



*République Algérienne Démocratique et Populaire*

*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

**UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA**  
**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**  
**DEPARTEMENT DESSCIENCES AGRONOMIQUES**

**MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER ACADEMIQUE**

**FILIERE : *Biotechnologie***

**OPTION : *Biotechnologie végétale***

**Thème**

**Étude de l'activité antioxydante  
et antibactérienne des huiles  
Essentielles du genre *Thymus***

**Présenté par :**

Ledmi Kalthoum et Rachaa Bahi

*Soutenu le : 23/06/2024*

**Mémoire de Master académique soutenu devant le jury composé de :**

<b>Président</b>	<b>Mr Khaled RAHEL</b>	<b>MAA</b>	<b>Univ. Abbès Laghrou – Khenchela</b>
<b>Encadreur</b>	<b>Mme Ouassila ZITOUNI</b>	<b>MAA</b>	<b>Univ. Abbès Laghrou – Khenchela</b>
<b>Examineur</b>	<b>Mme Soumia BENCHELALI</b>	<b>MCB</b>	<b>Univ. Abbès Laghrou – Khenchela</b>

**Année universitaire 2023/2024**

---

## *Remerciements*

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer *et* de terminer ce mémoire.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Madame **Ouassila zitouni**, on la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nos remerciements sont adressés aux membres de jury : Docteur **Rahal Khaled** et Docteur **BENCHELALI Soumia**, qui ont bien voulu nous honorer par leur présence.

Notre remerciement s'adresse à Monsieur **Rahal Khaled** pour son aide pratique et son soutien moral et encouragements.

Notre remerciement s'adresse également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques professionnel

---

## *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 mes chères sœurs, mes chers frères pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

à mon mari yaakoub qui est toujours avec moi

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible.

Merci d'être toujours là pour moi.

Rachaa

---

## *Dédicaces*

Celui qui dit "je suis prêt" l'obtient. Le voyage n'a pas été court, et il ne devait pas l'être. Le rêve n'était pas proche, et le chemin n'était pas pavé de facilités, mais je l'ai fait et je l'ai obtenu. Grâce à Dieu, avec amour, gratitude et reconnaissance, me voici aujourd'hui, voyant un rêve longtemps attendu devenir une réalité dont je suis fier.

Je dédie ce succès d'abord à moi-même, ambitieuse dès le début et terminant par la réussite. À tous ceux qui ont contribué à l'achèvement de mon parcours universitaire.

À mon ange pur et ma force après Dieu, mon premier et éternel soutien, "ma mère", je te dédie cette réussite qui n'aurait pas existé sans tes sacrifices. Je suis reconnaissante que Dieu t'ait choisie pour moi parmi les êtres humains. Maman, meilleur soutien et substitut, à toi, cher cœur présent en esprit mais absent physiquement, toi qui étais aimant, ami et soutien, mon père, il n'y avait personne comme toi dans ce monde.

Aux morts vivants dans le cœur mais qui ne peuvent le sentir, ma grand-mère "Aïcha".

À l'épaule sur laquelle je peux toujours compter, et l'ombre sous laquelle je me réfugie, aux cœurs battant d'un amour sincère, aux piliers stables de la vie, à mes sœurs Mariam, Rabaab, Meriem, et mes cousines Shahinaz, Manal, Rayan, Chahd.\*\*

À celui qui a tendu la main sans relâche, mon frère "Tehami", que Dieu te garde un pilier stable pour moi  
À ceux qui m'ont soutenue avec amour dans mes moments de faiblesse, enlevant de mon chemin toutes les difficultés, préparant le chemin, plantant en moi la confiance et la détermination, mes soutiens et l'épaule sur laquelle je m'appuie toujours, mes tantes Hadda, Hadja, Samia, Gazia, mes oncles Ali et Fahim.\*\*

À mes compagnons du premier pas et du dernier pas avant la réussite, à ceux qui ont été pendant les années difficiles comme une pluie bienfaisante, mes chers amis.

**Kaltoum Ladmi**

---

## Résumé

Cette étude vise à évaluer le pouvoir antioxydant et l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites d'une plante appartenant au genre *Thymus* collectées dans la région de Chechar wilaya de Khenchela. L'huile est extraite par hydrodistillation à partir de parties aérienne de la plante (tige, feuille, fleur). On a évalué l'activité antioxydante in-vitro des extraits obtenus en utilisant la méthode de Méthode de DPPH. Selon les résultats obtenus, il a été démontré que la concentration la plus élevée d'huile essentielle antiradicalaire est de 57,30  $\mu$ l.

En utilisant la méthode de diffusion sur disque pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles seules, on a constaté un effet remarquable de l'huile de *Thymus* collectée à Chechar sur *Staphylococcus aureus*. Un diamètre de 22,01 mm est observé dans la zone d'inhibition. Un effet modéré sur *Pseudomonas aruginosa* et un effet faible sur *Escherichia coli*.

On a utilisé l'aromatogramme en milieu solide (méthodes des disques) pour évaluer l'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus* seules et en synergie avec des deux antibiotiques l'oxacilline et la gentamycine sur deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

En conclusion, l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles du genre *thymus* offre des perspectives prometteuses dans le domaine de la recherche biomédicale.

**Mots-clés :** antioxydants, DPPH, huile essentielle, thymus, antibiotique, antibactérienne.

---

## Summary

This study aims to evaluate the antioxidant power and antibacterial activity of essential oils extracted from a plant belonging to the genus *Thymus*, collected in the Chechar region. The oil is extracted by hydrodistillation from aerial parts of the plant (stem, leaf, flower). The in-vitro antioxidant activity of the obtained extracts was evaluated using the DPPH method. According to the results obtained, the highest concentration of antiradical essential oil was found to be 57.30 µl .

Using the disk diffusion method to assess the antibacterial activity of the essential oils alone, a remarkable effect of the *Thymus* oil collected in Chechar on *Staphylococcus aureus* was observed, with an inhibition zone diameter of 22.01 mm. There was a moderate effect on *Pseudomonas aeruginosa* and a weak effect on *Escherichia coli*.

The aromatogram on solid medium (disk method) was used to evaluate the antimicrobial efficacy of *Thymus* essential oils alone and in synergy with two antibiotics, oxacillin and gentamicin, on two bacterial strains, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

In conclusion, the study of the antioxidant and antibacterial activity of *Thymus* essential oils offers promising prospects in the field of biomedical research.

**Keywords:** antioxidants, DPPH, essential oil, thymus, antibiotic, antibacterial

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم القدرة المضادة لألكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا للزيوت العطرية المستخلصة من نبات ينتمي إلى جنس الزعتر، الذي تم جمعه في منطقة ششار. يتم استخراج الزيت بواسطة التقطير المائي من الأجزاء الهوائية من النبات ووفقاً (DPPH) الساق، الورقة، الزهرة). تم تقييم النشاط المضاد لألكسدة في المختبر للمستخلصات المحصّلة باستخدام طريقة. للنتائج المحصل عليها، فقد تبين أن أعلى تركيز للزيت العطري المضاد للجذور الحرة هو 57.30 ميكرو لتر

باستخدام طريقة الانتشار على الأقراص لتقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت العطرية بمفردها، لوحظ تأثير ملحوظ لزيت ، حيث لوحظ قطر 22.01 مم في منطقة التثبيط. وتم *Staphylococcus aureus* الزعتر الذي تم جمعه في ششار على *Escherichia coli* وتأثير ضعيف على *Pseudomonas aeruginosa* ملاحظة تأثير معتدل على

تم استخدام الأروماتوغرام في الوسط الصلب) طريقة الأقراص) لتقييم الفعالية المضادة للميكروبات للزيوت العطرية للزعتر بمفردها وفي تآزر مع اثنين من المضادات الحيوية، الأوكساسيلين والجنتاميسين، على سالتين بكتيريتين هما

*Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli*

في الختام، توفر دراسة النشاط المضاد لألكسدة والمضاد للبكتيريا للزيوت العطرية من جنس الزعتر أفاقاً واعدة في مجال البحث الطبي الحيوي.

**الكلمات المفتاحية:** مضادات الألكسدة، زيت عطري، زعتر، مضاد حيوي، مضاد للبكتيريا ،

DPPH

---

# Liste des Tableaux

<b>Tableau 1:</b> <i>résistance et sensibilité des bactéries vis-à-vis des huiles essentielles</i>	10
<b>Tableau 2:</b> diamètres d'inhibition (mm) de l'activité antibactérienne de chaque dilution d'huile essentielle	15

---

# Liste des Figures

<b>Figure 1</b> : carte des sous-secteurs phytogéographique du nord de l'Algérie	4
<b>Figure 2</b> : préparation de Repiquage des souches bactérienne	8
<b>Figure 3</b> : la dilution d'huile essentielle	8
<b>Figure 4</b> : antibiotique l'oxacilline	12
<b>Figure 5</b> : Courbes représentant les pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes dilutions des fractions des huiles essentielles de thymus	14
<b>Figure 6</b> : <i>Effet de l'huile essentielle sur la croissance bactérienne d'Escherichia coli</i>	18
<b>Figure 7</b> : Témoin avec l'antibiotique gentamicine vis-à-vis de <i>S. aureus</i>	19
<b>Figure 8</b> : Effet de l'association des HE avec l'antibiotique gentamicine vis-à-vis de <i>S. aureus</i>	19
<b>Figure 9</b> : Effet de l'association des HE avec l'antibiotique oxacilline vis-à-vis de <i>S. aureus</i>	19
<b>Figure 10</b> : témoin avec l'antibiotique oxacilline vis-à-vis de <i>S. aureus</i>	19
<b>Figure 11</b> : Témoin avec la gentamicine vis-à-vis de <i>E. coli</i>	20
<b>Figure 12</b> : Effet de l'association des HE avec l'oxacilline vis-à-vis de <i>E. coli</i>	20
<b>Figure 13</b> : Effet de l'association des HE avec la gentamicine vis-à-vis de <i>E. coli</i>	20
<b>Figure 14</b> : témoin avec l'oxacilline vis-à-vis de <i>E. coli</i>	20

---

# Symboles et Abréviations

**%** : pourcent.

**CMI** : concentration minimale inhibitrice

**DMSO** : Diméthyl Sulfoxyde.

**DPPH** : Di Phenyl Picryl Hydrazyl.

**E. COLI** : Escherichia coli

**GN** : Gélose nutritive.

**HE** : Huile essentielle.

**IC50** : Concentration Inhibitrice à 50 %.

**MG** : milligramme.

**MH** : Muller Hinton.

**ml** : millilitre.

**mm** : millimètre.

**NACL** : Chlorure de sodium.

**µl** : microlitre.

---

# Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Symboles et Abréviations

<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>1</b>
<b>MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>4</b>
1 Matériel végétal .....	4
2 Préparation du matériel végétal .....	4
3 L'extraction de l'huile essentielle .....	5
3.1 Calcul du rendement en HE .....	5
4 Étude de l'activité antioxydante .....	5
4.1 Principe .....	5
4.2 Protocole .....	6
4.3 Expression des résultats .....	6
5 Étude de l'activité antibactérienne .....	6
5.1 Les souches bactériennes testées .....	6
5.2 Préparation des milieux de culture .....	6
5.3 Préparation de la gélose Mueller-Hinton (MH) .....	6
5.4 Préparation de la gélose nutritive (GN) .....	7
5.5 Préparation de l'eau physiologique .....	7
5.6 Repiquage des souches bactériennes .....	7
5.7 Préparation de la suspension bactérienne .....	8
5.8 Préparation des disques .....	8
5.9 Préparation de la dilution d'huile essentielle .....	8
5.10 Méthode de diffusion par disque .....	9
6 Étude de micro-dilution en milieu liquide .....	9

---

7.1 Étude de l'association « huiles essentielles / antibiotiques » par la méthode des disques .....	11
<b>RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>13</b>
1. Rendement.....	13
2. L'activité antioxydante des huiles essentielles de thymus .....	13
L'activité antioxydante .....	13
3. Activité antibactérienne.....	14
3.1 Choix des souches .....	14
3.2 Aromatogramme.....	14
3.3 Test de synergie entre les huiles essentielles et les disques d'antibiotiques .....	18
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>21</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>22</b>

---

# INTRODUCTION

## **Introduction générale**

Les plantes médicinales, qui ont été largement employées par nos ancêtres et qui continuent d'être utilisées jusqu'à nos jours, produisent des substances parfumées qui forment ce qu'on appelle les huiles essentielles (HE) ou essences, des liquides odorants. D'apparence fluide à épaisse et de teintes différentes en fonction des plantes dont elles proviennent. Les cellules spécialisées sécrètent ces substances, qu'elles soient présentes dans les feuilles, les fleurs, le bois, les racines ou les graines. Elles constituent une source de molécules présentant des propriétés biologiques et pharmacologiques intéressantes. **(Buchbauer ,2011)**

Les huiles essentielles sont largement employées dans le domaine de l'aromathérapie, de la pharmacie, de la parfumerie et de la cosmétique. Ils sont utilisés en raison de leurs diverses activités biologiques reconnues. **(Laib & Barkat,2011)** Les huiles essentielles ont démontré diverses propriétés thérapeutiques et médicinales, telles que leur activité antibactérienne. **(Lima, 1992 ; Elgayyar et al, 2001)**, analgésique, antioxydante, antithrombotique **(Carson & Hammer, 2011)**

L'étude des huiles essentielles, qui implique la séparation et l'identification des éléments constitutifs, demeure une étape cruciale qui requiert l'utilisation de différentes méthodes. **(Lakhdar, 2015).**

Les huiles essentielles antibactériennes ont la capacité de détruire les bactéries, interdisant ainsi leur développement et leur multiplication. Cette action a fait l'objet de nombreuses recherches scientifiques. Aujourd'hui encore, des méthodes d'exploration telles que l'aromatogramme, qui ressemblent à l'antibiogramme, permettent de déterminer la sensibilité de certaines bactéries à des huiles essentielles particulières. **(ELC 1)** De manière similaire. Plusieurs études récentes ont étudié l'activité antioxydante des HE de différentes plantes. **(Lado et al., 2004).**

L'étude des propriétés biologiques des huiles essentielles a suscité un intérêt croissant en raison de leurs vastes applications potentielles dans les domaines de la médecine, de la cosmétique et de l'agroalimentaire. Parmi ces huiles essentielles, celles issues du genre *Thymus*, communément connu sous le nom de thym, ont particulièrement retenu l'attention des chercheurs. Le thym, une plante aromatique appartenant à la famille des Lamiacées, est largement utilisé pour ses propriétés médicinales et aromatiques depuis des siècles.

Les huiles essentielles de thym sont extraites à partir des feuilles et des fleurs de ces plantes. Elles sont caractérisées par une composition chimique complexe comprenant plusieurs composés bioactifs. Parmi les constituants majeurs, on trouve le thymol, le carvacrol, le linalol, le camphre,

et d'autres terpènes. Ces composés confèrent aux huiles essentielles leurs propriétés pharmacologiques.

Les propriétés antioxydantes des huiles essentielles de thym jouent un rôle crucial dans la protection des cellules contre les dommages oxydatifs causés par les radicaux libres. Cette activité est essentielle pour la prévention de diverses maladies chroniques, notamment les maladies cardiovasculaires et certains types de cancer.

Parallèlement, l'activité antibactérienne des huiles essentielles de thym en fait des agents potentiels pour le traitement des infections bactériennes, en particulier face à la montée de la résistance aux antibiotiques conventionnels. Des études ont montré que les huiles essentielles de thym possèdent une large gamme d'activités antimicrobiennes contre divers pathogènes bactériens, y compris les souches résistantes aux antibiotiques.

Thymus (famille des Lamiaceae) regroupe environ 400 espèces de plantes herbacées perennes aromatiques, érables ou semi-érables. Avec de nombreuses sous-espèces, variétés, sous-espèces et formes. **(Fatiha et al., 2023)**

L'Algérie est célèbre pour la richesse de ses plantes médicinales et sa diversité bioclimatique. Le genre Thymus comprend plusieurs espèces réparties dans toutes les zones du littoral algérien et même dans l'intérieur aride. **(Saidj, 2006)**.

Le genre Thymus représente une ressource botanique polyvalente, alliant des qualités aromatiques et médicinales. Son utilisation dans divers domaines, des cuisines aux secteurs pharmaceutiques, en fait un sujet d'étude pertinent pour les chercheurs et les passionnés de plantes. Espèces Représentatives Thymus vulgaris (thym commun), Thymus serpyllum (thym serpolet), Thymus citriodorus (thym citron). La position systématique de thymus est la suivante :

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe : Eudicots
- Sous classe : Astérides
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiacées
- Genre : Thymus

Selon la flore de Quezel et Santa (1962) dans leur ouvrage "Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales", les espèces du genre Thymus présentes dans le secteur des Hauts-Plateaux (H), le sous-secteur des Hauts-Plateaux constantinois (H2) et le secteur de l'Atlas Saharien (AS), le sous-secteur de l'Atlas Saharien constantinois (AS3), incluant les Aurès, sont des espèces endémiques :

- Thymus saturejoides subsp. Commutatus Batt.
- Thymus pallidus Coss. Ex Batt.
- Thymus algeriensis Boiss. & Reut.
- Thymus ciliatus (Desf.) Benth. subsp. Ciliatus

Des recherches scientifiques sont nécessaires pour identifier et déterminer quelles espèces du genre Thymus existent dans notre région.

### **Caractéristique botanique**

Les espèces du genre Thymus se caractérisent par leurs petites feuilles aromatiques, leurs fleurs en grappes de couleurs variées allant du blanc au rose, et leur capacité à s'adapter à divers environnements, des plaines aux régions montagneuses. Le thym est traditionnellement utilisé dans la cuisine méditerranéenne pour ses arômes distinctifs et ses propriétés conservatrices. Cependant, ses usages ne se limitent pas à la gastronomie. En phytothérapie, le thym est réputé pour ses propriétés médicinales, notamment ses effets antiseptiques, antimicrobiens, antifongiques et antioxydants.

Les thym (Thymus) sont des plantes basses sous -ligneuses, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Ils possèdent de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur vert foncé, et qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de monoterpènes. Les calices et les jeunes tiges sont aussi couverts de ces structures qui libèrent l'essence par simple contact, bien qu'en plus faible densité sur les tiges. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées. **(Soto-Mendivil et al., 2006).**

### **Étude ethnobotanique**

- Le thym est largement utilisé comme antiseptique, antiviral, stomacal et expectorant.
- L'infusion de thym peut être utilisée en bain de bouche lorsque les gencives sont enflammées et en bain de bouche lorsque la gorge est irritée ou a mal à la gorge. **(ELC 2)**
- Bon pour le système immunitaire.
- C'est l'une des herbes les plus utilisées dans la cuisine provençale.
- Riche en thymol, flavonoïdes et tanins, cette plante bienfaisante se retrouve dans nos cosmétiques pour purifier, équilibrer et nettoyer en douceur les peaux et cheveux gras. **(ELC3)**

# **Matériel et méthodes**

## Matériel et Méthodes

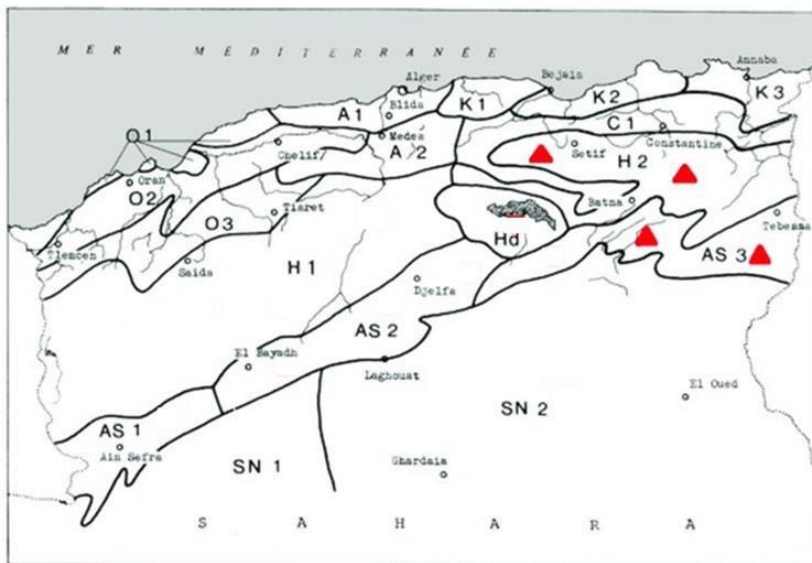
Le but de notre travail est l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles du genre *Thymus*

La partie expérimentale a été réalisée aux laboratoires du hall technologique, de l'université Abbès Laghrou – Khenchela, elle comprend toutes les techniques et les expérimentations à savoir l'extraction de l'huile essentielle et l'étude de l'activité antioxydante d'huile essentielles de *thymus* et l'activité antibactérienne par méthode de diffusion par disque, la technique de microdilution pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) : et le teste synergie entre huile essentielle et l'antibiotique .

### 1 Matériel végétal

D'après la flore de Quezel et Santa l'espèce étudié est présente dans la région d'Aurès dans les zones H2 et AS3.

**H2** : le sous-secteur des Hauts-Plateaux constantinois



**Figure 1** : carte des sous-secteurs phytogéographique du nord de l'Algérie

**AS3** : le sous-secteur de l'Atlas Saharien constantinois incluant les Aurès

### 2 Préparation du matériel végétal

Notre étude a été menée sur un matériel végétal correspond à la partie aérienne composée des rameaux, des feuilles et des fleurs de la plante. La récolte s'est effectuée le mois de mars 2024 au niveau de la localité chechar wilaya de Khenchela. Le séchage s'est fait à l'ombre et à l'abri des rayons solaires et de l'humidité pendant 15 jours.

### **3 L'extraction de l'huile essentielle**

L'huile essentielle de l'espèce *Thymus* a été extraite à partir de la partie aérienne de l'espèce en utilisant la méthode d'hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger.

Cette approche repose sur l'action de la vapeur d'eau sur les composants volatils de l'huile essentielle, puis cette dernière est condensée dans un réfrigérant afin de séparer l'eau de l'huile essentielle après décantation. (Clevenger 1928). Les végétaux secs (100g) sont disposés dans un ballon (1L) rempli à hauteur de 2/3 d'eau distillée. L'ensemble est mis à ébullition à une température de 100°C pendant 3 heures.

#### **3.1 Calcul du rendement en HE**

Selon (Carre, 1953), le rendement en huile essentielle correspond à la relation entre le poids de l'huile essentielle extraite et le poids des parties de la plante à traiter. Le pourcentage de rendement est représenté par la relation suivante

$$\text{RHEs\%} = \text{P1/P2} \times 100$$

- **RHEs%** : rendement de l'huile essentielle en pourcentage.
- **P1** : poids de l'huile essentielle en g.
- **P2** : Poids des parties utilisées de la plante en g.

### **4 Étude de l'activité antioxydante**

Selon la définition, l'activité antioxydante correspond à la capacité de l'extrait ou du composé à entraver le processus d'oxydation ou à inhiber la formation d'un radical libre. Différentes techniques sont utilisées pour évaluer sa qualité en utilisant la coloration et la décoloration de la solution dans une longueur d'onde spécifique (Kalla, 2012).

L'huile essentielle de *thymus* a été analysée pour son activité antioxydante en utilisant la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH• (2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl).

#### **4.1 Principe**

Le radical organique stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH° C18 H12 N5 O6) est un composé chimique. La stabilité de cette situation est causée par la migration des électrons libres au sein de la molécule (Molyneux, 2004). Le fait qu'il ait un électron non apparié lui confère sa stabilité. Par rapport à un atome du pont d'azote. Au violet, qui absorbe à une longueur d'onde de 517 nm.

### **4.2 Protocole**

Chaque dilution de l'huile essentielle a été mélangée avec 1800 µl de la solution de méthanol de DPPH• à une teneur en DPPH• de 0.0024% (p/v) dans des tubes à essai secs. Après 30 minutes d'incubation à température ambiante et dans l'obscurité, on a mesuré l'absorbance à une longueur d'onde de 517 nm. Le contrôle positif est constitué de 200 µl de DMSO et de 1800 µl de la solution de DPPH• comme contrôle. La surveillance négative DMSO.

### **4.3 Expression des résultats**

L'activité anti radicalaire où le pourcentage d'inhibition (I %) est estimé selon la formule suivante :

$$I \% = (AbsBlanc - AbsTest) / (AbsBlanc) \times 100$$

- **I %** : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH.
- **Abs Blanc** : absorbance du control positif lue à 517 nm.
- **Abs Test** : absorbance de l'échantillon lue à 517 nm.

Le paramètre CI50 (concentration inhibitrice à 50%) est calculé en utilisant la courbe tracée à partir des concentrations en huile essentielle et de DPPH+DMSO, en fonction du pourcentage d'inhibition du radical DPPH (**Khoudali et al.,2014**)

## **5 Étude de l'activité antibactérienne**

### **5.1 Les souches bactériennes testées**

Les huiles essentielles ont été testées pour leur activité antibactérienne en utilisant trois souches bactériennes Gram + : les bactéries de *Staphylococcus aureus* ATCC25923, les bactéries Gram - : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, et les souches d'*Escherichia coli* ATCC25922.

### **5.2 Préparation des milieux de culture**

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antibactériens sont les Suivants :

- L'utilisation de la gélose nutritive pour employer les souches bactériennes.
- L'utilisation de la Mueller Hinton est étudié la sensibilité des bactéries aux huiles essentielles.

### **5.3 Préparation de la gélose Mueller-Hinton (MH)**

38 grammes de poudre (MH) ont été pesés et ajoutés à 1 litre d'eau distillée. Ensuite, le mélange a été homogénéisé et chauffé en agitant. Il est nécessaire de mettre le mélange à ébullition pendant environ une minute et de le répartir en tubes ou flacons stériles, puis de les stériliser.

## *Matériel et Méthodes*

L'autoclave chauffe les tubes à 121°C pendant 15 minutes, puis les laisse refroidir. Après avoir atteint une température inférieure à 60°C, le milieu préparé a été versé dans des boîtes de pétri et conservé au réfrigérateur à une température de 2-8 °C.

### **5.4 Préparation de la gélose nutritive (GN)**

Dans un litre d'eau distillée, nous avons ajouté 28 grammes de gélose nutritive en poudre. Nous avons chauffé le mélange à ébullition afin de dissoudre complètement le milieu à l'aide d'un agitateur. Ensuite, nous avons réparti le mélange en tubes et stérilisé pendant 15 minutes. Suite à La GN a été refroidie à 45-50 °C, puis elle a été versée dans des boîtes de Pétri (jusqu'à ce qu'elle se solidifie) et conservée au réfrigérateur à une température de 2-8°C.

### **5.5 Préparation de l'eau physiologique**

Nous avons pesé 2,7 grammes de poudre (NaCl) et l'avons ajoutée à 0,3 litre d'eau distillée. Ensuite, nous avons mélangé de manière homogène et chauffé le mélange en agitant. Ensuite, nous avons réparti le mélange en tubes ou flacons stériles et les avons stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes, laisser refroidir puis stocker au réfrigérateur à une température de 2-8 °C.

### **5.6 Repiquage des souches bactériennes**

Les cultures jeunes en phase de croissance exponentielle ont été soumises à une activité antibactérienne. Le repiquage des trois souches bactériennes est réalisé en prenant un volume qui couvre la boucle de l'anse de platine de chaque culture, puis en les ensemençant par stries sur des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive (GN), tout en travaillant dans des conditions aseptiques. Ensuite, elles sont incubées à une température de 37°C pendant 24 heures. (**Figure 2**)



*Figure 2: préparation de Repiquage des souches bactérienne*

### 5.7 Préparation de la suspension bactérienne

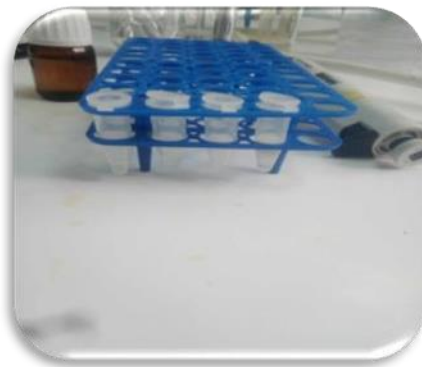
En utilisant une anse de platine stérile et en utilisant les cultures jeunes préparées précédemment, nous avons isolé chaque culture de manière soigneusement et les avons placées dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. Ensuite, nous avons réalisé une vortex

### 5.8 Préparation des disques

Préalablement, les disques utilisés pour étudier l'activité antibactérienne par diffusion sur disque ont été préparés en utilisant du papier filtre qui est découpé en disques de 6 mm de diamètre. Ensuite, ces disques sont placés dans un tube Eppendorf pour être stérilisés. À l'autoclave pendant une durée de 25 minutes à une température de 120°C.

### 5.9 Préparation de la dilution d'huile essentielle

- Solution mère : représente 60  $\mu$ L d'huile pure
- Dilution 1/2 : représente 60  $\mu$ L d'huile + 60  $\mu$ L DMSO
- Dilution 1/4 : représente 50  $\mu$ L de la solution précédente + 50  $\mu$ L DMSO
- Dilution 1/8 : représente 35  $\mu$ L de la solution précédente + 35  $\mu$ L DMSO



*Figure 3: la dilution d'huile essentielle*

### **5.10 Méthode de diffusion par disque**

Les huiles essentielles employées proviennent de la plante thymus. L'activité antibactérienne des huiles essentielles de la région de chechar a été analysée en utilisant la méthode de l'aromatogramme (diffusion par disque) décrite par (**Khribch et al.,2018**). Cette méthode implique l'utilisation de boîtes de Pétri contenant la gélose Muller Hinton préalablement coulée.

Ainsi, chaque écouvillon stérile est ensuite immergé dans une suspension bactérienne (les 3 suspensions bactériennes précédentes), puis essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube pour maximiser la décharge. L'ensemencement est réalisé. En effectuant des stries serrées et en répétant l'opération trois fois, la boîte est tournée de 60° à chaque fois et passe sur la périphérie de la gélose. Ensuite, les boîtes ont été laissées à température ambiante pendant 15 minutes. Par la suite, en utilisant une pince stérile, nous avons placé un disque stérile de papier filtre au centre de chaque moitié de la boîte à pétri, puis nous avons ajouté 10 µl d'huile essentielle à l'aide d'une micropipette. La procédure est réalisée pour chaque dilution d'huile essentielle, de même.

Les micro-organismes seront généralement classés en fonction des diamètres des zones d'inhibition, mesurés en millimètre (mm) selon une règle graduée. On distingue donc des souches (-) résistantes : avec un diamètre inférieur à 8 mm, modérément sensibles (+) pour un diamètre de 8 à 14 mm, sensibles (++) si le diamètre est compris entre 14 et 20 mm et très sensibles (+++) pour les diamètres supérieurs à 20 mm. Cette échelle a été employée pour évaluer la sensibilité des souches bactériennes à nos chaque dilution d'huiles essentielles étudiées (**Franhomme et al., 2001 ; Durrafourd et al., 2002**).

### **6 Étude de micro-dilution en milieu liquide**

Pour nos recherches sur l'HE, nous avons tiré notre inspiration de cette méthode. Cette méthode implique d'inoculer, à l'aide d'un inoculum standardisé, une variété de concentrations en huile essentielle qui diminuent progressivement. L'observation de la gamme après l'incubation permet d'atteindre la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui est la concentration en huile essentielle la plus faible capable d'inhiber la croissance bactérienne.

## *Matériel et Méthodes*

Utilisez une pince stérile pour appliquer les disques imbibés d'huile essentielle sur la face de la gélose MH et laisser incubé pendant 24 heures à une température de 37°C.

Les résultats sont représentés par des indicateurs en fonction de la sensibilité des souches à l'HE.

**Tableau 1:** *résistance et sensibilité des bactéries vis-à-vis des huiles essentielles*

SENSIBILITE DE LA SOUCHE	DIAMETRE DE LA ZONE D'INHIBITION
<b>SENSIBLE (++)</b>	Supérieur ou égal à 15 mm
<b>INTERMEDIAIRE (+)</b>	Inférieur à 15 mm
<b>RESISTANT (-)</b>	Inexistant

### **7 Test de synergie entre l'huile essentielle thymus et les antibiotiques**

Afin de le réaliser, nous avons employé les techniques mentionnées précédemment pour rechercher l'effet synergique d'huile essentielle thymus. Différentes séries d'aromatogrammes

ont été effectuées en combinant différentes combinaisons choisies en fonction des zones d'inhibition qui pourraient donner les résultats les plus satisfaisants.

Une interaction entre des antimicrobiens est considérée comme additive lorsque l'effet combiné est égal à la somme des substances individuelles. On peut parfois qualifier l'additivité d'indifférence car il n'y a pas d'interaction entre les individus. Recherches sur les antimicrobiens (White et al., 1996). Un effet est considéré comme synergique lorsqu'il est plus élevé que la somme des effets des deux substances individuelles. On parle d'antagonisme lorsque l'effet combiné est inférieur à celui de la somme des substances individuelles (Bhat & Ahangar, 2007).

### **7.1 Étude de l'association « huiles essentielles / antibiotiques » par la méthode des disques**

La méthode employée pour évaluer l'efficacité antibactérienne de l'association HE/ATB est celle de diffusion sur un milieu solide, en utilisant deux souches gram+ : les bactéries de *Staphylococcus aureus* ATCC25923 et gram- : les souches d'*Escherichia coli* ATCC25922. Dans cette optique, deux antibiotiques ont été évalués, à savoir : l'oxacilline (25µg) (Figure 4) et la gentamicine.

Chaque boîte MH estensemencée par la souche d'intérêts et contient un disque d'antibiotique au centre(témoin). Ensuite, quater disque d'huile de thymus de différentes concentrations (goutte 10 µL) sont déposés sur chaque boîte contenant. L'antibiotique. Les boîtes sont exposées à une température de 37 °C pendant 24 heures.

Les données ont été analysées comme suit :

- Indifférence : les deux zones d'inhibition de l'HE seule et de l'association HE/ATB restent inchangées.
- Antagonisme : la zone d'inhibition de l'association HE/ATB est moins importante que celle de l'HE toute seule.
- Synergie : la zone d'inhibition de l'association HE/ATB est plus importante que celle de l'HE toute seule.



*Figure 4 : antibiotique l'oxacilline*

# **Résultats et Discussion**

### 1.Rendement

Les plantes ont été séchées à l'air libre et l'huile essentielle a été extraite par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. Une huile de couleur jaune pâle a été obtenue.

Le rendement en huile essentielle correspond à la relation entre le poids de l'huile essentielle extraite et le poids des parties traitées de la plante (**Carre,1953**). Dans notre étude le rendement obtenu est de 1.04%. Cette valeur est largement plus importante que celle trouvée par (**Hazzit et al., 2009**), (**Amarti et al., 2009**) qui ont rapporté des valeurs de 0,4% et 0,3% respectivement. En revanche, notre valeur paraît plus faible comparée à celles rapportées par (**Dob et al.,2006**) et (**Zayyad et al.,2014**) qui ont trouvé des rendements de 1,13% et 2,96% respectivement. Cela varie selon la région.

### 2.L'activité antioxydante des huiles essentielles de thymus

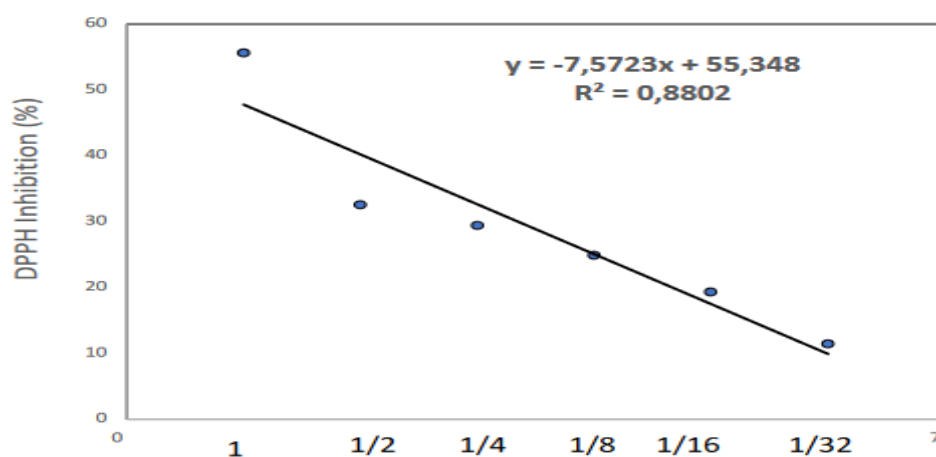
#### L'activité antioxydante

On peut observer les résultats de capture de ce radical grâce à la dilution des huiles essentielles

La variation du pourcentage de réduction de DPPH en fonction de la dilution de l'huile essentielle de thymus est illustrée sur la (**Figure 05**). Les graphiques indiquent clairement que le taux d'inhibition ou de piégeage des radicaux libres DPPH est élevé.

L'évaluation et la comparaison de l'efficacité de nos échantillons sont facilitées par la détermination de la CI50 (57.30 µl) , qui a été calculée en utilisant la méthode de régression linéaire. Les résultats obtenus sont mis en évidence.

Selon (**Gulçin et al., 2010**), l'activité anti-radicalaire revêt une grande importance en raison de l'impact néfaste des radicaux libres sur l'industrie alimentaire et les systèmes biologiques. La méthode du radical de DPPH, qui est employée dans cette étude, est une méthode courante où le degré de décoloration de la solution de DPPH permet d'évaluer l'activité antioxydante de l'échantillon étudié. Selon (**Gulçin et al., 2010**), ce chromogène violet est simple à utiliser, très sensible, permet une analyse rapide de l'activité antioxydante d'un grand nombre d'échantillons et fournit des résultats reproductibles.



**Figure 5:** Courbes représentant les pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes dilutions des fractions des huiles essentielles de thymus

### 3. Activité antibactérienne

#### 3.1 Choix des souches

Pour l'étude de l'activité antibactérienne on a choisi trois souches bactériennes pathogènes de l'ATCC (American Type Culture Collection), qui ont été entretenues par repiquage sur gélose nutritive pendant vingt-quatre heures à 37 °C. Il s'agit d'une bactérie Gram+ *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), et deux bactéries Gram- *Escherichia coli* (ATCC 25922), et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

#### 3.2 Aromatogramme

La méthode de diffusion en milieu gélosé ou aromatogramme est utilisée pour l'étude de l'activité antibactérienne. Le résultat est exprimé par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition de croissance où les bactéries n'ont pas pu se développer. Ce diamètre d'inhibition traduit l'activité antibactérienne de l'huile essentielle ou ses dilutions. La technique utilisée est une modification de la méthode de (Hayes & Markovic, 2002). On a utilisé un antibiotique l'oxacilline qui est la gentamycine comme témoin positif.

## Résultats et Discussion

Les diamètres d'inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse et les valeurs obtenues sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 2:** diamètres d'inhibition (mm) de l'activité antibactérienne de chaque dilution d'huile essentielle

Souches Bactériennes	Zone d'inhibition (mm)				
	Huile essentielle Pure	Huile essentielle au 1/2	Huile essentielle au 1/4	Huile essentielle au 1/8	Gentamycine
<b>Staphylococcus aureus</b>	< 8	21.37	15.48	22.02	15.31
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	10.91	< 8	< 8	8.01	< 8
<b>Escherichia coli</b>	< 8	< 8	< 8	8.30	14.09

Les résultats présentés dans le tableau mettent en évidence une activité antibactérienne significative de l'huile essentielle diluée au 1/2, 1/4 et 1/8 sur des souches bactériennes de *Staphylococcus aureus* alors que l'huile pure présente une activité très faible de diamètre < 8. La valeur de la zone d'inhibition la plus élevée 22,02 mm est obtenue avec l'huile essentielle diluée au 1/8, suivie de celle diluée au 1/2 avec un diamètre de 21,37 mm et finalement une zone d'inhibition de 15,48 mm pour l'huile diluée au 1/4. On peut conclure que *Staphylococcus aureus* est sensible à notre huile essentielle diluée. En effet en solution aqueuse l'huile pénètre facilement à l'intérieure de la cellule bactérienne et la détruit.

La présence des terpènes oxygénés en particulier des monoterpènes oxygénés dans la composition des huiles essentielles pourrait être responsable de l'activité prononcée des huiles (Akrouit et al., 2010 ; Taran et al., 2010 ; Ben Marzoug et al., 2011 ; Bencheqroun et al., 2012). Les terpènes ont également montré des propriétés antimicrobiennes qui semblent avoir de forte à modérée activité antibactérienne contre les bactéries Gram positives et contre les champignons pathogènes, mais en général, une faible activité a été observée contre les bactéries Gram négatif (Hada et al., 2003)

Pour les souches de *Pseudomonas aeruginosa* l'huile extraite est efficace à l'état pure et diluée au 1/8 avec un diamètre d'inhibition de 10,91 mm et 8,01 mm respectivement alors qu'elle présente une faible activité de diamètre < 8 lorsqu'elle diluée au 1/2 et 1/4. Pour les souches d'*Escherichia coli* l'huile est efficace seulement à l'état diluée au 1/8 avec une faible zone d'inhibition de 8,30 mm L'absence de l'activité antibactérienne pourrait s'expliquer par la résistance développée de quelques souches qui réagissent différemment à diverse huiles essentielles : c'est le cas de *Pseudomonas aeruginosa*. Cette bactérie possède une résistance intrinsèque aux agents biocides, en relation avec la nature de sa membrane externe ; cette dernière est composée de lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable aux composés hydrophobes. En présence d'agents perméabilisant de la membrane externe, des substances inactives contre *Pseudomonas aeruginosa* deviennent actives (Mann et al., 2000). Il semble que cette souche se révèle résistante à un très grand nombre d'huiles essentielles (Hammer et al., 1999).

On peut expliquer ce résultat par la structure de la paroi bactérienne qui est à Gram positif épaisse et rigide chez *Staphylococcus aureus*. En revanche chez les bactéries à Gram - *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, le peptidoglycane est très fin et associé à une enveloppe externe complexe définissant un espace périplasmique. Cette membrane externe est une bicouche lipidique asymétrique hydrophobe constituée de phospholipides, de protéines (Porines) et de lipopolysaccharides (LPS). L'espace périplasmique est rempli d'enzymes qui dégradent les substances complexes pour qu'elles puissent traverser la membrane cytoplasmique, et inactivent les produits chimiques toxiques (Antibiotiques).

La résistance des bactéries à Gram négative aux macrolides et aux glycopeptides surtout la gentamycine et est due à l'incapacité de ces molécules à franchir la membrane externe (**Zaika, 1988 ; Sharif et al., 2009 ; Boukhatem et al., 2014 ; Russo et al., 2015**).

(**Chemat et al.,2012**), ont démontré que l'huile essentielle de *T. algeriensis* a une activité bactéricide supérieure à celle de notre huile essentielle contre *P. aeruginosa* et *S. aureus*. Des zones d'inhibition de 75 et ont été signalées. 60 mm de chaque côté. Selon (**Pirbalouti et al.,2011**), il semble que *S. aureus* et *P. aeruginosa* soient moins sensibles que nos souches à l'égard des huiles essentielles de *Thymus daenensis* (20,3 et 16,6 mm respectivement).

Selon (Rota et al., 2008), les huiles essentielles de *T. zygi* ont une activité remarquable contre *S. aureus*.

Contrairement à notre étude, (Chemat et al., 2012) ont découvert que *E. coli* est sensible aux huiles essentielles de *T.algeriensis*, avec un diamètre d'inhibition d'environ 46 mm. D'autres études menées sur d'autres espèces de thymus ont également révélé une sensibilité à *E. coli*.

L'inhibition a un diamètre de 17,6 mm (Pirbalouti *et al.*, 2011). On peut expliquer ces résultats par la disparité des composés chimiques des huiles essentielles des différentes espèces de thymus.

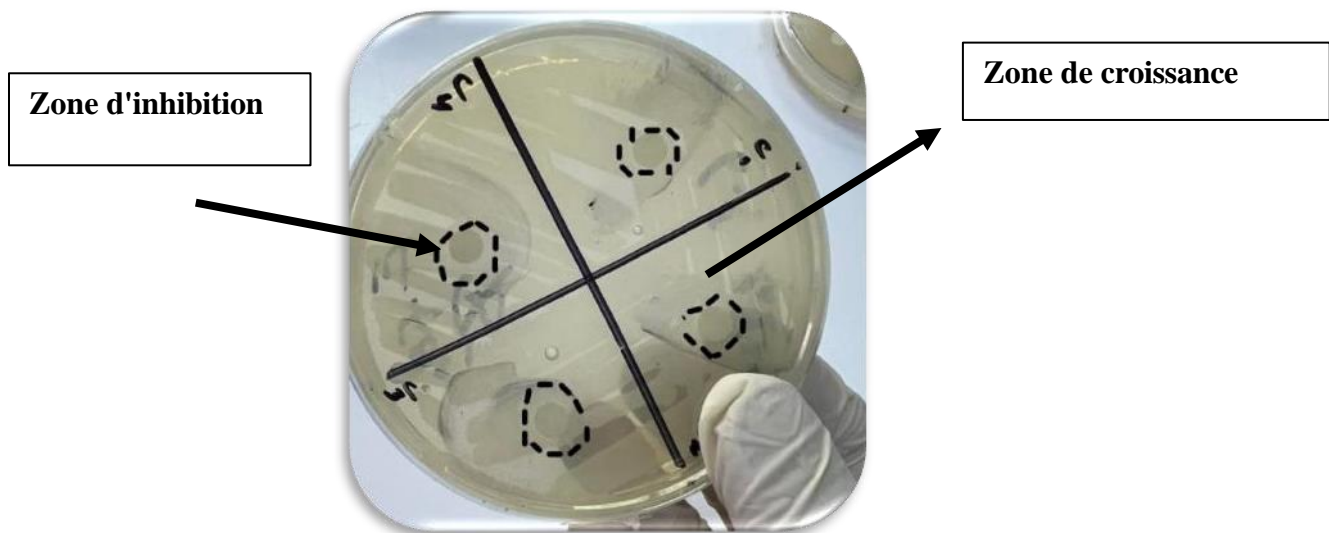


Figure 6: Effet de l'huile essentielle sur la croissance bactérienne d'*Escherichia coli*

### 3.3 Test de synergie entre les huiles essentielles et les disques d'antibiotiques

L'association des huiles essentielles aux antibiotiques peut être employée pour augmenter le spectre antibactérien (Fadli *et al.*, 2012), empêcher l'apparition des mutants résistants, réduire au minimum la toxicité et minimiser les effets secondaires de l'antibiotique (Lv *et al.*, 2011). Cette association pourrait être une alternative à la monothérapie pour des patients présentant des infections envahissantes difficile à traiter, comme ceux dues aux espèces multi résistantes (Aiyegoro & Okoh, 2009).

Dans ce contexte, nous avons étudié l'association de notre huile essentielle avec deux antibiotiques à savoir l'oxacilline et la gentamycine sur deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922. Les résultats obtenus sont présentés sur les figures ci-dessous.



**Figure 7:** Témoin avec l'antibiotique gentamicine vis-à-vis de *S. aureus*



**Figure 8:** Effet de l'association des HE avec l'antibiotique gentamicine vis-à-vis de *S. aureus*



**Figure 10 :** témoin avec l'antibiotique oxacilline vis-à-vis de *S. aureus*



**Figure 9 :** Effet de l'association des HE avec l'antibiotique oxacilline vis-à-vis de *S. aureus*

Gènes de résistance aux antibiotiques et de développer des mécanismes de régulation pour s'adapter à des concentrations croissantes d'antibiotiques. La souche bactérienne utilisée pour notre étude est résistante à la gentamycine et à l'oxacilline. Les souches de *S. aureus* possédant le gène *mecA* sont résistantes à toute la famille des  $\beta$ -lactamines, notamment à l'oxacilline. L'association de notre huile essentielle de thymus avec la gentamycine contre *Staphylococcus aureus* a donné relation synergique. En revanche, il y'a une relation d'indifférence lors de l'association avec l'oxacilline.



**Figure 11 :** Témoin avec la gentamicine vis-à-vis de *E. coli*



**Figure 13 :** Effet de l'association des HE avec la gentamicine vis-à-vis de *E. coli*



**Figure 14 :** témoin avec l'oxacilline vis-à-vis de *E. coli*



**Figure 12 :** Effet de l'association des HE avec l'oxacilline vis-à-vis de *E. coli*

*Escherichia coli* est naturellement résistante à l'oxacilline, le résultat obtenu est à cause de l'action antibactérienne de notre huile essentielle. D'autre part, on observe un effet d'indifférence lors de l'association de gentamicine avec notre huile essentielle.

# **Conclusion**

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité antioxydante, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle (HE) de thymus collecté dans la wilaya de kenchela. Cette étude a abouti aux résultats suivants :

L'hydrodistillation des thymus (tiges, feuilles et fleurs) a donné un rendement en huile essentielle, cumulatif de 1.04 %.

Le test de DPPH a démontré que les fractions des huiles essentielles ont une activité antioxydante remarquable et ont réussi à capturer le radical libre DPPH. La valeur de CI50 obtenue pour la (57,30 µl).

Les résultats de l'activité antibactérienne démontrent que l'huile essentielle présente une activité inhibitrice significative contre deux souches (*S. aureus* et *P. aeruginosa*), avec des diamètres d'inhibition de (22,02 mm et 10,91 mm respectivement). La souche *E. Coli* a démontré une résistance à l'huile essentielle de thymus.

Des études ethno-pharmacologiques modernes confirment de nombreuses utilisations traditionnelles du thym. Les composés actifs tels que le thymol et le carvacrol, présents dans les huiles essentielles de thymus, ont démontré des activités antimicrobiennes et antioxydantes significatives. Ces découvertes scientifiques appuient les usages traditionnels et ouvrent la voie à des applications thérapeutiques modernes, notamment dans le traitement des infections résistantes aux antibiotiques et la gestion du stress oxydatif.

Les résultats obtenus, qui sont d'autant plus prometteurs, laissent entendre que la lutte contre les différentes infections, que ce soit en mono, bi ou trithérapie, serait extrêmement intéressante. Ces résultats indiquent également que les huiles essentielles offrent un potentiel intéressant pour la recherche de molécules antibactériennes novatrices dans leurs mécanismes d'action. Il serait donc essentiel de mener des recherches sur la composition chimique des huiles, afin de repérer et de préciser les divers principes actifs et de mieux appréhender leurs modes d'action. De la même manière, il est conseillé d'associer les huiles essentielles aux antibiotiques afin d'approfondir la recherche dans ce domaine et d'élaborer une formule médicamenteuse qui associe les antibiotiques aux huiles essentielles, dans le but de combattre les bactéries qui montrent une aversion envers les agents antibactériens.

En conclusion, l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles du genre thymus offre des perspectives prometteuses dans le domaine de la recherche biomédicale.

Les propriétés pharmacologiques de ces huiles essentielles peuvent avoir des applications potentielles dans divers secteurs, de la médecine à l'industrie alimentaire, offrant ainsi une exploration continue des bienfaits de ces plantes traditionnelles.

# **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- AKROUT, A., EL JANI, H., AMOURI, S., & NEFFATI, M. (2010).** Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba alba* asso, & *thymus capitatus* hoff. Et link. Growing wild in the southern of Tunisia. *Recent research in science and technology*, 2(1).
- AMARTI F. SATRANI B. GHANMI M. FARAH A. AAFI A. AARAB L. EL AJJOURI M. CHAOUCH A. (2010)** chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *thymusalgeriensis* boiss. & *reut.* And *thymus ciliatus* (desf.) Benth. Morocco, *biotec agron andsoc enviro*.14: 141- 148 pp.
- BENCHEQROUN, H. K., GHANMI, M., SATRANI, B., AAFI, A., & CHAOUCH, A. (2012).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc Antimicrobial activity of the essential oil of an endemic plant in Morocco *Artemisia mesatlantica*. *Bulletin de la société Royale des sciences de Liège*.
- BHAT A.S. & AHANGAR A.A. (2007).** Methods for detecting chemical-chemical interaction in toxicology. *Toxicology Mechanisms and Methods*.17 :441–50.
- BRUNETON J. (1999)** - Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris. In Thèse de Doctorat Faculté de médecine dentaire de Rabat.
- BUCHBAUER G (2011)** A review on recent research results on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour Fragr* 27 : 13–39 pp.
- CARRE P., 1953** ; *precis de technologie et de chimie industrielle*. T3. Ed balliere jb. Et fils.
- CARSON F. A. ETHAMMER K. (2011).** Chemistry and Bioactivity of Essential Oils. In: *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*. (Ed. Thormar H.). John Wiley&Sons. Islande. 336p.
- CHEMAT S. CHERFOUH R. MEKLATI B. BELANTEUR K. (2012)** composition and antimicrobialactivity of thyme (*thymus algeriensis genuinus*) essential oil. *Essent oil res* 24: 5–11pp.
- DOB T. DAHMANE D. BENABDELKADER T. CHELGOUM C. (2006).** Composition andantimicrobial activity of the essential oil of *thymus fontanesii* *journal of pharmaceutical biology the new york (pharm. Bio)*.44:607-612 pp.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- DURRAFOURD C., LAPRAZ J.C., REYNIER J. (2002).** Traité de phytothérapie clinique : endobiogénie et médecine, Masson, Paris, France
- ELGAYYAR M., DRAUGHON F.A., GOLDEN D.A., MOUNT J.R., (2001).** Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *J. Food Prot.*, 64, 1019-1024.
- FATIHA H, SABRINA D-L, LAMIA K, MOHAMED H & FAZIA M. 2023:** chemical constituents, antioxidant, antimicrobial and insecticidal activities of the essential oils extracted from *thymus guyonii* de noé and *thymus algeriensis* boiss. *Et reut.* 61-78. 0.1080/0972060X.2023.2182705
- FRANCHOMME P. JOLLOIS P., PENOEL D. (2001).** Aromathérapie exactement RogerJollois, Limoges, France.
- GÜLÇİN I., HUYUT Z., ELMASTAŞ M., ABOUL-ENEIN H.Y., 2010;** Radical scavenging and Antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, Vol: 3, Issue 1, 43-53.
- HAMMER, K. A., CARSON, C. F., & RILEY, T. V. (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of applied microbiology*, 86(6), 985- 990.
- HAZZIT M. BALLIOUAMER A. VERISSIMO A. FALERIO M. MIGUEL M. (2007).** Chemical composition and biological activities of algerian thymus oils. *Food chemistry* 116:714-721pp.
- KALLA A., 2012 ;** Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius*, *Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum*, Thèse Doc., Univ.Mentouri–Constantine, Algérie.112-115p
- KHOUDALI S., BENMESSAOUD D., ESSAQUI A., ZERTOUBI M., & AZZI M., 2014 ;** Etude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc. *Journal of Material and Environmental.Science*, 5(3) : 887-898.
- KHRIBCH J., NASSIK S., EL HOUADFI M., ZRIRA S., OUKESSOU M. (2018).** Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire. *301Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* 6 (3): 300-307.
- LADO C. THENB M. VARGAC I. SZO E. SZENTMIHALYID K. (2004)** 'Antioxidant Property of Volatile Oil Determined by the Ferric Reducing Ability.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- LAKHDAR LEILA, (2015).** Evalutaion de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles Marocaines sur aggregatibacteractinomycetemcomitans : Etude in vitro. (Thèse de doctorat), Université Mohammed V de Rabat. 164p.
- LIMA E.D., GOMPERTZ O.F., PAULO M.D., GIESBRECHT A.M., (1992).** In vitro antifungalactivity of essential oils against clinical isolates of dermatophytes. Rev. Microbiol., 23,235-238.
- MANN, C. M., COX, S. D., & MARKHAM, J. L. (2000).** The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Letters in Applied Microbiology, 30(4), 294-297.
- MARZOUG, H. N. B., ROMDHANE, M., LEBRIHI, A., MATHIEU, F., COUDERC, F., ABDERRABA, M., ... & BOUAJILA, J. (2011).** Eucalyptus oleosa essential oils: chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the oils from different plant parts (stems, leaves, flowers and fruits). Molecules, 16(2), 1695-1709.
- MOLYNEUX P., 2004;** the use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal Sciences Technologie, 26(2): 211-219.
- PIRBALOUTI A. FIROZNEZHADA M. CRAKERL. AKBARZADEH M. (2013)** essential oilcompositions antibacterial and antioxidant activities of various populations of artemisiachamaemelifolia at two phenological stages.brazilian journal of pharmacognoise .23: 861-869pp
- ROTA M. HERRERA A. MARTINEZ R. SOTOMAYOR J. JORDÁN M. (2008).** Antimicrobialactivity and chemical composition of thymus vulgaris thymus zygis and thymus hyemalis essential oils. Food control. 19 : 681-687pp. In zeghad nadia, memoire de magister. Etudedu contenu polyphenolique de deux plantes medicinales d'interet economique (thymus vulgaris, rosmarinus officinalis) et evaluation de leur activite antibacterienne. (ecole doctorale) en biotechnologie vegetale. Universite mentouri constantine.

---

**SAIDJI, F. (2006).** Extraction de l'huile essentielle de thym : thymus nimidicusabylica (Doctoral dissertation).

**SOTO-MENDIVIL E.A, MORENO-RODRIGUEZ J.F, ESTARRON-ESPINOSA M, GARCIA-FAJARDO JA ET OBLEDO-VAZQUEZ E.N 2006** - chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of thymus vulgaris against alternaria citri- e-gnosis [online]; vol. 4; n° 16.

**TARAN, M., GHASEMPOUR, H. R., & SHIRINPOUR, E. (2010).** Antimicrobial ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS OF FERULAGO ANGULATA SUBSP. CARDUCHORUM.

**WHITE R.L., BURGESS D.S., MANDURU M. & BOSSO J.A. (1996).** Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 40 :1914–18

**ZAYYAD N. FARAH A. BAHHOU J. (2014).** Analyse chimique et activite antibacterienne deshe des trois espeses de thym. 83 : 118-130 pp.

**Références électroniques :**

**ELC 1** <http://tpe-huile-essentielle.e-monsite.com>

**ELC2**

<https://www.asjp.cerist.dz/en/article/68298#:~:text=R%C3%A9sum%C3%A9,la%20gorge%20ou%20d'angine.>

**ELC 3** <https://www.dermaclay.fr/content/61-le-thym>