

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**Université Abderrahmane MIRA de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**

Département des Sciences Alimentaires

Mémoire de Fin de Cycle

En Vue de l'Obtention du Diplôme d'Ingénieur d'Etat en Sciences Alimentaires

Thème

*Effet de l'association de deux huiles essentielles de
Thymus algeriensis(Boiss. Et Reut.) et d'Origanum
glandulosum (Desf.) sur Escherichia coli et
Staphylococcus aureus.*



Présenté par

*M^{elle} Nait Slimane Dalida
M^{elle} Zaddi Sonia*

Membres du Jury :

*Présidente : M^{me} BOUALI.N
Promotrice : M^{me} OUKIL.N
Examineur : M^r CHIKHOUNE.A
Examineur : M^{me} BEDJOU.H*

Année : 2011- 2012

-Remerciements-

Louange à Dieu le tout puissant de nous avoir donné courage et la patience pour réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier profondément notre promotrice M^{me} OUKIL.N pour nous avoir encadré, en nous faisant bénéficier de ces connaissances, de son aide et de ces conseils. Qu'elle trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

Nous tenons à remercier chaleureusement les membres du jury :

- Présidente : M^{me} BOUALL.N*
- Examineur : M^r CHIKHOUN.A*
- Examinatrice : M^{me} BEDJOU.H*

Un remerciement pour la technicienne de laboratoire microbiologie SAADIA pour son accueil et son soutien durant tout le travail au laboratoire.

Enfin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dalida et Sonia.

-Dédicaces-

Je dédie ce modeste travail

A mes parents en témoignage de ma profonde affection je leur suis reconnaissante pour leur soutien, amour et encouragements, leur fierté à mon égard serait la meilleure des récompenses.

A mes grands parents.

A la mémoire de ma grand-mère maternelle et mon grand père paternelle qu'ils reposent en paix.

A mes frères que j'adore : Naim, Massi et Syphax.

A mon adorable petite sœur Nissa que dieu la protège.

A mes oncles, mes tantes et leurs enfants.

A Farid pour son soutien et ses encouragements.

A Souhila C2

A mes sœurs les filles de la chambre A04 (Ikram, Seltana, Lydia, Seria, Sonia et Fatima).

A mes amis (es) (Hafid, Tarik, Sabrina, Tina, Zouzou, Massissilia, Feta).

A Sonia .

A tous ceux que je connais.

Dalida.

-Dédicaces-

En ce moment charnière dans ma vie,

Je tiens à dédier ce modeste travail :

*A mes chers parents Symbole de reconnaissance
et de remerciement sur tout ce qu'ils m'ont donné dans ma vie.*

A mes grands parents

A la mémoire de mon grand-père paternelle, oncle Mouhand

Et tante Malika qu'ils reposent en paix

A mon très cher frère Mehdi, l'exemple de mon avance

A mes sœurs Lamia, Samira, Taous

A toute ma famille

A mon promoteur

A mon binôme

A toute mes copines de chambre Farida, Houria, Nadia, Salma, Samia

A tous mes amis et camarades

Sonia.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles

I-1- Définition et Classification des huiles essentielles.....2

I-2- Localisation des essences dans les végétaux et leurs propriétés physicochimiques.....3

I-3- Composition chimique des huiles essentielles.....4

I-4- Domaines d'utilisation.....6

I-5- Toxicité des huiles essentielles.....7

I-6- Extraction des huiles essentielles.....8

Chapitre II : activité antimicrobienne des huiles essentielles

II-1- Association des huiles essentielles.....10

II-2- Activité liée à la composition chimique10

II-3-Mécanisme d'action des huiles essentielles.....11

II-4-Techniques utilisées pour la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles11

Chapitre III : Le thym et l'origan

III-1- Le thym.....14

III-1-1- Description et classification.....14

III-1-2- Répartition géographique.....15

III-1-3- Composition chimique15

III-1-4- Propriétés et usage15

III-2- l'origan.....	16
III-2-1- Description et classification.....	16
III-2- 2-Répartition géographique.....	16
III-2-3- Composition chimique.....	17
III-2-4- Propriétés et usage.....	17

Partie pratique

Chapitre I : Matériel et méthodes

I-1- Matériel végétal.....	18
I-2- Matériel biologique.....	19
I-3- préparation des extraits des huiles essentielles.....	19
I-4- Etude de l'effet de l'association de deux huiles essentielles sur <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	21
I-4-1- Préparation des dilutions de deux huiles essentielles et calcul des concentrations....	21
I-4-2- Préparation des mélanges des deux huiles essentielles	22
I-4-3- Préparation de l'inoculum Standard.....	22
I-4-4- L'aromatogramme	22

Chapitre II : Résultats et discussions

II-1- Les extraits	23
II-2- Effet des huiles essentielles du <i>Thymus algeriensis</i> et d' <i>Origanum glandulosum</i> sur <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	25
II-3- Effet de l'association des deux huiles essentielles sur <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	28

Conclusion	31
-------------------------	-----------

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
1	Composés Terpénoïdes	4
2	la vanilline.	5
3	Appareillage d'hydrodistillation.	8
4	Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne.	11
5	Photographie de la plante <i>Thymus algeriensis</i> utilisé.	18
6	Photographie d' <i>Origanum glandulosum</i> utilisée.	18
7	Photographie de l'appareil de Clevenger utilisée.	19
8	Huile essentielle du Thym.	20
9	Huile essentielle d'Origan.	20
10	Diamètres des zones d'inhibitions de la croissance d' <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> en présence de l'huile essentielle du thym.	24
11	Diamètres des zones d'inhibitions de la croissance d' <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> en présence d'huile essentielle d'Origan.	26
12	Diamètres des zones d'inhibitions de la croissance d' <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> en présence du mélange d'huile essentielle d'Origan et du Thym sur.	27

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
I	Principaux composés de deux espèces du thym.	15
II	Principaux composés de deux espèces de l'origan.	17
III	Concentration des huiles essentielles du thym et de l'origan.	21
IV	Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du Thym sur <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> .	24
V	Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'Origan sur <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> .	25
VI	Résultats de l'activité antibactérienne du mélange de l'huile essentielle d'Origan et du thym sur <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	27

Introduction

Introduction

La thérapie par les plantes est, sans doute, aussi ancienne que l'est la maladie, transmise en tous lieux de génération en génération.

Les plantes sont de véritables pharmacies naturelles que la nature a établie sur cette terre afin d'entretenir notre santé, prévenir nos maux, voire les guérir.

En dépit des progrès considérables de la chimie, de l'industrie pharmaceutique et de la médecine, les plantes médicinales n'ont rien perdu de leur importance. la pharmacie moderne continue à les utiliser comme matière première pour la préparation de certains médicaments, **(Frantisek et Vaclar, 1973)**.

Les plantes aromatiques et médicinales constituent une véritable source de molécules chimiques, **(Benayad, 2008)**.

Elles synthétisent des molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle, les huiles essentielles ou essences connues depuis longtemps pour leurs activités antiseptique et thérapeutique dans la médecine populaire, **(Rhayour, 2002)**.

Certaines bactéries manifestent, en outre, une résistance vis-à-vis des antibiotiques usuels, voire parfois une résistance totale. D'où l'intérêt de recherche de nouvelles substances d'origine naturelle incluant les plantes.

Récemment un grand intérêt est porté aux propriétés antimicrobienne des plantes aromatiques extraits, particulièrement aux huiles essentielles, **(Rasooli et Mirmostafa, 2003 ; Sartorato et al., 2004 ; Schelz et al., 2006)**.

Ainsi plusieurs études visant à démontrer l'activité antibactériennes des huiles essentielles ont été réalisées, **(Tabanca et al., 2001 ; Sahine et al., 2004 ; Bendahou et al., 2008)**. Le mécanisme d'action n'a pas été étudié au niveau moléculaire, **(Yossa, 2010)**.

L'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles semble d'autant plus intéressante que la flore algérienne est extrêmement riche en plantes aromatiques. Notre travail consiste à faire la récolte de *Thymus algeriensis* et de *Origanum glandulosum*, suivi d'une extraction d'huiles essentielles par hydrodistillation pour étudier l'effet de l'association de ces deux huiles sur une souche à Gram positif *Staphylococcus aureus* et une souche à Gram négatif *Escherichia coli*.

*Synthèse
bibliographique*

Chapitre I : généralités sur les huiles essentielles

Reconnues pour leurs propriétés thérapeutiques, et utilisées depuis des millénaires en Chine, en Inde, en Moyen Orient, en Egypte, en Amérique et en Afrique, les huiles essentielles tombent dans l'oubli au moyen âge, **(Zhiri et Baudoux, 2005)**.

L'extraction par distillation à la vapeur d'eau naît à l'époque de la révolution industrielle et permet le développement des produits alimentaires et des parfums.

L'aromathérapie moderne était née, toutefois malgré son efficacité, elle ne reçoit pas un grand accueil et cela à cause de la concurrence des produits chimiques de synthèses mais aussi de la mauvaise utilisation des huiles essentielles, **(Zhiri et Baudoux, 2005)**.

I-1-Définition et classification des huiles essentielles

➤ Définition

Le terme (essentiel) dérive de l'essence qui signifie l'odeur ou le goût .La flaveur et l'odeur spécifique de beaucoup de plantes sont reliées aux propriétés de ces substances, **(Calsamiglia et al., 2007)**.

Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans des feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, le bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse végétale : elles sont odorantes et très volatiles, c'est-à- dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air, **(Padrini et Lucheroni, 1996)**.

IL est important de distinguer entre les huiles essentielles, les huiles fixes (huiles d'olive...) et les graisses contenues dans les végétaux. En effet :

- Seules les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes et des graisses.
- Elles se distinguent des huiles fixes par leurs compositions chimiques et leurs caractéristiques physiques.
- Elles sont fréquemment associées à d'autres substances comme les gommes et les résines.

D'ailleurs elles tendent elles-mêmes à se résinifier par exposition à l'air, **(Bekhechi et Abdelouahid, 2010)**.

➤ Classification

On distingue deux types de classification des huiles essentielles (HE) :

- La première classification qui est faite selon la composition chimique et on distingue :
 - les HE *hydrocarburées* qui sont les plus nombreuses.
 - les HE *oxygénées* qui présente toutes les HE solides.
 - les HE *sulfurées* retrouvées chez les *Liliaceae* et les *Brassicaceae*.
- La seconde classification repose sur la couleur de l'huile et comprend quatre classes :
 - les *incolores* qui sont dépourvues de résine et d'azulène.
 - les *jaunes* qui renferment des résines.
 - les *bleues* qui contiennent de l'azulène.
 - les *jaune-vert* et *vert-brun* qui contiennent principalement de l'azulène mais aussi d'autres colorants, (Charpentier et al., 2004).

I-2-Localisation des essences dans les végétaux et leurs propriétés physicochimiques

➤ Localisation des essences dans les végétaux

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : Il y a environ 500000 plantes sur terre ; 10000 d'entre elles, environ, possèdent des propriétés médicinales, (Anonyme 1).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs (bergamotier, tubéreuse), mais aussi feuilles (citronnelle, eucalyptus...) et bien que cela soit moins habituel, dans les écorces (cannelier), le bois (bois de rose...), des racines (vétiver), des rhizomes (gingembre), des fruits (badiane), des graines (anis, muscade), (Bruneton, 1999).

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans les cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouverte d'une cuticule, (Teuscher et al., 2005).

➤ Propriétés physicochimiques

On trouve généralement les huiles essentielles incolores ou jaune pâle à l'état liquide et à température ordinaire.

Toutes les huiles sont volatiles, odorantes et inflammables, leurs densité est le plus souvent inférieur à 1.

Peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques. Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation, (Jaques et Paltz, 1997).

I-3-Composition chimique des huiles essentielles

➤ Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont une composition assez complexe, contenant de nombreuses espèces chimiques, (Degryse et *al.*, 2008).

• Les Terpénoïdes

Les terpénoïdes sont les plus volatiles ils ont la masse moléculaire la moins élevée on distingue les monoterpènes et les sesquiterpènes.

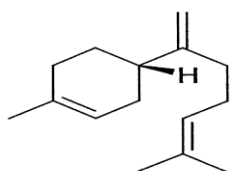
Porteur de fonctions dans le degré d'oxydation est variable, ils donnent naissance à des milliers de substances différentes, (Wichtl et Anton, 1999) Figure N° 1.

➤ Les Monoterpènes

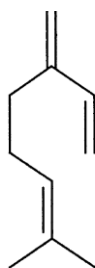
Ils sont cycliques ou monocycliques ou bicycliques, ils contribuent parfois plus de 90% de l'huile essentielle, (Bruneton, 1993).

➤ Les sesquiterpènes

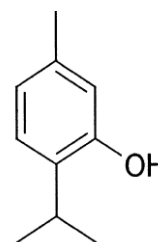
L'allongement de la chaîne accroît le nombre de cyclisation possibles. Ainsi, plus d'une centaine de squelettes différents ont été décrits, (Couderc, 2001).



Le bêta-bisabolène.



Myrcène.



Thymol.

Figure N° 1 : composés Terpénoïdes.

- **Composés aromatiques**

Dérivés du phényle propane, ils sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Un noyau aromatique est couplé à une chaîne de trois carbones, (**Bruneton, 1993**) Figure N° 2.



Figure N° 2 : la vanilline.

- **Composés d'origine divers**

Lors de la préparation des huiles essentielles, certains composés aliphatiques, de faible masse moléculaire, sont entraînés lors de l'hydrodistillation (carbures, acides, alcools, aldéhydes, esters,...), (**Bruneton, 1993**).

➤ **Paramètres influençant la composition chimique des huiles essentielles**

-Influence du chémotype

Une plante, de même variété botanique, élabore des huiles essentielles de composition biochimique différente (donc de propriétés différentes) en fonction de son origine (pays, climat, altitude, sol, saison,...), (**Degryse et al., 2008**).

Une huile essentielle contient des corps chimiques très complexes. Il s'agit de plusieurs assemblages moléculaires très divers, ayant chacun des propriétés différentes. Il est nécessaire pour un thérapeute de connaître profondément les constituons chimie fondamentale, (**Zhiri et baudoux, 2005**). Au sein d'une même famille botanique de plante il est toujours possible de trouver différents chémotypes, (**Degryse et al., 2008**).

Cette variation chimique nous permet de définir précisément la nature des sous espèces, des variétés, des cultivars et des taxons des plantes aromatiques. Cette variation chimique génère la notion de : chémotype ou race chimique, (**Zhiri et baudoux, 2005**).

C'est un paramètre de classification chimique, biologique et botanique désignant la molécule majoritairement présente dans une huile essentielle. Cette classification dépend des facteurs liés directement aux conditions de vie spécifique de la plante, (**Zhiri et Baudoux, 2005**).

- Influence du cycle végétatif

Le stade de développement botanique, comme la floraison par exemple, est souvent à l'origine de modification importante dans la plante. La composition chimique de l'huile essentielle sera donc différente selon la période de la récolte des plantes, (**Girard, 2010**).

- Influence des facteurs environnementaux

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'huile essentielle. La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol sont autant de facteurs d'ordre environnemental susceptible d'exercer des modifications chimiques, (**Bruneton, 1999**).

I-4- Domaines d'utilisation

I-4-1- En pharmacie

Les vertus thérapeutiques des huiles essentielles sont connues et utilisées depuis très longtemps, notamment en Asie où ces produits naturels constituent la base de la médecine traditionnelle. Il est donc logique de retrouver les huiles essentielles dans le domaine de la santé avec des applications pharmaceutiques. En pharmacie, les huiles essentielles sont majoritairement destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses et à la production d'antiseptiques, (**Bruneton, 1999**).

L'importance des plantes aromatiques est indiscutable. Leur contenu en essence et la nature chimique des constituants de celle-ci leur confèrent de grandes perspectives d'application. Ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médical et pharmaceutique, (**Valnet, 1984**).

Selon les auteurs, l'aromathérapie correspond à l'utilisation des odeurs et des substances volatiles pour soigner, atténuer ou prévenir les infections et les indispositions uniquement par le moyen d'inhalation. Pour d'autres, l'utilisation des huiles essentielles se fait par application sur la peau par des massages, (**Fillatre, 2011**).

I-4-2- En cosmétologie

Dans le domaine des parfums et cosmétiques, les huiles essentielles sont employées en tant qu'agents conservateurs grâce à leurs propriétés antimicrobiennes qui permettent d'augmenter la durée de conservation du produit. Cependant, c'est surtout pour leurs caractéristiques odorantes qu'elles sont utilisées, notamment dans la formulation de parfums, de produits d'entretien personnels ou ménagers, (**Fillatre, 2011**).

A la limite de la pharmacie et des produits d'hygiène, on notera la présence des huiles essentielles dans les préparations pour bains. Il y a une possibilité d'absorption percutanée des constituants terpéniques, (**Bruneton, 1999**).

I-4-3- En agroalimentaire

L'ensemble des secteurs de l'agro-alimentaire sont consommateurs d'huiles essentielles : boissons non alcoolisées, confiserie, produits laitiers, produits carnés, sauces, soupes, snacks, produits de boulangerie mais également la nutrition animale, **(Bruneton, 1999)**.

De plus, la tendance actuelle à consommer du « naturel » ainsi qu'un développement du goût de l'exotisme de la part de la population poussent les industriels à utiliser de plus en plus les huiles essentielles en temps qu'additifs aromatisants. Ce retour au naturel est lié à une prise de conscience générale tournée vers la protection de l'environnement avec, entre autres, la réduction de la consommation en produits phytosanitaires de synthèse et le développement de l'agriculture biologique. Dans ce contexte, les huiles essentielles constituent, une fois de plus, une voie d'intérêt et de recherche, **(Fillatre, 2011)**.

Les huiles essentielles ou leurs isolats sont employés aussi bien pour leurs propriétés antibactériennes qu'aromatiques. Elles jouent le rôle de conservateurs alimentaires, **(Burt, 2004)**.

I-5-Toxicité des huiles essentielles

Par leur composition chimique diversifier, les huiles essentielles doivent être utilisées avec une extrême prudence, du fait qu'elles peuvent présenter de très graves dangers lors d'une utilisation aléatoire autonome, surtout que le consommateur est attiré par la facilité d'emploi de ces essences en absorption interne ou en application externe, en ignorant que certaines sont plus rapidement dangereuses que les autres : absinthe, armoise, chénopode, sauge officinale, hysope, thuya, aneth, rue, anis, carvi, romarin. D'autres sont à éviter durant la grossesse, ou interdites aux personnes souffrant d'hypertension ou d'affections dermatologiques, **(Benzeggouta, 2005)**.

I-6-1-Toxicité par ingestion

En règle générale, les huiles essentielles d'usage commun ont une toxicité faible ou très faible par voie orale avec des DL50 supérieures à 5g /KG, **(Bruneton, 1999)**.

Chez l'homme, des intoxications aiguës sont possibles. Les accidents graves, les plus souvent observés chez les petits enfants, sont provoqués par l'ingestion de quantités importantes d'huile essentielles : girofle, eucalyptus, **(Pibiri, 2005)**.

I-6-2-Toxicité dermique

Le large usage que font la parfumerie et la cosmétique de ces huiles essentielles a suscité de nombreux travaux sur leur éventuelle toxicité par application locale (aiguë et chronique). Tous les ouvrages traitant des huiles essentielles donnent des concentrations maximales, les évictions et les précautions d'emplois. Les huiles essentielles du thym et d'origan sont connues pour leur pouvoir irritant, **(Pibiri, 2005)**.

I-7- Extraction des huiles essentielles

I-7-1- La distillation

➤ Extraction par entrainement à la vapeur d'eau

L'hydrodistillation est la technique de référence dans l'étude des composés volatiles d'une plante dans le domaine de la recherche. Cependant une verrerie adaptée a été mise en place permettant à la fois la circulation en circuit quasi fermé de l'eau sous forme aqueuse et gazeuse. Ces phénomènes ont été rendus possible grâce à un appareil de type CLEVINGER, (Clevenger, 1928).

➤ L'hydrodistillation.

Cette méthode consiste à mettre le matériel végétal à traiter dans un alambic remplis d'eau distillée qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes se condensent sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare de l'eau par différence de densité, (Bruneton, 1999) Figure N°3.

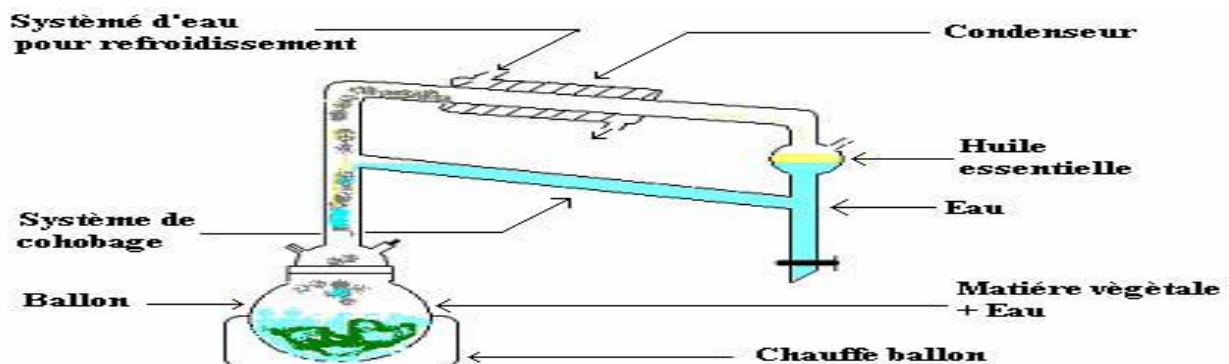


Figure N°3: Appareillage d'hydrodistillation, (Clevenger, 1928).

I-7-2-Pression à froid

L'huile essentielle des agrumes se situe dans le zest, pour l'extraire, on utilise la technique de l'expression : les fruits sont pressés à froid. L'huile essentielle est ensuite séparée du jus par centrifugation. Le produit obtenu est appelé essence, (Degryse et al., 2008).

I-7-3-Extraction par solvants

Technique utilisée pour extraire certains composés contenus dans les plantes non entraînable à la vapeur d'eau, (Degryse et al., 2008).

➤ **Extraction par solvants volatils.**

Les solvants les plus utilisés sont : l'éther de pétrole, hexane, propane ou butane liquide et l'éthanol, **(Bruneton, 1999)**.

La technique d'extraction par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit ainsi obtenu est appelé « concrète ». Cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales. Après une dernière concentration, on obtient une « absolue ». Cependant, depuis quelques décennies, l'extraction par solvant a connu d'intéressantes améliorations. L'hydrodistillation-extraction simultanée et l'extraction par Soxhlet en sont les principales, **(Luccheci, 2005)**.

➤ **Extraction par solvants fixes**

- **L'enfleurage par la graisse froide**

Cette méthode consiste à solubiliser les principes odorants dans des matières grasses. La substance obtenue à une concentration élevée est diluée puis traitée avec d'autres solvants qui dissolvent la matière grasse, **(Padrini et Lucheroni, 1993)**.

- **Extraction par macération dans la graisse chaude**

Cette technique se pratique à chaud, par immersion des organes végétaux dans le corps gras fondu. Le produit obtenu est une pommade florale, **(Bruenton, 1993)**.

I-7-4-Extraction assistée par micro-ondes

Dans ce procédé la plante est chauffée par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle ; l'huile essentielle est entraînée dans le mélange isotopique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée. Ce procédé procure un produit de qualité avec une faible consommation d'énergie, **(Bruneton, 1999)**.

Chapitre II: Activité antimicrobienne des huiles essentielles

II-1-Association des huiles essentielles

L'effet antimicrobien de l'association des huiles essentielles peut avoir quatre interactions différentes.

- **Indifférence** : l'activité d'une huile essentielle n'est pas affectée par l'autre.
- **Synergie additive** : dans ce cas l'effet de l'association représente la somme des effets de chaque huile essentielle isolément étudié.
- **Synergie** : l'effet est supérieur à la somme des effets de chaque huile essentielle étudiée séparément.
- **Antagonisme** : l'association diminue l'activité de l'une ou de l'autre des huiles essentielles, (Pibiri, 2005).

II-2-Activité liée à la composition chimique

Certains chercheurs ont montré que la puissance de l'action des huiles essentielles varie selon leurs constituants majoritaires et que le mode d'action est principalement lié au profil chimique des constituants de chaque huile essentielle, qui est largement diversifié, (Rhayour, 2002).

Le thymol et le carvacrol semblent capables d'augmenter la perméabilité membranaire. Le thymol entraîne une réduction de la taille des bactéries, une altération de la paroi bactérienne, une agrégation du cytoplasme et un rapprochement des cellules, (Lambert et al., 2001 ; Rasooli et al., 2006).

Le carvacrol et le thymol, qui ne diffèrent que par la position du substituant hydroxyle, présente une activité sur des souches de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, (Lambert et al., 2001 ; Ultee et al., 2002).

Les interactions entre les constituants des huiles essentielles peuvent également affecter leur activité. Par exemple, l'efficacité de l'huile essentielle du thym contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* est due à une synergie entre ses principaux constituants : le carvacrol et le thymol, (Lambert et al., 2001).

II-3-Mécanismes d'action des huiles essentielles

Les modes d'action des huiles essentielles et de leurs principaux constituants, décrits jusqu'à présent, semblent tous affecter la paroi ou la membrane cytoplasmique. Cependant, la variabilité chimique des huiles essentielles laisse présager l'existence de molécules pouvant agir par de nouveaux mécanismes cellulaires, (Guinoiseau, 2010).

La principale caractéristique des molécules présente dans les huiles essentielles est leurs hydrophobicité. Elle permet leurs solubilisation dans les membranes ce qui provoque une déstabilisation de la structure et une augmentation de la perméabilité membranaire, (Sikkema *et al.*, 1994) Figure N°4 .

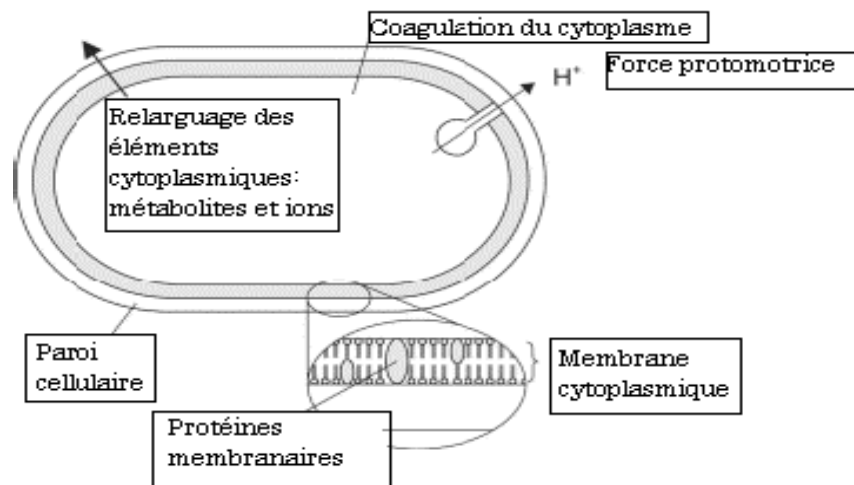


Figure N°4 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne, (Burt, 2004).

II-4-Techniques utilisées pour la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles a une grande influence sur les résultats.

A l'heure actuelle, l'activité antimicrobienne d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide, (Rhayour, 2002).

II-4-1-Techniques en milieu liquide

➤ Méthode des disques de Sarbach

L'essence est déposée à différentes concentrations sur des disques en papier filtre de 10 mm de diamètre, l'ensemble est placé dans des tubes à essai. Dans chaque tube est réparti un certain volume de bouillon nutritif ensemencé. Une agitation mécanique est assurée pendant toute la durée de l'incubation.

L'action bactéricide totale est confirmée par repiquage en milieu liquide d'une anse prélevée sur le milieu liquide de subculture. Le pouvoir bactéricide partiel est apprécié par l'évaluation du pourcentage de survivants par repiquage en milieu solide, (**Rhayour, 2002**).

➤ **Méthode de Maruzuella**

Elle permet l'étude du pouvoir bactéricide en bouillon après solubilisation des huiles essentielles dans l'éthanol. Les solutions mères sont préparées.

Dans l'éthanol 95%, la solution alcoolique est ensuite répartie à différentes doses dans le milieu liquide préalablementensemencé. Après la durée d'incubation, on effectue des subcultures qui permettent d'évaluer les concentrations minimales inhibitrices (CMI), (**Rhayour, 2002**)

II-4-2-Techniques en milieu solide

➤ **Méthode de Vincent**

Elle est appelée aussi technique de l'antibioaromatogramme. Dans cette méthode, on utilise des disques de papier filtre de 10 mm de diamètre, imprégnés d'HE et déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablementensemencé en surface à l'aide d'une suspension bactérienne.

Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre d'inhibition en mm. La dilution des huiles essentielles se fait toujours dans un solvant tel que l'éthylène Glycol, l'acétone, l'éthanol à 95%. Le principe de cette méthode est toujours la migration de l'HE par diffusion dans la gélose.

Cette technique inspirée de celle des antibiogrammes, a été généralisée aux huiles essentielles, (**Rhayour, 2002**).

Une variante de cette technique consiste en l'aménagement de cavité à l'emporte-pièce, dans la gélose coulée et solidifiée en boîte. On remplit cette cavité d'un volume donné d'HE qui va diffuser dans la gélose, et on procède, après incubation, à la mesure du diamètre d'inhibition comme dans la technique précédente.

➤ **Méthode de Morel et Rochaix**

Elle permet d'évaluer le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles par solubilisation dans l'alcool à différentes concentrations et incorporation de chacune des concentrations dans un milieu gélosé,ensemencé, puis coulé en boîtes de Pétri. L'alcool faciliterait la diffusion de l'essence dans le milieu, (**Rhayour, 2002**).

➤ **Méthode de microatmosphère**

C'est une technique d'étude en phase vapeur. Son principe est d'ensemencer une boîte de Pétri avec les germes tests, tandis que l'on dépose quelques gouttes d'HE sur un papier filtre au fond et au centre du couvercle. La boîte est incubée couvercle en bas. Il se produit une évaporation des substances volatiles et on lit après incubation, la croissance des germes ou l'inhibition de leur croissance, (**Rhayour, 2002**).

II-4-3- Détermination de la concentration minimale d'inhibitrice(CMI) et de la concentration minimale bactéricide (CMB)

➤ **La concentration minimale inhibitrice (CMI)**

C'est la concentration du premier tube de la série dans lequel aucun trouble n'apparaît, (Meyer et al., 2008).

La 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, (Basli et al., 2012).

➤ **La concentration minimale bactéricide (CMB)**

C'est la plus petite concentration aboutissant à la destruction notable de l'inoculum bactérien (par définition, 0,01% de survivants), (Meyer et al., 2008).

Cette technique de détermination des CMI par contact direct en milieu gélosé ou liquide, consiste à disperser l'agent antimicrobien en concentration variable de façon homogène et stable dans le milieu de culture du germe étudié. Cette technique, très fiable et reproductible pour les agents antimicrobiens hydrosolubles, pose un problème de diffusion et d'homogénéité de dispersion avec les huiles essentielles qui ont une très faible solubilité dans les milieux de culture aqueux. Ce problème a été résolu en partie par l'utilisation d'émulsions des huiles essentielles dans des solutions de différents détergents comme le Tween 20 et le Tween 80, ou des solvants comme l'éthanol, (Rhayour, 2002).

Chapitre III : Le thym et l'origan

III-1- Le thym

III-1-1- Description et classification

Le thym était déjà une plante importante dans l'Égypte ancienne. Les spécialistes de cette culture très développée s'en servaient pour embaumer les morts. Car il est incontesté que le thym a des propriétés conservatrices. C'est ainsi qu'il protège le papier contre la moisissure et qu'il fait de nos jours encore partie intégrante des fluides d'embaumement utilisés pour conserver les pièces de collections botaniques et anatomiques. Le thym vient du mot grec *thymon* qui signifie courage, force. A une époque plus moderne, le thym était considéré comme l'«ennemi du poison» et l'on s'en servait pour la fumigation des chambres de malades.

Le Thym est originaire des régions méditerranéennes et orientales, il pousse sur des sols secs et rocailleux.

Le thym véritable est un petit sous-arbrisseau qui atteint une hauteur de jusqu'à 40 cm. Il fait partie de la famille des Lamiacées. Ses tiges carrées, dressées sont courtes et velues, de couleur blanchâtre. Ses petites feuilles vert foncé de 4–10 mm de long, de forme elliptique à oblongue et à tige courte, sont cotonneuses et grisâtres en dessous et lisses dessus. Elles sont légèrement enroulées sur les bords. La plante toute entière a une odeur aromatique, la floraison à lieu de juin à septembre. Ses jolies fleurs sont de couleur violacée à rose foncé et sont très appréciées des abeilles.

Il existe différentes sortes et variétés de thym qui ont toutes les mêmes besoins en terme d'habitat et de soins. C'est ainsi que le thym a besoin de lieux ensoleillés au sol léger et drainant pour pouvoir déployer pleinement toutes ses vertus, (Speck et al., 2008).

Classification du *Thymus*, (Guignard, 1972).

Règne :	Plantae
Embranchement :	Spérmaphytes
Sous embranchement :	Angeospérmes
Classe :	Magnolipsidaeae
Ordre :	Lamiales
Famille :	Lamiacées
Sous famille :	Stachyoideae

III-1-2-Répartition géographique

Le Thym se répartie dans le continent européen, Bassin Méditerranéen, Israël, Afrique du nord, (Lubinic, 2003). C' est un genre comprenant environ 215 espèces qui se rependent sur la zone méditerranéenne. *Thymus Algériensis* est une espèce endémique du Maroc, Algérie, Tunisie et Lybie. Elle se développe largement dans différents bioclimats (allant de sub-humide au moins aride), (Ben El Hadj Ali et al., 2012).

Au Maroc, elle est rencontrée dans le Moyen Atlas, le Haut Atlas, l'Anti Atlas occidental, le Rif et l'Oriental (foret de Béni Snassen), (Amarti et al., 2010).

En Algérie elle se trouve dans toutes les régions montagneuses et dans le tell, (Quezel et Santa, 1963).

III-1-3- composition chimique de l'huile essentielle

L'huile essentielle du thym possède une composition chimique variable selon les sols, les climats, les périodes, les heures de récoltes et les conditions du stockage. Elle est néanmoins toujours dominée par le thymol qui lui confère puissance et chaleur.

L'huile essentielle de thym est dominée par le thymol à hauteur de 40,5% composé qui possède une note olfactive caractéristique, chaude, herbacée et puissante. Le γ -terpinène, le *p*-cymène, et le linalol, trois composés aux notes olfactives plus légères, contribuent aussi à la composition de cette huile essentielle mais de façon moins prépondérante. Le γ -terpinène est présent à teneur de 17,1% le *p*-cymène et le linalol possèdent respectivement des teneurs de 7,5% et 4,6%, (Luccheci, 2005) Tableau I.

Tableau I : Principaux composés de deux espèces du thym.

Espèce	Principaux composés	Teneur(%)	L'auteur
<i>Thymus officinalis</i>	- Thymol - Carvacrol - γ -terpinène - P-cymène	10 à 64 2 à 11 2 à 31 10 à 56	(Burt, 2004)
<i>Thymus algeriensis</i>	- Camphre - α pinène - α thujène	27,7 20,5 9,64	(Amarti et al., 2010)

III-1-4-Propriétés et usage

Utilisée en parfumerie, ou telle quelle, l'huile essentielle de thym rappellera facilement aux vacanciers l'odeur de la garrigue provençale. Ingrédient caractéristique et indispensable de nombreux plats méridionaux, son utilisation en cuisine est devenue aujourd'hui quasi universelle. À la fois herbe magique et curative pour les Romains, il fut le remède miracle du XVI^{ème} siècle. Actuellement, l'huile essentielle de thym est utilisée pour ses vertus carminatives, antimicrobiennes, antibactériennes et antifongiques. Connu depuis toujours comme un antiseptique puissant, en infusion le thym peut être utilisé en bain de bouche ou en

gargarisme pour lutter contre des gencives enflammées et les maux de gorges, (Luccheci, 2005).

III-2- l'origan

III-2-1-Description et classification

L'espèce *Origanum glandulosum* est une plante à tiges toutes dressées. L'inflorescence est en épis denses, à fleurs restant contiguës après la floraison. La corolle a une lèvre inférieure bien plus longue que la lèvre supérieure, (Quezel et Santa, 1963).

Cette plante aromatique apprécie un sol maigre sur un coteau montagneux et ensoleillé. Ses feuilles vert foncées au goût piquant sont ovales et pointues et ses fleurs sont groupées, odorantes, de couleur rose pourpre, (Zhiri et Baudoux, 2005).

Classification d'*Origanum glandulosum*, (Quezel et Santa, 1963; Gaussen *et al.*, 1982).

Règne :	Plantae
Embranchement :	Spérmaphytes
Sous embranchement :	Angeospérmes
Classe :	Dicotylédonae
Sous classe :	Astériidae
Ordre :	Lamiales
Famille :	Lamiacées
Genre :	<i>Origanum</i>
Espèce :	<i>Origanum glandulosum</i>

III-2-2-Répartition géographique

C'est une plante présente en Europe, Afrique et en Russie, (Lubinic, 2003). C'est une plante qui pousse spontanément dans tout le nord de l'Afrique en particulier dans les montagnes à une altitude de 300 à 1600 m, surtout dans les endroits rocheux, (Bekhechi *et al.*, 2008).

Le genre *Origanum* comprend environ 38 espèces et s'étend sur les régions méditerranéennes, l'Europe et l'Iran, (Bendahou *et al.*, 2008).

En Algérie commun dans tout le Tell, Broussailles et garrigues, (Quezel et Santa, 1963).

III-2-3-Composition chimique de l'huile essentielle

L'origan renferme des huiles essentielles, (Dellile, 2007), des polyphénols (flavonoïdes libres, quercétine, acide caféique et acide rosmarinique qui sont liés à 3- et 5-flavonoïdes hydroxylés), (Belhattab et al., 2004).

L'étude faite sur la variabilité chimique de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* récolté dans différentes régions de l'Est de l'Algérie (23 échantillons) montre qu'il existe trois chémotypes : chémotype à thymol, chémotype à carvacrol, et chémotype à thymol et à carvacrol. Les composés majoritaires identifiés sont : le thymol, le carvacrol, le *p*-cymène et le γ -terpinène. L'analyse chimique faite toujours par la même étude a montré que les huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* récolté dans trois sites différents de la région de Bejaia ont des chémotypes variables.

En revanche, l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* récolté dans la région de Tlemcen est de chémotype à thymol, (Bekhechi et al., 2008; Bendahou et al., 2008) Tableau II.

Tableau II : Principaux composés de deux espèces de l'origan.

Espèce	Les composés	La teneur(%)	L'auteur
<i>Origanum vulgare</i>	- carvacrol - thymol - γ -terpinène - <i>p</i> -cymène	Traces à 80 Traces à 64 2 à 52 Traces à 52	(Burt, 2004)
<i>Origanum glandulosum</i> (Algerie)	- thymol - γ -terpinène - <i>p</i> -cymène - carvacrol	49,5 16,4 15,7 3,6	(Bekhechi et al., 2008)

III-2-4-Propriétés et usage

Action sédative, apéritive, antispasmodique, stomachique, carminative, expectorant, antiseptique.

L'origan est recommandé en cas de manque d'appétit, d'aérophagie, de bronchite chronique, de toux d'irritation, d'asthme, d'absence de règles, action antalgique, et parasiticide; utile contre la pédiculose, les rhumatismes et la cellulite, (Dellile, 2007).

Les espèces d'*Origanum* sont largement connues comme herbe culinaire, pour assaisonner les produits alimentaires et les boissons alcooliques, (Bendahou et al., 2008).

Partie pratique

I. Matériel et méthodes

I-1-Matériel végétal

Dans notre étude on s'est intéressé aux parties aériennes de deux plantes aromatiques d'Algérie qui sont :

- *Thymus algeriensis* : acheté chez un herboriste de la wilaya de Bejaïa cueilli au mois de mars dans la région de Toudja (wilaya de Bejaïa) Figure N°5.



Figure N°5: Photographie de la plante *Thymus algeriensis* utilisé.

- *Origanum glandulosum* : à l'état sec acheté aussi chez un herboriste de la wilaya de Bejaïa cueillit en période de floraison dans la région de Bouandes (wilaya de Sétif) Figure N°6.



Figure N°6 : Photographie d'*Origanum glandulosum* utilisée.

I-2-Matériel biologique

Deux souches sont utilisées (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) choisies pour leur pathogénie et leurs résistances ainsi que leur incrimination dans les infections.

Ces souches bactériennes appartiennent à la collection du laboratoire de microbiologie de l'université de Bejaïa.

Référence d'*Escherichia coli* : ATCC 25923.

Référence de *Staphylococcus aureus* : ATCC 25922.

I-3-Préparation des extraits des huiles essentielles

Extraits des huiles essentielles :

L'extrait des huiles essentielles a été obtenu par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (1928), pendant 2 heures, de 50 g de matériel végétal avec 500 ml d'eau dans un ballon de 1 litre est pesée (Amarti et al, 2010).

La partie aérienne de la plante est placée dans un ballon avec de l'eau sur un chauffe ballon de type **Isopode**, l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques. En passant dans un réfrigérant, l'eau se condense elle est ensuite récupérée dans un flacon ou on distingue deux phases : l'huile essentielle et l'eau aromatique, (Clevenger, 1928) Figure N°7.

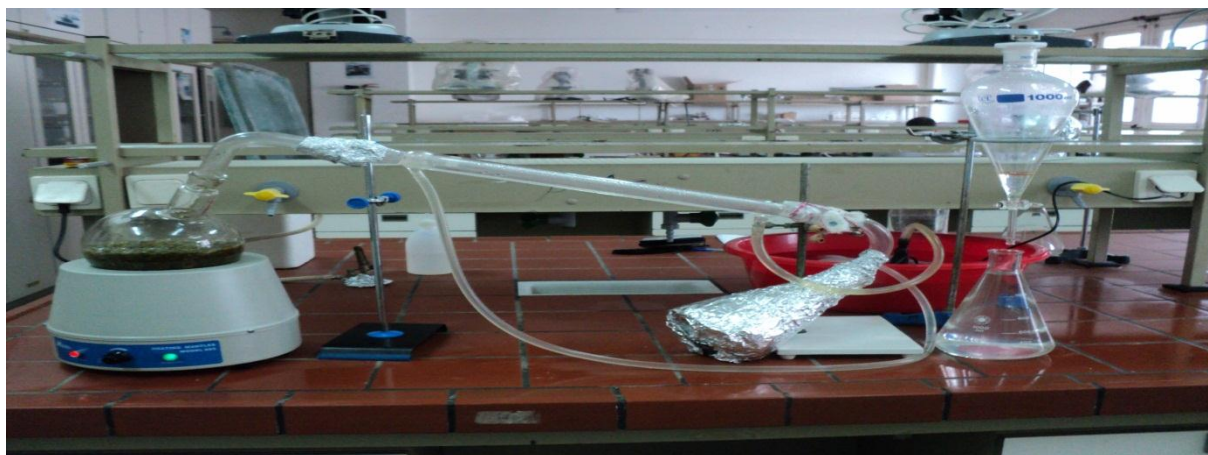


Figure N°7: Photographie de l'appareil d'extraction des huiles essentielles utilisé.

Le distillat est ensuite mis dans une ampoule à décanter. Après avoir laissé reposer le contenu quelque temps (2 heures) l'eau est éliminée et l'huile essentielle est récupérée.



Figure N°8 : Huile essentielle du Thym.



Figure N°9: Huile essentielle d'Origan.

Les huiles essentielles récupérées sont conservées à 4°C à l'obscurité et à l'abri des rayons UV dans des flacons scellés hermétiquement.

-Le calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal traité (**Williams, 1994**).

$$\mathbf{Rd\% = m_1 \cdot 100/m_0}$$

Rd : Rendement.

m_1 : Masse de l'huile essentielle.

m_0 : Masse du matériel végétal.

1-4- Etude de l'effet de l'association de deux huiles essentielles sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*

Notre étude se base sur la détermination de l'effet de l'association de deux huiles essentielles de *Thymus algeriensis* et *Origanum glandulosum* sur l'activité antimicrobienne d'une souche à Gram positif de *Staphylococcus aureus* et une souche à Gram négatif *Escherichia coli* pour cela on s'est inspiré des protocoles utilisés par le Comité de la Société Française de Microbiologie (2010), Amarti et al.(2010) et Zouari et al (2011).

I-4-1- Préparation des dilutions des huiles essentielles et calcul des concentrations

Du fait de la non-miscibilité des huiles essentielles à l'eau et donc au milieu de culture, une mise en émulsion a été réalisée grâce à une solution d'agar à 0,2 %. Elle permet d'obtenir dans le milieu une répartition homogène des huiles essentielles, (Amarti et al., 2010).

Préparation d'une solution aqueuse stérile d'agar, provient de l'institut pasteur d'Algérie, à 0.2% (0.2g d'agar dans 100 ml de l'eau physiologique).



Préparation des solutions mères : 0.1ml de l'huile essentielle avec 0.9ml de la solution d'agar à 0.2% (pour les deux huiles essentielles)



A partir de la solution d'émulsion (huile essentielle + agar à 0.2%), on prépare des différentes dilutions (1/1, 1/2, 1/4, 1/8)

Les différentes dilutions on était préparées afin d'obtenir les concentrations suivantes :

Tableau III : Concentration des huiles essentielles du thym et de l'origan (g/ml).

Dilutions	1 / 1	1 / 2	1 / 4	1 / 8
Plantes				
Thym	0 .11	0.055	0.0275	0.0137
Origan	0.14	0.07	0.035	0.0175

I-4-2- Préparation des mélanges des deux huiles essentielles

Après avoir préparé les dilutions de chaque huile essentielle on procède au mélange de ces deux dernières comme suit :

Mélanger chaque dilution d'une huile essentielle avec la même dilution de l'autre huile (ex. la dilution v/v de l'huile essentielle du thym avec la dilution v/v de l'huile essentielle de l'origan et ainsi de suite).

I-4-3- Préparation de l'inoculum standard

Les bactéries sont ensemencées sur des boîtes de pétri contenant le milieu spécifique à leur croissance *Escherichia coli* sur gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) et *Staphylococcus aureus* sur Chapman puis incubées pendant 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées.

Dans le but d'obtention d'une concentration de 10^7 UFC/ ml pour chaque inoculum on procède comme suit :

- 4 colonies d'une culture jeune d'*Escherichia coli* mises dans 10 ml d'eau physiologique puis l'absorbance est mesurée à 448 nm après agitation avec un Vortex.
- 10 à 11 colonies d'une culture jeune de *Staphylococcus aureus* mises dans 10 ml d'eau physiologique puis l'absorbance est mesurée à 525 nm après agitation avec un Vortex.

I-4-4- L'aromatogramme

Afin de déterminer l'activité inhibitrice des huiles essentielles, on procède à la méthode d'aromatogramme et cela par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque chargé d'huile essentielle .

Cette technique est basée sur la diffusion sur milieu gélosée.

- Des disques de papier Whatman stériles (diamètre est de 06 mm) sont déposés à égale distance les uns des autres (4 disques par boîte) et de telle façon à éviter le chevauchement de zones d'inhibition sur la gélose préalablement ensemencée par écouvillonnage avec la souche test.

-Une légère pression sera exercée sur chaque disque afin d'obtenir une bonne adhérence.

-Sur chaque disque 10 µl des dilutions de chaque huile essentielle préparées dans l'agar a 0,2% (1 /1, 1/2, 1/4, 1/8) ont été déposés à l'aide d'une micropipette.

Après incubation à 37°C pendant 24 Heures on procède à l'observation et à la mesure des diamètres des auréoles d'inhibition autour des disques (**Anonyme 2**).

II. Résultats et discussion

Conclusion

Conclusion

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* et d'*Origanum glandulosum* a été évalué sur deux bactéries une à Gram négative (*Escherichia coli*) et l'autre à Gram positive (*Staphylococcus aureus*).

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* présente une activité plus élevée que l'activité antimicrobienne d'*Origanum glandulosum*.

Les huiles essentielles de *Thymus algeriensis* et d'*Origanum glandulosum* ainsi que leurs dilutions présentent des activités antimicrobiennes variables, présentant des diamètres des zones d'inhibition variable allant de 7 à 26 mm.

L'huile essentielle de *Thymus algeriensis* s'est avéré très active contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* avec des diamètres des zones d'inhibitions supérieur à 20mm, en revanche l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* présente une activité contre les deux souches avec des zones d'inhibitions supérieures à 10 mm.

En ce qui concerne le mélange des deux huiles essentielles, l'activité exercée est très élevée contre les deux souches avec des diamètres des zones d'inhibitions qui varient entre 8 et 31mm.

L'effet de l'association des deux huiles essentielles exercé sur *Escherichia coli* est un effet antagoniste du fait de la diminution du diamètre de zones d'inhibitions de 26 à 23mm, par contre l'effet exercé sur *Staphylococcus aureus* est un effet de synergie aditive du fait d'avoir un diamètre des zones d'inhibitions résultant de la somme des zones d'inhibitions de chaque essence étudié séparément.

Ces résultats préliminaires avec l'association du Thym et de l'Origan peuvent s'avérer prometteurs dans l'élargissement de l'arsenal des plantes douées de propriétés antibactériennes, toute fois ces résultats peuvent être approfondis en vue d'une meilleure exploitation par :

- la multiplication du nombre d'essais.
- Etude comparative de la composition chimique et de l'effet antimicrobien des huiles essentielles de différentes saisons afin de pouvoir optimiser l'activité antibactérienne.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Abdellah F., Aarab L., El Ajjouri M., Chaouche A. (2010). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles du *Thymus algeriensis* Boiss et Reut et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth du Maroc. Biothechnol.Agron. Soc. Environ. 1. (14). 141-148.

Amarti F., El Ajjouri M., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Farah A., Khia A., Guedira A., Rahouti M., Chaouch A. (2011). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle du *Thymus zygis* du Maroc. Pharmacologie aromathérapie. 9: 149-157.

Anonyme 1. Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins, Larousse. (2001). p54.

Anonyme 2. (2010). CA-SFM, Comité de la Société Française de Microbiologie. Recommandation 2010; Edition Janvier 2010. P1- 490.

Basli A., Chibane M., Madani K., Oukil N. (2012). Activité antimicrobienne des polyphénols extraits d'une plante de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. Pharmacologie. 10 : 2-9.

Baudoux D. (1997).Aromanews. Lettre d'information N.A.R.D : naturel aromatherapy research and development, périodique bimestriel.

Bekhechi C., Abdelouhid D. (2010). Les huiles essentielles. Office des publications Universitaires. Place centrale- Ben-Aknoun-ALGER.55p.

Bekhechi C., Atic-Bekkara F., Abdelouahid D.E. (2008). Composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*origanum glandulosum* d'Algerie. Pharmacognosie. 6 : 153-159.

Bekka F. (2009). Effet des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* Desf. et d'*Artemisia herba alba* Asso. sur des bacteries multirésistante. Thèse de magister option microbiologie appliquée, université Abderahman Mira de Bejaia. 126p.

Belhattab R., Larous L., Kalantzakis G., Boskou D. et Exarchou V.(2004).Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf. Journal of food, Agriculture et amp; Environment. 1:69-73.

Benayad N. (2008).Les huiles essentielles extraites des plantes medicinales Marocaine : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaire stockees. Titre de projet de recherche Université Mohammad V-agal.Faculté des sciences de rabat.59p.

Bendahou M., Muselli A., Grigon-Duboi M., Benyoucef M., Desjobert J.M., Bernardini A.F., Costa J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. Essential oil and extract obtained by micro-wave extraction: comparaison with hydrodistillation. Food Chemistry. 106 :132-139.

Références bibliographiques

Ben El Hadj Ali I., Guetat A., Boussaid M. (2012). Chemical and genetic variability of *Thymus algeriensis* Boiss et Reut (Lamiaceae), a north African endemic species. (40). 277-284.

Benzeggouta N. (2005). Etude de l'activité antibactérienne des Huiles essentielles infusés de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Thèse de magister, Université Mentouri de Constantine Institut de Chimie.

Bruneton J. (1993). Pharmacognose phytochimie plantes médicinales. Tec et Doc. Lavoisier.

Bruneton J. (1999). Pharmacognose. Phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition technique et documentation Lavoisier.

Burt S. (2004). Essential oils : their antimicrobial properties and potential applications in foods- a review. International Journal of Food Microbiology. 94, 223-253.

Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W.L. et Ferret A. (2007). Invited review : Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. Journal of dairy science. 90 (6) :2580-2595.

Charpentier B., Hamon F., Harlay A., Huard A., Ridoux L. et Chansellé S. (2004). *Guide du préparateur en pharmacie*. 2^{ème} éd. Masson, Paris, pp. 1312.

Clevenger J.F., (1928). apparatus for the deterninetion of volatile oil. J ampharmassoc 17;346-1.

Couderc V.L. (2001). Toxicité des huiles essentielles. Thèse de doctorat pour l'obtention du grade de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse.84p.

Degryse A.C., Ddelpla I., Voinier M.A. (2008).Risques et bénéfices possible des huiles essentielles. Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique. Ingénieur du Génie Sanitaire. *Atelier santé environnement*.87p.

Dellile L. (2007). Les plantes médicinales d'Algérie. Berti, Alger. 240p.

El-Kalamouni C. (2010). Caractérisation chimique et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de doctorat. Discipline : sciences des agroressources. Université de Toulouse. 263p.

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 doctorat en vue de l'obtention du grade de docteur en Chimie analytique. Ecole doctorale Matière, Molécule, Matériaux des pays de Loire. Université Angers. 288p.

Frantisek S., Vaclar J. (1973). Plantes médicinales. Atlas illustré.

Girard G. (2010).Les propriétés des huiles essentielles dans les soins buccodentaires d'hier à aujourd'hui. Mise au point d'un modèle préclinique de lésion buccale de type

Références bibliographiques

aphte pour tester les effets thérapeutiques des huiles essentielles. Pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université Henri Poincaré-Nancy1. Faculté de pharmacie.86p.

Guignard J.L. (1972). Botanique. Edition : Masson. Paris. 249p.

Guinoiseau E. (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat pour l'obtention du grade de docteur de l'université de Corse. Ecole Doctorale Environnement et Société UMR CNRS 6134 SPE. 148p.

Haddouchi F., Lazouni H.A., Meziane A., Benmansour A. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle du *Thymus fontanesii* Boiss et Reut. Afrique SCIENCE. 05(2) : 246-259.

Hazzit M., Boualiouamar A., Verissimo A.R., Falerio M.L., Miguel M.G. (2009). Chemical composition and biological activities of Algerian Thymus oils. Food chemistry. 116 : 714-721.

Jaques G., Paltz S.A. (1997). Le fascinant pouvoir des huiles essentielles. Fascicule de laboratoire « Jaques Paltz ».

Lambert R.J., Skandamis P.N., Coot P.J., Nychas G.J. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of origanoessential oil, thymol and carvacrol. J. Appl. Microbiol. 91, 453-462.

Lubinic E. (2003). Manuel pratique d'aromathérapie, les huiles essentielles et leur utilisation. Edition Vigot. 154p-193p.

Luccheci M.E. (2005). Extraction sous solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences. Faculté des sciences et technologies université de la Réunion.146p.

Meyer A., Deiana J., Bernard A. (2008). Cours de microbiologie générale.2^{ème} édition doin. 252-253.

Padrini F., Lucheroni M.T. (1996).Le grand livre des huiles essentielles .Ed. devecchi.

Pibiri M.C. (2005). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences. Institut des Infrastructures, des ressources et de l'environnement, section d'architecture.161p.

Quezel P., Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Centre national de la recherche scientifique, Paris.

Références bibliographiques

Rasooli, I. et Mirmostafa, S.A. (2003). Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oils from *Thymus kotschyamus* and *Thymus persicus*. Journal of Agricultural and food chemistry. 51:2200-2205.

Rasooli I., Rezaei M.B., Allameh A. (2006). Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. Int. J. Inct. Dis. 10 : 236-241.

Rhayour K. (2002). Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *E.coli*, *Bacillus Subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat en vue de l'obtention du Doctorat Nationale. Faculté des sciences DharMehraz –Fés.170p.

Rodriguez Vaquero M.J., Alberto M.R., et De Nuda M.M.C. (2007). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. Food control. 18: 93-101.

Sahin F., Culluce M., Daferera D., Sokmen A., Polissiou M., Agar G., Ozer G. (2004). Biological activity of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp :vulgare in the Eastern Anadolian region of Turkey. 15 : 549-557.

Sartoratto A., Machado A.L.M., Delarmelina C., Figueira G.M., Duarte M.C. et Rehder V.L.G. (2004). Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. Brazilian Journal of microbiology. 35 :275-280.

Schelz, Z., Molnar, J. et Hohmann, J. (2006). Antimicrobial and antiplasmodial activities of essential oils. Fitoterapia. 77:279-285

Sikkema J., De Bont J.A.M., Poolman B. (1994). Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. J. Biol. Chem. 269 : 8022-8028.

Sutour S. (2010). Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extrait de menthe de Corse et de Kumquats. Thèse de doctorat pour l'obtention du grade de docteur de l'université de Corse discipline chimie organique et analytique Université de Corse Pascal Paoli, Faculté de science et techniques. 221p.

Tabanca N., Kirimer N., Demirci F., Baser K.H. (2001). Composition and antimicrobial activity of *Micromeria cristata* sub sp. Phrygia and the enantiomeric distribution of borneol. J. Agric. Food. Chem. 49, 4300-4303.

Teuscher E., Anton R., et Lobstein A. (2005). Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Lavoisier, Tec & Doc, Paris. 522p.

Ultee A., Bennik M.H.J., Moezelaar R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Applied and Environment microbiology. 68 (4), 1561-1568.

Ursula, Fotsch C. et Wacker S. (2008). Connaissance des herbes. EGK Caisse de santé.

Valnet J. (1984). Aromathérapie. Edition Maloine S.A.P : 50-119.

Références bibliographiques

Wichtl M. et Anton R. (1999) plantes thérapeutiques. Techniques et Documentation. Paris.

Williams L.R. (1994). Essentiel oil from *Malaleuca dissitiflora* : a potential source of high quality tree oil. *Industriel corps and products*. 2 : 211-221.

Yossa N., Patel J., Miller B.P., Lo Y.M. (2010). Antimicrobial activity of essential oils against *Escherichia coli O157 :H7* in organic soil. *Food Control*. 21, 1458-1465.

Zhiri A., Baudoux D. (2005). Aromathérapie scientifique, huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. Edition Inspir Development, Luxembourg. P 84.

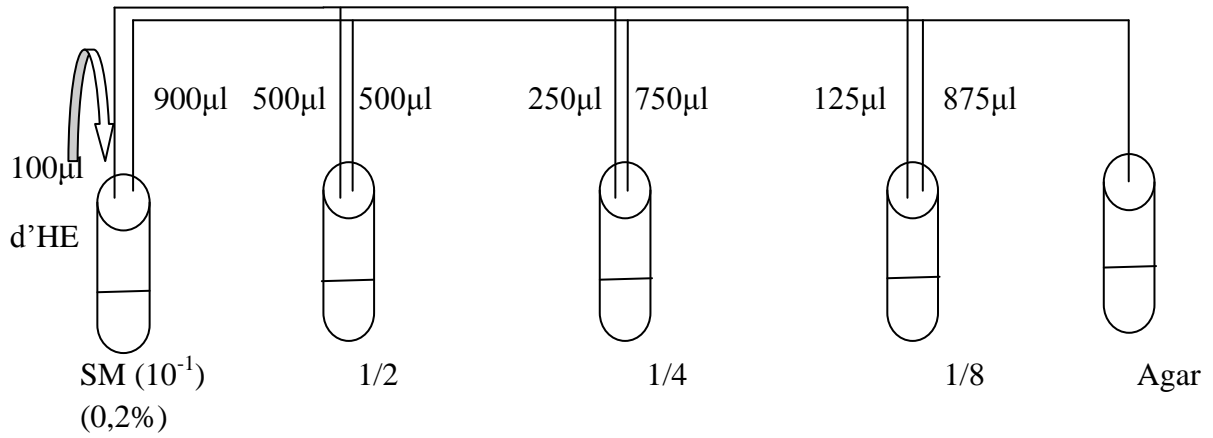
Zouari N., Fakhfakh N., Zouari S., Bougatef A., Karray A., Neffati M., Ayadi M.A. (2011). Chemical composition, angiotensin I-Converting enzyme inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss et Reut (Lamiaceae). *Food and Bioprocess Processing*. 89 : 257-265.

Annexes

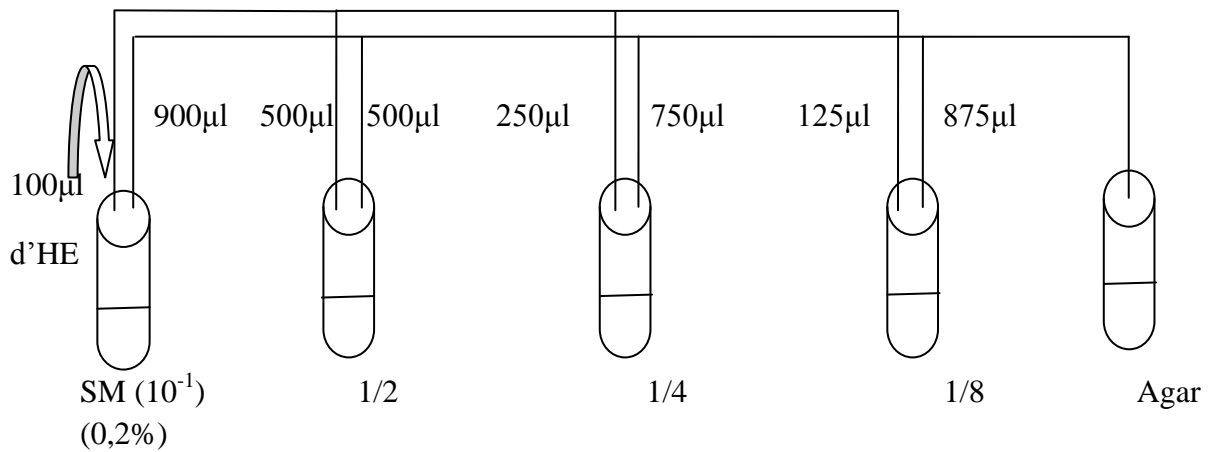
Annexes

Annexes :

Annexe I : Préparation des dilutions de l'huile essentielle (HE) de *Thymus algeriensis*



Annexe II: Préparation des dilutions de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum*

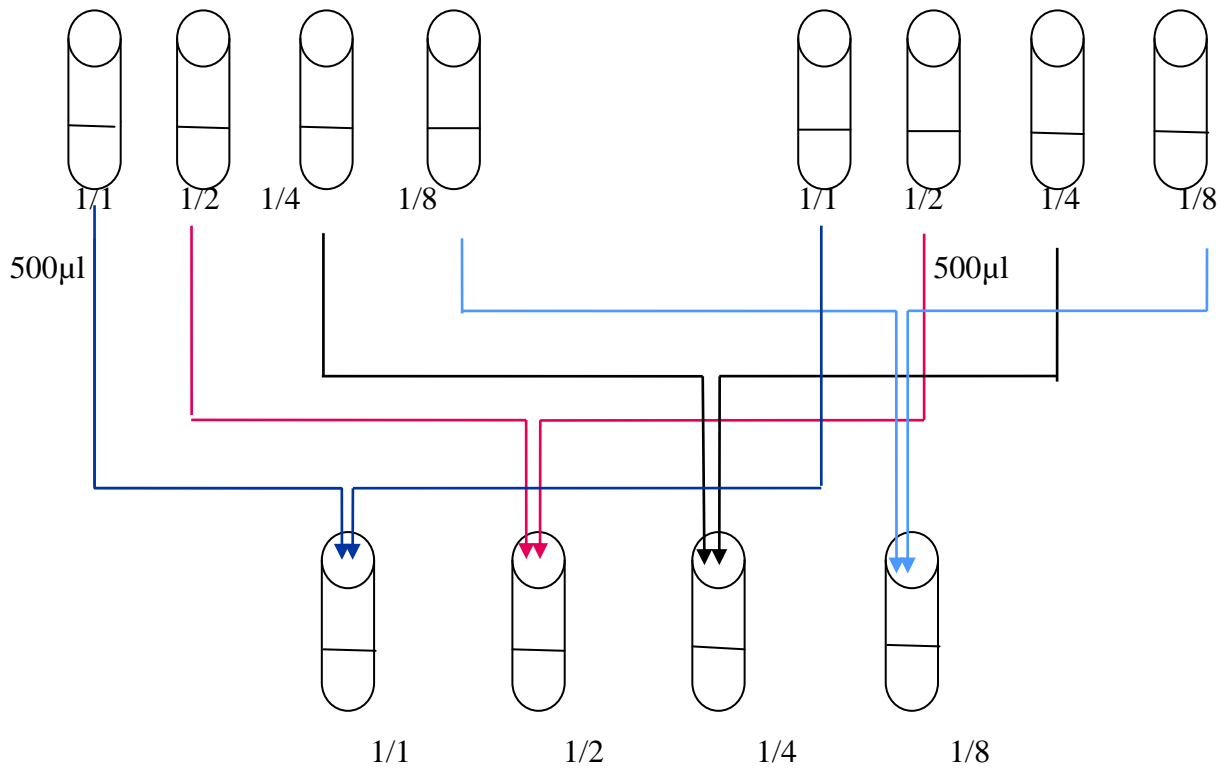


Annexes

Annexe III : préparation du mélange des deux huiles essentielles.

Dilutions de l'HE du thym

Dilutions de l'HE d'origan



Dilutions du mélange des deux huiles essentielles.

Annexe IV : Les milieux de cultures

- A- Bouillon nutritif (BN) : pH=7 ,2

Peptone	10g
Extrait de viande	5g
Chlorure de sodium	5g

- B-Milieu Chapman (gélose mannitol) : pH=7 ,4

Extrait de viande	1g
Peptone	10g
Chlorure de sodium	5g
Mannitol	10g
Rouge de phénol	25g
Gélose	15g

- C-VRBL (gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre : pH=7 ,4

Annexes

Extrait de levure	5g
Sels biliaires	1,5g
Lactose	10g
Chlorure de sodium	5g
Rouge neutre	30mg
Cristal violet	2mg
Gélose	12g

- **D-Muller-Hinton** : pH=7,4

Extrait de viande	2g
Hydrolysate acide de caséine	17,5g
Amidon	1,5g
Gélose	10g

- **E-Agar à 0,2%** :

Agar agar	0,2g
Eau distillé	100ml

- **F-Eau physiologique** :

Na Cl	9g
Eau distillé	100ml

Résumé *Thymus algeriensis* et *Origanum glandulosum* sont deux plantes médicinales, connues et utilisées depuis les temps reculés pour leurs vertus thérapeutiques. Les parties aériennes de ces plantes possèdent des huiles essentielles. Ces dernières sont extraites par hydrodistillation, pour déterminer l'effet antibactérien du mélange de ces deux essences une étude sur une bactérie à Gram positif et une autre à Gram négatif est réalisée. Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* a une plus forte activité que l'huile essentielle de *Origanum glandulosum*, en ce qui concerne l'association de ces deux huiles l'effet enregistré sur *Escherichia coli* et un effet antagoniste par contre l'effet sur *Staphylococcus aureus* est additif.

Mots clés : *Thymus algeriensis* ; *Origanum glandulosum* ; huiles essentielles ; *Escherichia coli* ; *Staphylococcus aureus* ; effet antimicrobien.

Abstract: *Thymus algeriensis* and *Origanum glandulosum* are two medicinal plants, known and used for long time for their therapeutic properties. The air parts have essential oils. These oils are extracted by hydrodistillation, to determine the antimicrobial effect of the mixture of the essences a study about a bacteria negative Gram and another positive Gram is realized. The recorded results show that essential oil of *Thymus algeriensis* has a highest effect than *Origanum glandulosum* essential oil, as regards the association of these essences the effect against *Escherichia coli* is antagoniste in the other hand, the effect against *Staphylococcus aureus* is an additif effect.

Key words: *Thymus algeriensis*; *Origanum glandulosum* ; essential oils ; *Escherichia coli* ; *Staphylococcus aureus* ; antimicrobial effect.

ملخص: الزعيرة (تيموس الجيريانيسيس) و الزعتر (أوريغانوم غلندلوزوم) عشبتين طبيبتين معروفتين منذ القدم، الأجزاء الخضراء لهاتين النباتتين تحتوي على زيوت عطرية وهذه الأخيرة مستخرجة بواسطة عملية التقطير. هذه الدراسة أنجزت لتحديد مفعولها ضد بكتيريا *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*. النتائج المسجلة أظهرت أن زيت الزعيرة له مفعول أقوى من مفعول زيت الزعتر. فيما يخص المزيج فالتأثير الملاحظ على *Escherichia coli* هو تأثير سلبي أما على *Staphylococcus aureus* فهو تأثير إضافي.

الكلمات المفتاحية: زيوت عطرية، تيموس الجيريانيسيس، أوريغانوم غلندلوزوم، مفعول ضد البكتيريا.