

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
تعماجي للاليج تماعنوب
Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana
Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention de diplôme de **Master** en

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

*Contribution à la caractérisation biologique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris**

Présenté par :

- *M^{elle} Yousfi Khawla*
- *M^{me} Sellaoui Fatima Zahra*

Devant le jury :

M ^{me} Abdelli W.	MCB	Présidente	(U.D.B KhemisMiliana)
M ^{me} Benazzouk S.	MAB	Promotrice	(U.D.B Khemis Miliana)
M ^{me} Lattab A.	MCB	Examineur	(U.D.B Khemis Miliana)

Année universitaire : 2021/2022

Remerciement

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite Au terme de la rédaction de ce mémoire, c'est un devoir agréable d'exprimer en quelques lignes la reconnaissance que nous devons à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à l'élaboration de ce travail.

Nous tenons très sincèrement à remercier notre promotrice Dr. Benazzouk Salima pour nous avoir donné l'opportunité de faire ce travail et aussi pour toute sa confiance, son soutien, sa disponibilité, ses conseils pratiques et théoriques tout au long du cursus. Merci pour votre aide précieuse, qui nous a été d'une grande utilité lors des différentes étapes et lors de la rédaction de ce résumé, et nous lui souhaitons santé et bonheur. Tout respect et appréciation du aux jury, «M^{me} Abdelli.W et M^{me} Lattab. A » nous vous remercions pour votre initiative d'évaluer notre modeste travail ,et nous espérons qu'il vous satisfera.

Nous remercions également tous les enseignants du Département de Biologie et Nos camarades de Master II biotechnologie et particulièrement Fatiha Mellakhi , promotion2022.

Dédicaces.

- ♥ *A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études .*
- ♥ *A mon cher mari Sid Ahmad, pour être resté à mes côtés et me soutenir*
- ♥ *A mes chères sœurs et frères Oubtissem ; Fadhila ; Cherif ; Phourouk et Ahmed. pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral*
- ♥ *A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.*
 - ♥ *A mes meilleures copines Sihem , Houriya , Fatima 2 , Soumia, Hala, Farida, Amina et Nazih.*
- ♥ *A ma camarade Fatima Mellakhi , tous mes remerciement et ma gratitude à vous... J'espère vous voir dans les rangs supérieurs .*

Fatima Zahra

Dédicaces

Je dédis ce travail :

♥ *A mes très chers parents qui m'ont encouragé et guidé durant les moments les plus difficiles de ce long chemin, ma mère Rahali Fatima qui a été à mes coté et m'a soutenu durant toute ma vie ; et mon père Fousfi Djilali qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce qui je suis.*

♥ *A mon chère et unique frère : Mouhamed.*

♥ *A mes chères sœurs : Fousra , Alaa , Salsabile , Hanine*

♥ *A mes grands parents maternels.*

♥ *A tout le reste de la famille : oncles, tantes, cousines et cousins*

Khawla

Résumé

Le thym « *Thymus vulgaris* » est une plante aromatique, très répandue en Algérie et très utilisée par les populations locales pour ses vertus médicinales. L'objectif de la présente étude est de déterminer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* sur certains agents pathogènes. L'huile de *Thymus vulgaris* a été préparée par hydrodistillation et testée contre quatre souches microbiennes, à savoir : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, par la méthode de diffusion sur disque. L'huile de *Thymus vulgaris* à des concentrations de 31.52 à 1000 µl/ml a montré une forte activité inhibitrice sur tous les isolats, produisant des zones d'inhibition allant de 8 à 65 mm, avec des sensibilités différentes selon l'espèce et la concentration appliquée. Cette même huile n'a révélé aucun effet inhibiteur vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*. D'après ces résultats, on peut dire que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* mérite une étude plus approfondie afin d'exploiter ses propriétés. Ce travail rentre dans le cadre plus global de la mise en valeur des plantes aromatiques et médicinales d'Algérie.

Mots clés : *Thymus vulgaris*, hydrodistillation, huile essentielle, activité antimicrobienne.

Abstract:

Thyme *Thymus vulgaris* is an aromatic plant, widespread in Algeria and widely used by local populations for its medicinal properties. The objective of the present study is to determine the antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* oil on certain pathogens. *Thymus vulgaris* oil was prepared by hydrodistillation and tested against four microbial strains, namely: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, by the disk diffusion method. *Thymus vulgaris* oil at concentrations of 31.52 at 1000 µl/ml showed strong inhibitory activity on all isolates, producing zones of inhibition ranging from 8 to 65 mm, with different sensitivities depending on species and location. concentration applied. This same oil showed no inhibitory effect against *Pseudomonas aeruginosa*. Based on these results, it can be said that *Thymus vulgaris* essential oil deserves further study in order to exploit their properties. This work falls within the more global framework of the development of aromatic and medicinal plants of Algeria.

Key words : *Thymus vulgaris*, hydrodistillation, essential oil, antimicrobialactivity.

ملخص :

الزعر *Thymus vulgaris* هو نبات عطري منتشر في الجزائر ويستخدم على نطاق واسع من قبل السكان المحليين لخصائصه الطبية. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد النشاط المضاد للميكروبات لزيت *Thymus vulgaris* على بعض مسببات الأمراض. تم تحضير زيت *Thymus vulgaris* بالتقطير المائي واختباره ضد أربع سلالات ميكروبية وهي : *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* و *Candida albicans* بطريقة الانتشار القرصي. أظهر زيت الزعر الشائع بتركيز 31.52 عند 1000 ميكرو لتر / مل نشاطاً مثبطاً قوياً على جميع العزلات ، منتجة مناطق تثبيط تتراوح من 8 إلى 65مم ، مع حساسيات مختلفة حسب النوع والموقع. هذا الزيت نفسه لم يظهر أي تأثير مثبط ضد *Pseudomonas aeruginosa*. بناءً على هذه النتائج ، يمكن القول أن زيت *Thymus vulgaris* الأساسي يستحق مزيداً من الدراسة من أجل استغلال خصائصه. يقع هذا العمل في إطار أكثر عالمية لتطوير النباتات العطرية والطبية في الجزائر.

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

SOMMAIRE

Remerciement

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Listes des figures

Partie bibliographique

Introduction générale	01
Chapitre I. Les huiles essentielles.	
I.1. Historique.....	03
I.2. Définition.....	04
I.3. Caractéristiques et propriétés des huiles essentielles.....	04
I.3.1. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles	04
I.3.2. Propriétés physico-chimiques.....	05
I.4. La phytochimie des huiles essentielles.....	06
I.4.1. Les composés terpéniques.....	07
I.4.2. Les composés aromatiques.....	08
I.4.3. Composés d'origine diverse.....	09
I.5. Localisation des huiles essentielles.....	09
I.6. Toxicité des huiles essentielles.....	10
I.6.1. Toxicité par ingestion.....	10
I.6.2. Toxicité dermique.....	10
I.6.3. Toxicité selon la composition.....	10
I.6.4. Toxicité sur cellules animales ou humaines.....	11
I.7. Les procédés d'extraction des huiles essentielles.....	11
I.7.1. Hydrodistillation.....	11
I.7.2. Entraînement à la vapeur d'eau.....	12
I.7.3. L'hydro diffusion.....	13
I.7.4. L'expression à froid.....	13
I.8. Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	13

I.8.1. En parfumerie et cosmétologie	13
I.8.2. En dentisterie.....	14
I.8.3. En pharmacie.....	14
I.8.4. En agro-alimentaire.....	14
I.9. Méthodes d'analyses et contrôle de qualité des huiles essentielles.....	15
I.9.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	15
I.9.2. Couplage chromatographie phase gazeuse/spectrométrie de masse (CPG/SM).....	16
I.9.3. La spectrométrie de masse (SM).....	16
I.9.4. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	17

Chapitre II. Les activités biologiques des huiles essentielles

II.1. Activité antibactérienne	18
II.2. Activité antifongique	19

Chapitre III. *Thymus vulgaris*

III.1. Dénomination	21
III.2. Description morphologique.....	21
III.3. Classification de <i>Thymus vulgaris</i>	24
III.4. La composition chimique	24
III.5. Utilisation de <i>Thymus vulgaris</i>	25

Partie Expérimentale

Chapitre IV Matériel et méthodes

IV.1. Description de la région de récolte	29
IV.2. Préparation du matériel végétal	30
IV.3. Extraction de l'huile essentielle de <i>thymus vulgaris</i>	30
IV.4. Détermination du rendement en huile essentielle	33
IV.5. Étude des activités antimicrobiennes de l'huile de <i>Thymus vulgaris</i>	34
IV.5.1. Diffusion sur disque de gélose.....	34
IV.5.1.1. Isolement des souches microbiennes.....	34
IV.5.1.2. Préparation des disques.....	35
IV.5.1.3. Préparation des dilutions de l'HE.....	35
IV.5.1.4. Préparation des inoculum.....	36
IV.5.1.5. L'Ensemencement et dépôt des disques.....	37

IV.5.1.6. Lecture.....	39
IV.5.2. Détermination des concentrations minimales (CMI).....	40

Chapitre V. Résultats et discussions

V.1.Le rendement en huiles essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>	42
V.2.Determination de l'activité antimicrobienne de l'huile de <i>T.vulgaris</i> sur certains agents pathogènes isolés par des test de diffusion sur disques de gélose.....	44
Conclusion générale.....	50
Références Bibliographiques	52-58

Liste des abréviations

Liste des abréviations :

ADA : l'Association Dentaire Américaine .

AFNOR : Association Française de Normalisation .

CCM :Chromatographie sur couche mince .

CPG :chromatographie phase gazeuse .

D: diamètre des halos .

d: densité relative .

d₂₀: Densité à 20°C.

DMSO: le diméthylsulfoxyde .

DL50: Dose Létale 50 .

HES:Huiles Essentielles .

IA: Indice d'Acide .

IC : l'ionisation chimique .

ICN : l'ionisation chimique négative .

ICP : l'ionisation chimique positive .

IE:l'ionisation parimpact électronique .

ISO: Organisation Internationale de Standardisation .

g: gramme .

ml: millilitre .

mm:millimètre .

Max: maximum .

m/q : masse/charge électrique .

R^{dt}:Rendement .

SM:spectrométrie de masse .

UV : ultra-violet .

V: volume .

Liste des tableaux

Liste des tableaux :

Le tableau 1. Organes de certaines plantes riches en huiles essentielles(Echchaoui, 2018).....	09
Le tableau 2. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>T. vulgaris</i> (Abdelli, 2017).....	25
Le tableau 3. Les caractéristiques géographiques de la région de récolte de thymus vulgaris.....	29
Le tableau 4. Tableau 05:les souches bactérien isolés.....	35
Le tableau 5. Rendements de l'HE de <i>T. vulgaris</i> en Algérie dans différentes régions du monde.....	43
Le tableau 6.Activité antimicrobienne de l'huile de <i>T.vulgaris</i> sur certains agents pathogènes isolés par des test de diffusion sur disques de gélose.....	46

Liste des figures

Liste des figures :

La Figure 1. Structures de quelques monoterpènes	07
La Figure 2. Structures de quelques sesquiterpènes.....	07
La Figure 3. Structure de quelques composés aromatiques.....	08
La Figure 4. Montage d'extraction par la technique d'hydrodistillation (Atmani-Merabet, 2018).....	12
La Figure 5. La plante <i>Thymus vulgaris</i>	21
La Figure 6. Tige de <i>Thymus vulgaris</i> (etienne.aspor.free.fr).....	22
La Figure 7. Feuilles de <i>Thymus vulgaris</i>	22
La Figure 8. Fleurs de <i>thmus vulgaris</i>	23
La Figure 9. Situation de zone d'études.....	30
La Figure 10. une quantité de <i>Thymus vulgaris</i> séchée m ₀ = 50g.....	31
La Figure 11. Montage de l'appareil Clevenger du procédé de l'hydrodistillation.....	31
La Figure 12. Montage d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.....	32
La Figure 13. la conservation des huiles essentielles dans un tube à l'abri de la lumière.....	33
La Figure 14. Principe de la diffusion sur disque.....	34
La Figure 15. Préparation des dilutions de l'HE.....	36
La Figure 16. préparation de inoculum.....	37
La Figure 17. ensemencement des souches microbiennes.....	38
La Figure 18. dépôt des disques.....	38
La Figure 19. les échantillons obtenus à partir du processus de diffusion.....	39
La Figure 20. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle pure de <i>Thymus vulgaris</i> sur <i>Pseudomonasaeruginosa</i> (a), <i>Staphylococcus aureus</i> (b), <i>Esherichia coli</i> (c), <i>Candida sp.</i>	44
La Figure 21. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle diluer de <i>Thymus vulgaris</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (a), <i>Staphylococcus aureus</i> (b), <i>Esherichia coli</i> (c), <i>Candida sp.</i>	45

INTRODUCTION

Introduction générale

Introduction générale :

Depuis les temps les plus anciens, l'homme a appris à utiliser les ressources végétales que le monde lui offre pour ses besoins élémentaires ; pour se nourrir, se soigner et même parfois dans ses rites religieux en ramassant tout d'abord les racines, les feuilles, les graines et les fruits sauvages, en se consacrant ensuite à la culture des espèces. L'une des valorisations possibles de cette richesse naturelle, que sont les plantes, est l'extraction de leurs huiles essentielles, produits connus et utilisés par les égyptiens, les perses et les grecs, pour leurs propriétés aromatisantes et médicinales.

Vu sa diversité climatique ainsi que la nature de ses sols, notre pays recèle des ressources végétales inestimables. Le thym est parmi les plantes les plus répandues en Algérie et dont notre pays peut tirer profit. Cette plante est très recherchée par les industries de l'aromatisation, de la parfumerie, des cosmétiques et de la pharmacologie. En effet, ses huiles essentielles ont suscité ces dernières années un intérêt particulier des chercheurs pour l'importance du rendement et l'intérêt thérapeutique qu'elles revêtent.

La famille des Lamiacées est l'une des plus répandues dans le règne végétal (Naghbi F et al., 2005). C'est une famille d'une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Elle est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant (Gherman et al., 2000 ; Bouhdid et al., 2006; Hilan et al., 2006).

Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales algériennes, et compte tenu des vertus thérapeutiques que représentent les Lamiacées. L'étude s'est portée sur l'espèce *Thymus vulgaris*, bien que relativement abondant et largement utilisé.

Le présent travail porte sur l'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* vis-à-vis de certaines souches microbiennes. Cette étude est répartie en cinq chapitres, dans le premier chapitre, on parlera des huiles essentielles, le deuxième chapitre sera consacré aux activités biologiques des huiles essentielles et dans le troisième chapitre, on abordera le matériel végétal « *Thymus vulgaris* ». le quatrième chapitre présente le matériel et les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail, et un cinquième chapitre, qui regroupe et discute les résultats obtenus. Ce travail est achevé par une conclusion .

Chapitre I

Les huiles essentielles.

I.1. Historique

Les premières traces de l'utilisation des plantes datent de 40000 ans av, JC. L'Égypte ancienne à partir de 4500 ans av. JC., nous apporte des descriptions détaillées sur papyrus des plantes utilisées en médecine, en parfumerie et pour l'embaumement des défunts **(Desramaux, 2018)**. Le papyrus égyptien d'Ebers, que l'on fait remonter à 1600 av J.C, est le premier recueil consacré aux plantes médicinales **(Hessas & Simoud, 2018)**. Par ailleurs, les traces de l'utilisation des plantes médicinales existent dans des textes chinois datant de plus de 5000 ans avant J.C. En Inde, les Vedas, livres sacrés rédigés vers 1500 ans avant J.C, contiennent eux aussi des témoignages de la connaissance des plantes **(Hessas & Simoud, 2018)**.

La première extraction des huiles essentielles par distillation à la vapeur d'eau a été réalisée par le médecin arabe, Ibn Sinna « Avicenne » (980-1037), qui mit au point un alambic et produit la première huile essentielle pure. Il faudra attendre la fin des Croisades vers le XIIème siècle et le retour des chevaliers en Europe, afin qu'ils rapportent les découvertes de la distillation à la vapeur d'eau et l'emploi des huiles essentielles.

C'est ainsi que l'aromathérapie s'installera en Occident **(Veyrune, 2019)**.

En 1910, René-Maurice Gatte fossé, chimiste, parfumeur et père de l'aromathérapie scientifique, se brûla la main lors d'une explosion dans son laboratoire, il eut le réflexe génial de plonger ses mains dans un récipient rempli d'huile essentielle de lavande. Soulagé instantanément, sa plaie se guérit avec une rapidité déconcertante. Étonné par ce résultat, il décida d'étudier les huiles essentielles et leurs propriétés et créa le mot Aromathérapie du grec « aroma » (arôme) et « thérapie » (soin) **(Abadlia et Chebbour , 2014 ; Laurent, 2017)**.

Aujourd'hui, l'aromathérapie est répandue dans le monde entier et les connaissances quant à l'utilisation des plantes sont précises. De nombreux laboratoires travaillent sur la recherche de l'aromathérapie certifiée bio **(Desramaux, 2018)**.

I.2. Définition

Le terme “Huile essentielle” a été inventé au 16ème siècle par le médecin suisse Parascelsus Von Hohenheim afin de désigner le composé actif d’un remède naturel (Bouhekrit , 2018).

L’Association Française de Normalisation : AFNOR, Edition 2000, définit l’huile essentielle comme : « Produit obtenu à partir d’une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d’eau soit par des procédés mécaniques, l’huile est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (Abadlia et Chebbour, 2014).

Selon la norme ISO 9235 , l’huile essentielle est : « Produit obtenu à partir d’une matière première naturelle d’origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d’eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l’épicarpe de fruits de citrus (agrumes), soit par distillation sèche, après séparation de l’éventuelle phase aqueuse par des procédés physique » (Barbelet, 2015).

I.3. Caractéristiques et propriétés des huiles essentielles

I.3.1. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles ont des propriétés organoleptiques telles que l’odeur, l’aspect et la couleur (Guerrouf, 2017).

- **La couleur** : généralement incolore ou jaune pâle à l’exception de quelques huiles essentielles telles que l’huile de l’Achillée et l’huile de la Matricaire. Ces dernières se caractérisent par une coloration bleue à bleu verdâtre, due à la présence de l’azulène et du cham azulène(Lamamra, 2007).
- **L’odeur** : Les huiles essentielles sont aisément remarquables par leur odeur qui peut être très agréable (Lavande, Romarin...) ou repoussante (Barbote dite «Fétide») (Rahmouni, 2014).
- **L’aspect** : Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante mais aussi volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l’alcool, entraînaibles à la vapeur d’eau mais très peu solubles dans l’eau. Il faut donc impérativement un tensioactif pour permettre leur mise en suspension dans l’eau (Lakhdar, 2015).

I.3.2. Propriétés physico-chimiques

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) ne donnent que désinformations très limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises. La qualité d'une huile essentielle et sa valeur sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques.

Les HEs sont caractérisées par leurs propriétés physiques (densité relative, indice de réfraction) ainsi que par leurs propriétés chimiques (indice d'acide). (Yaacoub et Tlidjane, 2018).

a) Densité relative d_{20}

La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau (densité <1), cela permet leur séparation dans l'essencier lors de leur extraction par hydro-distillation. Cependant certaines ont une densité supérieure à celle de l'eau telle que l'huile essentielle de girofle, de cannelle, de carotte et de saffran.(Desramaux, 2018).

Selon la norme AFNOR (Association Française de Normalisation) (AFNOR : NF T 75-111. 2000), la densité relative de l'HE est définie comme étant le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C et la masse de volume d'eau distillée à 20°C. On effectue la correction à 20°C par la formule :

$$d_{20} = d_{\text{exp}} + 0,00073 (T_{\text{exp}} - 20).$$

d_{20} : Densité à 20°C,

d_{exp} : Densité mesurée

T_{exp} : Température ambiante

b) Indice de réfraction n_{D20}

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante. L'indice de réfraction des HEs est généralement élevé. Il est supérieur à celui de l'eau à 20 °C= 1.3356 (Mile Attou, 2017).

Selon la norme AFNOR (AFNOR : NF T 75 – 112. 2000), l'indice de réfraction est calculé par la relation : $n_{D20} = n_{DT} + 0,00045 (T - 20)$.

n_{D20} : Indice de réfraction à 20°C.

n_{DT} : Indice de réfraction à la température ambiante ou de mesure.

T: Température ambiante.

c) Indice d'acide IA

L'indice d'acide indique le comportement et la quantité des acides libres présents dans notre huile. Il peut aussi nous renseigner sur la susceptibilité de l'huile à subir des altérations, notamment l'oxydation (Ouis, 2015).

Selon la norme AFNOR (AFNOR : NFT 75 – 103. 2000), Il représente le nombre en milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielle.

Il est calculé par la formule : $IA = N \cdot V \cdot 56,1/PE$.

IA : indice d'acide.

N: normalité de KOH.

V: volume de la solution de KOH (ml).

PE: prise d'essai de l'huile essentielle (g).

56,1 : masse molaire de KOH

I.4.La phytochimie des huiles essentielles

Les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable. Le nombre de composants isolés est d'environ des milliers. Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes :

* le groupe des trapézoïdes

* le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane, beaucoup moins fréquents

Les huiles essentielles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (Lamamra, 2007), et contrairement à ce que son nom laisse supposer, l'huile essentielle pure et naturelle ne contient aucun corps gras. Elles ne contiennent ni vitamine, ni sels minéraux, mais peuvent modifier leur absorption et leur assimilation par l'organisme (Guerrouf, 2017). Seuls les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, y sont rencontrés soit les monoterpènes et les sesquiterpènes. Les terpènes sont des composés issus du couplage de plusieurs unités « isopréniques » (C_5H_8), soit deux unités pour les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$) et trois pour les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$). Exceptionnellement, quelques diterpènes ($C_{20}H_{32}$) peuvent se retrouver dans les huiles essentielles (Piochon, 2008).

I.4.1. Les composés terpéniques

a. Monoterpènes C10

Ce sont des composés :

- ✓ Anti infectieux, bactéricides, virucides et fongicides.
- ✓ Stimulent les glandes à mucines « décongestion des voies respiratoires »
- ✓ Utilisés dans les pathologies ORL.
- ✓ Antalgiques cutanés, lors de douleurs localisées.
- ✓ Excellents immunostimulants,
- ✓ Toniques généraux (Neurotoxiques) (Laurent, 2017) (figure 1)

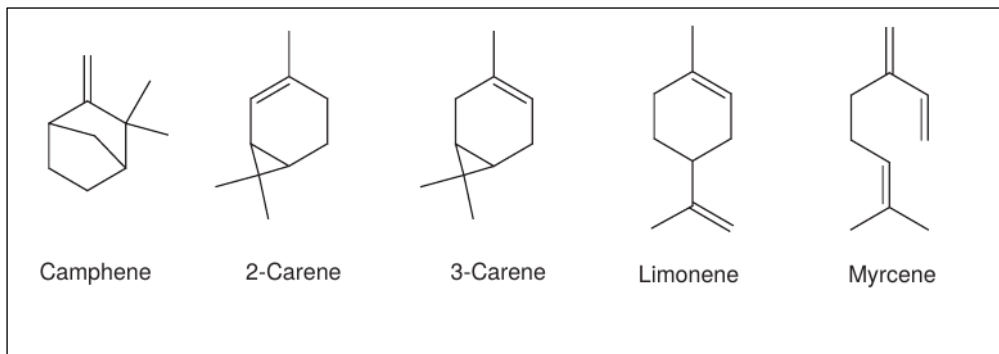


Figure 1. Structures de quelques monoterpènes

b. Les sesquiterpènes C15

Ils sont :

- ✓ Antiseptiques et bactéricides.
- ✓ Puissants anti-inflammatoires.
- ✓ Utilisés dans les pathologies artériocapillaires
- ✓ Antiallergiques
- ✓ Antihistaminique chez certains asthmatiques (Laurent, 2017) (figure 2).

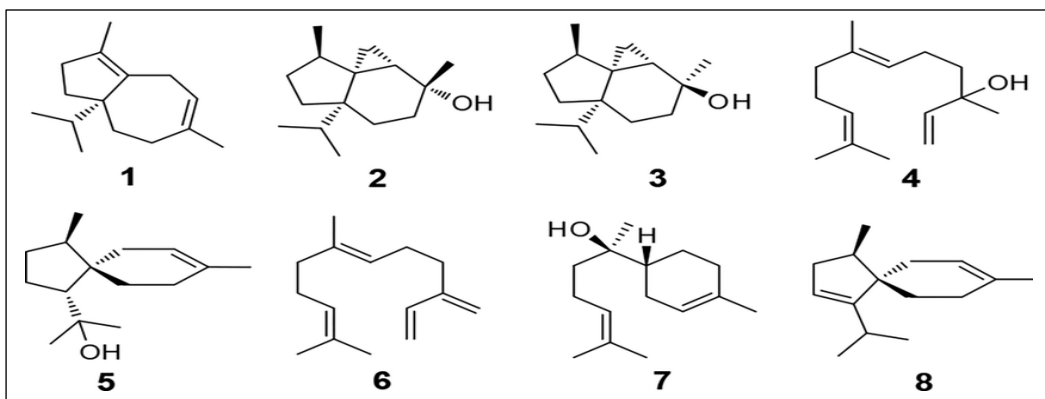


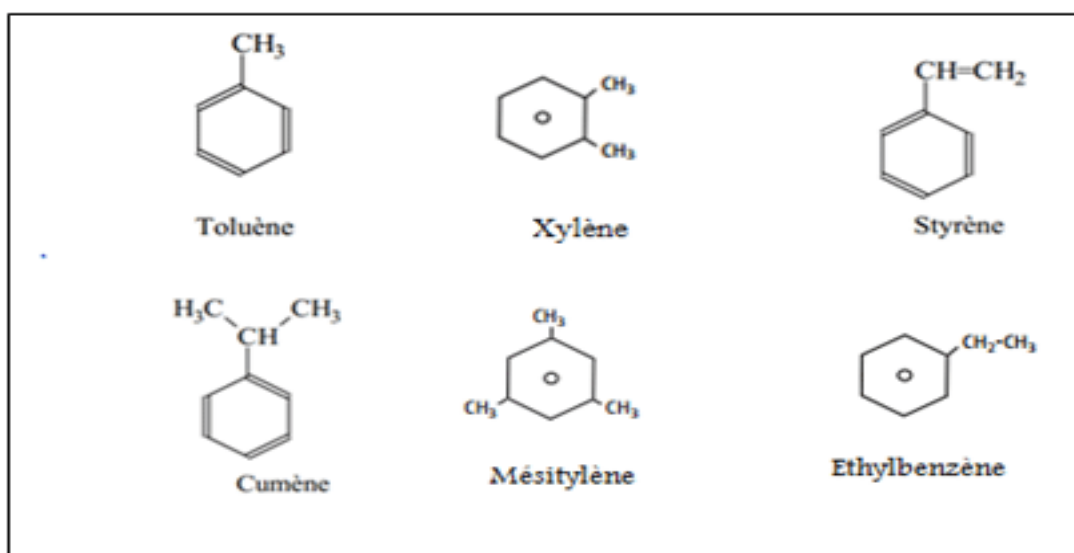
Figure 2. Structures de quelques sesquiterpènes.

Par ailleurs, la réactivité des cations intermédiaires obtenus lors du processus de biosynthèse des mono- et sesquiterpènes explique l'existence d'un grand nombre de molécules dérivées fonctionnalisées telles que des alcools, des cétones, des aldéhydes et des esters (Piochon, 2008)

I.4.2. Les composés aromatiques

Ces composés dérivent du phenylpropane (C₆-C₃), Ils sont moins fréquents que les terpènes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole et l'estragole. Ils se distinguent entre eux par :

- Le nombre et la position des groupements hydroxyles et méthoxy.
- La position de la double liaison de la chaîne latérale, allylique ou propénylique.
- Le degré d'oxydation de la chaîne aliphatique (Ouis, 2015) (figure 3).



1.4.3. Composés d'origine diverse

En générale, ils sont de faibles poids moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, ce sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions par exemple l'heptane et la paraffine dans l'essence de camomille (**Hessas et Simoud, 2018**).

1.5. Localisation des huiles essentielles

Les HEs n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, souvent situées sur ou à proximité de la surface des tissus de plantes et recouvertes d'une cuticule (**Mebarki, 2010**).

Elles sont alors stockées dans des cellules à huiles essentielles (Lauracée ou Zingibéracée), dans des poils sécrétrices (Lamiacée), dans des poches sécrétrices (Myrtacée ou Rutacée) ou dans des canaux sécrétrices (Apiacées ou Asteracées) (**Abadlia et Chebbour, 2014**) (tableau 1).

Tableau 1. Organes de certaines plantes riches en huiles essentielles (Echchaoui, 2018)

Organe	Exemples
Feuilles d'angiospermes	Romarin, sauge, menthe
Feuille de gymnospermes	sapin, cèdre
Tiges	Citronnelle, lemongrass
Ecorces	Cannelier
Racines	Angelica, vetiver
Rhizomes	Acorus, gingembre
Bulbes	Oignon, ail
Bois	Santal
Fruits	Bleuet, citron
Fleurs	Jasmin, rose
Graines	Aneth, carvi

I.6. Toxicité des huiles essentielles

Alors que de nombreux ouvrages font référence à la toxicité de nombreux produits sur le marché, la toxicité des huiles essentielles est moins investiguée. La plupart du temps, sous le terme de toxicité sont décrites des données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que représente leur emploi. Les interactions de ces produits avec les médicaments sont aussi peu mentionnées (Pibiri,2006). Cependant quelques informations sur certaines toxicités sont décrites par la littérature à savoir

I.6.1. Toxicité par ingestion

En règle générale, les huiles essentielles d'usage commun ont une toxicité par voie orale faible ou très faible avec des DL50 supérieures à 5 g/kg. En ce qui concerne la sarriette et l'origan, la toxicité est plus élevée, autour des 1,4 g/kg (donnée observée chez l'animal) (Bruneton, 1999). Chez l'homme des intoxications aiguës sont possibles. Les accidents graves, les plus souvent observés chez les petits enfants, sont provoqués par l'ingestion en quantité importante d'huiles essentielles girofle (eugénol), eucalyptus, gaulthérie (salicylate de méthyl) (Pibiri,2006).

I.6.2. Toxicité dermique

Le large usage que font la parfumerie et la cosmétique de ces huiles essentielles a suscité de nombreux travaux sur leur éventuelle toxicité (aiguë ou chronique) par application locale. Tous les ouvrages traitant des huiles essentielles donnent des concentrations maximales, les évictions, et les mises en garde nécessaires. Le thym, l'origan, la sarriette sont connues pour leur pouvoir irritant, l'angélique et la bergamote sont photosensibilisantes, la cannelle est dermocaustique et allergisante pour les peaux sensibles (Pibiri, 2006).

I.6.3. Toxicité selon la composition

Certains auteurs (Franchomme et al 1990, Mailhebiau, 1994) se basent sur la composition des huiles essentielles et les toxicités relatives des familles biochimiques auxquelles elles appartiennent. Une utilisation prolongée des huiles essentielles à thuyones (thuya, absinthe, sauge officinale) est neurotoxique. Ces huiles, dont la liste n'est pas exhaustive, sont inscrites dans un décret du Code de la Santé Publique Française datant de 1986 visant à interdire leur vente en France. Certaines d'entre elles sont néanmoins en vente libre dans les autres pays européens moins restrictifs, la Suisse incluse (Pibiri, 2006).

I.6.4. Toxicité sur cellules animales ou humaines

Certaines huiles essentielles se révèlent cytotoxiques. Les huiles essentielles de thym et de lavande selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact (la toxicité du thym est augmentée par contact en phase liquide et réduite en phase gazeuse, alors que c'est l'inverse pour la lavande (**Inouye, 2003**), sont cytotoxiques pour des cellules de hamster chinois. Par ailleurs, des huiles essentielles de différentes variétés d'origan ont montré une forte cytotoxicité sur des cellules humaines dérivées de cancers (**Sivropoulou et al 1996**).

I.7. Les procédés d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles. Les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction (**Samate Abdoul, 2001**).

I.7.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est composée de hydro- en grec « eau » et de -distillation qui vient du latin stilla, « goutte » et de distillare (latin savant), « tomber goutte à goutte » (**Echchaoui, 2018**).

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple et la plus anciennement utilisée et normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité (**Benouali, 2016**).

Elle se produit dans l'appareil de Clevenger et consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (entier, coupé ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition (**Figueredo, 2007**). La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique (eau + huiles essentielles) et l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par différence de densité (**Zerbani, 2020**).

Le système équipé d'un cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger. Parfois un additif ionique est ajouté, il s'agit souvent de Na Cl qui permet d'augmenter la force ionique de l'eau et donc d'obtenir un meilleur rendement en huile essentielle. Les eaux aromatiques ainsi prélevées sont ensuite recyclées dans l'hydro distillateur afin de maintenir le rapport plante/eau à son niveau initial (**Echchaoui, 2018**).

La durée de la distillation est plus longue pour les organes de plantes ligneuses que pour les herbacées, cette différence est liée à la localisation des structures d'élaboration ou de stockage

des huiles essentielles pouvant être superficielles ou internes .De ce fait, elles ont une influence sur le déroulement de l'hydrodistillation, c'est-à-dire sur les mécanismes successifs mis en jeu, et par conséquent sur la durée (El kalamouni, 2010)(figure 4).



Figure4. Montage d'extraction par la technique d'hydrodistillation (Atmani-Merabet, 2018)

I.7.2. Entraînement à la vapeur d'eau

C'est la technique la plus couramment utilisée pour la fabrication des HEs. C'est la seule distillation préconisée par la Pharmacopée française, car elle minimise les altérations hydrolytiques (notamment des esters). Dans cette méthode, la matière végétale n'est pas en contact avec l'eau. Cette opération s'accomplit dans un alambic. Influx de vapeur d'eau traverse une cuve remplie de plantes aromatiques disposées sur Desplanques perforées. Le but consiste à emporter avec la vapeur d'eau, les constituants volatils de la plante aromatique (Laurent, 2017).

Les huiles essentielles sont généralement obtenues par distillation et entraînement la vapeur d'eau, cette opération s'accomplit dans un distillateur. Le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Ce courant de vapeur entraîne 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 essentielle et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat (Sarni et Yelles, 2017).

Les méthodes d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînés par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe. Sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans l'extracteur, l'essence se libère du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau. Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation.

I.7.3. L'hydro diffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie du temps, de vapeur et d'énergie (**Roux, 2008**)

I.7.4. L'expression à froid

Elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'encore des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique (**Roux, 2008**).

I.8. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

En raison de leurs diverses propriétés, les HES sont devenues une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance. En effet, elles sont commercialisées et présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels comme en pharmacie, en alimentation, en parfumerie et en cosmétiques (**Ouis, 2015**).

I.8.1. En parfumerie et cosmétologie

Les propriétés odoriférantes des huiles essentielles confèrent à ces dernières une consommation importante en parfumerie et en cosmétique. Elles présentent environ 60% des matières premières de l'industrie des parfums synthétiques, du parfum à base, des savons et des cosmétiques (**Chagra, 2019**). L'utilisation des HES dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et antioxydante, tout en leur assurant leur odeur agréable (**Ait Salem, 2016**).

Les huiles essentielles, matières premières par excellence des parfumeurs, sont classées en fonction de leurs odeurs. Ainsi les huiles essentielles de citron, de bergamote ou encore de lavande constitueront la note la plus éphémère, dite note de tête. Des essences fleuries comme celles de rose ou de néroli participeront à l'élaboration de la note de cœur. Enfin, la note de fond, la plus durable des trois, comportera plutôt des essences boisées ou épicées comme le santal ou la cannelle (**Deschepper, 2017**).

I.8.2. En dentisterie

Grâce à leurs propriétés aromatisants et antiseptiques, les HEs ont été largement utilisées dans les bains de bouche conçus pour l'hygiène buccodentaire. Les préparations à base du thymol, d'eucalyptol et du menthol sont parmi les plus utilisées depuis longtemps dans le monde, surtout aux États-Unis. Cependant, c'est juste en 1987 que les bains débouche préparée à base d'HE ont été approuvés par l'Association Dentaire Américaine(ADA), attribué à leur efficacité antimicrobienne et leur sûreté (**Benbelaid, 2015**).

I.8.3. En pharmacie

Les effets bénéfiques des composés volatils des huiles essentielles sont utilisés depuis fort longtemps par les anciennes civilisations pour soigner les pathologies courantes. Aujourd'hui, après avoir été délaissées pendant un temps par la médecine, le potentiel thérapeutique des huiles essentielles et de leurs constituants volatils est reconsidéré et les études qui leurs sont consacrées abondent dans la littérature scientifique (**Piochon, 2008**). L'industrie pharmaceutique utilise les huiles essentielles en raison de leurs pouvoirs : anti- infectieux, antiseptiques, cicatrisant, énergisant, antidouleur et anti-inflammatoire. Les huiles essentielles sont également utilisées pour l'aromatization déformés médicamenteuses destinées à la voie orale. Elles constituent également le support d'une thérapeutique particulière : l'aromathérapie (thérapie par les huiles essentielles des plantes aromatiques) (**Abdoul DorossoSamate, 2002**)

I.8.4. En agro-alimentaire

Les huiles essentielles sont utilisées comme condiments, aromates ou épices. C'est le cas des essences de gingembre, de girofle, de vanille, de basilic, de poivre et de citrus. Les huiles essentielles extraites de citrus, par exemple, trouvent leur utilisation dans la confiserie, les sirops, les biscuiteries. On note leur intégration aussi dans les boissons, les produits

laitiers, les soupes, les sauces, les snacks, les boulangeries ainsi que la nutrition animale (Abadlia et Chebbour, 2014).

I.9. Méthodes d'analyses et contrôle de qualité des huiles essentielles

Selon la pharmacopée française et européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques : indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants. La meilleure carte d'identité quantitative d'une huile essentielle reste cependant le profil chromatographie en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique et de rechercher d'éventuelles traces de produits indésirables tels des pesticides ou des produits chimiques ajoutés (Abbes, 2014).

Ces caractéristiques propres à chaque huile seront ensuite utilisées pour décrire l'huile essentielle et servir de critère de qualité.

Les méthodes de détermination des caractéristiques physico- chimiques à utiliser sont décrites avec précision dans le recueil de normes publiées par l'Association Française de Normalisation (AFNOR, 1996), elles-mêmes identiques aux normes internationales de l'ISO (Bouguera, 2012).

Deux autres types d'analyse qui ont pour but d'identifier les différents constituants de l'huile essentielle afin d'en connaître la composition chimique, la chromatographie en phase gazeuse GC et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/MS. La chromatographie en phase gazeuse GC est utilisée pour l'analyse quantitative et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/MS pour l'analyse qualitative (Sarni et Yelles, 2017).

La chromatographie est un procédé de séparation des constituants d'un mélange ; elle est devenue une méthode analytique de tout premier plan, pour identifier et quantifier les composés d'une phase liquide ou gazeuse homogène (Dridi, 2016).

I.9.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode d'analyse par séparation des composés gazeux ou vaporisables par chauffage sans décomposition. Elle permet ainsi l'examen de mélanges pouvant être très complexes et dont les constituants diffèrent tant par leur nature que par leur volatilité (Deschepper, 2017). La CPG est basée sur la répartition du produit analysé entre la phase gazeuse mobile et une phase liquide ou solide stationnaire.

Les substances séparées sont affichées sur le chromatogramme, et chaque piquets caractérisé par un temps de rétention et une surface permettant ainsi de déterminer l'identité et le pourcentage de chaque constituant (**Hessas et Simoud, 2018**).

Le produit à analyser est introduit dans l'injecteur. Il est volatilisé et entraîné par un gaz vecteur (N₂, H₂, He ou un mélange de H₂ /N₂). Le mélange traverse une colonne où s'effectue une opération entre les différents constituants. A la suite, ils sont captés par un détecteur (**Ouis, 2015**).

I.9.2. Couplage chromatographie phase gazeuse/spectrométrie de masse (CPG/SM)

D'un point de vue analytique, d'important progrès ont été réalisés en couplant la CPG avec un spectromètre de masse (SM). En effet, le couplage CPG-SM en mode impact électronique (IE), dit CPG-SM(IE), est la technique utilisée en routine pour l'analyse dans le domaine des huiles essentielles (**Sutour, 2010**). La chromatographie en phase gazeuse sépare des fractions moléculaires. La spectroscopie de masse utilise des sources énergétiques pour ioniser, fragmenter et enfin séparer les groupements moléculaires selon le rapport masse/charge électrique (m/q) (**Yaacoub et Tlidjane, 2018**).

Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse(CPG/SM) permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse des différents constituants d'un mélange complexe. Il existe deux modes d'ionisation : l'ionisation par impact électronique (IE) et l'ionisation chimique (IC). Dans ce dernier cas, on distingue l'ionisation chimique positive (ICP) et l'ionisation chimique négative (ICN) (**Paolini,2015**).

I.9.3. La spectrométrie de masse (SM)

Le spectromètre de masse est un appareil qui sert à établir les masses moléculaires et la structure des substances. L'identification du composé se fait en analysant les ions formés à partir de la substance (**Dridi, 2005**).

Le principe de la SM repose sur l'introduction d'un composé organique ionisé par bombardement électronique à 70 eV dans le spectromètre de masse. L'ion ainsi obtenu, appelé ion moléculaire, permet la détermination de la masse molaire du composé(**Echchaoui, 2018**). Comme la CPG, La spectrométrie de masse est une technique analytique qualitative et quantitative dont le domaine d'application est très étendu (**Hessaset Simoud, 2018**).

I.9.4. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une méthode analytique complémentaire de la CPG, intéressante par sa simplicité et sa mouillabilité. Elle autorise également une analyse sans chauffage et permet donc d'éviter d'éventuelles dégradations **(Deschepper,2017)**.

Elle repose principalement sur des phénomènes d'adsorption. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi- rigide en plastique ou en aluminium, les substances migrent, entraînées par la phase mobile composée d'un ou de plusieurs solvants. Ensuite, le repérage des molécules s'effectue soit par ultra-violet (UV), soit par un colorant spécifique ou encore par exposition aux vapeurs d'iode **(Echchaoui, 2018)**

Chapitre II

Les activités biologiques des huiles essentielles

II. Les activités biologiques des huiles essentielles

Les plantes aromatiques possèdent plusieurs activités biologiques, parmi lesquelles on peut citer les activités Fongicide, Insecticide, Herbicide, Bactéricide, Antioxydante...etc. Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, antioxydants, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses-(**Baser, K.H.C. and G. Buchbauer 2015, Lahlou, M.2004.**)

L'activité 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 l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (**Lahlou, M.2004**)

II.1. Activité antibactérienne

Un agent antimicrobien est une substance d'origine synthétique ou naturelle, utilisée pour la destruction ou l'inhibition de la croissance de micro-organismes, notamment des bactéries (**Courvalin, Pet al.,1990**)

Beaucoup de plantes aromatiques et leurs huiles essentielles montrent une activité antimicrobienne qui pourraient empêcher la croissance des microorganismes d'altération et pathogènes, améliorant de ce fait la sécurité alimentaire (**Sacchetti, G., et al. 2005**)(**de Souza, E.L., et al., 2006**).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est principalement liée à leur composition chimique, en particulier de leurs composés volatils majeurs. Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des HEs. Étant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des HEs ait son propre mécanisme d'action. Les caractéristiques des huiles essentielles sont attribuées aux dérivés trapézoïdes et phénylpropanoïdes dont elles sont constituées. L'activité de ces molécules bioactives dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées (**Guinoiseau, E. 2010**) (**Guinoiseau, E.. 2010**).

Les terpènes ainsi que les flavonoïdes peuvent pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne et induire sa rupture. Le contenu cytoplasmique est déchargé à l'extérieur de la cellule impliquant sa destruction (Wendakoon, C.N. and M. Sakaguchi 1995) (Tsuchiya, H., et al., 1996) Également, une perturbation chémo-osmotique et une fuite de potassium intracytoplasmique peuvent subvenir, suivi de la libération d'acides nucléiques, de L'ATP, et du phosphate inorganique. (Tsuchiya, H., et al., 1996) (Daroui-Mokaddem H. 2011). D'une manière générale, l'action des huiles essentielles se déroule en trois phases :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ;
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

II.2. Activité antifongique :

Dans le domaine phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (Lis-Balchin, M., 2003)

Les huiles essentielles agissent sur un large spectre de moisissure et de levure en inhibant la croissance des levures et la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures. L'étude de l'effet fongicide et fongistatique des huiles essentielles vis-à-vis de champignons pathogènes a fait l'objet de plusieurs travaux (Karaman, S., et al., 2001) (Duarte, M.C.T., et al., 2005) Comme pour l'activité antibactérienne, le pouvoir antifongique est attribué à la présence de certaines fonctions chimiques dans la composition des HEs. L'action antifongique de ces composées est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure

(Cox, S., et al., 2000). En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures (Knobloch, K., et al., 1989). Ils ont constaté également que les alcools et les lactones sesquiterpéniques avaient une activité antifongique

Chapitre III

Thymus vulgaris

III -*Thymus vulgaris*

III.1. Dénomination

Thymus vulgaris a été ainsi nommé par Carl Von Linné en 1753 et reste le nom utilisé par toutes les nomenclatures scientifiques. C'est une plante des pharmacopées méditerranéennes. Il a la particularité de présenter une diversité de chimio types très importante, ce qui lui confère ainsi une grande variété de constituants médicinaux. Les noms vernaculaires de l'espèce *Thymus vulgaris* sont les suivants :

Arabe : Zaateur, Zaatar, Zaitra

Français : thym commun, thym vulgaire, thym de jardins, farigoule et barigoule.

Allemand :Thymian, Echter Thymian, Garten thymian, RÖmischerthymian.

Anglais : common thyme, garden thyme (Teuscher et al., 2005).

III.2. Description morphologique

Thymus vulgaris est un petit sous-arbrisseau vivace, touffu et très aromatique de 7 à30 cm de hauteur, d'un aspect grisâtre ou vert-grisâtre (Figure 05).



Figure 05. La plante *Thymus vulgaris*

a. Les tiges

Elles sont ligneuses à la base, herbacées supérieurement, sont presque cylindriques. Ces tiges ligneuses et très rameuses sont regroupées en touffe ou en buisson très dense. Elles peuvent acquérir, vers leur base, une assez grande épaisseur (Figure 06).



Figure 06. Tige de *Thymus vulgaris*
(etienne.aspord.free.fr)

b. Les feuilles

Elles sont très petites, ovales, lancéolées, à bord roulés en dessous à nervures latérales distinctes, au pétiole extrêmement court, et blanchâtres à leur face inférieure (Figure 07).



Figure 07. Feuilles de *Thymus vulgaris*

c. Les fleurs

Elles sont presque roses ou presque blanches, font de 4 à 6 mm de longueur, réunies ordinairement au nombre de trois à l'aisselle des feuilles supérieures. Elles forment ainsi une sorte d'épi foliacé au sommet des ramifications de la tige (Figure 08).



Figure 08. Fleurs de *Thymus vulgaris*

III.3. Classification de *Thymus vulgaris*

La classification botanique de *Thymus Vulgaris* est la suivante :

- ♣ Règne : Plantae
- ♣ Sous-règne : Tracheobionta
- ♣ Embranchement : Magnoliophyta
- ♣ Sous-embranchement : Magnoliophytina
- ♣ Classe : Magnoliopsida
- ♣ Sous-classe : Asteridae
- ♣ Ordre : Lamiales
- ♣ Famille : Lamiaceae
- ♣ Genre : *Thymus*
- ♣ Espèce : *Thymus vulgaris* (Zeghad, 2009)

III.4. La composition chimique

Thymus vulgaris renferme une huile volatile, de couleur pâle, jaune ou rouge, avec une odeur riche, et aromatique et un goût persistant, corsé et épicé (Farrell, 1998). L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* est composée d'une quantité très variable en phénols dont le thymol et le carvacrol en sont les majeurs constituants. Elle contient également d'autres composants minoritaires comme présentés dans le tableau 02 (Abdelli, 2017).

Tableau 2 .Composition chimique de l'huile essentielle de *T. vulgaris* (Abdelli, 2017)

Espece	famille	composition
Thymus Vulgaris	Phynols	Thymol(30-70%)
		80-20%
	Alcools	Linalool (4 - 6.5%)
		α -terpinéol (7.8 – 8.9%)
	Monoterpènes Hydrocarbonés	p-cymène (15 – 20%)
		γ -terpinène (5 – 10%)
		Bornéole, camphre, limonène, myrcène, β -pinène, trans sabinène hydrate, terpinène-4-ol (0.5 – 1.5%)
	Sesquiterpènes	β -caryophyllène
	Hydrocarbonés	(1 – 3%)

III.5. Utilisation de *Thymus vulgaris* :

Thymus vulgaris est une des plantes aromatiques les plus populaires utilisées dans le monde. Il est largement utilisé dans le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle (Adwanet et al., 2006).

L'huile essentielle de cette plante est exploitée en aromathérapie et dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques (Tisserand, 2014). Elle entre dans la composition de divers produits pharmaceutiques tels que : les pommades antiseptiques et cicatrisantes, les émulsions, les cataplasmes, ainsi que, les gouttes, les sirops, les élixirs ou les gélules pour le traitement des affections des voies respiratoires ainsi que des préparations pour inhalation (Tiwari et Tandon, 2004 ; Zarzuelo et Crespo, 2002).

En raison de ses nombreuses propriétés ethno médicinales, *Thymus vulgaris* est utilisé comme stimulant, antiseptique, sédatif, stomatique, antitussif, antispasmodique,

antimicrobien, antioxydant, anti-inflammatoire, antiviral, carminatif, expectorant, diaphorétique et diurétique (**Johnson, 1998 ; Razzaghi-Abyaneh et Rai, 2013**)

Partie Expérimentale

Chapitre IV :

Matériel et méthodes

IV Matériel et méthode :

Ce présent travail a pour objectif l'extraction de l'huile essentielle, d'une plante aromatique et médicinale (*Thymus vulgaris*), et la mise en évidence de ses activités antibactérienne et l'activité antifongique. Les thématiques de ce travail ont été réalisés en partie, au laboratoire de recherche de la faculté des sciences biologiques de l'université de khemis Miliana et l'autre partie, a été réalisée Laboratoire privé du Dr Zibouche (Ain Defla).

Dans cette partie expérimentale, nous avons présenté deux axes de recherche :

- Le premier axe, est consacré à la réalisation des opérations suivantes :

1.le séchage de matériel végétal.

2.L'extraction de l'huile essentielles de la plante étudiée.

- Le deuxième axe, concerne :

1.L'étude du pouvoir antibactérien de différentes concentrations d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* vis-à-vis de différentes souches bactériennes.

2.L'étude du pouvoir antifongique de différentes concentrations d'huile essentielle vis-à-vis de la souche fongiques *Candida sp.*

IV.1. Description de la région de récolte

L'échantillonnage a été effectué dans une région propre, loin de tout impact de pollution. Al-Amra est une municipalité Algérienne (anciennement connue sous le nom de Khirba) située à environ 150 km à l'ouest d'Alger ; une des municipalités de wilaya de Ain Defla ; la chaîne de Dahra le sépare de la mer.(Figure 09).

Tableau 03. Les caractéristiques géographiques de la région de récolte de *Thymus vulgaris*.

Nom scientifique	Région de Récolte	Altitudes(m)	Latitude	Longitude	Date de Récolte
<i>Thymus vulgaris</i>	Al-Amra (wilayad'AinDefla)	255 m	N 36 °	E 1 °	23/03/2022

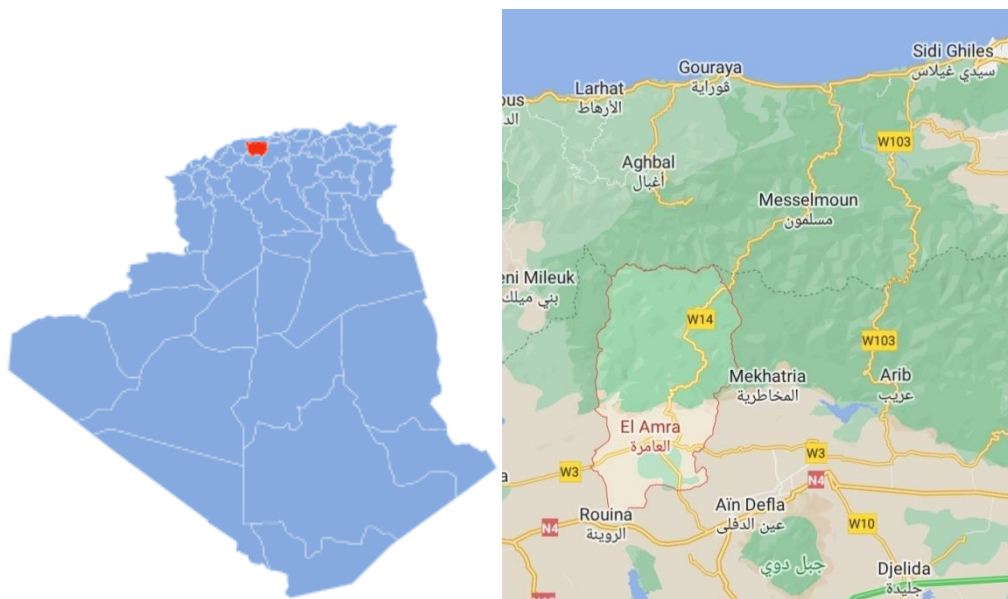


Figure 09. Situation de la zone d'étude

IV.2. Préparation du matériel végétal

Après la récolte, la plante a été séchée puis identifiée au laboratoire de recherche de l'université Khemis miliana .

Nous avons utilisé les parties aériennes qui sont séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant plusieurs jours. Après séchage, ils ont été sélectionnés et conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité en vue de leur utilisation pour l'extraction des huiles essentielles.

IV.3. Extraction de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*

L'extraction a été effectuée par hydrodistillation, avec un appareil de type Clevenger . On place dans un ballon d'un litre, une quantité de *Thymus vulgaris* séchée $m_0 = 50g$ (Figure 10), Immergée par un volume suffisant d'eau distillée (500ml) , le ballon est porté à ébullition pendant 1 heure (Figure 11), en réglant tout d'abord la température du chauffe ballon au maximum jusqu'à ce que le content du ballon bouillie , puis on diminue la température de moitié, ce qui entraîne l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales.



Figure 10. Une quantité de *Thymus vulgaris* séchée $m_0 = 50\text{g}$

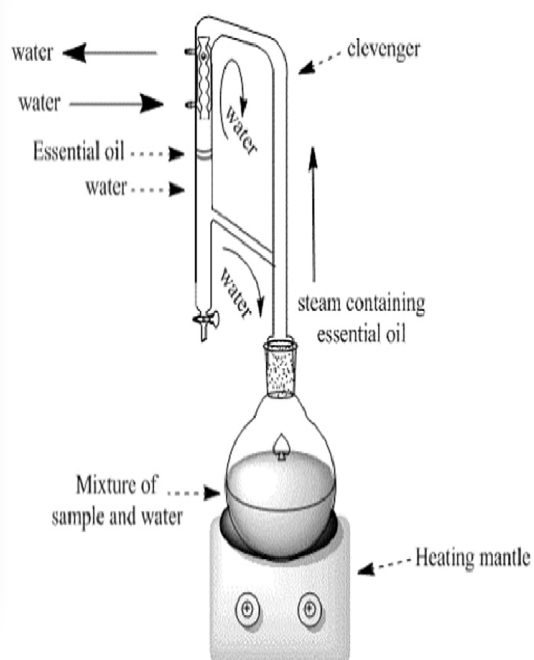
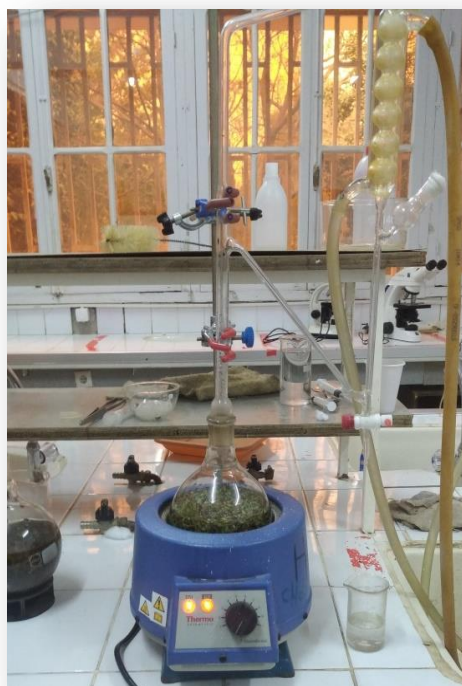


Figure 11. Montage de l'appareil Clevenger du procédé de l'hydrodistillation

Le mélange « eau +huile essentielle » est ensuite refroidi et condensé. Une fois condensées, eau et molécules aromatiques , du fait de leur différence de densité, se séparent en une phase aqueuse (présentée par l'hydrolat) et une phase organique (huile essentielle) (Figure12), qu'on va récupérer dans des tubes , puis conservée au frais et à l'abri de la lumière (Figure 13).

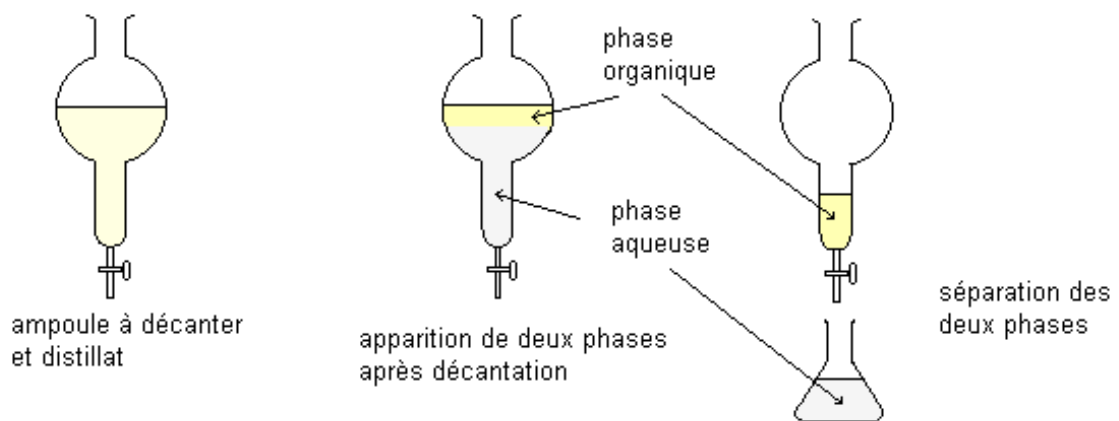


Figure12. Montage d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation



Figure 13. La conservation des huiles essentielles dans un tube a l'abri de la lumière.

IV.4. Détermination du rendement en huile essentielle

L'extraction par hydrodistillation des huiles essentielles de plantes étudiées a été menée chaque jour, pour définir la valeur maximale du rendement en fonction du temps de séchage et dans les mêmes conditions de travail. Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal utilisé pour cent. Après récupération de l'huile, le rendement est calculé par la formule suivante (**Belyagoubi-Larbi, 2006**) :

$$R=(m/M) *100$$

Avec :

m : masse d'huile essentielle récupérée (g).

M : prise d'essai du matériel végétal (g).

R : rendement en huile essentielle (en%) pour 100g de la matière végétale sèche.

IV.5. Étude des activités antimicrobiennes de l'huile de *Thymus vulgaris*

L'étude des activités antimicrobiennes de l'huile de *Thymus vulgaris* se fait par le test standard de sensibilité à la diffusion sur disque sur milieu solide et par la détermination de la concentration minimale d'inhibition CMI. (Ouis N. 2015).

IV.5.1. Diffusion sur disque de gélose

L'activité antimicrobienne a été évalué par la mesure en millimètres de la zone d'inhibition décroissance des isolats bactériens et fongiques testée de la zone d'inhibition de croissance testée

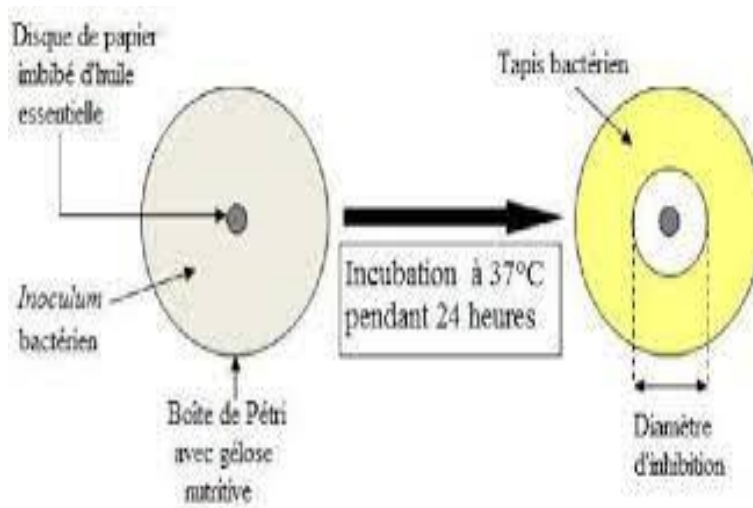


Figure 14. Principe de la diffusion des disques sur milieu gélosé

IV.5.1.1. Isolement des souches microbiennes

Les souches pathogènes choisies pour l'étude de l'activité antimicrobienne *in vitro* de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sont :

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ;
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ;
- *Escherichia coli* ATCC 25922 (Tableau 05)

Tableau 4. Les souches bactériennes isolées

Souches	Gram	Famille
<i>Escherichia coli</i>	-	Enterobacteriaceae
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Pseudomonadaceae
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Micrococcaceae

Et la souche fongique, *Candida sp.*

Ces souches ont été fournies gracieusement par le laboratoire du Dr Zibouche à Ain Defla

IV.5.1.2. Préparation des disques

Des disques de 6 mm de diamètre sont préparés à partir de papier filtre, mis dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave, 30 minutes à 120°C, puis stockés à la température ambiante (le tube à essai est hermétiquement fermé).

IV.5.1.3. Préparation des dilutions de l'HE

Une série de dilutions de l'huile essentielle dans le diméthyl sulfoxyde (DMSO) a été réalisée :

- Dans le premier tube, 500 µl d'huile essentielle et 500 µl de DMSO sont mélangés.
- 500 µl de la première dilution sont transférées dans le deuxième tube (1/4) auquel on rajoute 500 µl de DMSO, puis agiter.
- Des dilutions à 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 sont préparés de la même manière selon le schéma de la figure 15.

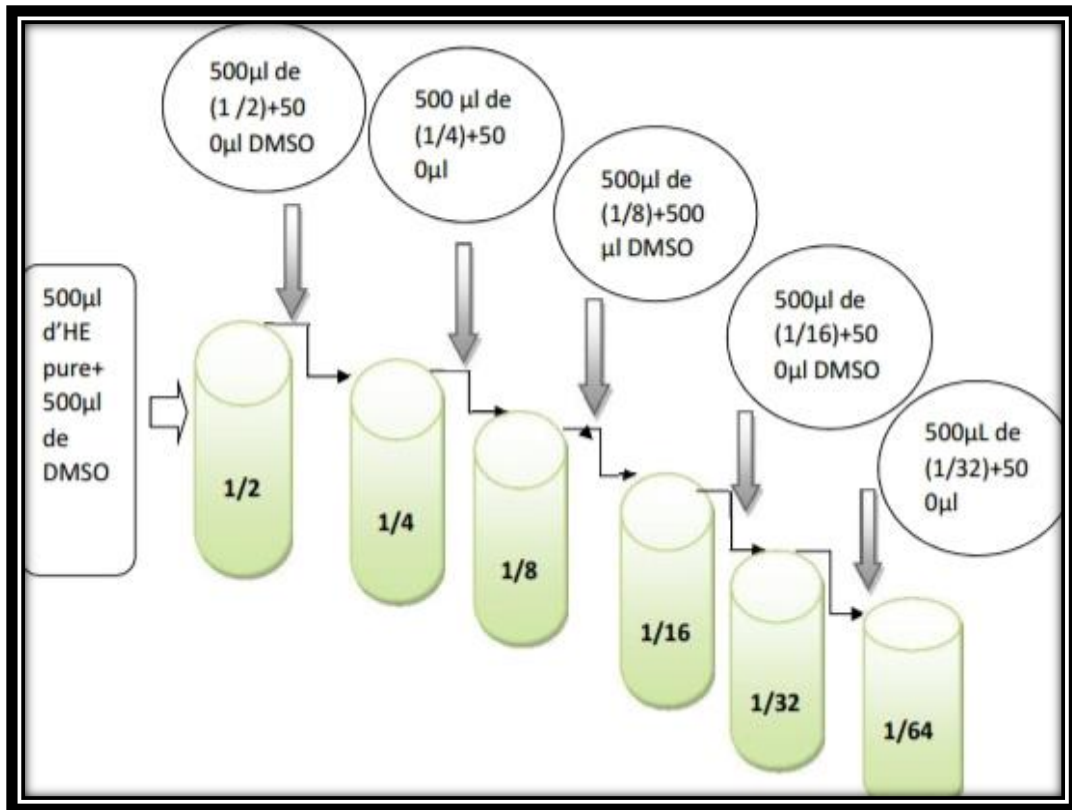


Figure 15. Préparation des dilutions de l'HE

IV.5.1.4. Préparation d' inoculum

- Dans la zone aseptique du bec bunsen et à partir d'une culture pure sur milieu gélose nutritive, racler à l'aide d'une anse quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches microbiennes à tester,
- Décharger l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile, Bien homogénéiser les suspensions microbiennes, cette suspension normalement doit être standardisé a une charge microbienne bien déterminé avant faire l'ensemencement sur milieu gélosé .
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum (Figure 16).



Figure16. Préparation d'inoculum

IV.5.1.5. L'Ensemencement et dépôt des disques

- La gélose nutritive liquide et stérile a été chauffée et versée dans chaque boîte de Petri.. Après refroidissement et solidification de la gélose, un écouvillon a été trempé dans la suspension microbienne.
- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (Figure 17).
- Des disques de papier de 6mm, préalablement préparés sont imprégnés d'une quantité d'huile essentielle à différentes doses, et sont déposés sur la surface de la gélose inoculée.
- Des disques non imbibés, servant de témoins négatifs, sont aussi déposés sur la surface de la gélose inoculée (Figure18).

Les boîtes de Petri (Figure19) ont été incubées à l'étuve à 37 °C pendant 24 h pour les souches bactériennes, et pendant 48 à 72 h pour la souche fongique.



Figure 17. Ensemencement des souches microbiennes



Figure 18. Dépôt des disques

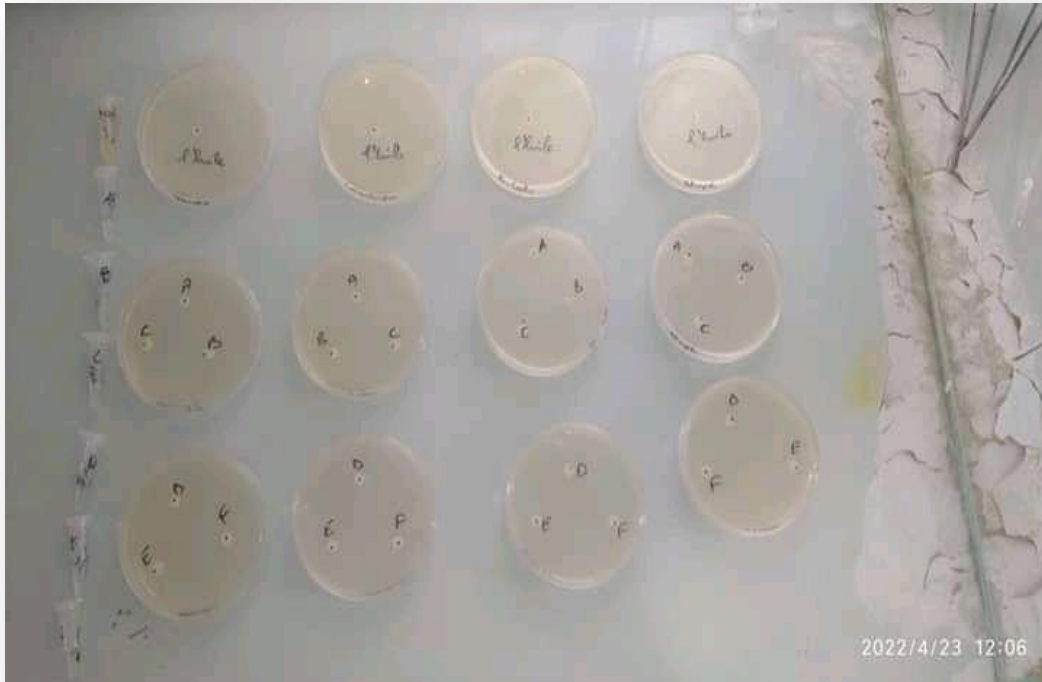


Figure 19.les échantillons obtenus à partir du processus de diffusion

IV.5.1.6. Lecture

Après l'incubation, les diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque (diamètre de la zone d'inhibition plus le diamètre des disques) ont été mesurés. Pour chaque dose et chaque souche, trois répétitions ont été menées et la moyenne des mesures a été enregistrée.

La sensibilité des souches aux agents antimicrobiens a été classée en fonction des diamètres des zones d'inhibition « D » comme suit (**Djeddi S et al ; 2007**) :

- (-) souche résistante ($D < 8$ mm)
- (+) souche sensible ($9\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$) ;
- (++) souche très sensible ($15\text{mm} \leq D \leq 19$ mm) ;
- (+++) extrêmement sensible ($D > 20$ mm).

IV.5.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrice (CMI)

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) correspond à la plus faible concentration de l'huile essentielle inhibant toute croissance microbienne visible à l'œil nu. Elle est réalisée, pour chaque espèce ayant montrée une sensibilité à l'égard de l'huile essentielle lors de l'essai précédent, par la technique de dilutions en milieu solide (**Boualem s, Boumrar s .2016**). Dans la présente étude, on n'a malheureusement pas pu réaliser ce test, faute de temps et de moyens.

Chapitre V :
Résultats et discussions

V.1. Le rendement en huiles essentielle de *Thymus vulgaris*

Le rendement moyen en huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur la base de 4 extractions successives par hydrodistillation a été de 3.5 g d'huile/100 g de feuilles séchées. L'huile était jaune clair avec une odeur agréable.

Les rendements en huile essentielle de l'espèce *T. vulgaris* rapportés par différentes études sont résumés dans le tableau 06. Selon ces mêmes études, les rendements varient d'un pays à un autre et pour le même pays, d'une région à une autre, ceci pourrait être lié à plusieurs facteurs, à savoir les conditions climatiques, la partie de la plante étudiée, le stade phénologique de la plante, la période de récolte, l'état du matériel végétal (frais ou sec) et la procédure d'extraction.

Le plus faible rendement enregistré est celui de l'espèce Brésilienne avec un rendement de 0.25% (Alexandre et al., 2007) et le rendement le plus élevé, est celui de l'espèce Jordanienne, avec 5% de rendement (Hudaib et Aburjai, 2007) Pour les espèces Algériennes, la région de Tlemcen enregistre le rendement le plus élevé, avec 4.2% (Abdelli, 2017). Le rendement de l'espèce étudié (3.5%) s'approche de celui cité dans la littérature, pour les régions Algériennes.

Tableau 05. Les rendements en H.E de *T. vulgaris* d'Algérie et de différentes régions du monde

<i>Rendement (%)</i>	<i>Origine</i>	<i>Références</i>
4,2	Algérie (telemcen)	Abdelli, 2017
2,2	Algérie(Mosaganem)	Abdelli, 2017
1,15	Algérie(M'Sila)	Binata et Dikes, 2018
1,58	Algérie(Blida)	Bouguerra et al., 201
2	Algérie(Relizane)	Djrourou et Habouchi, 201
1.31	Algérie(Chlef)	Benbouali, 2006
1.12	Algérie(Tizi Ouzou)	Aoamari et sehaki, 201
2.7	Algérie(Ain Defla)	Sidali et al., 2014
1.42	Algérie(Setif)	Nedjai et Nedjai , 201
1.18	Algérie (Tiaret)	Hassani et al., 2017
0.9	Cameroun	Ahmia et Fethallah, 2020
1.6	Turquie	Shazia et al., 2011
1	Maroc	El-Akhal et al., 2014
0.5	Maroc	El Ouali Lalami et al.,2013
1.6	France	Satyal et al., 2016
0.25	Brésil	Alexandre et al., 2007
0.81	Iran	Pirbalouti et al., 2013
5.0	Jordanie	Hudaib et Aburjai, 2007
1.25	Roumanie	Borugă, 2014

V.2.Determination de l'activité antimicrobienne de l'huile de *Thymus vulgaris* sur certains agents pathogènes isolés par la technique de diffusion des disques sur milieu gélosé

La sensibilité des différentes souches microbiennes se traduit par un halo transparent (absence de croissance microbienne) autour du disque imprégné du composé testé. Le diamètre du halo est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (Figure 20 et Figure 21)



Figure 20. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle pure de *Thymus vulgaris* sur *Pseudomonas aeruginosa* (a), *Staphylococcus aureus* (b), *Esherichia coli* (c), *Candida sp*

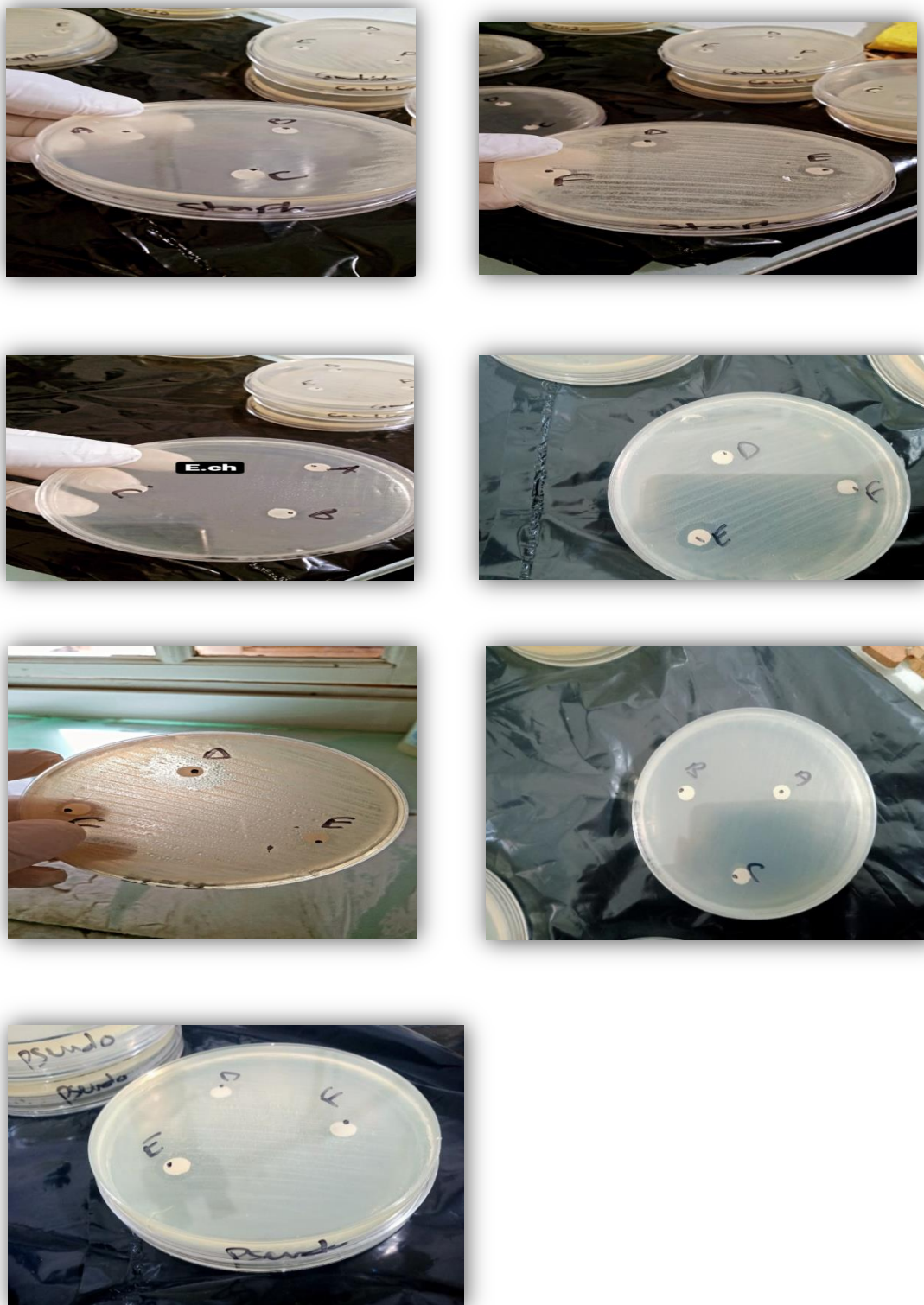


Figure 21. Activité antimicrobienne des différentes dilutions de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur *Pseudomonas aeruginosa* (a), *Staphylococcus aureus* (b), *Esherichia coli* (c), *Candida sp.*

Les résultats du test de diffusion des disques sur milieu gélosé concernant les zones d'inhibition de la croissance des isolats bactériens et fongiques testés contre diverses concentrations (15.6 à 1000 $\mu\text{l/ml}$) d'huile de *Thymus vulgaris* sont résumés dans le tableau 08. Dans ce test, les zones d'inhibition supérieures à 8mm de diamètre ont été considérées comme des résultats positifs.

Tableau 06. Activité antimicrobienne de l'huile de *T.vulgaris* sur certains agents pathogènes isolés par des test de diffusion sur disques de gélose

Huile de <i>T.vulgaris</i> ($\mu\text{l/ml}$)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i> (mm)	<i>Esherichia coli</i> (mm)	<i>Candida sp</i> (mm)
1000 (Pure)	0mm	65mm	35mm	60mm
500	0mm	60mm	35mm	40mm
250	0mm	40mm	28m	40mm
125	0mm	32mm	24mm	40mm
62.5	0mm	20mm	16mm	8mm
31.25	0mm	12mm	10mm	8mm
15.6	0mm	11mm	9mm	00mm

Les données présentées dans cette étude ont révélé une forte activité inhibitrice de l'huile de *Thymus vulgaris* sur certains agents pathogènes, notamment *S. aureus*, *E. coli* et *Candida sp.*

Aux concentrations de 31.25 à 1000µl/ml, tous les isolats microbiens se sont révélés sensibles et ont produit des zones d'inhibition allant de 8 à 42 mm de diamètre, sauf *P. aeruginosa*, qui semble résister au traitement, Le test de diffusion des disques sur le milieu gélosé n'a montré aucune activité inhibitrice sur cette même espèce.

En revanche, toutes les souches de *S. aureus* et *E. coli* étaient sensibles à la dose de 15.6µl/ml de l'huile de *Thymus vulgaris*, produisant des zones d'inhibition de croissance allant de 9 à 11 mm, cette sensibilité est proportionnelle à la concentration en huile essentielle. *Candida sp* se révèle sensible au traitement à partir d'une concentration de 31.25, avec une zone d'inhibition de 8mm et avec une augmentation de la zone d'inhibition à partir de la concentration de 125 µl/ml.

Les données présentées dans cette étude ont révélé une forte activité inhibitrice de l'huile de *Thymus vulgaris* sur certains agents pathogènes notamment *S. aureus*, *E.coli* et *Candida sp*, telle que mesurée par la méthode de diffusion sur disque . Pour la même concentration (125 µl/ml), *Candida sp* était l'espèce la plus sensible à l'huile de *Thymus vulgaris* car elle produisait les zones d'inhibition de croissance les plus larges (40 mm), suivie de *S.aureus* (32 mm) , et en fin *E.coli* (28 mm), en revanche, à la concentration de 1000µl/ml, *S.aureus* était l'espèce la plus sensible à l'huile de *Thymus vulgaris*, car elle produisait les zones d'inhibition de croissance les plus larges (65 mm), suivie de *Candida sp* (60 mm) , et en fin *E.coli* (35 mm).

Selon **Sidali et al (2014)**, l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* présente une activité antimicrobienne intéressante vis-à-vis des bactéries et levure testées sauf *SP. Sterptococcus* qui se révèle un peu résistante avec une concentration minimale d'inhibition de 75% (V/V), Ainsi, la concentration de 25% (V/V) a été suffisante pour arrêter la croissance des autres bactéries testées (*Staphylococcus aureus*, *Klebsciella* et *E.coli*), avec des zones d'inhibition de 13,10 et 10 mm respectivement.

Selon les mêmes auteurs, une concentration de 25%(V/V) était suffisante pour inhiber la croissance de la levure testée, *Candida albicans* qui a montré une zone d'inhibition de croissance de 10 mm. L'huile de *Thymus vulgaris* a montré une activité inhibitrice contre *Pseudomonas aeruginosa* avec une zone d'inhibition de 10 mm (**Boukhatem et al,2014**), tant dis que l'huile essentielle utilisée dans notre étude n'a révélé aucun pouvoir inhibiteur contre cette même espèce .Les données présentées dans l'étude de **Fani et Kohanteb (2017)**, ont révélé une forte activité inhibitrice de l'huile de *Thymus vulgaris* sur certains agents pathogènes oraux, notamment *S. pyogènes* .*S.mutans* .*C.albicans* .*A.actinomycetemcomitans* et *P.gingivalis* .

Les *S .pyogènes* isolés de patients atteints de pharyngite étaient les souches les plus sensibles à l'huile de *Thymus vulgaris* car ils produisaient les zones d'inhibition de croissance les plus larges ($42 \pm 0,8$ mm) et la concentration minimale inhibitrice la plus faible ($1,9 \pm 0,2$ µg/ml). Selon la même étude, une forte activité inhibitrice de l'huile de *Thymus vulgaris* avec une concentration minimale inhibitrice de $3,6 \pm 0,9$ µg/ml sur des isolats cliniques de *S.mutans* est enregistrée.

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* est due aux différents agents chimiques présents dans cette essence, y compris en particulier le Carvacrol, qui est classé comme composé antibiotique très actif (**Sid ali et al 2014**). Les divergences dans les valeurs de concentration minimales inhibitrices et le pouvoir antimicrobien signalées par différents chercheurs de diverses régions sont principalement attribuées au fait que la composition chimique de l'huile de *Thymus vulgaris* et les concentrations en ingrédients actifs (thymol, carvacrol, P-cymène, etc.) sont largement déterminées par le génotype de la plante et l'influence de facteurs environnementaux, notamment les conditions géographiques, la nature du sol, la température, la saison de collecte et de récolte des plantes, etc, ainsi que la procédure d'extraction de l'huile(**Al maqtari et al.,2011**).De part de la forte activité antimicrobienne in vitro de l'huile de *Thymus vulgaris* sur des isolats cliniques de *S. pyogenes* , *S mutans* , *C albicans* , *A actinomycetemcomitans* et *P gingivalis* , celle-ci pourrait être utilisée dans les bains de bouche, les dentifrices ou l'aromathérapie pour la prévention et traitement des infections buccales associées (**Fani et Kohanteb ,2017**).

Conclusion

Conclusion générale

Conclusion générale:

De nos jours, les huiles essentielles sont des substances très sollicitées dans divers domaines. La thérapeutique médicale étant le domaine dans lequel elles sont le plus prometteuses avec leur activité antimicrobienne, qui peut être mise à profit face aux résistances bactériennes qui ne cessent d'augmenter.

Dans le présent travail, on s'est intéressé à l'étude de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*, plante largement utilisée en médecine traditionnelle à travers le monde entier.

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris*, extraite par hydrodistillation, a été testée in vitro par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé, pour leur pouvoir inhibiteur, contre un ensemble de bactéries pathogènes : *P. aeruginosa* , *S.aureus* , *E.coli* et une seule espèce de levure *Candida sp.*

L'huile essentielle a témoigné une activité antimicrobienne variable contre les différentes souches microbiennes testées, à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*, qui s'est révélée résistante.

D'après ces résultats, on peut dire que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* mérite une étude plus approfondie pour mieux exploiter leurs propriétés.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- 1-Abadlia, M et Chebbour, A.H. (2014).** Contribution à l'étude des huiles essentielles de la plante menthapiperita et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires. Mémoire de Master, Université Constantine 1, Algérie
- 2-Abbes, A. (2014).** Évaluation de l'activité anti oxydante des huiles essentielles d'ammoidesverticillata« Noukha » de la région de Tlemcen. Mémoire de Master, Université Abou BakrBelkaid, Tlemcen, Algérie
- 3-Abdelli,W. (2017).**Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de Juniperusphoenicea et de Thymus vulgaris. Thèse de Doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem, Algérie.
- 4-Adwanet G., Abusafieh D., Aref R., Omar J.A. (2005).**Prevalence of microorganisms associated with intrammary infection in cows and small ruminants in the north of Palestine. Jornal of Islamic, University of Gaza, Palestine.
- 5- Ahmia, S etFethallah, F. (2020).**Inventaire de quelques Lamiacées et caractérisation de l'huile essentielle de Thym (Thymus vulgaris) dans différentes régions. Mémoire de Master. Université de Blida1, Algérie.
- 6- Ait Salem, L. (2016).** Évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de Pinussylvestris et Pelargoniumasperum en combinaison avec la nisine sur des bactéries pathogènes. Mémoire de master. Université MoulodMameri, Tizi Ouzou, Algérie.
- 7-Alexandre, P et Ronoel, L.O. (2007).**Chemical composition of Thymus vulgaris L. (thyme)essential oil from the Rio de Janeiro state. Journal of the Serbian chemical society, 73(3): 307-310.
- 8-Ali Ahmad Al Maqtari M, Alghalibi SM, Alhamzy EH.** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* du Yémen . *Turc J Biochem* . 2011 ; 36 : 342–349.
- 9 -Aomari, L et Sehaki, C. (2018).** Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle de thym. caracterisation et evaluation de l'activite antimicrobienne. Mémoire de Master, Université Mouloud mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie.
- 10-Attou, A. (2017).** Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles deQuatre Plantes Aromatiques de l'Ouest Algérien (Région d'Ain T'émouchent). Etude de Leurs Activités Anti oxydante et Antimicrobienne. Thèse de Doctorat, Université Abou BekrBelkaid Tlemcen, Algérie.
- 11-Barbelet, S. (2015).** Le giroflier : historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle. Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, Luxembourg.

Références bibliographiques

12- Baser, K.H.C. and G. Buchbauer, Handbook of essential oils: science, technology, and applications. **2015**: CRC press.

13-Benbouali, M. (2006). Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de : " Mentharotundifolia & Thymus vulgaris". Mémoire de Magister, Université Hassiba Ben Bouali –Chlef, Algérie.

14-Belyagoubi-Larbi M. (2006) ; « Effet de quelques essences végétale sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales » ; thèse de magister ; université d'Abou Berk Belkaid ; Tlemcen ; 2006.

15-Benouali, D. (2016). Extraction et identification des huiles essentielles. Mémoire de Master, Un **Benbelaid, F. (2015)**. Effets des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur *Enterococcus faecalis* responsable d'infections d'origine dentaire. Thèse de Doctorat .Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie

16-Binate, G et Dikes, L. (2018). Etude de l'effet antibactérien et prébiotique des extraits de *Thymus vulgaris* et de *Thymus serpyllum*. Mémoire de Master, Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana, Algérie

17-Boualem S, Boumrar Silia. Formulation d'un gel désinfectant à base de l'huile essentielle de Romarin (*Rosmarinus officinalis* L) et évaluation de son activité antimicrobienne. [Mémoire] Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou. 201

18-Boucekrit, M. (2018). Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles de deux Apiaceae *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol. et *Margotia gummiifera* (Desf.) Lange. Mémoire de Doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie.

19-Bouguerra, A. (2012). Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Mémoire de Magistère, Université Mentouri Constantine 1, Algérie. Université des sciences et de la technologie d'Oran, Algérie

20-Boukhatem MN, Ferhat MA, Saidi F. Valorisation de l'essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris* L.) en aromathérapie anti-infectieuse. ISSN 2028-9324 Vol. 8 No. 4 Oct. 2014, pp. 1418-1431.

21-Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Tec & Doc. Lavoisier, Paris, p 1120..

Références bibliographiques

- 22-Chagra, K. (2019).** Etude les propriétés physico-chimiques et biologique de clou du girofle (*Syzygium aromaticum* L.). Mémoire de Master, Université Mohamed Khider, Biskra, Algérie
- 23-Ch Bekhechi, F AtikBekkara and Dj E Abdelouahid, F Tomi, J Casanova.** Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii* Boiss et Reut from Algeria. *Jornal of Essential Oil Research*, 19, 594–596 (November/December 2007).
- 24-Courvalin, P., et al., Bactericide,** Aspects théoriques et thérapeutiques. 1990:p.110.22-Cox, S., et al., The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of applied microbiology*, **2000**. 88(1): p. 170-175
- 25-Daroui-Mokaddem H.,** Etude phytochimique et biologique des especes : *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniolumolusatrum* (Apiaceae), *Asteriscusmaritimus* et *Chrysanthemum trifurcatum*(Asterarceae). **2011**.Thèse de doctorat, Université Badji-Mokhtar, Annaba
- 26-Deschepper, R. (2017).** Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de lanotion de chémotype en aromathérapie. Mémoire de Doctorat, Université d'Aix
- 27-Desramaux, M. (2018).** Huiles essentielles en dermocosmétologie. Sciences Pharmaceutiques, édition Dumas.-Marseille,France.
- 28-Djrourou, M et Habouchi, S. (2018).** Etude de l'activité insecticide des extraits méthanoïques et huiles essentielles de *Sinapis arvensis* et *Thymus vulgaris* sur les larves de *Aphis spiraeicola* (Patch). Mémoire de Master, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Algérie
- 29-Dridi, F. (2005).**Extraction et analyse de l'huile essentielle de cumin formulation d'unepommade décongestionnante. Mémoire de Magistère, Université M'hamedBouguerra,Boumerdes, Algérie.
- 30-Duarte, M.C.T., et al.,** Anti-Candida activity of Brazilianmedicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 2005. 97(2): p. 305-311.
- 31-Echchaoui, M. (2018).** Le Pouvoir antibactérien des huiles essentielles. Thèse de Doctorat,Université Mohammed V-Rabat, Maroc.
- 32-El-akhal H., Greche F., OuazzaniChahdi R., Guemmouh A., El Ouali Lalami A. (2015).**Chemical composition and larvicidal activity of *Culex pipiens* essential oil of *Thymus vulgaris* grown in Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6(1): 214-219.

Références bibliographiques

- 33-El kalamouni, C. (2010).** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Mémoire de Doctorat, Université de Toulouse.
- 34-El oualilalami A., El-AKhal F., Ouedrhiri W., OuazzaniChahdi F., Guemmouh R., Greche H. (2013).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain: *Thymus vulgaris* et *Thymus satureioidis*. Les technologies de laboratoire, 8: 31
- 35-Fani M et Kohanteb J.** Activité antimicrobienne in vitro de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* contre les principaux agents pathogènes oraux. J Evid Basé Complémentaire Altern Med. 2017 ; 22(4): 660–666.
- 36-Figueroa, G. (2007).** Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Mémoire de Doctorat, Université Blaise Pascal, France
- 37-Johnson, T. (1998).** CRC Ethnobotany Desk Reference. CRC Press, p 122.
- 38-Hassani A., Sehari N., Sehari M., Bouchenafa N.1., Labdelli F., Kouadrie M. (2017).** Etude des propriétés insecticides et bactéricides de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. dans la lutte contre les ravageurs des semences et denrées stockées. Revue Écologie-Environnement (13), ISSN: 1112-5888.
- 39-Hessas, T et Simoud, S. (2018).** Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *thymus* sp. Mémoire de Doctorat, Université Mouloud Mameri Tizi-Ouzou, Algérie
- 40-Hudaib, M et Aburjai, T. (2007).** Volatile components of *Thymus vulgaris* L. from wildgrowing and cultivated plants in Jordan. Flavour and fragrance journal, 22: 322–
- 41-Guerrouf A. (2017).** Application des huiles essentielles dans la lutte microbiologique dans un cabinet dentaire. Mémoire de Master, Université Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie.
- 42-Guinoiseau, E.,** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. 2010, Thèse de doctorat . Université de Corse.
- 43-Karaman, S., et al.,** Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. Journal of Ethnopharmacology, 2001. 76(2): p. 183-186.
- 44-Knobloch, K., et al.,** Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. Journal of Essential Oil Research, 1989. 1(3): p. 119-128

Références bibliographiques

- 45-Lahlou, M.**, Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, **2004**. 18(6): p. 435-448.
- 46-Lakhder, L. (2015)**. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur aggrégats bactériens et fongiques : Etude in vitro. Thèse de Doctorat, Université de médecine dentaire de Rabat, Maroc.
- 47-Lamamra, M. (2007)**. Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarrasicula* (L.) Parl. Et de *Filipendula hexapetala* Gibb. Mémoire de Magistère, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie.
- 48-Laurent, J. (2017)**. Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Mémoire de Doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse, France. I:10.163.pcbsj/2014.8.3.156
- 49-Lis-Balchin, M.**, Lavender: the genus *Lavandula*. **2003**: CRC press.
- 50-L. sidali, M. brada, M-L fauconner & G. lognay**. Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* du Nord d'Algérie. Publié par *PhytoChem&BioSub Journal*. Vol. 8(3) 2014 ISSN 2170-1768.
- 51-Mebarki, N. (2010)**. Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse - antimicrobienne. Thèse de Doctorat, Université M'hamed Bougara, Boumèdes, Algérie
- 52-Nedjai, I. Nedjai, S. (2017)**. Activité antimicrobienne des huiles essentielles. Mémoire de Master, Université A. MIRA – Bejaia, Algérie
- 53-Ouis, N. (2015)**. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, fenouil et de persil. Thèse de Doctorat, Université d'Oran 1, Algérie.
- 54-Piochon, M. (2008)**. Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse, Université du Québec, Chicoutimi.
- 55-Pirbalouti A.G., Hashemi M., Ghahfarokhi F.T. (2013)**. Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris*.
- 56-Rahmouni, M. (2014)**. Contribution à l'étude de l'activité biologique et la composition chimique des huiles essentielles de deux Apiacées (*Ferula vesceritensis* Coss et DR et *Balanseaglaberrima* Desf.) Lange. Mémoire de Master, Université Ferhat Abbas – Sétif 1. Algérie

Références bibliographiques

- 57-Sacchetti, G., et al.**, Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Journal of Food chemistry*, **2005**. 91(4): p. 621-632.
- de Souza, E.L., et al., Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. *Rev. Bras. Farm*, 2006. 87(1): p. 22-25.
- 58-Saty P., Murray B.L., McFeeters R.L., Setzer W.N. (2016)**. Essential Oil Characterization of *Thymus vulgaris* from Various Geographical Locations. *Foods*, 5, 70. *Industrial Crops and Products* 48, 43–48.
- 59-Sarni, T et Yelles, D. (2017)**. Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Cedrus atlantica* et *Origanum compactum* : application sur la tomate. Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, Algérie.
- 60-Shazia S., Muzafar G., Wagay. (2011)**. essential oil composition of *thymus vulgaris* L. and their uses. *J essent oil res*, 16: 69-
- 61- Sidali L., Brada M., Fauconnier M.L., Lognay G. (2014)**. Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* du Nord d'Algérie. *PhytoChem&Biosub Journal*, 8(3):10-163
- 62-Sutour, S. (2010)**. Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats. Mémoire de Doctorat, Université de corse pascal Paoli.
- 63-Teuscher E., Anton R., Lobstein A. (2005)**. Plantes aromatiques Epices, aromates, condiments et huiles
- 64- Tisserand, M. (2014)**. Aromatherapy vs MRSA: Antimicrobial essential oils to combat bacterial infection, including the superbug. *Singing Dragon*, p 192 essentielles. Tec & Doc. Lavoisier, Paris, p 521.
- 65-Tiwari, M et Tandon, V. 2004**). *Medicinal plants*. Vol 2, Gyan Publishing House, p653.
- 66-Tsuchiya, H., et al.**, Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of ethnopharmacology*, **1996**. 50(1): p. 27-34.
- 67-Veyrone, P. (2019)**. Place des huiles essentielles en dermo-cosmétique. Thèse de Doctorat Marseille Université, France.
- 68-Wendakoon, C.N. and M. Sakaguchi**, Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal of Food Protection*, **1995**. 58(3): p. 280-283.
- 69-Yaacoub, R et Tlidjane, I. (2018)**. Caractérisation physico-chimiques et analyses biologiques de l'huile essentielle des grains de *Cuminum cyminum* L. et de

Références bibliographiques

Foeniculumvulgare Mill. Extraite par hydrodistillation et CO2 supercritique : Etude comparative. Mémoire de Master, Université Larbi Ben M'hidi, Oum-El- Bouaghi, Algérie.

70-Zerbani, G. (2020). Caractéristiques physico-chimiques antimicrobiennes d'un savon additionné à l'huile essentielle de citron (Citrus limon). Mémoire de Master, Université de Ghardaïa, Algérie.

71-Zeghad, N. (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinusofficinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne. Diplôme de Magister, Université des Frères Mentouri, Constantine. Algérie.