réalisation de ce test sont représentées dans le **tableau 08**.

Tableau 08 : les différentes dilutions effectuées pour la réalisation de test de DPPH

Tube	Volume prélevé de la solution mère d'HE	Volume ajouté de Méthanol	Concentration finale de la solution en HE (mg/ml)
Tube 01	50	450	0.8
Tube 02	100	400	0,8
Tube 03	150	350	1.2
Tube 04	200	300	1,6
Tube 05	250	250	2
Tube 06	300	200	2,4
Tube 07	350	150	2,8
Tube 08	400	100	3,2
Tube 09	450	50	3,6
Tube 10	475	25	3,8

- Dans un tube sec on met 1ml de chaque extrait et on rajoute 1ml de DPPH
- Pour chaque concentration le test est répété 2 fois.
- Les tubes sont mis à l'obscurité et soumis à une température ambiante pendant 30 min
- La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm par spectrophotomètre, en utilisant des cuves en quartz de 2 ml
- Le contrôle positif est représenté par une solution antioxydante standard Vit C, BHT et BC.
- Pour chaque dilution, on prépare un blanc :1ml méthanol (pour le calibrage de spectrophotomètre)
- Control : 1ml méthanol/1ml de DPPH

Les différentes étapes sont représentées dans la **figure 22**.

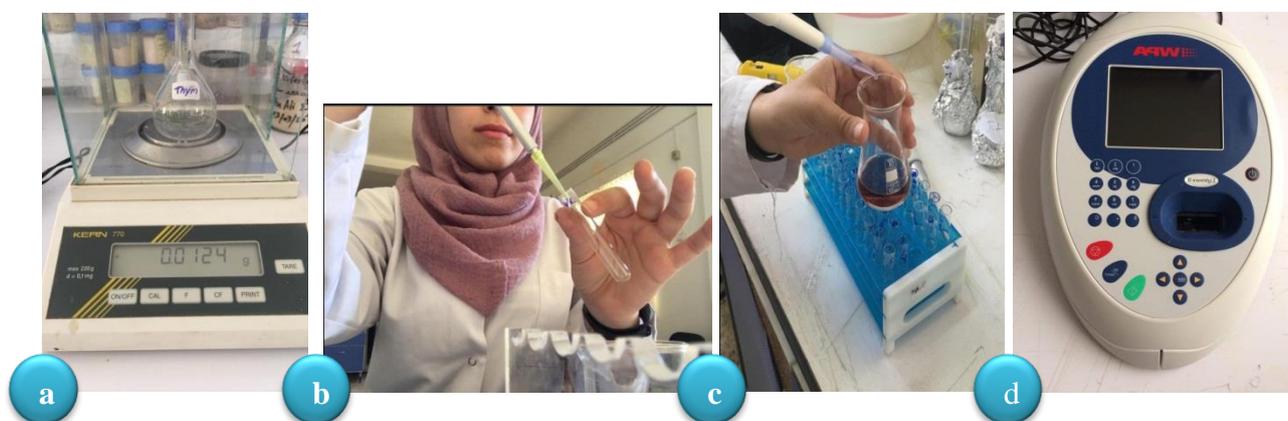


Figure 22 : Les Différentes étapes du test de DPPH.

2.4.3 Détermination du pouvoir antioxydant

Pour obtenir la concentration efficace qui réduit la concentration initiale de DPPH à 50% (EC50), les résultats sont exprimés en activité antioxydante, qui exprime la capacité de piégeage du radical libre et elle est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le méthanol.

L'activité antioxydante « AA% » est donnée par la formule suivante :

$$\%AA = 100 - [(Abs \text{ test} / Abs \text{ control}) * 100]$$

•Ou encore :

$$\% \text{ Inhibition} = (Abs \text{ control} - Abs \text{ test}) / Abs \text{ control} * 100$$

Soit :

- AA Activité antioxydante.
- Abs_{control} : Absorbance à la longueur d'onde de 517 nm de la solution méthanol + DPPH.
- Abs_{test} : Absorbance à 517 nm de l'échantillon.

Résultats
et
discussions

1 Résultats et discussions

1.1 Rendement d'extraction en HE

L'huile essentielle de Thym obtenue par hydrodistillation est un liquide visqueux, limpide, doté d'une coloration jaunâtre et odeur très forte, son rendement est exprimé par pourcentage.

Tableau 09 : Rendement d'huile essentielle de Thym

Plante	Poids de la plante(g)	Poids de l'HE en (g)	Quantité d'eau distillée	Durée d'extraction	Rendement%
Thym	100	3.1	1	2h	$(3,1*100)/100=3,1\%$

Lors de l'extraction de l'HE, nous avons obtenus un rendement relativement important si on le compare avec celui obtenu par (**Bousbia, 2004**) est aussi plus élevée par rapport au rendement obtenu par (**Nadjali, 2017**) du Thym récolté de Béni ourthilane, Sétif, par contre il est faible comparativement à celui obtenu par (**Chikhoun, 2004**). Le rendement obtenu par ces derniers sont respectivement 1,42 ; 2,9 et 4,7 %.

Cet écart est également attribué à plusieurs facteurs dont celui de la différence de provenance du matériel végétal, aux techniques d'extraction, génotype de la plante, son origine géographique, culture et période de récolte.

Pour l'HD de Figue de Barbarie Lors du processus d'obtention d'HE de Figue de barbarie par hydrodistillation, on n'a pas obtenue une HE. Donc on a utilisé son hydrolat qui est un sous-produit se forme à partir de l'eau ayant servi à l'extraction des molécules odorantes en vue de l'évaluation potentiel biologique.

1.2 Résultats de l'évaluation de l'activité anti microbienne:

L'activité antimicrobienne des extraits étudiés a été testé sur Cinq souches microbiennes (bactéries et champignons), cette activité a été réalisée par la méthode d'aromatogramme par diffusion, lecture des aromatogrammes est obtenue par la mesure des diamètres (D) des halos d'inhibitions au tour des disques en mm.

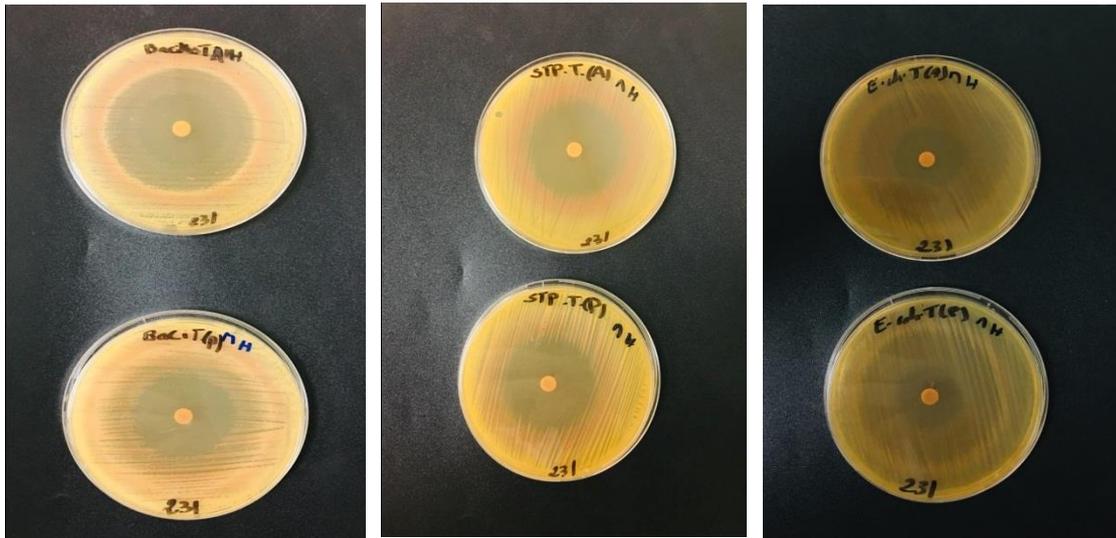
L'estimation de l'activité antimicrobienne et antifongique est déterminée par classement des diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne et fongique donnée par **Mutai et al, (2009)** ; ils ont classé les zones d'inhibitions de la croissance en 5 classes (**tableau 10**).

Tableau 10 : les zones d'inhibitions des croissances microbiennes

Activité	Très fortement inhibitrice	Fortement inhibitrice	Modérément inhibitrice	Légèrement Inhibitrice	non inhibitrice
Diamètre	$\geq 30\text{mm}$	$21\text{mm} \leq D \leq 29\text{mm}$	$16\text{mm} \leq D \leq 20\text{m}$ m	$11\text{mm} \leq D \leq 16\text{mm}$	$\leq 10\text{ mm}$

1.2.1 Activité antimicrobienne de Thym

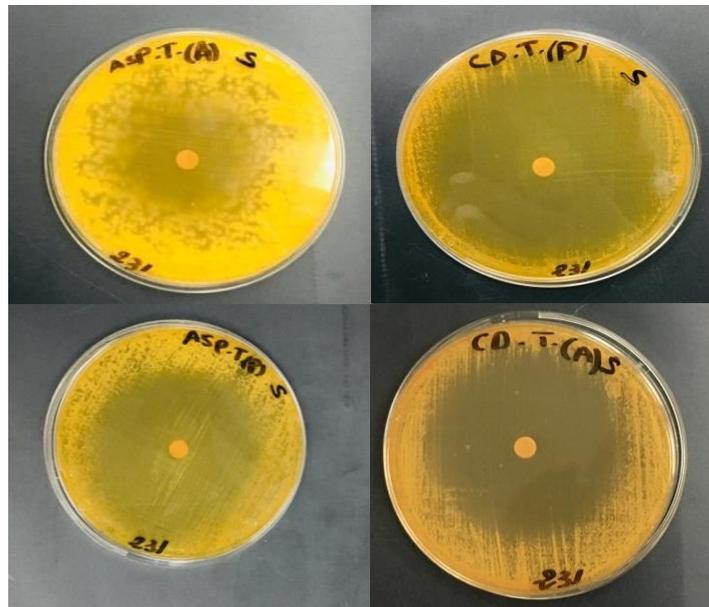
L'évaluation du pouvoir antibiotique d'HE par l'estimation du diamètre de la zone d'inhibition a montré que l'huile essentielle de Thym présente une activité antimicrobienne qui varie en fonction de la sensibilité des souches utilisées **figure 23**. L'action inhibitrice a été constatée sur les 05 souches. Néanmoins, cette action est effective mais à des degrés différents, le (**Tableau 11**) regroupe les résultats des diamètres (en mm) des zones d'inhibition, obtenus par le test de d'Aromatogramme.



a : Bacillus Subtilis

b : Staphylococcus Aureus

c : E.Coli



d : Aspergillus Bransiliensis

e : Candida Albicans

Figure 23: Photos montrant l'effet antimicrobien de l'HE de Thym de territoire algérien et celui provenant de France par la méthode d'aromatogramme.

Tableau 11: Diamètres (en mm) des zones d'inhibition de l'HE Thym de l'Algérie et le Thym provenue de France, obtenus par le test de d'Aromatogramme.

Souche	Diamètre de la zone d'inhibition (mm) T .A	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)T .F
Bacillus Subtilis (B.S)	27	34
Staphylococcus Aureus	43	39
Escherichia Coli	24	22
Candida Albicans	55	70
Aspergillus Brasiliensis	31	62

A l'aide des résultats mentionnés dans le tableau 11, on a pu tracer l'histogramme suivant :

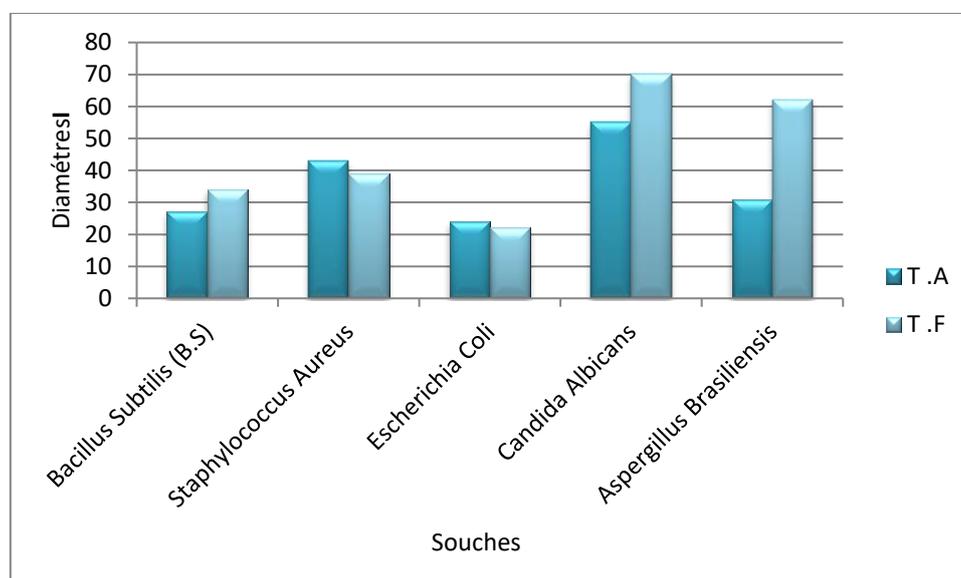


Figure 24 : Diamètre des zones d'inhibition d'HE de Thym provenance Algérie et France

L'analyse globale de résultats consignés dans le tableau 11 et l'histogramme ci-dessus révèlent que HE de Thym possède une action inhibitrice de la croissance à divers degrés vis à vis de tous les germes testés.

En effet Selon l'échelle de **Meena et Sethi (1994)** et **Ela et al, (1996)**, HE de Thym provenance d'Algérie est considérée comme fortement inhibitrice sur Bacillus Subtilis (27mm), Escherichia Coli (24mm) et très fortement inhibitrice sur Staphylococcus Aureus(43), en revanche si on la compare avec les résultats obtenus de HE de Thym provenue de France, on remarque qu'il a montré une action très fortement inhibitrice sur Bacillus Subtilis (34mm) et Staphylococcus Aureus (39mm) mais ce diamètre est inferieur par rapport celui produit par l'HE d'Algérie. Pour Escherichia Coli les deux ont montré une action identique.

On note que l'HE d'Algérie est celle provenue de France ont une action presque identique vis-à-vis les 3 bactéries avec une petite différence dans les diamètres des zones d'inhibition, et l'HE d'Algérie est plus active sur Staphylococcus.

Toutefois, l'activité fongique de HE provenue d'Algérie et de France est importante, elles sont très fortement inhibitrice et on constate que la zone d'inhibition de Candida Albicans, Aspergillus Brasiliensis vis-à-vis HE de Thym provenant de France est plus remarquable que celle de l'Algérie avec respectivement (70 mm et 62mm)

Ainsi, on peut classer les microorganismes en fonction de leur degré de sensibilité à l'HE de Thym (Algérie) par le classement décroissant suivant :

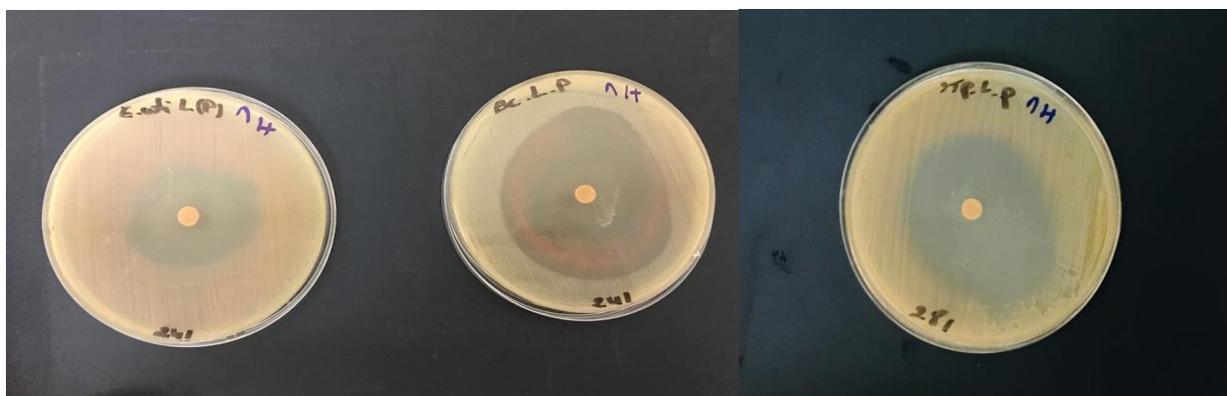
Candida Albicans > Staphylococcus Aureus > Aspergillus Brasiliensis > Bacillus Subtilis > Escherichia Coli

Et pour le Thym provenant de France :

Candida Albicans > Aspergillus Brasiliensis > Staphylococcus Aureus > Bacillus Subtilis > Escherichia Coli

1.2.2 Activité antimicrobienne de la lavande

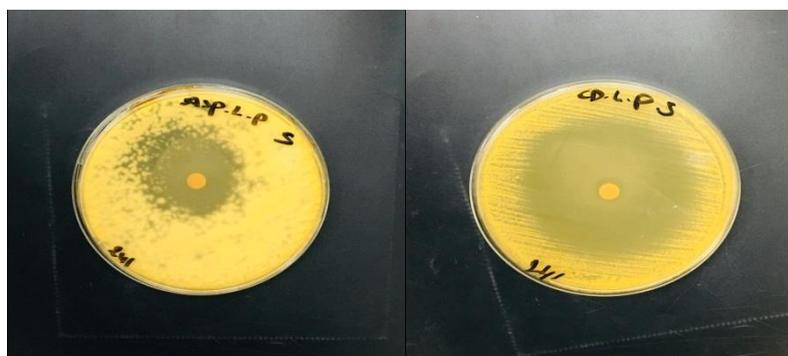
L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE essentielle de la lavande montre que les 05 souches sont sensibles mais à des degrés différents **figure 25**.



a : E.Coli

b :Bacillus Subtilis

c :Staphylococcus Aureus



d : Aspergillus Brasiliensis

e : Candida Albicans

Figure 25: Photos montrant l'effet antimicrobien de l'HE de la Lavande.

Le **tableau 12** regroupe les résultats des diamètres (en mm) des zones d'inhibition, obtenus par le test de d'Aromatogramme.

Souche	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
Bacillus Subtilis (B.S)	40
Staphylococcus Aureus	45
Escherichia Coli	38
Candida Albicans	59
Aspergillus Brasiliensis	32

On constate que les zones d'inhibition de Lavande sont importantes, ce qui montre leur pouvoir antimicrobien, l'HE de la lavande est très fortement inhibitrice sur les 05 souches (Bacillus Subtilis (B.S), Staphylococcus Aureus, Escherichia Coli, Candida Albicans, Aspergillus Brasiliensis), dont les diamètres d'inhibitions sont 40, 45, 38,59 et 32 respectivement.

Les résultats sont représentés dans la **figure 25** suivante:

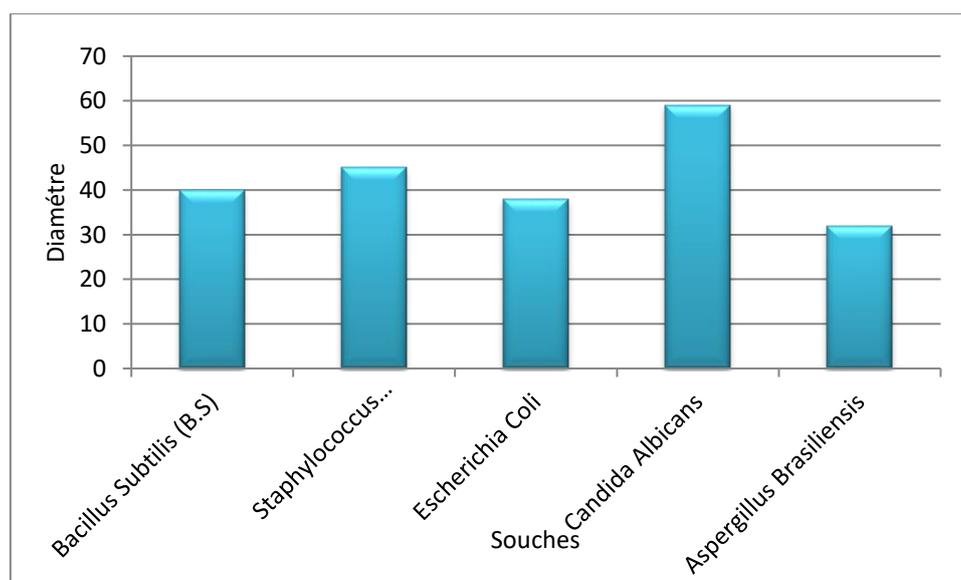
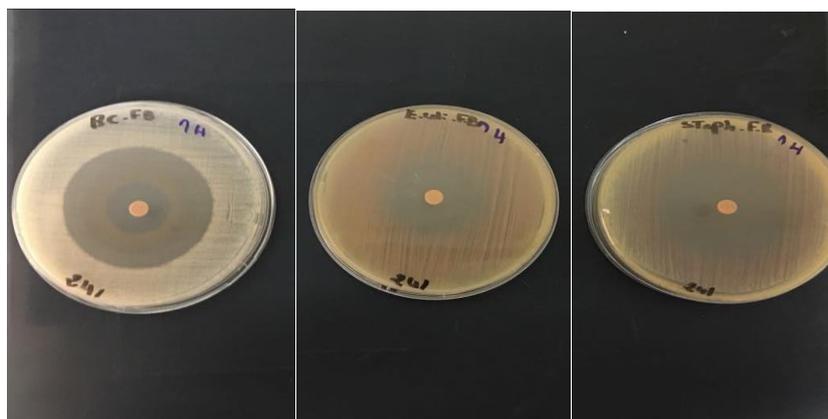


Figure 26 : Diamètre des zones d'inhibition de l'HE de Lavande (mm)

1.2.3 Activité antimicrobienne de l'hydrolat de Figue de Barbarie :

L'hydrolat de Figue de Barbarie présente une activité antimicrobienne sur les 5 souches (**figure 27**), et les diamètres d'inhibition sont représentés dans le **tableau 13**.



a : Bacillus Subtilis

b : E.Coli

c : Staphylococcus Aureus



d : Aspergillus Brasiliensis



e : Candida Albicans

Figure 27: Photos montrant l'effet antimicrobien de l'HD de Figue de barbarie.

Tableau 13: regroupe les résultats des diamètres (en mm) des zones d'inhibition, obtenus par le test de d'Aromatogramme.

Souche	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
Bacillus Subtilis (B.S)	20
Staphylococcus Aureus	29
Escherichia Coli	39
Candida Albicans	53
Aspergillus Brasiliensis	23

A l'aide des résultats mentionnés dans le tableau 13, on a pu tracer l'histogramme suivant :

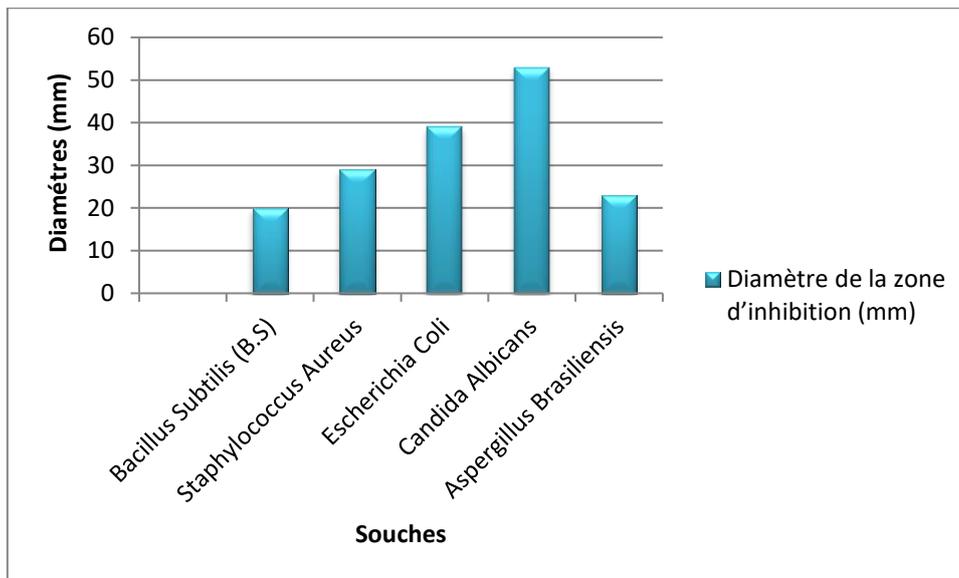
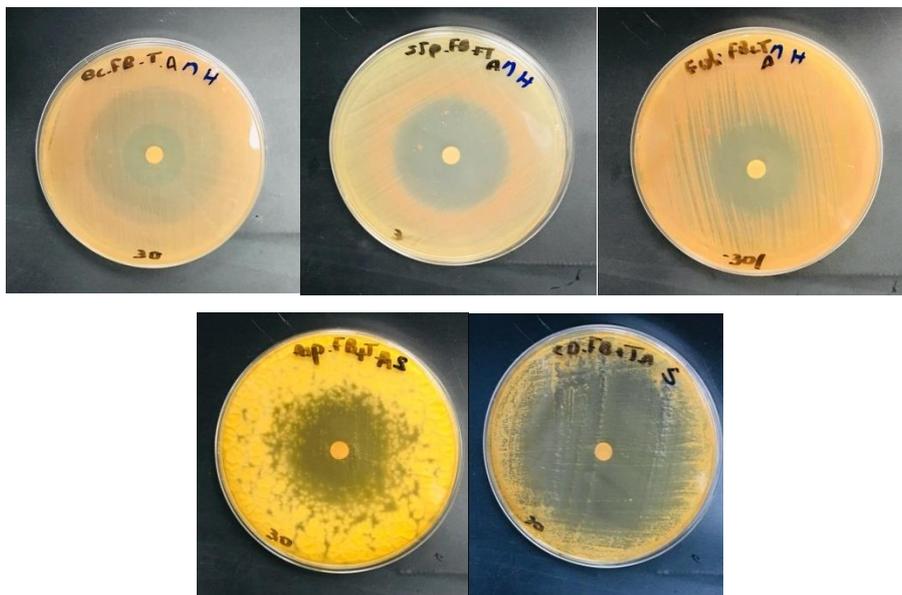


Figure 28 : Diamètres des zones d'inhibition de L'HD de Figue de barbarie

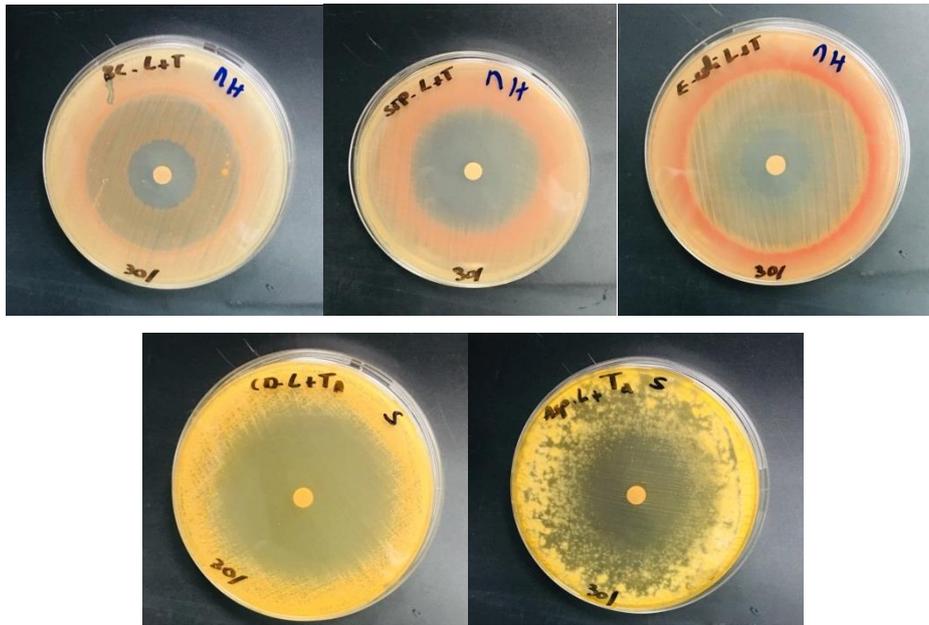
D'après ces résultats on constate que l'hydrolat de Figue de Barbarie est très fortement inhibitrice vis-à-vis du Candidas Albicans avec un diamètre de 53 mm, par contre elle est modérément inhibitrice sur Bacillus Subtilis 20 mm, et fortement inhibitrice sur Staphylococcus Aureus, Echerichia Coli et Aspergillus Brasiliensis. d'une façon générale on peut noter que son activité est moins importante par rapport aux huiles essentielles étudiés ci-dessus.

1.2.4 Résultats d'association des substances naturelles par l'aromatogramme:

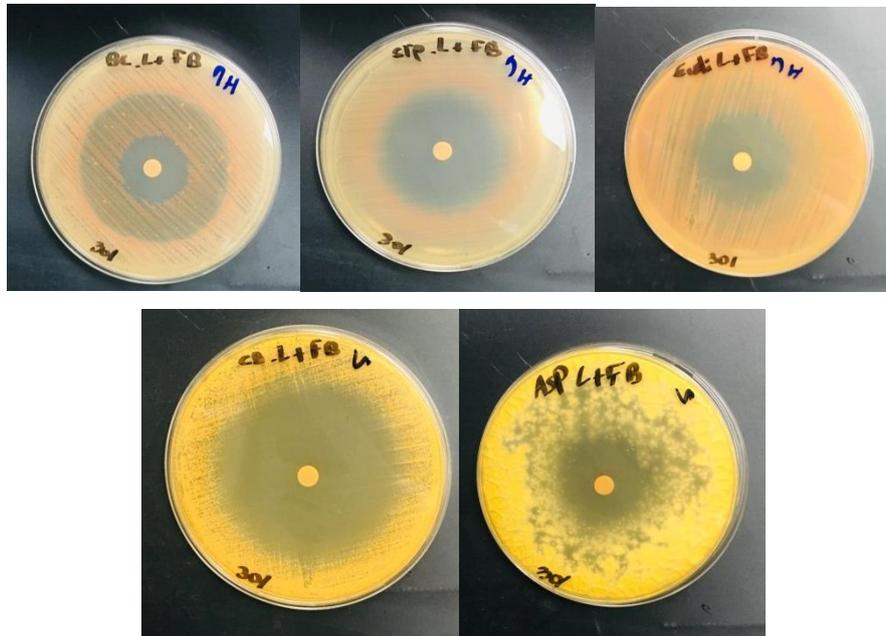
Après avoir évalué la bioactivité des HEs et de l'HD seuls, des mélanges entre eux seront réalisés afin de mettre en évidence des interactions moléculaires bénéfiques en termes d'activité biologique, toutes les mélanges qu'on a réalisées présentent une activité microbiennes contre les germes testées figure 29.



a : zones d'ihibition de l'HD de Figue de barbarie et l'HE de Thym



b : Zones d'inhibition de l'HE de Thym et l'HE de la Lavande.



c : Zones d'inhibitions de l'HE de la Lavande et l'HD de Figue de barbarie.

Figure 29: Photos montrant l'effet antimicrobien de différentes associations.

Le tableau 14 : présente les résultats du diamètre d'inhibition qu'on a obtenu.

souche	HE de Thym	HE de Lavande	Hydrolat de F.B	HE(T) +H FB	HE(T) +HE(L)	HE(L)+H FB
Bacillus Subtilis (B.S)	27	40	20	26	22	35
Staphylococcus Aureus	43	45	29	22	23	24
Escherichia Coli	24	38	39	41	46	54
Candida Albicans	55	59	53	64	56	60
Aspergillus Brasiliensis	31	32	23	36	36	25

D'après les résultats de tableau 14 on a pu tracer l'histogramme suivant :

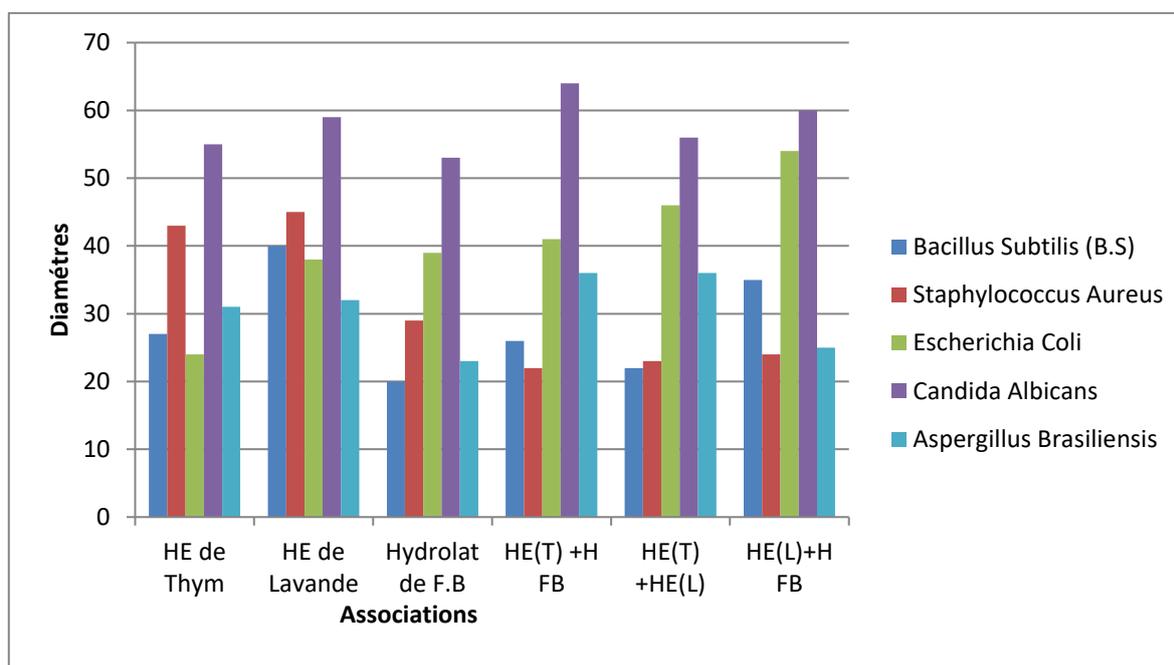


Figure 30: Effet d'association des substances utilisées

On peut remarquer que la plus grande valeur d'inhibition sur Candida Albicans a été enregistrés lors d'association d'HE de Thym et l'HD de Figue de Barbarie avec un diamètre d'inhibition de 64mm supérieur à celui de HE de TH de Thym et de l'hydrolat utilisé séparément qui est de 55mm et 53mm respectivement, donc l'HE de Thym donne une activité synergique lorsque il est associé à l'hydrolat de Figuier de Barbarie, par contre leur combinaison donne souvent un effet antagoniste

vis-à-vis de *Staphylococcus Aureus* dans ce cas l'HD de Figue de barbarie diminue l'activité de HE de Thym.

Ainsi que cette association est synergique sur *Aspergillus Brasiliensis* et elle est identique à l'activité d'HE de Thym et de Lavande avec un diamètre de 36mm ; L'effet antagoniste est obtenu en association de l'HE de Lavande avec l'HD de Figue de Barbarie ce qui exprime que cette dernière diminue l'activité de la Lavande.

Pour *Escherichia Coli* la plus grande valeur a été signalée lors d'association de l'HE de Lavande avec l'HD de Figue de barbarie (54mm) on note une activité synergique et les deux autres associations ont montré également des effets synergique sur *Escherichia coli*.

D'autre part, la combinaison de l'hydrolat de Figue de Barbarie et l'huile essentielle de Lavande donne un effet antagoniste sur le *Bacillus subtilis* avec un diamètre d'inhibition de 35 mm, en revanche l'HE de Lavande testé séparément est plus efficace sur le *Bacillus subtilis* ceci est traduit par un diamètre d'inhibition de 40mm donc l'hydrolat de Figue de Barbarie diminue l'activité de HE de Lavande sur *Bacillus subtilis*.

L'association de l'HE de Thym avec l'HE de Lavande à montrer que deux effets synergique un sur *Escherichia Coli* l'autre sur *Aspergillus Brasiliensis*, pour les autres germe il vaut mieux d'utiliser ces deux huiles séparément (effet antagoniste).

Ces résultats montrent que les cinq germes utilisés sont sensibles avec des degrés différents à toutes les associations qu'on a réalisées.

1.3 Activité antioxydante :

L'évaluation préliminaire de l'activité antioxydante des échantillons a été réalisée en utilisant la méthode du radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), méthode initialement développée par **Blois (1958)** et adaptée par **Brand-Williams et al. (1995)** aux substances naturelles. Le DPPH, de couleur violette en solution, présente un maximum d'absorption à 515 nm. Une fois réduit sa couleur caractéristique violette disparaît et devient jaune (**figure 31**).

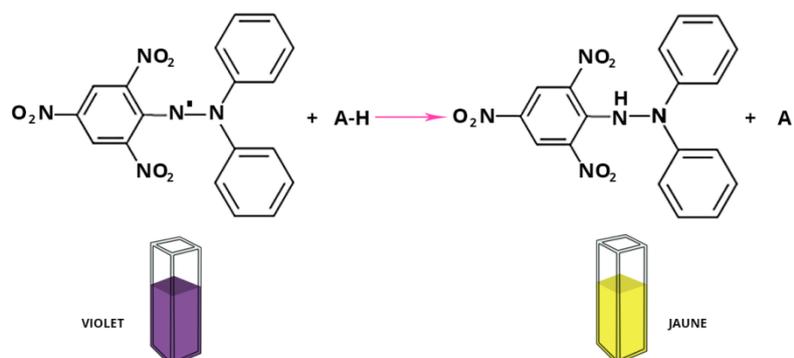


Figure 31: Décoloration de DPPH et piège de radical libre

Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires (Talbi *et al*, 2015).

A partir de la valeur obtenue, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée auparavant. Les valeurs obtenue ont permet de tracer les courbes représentées en **annexe 1**, qui représente la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de concentration de nos échantillons :

1.3.1 Détermination d'IC50 :

L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. Les valeurs IC50 pour nos échantillons et la Vit C, BHT, BC sont indiqué dans le tableau suivant :

Tableau 15 : les différentes valeurs d'IC50:

Composés étudiés	IC50% (mg/ml)
l'HE de Thym	0.118
l'HD de Figue de barbarie.	0,285
l'HE de la Lavande.	0,108
l'HD de Figue de barbarie et l'HE de Thym.	0,219
l'HD de Figue de barbarie et l'HE de la Lavande.	-
l'HE de Thym et l'HE de la Lavande.	0,127
BHT	0,116
VIT C	0,315
BC	0,161

Les résultats montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration pour tous les composés étudiés.

On observe que le pourcentage d'inhibition de BHT est supérieur à celui d'acide ascorbique et de BC pour toutes les concentrations, par contre le pourcentage d'inhibition de l'HE de Thym est presque identique (0,118) à celui de BHT (0,116 mg/ml), et on a remarqué que celui de la Lavande est le plus grand (0,108) ; Lorsque on a associer l'HE de Thym et l'HE de la Lavande on a eu un

pourcentage de 0,127 mg/ml ce qui implique que l'HE de Thym et l'HE de la Lavande ont un pouvoir antioxydant in vitro très important.

Cette forte capacité de réduction des radicaux libres des HEs de Thym et de la Lavande peut être due à leurs profils chimiques, riches en phénols. . En effet les constituants phénoliques ont déjà prouvé leur fort pouvoir antioxydant (**Kulisic *et al.*, 2004 ; Sokmen *et al.*, 2004 ; Tepe *et al.*, 2005, 2007**)

Pour l'HD de Figue de barbarie son IC50% est relativement faible par rapport aux autres échantillons d'un côté, et de BHT, BC d'autre coté.

L'HD de Figue de barbarie à présenter Un faible potentiel antioxydant seul ou on association avec l'HE de Thym. Par contre lors des études effectuées sur l'HE de Figue de barbarie montre que ce dernier est doté d'un pouvoir antioxydant important, ce qui exprime qu'il existe certains composés dans les huiles qu'on ne le trouve pas dans l'hydrolat.

La combinaison entre l'HD de Figue de barbarie et l'HE de la Lavande. N'as pas montrés une activité antioxydante.

Conclusion

Et

Perspective

Conclusion et perspective

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Dans la présente étude, nos efforts ont porté sur leur valorisation par le biais de l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de Thym, la lavande et l'hydrolat de Figuier de barbarie vis-a-vis de souches bactériennes gram positive et gram négative (*Bacillus Subtilis*, *Staphylococcus*, *E.Coli*) et des champignons (*Candida Albicans*, *Aspergillus Brasiliensis*) et aussi la mise en évidence de leurs propriétés antioxydantes.

L'extraction de l'huile essentielle de Thym a été réalisé par la méthode d'hydrodistillation à l'aide d'un hydrodistillateur de type Clevenger. Son rendement est de 3,1 qui est un bon rendement (dans les littératures il est entre 1 à 6 %) et peut être rentable à l'échelle industrielle.

Dans notre étude, l'activité antimicrobienne des huiles essentielles a été évaluée par la méthode d'aromatogramme. Une bonne activité a été observée pour tous nos échantillons sur tous les germes cibles utilisés, dont les zones d'inhibition varient entre 24 à 55 mm pour le Thym, entre 26 à 70 pour l'HE de Thym provenue de France, 40 à 59 mm pour la Lavande et entre 20 à 53 mm pour l'HD de Figue de Barbarie.

La combinaison des différents échantillons nous à donner des effets de synergie important, qui se traduit par une bonne activité inhibitrice, surtout lors d'association de l'HE de Thym et L'HD de Figue de barbarie sur *Candida Albicans* avec un diamètre de 64mm et vis-à-vis *E.Coli* lors d'association de l'HE de la Lavande et l'HD de Figue de barbarie. Nous avons pu montrer que ces associations permettre de potentialiser leurs activités sur certaines souches

Enfin, les activités antioxydantes des huiles essentielles et de l'hydrolat de Figue de barbarie ont également été évaluées par le test de DPPH, qui a permis de mettre en évidence leurs pouvoirs antioxydants qui est peut-être dû à leur composition chimique et leur capacité à réduire les radicaux libres.

Malgré, tous les efforts déployés dont l'antibiothérapie, on est toujours surpris sur l'apparition des souches résistante à un ATB, ou même lors d'association de plusieurs ATB en même temps, ce qui rend l'éradication de ce germe est irréalisable. Après ces nombreux tests, les huiles essentielles pourront servir de base au développement des nouveaux antibiotiques et sont apparues comme une alternative aux antioxydants de synthèse.

L'évolution des esprits et le refus du « tout chimique » qui se manifeste de plus en plus ouvrent un peu plus la porte au « retour au naturel », c'est-à-dire aromathérapie qui pourraient constituer une solution alternative intéressante.

Toutefois, ces résultats restent préliminaires et afin de les approfondir, d'autres approches et études sont souhaitables à réaliser, il serait intéressant de :

- De Comparer les diamètres d'inhibitions des huiles essentielles à ceux des antibiotiques.
- De tester d'autres méthodes d'extractions et leurs influences sur la composition chimique et les capacités biologiques.
- De déterminer les CMI et les CMB pour chaque HE étudiée.
- De comparer l'activité biologique de plusieurs espèces de la même plante.
- De tester les effets biologiques des substances in vivo.

Références bibliographiques

A

Association Française de Normalisation (AFNOR). janvier 2010. Liste des actualités : Huiles essentielles : extrait d'une norme fondamentale. <http://www.afnor.org/liste-des-actualités>

Anonyme., 1993. Table de composition des fruits exotiques. Répertoire général des Aliments. P.p, 122-124.

B

Baudoux, D., Baudry, F., Debauche, P. ; 2004. Les Cahiers Pratiques d'Aromathérapie selon l'Ecole Française. Paris : *Inspir Development.,* Vol. 3 Vétérinaire.P. 314.

Baudoux, D., et Debauche, P., 2012. Guide pratique d'Aromathérapie chez l'animal de compagnie. Bruxelles : Amyris. P, 174.

Bayer, L., Staub, H., 2013. Traité approfondi de phyto-aromathérapie. Paris : Grancher. P.p. 211-301 ; 423-516.

Bego, Ph., 2001. Connaitre l'essentiel sur les huiles essentielles. Collection aromathérapie pratique et familiale, Ed. *MDB* Paris, p.2-3.

Belaiche, P., 1979. Aromatogramme. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Edition *Maloine-S-S*, tome I. p. 9-20.

Benayad, N., 2008. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. *Projet de recherche.* Université Mohammed V-Agdal, Maroc, 61.

Benjilali, B., 2004. Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement a la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. P 17-59.

Bernadet, M., 2007.La phyto-aromathérapie pratique. Escalquens : Dangles. 448 p.

Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181: 1199-1200.

Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier, and C. Berset. 1995. "Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity." *LWT - Food Science and Technology* 28(1):25–30.

Boubekri, Ch., 2014. Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des technique électrochimiques. Thèse de doctorat. *Université mohamed khider-biskra*

Bousbia N. (2004).Extraction et identification de quelques huiles essentielles (nigelle, coriandre, origan, thym, romarin), étude de leurs activités antimicrobiennes. Thèse de Magistère, option sciences alimentaires, institut national Agronomique, Alger (Algérie).

Bruneton, J., 1999. Pharmacognosie-Phytochimie, Plantes médicinales. *Tec et Doc*. Paris, 1119.

C

Carson, C.F., Hammer, K.A., Riley, T.V., 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*. Arthur Gilmour. 86: p.p. 985-990.

Chaveron H. (1999).Molécules toxiques. Molécules formées au cours des réactions d'oxydation. In : Chaveron H, ed. Introduction à la toxicologie nutritionnelle. Londres : Tec Et Doc, p.175–83.

Chikhoun A. 2004. Huiles essentielles de thym et d'origan : Etude de la composition chimique et de l'activité antioxydante et antimicrobienne. Mémoire de magistère. Institut National Agronomique, El Harrach – Alger. 155 p.

Conner, D. E, 1993. Naturally occurring compounds. In Davidson P. M. and Branen A. L. *Antimicrobials in foods, 2nd ed. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.* 441-468.

D

Delaigne R., 1930. Les essences naturelles et parfums, Ed. *Armond colin*, Paris.

Duraffound C., Hervicourt L., Lapraz J.C., 1990. Cahiers de phytothérapie clinique. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. *Masson*, Paris.

F

France-Ida, J., 1996. Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. *Info-essence*, 3 :5-6.

Friedland, D., 1975. Industrie américaine des substances aromatiques. *Informations chimie*, 140 : 65-68.

Friedman, M., Henika, P., Mandrell, R.G., 2002. Bactericidal activities of Plant Essential Oils and some of their isolated constituents against *C. jejuni*, *E. coli*, *L. monocytogenes* and *S. enterica*. *Journal of Food Protection. International Association for Food Protection*, 65 : p.p. 1545-1560.

G

Guinoiseau, E., 2010. Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action, *Thèse de Doctorat*. Université de Corse, 114

I

Iserin, P., 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. *Ed : Larousse Bourdasse*. Paris. P335.

J

Jalas J., 1971. Note of *Thymus L. (Labiatae)* in Europe.I. Supraspecific classification and nomenclature. *Botanical Journal of the Linnean Society*. **64**:199-215.

Jiménez, A., al. 2006. *Thymus vulagris* as a potential source of antituberculosis compounds. *Pharmacologyonline*. 3 :569-574.

K

Kabouche, A., Kabouche, Z., Bruneau C., 2005. Analysis of the essential oil of *Thymus numidicus* (Poiret). *Algeria. Flavour and Fragrance Journal*. 20: 235–236.

Kalemba, D., Kunicka, A., 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry. Bentham Science*. Vol. 10 : p.p. 813-829.

Kothe, H.W., 2007. 1000 plantes aromatiques et médicinales. *Terres Editions*.

Kulisic T., A. Radonic, V. Katalinic & M. Milos, 2004. -Analytical, nutritional and clinical methods use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chem.*, 85, 633-640.

L

Labre, P., 2012. Phytothérapie et aromathérapie chez les ruminants et le cheval Tome 2. *Thônes : FEMENVET*. Vol. 2 : 352 p.

M

May, P., 2014. Guide Pratique de Phyto-Aromathérapie pour les animaux de compagnie. Paris. *Med'Com*. P.256.

Mazari K., Bendinerad N., Benkhechi Ch et Fernandez X. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* and *Juniperus sibirica*. *Medicinal Plant Research*. 4(10) : 959-964

Meena M.R and Sethi V. (1994). Antimicrobial activity of the essential oils from spices, *Food Science and Technology*, Vol. 31, 68-70.

O

Ozcan, Chalcha., 2004. Aroma profile of *Thymus vulgaris L* growing wild in Turkey. *Bulgarian journal of plant physiology*. 30(3-4): 68-73.

Ozkan, G., Sagdic, O., Baydar, N.G., Baydar, H., 2003. Inhibition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations. *Food Science and Technology International*. 9: 85-88.

P

Pimienta, B., Ciencia, E. 1993. 44 (3) : 339-350.

Q

Quezel, P., Santa, S., 1963. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Ed. CNRS*. Paris.

R

Remmal, A, T. Bouchikhi, A. Tantaoui-Elaraki, and M. Ettayebi.1993. "Inhibition of Antibacterial Activity of Essential Oils by Tween 80 and Ethanol in Liquid Medium." *Journal de pharmacie de Belgique* 48(5):352–56.

Richard, H., Benjilali, B., Bauquour, N., Baritoux, O., 1985. Etude de diverses huiles essentielles de thym du Maroc. *Lebensm-Wiss U-Technol*.

S

SalleJ,L., 1987. Les huiles essentielles: Synthèse d'aromathérapie et introduction à la Sympathicothérapie. *Ed. Frison Roche*. Paris.

Schauenberg, P., Paris, F., 2010. Guide des plantes médicinales: Analyse, description et utilisation de 400 plantes, Ed. *Delachaux et Niestlé*. P. 396.

Schweizer, M., 1997. Docteur Nopal, Le médecin du bon dieu. *Edition APB (Aloe Plantes et Beauté)*. Paris (France).

Shoop, M.C., Alford, E.J., Mayland, H.F., Range Mgmt, J., 1977. 30: 12-16.

Sokmen A., M. Gulluce, H.A. Akpulat, D. Daferera, B.Tepe, M. Polissiou, M. Sokmen & F. Sahin, 2004.- The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, 15, 627-634.

Stahl-Biskup, E., 2002. Thyme: The genus *Thymus*. Ed. *Taylor & Francis*. London.

T

Talbi H., Boumaza A, El-mostfa K., Talbi J., Hilali A. (2005) Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanoliques et aqueux de la *Nigella sativa* L., Maser. *Environ.sci* 4.P :1111-1117 ;

Tepe B., A. Sihoglu-Tepe, D. Daferera, M. Polissiou & A. Sokmen, 2007.- Chemical composition and activity of the essential oil *Clinopodium vulgare* L. *J. Food Chem.*, 103, 766-770

V

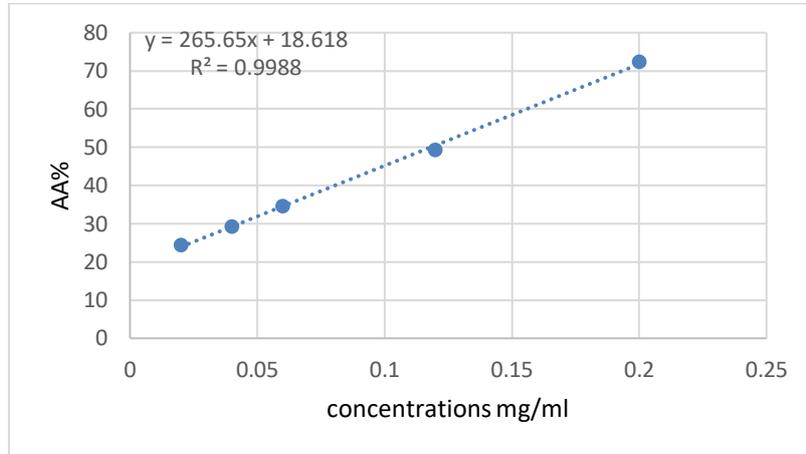
Valnet, J., 2000. Aromathérapie. Ed. *Maloine S. A.alteration of saccharomyces cerevisiae*.

Phytother. Res. 19(5) : 405-8.

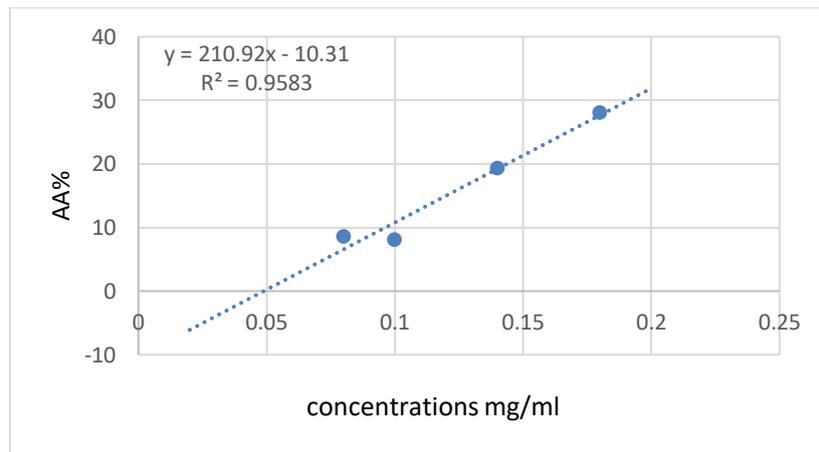
Annexe

Annexe 01 : les différentes courbes qui représentent la variation d'activité antioxydante en fonction de concentration des échantillons.

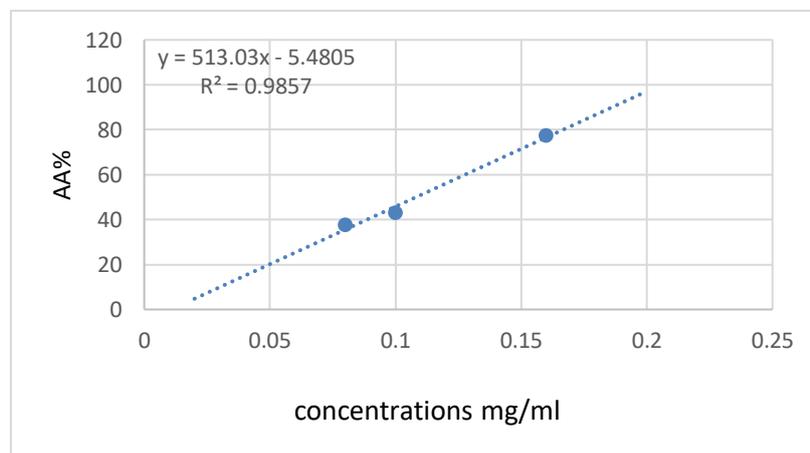
a : le % d'inhibition de DPPH en fonction de concentration de l'HE de Thym.



b : le % d'inhibition de DPPH en fonction de concentration de l'HD de Figuier de barbarie.

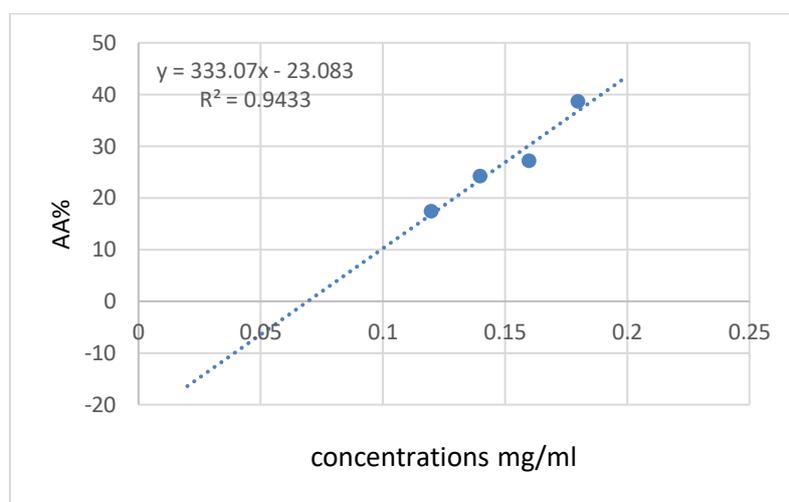


c : le % d'inhibition de DPPH en fonction de concentration de l'HE de la Lavande.

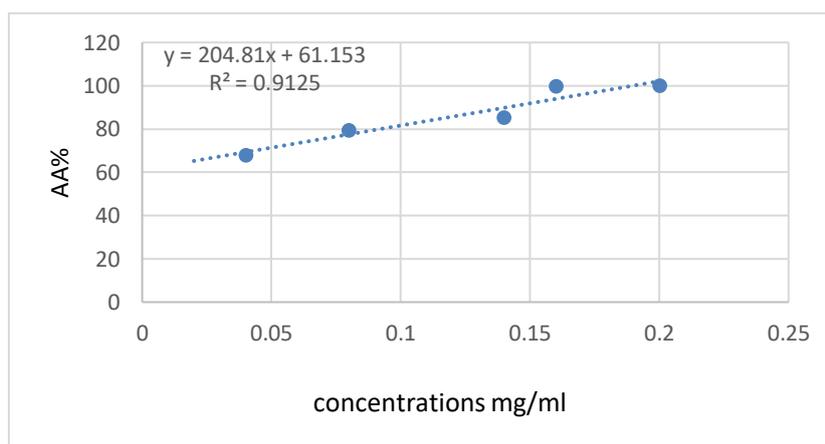


Annexe

d : le % d'inhibition de DPPH en fonction de concentration de l'HD de Figuier de barbarie et l'HE de Thym.

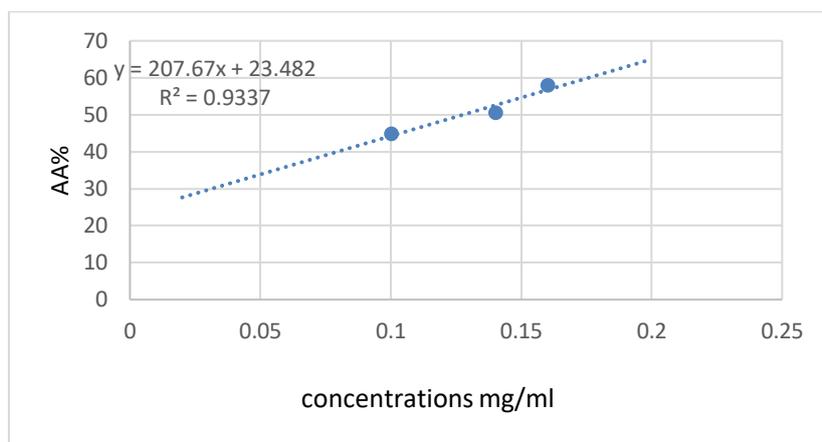


e : le % d'inhibition de DPPH en fonction de concentration de l'HD de Figuier de barbarie et l'HE de la Lavande.

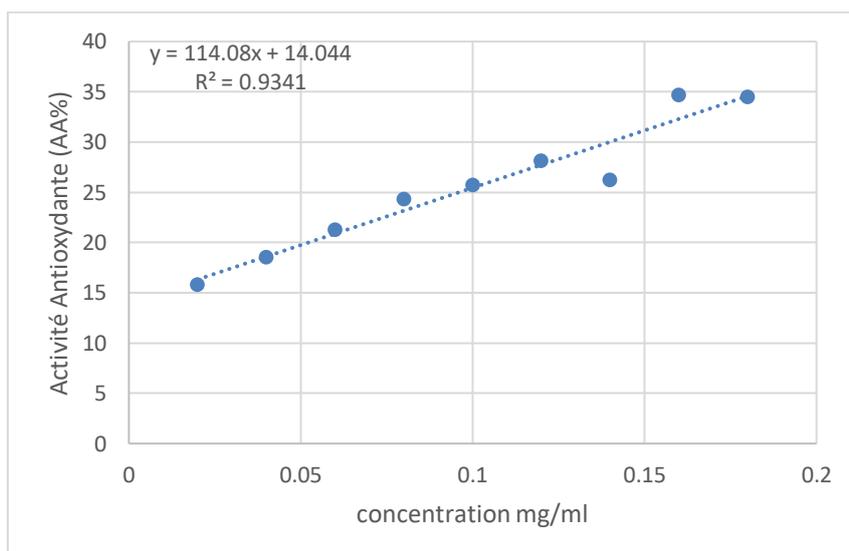


Annexe

f : le % d'inhibition de DPPH en fonction de concentration de l'HE de Thym et l'HE de la Lavande.

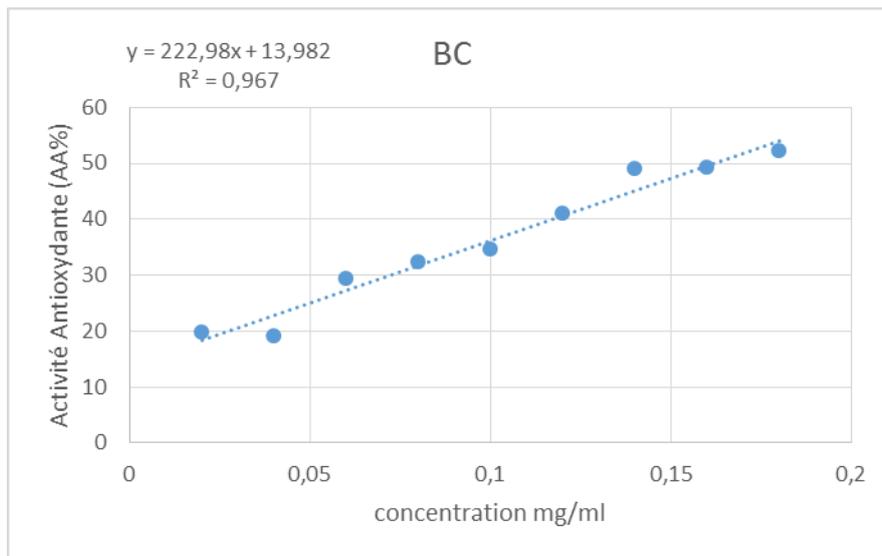


g : le % d'inhibition de DPPH en fonction de concentration de Vit C.

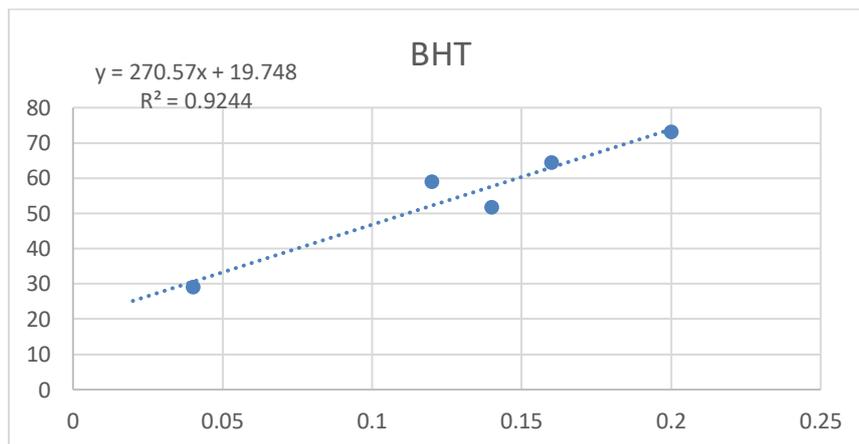


Annexe

h : le % d'inhibition de DPPH en fonction de concentration de BC.



i : le % d'inhibition de DPPH en fonction de concentration de BHT :



Résumé

Notre étude a pour objectif de déterminer l'activité antimicrobienne et antioxydante d'huile essentielle de Thym extraite par hydrodistillation dont le rendement obtenu est de 3,1 et de l'hydrolat de Figue de barbarie ainsi que l'activité de l'huile essentielle de Thym et de la Lavande provenant de France en vue de comparer et de réaliser des combinaisons entre eux.

L'activité antibactérienne a été mise en évidence par la méthode de l'aromatogramme via-à vis de cinq souches (Bacillus Subtilis, Staphylococcus Aureus, E.Coli, Candida Albicans, Aspergillus BrasieInsis). Une bonne activité a été observée dans tous nos échantillons sur tous les germes cibles utilisés.

Lors de la comparaison de l'HE de Thym et celle provenant de France a montré que l'HE d'Algérie est plus active sur Staphylococcus. La combinaison des différents échantillons nous a donné des effets de synergie importants, qui se traduit par une bonne activité inhibitrice, surtout lors d'association de l'HE de Thym et L'HD de Figue de barbarie sur Candida Albicans, Nous avons pu montrer que ces associations permettent de potentialiser leurs activités sur certaines souches.

Les activités antioxydantes des huiles essentielles et de l'hydrolat ont également été évaluées par le test de DPPH, les résultats montrent que l'HE de Thym et l'HE de la Lavande ont un pouvoir antioxydant in vitro très important.

Après ces nombreux tests, les huiles essentielles pourront servir de base au développement des nouveaux antibiotiques et sont apparues comme une alternative aux antioxydants de synthèse.

Mots clés : Huile essentielle; Activité antibactérienne ; Activité Antifongique ; Activité antioxydante.

Abstract

The object of this study is to determine the antioxydant and antimicrobial activity of the essential oil of Thyme which was extracted by hydrodistillation with the efficiency of 3.1 and the hydrolate of barbarian fig in addition to the activity of the essential of Thyme and Lavender from France in sight of comparing them and realizing combinations between them.

The antibacterial activity was shown with the « aromatogramme method » with 5 bacterial strains (Bacillus Subtilis, Staphylococcus Aureus, E.Coli, Candida Albicans, Aspergillus BrasieInsis). A good activity was observed in all our samples on all the germs used.

During the comparison we observed that the essential from Algeria is more active on Staphylococcus than the one from France. The combination on the different samples showed an important synergic effect, which was explained by a good inhibitory activity, especially in the case of thyme's essential Oil with the hydrolate of barbarian fig on Candida Albicans, We were able to show that this associations can potentiate their activity in certain strains.

The antioxydant activity of the essential oil and the hydrolate was also evaluated with the DPPH test, the results show that the essential oils of both Thyme and Lavender have a very important antioxydant capacity in vitro.

After this numerous tests, the essential oils can serve as a base to develop new antibiotics and they are also an alternative to synthetic anti-oxidants.

Key words: Essential oil; Antimicrobial activity; Antifungal activity; Antioxydant.

المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد كل من الخاصية النشاط المضاد للبكتيريا والمضاد للأكسدة لكل من الزيت الأساسي لنبتة الزعيرة المستخرج بالتقطير بمردود 3.1 ومستخلص التين البربري بالإضافة إلى المقارنة بين الزيتين الأساسيين لكل من الزعيرة والخزامى المستورد من فرنسا بهدف المقارنة الجمع بينهما.

تم اظهار الخاصية المضادة للبكتيرية عن طريق تقنية aromatogramme ضد 5 سلالات:

(Bacillus Subtilis, Staphylococcus Aureus, E.Coli, Candida Albicans, Aspergillus BrasieInsis)

تمكنا من خلال هذه التقنية ملاحظة نشاط مضاد للبكتيريا جيد على كل العينات المستهدفة.

تمكنا من الخروج بنتيجة أن الزيت الأساسي للزعيرة الموجود في الجزائر أكثر نشاطا ضد Staphylococcus مقارنة مع زيت الزعيرة الموجود بفرنسا. والجمع بين العينات المختلفة اعطانا تازرا مهما، ماتم ترجمته على شكل نشاط مثبط، خاصة عند الجمع بين الزيت الأساسي للزعيرة ومستخلص التين البربري ضد سلالة Candida Albicans، تمكنا من إظهار أن هذا الجمع يمكن من تحفيز نشاط الزيوت ضد أنواع معينة من البكتيريا.

النشاط المضاد للأكسدة لكل من الزيت الأساسي و المستخلص تم تقييمه عن طري اختبار DPPH وقد أظهرت النتائج أن الزيتين الأساسيين لكل من نباتي الزعيرة والخزامى خصائص مضادة للأكسدة مهمة جدا.

بعد عدة اختبارات استنتجنا أن الزيوت الأساسية تستطيع أن تكون قاعدة من أجل تطوير مضادات حيوية جديدة وتعتبر بديلا لمضادات الأكسدة المصنعة.

الكلمات المفتاحية : الزيت الاساسي : النشاط المضاد للبكتيريا ; النشاط المضاد للطفيليات ; النشاط المضاد للأكسدة.

