



République Algérienne Démocratique Et Populaire



Ministère De l'Enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

Université Abbes Laghrour Khenchela

Faculté Des Sciences De La Nature et De La Vie

Département De Biologie Moléculaire Et Cellulaire

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDE**

Présenté pour l'obtention du diplôme de

**MASTER ACADEMIQUE**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Option : Microbiologie appliquée**

**Thème**

**Étude de l'activité antimicrobienne de  
L'huile essentielle extraite d'une plante  
sauvage**

Réalisé par

**Chermim Naima**

**Lachekhab Fatem**

Devant le jury composé de:

Président :	<b>BADIS Zakaria</b>	<b>MAA</b>	<b>Univ. Abbes Laghrour – Khenchela</b>
Examinatrice :	<b>NAILI Oumaima</b>	<b>MCB</b>	<b>Univ. Abbes Laghrour – Khenchela</b>
Promoteur :	<b>BERTELLA Anis</b>	<b>MCB</b>	<b>Univ. Abbes Laghrour – Khenchela</b>

Année universitaire

**2023 / 2024**

## Remerciements



*Nous remercions avant tous, Dieu « ALLAH » le tout puissant pour la volonté, santé et le courage qu'il nous a donné durant toutes les longues années d'études afin que nous puissions arriver là.*

*Il ne serait pas possible de nous présenter ce mémoire sans témoigner de nos profondes gratitudes et nos sincères remerciements à **Dr. BERTELLA Anis** pour nous avoir encadré , pour sa gentillesse, ses conseils et ses encouragements.*

*On tient à remercier fortement **Dr. BADIS Zakaria** . Qui nous a honorés en acceptant de président le jury.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à **Dr. NAÏLI Oumaima** , d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.*

*Nous n'oublierions pas de remercier le **Dr . BOUTARFI Zakaria** qui a beaucoup contribué à la réussite de ce travail.*

*Nos vifs remerciements vont à tout le staff du laboratoire de l'université Abbés Laghrour Khenchela « El Hamma », et spécialement **Sara Mizane**, ingénieure de laboratoire de microbiologie et à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire, nous vous adressons nos plus sincères remerciements.*

*Un grand merci particulier pour nos chers parents, nos amis Pour leur patience et le bonheur qui nous ont apporté.*

*A la fin, Nos remerciements nos collègues d'études et particulièrement les étudiants de notre promotion de 2024.*

# *Dédicace*

*Au nom de Dieu, je dédie ce modeste travail*

*A mon père absent de mes yeux, présent dans mon cœur, Dans l'ombre de ton absence, chaque succès est teinté de tristesse car tu n'es pas là pour le partager. Mais aujourd'hui plus que jamais, je sens ta présence à mes côtés.*

*Ce projet qui marque la fin de mes études est un hommage à toi.*

*A mon paradis, à la prunelle de mes yeux, à la source de ma joie et mon bonheur. Ma lune et le fil d'espoir qui allumer mon chemin, ma moitié.*

*Maman*

*A mes merveilleux frères DAOUD, AMIR, FARES et FOUAD. Je voudrais vous remercier pour votre amour, générosité et compréhension, votre soutien fut une lumière dans tout mon parcours.*

*A ma chère sœur DHIKRA, merci pour votre support et encouragement sans limites. Merci d'être là toujours.*

*A mes neveux ANAS, ADAM et CHAMS.*

*A mes chères amies INSAF, IMAN, MARWA, SELMA, YOUSRA et KHOULOUD, je vous remercie pour vos amitiés chères à mon cœur, et je vous souhaite tout le bonheur du monde.*

*A mon cher binôme FATEN et sa famille, pour les bons moments passés ensemble.*

*Naïma*

# *Dédicace*

*Avant tous, je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce travail malgré toutes les difficultés rencontrées.*

## *A ma mère*

*Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifices. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. Quoique je puisse dire et écrire je ne pourrais exprimer ma grande affection et ma profonde reconnaissance. J'espère ne jamais te décevoir, ni trahir ta confiance et tes sacrifices. Puisse Dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et Bonheur.*

## *A mon père*

*De tous les pères, tu es le meilleur. Aucune dédicace ne saurait exprimer ma reconnaissance et mon profond amour. Puisse Dieu vous préserver et vous procurer santé et bonheur. Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin. Ce travail est le résultat de l'esprit de sacrifice dont vous avez fait preuve, de l'encouragement et le soutien que vous ne cessez de manifester, j'espère que vous y trouvez les fruits de votre semence et le témoignage de ma grande fierté de vous avoir comme père.*

*A mes merveilleux frères la source de mon bonheur « Fouad », « Nasro » et « Abdenour ».*

## *A mes chères cousines :*

*« Meriem », « Halla », « Amani », « Nada », « Wafa », « Ritaj », « Manel » et « Asma » et a tous les membres de ma grande famille. Mes tantes, ma grande mère « Zahra » .*

*Sans oublier mon binôme « Naima » pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

*A toutes mes copines qui m'ont toujours encouragé, et a qui je souhaite plus de succès.*

*A tous qui m'aiment.*

*Faten*

# Sommaire

# Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Symboles et abréviations

Introduction..... 1

## Partie Bibliographique

### Chapitre I : La plante

1	Définition d'une plante sauvage.....	3
1.1	Présentation de plante « <i>Thymus hirtus</i> ».....	3
1.2	Classification scientifique.....	3
1.3	Répartition géographique.....	4
1.4	Description.....	4
1.5	Nomenclature.....	5
1.6	Utilisation.....	5
1.6.1	Médecine traditionnelle.....	5
1.6.2	Cosmétique.....	6
1.6.3	Alimentation.....	6
1.6.4	Pharmaceutique.....	6
1.7	L'activité antibactérienne.....	6

### Chapitre II : Généralité sur les huiles essentielles

2	Généralités sur les huiles essentielles.....	7
2.1	Définition.....	7
2.2	Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles.....	7
2.3	Le rôle des huiles essentielles.....	8
2.4	Méthode d'extraction des huiles essentielles.....	8
2.4.1	L'hydrodistillation.....	8
2.4.2	Hydro-diffusion.....	9
2.4.3	Entraînement à la vapeur d'eau.....	10
2.4.4	Extraction par micro-ondes.....	10
2.4.5	Extraction par le CO <sub>2</sub> supercritique.....	11
2.5	Composition chimique des huiles essentielles.....	11
2.6	Activités biologiques des huiles essentielles.....	12

2.6.1	Activité antibactérienne .....	12
2.6.2	Activité anti-inflammatoires .....	12
2.6.3	Activité Antivirale .....	12
2.6.4	Activité antiparasitaire .....	12
2.6.5	Activité antifongique .....	12
2.7	Mode d'action des huiles essentielles .....	13
2.8	Domaine d'utilisation des huiles essentielles .....	13

## **Partie Expérimentale**

### **Chapitre I : Matériel et méthode**

1	Préparation du matériel végétal .....	15
1.1	Collecte de la plante .....	15
1.2	Séchage et conservation .....	15
2	Extraction de l'huile essentielle .....	16
2.1	Conditions opératoires d'hydrodistillation .....	17
3	Rendement en huile essentielle .....	17
4	Etude de l'activité antibactérienne .....	17
4.1	Les souches bactériennes .....	17
4.2	Préparation des milieux de culture .....	19
4.2.1	Préparation de la gélose Mueller-Hinton (MH) .....	20
4.2.2	Préparation de la gélose nutritive (GN) .....	20
4.2.3	Préparation de bouillon MH .....	21
4.2.4	Préparation de milieu PDA .....	21
4.2.5	Préparation de l'eau physiologique .....	21
4.3	Repiquage des souches bactériennes .....	22
4.4	Préparation de la suspension bactérienne .....	23
4.5	Préparation des disques .....	24
5	Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme) .....	25
5.1	L'ensemencement .....	25
5.2	Dépôt de disque .....	25
6	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	26
7	La détermination concentration minimale bactéricide (CMB) .....	28
8	Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles .....	28
8.1	Préparation de la suspension sporale .....	28
8.2	L'aromatogramme. (Confrontation directe) .....	29

## Chapitre II : Résultats et Discussion

1	Résultats d'extraction de l'huile essentielle .....	30
1.1	Calcul du rendement en huile essentielle .....	30
1.2	Etude de l'activité antimicrobienne.....	30
1.2.1	Test de l'aromatogramme .....	30
1.3	Etude de l'Activité antifongique .....	36
1.4	Détermination de CMI .....	36
2	Discussion.....	40
2.1	Rendement.....	40
2.2	L'activité antibactérienne .....	40
2.3	Activité antifongique.....	41
	Conclusion .....	44
	Références bibliographiques.....	49

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : La classification botanique de <i>Thymus hirtus</i> .....	3
<b>Tableau 2</b> : Liste des souches bactériennes testées .....	18
<b>Tableau 3</b> : Les milieux de la culture utilisée.....	19
<b>Tableau 4</b> : Résultat d'extraction de l'huile essentielle et le rendement en pourcentage.....	30
<b>Tableau 5</b> : Le degré de sensibilité bactérienne en fonction de diamètre des zones d'inhibitions.....	30
<b>Tableau 6</b> : Résultats de l'aromatogramme exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition pour les souches de références.....	31
<b>Tableau 7</b> : Résultats de l'aromatogramme exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition pour les souches cliniques .....	33
<b>Tableau 8</b> : Diamètres des zones d'inhibition de L'activité antifongique .....	36
<b>Tableau 9</b> : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) d'HE.....	39

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Distribution géographique de thym dans le monde .....	4
<b>Figure 2</b> : La plante <i>Thymus hirtus</i> .....	5
<b>Figure 3</b> : Appareillage utilisé pour l'hydro distillation de l'huile .....	9
<b>Figure 4</b> : Schéma du procédé d'Hydro diffusion.....	9
<b>Figure 5</b> : Entraînement à la vapeur d'eau.....	10
<b>Figure 6</b> : Dispositif d'extraction assistée par micro-ondes.....	10
<b>Figure 7</b> : Structure de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles .....	11
<b>Figure 8</b> : Mécanismes d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne.....	13
<b>Figure 9</b> : Carte géographique de la wilaya de Batna.....	15
<b>Figure 10</b> :Préparation du matériel végétal.....	16
<b>Figure 11</b> :Le montage d'hydrodistillation par le Clevenger.....	16
<b>Figure 12</b> :Les étapes de la préparation de la gélose Mueller-Hinton (MH).....	20
<b>Figure 13</b> : La préparation de la gélose nutritive (GN).....	21
<b>Figure 14</b> : Préparation d'eau physiologique .....	22
<b>Figure 15</b> :Repiquage des souches bactériennes testées.....	23
<b>Figure 16</b> :Préparation de la suspension bactérienne.....	23
<b>Figure 17</b> :Les cinq suspensions bactériennes préparées.....	24
<b>Figure 18</b> :Préparation des disques.....	24
<b>Figure 19</b> : La technique d'ensemencement par écouvillonnage.....	25
<b>Figure 20</b> : Dépôt des disques.....	26
<b>Figure 21</b> : Préparation des concentrations .....	27
<b>Figure 22</b> :Préparation des dilutions dans les puits.....	28
<b>Figure 23</b> : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne des souche référéncée.....	31
<b>Figure 24</b> : Résultats de l'aromatogramme par la méthode de diffusion sur disques.....	33

<b>Figure 25</b> : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne des souches cliniques.....	34
<b>Figure 26</b> : Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) de l'huile essentielle <i>Thymus hirtus</i> des souches cliniques ( <i>Proteus sp</i> , <i>K.pneumoniae</i> , <i>E.coli</i> ).....	35
<b>Figure 27</b> : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne de chaque souche testée.....	35
<b>Figure 28</b> : Les zones d'inhibitions de l'huile essentielle <i>Thymus hirtus</i> des souches fongique ( <i>Aspergillus niger</i> , <i>Candida albicans</i> ).....	36
<b>Figure 29</b> : Lecture de la CMI de l'HE de <i>Thymus hirtus</i> sur <i>Staphylococcus Aureus</i> .....	37
<b>Figure 30</b> : Lecture de la CMI de l'HE de <i>Thymus hirtus</i> sur <i>E.coli</i> .....	37
<b>Figure 31</b> : Lecture de la CMI de l'HE de <i>Thymus hirtus</i> sur <i>proteus sp</i> .....	38
<b>Figure 32</b> : La lecteur de CMB de <i>Thymus hirtus</i> sur les souches bactériennes testées.....	38
<b>Figure 33</b> : La CMI de l'HE de <i>Thymus hirtus</i> sur les souches bactériennes testées.( <i>E.coli</i> , <i>S .aureus</i> ).....	39

## Symboles et abréviations

<b>HE :</b>	Huile Essentielle
<b>h :</b>	Heure
<b>°C:</b>	Degré Celsius
<b>g:</b>	Gramme
<b>% :</b>	Pourcent
<b>E.Coli :</b>	Escherichia Coli
<b>CO2 :</b>	Dioxyde de Carbone
<b>CMB:</b>	Concentration minimale inhibitrice
<b>CMI :</b>	Concentration minimale bactéricide
<b>ml:</b>	Millilitre
<b>NACL :</b>	Chlorure de sodium
<b>TTC:</b>	Chlorure de Triphényltétrazolium
<b>UFC:</b>	Unité Formant Colonie
<b>MH :</b>	Muller Hinton
<b>GN :</b>	Gélose nutritive
<b>mm:</b>	Millimètre
<b>µl:</b>	Microlitre
<b>MHB :</b>	Bouillon Muller Hinton
<b>MHE :</b>	Masse d'huile essentielle
<b>RHE:</b>	Rendement en huile essentielle
<b>MPE :</b>	Masse de la plante sèche traité
<b>C :</b>	Carbone
<b>Mg :</b>	Milligramme
<b>V :</b>	Volume
<b>µg :</b>	Micrgramme

# Introduction

### Introduction

La propagation accrue du phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques constitue un problème de santé important. La prise répétée et massive de ces antibactériens a engendré une perte très importante de l'efficacité des antibiotiques. La recherche de nouveaux agents à potentiel antibactérien pouvant faire face à ce phénomène de résistance s'avère donc plus que nécessaire et est devenue aujourd'hui une piste très intéressante (**Gormi et Berriche , 2023**).

Pour lutter contre ce problème, les humains utilisent depuis longtemps des éléments de leur environnement, notamment les plantes. Aujourd'hui encore, malgré les progrès étonnants réalisés dans les domaines scientifiques **Bazzine et Benzaid , (2019)** . Les plantes sont une vaste source de molécules chimiques complexes utilisées par les humains dans de nombreux domaines : parfumerie, alimentation, cosmétique et pharmacie (**Gormi et Berriche ,2023** ).

Par ailleurs, Les plantes médicinales jouent un rôle essentiel dans la prévention et le traitement des différentes maladies, soit en utilisant la plante entière ou ses principes actifs, tels que les huiles essentielles (HEs) **Maalem et rafa , (2020)** , En Algérie, les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, qui elle-même est largement employée dans divers domaines de la santé (**Talhi et al .,2018**).

Les huiles essentielles sont des substances volatiles et odorantes obtenues des végétaux. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme produits et métabolismes secondaires. Les huiles essentielles sont des mélanges liquides de composition chimique très complexes (**Rehamnia et al ., 2015**).

Les huiles essentielles font partie de cette gamme, de produits naturels extraits de plantes médicinales et aromatiques, qui sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobienne (**Lalami et al .,2013**).

Parmi les plantes ayant un effet antimicrobien, nous avons choisi une plante sauvage On l'appelle *Thymus hirtus* . Le genre *Thymus* englobe de nombreuses espèces et variétés et la composition chimique de leurs huiles essentielles a été étudiée depuis longtemps. *Thymus hirtus* est une espèce sauvage de l'Afrique du Nord. Au Maroc, elle est rencontrée dans le Moyen Atlas, le Haut Atlas, l'Anti Atlas occidental, le Rif et l'Oriental (Forêt de Béni Snassen). C'est une plante vivace à entre-nœuds longs de 4 à 7 mm naissant en touffe de la souche courte et ligneuse **Amarti et al., (2009)** . En fait, ils ont été utilisés comme agents

## Introduction

---

antimicrobiens, antispasmodiques, astringents, expectorants et conservateurs pour plusieurs produits alimentaires (**Lahlou *et al.* , 2022**).

Nous nous sommes focalisés sur l'objectif d'évaluer le potentiel antibactérien des huiles essentielles de *T. Hirtus* vis-à-vis de cinq souches bactériennes (référéncées) , trois souches cliniques et deux espèces fongiques. dont le manuscrit est structuré en trois chapitres:

- Le premier chapitre est une synthèse bibliographique dans laquelle la plante étudiée est décrite et des notions de bases sur les huiles essentielles et leurs activités biologiques sont abordées.
- Le deuxième chapitre représente la partie expérimentale où nous présenterons les techniques utilisées : Extraction de l'huile essentielle de *Thymus* par hydrodistillation , détermination de l'effet antibactérien et antifongique de cette huile essentielle.
- Le troisième chapitre, présente les résultats issus de cette étude et leur discussion.
- Enfin, nous clôturons ce manuscrit par la conclusion ainsi que les perspectives

**Partie**

**Bibliographique**

Chapitre I :

La plante *Thymus*

*hirtus*

## 1 Définition d'une plante sauvage

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicaments **Ouedraogo et al ., (2021)**, Il est indéniable que les plantes sauvages jouent un rôle multiple et considérable dans la vie courante des populations humaines. Elles sont utilisées dans les constructions, la menuiserie, la médecine traditionnelle, la fabrication des boissons locales, le chauffage, etc **Mosango et Szafranski , (1985)**. Représentent aussi l'une des principales sources pour l'alimentation humaine en milieu rural. **(Jean-Paul et al.,2021)**.

### 1.1 Présentation de plante « *Thymus hirtus* »

Le thym *thymus hirtus*, une plante médicinale et condimentaire spontanée de la famille des labiées très répandue en Algérie, largement utilisé pour soigner les infections respiratoires (rhumes, grippe, angines) ainsi que les problèmes d'estomac (dyspepsies, crampes, flatulences) **AMINA et al., (2009)** , et aussi une importante source d'huiles essentielles, d'infusion et d'antibiotiques pour l'aromathérapie, la parfumerie et l'industrie des cosmétiques et pharmaceutique. **Zeghibet al., (2004)**, possède des propriétés antiseptiques, antispasmodiques, digestives et antifongiques. **Iserin et al ., (2001)**. Ces propriétés biologiques et pharmaceutiques du *Thym* sont en grande partie dues à la présence de substances actives telles que les flavonoïdes qui représentent une des plus grandes classes des produits naturels synthétisés par la plante. **(Baba Aissa , 1991)**

### 1.2 Classification scientifique

La classification botanique (**Tableau 1**), selon **Quézel et Santa , ( 1963)** est la suivante :

Tableau 2 . La classification botanique de *Thymus hirtus*

♣ Règne	♣ Plantae
♣ Sous-règne	♣ Tracheobionta
♣ Embranchement	♣ Magnoliophyta
♣ Sous-embranchement	♣ Magnoliophytina
♣ Classe	♣ Magnoliopsida
♣ Sous-classe	♣ Asteridae

♣Ordre	♣Lamiales
♣Famille	♣Lamiaceae
♣Genre	♣ <i>Thymus</i>
♣Espèce	♣ <i>Thymus hirtus</i>

### 1.3 Répartition géographique

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres **Cosentino et al., (1999)**. Selon **Dobet et al., (2006)**, il existe près de 350 espèces de *thym* réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée. C'est une plante très répandue à l'ouest de l'Afrique du nord (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), elle pousse également sur les montagnes de l'Éthiopie et d'Arabie du sud - ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut la trouver également en Sibérie et même en Himalaya. Selon une étude menée par **Nickavar et al., (2005)**, environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen. C'est pour cela que l'on peut considérer la région méditerranéenne comme étant le centre de ce genre (**Figure 1**).

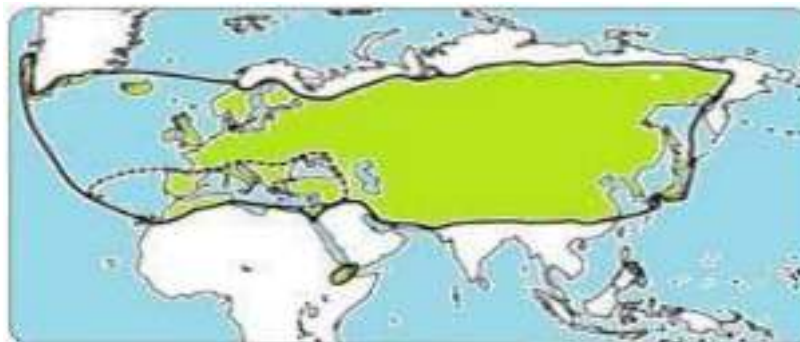


Figure 1. Distribution géographique de thym dans le monde (Le cercle noir représente la zone de distribution du genre *Thymus* dans le monde) (**Stahl-Biskup et Saez, 2002**)

### 1.4 Description

*Thymus hirtus* c'est une espèce endémique qui dégage une odeur forte et aromatique très agréable. Les tiges sont ligneuses et ramifiées. **Mokhtari , (2021)**, qui s'élève à environ vingt centimètres au-dessus du sol, il pousse de façon spontanée sur les coteaux secs et rocailleux, ainsi que dans les garrigues (**Chikhouné, 2007**).

Les feuilles sont opposées et linéaires, avec une surface verte. De plus, les fleurs ont une couleur blanc violacé ou rose pourpre, avec la lèvre supérieure fendue et la lèvre inférieure divisée en trois lobes (**Guesmi et al., 2020**).

Cette espèce se trouve en plaine, en montagne, dans les zones rocheuses, les garrigues, les prairies et les buissons (**Bellakhdar, 1997**)



Figure 2. La plante *Thymus hirtus* (**Lahlou et al., 2022**).

## 1.5 Nomenclature

Il est probable que le nom *Thymus* dérive du latin "*Thymus*", signifiant "parfumé", ou du grec "*Thymos*", qui signifie "courage" ou "force" (**Stahl-Biskup, 2002**).

Une autre source mentionne que les Sumériens et les anciens Égyptiens utilisaient cette plante, qu'ils appelaient "Tham" **Daff, (2012)**. Aussi en Amazigh, on les appelle Azukni et Tazuknite, tandis qu'en Arabe, elles sont connues sous le nom de Ziiitra (**Stahl-Biskup, 2002**).

## 1.6 Utilisation

### 1.6.1 Médecine traditionnelle

Les feuilles sont utilisées en infusion contre la toux, en décoction pour traiter les maux de tête, l'hypertension et les gastrites, et en application externe pour leurs propriétés cicatrisantes et antiseptiques **El oualilalami et al., (2013)**. Il est également efficace dans le traitement des affections respiratoires telles que le rhume, la grippe et l'angine. De plus, il aide à nettoyer et à cicatriser les plaies, ainsi qu'à expulser les gaz intestinaux (**Moukhtari, 2021**)

### 1.6.2 Cosmétique

Il est utilisé pour les problèmes de peau tels que la peau grasse, la sciatique, l'acné, la dermatite, l'eczéma et les piqûres d'insectes **(Daff , 2012 )**.

### 1.6.3 Alimentation

Cette plante aromatique très parfumée est utilisée dans la cuisine algérienne pour agrémenter divers plats ; elle est traditionnellement utilisée pour la préparation de tisanes et pour donner du goût à la viande de volaille en particulier **(Kouache , 2019 )** .

### 1.6.4 Pharmaceutique

Le genre *Thymus hirtus* riche en espèces médicinales et aromatiques, est l'un des genres bien connus pour ses propriétés pharmaceutiques. Utilisé depuis l'Antiquité comme antimicrobiens et antiseptiques **(Benbelaïdet al., 2013)** .

### 1.7 L'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne d'extrait des huiles essentielles provenant de *Thymus hirtus* a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion par disque sur un milieu de culture solide **(Ait Ouazzou et al., 2012)**.

Le principe de l'évaluation de l'activité antimicrobienne d'extrait de *Thymus hirtus* consiste à cultiver des micro-organismes sur des milieux solides en présence de disques imprégnés d'extrait. Si l'extrait avait une activité antibactérienne, on observera des zones d'inhibition autour du disque **(Fattouch et al., 2007)**.

Chapitre II :

Généralités sur les  
huiles essentielles

## 2 Généralités sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont fabriquées à partir des sucres issus de la photosynthèse, par des cellules spécialisées (ou sécrétrices) situées le plus souvent dans les fleurs et les feuilles **Lardry et Haberkorn, (2007)**. Ils ont des plusieurs applications en médecine traditionnelle, dans l'aromatisation des aliments et dans l'industrie pharmaceutique. **(El Gendyet al., 2015)**. Les huiles essentielles sont les plus étudiées et présentent une grande importance commerciale **Sutour, (2010)**. Aussi ils ont des extraits purs et naturels de la partie odoriférante des plantes aromatiques **(Lardry et Haberkorn, 2007)**.

Les propriétés antimicrobiennes et antioxydants des huiles essentielles ont été connues depuis longtemps **(El Gendyet al., 2015)**.

### 2.1 Définition

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydro distillation ou par expression mécanique **Kalemba, (2003)** et possèdent de nombreuses propriétés **(Koziol, 2015)**.

Quant à l'AFNOR (Association française de la normalisation), elle définit l'huile essentielle comme « des produits obtenus à partir de matières premières végétales par différentes techniques (par distillation à la vapeur ou par traitement mécanique), suivies de processus physiques qui séparent l'huile de la phase aqueuse » **(Dhifi et al., 2016)**.

### 2.2 Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont généralement liquides et volatiles à température ambiante, les distinguant ainsi des huiles dites "fixes". La plupart ont la capacité de dévier la lumière polarisée. Ces substances sont liposolubles et peuvent se dissoudre dans des solvants organiques courants, et sont également entraînaibles à la vapeur d'eau.

Elles ont une faible solubilité dans l'eau **Desmares et al., (2008)**. Leur couleur varie et leur densité est généralement plus faible que celle de l'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé **(Couic-Marinier et Lobstein, 2013)**.

Elles sont composées de molécules ayant un squelette carboné, avec un nombre d'atomes de carbone variant généralement de 5 à 22 **Lakhdar, (2015)**. Aussi elles sont très sensibles à la dégradation **(Kfoury, 2015)**.

### 2.3 Le rôle des huiles essentielles

Le rôle physiologique des huiles essentielles dans le règne végétal reste encore inconnu (**Guinoiseau, 2010**).

D'autres travaux montrent que les huiles essentielles jouent un rôle dans la résistance des plantes aux insectes, ou bien agir comme des mobilisateurs d'énergie lumineuse et des régulateurs bénéfiques pour la plante **Djibo, (2014)**. Elles peuvent également jouer un rôle significatif en tant que modérateurs des réactions d'oxydation intramoléculaires, offrant ainsi une protection à la plante contre les agents atmosphériques (**Martins, 2020**).

De plus, les plantes aromatiques utilisent aussi les huiles essentielles pour inhiber la germination et la croissance d'autres espèces végétales à proximité (**Bouyahya, 2018**).

### 2.4 Méthode d'extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles s'est nécessairement une opération complexe et délicate **Boukhatem, (2019)**. qui vise à obtenir des produits volatils très fragiles tout en préservant la qualité des huiles essentielles, sans altération **Pierre, (2016)**. Qui sont extraites de différentes parties de la plante telles que les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, les bourgeons, et le bois (**Shaaban et al ., 2012**).

Divers procédés d'extraction des huiles essentielles sont utilisés, en fonction du matériel végétal à traiter, de sa richesse en essence, de sa fragilité aux températures élevées et à l'action de l'eau (**Tolba, 2017**).

#### 2.4.1 L'hydrodistillation

L'hydrodistillation représente la méthode standard utilisée pour extraire les huiles essentielles à partir de matière végétale **Triaux, (2019)**. Elle se produit dans un appareil de type Clevenger **Bounab, (2020)**. Et consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau et l'ensemble est porté à ébullition, généralement conduite à pression atmosphérique **Boukhatem, (2019)**. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques se combinent avec la vapeur d'eau pour former un mélange azéotropique **Lucchesi, (2005)**. Les vapeurs se condensent dans un dispositif réfrigérant, permettant ainsi aux huiles essentielles de se séparer de l'eau en raison de leur différence de densité **Zaibet, (2018)**. Et qui seront récupérées par décantation (**Chekoual, 2019**).

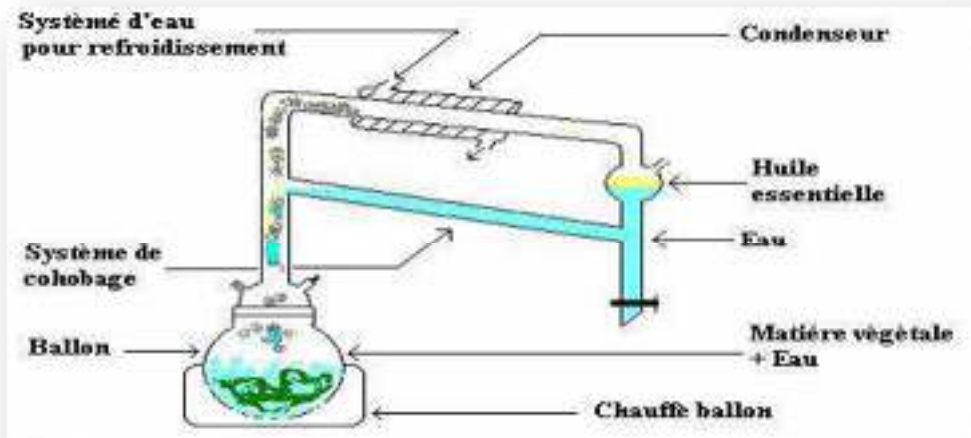


Figure 3. Appareillage utilisé pour l'hydro distillation de l'huile (Zaib et, 2018).

### 2.4.2 Hydro-diffusion

C'est une Co-distillation descendante, une méthode relativement nouvelle qui implique le passage de la vapeur d'eau à travers une matrice végétale de haut en bas sous pression réduite (Bousbia, (2011)). L'avantage d'être plus rapide et, par conséquent, moins susceptible de transformer la qualité des huiles essentielles recueillies (Bounab, 2020).

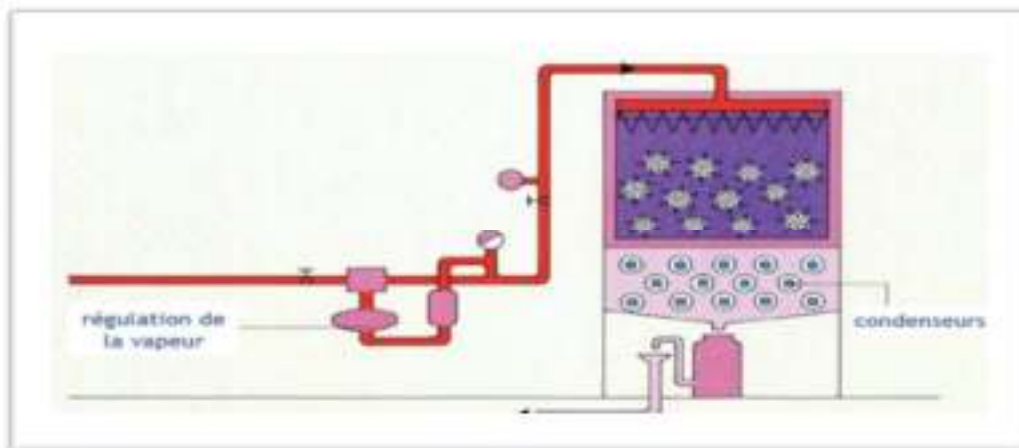


Figure 4. Schéma du procédé d'Hydro diffusion (Achour, 2020).

### 2.4.3 Entraînement à la vapeur d'eau

Cette méthode a les mêmes principes que l'hydro distillation, à ceci près que le matériel végétal n'est pas en contact direct avec l'eau, la génération de vapeur se produit à l'extérieur de l'alambic de distillation **Malti , (2019)** . Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau qui traverse le végétal **Iazzourane, (2015)**. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est ensuite vaporisée par la chaleur pour former un mélange "eau + huile essentielle" **Bessah ,( 2013)**. Le mélange est conduit vers le condenseur et l'essencier, où il est ensuite séparé en une phase aqueuse et une phase organique contenant l'huile essentielle (**Baba-Ahmed , 2018**).

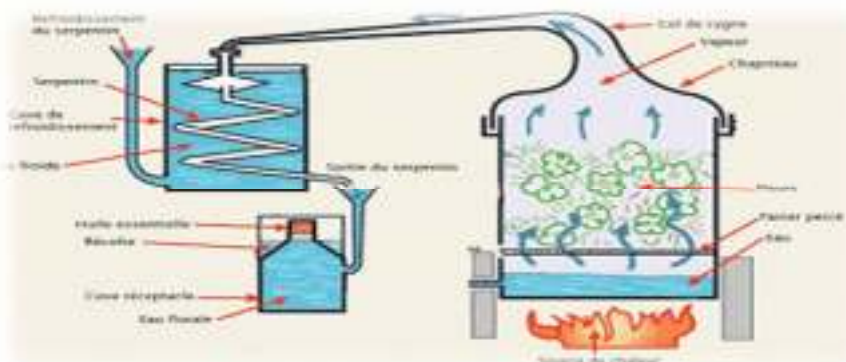


Figure 5. Entraînement à la vapeur d'eau (**Baba-Ahmed, 2018**)

### 2.4.4 Extraction par micro-ondes

Ce procédé offre l'avantage de diminuer significativement la durée de distillation et d'augmenter le rendement **Boukhatem et al, (2019)**. Il s'agit d'extraire l'huile essentielle en utilisant un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et une séquence de mise sous vide (**Bianchini, 1997**).

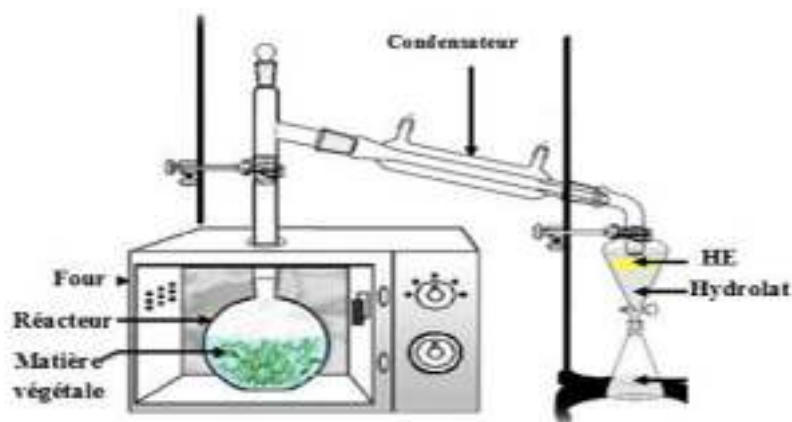


Figure 6. dispositif d'extraction assistée par micro-ondes (**Djarallah, 2020**).

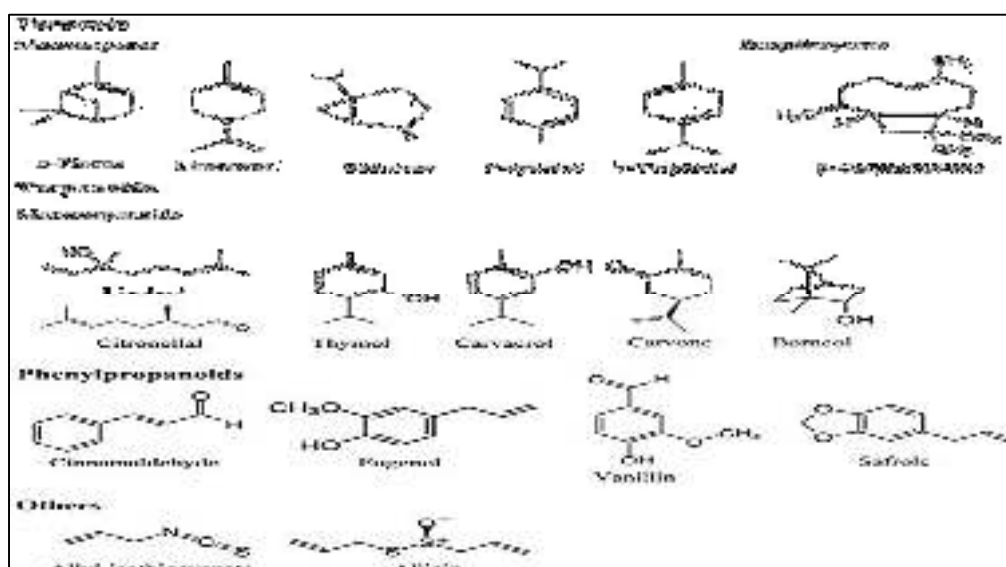
### 2.4.5 Extraction par le CO<sub>2</sub> supercritique

L'originalité de cette technique provient de l'utilisation de solvants dans leur état supercritique **Fillatre, (2011)**. Le fluide supercritique le plus utilisé est le dioxyde de carbone. Généralement l'extrait devient insoluble dans le CO<sub>2</sub> et précipite au fond de l'enceinte. Le gaz carbonique est ensuite liquéfié et peut être à nouveau utilisé (**Bousbia, 2011**).

### 2.5 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des huiles volatiles et des mélanges complexes de composants.

**Bouaoun et al., (2007)**, Plus de 60 molécules différentes peuvent entrer dans la composition chimique d'une huile essentielle. Les composés majoritaires peuvent représenter, à eux seuls, plus de 85% de l'huile alors que d'autres composés ne sont présents qu'à l'état de traces. **Senatore, (1996)**. Les plus couramment représentées sont les terpénoïdes, en particulier les monoterpènes (C<sub>10</sub>) et sesquiterpènes (C<sub>15</sub>) et les composés aromatiques, mais on y trouve également des constituants aliphatiques issus de la synthèse des acides gras et plus rarement d'autres composants d'origines diverses (dérivés soufrés, nitriles, thiocyanates...). (**Randrianarivelo, 2010**).



## 2.6 Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues pour leur composition chimique très variée, ce qui leur confère de nombreuses activités biologiques. **Younes, (2020)**. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés, antibactériennes, anti-inflammatoires, antivirales et antiparasitaires ...ect. **(Haddouchi, 2008)**.

### 2.6.1 Activité antibactérienne

L'utilisation des huiles essentielles et de leurs composants permet de contrôler efficacement la propagation des agents bactériens, en inhibant leur croissance et leur reproduction. Certains de ces huiles ont la capacité de bloquer la croissance de bactéries résistantes et multi résistantes aux antibiotiques **(Guinoiseau, 2010)**.

### 2.6.2 Activité anti-inflammatoires

Les aldéhydes contenus dans un grand nombre d'HE ont la propriété de combattre les inflammations. Un cas exemplaire est celui des huiles essentielles de clou de girofle qui calme les douleurs dentaires **(Fekih , 2014)**

### 2.6.3 Activité Antivirale

Les virus sont extrêmement sensibles aux huiles essentielles contenant des phénols et des monoterpénols, ce qui leur confère la capacité de lutter contre certaines maladies virales, telles que l'HE de Ravintsara, de Bois de Hô ou de Cannelle de Ceyla. **(Mayer, 2012)**.

### 2.6.4 Activité antiparasitaire

Les alcools monoterpéniques, les phénols et certains oxydes des huiles essentielles ont une action anti-parasitaire contre les protozoaires et les métazoaires, tels que les leishmanies et les vers. **(Bezza et al., 2010 De, 2017)**.

### 2.6.5 Activité antifongique

Les molécules antifongiques sont également des agents dotés de fortes propriétés antibactériennes. Cependant, le traitement des infections fongiques demande plus de temps. Des composés comme les alcools et les lactones sesquiterpéniques peuvent aussi être utilisés. Cette double action, antibactérienne et antifongique, souligne le grand potentiel des huiles essentielles par rapport aux antibiotiques, qui sont souvent responsables de mycoses lors d'un traitement anti-infectieux **(Desramaux, 2018)**.

## 2.7 Mode d'action des huiles essentielles

Les huiles essentielles et leurs constituants ont des mécanismes d'action variés et très ciblés **Bouyahya et al., (2018)**, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire **Toure , (2015)** . Elles peuvent induire la coagulation, agir sur la paroi, induire la fuite des ions à travers la membrane, agir sur des protéines et les acides gras membranaires, et agir sur les médiateurs du quorum sensing. **(Bouyahya et al., 2018). (Figure 8)** .

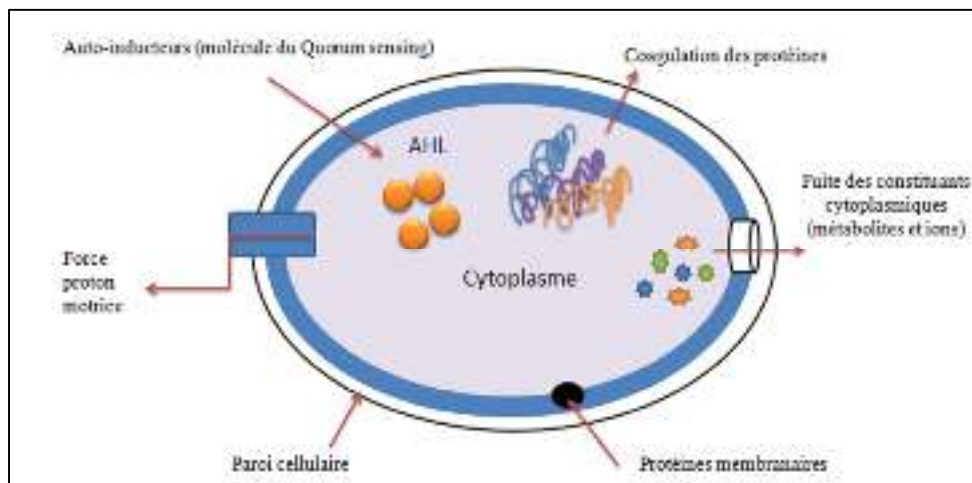


Figure 8. Mécanismes d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne **(Martins , 2020.)**

Certaines huiles essentielles (comme l'eucalyptus, la camomille, l'armoise et la verveine) ont le pouvoir d'inhiber la germination des spores de *Clostridium botulinum* et de *Bacillus cereus*. D'autres sont capables d'altérer la pathogénicité des bactéries. **Bouhdid et al. , (2012)**, En général, les bactéries Gram négative sont plus résistantes que les Gram positive grâce à la structure de leur membrane externe . **(El Amri et al.,2014)** .

## 2.8 Domaine d'utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent être utilisées de manière intéressante dans divers secteurs **Bouchikhi, (2011)** , et leur popularité a considérablement augmenté ces dernières années, **(Balandrin et al., 1985.)**.

Les industries de parfum, de produits cosmétiques et pharmaceutiques ont connu un essor considérable de leur utilisation. **Mouas et al. , (2017)**. Elles sont commercialisées et présentent un grand intérêt en pharmacie par leurs pouvoirs antiseptique comme par exemple : *Thymus vulgaris* (Thym), *Saturejamontana* (Sariette)., analgésique, antispasmodique, apéritif, antidiabétique ..., en alimentation par leur activité anti-oxydante et leur effet aromatisant , dans différents produits (café, thé, tabac, vin, yaourt, plats cuisinés), en

parfumerie et en cosmétique par leur propriété odoriférante **Ouis, (2015 ) ; Randrianarivelo , (2010)** en agroalimentaires utilisés comme conservateurs et agents aromatisants alimentaires **(Bouchikhi,2011)**.

# **Partie Expérimentale**

# **Chapitre I :**

## **Matériel et méthode**

## Matériel et Méthodes

### Objectif de l'étude

Cette étude a pour l'objectif d'extraction de l'huile essentielle d'une plante sauvage : *Thymus hirtus* et la détermination du rendement en huile essentielle, l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile.

La partie expérimentale a été réalisée aux laboratoires du hall technologique, de l'Université Abbés Laghrour – Khenchela, elle comprend toutes les méthodes et les expérimentations à savoir l'extraction de l'huile essentielle et l'étude de l'activité antibactérienne et antifongique par méthode de diffusion sur disque et la technique de microdilution pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB).

## 1 Préparation du matériel végétal

### 1.1 Collecte de la plante

La plante est récoltée au niveau de la région de Bouilef à Batna à l'est de l'Algérie (**Figure 9**) (durant la période de floraison en Octobre-Novembre 2023). Seule la partie aérienne a été retenue (tige, feuille et fleurs).

### 1.2 Séchage et conservation

Le matériel végétal, fraîchement récolté, a été débarrassé des mauvaises herbes, séché à l'ombre dans un milieu aéré, loin de toute pollution et à l'abri de la lumière pendant quinze jours (jusqu'à l'obtention d'un poids constant), puis coupé en petits morceaux et broyé. Ensuite, il a été conservé dans des sacs en papier afin d'éviter toute rétention d'humidité pour une extraction ultérieure de l'huile essentielle (**Figure 10**).



Figure 9. Carte géographique de la Wilaya de Batna

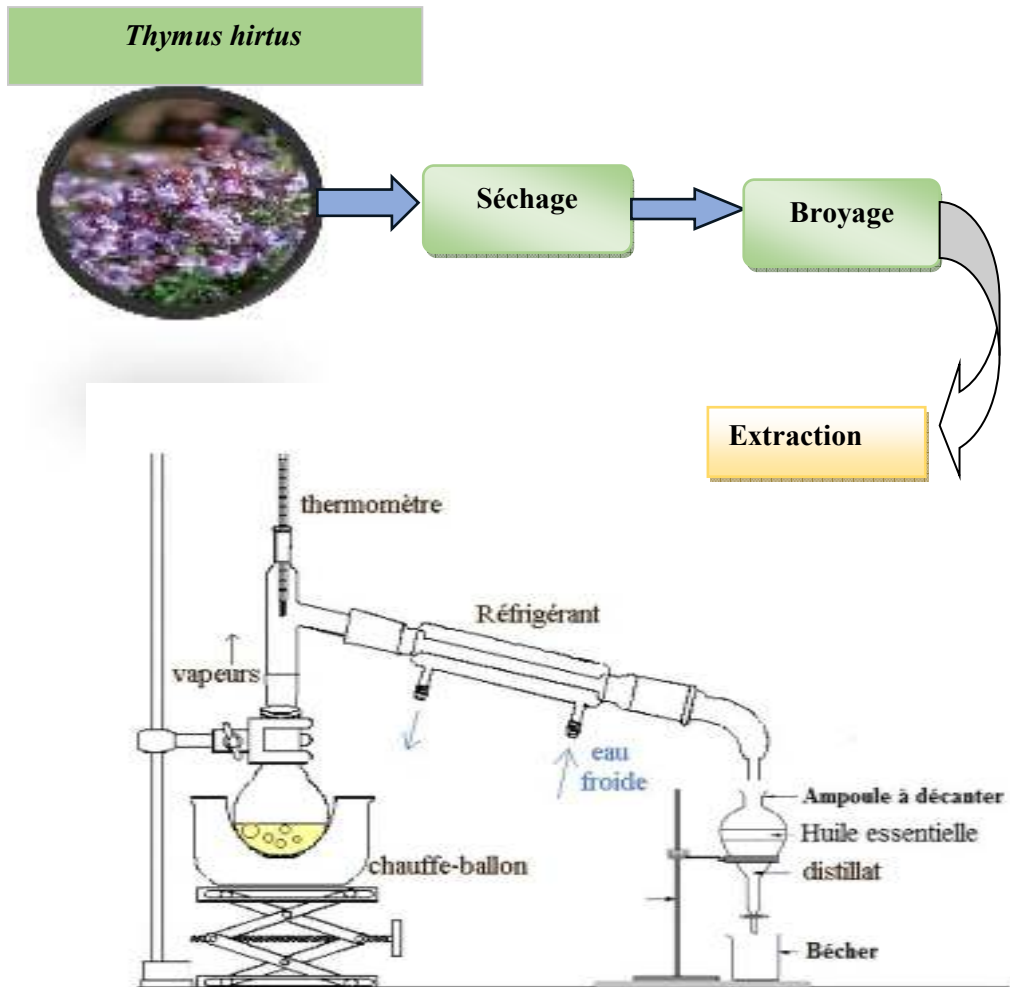


Figure 10 . Préparation du matériel végétal .

## 2 Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle à partir de la partie aérienne de l'espèce *Thymys hirtus* a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation dans un dispositif de type Clevenger (**Figure 11**).



Figure 11. Le montage d'hydrodistillation (Clevenger)

## 2.1 Conditions opératoires d'hydrodistillation

Le Clevenger se compose de quatre parties principales :

- Le réacteur, un ballon dans lequel on introduit la matière végétale et l'eau distillée.
- La colonne, un cylindre en verre placé au-dessus du réacteur qui recueille la phase vapeur.
- Le réfrigérant dans lequel se condensent les vapeurs chargées d'huile essentielle.
- L'ampoule à décantation, où l'huile se récupère en deux phases, l'un est la phase organique (huile essentielle) et l'autre la phase aqueuse (hydrolat).

## 3 Rendement en huile essentielle

- Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre le poids d'HE obtenue et le poids de la biomasse du matériel végétal à traiter.
- Le rendement est exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE} = (\text{MHE} / \text{MPE}) \times 100$$





- ❖ RHE : rendement en huile essentielle (%)
- ❖ MHE : masse d'huile essentielle obtenue (g)
- ❖ MPE : masse de la plante sèche traitée (g)

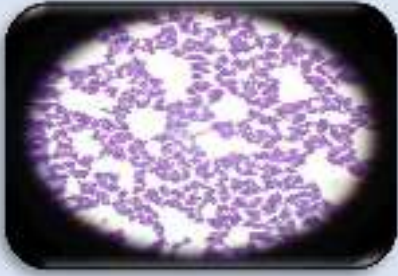

## 4 Etude de l'activité antibactérienne

### 4.1 Les souches bactériennes

Les souches bactériennes destinées aux tests antibactériens sont des souches cliniques (3 souches) et 5 souches de référence de Gram positif et négatif (**Tableau2**). Elles nous ont été aimablement fournies par le service de bactériologie d'un laboratoire d'analyses médicales. Le choix des souches est basé sur leur implication en pathologie humaines.

Tableau 2. Liste des souches bactériennes testées.

Gram	L'espèce bactérienne	Code	Photo
Gram -	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	
	<i>Escherichia coli</i> clinique		
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> clinique		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	
	<i>Proteus</i> sp clinique		

Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 27923	
	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778	

#### 4.2 Préparation des milieux de culture

Tableau 3. Les milieux de culture utilisée

Milieu	Application
<b>Gélose nutritive (GN)</b>	Repiquage des souches bactériennes
<b>Gélose Muller Hinton (MH)</b>	Aromatogramme
<b>Bouillon Mueller Hinton</b>	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB).
<b>Chapman :(<i>Staphylococcus aureus</i>)</b> <b>Hektoen : (<i>E.coli</i>)</b> <b>Citrimide :(<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)</b>	Confirmation de l'identification des souches testées
<b>PDA</b>	L'activité antifongique

#### 4.2.1 Préparation de la gélose Mueller-Hinton (MH)

Dissoudre 19g de la gélose Muller-Hinton dans un 500 ml d'eau distillée. Faire bouillir Avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et Finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétrie et conserver ces boîtes au réfrigérateur à 2-8 °C.



Figure 12. Les étapes de la préparation de la gélose Mueller-Hinton (MH).

#### 4.2.2 Préparation de la gélose nutritive (GN)

- ❖ On pèse 28 grammes de poudre GN dans 1 litre d'eau distillée.
- ❖ On met le tout sous agitation pour bien dissoudre le milieu déshydraté, et on porte à ébullition.
- ❖ Lorsque le produit atteint une température inférieure à 60°C, il est versé dans des flacons et stérilisé pour une éventuelle utilisation.



Figure 13 : La préparation de la gélose nutritive (GN).

#### 4.2.3 Préparation de bouillon MH

On a pesé 4 grammes de milieu (MH) déshydraté pour 500 ml d'eau distillée et le chauffer à ébullition pour dissoudre complètement le milieu à l'aide d'un agitateur chauffant. Une fois que le mélange est homogène, on l'a stérilisé à l'autoclave à une température de 121°C pendant 20 minutes, puis on l'a laissé refroidir. Après avoir atteint une température inférieure à 60°C, le bouillon MH a été coulé dans des boîtes pétri.

#### 4.2.4 Préparation de milieu PDA

- ❖ On pèse 42 grammes de poudre PDA dans 1 litre d'eau distillée
- ❖ On dissout la poudre dans le diluant à l'aide d'un agitateur
- ❖ Puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C
- ❖ Laisser refroidir, puis couler le milieu dans les boîtes de Pétrie et conserver ces boîtes au réfrigérateur à 2-8 °C

#### 4.2.5 Préparation de l'eau physiologique

On a pesé 2.7 grammes de poudre (NaCl) et on la mise dans 0,3 litre d'eau distillée, puis on a homogénéisé et on a chauffé le mélange sous agitation, on a réparti le mélange en tubes ou flacons stériles, ensuite on a stérilisé les tubes à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes, laissant refroidir puis conserver au réfrigérateur à 2-8 °C



Figure 14. Préparation d'eau physiologique

#### 4.3 Repiquage des souches bactériennes

Tous les tests antibactériens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de (18 à 24 heures) en phase de croissance exponentielle. La revivification des souches est effectuée en prenant un volume correspondant la boucle de l'axe de platine de chaque culture, que l'on a ensemencé par la méthode des séries sur des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive (GN), puis, incubées à 37°C pendant 24 heures (Figure 15).



Figure 15. Repiquage des souches bactériennes testées

#### 4.4 Préparation de la suspension bactérienne

Après une incubation à une température de 37°C pendant 24h.

A l'aide d'une anse de platine stérile et à partir des cultures jeunes précédemment préparées, on a prélevé des colonies bien isolées, Puis on les a déchargé dans des tubes à essai contenant 10 ml de l'eau physiologique et on a homogénéisé à l'aide d'un vortex, la suspension bactérienne pour avoir une densité équivalente à 0,5 Mc Ferland.

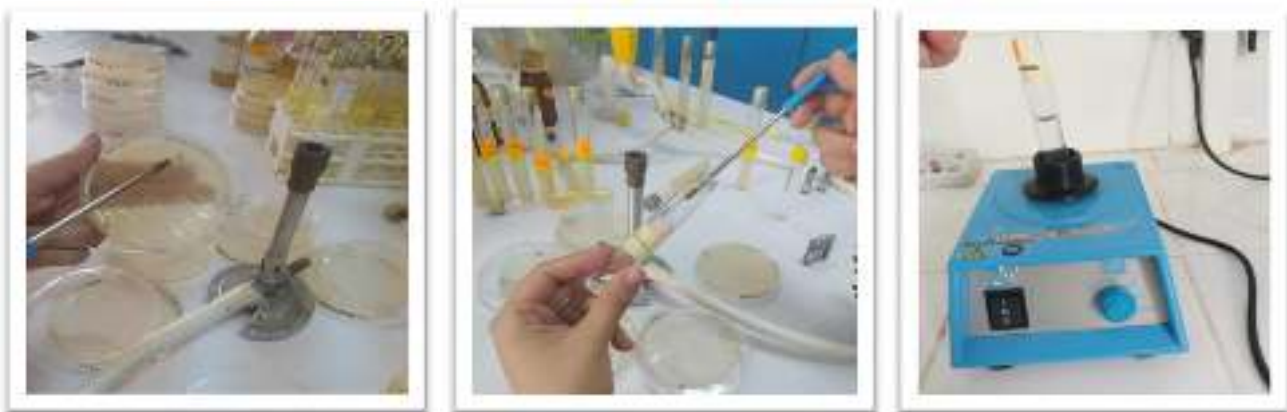


Figure 16. Préparation de la suspension bactérienne.



Figure 17. Les huit suspensions bactériennes préparées.

#### 4.5 Préparation des disques

Les disques sont préparés à partir de papier wattman, avec un diamètre de 6mm. Ensuite ils sont mis dans un tube eppendorf, et stérilisés à l'autoclave pendant 20 mn à 120°C.



Figure 18. Préparation des disques.

## 5 Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé à effet antibactérien en milieu solide dans une boîte de pétri, après un certain temps de contact entre le produit et le micro-organisme cible. L'activité antibactérienne sur la bactérie est estimée par la mesure de la zone d'inhibition, et en fonction du diamètre la souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante **Bouyahya *et al.*., (2017).**

### 5.1 L'ensemencement

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes de Pétri contenant un milieu Mueller Hinton, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et passant sur la périphérie de la gélose (**Figure 19**).

**NB:** dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.



Figure 19 La technique d'ensemencement par écouvillonnage.

### 5.2 Dépôt de disque

Après, on a laissé les boîtes à une température ambiante pendant 15 minutes. Ensuite à l'aide d'une pince stérile on a déposé au centre de chaque moitié de la boîte pétri un disque stérile de papier filtre et sur lequel on ajouta 10 µl de l'huile essentielle à l'aide d'une micropipette. L'opération est effectuée pour chaque souche bactérienne (**Figure 20**). Les boîtes de pétri sont laissées encore 45 minutes pour une pré-diffusion. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24 heures.

La lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle graduée en millimètre (mm).



Figure 20. Dépôt des disques.

## 6 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) de façon générale est la plus faible concentration d'antimicrobien capable d'inhiber toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24 heures.

### La méthode de microdilution

Dans notre cas, nous avons effectué l'expérimentation dans une microplaque de 96 puits, on a commencé par diluer l'huile essentielle (20  $\mu$ l) dans 320  $\mu$ l d'eau distillée et 60  $\mu$ l de tween 80 pour avoir la première concentration C1 (400  $\mu$ l), cette concentration est préparée dans un eppendorf stérile, puis on a procédé à la préparation d'une série de dilution par prélèvement à chaque fois d'un volume de 200  $\mu$ l d'une concentration que l'on ajoute au même volume d'eaux distillée (**Figure 21**)

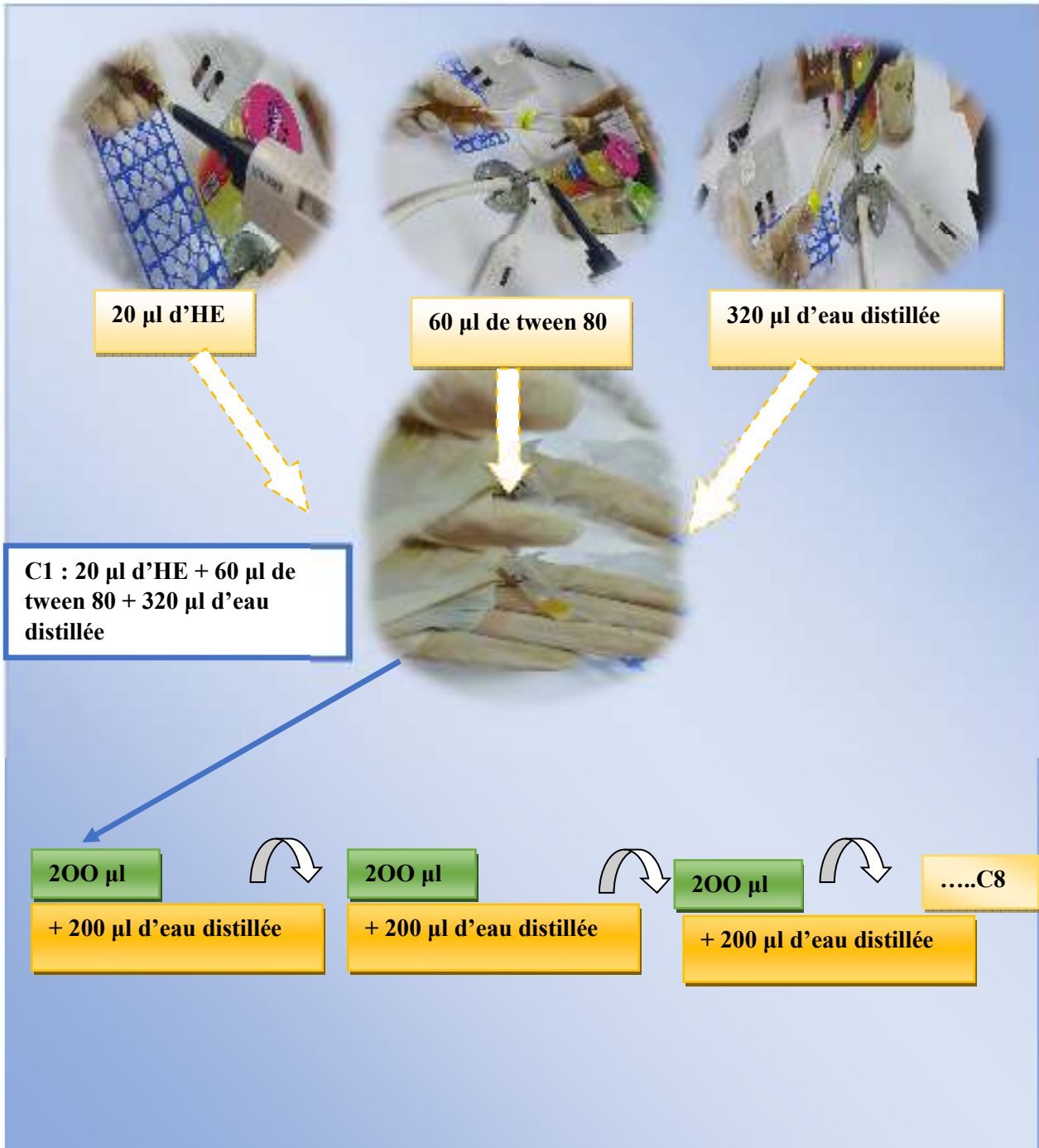


Figure 21. Préparation des concentrations

Une fois ces concentrations sont obtenues, on a ajouté dans chaque puits 20µl de chaque concentration d'huile essentielle, 70 µl de bouillon MH et 10 µl de la suspension bactérienne avec 2 répétions



Figure 22. Préparation des dilutions dans les puits.

Un témoin négatif a été préparé avec 60  $\mu$ l de tween 80, 20  $\mu$ l de la suspension bactérienne et 320 d'eau distillée.

Après une incubation à 37 °C pendant 24h, on ajoute à chaque puits 1 ou 2 gouttes d'indicateur coloré, le 2, 3,5-diphenyltetrazolium chloride (TTC), une deuxième incubation a été effectuée pendant 2 h.

## 7 La détermination concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) est décrite par **Bouزيد *et al.*, (2021)**, comme étant la plus faible concentration en huile essentielle capable de tuer plus de 99,9% de l'inoculum microbien initial.

Après avoir mis en évidence un effet inhibiteur de notre huile nous avons essayé d'approfondir l'étude de l'effet antimicrobien afin de voir au-delà de cet effet inhibiteur L'existence d'effet bactéricide. Pour cela nous avons procédé comme suit :

L'ensemble des germes qui n'ont pas enregistré de croissance visible, c'est-à-dire en dessus de leurs CMI, sont prélevé à l'aide d'une micropipette, 5 $\mu$ l de chaque puits n'ayant pas présenté de culture bactérienne (après révélation avec le 2,3, 5-diphenyltetrazolium chloride) et on les a ensemencé sur des boites pétri contenant la gélose MH. Après incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures.

La lecture des valeurs de la CMB a été faite par observation à l'œil nu, et elle a été déduite à partir de la première boite qui n'a pas présenté de culture bactérienne.

## 8 Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles

### 8.1 Préparation de la suspension sporale :

A partir d'une culture âgée de 5 jours de l'espèce à tester (*Aspergillus niger* et *Candida alicans* dans notre cas), une suspension sporale est préparée par grattage de spores dans des tubes à essai contenant une solution de l'eau physiologique stérile

A l'aide d'un vortex, la suspension préparée est agitée.

**8.2 L'aromatogramme. (Confrontation directe)**

La confrontation directe « Souche fongique / HE » est une technique qui consiste en la diffusion de l'HE à travers des disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre placés aux centres des boîtes de Pétri dans un milieu de culture PDA déjà inoculé par les souches fongiques étudiés.

Dans chaque boîte de Pétri, on étale de manière uniforme sur le milieu de culture PDA une quantité la suspension sporale préparée déjà au même jour. Les boîtes sont séchées pendant quelques minutes à l'étuve à 24°C. Ensuite, à l'aide d'une pince stérile, des disques de papier Wattman 6 mm de diamètre sont placés au centre des boîtes, puis imbibés par 10µl de l'huile essentielle à tester, à l'aide d'une micro pipette. Les boîtes sont incubées à une température de 24 °C pendant cinq jours. Ensuite une lecture des résultats se fait par mensuration du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance de la souche fongique **(Boudjehem, 2019)**.

# **Chapitre II :**

## **Résultats et**

### **Discussion**

## 1 Résultats d'extraction de l'huile essentielle

### 1.1 Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle de la plante *Thymus hirtus* présente un taux d'environ 0,7 %, les résultats sont résumés dans le **(tableau 4)**. L'HE obtenue par hydrodistillation est de couleur jaunâtre avec une odeur très forte et persistante.

Tableau 4. Résultat d'extraction de l'huile essentielle et le rendement en pourcentage

Espèce végétale	Masse de la plante Sèche	Masse de l'huile Essentielle	Rendement en %
<i>Thymus hirtus</i>	100g	0.7g	0,7% ± 0,03

### 1.2 Etude de l'activité antimicrobienne

#### 1.2.1 Test de l'aromatogramme

Le test de l'aromatogramme consiste à déterminer la sensibilité des huiles essentielles vis-à-vis des souches bactériennes. Cette sensibilité est exprimée par l'apparition d'une zone inhibitrice autour du disque de papier contenant de l'huile essentielle. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre **(Tableau 6)** Selon ce diamètre, la sensibilité des bactéries vis-à-vis de l'huile essentielle est classée en différents degrés comme l'indique le **(Tableau 5)**.

Tableau 5. Le degré de sensibilité bactérienne en fonction de diamètre des zones d'inhibitions

(Ponce *et al.*, 2007) .

Diamètre de la zone d'inhibition	Sensibilité de genre	
≤ 8 mm	-	Non sensible ou résistant
9 mm - 14 mm	+	Sensible
15 mm -19 mm	++	Très sensible
≥ 20 mm	+++	Extrêmement sensible

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thymus hirtus* a été réalisée sur cinq souches de référence et trois souches cliniques, les résultats obtenus et relatifs aux

Diamètres des zones d'inhibition sont regroupés dans les tableaux ci-dessous

### A. Les souches de référence

Tableau 6. Résultats de l'aromatogramme exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition pour les souches de références.

Les souches	Diamètre d'inhibition	Sensibilité
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27923	30 mm	Extrêmement Sensible
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	7 mm	Résistant
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	6 mm	Résistant
<i>Pseudomonas</i> <i>Aeruginosa</i> ATCC 27853	7 mm	Résistant
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	6 mm	Résistant

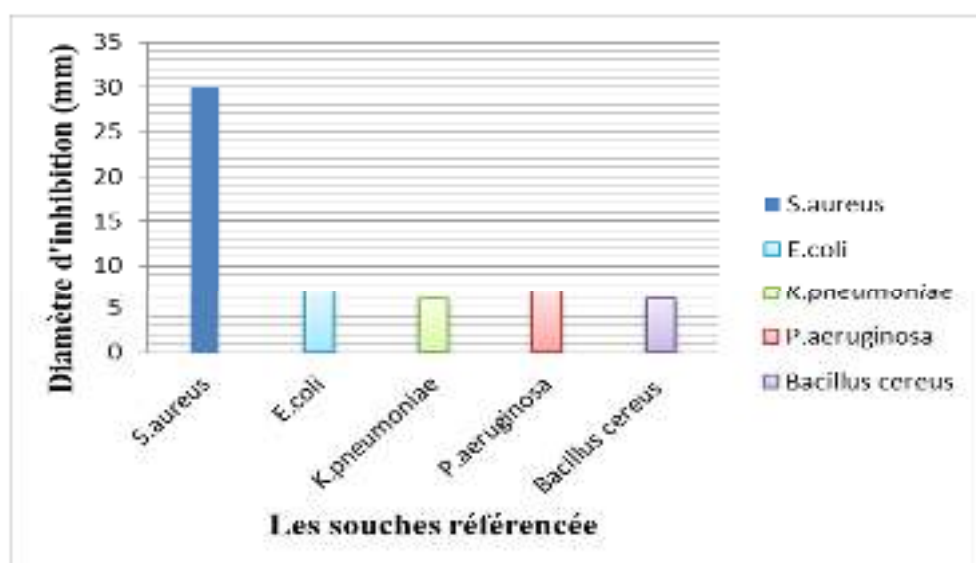


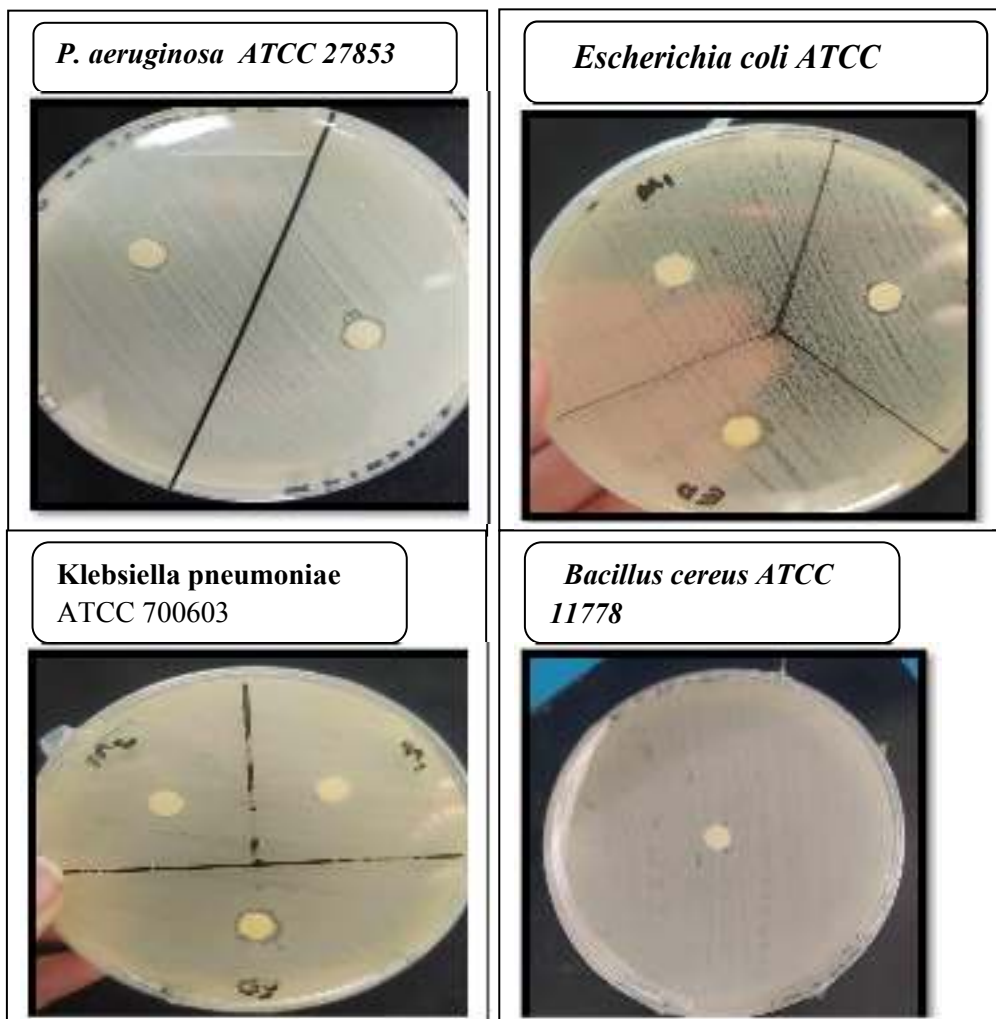
Figure 23. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne des souches de référence.

Nous avons observé que l'activité d'une même huile essentielle varie d'une souche à une autre, cette différence est remarquée sur les diamètres des zones d'inhibition qui montrent que certaines souches sont résistantes que d'autres.

D'après les résultats montrés dans le (Tableau 6) au-dessus, on constate que les zones d'inhibition varient entre 6 et 30 mm. On constate également que la bactérie *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 est plus sensible parmi les bactéries testées.

Le diamètre le plus faible (6 mm) est obtenu pour la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Bacillus cereus* contre le diamètre le plus élevé (30 mm), obtenu pour la bactérie *Staphylococcus aureus* ATCC 25922.

Selon le classement effectué par Ponce et al.,( 2003), les résultats obtenus montrent que l'HE de *Thymus hirtus* possède une activité antibactérienne uniquement contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, alors que d'autres isolats sont résistants.



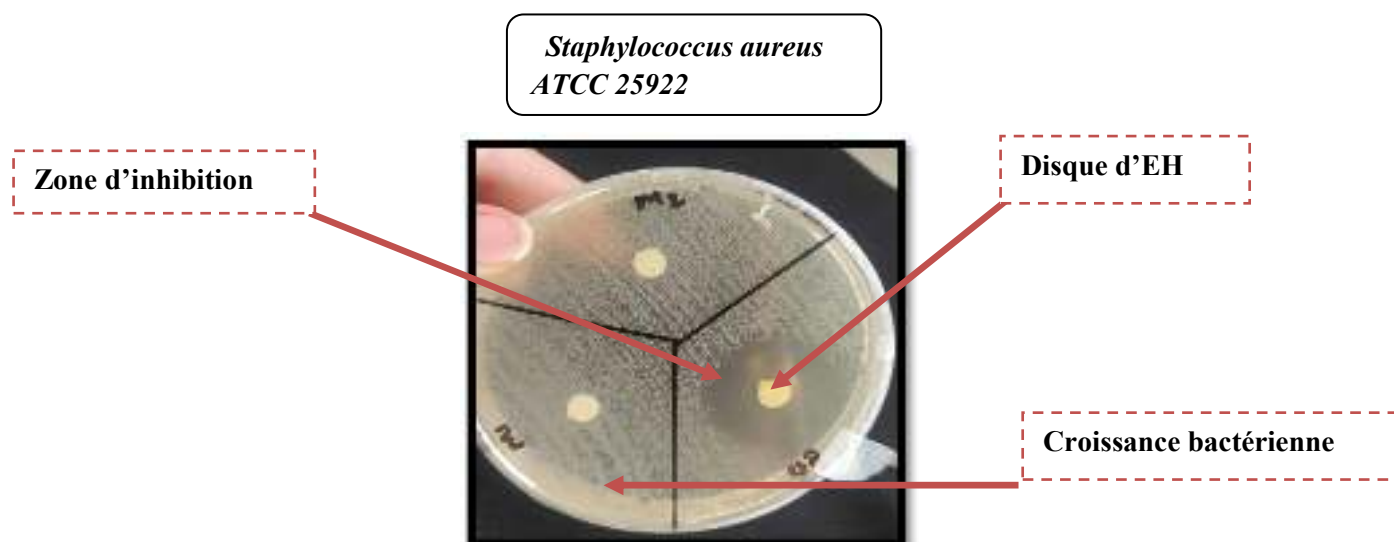


Figure 24. Résultats de l'aromatogramme par la méthode de diffusion sur disques.

### B. Les souches cliniques

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant l'huile essentielle à tester vis-à-vis des bactéries clinique : *Escherichia coli* , *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus sp*.

Tableau 7. Résultats de l'aromatogramme exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition pour les souches cliniques.

Les souches	Diamètre d'inhibition	Sensibilité
<i>Escherichia coli</i>	23mm	Extrêmement sensible
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7mm	Résistant
<i>Proteus sp</i>	10mm	Sensible

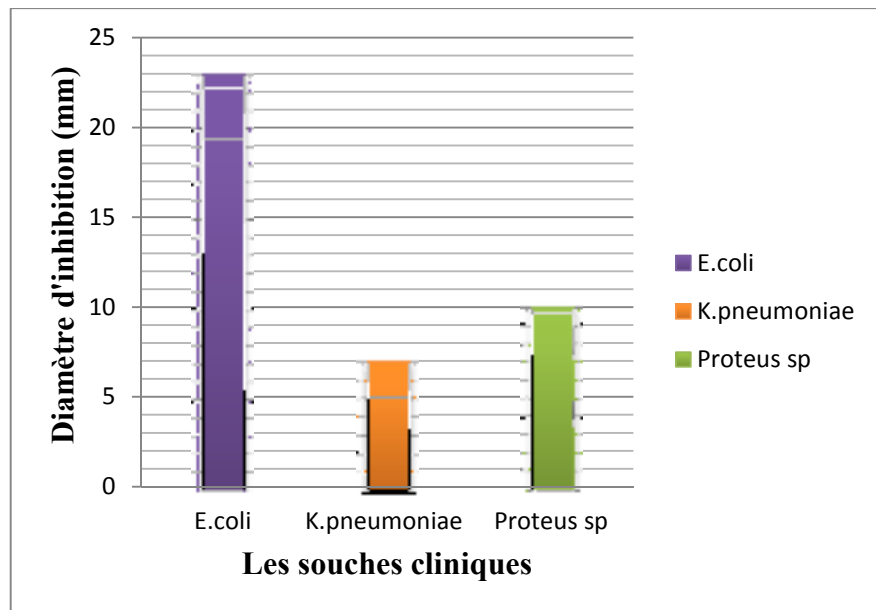


Figure 25 . Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne des souches cliniques.

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thymus hirtus* ont montré que cette huile essentielle possède une forte activité antibactérienne vis-à-vis *Escherichia coli*, avec diamètre d'inhibition égale 23 mm . Par contre, *Klebsiella pneumoniae* a une résistance extrême (7 mm) vis-à-vis de cette huile essentielle. *Proteus sp*, est sensible à cette huile à diamètre d'inhibition égal 10mm.

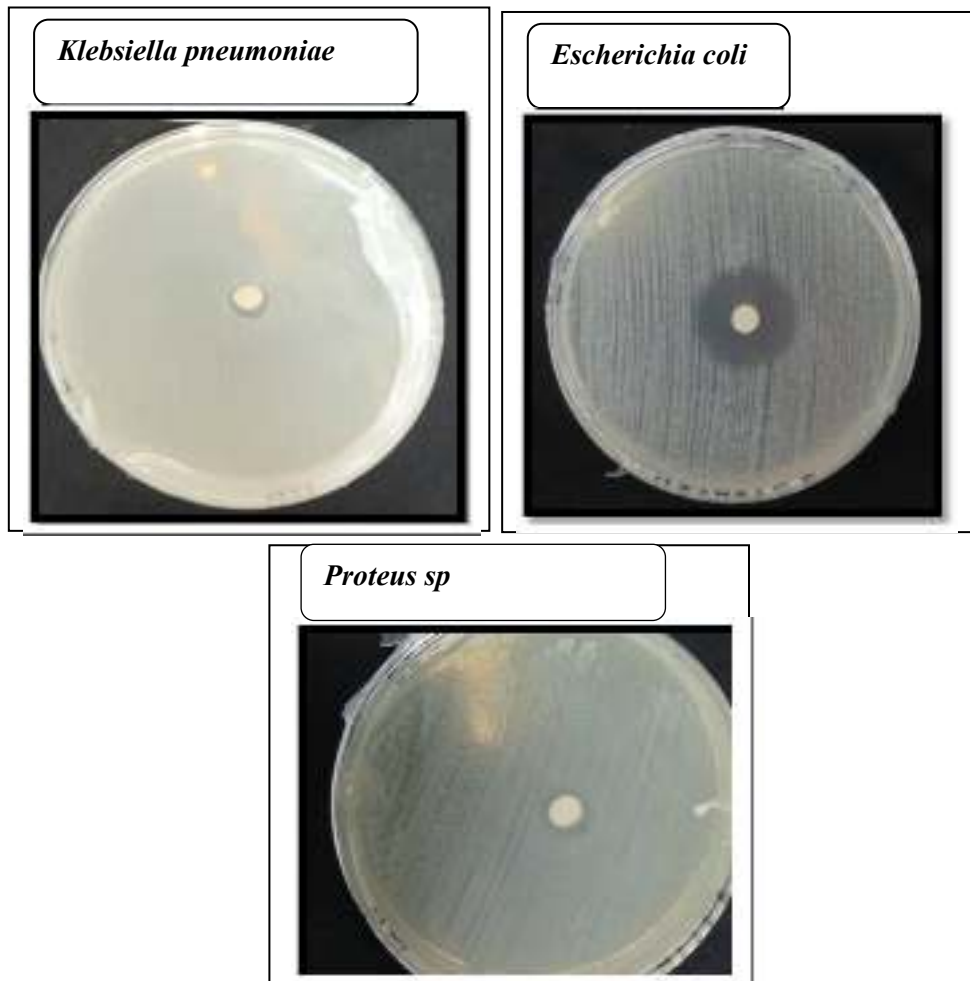


Figure 26. Diamètres des zones d'inhibitions (m/m) de l'huile essentielle *Thymus hirtus* des souches cliniques (*Proteus sp*, *K.pneumoniae*, *E.coli*).

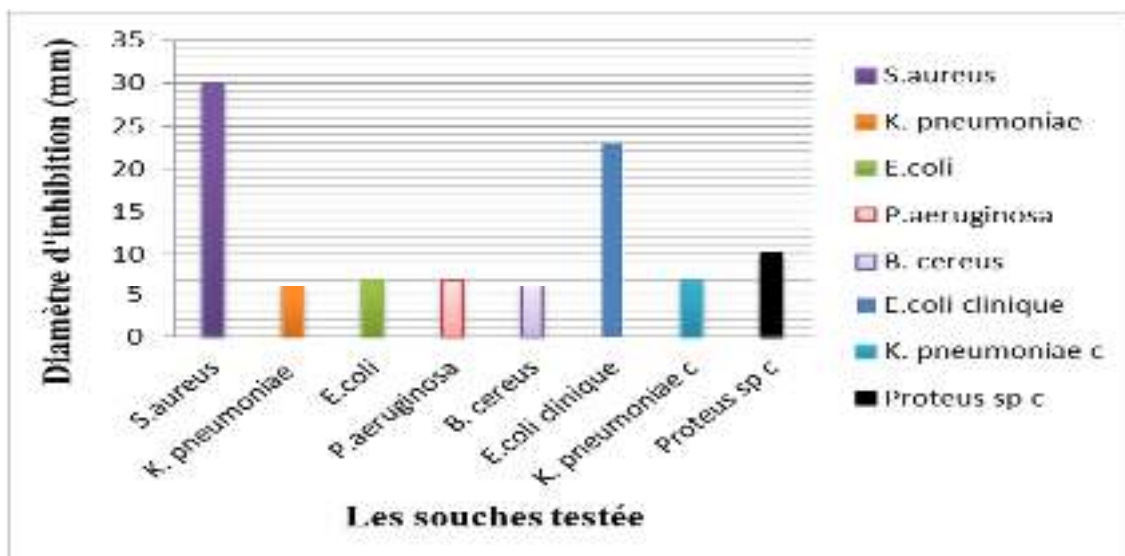


Figure 27. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne de chaque souche testée.

### 1.3 Etude de l'Activité antifongique

Les résultats du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de *Thymus hirtus* sur les deux souches fongiques : *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, sont représentés sur la 28 et le (Tableau 8).

Tableau 8. Diamètres des zones d'inhibition de L'activité antifongique

Les souches	Diamètres d'inhibition	Sensibilité
<i>Aspergillus niger</i>	7 mm	Résistant
<i>Candida albicans</i>	8 mm	Résistant

Les résultats de l'essai de l'activité antifongique de l'huile essentielle de la région de Batna figurent dans la figure suivante :

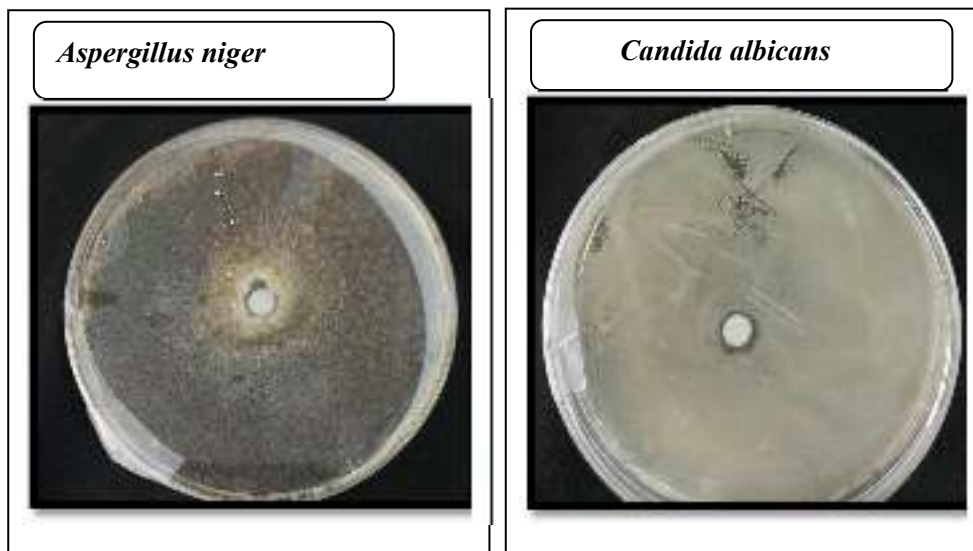


Figure 28. les zones d'inhibitions de l'huile essentielle *Thymus hirtus* des souches fongique (*Aspergillus niger*, *Candida albicans*)

A partir des résultats obtenus du figures, l'huile essentielle de *Thymus hirtus* ne possède aucune activité antifongique contre *Aspergillus niger* et *Candida albicans*.

### 1.4 Détermination de CMI

L'activité antibactérienne par la méthode de microdilution a été exprimée en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI).

La CMI est effectuée seulement sur les souches sensibles à l'HE de *Thymus hirtus*. Donc nous avons écarté de cette méthode les bactéries qui ont montré une résistance dans l'évaluation par méthode de disque; les souches concernées sont : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus sp.*

Les résultats du test de microdilution sont regroupés dans les figures et le tableau ci-dessus:

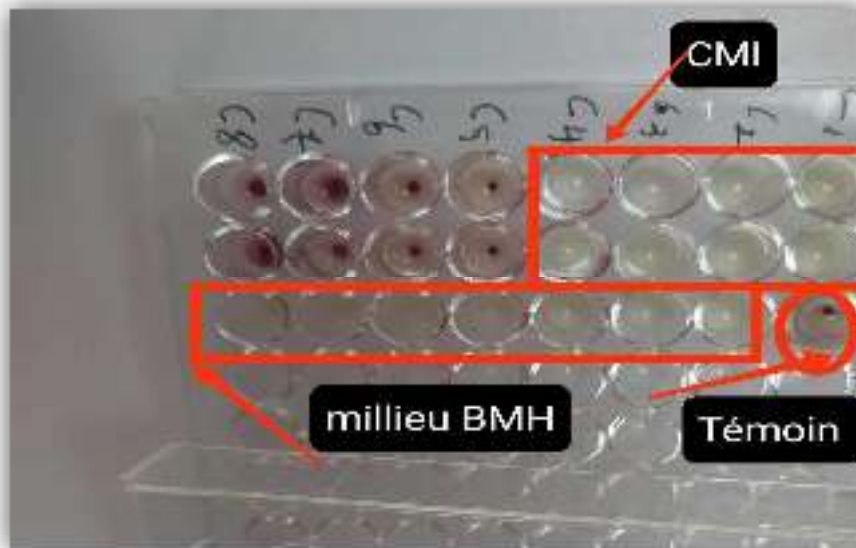


Figure 29. Lecture de la CMI de l'HE de *Thymus hirtus* sur *Staphylococcus aureus*



Figure 30. Lecture de la CMI de l'HE de *Thymus hirtus* sur *E.coli*

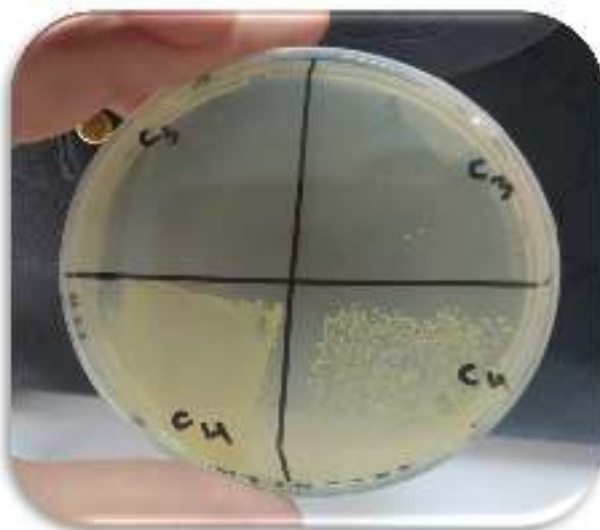


Figure 31. Lecture de la CMI de l'HE de *Thymus hirtus* sur *proteus sp.*

Les figures au -dessus représentent les résultats du CMI, où les puits colorés (virage de couleur) symbolisent la présence de bactéries, ce qui signifie que l'huile essentielle n'a pas inhibé la croissance des bactéries.

Les puits décolorés indiquant l'absence des bactéries, ce qui signifie que l'huile essentielle a inhibé l'activité des bactéries.

Donc CMI des souches testées sont 2,5 pour *S. aureus* et 10 pour *E. coli* par contre la microplaque de *Proteus sp* indique que la bactérie est supérieur à notre concentration.



*Staphylococcus aureus* ATCC 25922



*Escherichia coli*

Figure 32. La lecture de CMB de *Thymus hirtus* sur les souches bactériennes testées.

D'après la figure au-dessus, nous disons que l'apparition d'une croissance bactérienne dans la boîte de pétri est la preuve que la concentration en huile essentielle n'a pas tué les bactéries, ce qui signifie qu'il ne s'agit pas de CMB.

L'absence de culture bactérienne prouvant que l'huile a tué les bactéries signifie qu'il s'agit bien de CMB.

Tableau 9. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) d'HE.

Les souches	CMI( $\mu\text{l/ml}$ )	CMB( $\mu\text{l/ml}$ )
<i>S. aureus</i> ATCC 27923	2.5	3.3
<i>E.coli</i>	10	Supérieur à la concentration maximale que nous avons préparé , >10

On note principalement que l'HE de *Thymus hirtus* a inhibé la croissance des souches *S.aureus* et *E.coli* avec des concentrations minimales inhibitrices de 2.5 et 10  $\mu\text{l/ml}$  respectivement.

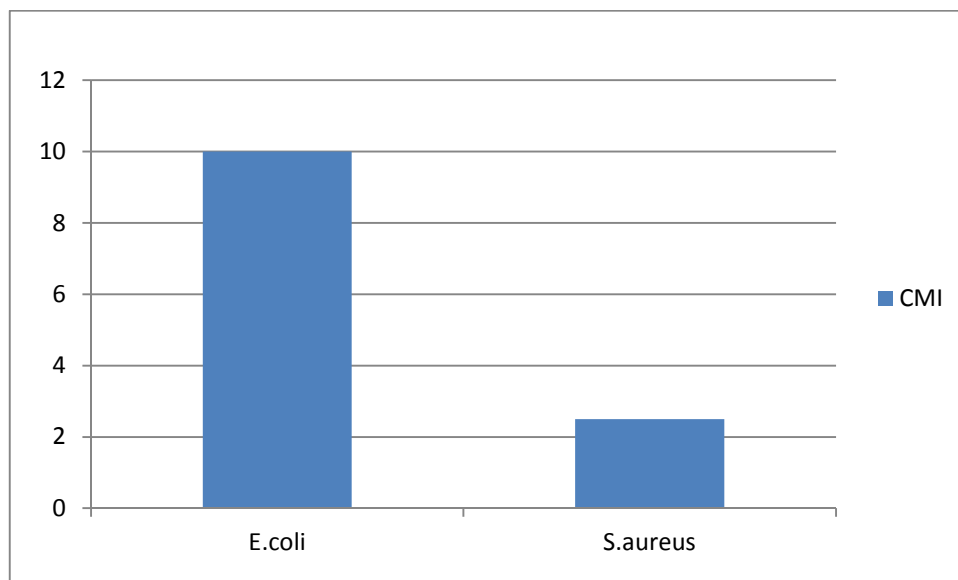


Figure 33. La CMI de l'HE de *Thymus hirtus* sur les souches bactériennes testées. (*E. coli*, *S. aureus*)

## 2 Discussion

### 2.1 Rendement

Le rendement en huile essentielle des plantes est un indice très important, qui sert à prévoir la rentabilité sur le plan économique, ainsi que la possibilité de valoriser ces plantes. Dans notre travail, le rendement en huile essentielle obtenue par hydrodistillation dans la présente est de 0,7%. Cette valeur est étroitement proche de celle trouvée par **Tabèche et Bouras, (2018)** qui ont obtenu un rendement de 0,78%. Cependant, nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par **Amarti et al., (2010)** qui ont obtenus un rendement d'extraction de 0,3%  $\pm$  0,07 et aussi des résultats trouvés par **El Ajjouri et al., (2010)** qui ont obtenus un rendement de 0,3%. Alors qu'elle est faible par rapport aux valeurs trouvées par **Tolba et al., (2015)** et **Guesmi et al., (2014)** qui ont rapporté des rendements de 2,23 %, et 10,82 % respectivement.

Cette différence de rendement en HE peut être due à plusieurs facteurs liés essentiellement à deux principaux éléments (**Chaouia et Houacine, 2018**) :

- La plante : l'origine des plantes et leurs variétés, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, le mode de la culture, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante et la durée de conservation.
- Les conditions de préparation et d'extraction de ces composés : solvant, diluant, épuisement, température, la pression, etc

### 2.2 L'activité antibactérienne

Nos résultats montrent que l'HE de *Thymus hirtus* exerce un effet antibactérien très important sur *Staphylococcus aureus* ATCC 27923 avec un diamètre d'inhibition de 30 mm. Ce résultat concorde avec celui rapporté par **Tabèche et Bouras, (2018)**, qui ont trouvé que l'huile essentielle de *T.hirtus* possède une activité antibactérienne très remarquable sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 avec un diamètre d'inhibition moyen de 54,77 mm. **Bendjabeur, (2019)** a montré que l'activité la plus importante a été observée sur la souche de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 avec une zone d'inhibition de 62 mm.

De plus, **Zayyad et al., (2014)** a montré que le *Staphylococcus aureus* est sensible à cette huile essentielle. Une autre étude de **Iazzouguen et Ouatah, (2012)** a montré que l'huile essentielle de *T. hirtus* exerce une forte activité antibactérienne sur *S. aureus* bien que sur *E. coli*.

En revanche, nos résultats montrent que l'HE de *T. hirtus* n'a aucun effet sur la souche *E. coli* ATCC 25922, Ce qui est semblable au résultat de **Tabeche et Bouras , (2018)** mais cette huile essentielle possède une forte activité antibactérienne vis-à-vis la souche *d'Escherichia coli* clinique, traduite par un diamètre d'inhibition de 23 mm.

**Giweliet et al ., (2013 )** montre que l'huile essentielle de cette plante possède un forte activité antibactérienne contre toutes les souches ce qui contredit nos résultats.

Les espèces du genre *Thymus* sont connues par leur activité antibactérienne importante, due principalement à leur composition chimique riche en composés phénoliques tels que le thymol et le carvacrol (**Khadir et al ., 2013**).

Dans notre étude, nous avons trouvé que *P. Aeruginosa* ATCC 27853 ,*K. pneumoniae* ATCC 700603 et clinique , *B. cereus* ATCC 11778 et *Proteus sp* clinique, sont résistantes à l'HE de *T. hirtus* ( des diamètres allant de 1 à 7mm ). A noter que même dans des travaux similaires réalisés par **Amarti et al ., (2010)** ont montré que *Bacillus* est plus résistante que d'autre souches avec une concentration d'inhibition de 1/250 v/v, alors que les autres bactéries ont été inhibées à partir de 1/500 v/v.

Par ailleurs, les résultats de **Bendjabeur , (2019)** ont montré une sensibilité des souches de *B. cereus* ATCC 10876 et *P. aeruginosa* à l'huile essentielle de *T.hirtus* traduite par une zone d'inhibition de 26 mm et 19 mm respectivement. L'huile essentielle de *T. hirtus* est moins active comparée à d'autres espèces du genre de *thymus*. Cette faible activité est peut être due à la présence dans l'huile de *T. hirtus* de l' $\alpha$ -pinène (20,5 %), du  $\beta$ -pinène (8,02 %) et du limonène (4,85 %) reconnus par leur faible activité antibactérienne (**Amartiet et al ., 2010**).

Enfin, plusieurs paramètres influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles ou de leurs composants actifs tels que la méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne, la région de collecte, le type et la structure chimique des composants actifs, la concentration, les microorganismes ciblés (**Zayyad et al ., 2014**).

### 2.3 Activité antifongique

Dans notre présente étude, l'huile essentielle de *T. hirtus* possède une très faible activité antifongique sur *Aspergillus niger* et *Candida albicans*. Les travaux réalisés par **Giordani et al., (2008)** et **El Ajjouri et al., (2010)** ont aussi montré que l'huile essentielle de *T. hirtus* la plus faible activité antifongique sur *C. albicans*.. Cela est en étroite corrélation avec nos résultats, et cette faible activité. Ceci peut être due à la composition chimique et surtout le taux de composés majeurs présents dans notre huile essentielle, déjà discuté dans la partie précédente de l'activité antibactérienne.

Enfin, les phénols terpéniques des huiles essentielles provoquent plusieurs dégâts sur les champignons, tels que les perturbations morphologiques des hyphes mycéliens, la rupture de la membrane plasmique et l'altération de la structure des mitochondries (**Amarti et al., 2010**). L'activité de l'huile essentielle varie d'une souche à une autre, cette variation peut être observée dans les diamètres des zones d'inhibition qui montrent que certaines souches sont plus sensibles que d'autres.

Selon **Friedman et al., (2002)**, deux principaux facteurs peuvent influencer les résultats d'un test de l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle :

- ❖ La composition et la solubilité de l'huile essentielle.
- ❖ Le microorganisme et la vitesse de sa croissance (**Kaouane et Chabane, 2017**).

#### Détermination de la CMI et CMB de l'huile essentielle

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) de l'huile essentielle de *T. hirtus* ont été estimées seulement pour les souches sensibles (*Escherichia coli* clinique, *Staphylococcus aureus*, *Proteus sp*). Nous avons constaté que cette huile inhibe la croissance des souches *S.aureus* et *E.coli* clinique à des concentrations minimales inhibitrices de 2,5 et 10 µl/ml respectivement.

Nos résultats diffèrent de ceux trouvée par **Achi , (2017)** , dont la CMI d'*E.coli* clinique est de l'ordre de 0,25 µL/m et la CMI de *S. aureus* est de l'ordre de 0,03 µL/mL, aussi **Dob et al., (2006)** montre que *E. coli* possède une valeur de CMI 5 µL/mL et 2 µL/mL pour *S. aureus*.

D'autre part, dans nos résultats, nous n'avons pas trouvé d'effet bactériostatique et bactéricide que sur deux souches, ce qui est différent des résultats de **Jaouadi et al., (2019)** là où il a trouvé que les extraits provenant des plantes des zones arides supérieures ont révélé un effet bactériostatique contre toutes les souches bactériennes (CMI = 1,4 mg/mL). Cependant, l'activité bactéricide (CMB= 1,4 mg/mL) était limitée à la bactérie Gram-négatif *E. coli*.

De même, **Bendjabeur , (2019)** a montré que la valeur de CMI la plus élevée a été observée contre *P. aeruginosa* (Gram négatif) (20 mg/ml), tandis que la plus faible a été notée contre *S. aureus* et *B. cereus* (Gram positif) (1,25 mg/ml).

Cette variabilité de la CMI est probablement liée à la grande variabilité de la composition chimique des essences du genre *Thymus*, ainsi que l'interaction entre les antimicrobiens dans une combinaison peut avoir trois résultats différents, synergiques, additifs ou antagonistes. La synergie survient lorsqu'un mélange de deux composés antimicrobiens aient une activité antimicrobienne supérieure à la somme des composants individuels. Un effet additif est obtenu lorsque la combinaison d'antimicrobiens ait un effet

combiné égal à la somme des composés individuels. L'antagonisme se produit lorsqu'un mélange de composés antimicrobiens ait un effet combiné inférieur à celui appliqué séparément (**Hyldgaard et al., 2012**).

L'action bactéricide des huiles essentielles de *T.hirtus* peut être due à la nature de ces composants chimiques. Plusieurs études ayant pour objectif de déterminer la composition des HE *T.hirtus* montrent qu'elles sont riches en composants hydrocarbonés monoterpéniques, tels que le camphre, l' $\alpha$  pinène et l' $\alpha$  thujène. Ces molécules sont à l'origine de cette activité antibactérienne (**Tabèche et Bouras ,2018**)

L'étude de **Nikolić et al ., (2014)** montre que *T. Hirtus* a inhibé la croissance de micro-organismes sélectionnés dans une plage moyenne de CMI comprise entre 20-80  $\mu\text{g/mL}$ , CMB de 40-160  $\mu\text{g/mL}$  (pour les bactéries) et CMI 5-10  $\mu\text{g/mL}$ , CMB 10-20  $\mu\text{g/mL}$  (pour les champignons).

# Conclusion

### Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a enregistré un grand intérêt dans la recherche biomédicale, une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique.

Dans notre étude, l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation à partir de la partie aérienne de *Thymus hirtus* a donné un rendement en huile de 0,7 % .

L'objectif de ce travail était principalement l'étude des propriétés antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles de *Thymus hirtus* sur cinq souches bactériennes de référence: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa* ainsi que trois souches provenant de prélèvement à savoir: *Proteus sp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et sur des espèces fongiques : *Aspergillus niger* et *Candida albicans*.

La méthode de l'aromatogramme a permis de révéler un fort pouvoir antibactérien des huiles essentielles de *Thymus hirtus* vis-à-vis *Staphylococcus aureus* ( 30 mm ) et *Escherichia coli* clinique (23mm).

L'étude de l'activité antifongique de cette même huile essentielle vis-à-vis *Aspergillus niger* et *Candida albicans* a été réalisée en appliquant la méthode de contact direct. Les résultats obtenus montrent que les huiles essentielles étudiées n'ont aucun effet contre les champignons en question.

En ce qui concerne la détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) par la méthode de microdilution en milieu liquide, les deux souches ont été inhibées sous l'action de huiles à des concentrations variant de 2,5 à 10  $\mu\text{L}/\text{mL}$ .

Ces résultats préliminaires obtenus s'avèrent prometteurs dans l'élargissement du spectre d'action thérapeutique des plantes dotées de propriétés antibactériennes. Leur criblage permettrait de découvrir de nouveaux antibactériens, qui pourraient constituer une alternative à l'usage des antibiotiques conventionnels devenus inefficaces.

En perspectives, plusieurs travaux peuvent être envisagés dans la continuité des travaux Entamés entre autre :

- ❖ Déterminer la nature chimique des molécules responsables des activités biologiques, et approfondir l'étude phytochimique en utilisant des techniques plus performantes.
- ❖ Développer le spectre des activités biologiques ciblées, en incluant les activités anti-inflammatoires, insecticides et autres.

## Conclusion

---

- ❖ Des essais complémentaires seront nécessaires afin de pouvoir confirmer les activités mises en évidence

## Résumé

L'objectif de notre étude consiste à évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la plante sauvage *Thymus Hirtus* récoltée dans la ville de Batna à l'est de l'Algérie. L'extraction a été assurée par l'Hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger.

L'étude de l'activité antibactérienne a été effectuée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé (MH pour les bactéries et PDA pour les champignons) vis-à-vis de trois bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) et deux bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*) et trois bactéries cliniques à gram négatif (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *proteus sp*) et deux champignons (*Aspergillus niger*, *Candida albicans*).

Les résultats obtenus ont montré une sensibilité élevée de la souche *Staphylococcus aureus* avec un diamètres des zones d'inhibition de 30 mm, et de la souche *Escherichia coli* clinique avec diamètres des zones d'inhibition de 23 mm.

Cet huile n'a montré aucun effet sur les autres bactéries et sur les deux champignons (*Aspergillus niger*, *Candida albicans*). Les valeurs de CMI et CMB ont montré que notre huile possède un effet inhibiteur vis-à-vis les souches de *staphylococcus aureus* de 2,5(µL/ml) et *Escherichia coli* clinique de 10 (µL/ml) et n'a montré aucun effet sur (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* clinique, *proteus sp*, *Bacillus cereus*) et bactéricide de 3,3(µL/ml) sur *s.aureus*, >10(µL/ml) sur *E. coli* clinique.

**Mots clés :** Huile essentielle, *Thymus hirtus*, Activité antibactérienne, Activité antifongique, hydrodistillation.

## الملخص

الهدف من دراستنا هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت العطرية لنبات الزعتر البري *Thymus hirtus* المتحصل عليها من مدينة باتنة في شرق الجزائر. تم الاستخلاص عن طريق التقطير المائي باستخدام جهاز من نوع Clevenger

تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا بواسطة تقنية الانتشار على وسط صلب (MH للبكتيريا و PDA للفطريات) ضد ثلاث سلالات بكتيريا (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) (gram-) و اثنان (Gram +) (*Staphylococcus aureus et Bacillus cereus*) وثلاث بكتيريا تم عزلها من عينات سريرية (gram-) (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *proteus sp*) واثنان من الفطر (*Aspergillus niger*, *Candida albicans*)

وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها حساسية عالية لسلسلة بقطر منطقة تثبيط تتراوح 30 ملم، ولسلسلة *Escherichia coli* السريرية بأقطار منطقة تثبيط تبلغ 23 ملم.

هذا الزيت ليس له أي تأثير على البكتيريا الأخرى أو على الفطرين (*Aspergillus niger*, *Candida albicans*).

أظهرت قيم CMI و CMB أن زيتنا له تأثير مثبط ضد سلالات *staphylococcus aureus* 2,5 (ميكرو لتر / مل) و *Escherichia coli* clinique 10 (ميكرو لتر / مل) و لم تظهر أي تأثير على (*Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Klebsiella pneumoniae*، *Klebsiella pneumoniae* السريرية، *proteus*، *Bacillus cereus* sp) و قاتل ب 3.3 (ميكرو لتر / مل) على *s. aureus*، >10 (ميكرو لتر / مل) على *E. coli* السريرية

**الكلمات المفتاحية** : الزيت العطري ، *Thymus hirtus*، النشاط المضاد للبكتيريا ، النشاط المضاد للفطريات، التقطير المائي.

## Abstract

The objective of our study is to evaluate the antibacterial activity of essential oils from the wild plant *Thymus Hirtus* collected in the town of Batna in eastern Algeria. Extraction was carried out by Hydrodistillation using a Clevenger type device.

The study of antibacterial activity was carried out by the diffusion method on agar medium (MH for bacteria and PDA for fungi) against three Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* ) and two Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*) and three Gram-negative clinical bacteria (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *proteus sp*) and two fungi (*Aspergillus niger*, *Candida albicans*).

The results obtained showed high sensitivity of the *Staphylococcus aureus* strain with a diameter of the inhibition zones of 30 mm, and of the clinical *Escherichia coli* strain with a diameter of the inhibition zones of 23 mm.

This oil showed no effect on other bacteria and on the two fungi (*Aspergillus niger*, *Candida albicans*). The MIC and CMB values showed that our oil has an inhibitory effect against strains of: *staphylococcus. aureus* of 2.5( $\mu\text{L}/\text{ml}$ ) and clinical *Escherichia coli* of 10 ( $\mu\text{L}/\text{ml}$ ) and showed no effect on (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* clinical, *proteus sp*, *Bacillus cereus*) and bactericidal of 3.3( $\mu\text{L}/\text{ml}$ ) on *s.aureus*, >10( $\mu\text{L}/\text{ml}$ ) on clinical *E. coli*.

**Keywords:** Essential oil, *Thymus hirtus*, Antibacterial activity, Antifungal activity, hydrodistillation.



# **Références**

# **Bibliographiques**

## Références Bibliographiques

---

### Références bibliographiques

**ACHI N ., 2017.** Etude de l'activité antibactérienne des extraits essentiels de deux plantes à caractère thérapeutique : *Nigella* sp et *Thymus algeriensis* vis-à-vis quelques bactéries pathogènes à l'hôpital de Boufarik. Mémoire de master. Université. Blida -1.P51.

**Achour R., Aoun W., Khiereddine F., 2022.** Méthodes d'extraction, d'identification et purification des huiles essentielles . Thèse de Doctorat. Université Larbi Tébessi-Tébessa.

**Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aarab L., Chaouch A.,2010.** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. *BASE*.

**Baba-Ahmed S., 2018.** Modélisation des cinétiques d'extraction des huiles essentielles par les Réseaux de Neurones Artificiels «RNA» . Thèse de Doctorat .22.

**Balandrin M. F., Klocke J. A., Wurtele E. S., Bollinger W. H., 1985.** Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. *Science*, 228(4704), 1154-1160.

**Bazzine O ., Benzaid Z . 2019 .** Etude de la composition chimique et les activités biologiques des huiles essentielles de *Thymus Capitatus*. Mémoire de master. Université Kasdi Merbah OUARGLA .p50.

**BENDJABEUR S., 2019.** *Etude phytochimique et activités biologique des huiles essentielles et des extraits éthanoliques de teucrium polium subsp capitatum thymus algeriensis et ammoides verticillata* . Thèse de Doctorat . P136.

**Bessah R., 2013.** Evaluation du potentiel d'économie d'énergie dans les procédés d'extraction et intégration des énergies renouvelables. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Polytechnique.28.

**Bezza L ., Mannarino A ., Fattari K ., Mikaili C ., Abou L ., Hadji- Minaglou, F ., Kaloustian J., 2010.** Chemical composition of the esseential oil of *Artemisia herba-alba* issued from the district of Biskra (Algeria). *Phytothérapie*.8 : 277-281.

**Bianchini A., Tomi P., Costa J., Bernerdini A.F., 1997.** Where knowledge construction, equity, and context intersect: Student learning of science in small groups. *Journal of Research*

## Références Bibliographiques

---

in Science Teaching. The Official Journal of the National Association for Research in Science Teaching. 34-39.

**Bouaoun D., Hilan C., Garabeth F., Sfeir R., 2007.** L'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'une plante sauvage Prangos asperula Boiss. *Phytothérapie*. 5(3) : 129-134.

**Bouchikhi T. Z., 2011.** Lutte contre la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae) et la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera, Tineidae) par des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles. Thèse de doctorat. *Université AboubakrBelkaid: TLEMCEM*.169.

**Boudjehem W., 2019.** Etude de l'activité antimicrobienne de quelques huiles essentielles pour le contrôle des agents phytopathogènes. Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master : Phytopharmacie et protection des végétaux. Guelma .Université 8 Mai 1945 Guelma . 84 p.

**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 magister. Université Mentouri Constantine, Algérie. 126p.

**Bouhdid S., Abrini J., Baudoux D., Manresa A., Zhiri A., 2012.** Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan: pouvoir antibactérien et mécanisme d'action. *Journal de Pharmacie Clinique*. 31(3), 141-148.

**Boukhatem M-N., Ferhat A., Kameli A., 2019.** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles. Revue de littérature. *Une*. 3(4).1653-1659.

**Bounab S., 2020.** Biodiversité végétale de la région du Hodna (M'sila).étude phytochimique et activité biologique de quelques espèces médicinales. Thèse de Doctorat.16.

**Bousbia N., 2011.** Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires . Thèse de Doctorat . Université d'Avignon.36.18.

**Bouyahya A., Abrini J., Bakri Y., Dakka N., 2017.** Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*.

**Bouyahya A., Bakri Y., Et-Touys A., Talbaoui A., Khouchlaa A., Charfi S., Abrini J., Dakka N., 2018.** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*.16 (S1): 73-S183.

## Références Bibliographiques

---

- Chekouali L., 2019.** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant d'huiles essentielles de Lavandula stoechas du nord d'Algérie extraites par hydrodistillation et ultrasons . Thèse de Doctorat. Université Blida1-Saad Dahlab.30.
- CHOUHA O., HOUACINE A.,2018.** Contribution à l'évaluation de l'activité antioxydante des deux plantes médicinales : Thymus hirtus et Rosmarinus tournefortii. Mémoire de master. Université Ziane Achour –Djelfa. P42.
- Couic-Marinier F., Lobstein A., 2013.** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. Actualités pharmaceutiques. 52(525): 18-21.
- DE P., 2017.** *CONSEILS ET UTILISATIONS DES HUILES ESSENTIELLES LES PLUS COURANTES EN OFFICINE* .Thèse de doctorat, université Toulouse 3.255.
- Desmares C., Laurent A., Delerme C., 2008.** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afsaps).12.
- Desramaux M., (2018).** Huiles essentielles en dermocosmétologie. Sciences pharmaceutiques. Thèse de doctorat pour l'obtention du grade de docteur de l'université de Bordeaux, Pp. 29-31.
- Dhifi W., Bellili S., Jazi S., Bahloul N., Mnif W., 2016.** Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities. A critical review. Medicines. 3(4): 25.
- Djarallah M., Bensaci M., 2020 .** Utilisation des huiles essentielles dans la lutte biologique . Thèse de Doctorat .Université Kasdi Merbah-Ouargla.
- Djibo A. K., 2014.** Analyse des huiles essentielles de quelques plantes de la flore du Burkina Faso appartenent aux familles des Lamiaceae (Hyptis spicigera Lam., Hyptis suaveolens Poit., Ocimum americanum L.) et des Poaceae (Cymbopogon schoenanthus (L.) Spreng, Cymbopogon giganteus Chiov et Cymbopogon citratus (DC) Stapf. Thèse de doctorat. Université de Ouagadougou . 21.
- Dob T., Dahmane D., Agli M., Chelghoum C.,2006.** Essential oil composition of Lavandulastoechas. from Algeria. Pharmaceutical Biology, 44(1), 60-64

## Références Bibliographiques

---

**El Ajjouri M., Ghanmi M., Satrani B., Amarti F., Rahouti M., Aafi A., Farah A., 2010.** Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. contre les champignons de pourriture du bois. *Acta botanica gallica* , 157 (2), 285-294.

**El Amri J., Elbadaoui K., Zair T., Bouharb H., Chakir S., Alaoui, T. I. 2014.,** Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testées. *Journal of Applied Biosciences*. 82 : 7481-7492.

**El Gendy A. N et al ., 2015 .** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of wild and cultivated *Origanum syriacum* plants grown in Sinai, Egypt. *Industrial Crops and Products* . 67: 201-207.

**Fekih N., 2014.** propriétés chimiques et biologiques des huiles Essentielles de trois espèces du genre *pinus* Poussant en Algérie, thèse de doctorat, Université Tlemcen, faculté des science . 6-57.

**Fillatre Y., 2011.** Produits phytosanitaires: Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem . Thèse de Doctorat .Université d'Angers.

**Friedman J., Yaniv Z., Dafni A., Palewitch,D., 1986.** A preliminary classification of the healing potential of medicinal plants, based on a rational analysis of an ethnopharmacological field survey among Bedouins in the Negev Desert, Israel. *Journal of ethnopharmacology*.16. (2-3), 275-287.

**Gaare M., Hussain S. A., Mishra S. K., Ram C., 2013.** Natural antimicrobials for preservation of food. *Dairy and Food Processing Industry Recent Trends-Part I, 1st ed.;* *Biotech Books: New Delhi, India*. 204-230.

**Giordani R., Hadeif Y., Kaloustian J., 2008.** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79, 199-203.

**Giweli A. A., Džamić A. M., Soković M. D., Ristić M. S., Marin P. D., 2013.** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Thymus algeriensis* wild-growing in Libya. *Central European Journal of Biology*, 8, 504-511.

## Références Bibliographiques

---

- Gormi H ., Berriche W., 2023.** Activité antibactérienne des huiles essentielles de l'Artemesia herba alba en combinaison avec les antibiotiques.mémoire de master. Université Mohamed Khider de Biskra.p 27.
- Guesmi F., et al ., 2014.** In-vitro assessment of antioxidant and antimicrobial activities of methanol extracts and essential oil of Thymus hirtus sp. algeriensis. *Lipids in Health and Disease*, 13, 1-12.
- Guinoiseau E., 2010.** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action .Thèse de Doctorat . Université de Corse.
- Haddouchi F., Benmansour A., 2008.** Huiles essentielles, obtentions, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire*.3(8).
- Hylgaard M., Mygind T., Meyer RL .,2012 .** Les huiles essentielles dans la conservation des aliments : mode d'action, synergies et interactions avec les composants de la matrice alimentaire. *Frontières de la microbiologie* , 3 , 12.
- IAZZOUGUEN A ., OUATAH N., 2012.** Effet de l'association de l'huile essentielle de Thymus algeriensis (Bois et Reut) et de deux antibiotiques (ampicilline et céfazoline) sur Escherichia coli et Staphylococcus aureus. Mémoire d'obtention de diplôme d'ingénieur d'état en Génie biologique . Université Abderrahmane Mira-Bejaia . P22.
- Iazzourane G., 2015.** Composition chimique et activité biologique d'extraits du myrte (Myrtus communis L.), de la carotte sauvage (Daucus carota L. subsp. carota) et de la menthe à feuilles rondes (Mentha rotundifolia L.) . Thèse de Doctorat. Département Technologie Alimentaires.
- Jaouadi R., Silva A. M., Boussaid M., Yahia I. B., Cardoso S. M., Zaouali Y., 2019.** Differentiation of phenolic composition among tunisian thymus algeriensis boiss. Et reut.(lamiaceae) populations: correlation to bioactive activities. *Antioxidants*, 8(11), 515.
- Kalemba D., Kunicka A., 2003.** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10 (10):813-829.
- Kaouane A., Chabane,F., 2017.** Contribution à l'étude des activités antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle de l'Armoise blanche (Artemesia herba alba) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).P43.

## Références Bibliographiques

---

**Kfoury M., 2015** . Préparation caractérisation physicochimique et évaluation des propriétés biologiques de complexes d'inclusion à base de cyclodextrines: applications à des principes actifs de type phénylpropanoïdes. Thèse de Doctorat . Université du Littoral Côte d'Opale. 11.

**Khadir A., Bendahou M., Benbelaid F., Abdoune M. A., Abdelouahid D. E., 2013** .Pouvoir antimicrobien de *Thymus lanceolatus* Desf., récolté en Algérie. *Phytothérapie*, 11(6), 353-358.

**Koziol N., 2015** .Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora*: qualité, efficacité et toxicité . Thèse de Doctorat . Université de Lorraine.

**Lahlou RA et al ., 2022.** *Thymus hirtus* Willd. ssp. *algeriensis* Boiss. et Reut : Une revue complète sur la phytochimie, les bioactivités et les effets bénéfiques pour la santé. *Aliments* , 11 (20), 3195.

**Lakhdar L., 2015** . Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: Etude in Vitro. Thèse de Doctorat . Université Mohammed V de Rabat . 183 .

**LALAMI, A. E. O., Fouad, E. A., OUEDRHIRI, W., CHAHDI, F. O., GUEMMOUH, R., GRECHE, H.,2013** . Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain: *Thymus vulagris* et *Thymus satureioïdis*. *Les technologies de laboratoire*, 8(31).

**Lardry J. M ., Haberkorn V., 2007.** L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie.la revue*. 7(61): 14-17.

**Lucchesi M-E.,2005.**Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat .Université de la Réunion.

**MAALEM S ., RAFA M., 2020.** Recherche d'effet synergique entre les huiles essentielles extraites à partir de deux plantes aromatiques locales(*Eucalyptus globulus* L et *Pistacia lentiscus*) et certains antibiotiques .mémoire de master. UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA .p 52.

**Malti C-E W., 2019.** Etude des activités biologiques et de la composition chimique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques d'Algérie. *Pituranthos scoparius* (Guezzah), *Santolina africana* (EL Djouada) et *Cymbopogon schoenanthus* (El Lemad) . Thèse de Doctorat . Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen.34.

## Références Bibliographiques

---

**Martins A., 2020.** *Les huiles essentielles antibactériennes: exemple du thym (thymus)* .Thèse de doctorat . Université de Picardie Jules Verne.53.

**Mayer F., 2012.** *Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles: étude de cas en maison de retraite* . Thèse de doctorat .Université de Lorraine.38

**Mouas Y., Benrebiha F. Z., Chaouia C., 2017.** Évaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis* L. *Revue Agrobiologia*. 7(1) :363-370.

**Nikolić M., Glamočlija J., Ferreira IC, Calhelha RC, Fernandes Â., Marković T.,Soković M.,2014.** Composition chimique, activité antimicrobienne, antioxydante et antitumorale de *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. et les huiles essentielles de Reut et *Thymus vulgaris* L.. *Cultures et produits industriels* , 52 , 183-190.

**Ouis N., 2015.** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Diss. Thèse de doctorat .Université Ahmed Ben Bella-Oran, Alger. *Phytotherapie* . 15(6) : 379–383.

**Pierre A., 2016.** Aromatherapy adapted skin diseases to counter . Thèse de Doctorat. Université de Lorraine.32.

**Ponce A.G., Fritz R.,DelvalleC., Roura S.I., 2003.** Antimicrobial activity of essentialoils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologic* 36:679-684.

**Randrianarivelo R., 2010.** *Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar Cinnamosma fragrans, alternative aux antibiotiques en crevetticulture.* Thèse de doctorat.Université d'Antananarivo.

**Rehamnia Y., Khlaifia K., MESSIOUD W., 2015.** Contribution à l'étude de l'activité acaricide des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. et *Lavandula stoechas* L. contre les tiques de genre *Rhipicephalus* sp.mémoire de master. UNIVERSITE 08 Mai 1945 Guelma .p52

**Senatore F., 1996** . Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of Thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). *J. Agric. Food. Chem.* 44 : 1327\_1332 .

## Références Bibliographiques

---

**Shaaban H-A., El-Ghorab A- H., Shibamoto, T., 2012.** Bioactivity of essential oils and their volatile aroma components. *Journal of Essential Oil Research.* 24(2). 203-212.

**Sutour S., 2010 .** *Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthe de Corse et de Kumquats .* Thèse de Doctorat . Université de Corse.

**TABECHE H., BOURAS F.,2018.** *Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles du Thymus algeriensis.* Thèse de doctorat. Université laarbi tebessi tebessa .p40.

**TALHI A., TBOULA Z ., BOUSSAHA M., 2018.** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles des trois plantes médicinales (*Salvia sclarea*, *Sisygium aromaticum* et *Allium cepa*). Mémoire de master Université 8 Mai 1945 Guelma. P 38 .

**Tolba H., 2017.** Extraction des huiles essentielles des plantes de la flore algérienne, Etude des effets thérapeutiques en vue d'une application pharmaceutique . Thèse de Doctorat . Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene. 6 .

**Tolba H., Moghrani H., Benelmouffok A., Kellou D., Maachi R., 2015.** Huile essentielle d'*Eucalyptus citriodora* d'Algérie : Composition chimique, activité antifongique. *Journal de mycologie médicale* , 25 (4), e128-e133.

**Toure D., 2015.** *Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire .*Thèse de doctorat. Université Felix Houphoet Boigny, Côte d'Ivoire.16 .

**Triaux Z., 2019.** Développement de méthodes d'extraction et d'analyse de molécules terpéniques à activité anti-inflammatoire . Thèse de Doctorat . Strasbourg.71.

**Younes F.,2020.** Étude botanique, phytochimique et activités biologiques d'une espèce végétale utilisé au médecine traditionnelle Algérienne (*teucrium polium*). Mémoire de master .Université Mohamed Khider de Biskra. 97.

**Zaibet W., 2018.** Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de *Daucus aureus* (Desf) et de *Reutera lutea* (Desf.) Maire et leur application comme agents antimicrobiens dans le polyéthylène basse densité (PEBD) . Thèse de Doctorat.14. Université Ferhat AbbaS - Sétif 1 .

## Références Bibliographiques

---

**Zayyad N., Farah A., Bahhou J., 2014.** Analyse chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des trois espèces de Thymus: *Thymus zygis*, *T. algeriensis* et *T. bleicherianus*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 83(118), 13

