

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

Université Abderrahmane Mira-Bejaia
Faculté Des Sciences de la Natures et De la Vie
Département De Microbiologie

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention de diplôme d'ingénieur d'état en Génie
biologique

Thème

**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*.**

Présenté par :

M^{elle} : IAZZOUGVEN Adada

M^{elle} : OUATAH Nassima

Membre de jury :

Présidente : M^{me} BEDJOU.F

Promotrice : M^{me} OUKIL.N

Examineur : M^r CHIKHOUNE.A

2011/2012



Re

rciements

Nous remercions Dieu le miséricordieux, le généreux de nous avoir aidés dans les moments difficiles et entouré de sa bienveillance.

Nos remerciements les plus sincères vont à M^{me}. OUKIL N. notre promotrices pour nous avoir encadrées, assisté et pour tous les efforts qu'elle a consentis pour l'accomplissement de ce travail.

Nos remerciements vont aussi à M^{me}. BEDJOU F. pour avoir accepté de présider le Jury. Nous tenons également à exprimer nos sincères remerciements à M^r. CHIKHOUNE A. pour son aide et pour son consentement à examiner ce modeste travail.

Nous remercions tout le personnel du laboratoire de microbiologie de l'Université de Bejaia et à tous qui ont contribués de près et de loin à la réalisation de ce travail.

Nous remercions également tous les enseignants qui nous ont accompagnés durant notre cycle universitaire.

MERCI A TOUS



DEDICACES

*Avec l'aide de Dieu, le tout puissant, ce travail est achevé. Je dédie ce
modeste travail :*

*A mes très chers parents qui ont beaucoup rêvé de mon avenir et qui m'ont
donné tout pour être à la hauteur. Papa M. Maman Dj. je suis fière d'être
votre fille*

A ma très chère grand-mère «Imma Azouzou» que dieu te protège.

A mes très chers frères : Mohand, Zakir et Djamal.

*A mes très chères sœurs et leurs maris : Salima, Nacira, Souhila (Idir,
Chabane, Mourad), Zakia et Nadjet.*

A ma belle sœur Katia et mes nièces Kenza, Imane et Wissam.

A mes neveux Halim, Kayes et Sofiane.

A toute ma grande famille sans exception.

*A vous mes amis(es) : Radia, Kaltouma, Sadika, Nassima, Zineb, Sabrina,
Fadia, Kassia, Mamie, Taous, Kahina, Souad et Salah, Zahia, Hocine...*

A tous qui me sont chers.

A mes copines de chambre B 09 : Karima, Hinda (Je vous aime).

A ma binôme Adada et sa famille.

A ceux qui m'ont soutenu nuit et jour et durant tout mon parcours

*A ceux qui m'ont aidé pendant mes études du primaire jusqu'à l'obtention
de mon diplôme.*

A toute la promotion de génie biologie 2011/2012.

Nassima

DEDICACES

*Avec l'aide de Dieu, le tout puissant, ce travail est achevé. Je dédie ce
modeste travail :*

*A ceux qui m'ont soutenu nuit et jour et durant tout mon parcours, à vous
mes très chers parents,*

*A ceux qui m'ont aidé pendant mes études du primaire jusqu'à l'obtention
de mon diplôme.*

Aucun remerciement ne serait être suffisant :

*A Mon mari qui m'a aidé le long de parcours, à qui j'adresse tous mes
respects.*

« SANS TOI RIEN N'AURAIT ÉTÉ PAREIL »

A Mes très chers grands parents que dieu vous amène une longue vie.

A Ma très chère sœur : Lydia.

A Mes très chers frères : Massinissa et Yougurthen.

*A Ma belle famille sans oublier «Imma Azouzou» que dieu te garde pour
nous.*

A ma tante Fahima et ces deux anges Maroua et Islam.

*A mes oncles : Ali, Aziz, Nadir, Makhoulf et Allaoua ainsi leurs femmes :
Nadia, Baya et son ange Fafa, Soraya et son ange Lia, Nacira et Wardia.*

*A ceux avec qui j'ai partagé les meilleurs moments de ma vie, à vous mes
amis :*

*Fadia (je t'aime très fort), Kassia, Zahia, Nabila, Zakia, Alia, Karima,
Ryma, Elhème, Hamida, Amel et Hinda ...*

A mes copines de chambres E208 : Chabha, Lila, Sassa et Safia.

A ma binôme Nassima et sa famille

A toute la promotion de génie biologie 2011/2012.

Adada

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles

I-1-Historique sur les plantes médicinales.....	2
I-2-Définition des huiles essentielles.....	2
I-3-Répartition et localisation des huiles essentielles dans la plante.....	2
I-4-Rôle des huiles essentielles.....	3
I-5-La composition chimique des huiles essentielles.....	3
I-6-Les facteurs influençant la composition chimique des huiles essentielles.....	5
I-7-Propriétés des huiles essentielles.....	6

Chapitre II : Activités antimicrobiennes des huiles essentielles

II-1-Effet bactéricide et bactériostatique.....	7
II-2-Activités liés à la composition chimique des huiles essentielles.....	7
II-3-Le mode d'action des huiles essentielles	7
II-4-Méthodes de détermination d'activité des huiles essentielles.....	9
II-4-1-Techniques en milieu liquide.....	9
II-4-2-Techniques en milieu solide.....	9
II-5-Détermination de CMI et CMB.....	11
II-6-Toxicité des huiles essentielles.....	11

Chapitre III : Généralités sur le thym et les antibiotiques

III-1-Le thym.....	13
III-1-1-Description et utilisations de thym.....	13
III-1-2-Répartition géographique et classification de thym.....	13
III-1-3-Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i>	14
III-2-Les antibiotiques.....	14
III-2-1-Définition des antibiotiques.....	14
III-2-2-Mécanisme d'action des Béta lactamines.....	15

Partie expérimentale

Chapitre IV : Matériel et méthodes

IV-1-Matériel.....	16
IV-1-1-Matériel végétal.....	16
IV-1-2-Les souches bactériennes.....	16
IV-1-3-Les antibiotiques utilisés	17
IV-1-4-Milieus de culture et solutions.....	17
IV-2-Méthodes.....	17
IV-2-1-Extraction des huiles essentielles.....	17
IV-2-2-Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i> et les deux antibiotiques (ampicilline et céfazoline).....	19

Chapitre V : Résultats et discussion

V-1-Rendement en huiles essentielle.....	21
V-2-Evaluation de l'activité antibactérienne l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i> et des deux antibiotiques (ampicilline et céfazoline).....	21
V-3-Test de l'effet de l'association de l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i> et les deux antibiotiques sur <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	24
Conclusion et perspectives	27

Références bibliographiques

Glossaire

Liste des annexes

Liste des figures :

Figure 1 : <i>Bacillus subtilis</i> observé sous microscope électronique à balayage	08
Figure 2 : Illustration de la méthode d'aromatogramme sur boîte de Pétri.....	10
Figure 3 : Illustration de la méthode de micro atmosphère.....	11
Figure 4 : Photo de <i>Thymus algeriensis</i>	16
Figure 5 : Photo du dispositif d'extraction.....	18
Figure 6 : Huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i>	18
Figure 7 : Les zones d'inhibition de la croissance d' <i>E. coli</i> traitée par les différentes concentrations d'HE de <i>Thymus algeriensis</i>	22
Figure 8 : Les zones d'inhibition de la croissance de <i>S. aureus</i> traitée par les différentes concentrations d'HE de <i>Thymus algeriensis</i>	23
Figure 9 : Les zones d'inhibition de la croissance d' <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i> traitées par les différentes concentrations d'ampicilline.....	23
Figure 10 : Les zones d'inhibition de la croissance d' <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i> traitées par les différentes concentrations de céfazoline.....	24
Figure 11 : Les zones d'inhibition de la croissance d' <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i> traitées par le mélange (HE, amp et céf).....	25

Liste des tableaux :

Tableau I : quelques composés des huiles essentielles et leurs indications thérapeutiques.....	4
Tableau II : Classification botanique du <i>Thymus algeriensis</i>	14
Tableau III : Préparation des différentes dilutions d'huile essentielle et d'antibiotiques.....	20
Tableau IV : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i> et de deux antibiotiques (amp et céf).....	22
Tableau V : Activité antibactérienne de l'association de l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i> et de deux antibiotiques (amp et céf) sur <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i>	25

Introduction

Introduction

Les progrès de la médecine et de la science ont permis l'élaboration de remèdes pour le traitement de la plupart des maladies actuellement connues. Cependant, ces molécules de synthèse ne sont pas toujours dépourvues d'effets secondaires (Moggi et al., 1982). Par ailleurs, l'utilisation excessive des antibiotiques à large spectre semble également avoir favorisé un nouveau problème de résistance des bactéries à ces derniers, pour cette raison la recherche actuelle s'oriente vers l'extraction de molécules bioactives utilisées traditionnellement par les différentes populations (Moggi et al., 1982).

En effet, différentes plantes aromatiques sont caractérisées par la synthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle des huiles essentielles (HES) ou essences connues depuis longtemps pour leurs activités thérapeutiques (Rhayour, 2002). Ainsi les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêts comme une source potentielle de molécules bioactives (Mebarki, 2010).

Les HES sont utilisées en raison de leurs propriétés inhibitrices sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, des champignons, aussi bien que les virus à ADN et à ARN (Rhayour, 2002). L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques).

Ainsi nous nous sommes proposés dans ce travail d'étudier l'effet d'association de deux antibiotiques (ampicilline et céfazoline) et l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* qui est l'une des plantes aromatiques les plus connues sur le littoral méditerranéen, pour ses vertus médicinales, sur les deux souches bactériennes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*).

Notre travail est scindé en deux parties : une partie bibliographique, dans laquelle sont abordées des généralités sur les huiles essentielles et leurs activités antimicrobienne, des généralités sur le thym et les antibiotiques ; et une partie expérimentale dans laquelle on a adopté la méthodologie suivante :

- Extraction des huiles essentielles.
- Evaluation de l'activité antibactérienne sur milieu solide.
- Etude de l'association d'huile essentielle et les antibiotiques.

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Généralités sur les huiles essentielles

I-1-Définition des huiles essentielles

Les HES sont des complexes naturels de molécules volatiles et odorantes, synthétisées par les cellules sécrétrices des plantes aromatiques. Celles-ci les conservent dans des poches au niveau de certains organes (**Rhayour, 2002**).

Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'HE est le plus souvent séparé de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (**Bruneton, 1999**).

I-2-Répartition et localisation des huiles essentielles dans la plante

Les HES n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs (exemple : la famille des labiées odorantes renfermant presque toute une huile essentielle). Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : les fleurs, les feuilles et moins souvent les écorces, les bois, les racines, les rhizomes, les fruits et les graines (**Bruneton, 1999**).

Les HES sont stockées dans des structures cellulaires spécialisées (cellules à huile essentielle, cellules à poils sécréteurs, canaux sécréteurs), elles sont présentes en très petites quantités : 1 à 2% de la matière sèche au maximum (**Bruneton, 1999**).

I-3-Rôle des huiles essentielles

Les utilisations des substances odorantes des plantes sont connues depuis l'antiquité. Elles ont un rôle défensif : protection du bois contre les insectes et les champignons, action répulsive contre les animaux herbivores et les prédateurs (**Mebarki, 2010**).

Les spécialistes considèrent les huiles essentielles comme des sources de signaux chimiques permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement (rôle écologique) : attraction des insectes pollinisateurs, inhibition de la germination des graines (**Mebarki, 2010**).

Rôle physiologique

Les HES ont des propriétés antibactériennes, antifongiques, et anti cancéreuse. Certaines de ces huiles ont des propriétés pharmacologiques et d'autres sont utilisées en aromathérapie (Rasooli et Mirmostafa, 2003).

I-4-La composition chimique des huiles essentielles

L'étude de la composition chimique des HES révèle qu'il s'agit de mélanges complexes et variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines distinctes : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phenylpropane (Teisseire, 1991).

➤ Les terpénoïdes

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. Dans le cas des HES, seuls les terpènes les plus volatils, c'est à dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas élevée sont retrouvés. Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale $(C_5H_8)_n$. Suivant les valeurs de n, on a les hémiterpènes (n=1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3), les triterpènes (n=6), les tétraterpènes (n=8) et les polyterpènes. Les constituants des HES sont très variés. On y trouve en plus de terpènes, des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et autres (Teisseire, 1991).

➤ Les composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les HES. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des HES. Nous pouvons citer en exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou du girofle (Teisseire, 1991).

➤ Les composés d'origines diverses

Compte tenu de leurs mode d'extraction, les HES peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydro distillation. Ces produits peuvent être azotés ou soufrés (Teisseire, 1991).

Le tableau suivant résume quelques composés des huiles essentielles et leurs indications thérapeutiques.

Tableau I : quelques composés des huiles essentielles et leurs indications thérapeutiques.

Les composés majoritaires d'HE	La plante productrice	Quelques indications thérapeutiques	Références
Thymol, carvacrol, linalol	Thym (<i>Thymus vulgaris</i>)	-Expectorante et vermifuge. -Lutte contre le vieillissement.	(Chevalier, 1991)
Thuyone, azulène, terpène	Absinthe (<i>Artemisia absinthium</i>)	-Stimule les sécrétions biliaires. -Vermifuge et anti-inflammatoire	(Chevalier, 1991)
Vérbenone, camphre, cinéol	Romarin (<i>Rosmarinus officinallis</i>)	-Analgésique et cicatrisant. -Bactéricides. -Hepatodrenante.	(Zhiri et Baudoux, 2005)
Linalol, eugenol, cineol (50%)	Laurier (<i>Laurus nobilis</i>)	-Soutient et tonifie le système nerveux instable. -Augmente le tonus général et redonne confiance en soi.	(Lubinic, 2003)
L-carvone, α pinène, dipentène	Aneth (<i>Anethum graveolens</i>)	-Fortifie le système nerveux. -Rééquilibre et apporte le calme	(Lubinic, 2003)
Cinéol ou eucalyptol (70-80%)	Eucalyptus (<i>Eucalyptus globulus</i>)	-En cas d'incapacité à se concentrer ou le cas d'affaiblissement physique ou psychique. -Aide à remettre de l'ordre dans les idées.	(Lubinic, 2003)

Quinine	Quinquina (<i>Cinchona sp</i>)	-Traitement de malaria. -Antipaludéen et antispasmodique.	(Mohammedi, 2006)
Pulégone (82%)	Menthe pouliot (<i>Mentha pulegium</i>)	-Pouvoir antifongique contre <i>Penicillium</i> et <i>Mucor</i> .	(Belghazi et al., 2002)
Nerolidol	<i>Amazon viola surenamensis</i>	-Anti malaria par inhibition de biosynthèse de glycoprotéine d'agent infectieux.	(Lopes et al., 1999)
EugénoI, acétate d'eugényle	Girofle (Clou de girofle) (<i>Eugenia caryophyllus</i>)	-Hypotension. -Infection urinaires : diarrhée, cystite. -Arthrite, rhumatisme.	(Zhiri et Baudoux, 2005)
Limonène	Citron (<i>Citrus limonum</i>)	-Fatigue digestive, hépatique et pancréatique. -Obésité, drainage lymphatique. -Perte de concentration. -Convalescence. -Fatigue cérébrale.	(Zhiri et Baudoux, 2005)

I-5-Les facteurs influençant la composition chimique des huiles essentielles

❖ Les facteurs intrinsèques

Les facteurs intrinsèques sont liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné et au degré de maturité du végétales concerné (moment de la récolte) (Colette, 2008).

❖ Les facteurs extrinsèques

Les facteurs extrinsèques sont liés à la nature de sol, la température, l'humidité (Couderc, 2001). Ils sont aussi liés aux méthodes d'extractions utilisées (Huang, 1987), à la durée de stockage de la matière première et les HES (Colette, 2008).

I-6-Propriétés des huiles essentielles

❖ Propriétés physicochimiques

Les huiles essentielles sont :

- Liquides à température ambiante, incolores ou jaune pâle.
- Non ou peu miscible à l'eau.
- Solubles dans les solvants organiques et alcools.
- sont volatiles, odorantes et inflammables.
- Leur densité est le plus souvent inférieure à 1 (**Rhayour, 2002**).
- Entraînables par la vapeur d'eau (**Bruneton, 1987**).
- Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation (**Jacques et Paltz, 1997**).

❖ Propriétés pharmacologiques

- Un pouvoir antiseptique.
- Expectorantes et diurétiques.
- Spasmodiques et sédatives (**Vokou et al., 2002**).
- Pouvoir irritant (**Brunton, 1993**).
- Dépurative ou Cicatrisante (Lavande) (**Caillard, 2003**).
- Activité analgésique (Origan, Thym) (**Schwammle et al., 2001**).

Chapitre II

**Activités antimicrobiennes des Huiles
essentielles**

II-1-Effet bactéricide et bactériostatique

Les vertus antimicrobiennes des HES sont connues et utilisés depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles et des applications sans bases scientifiques précises (Hala, 2000). À la manière des agents chimiques, on distingue deux sortes d'effets des HES sur les microorganismes: une activité létale dite bactéricide et fongicide et une inhibition de la croissance dite bactériostatique (Carson et Riley, 1995).

II-2-Activités liés à la composition chimique des huiles essentielles

L'activité antimicrobienne des HES est principalement liée à leur composition chimique et en particulier à la nature de leurs composés majoritaires.

En effet, il est admis que l'activité antimicrobienne des HES se classe dans l'ordre décroissant suivant la nature de leurs composés majoritaires : Phénol > alcool > aldéhyde > cétone > oxyde > hydrocarbure > ester (Lee et al., 1971 ; Franchomme, 1981).

II-3-Le mode d'action des huiles essentielles

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

Le mode d'action des HES dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leurs propriétés hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions K^+ : ce mécanisme a été observé avec l'huile de l'arbre à thé sur les bactéries Gram⁺ (*S. aureus*) et Gram⁻ (*E. coli*) et levure (*Candida albicans*) *in vitro* (Cox et al., 2000; Carson et al., 2002). Ultée et al., (1999) ont montré que le carvacol provoque un effet inhibiteur chez *Bacillus cereus*, cet effet réside dans une forte diminution de l'ATP intracellulaire, une réduction du potentiel membranaire et du pH intracellulaire et aussi une influence sur le flux de potassium (intra et extracellulaire). Ceci témoigne de l'endommagement de la membrane cytoplasmique.

Les HES peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides (Zani et al., 1991).

Le mode d'action des HES dépend aussi du type de microorganismes: en général, les bactéries Gram⁻ sont plus résistantes que les Gram⁺ à cause de la structure de leurs membranes externes. La membrane extérieure des Gram⁻ est plus riche en lipopolysaccharides (LPS) et en protéines que celle des Gram⁺ qui la rend plus hydrophile, ce qui

empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer. Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux LPS membranaires grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (**Dorman et Deans, 2000**).

La figure 1 représente des électronographies de *B. subtilis* traité par les HES.

L'observation au microscope électronique à balayage, les cellules de *B. subtilis* traitées par les HES ou par leurs constituants apparaissent enflées et déformées (photos B et C).

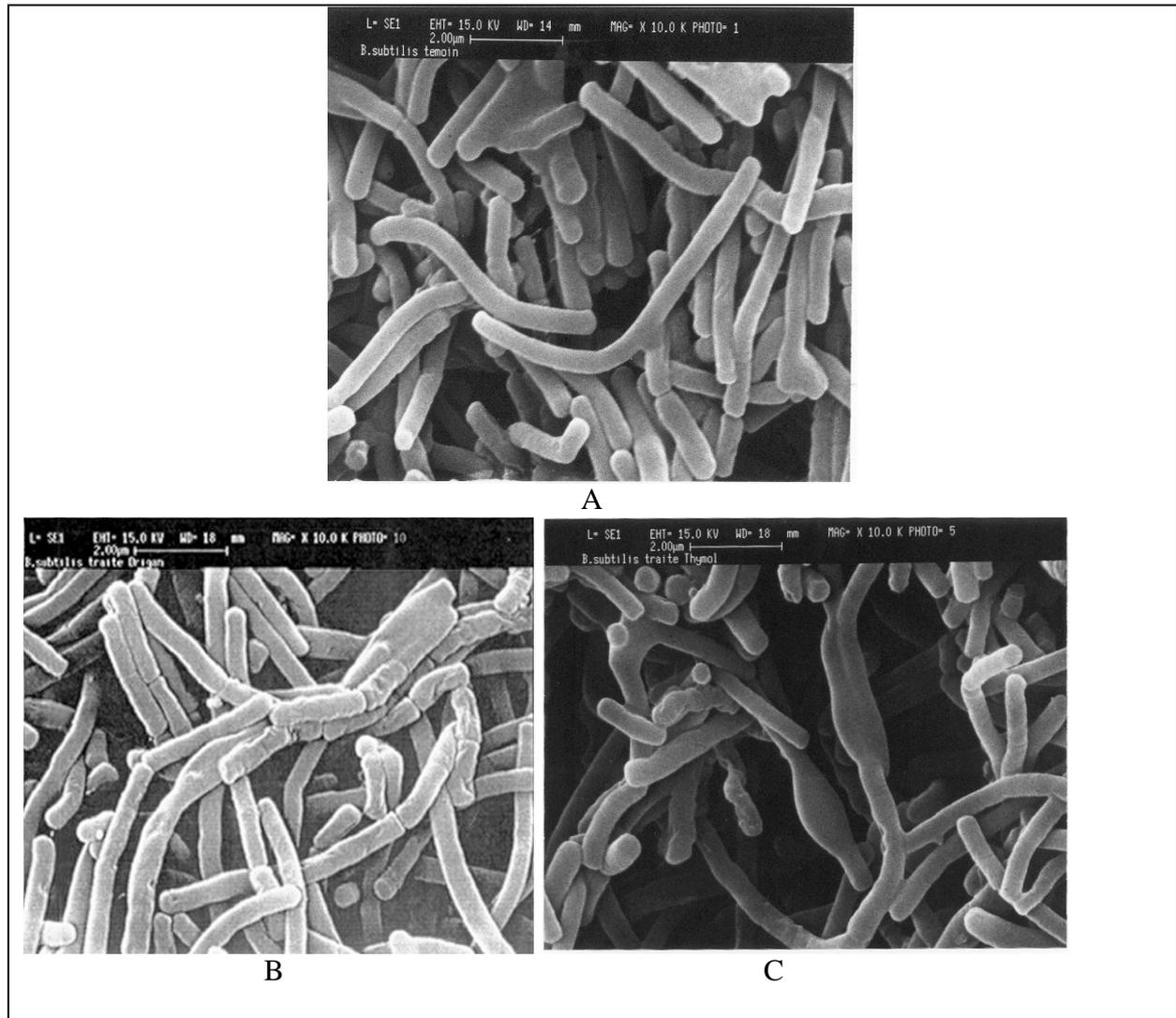


Figure 1 : *Bacillus subtilis* observé sous microscope électronique à balayage.

Photo A : *B. subtilis* non traitée

Photo B : *B. subtilis* traitée par l'HE d'origan

Photo C : *B. subtilis* traitée par le thymol (**Rhayour, 2002**)

II-4-Méthodes de détermination d'activité des huiles essentielles

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antimicrobien des HES à une grande influence sur les résultats. Des difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants des HES dans l'eau, de leurs volatilités et de la nécessité de les tester à faibles concentrations. A l'heure actuelle, l'activité antimicrobienne *in vitro* 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 de l'HE 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 préalablement ensemencé. 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 diffusion en puits ou en cylindre

La méthode consistait à découper un trou circulaire vertical dans la gélose et à y verser une solution d'HE de concentration connue. L'HE diffuse radialement créant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne (**Dorman et Deans, 2000**).

➤ Aromatogramme

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques.

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés d'une quantité variable de l'HE sélectionnée. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier.

Après incubation, l'absence de la croissance bactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque (zone d'inhibition) dont le diamètre est mesuré par cm ou mm.

(Fauchère et Avril, 2002).

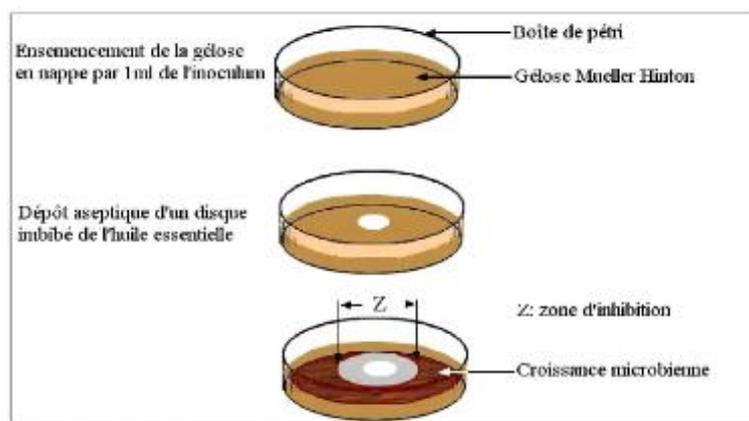


Figure 2 : Illustration de la méthode d'aromatogramme sur boîte de Pétri (Zaika, 1988)

➤ Micro atmosphères

Dans cette technique, le disque imprégné est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. Après incubation, l'absence de la croissance bactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque (zone d'inhibition) dont le diamètre est mesuré par cm ou mm.

(Degryse et al., 2008).

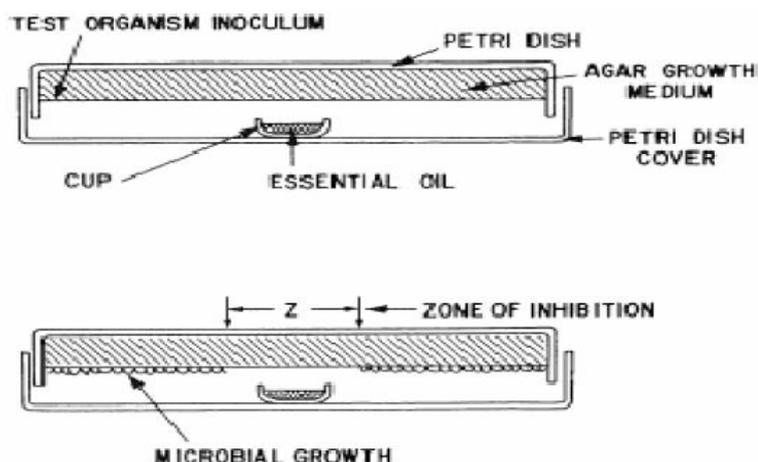


Figure 3 : Illustration de la méthode de micro atmosphère (zaika, 1988).

II-5-Détermination de CMI et CMB

CMI : La concentration minimale d'agent antimicrobien qui inhibe la croissance bactérienne, le microorganisme reste viable.

CMB : La concentration minimale d'agent antimicrobien nécessaire pour détruire l'inoculum bactérien, le microorganisme ne reste plus viable (Wiley et al., 2010).

Cette technique de détermination de 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 HES qui ont une très faible solubilité dans les milieux de culture aqueux (Rhayour, 2002).

II-6-Toxicité des huiles essentielles

Les HES ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels: "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme"

Les HES sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leurs pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) (Smith et al., 2000) ou phototoxique (huiles de *citrus* contenant des furocoumarines) (Naganuma et al., 1985). D'autres HES ont un effet neurotoxique, les cétones comme l' α -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux (Franchomme et Péroël, 1990). Il existe aussi quelques HES dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancer, c'est le cas par exemple de dérivés d'allylbenzènes

ou de propénylbenzènes comme l'estragole (*Artemisia dracunculus*) (**Homburger et Boger, 1968**). Les HES qui sont utilisées en parfumerie peuvent se comporter en irritant des muqueuses respiratoires et favoriser le déclenchement des crises d'asthmes pour les asthmatiques (**Elberling et Skov, 2007**).

Chapitre III
Généralités sur le thym et les
antibiotiques

III-1-Le thym

III-1-1-Description et utilisations du thym

Le thym provient du grec *thumon* qui signifie « offrande (que l'on brûle) » et « parfum », à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (**Rey, 1992**).

Le thym est un sous-arbrisseau à tiges ligneuses, érigées ou rampantes, appartenant à la famille des labiées (**Quézel et Santa, 1963**). Ses tiges carrées, dressées sont courtes et velues, de couleur blanchâtre. Ses petites feuilles vertes 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 a lieu de juin à septembre. Ses jolies fleurs sont de couleur violacée à rose foncé et sont très appréciées des abeilles (**Ursula et al., 2008**).

Le *Thymus algeriensis* est une espèce à feuilles florales peu différentes des feuilles caulinaires, peu dilatées. Fleurs de 5 à 6 mm. Il pousse dans toutes les régions montagneuses. La longueur peut dépasser les 10 cm (**Quezel et Santa, 1963**).

Le thym a pris une très grande importance dans la médecine, pour lutter contre les affections des voies respiratoires et fortifier le corps. Il a aussi des propriétés bénéfiques contre les troubles de l'estomac et de l'intestin, contre les douleurs occasionnées par la goutte et les rhumatismes ainsi que contre la toux, les inflammations de la gorge, les infections (**Ursula et al., 2008**).

Dans les soins cosmétiques, le thym est utilisé frais ou séché pour les bains de vapeur faciaux et pour les nettoyages de peau (**Ursula et al., 2008**).

Cette plante aromatique très odorante, utilisée dans la cuisine Algérienne comme aromate et condiment (**Djerrroumi et Nacef, 2004**).

III-1-2-Répartition géographique et classification du thym

Le thym est une espèce endémique de l'Afrique du Nord (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye) (**Benkiniouar et al., 2007**). Elle pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et l'Arabie de sud-ouest en passant par la péninsule de Sinaï en Egypte (**Mebarki, 2010**). Elle est cultivée aussi dans le nord de la France, l'Europe centrale, Afrique orientale et l'Amérique du nord...etc. (**Wichtl et Anton, 2003**).

En Algérie, le thym est représenté par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination. Citons ainsi quelques espèces connues en Algérie : *T.numidicus*, *T.capitatus*, *T.algériensis*, *T.hirtus*, *T.fontanésii* (Quezel et Santa, 1963).

Le tableau suivant représente la classification botanique de *Thymus algeriensis*.

Tableau II : Classification botanique du *Thymus algeriensis*. (Quezel et Santa, 1963).

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus algeriensis</i>

III-1-3-Composition chimique de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*

Les analyses chromatographiques des huiles essentielles ont permis d'identifier 48 composés qui représentent (98,87 %) pour *Thymus algeriensis* du Maroc, dont deux constituants chimiques dominant: le camphre (27,7 %) et l' α -pinène (20,5 %). D'autres composés sont également présents, mais à des teneurs moins importantes : α -thujène (9,64 %), β -pinène (8,02 %), 1,8-cinéole (7,69 %), limonène (4,85 %), sabinène (3,84 %) et bornéol (2,53 %) (Amarti et al., 2010).

En outre, *Thymus algeriensis* de l'Algérie contient comme principaux constituants le linalol (47,3 %), le thymol (29,2 %), le p -cymène (6,8 %) et carvarol (1,7%) (Dob et al., 2006).

III-2-Les antibiotiques

III-2-1-Définition des antibiotiques

Les antibiotiques sont des composés chimiques, élaborés par les micro-organismes ou produit par synthèse et dont l'activité spécifique se manifeste à dose faible sur les micro-organismes (Larpent et Sanglier, 1989). Leur classification peut se faire selon l'origine, mode d'action, spectre d'activité et la nature chimique (Yala et al., 2001).

La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (β lactamines, aminosides, tétracyclines.....etc) (**Yala et al., 2001**).

Les différentes familles des antibiotiques, leurs modes d'action, quelques indications ainsi que leurs cibles sont représentées dans l'annexe IV.

III-2-2-Mécanisme d'action des Béta lactamines

Les antibiotiques agissent sur différentes cibles de la cellule bactérienne. Ils ont une action sur la structure ou la fonction d'une bactérie. Cette action se déroule à l'échelle moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie.

Les bêta lactamines dont l'ampicilline et céfazoline agissent sur la paroi bactérienne en inhibant la synthèse du peptidoglycane (muréine) constituant la paroi des bactéries des Gram⁺ et Gram⁻. Elles bloquent la réaction de transpeptidation qui permet la transformation des ponts peptidiques donnant à la paroi sa structure réticulée. Leurs cibles sont des protéines liant la pénicilline (PLP) appelé en anglais PBP (penicillin binding proteins) situé dans l'espace periplasmique dont l'activité enzymatique intervient dans la réaction de transpeptidation. Cette fixation entraîne, si les bactéries sont en phase de multiplication, l'arrêt de la croissance et des modifications morphologique qui sont suivies de la lyse des cellules par activation d'enzymes auto lytiques (**Larpen et Sanglier, 1989**).

Partie expérimentale

Chapitre IV

Matériel et méthodes

Notre étude concerne l'extraction des HES à partir de *Thymus algeriensis* (Bois et Reut) par hydrodistillation.

L'essence extraite est testée vis-à-vis d'une bactérie à Gram négatif et à Gram positif ainsi que l'effet d'antibiotique associée à cette huile, afin de déterminer un antagonisme, un effet synergique additif ou synergique potentialisé. Les antibiotiques retenus dans cette étude appartiennent à la famille des bêta lactamines qui agissent essentiellement sur la paroi bactérienne.

IV-1-Matériel

IV-1-1-Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est une espèce de plante aromatique de la famille des Labiées qui est *Thymus algeriensis* appelé communément zaaitra.



Figure 4: Photo de *Thymus algeriensis*

Cette plante a été récoltée au niveau de la région de Toudja (achetée chez un herboriste). Wilaya de Bejaia, pendant le mois de Mars, les parties utilisées sont les feuilles et les sommités fleuries. Leur identification est effectuée au laboratoire d'écologie de l'université de Bejaia.

IV-1-2-Les souches bactériennes

Pour étudier l'effet antibactérien de l'huile essentielle extraite à partir de *Thymus algeriensis*, deux souches bactériennes, *Escherichia coli* (ATCC : 25 922) et *Staphylococcus aureus* (ATCC : 25 923) sont utilisées. Elles nous ont été fournies par le Laboratoire de Microbiologie Appliqué de l'université de Bejaia.

IV-1-3-Les antibiotiques utilisés

Les antibiotiques que nous avons utilisés appartenant à la famille des béta lactamines qui sont : L'ampicilline (amp) et céfazoline (céf) qui ont un effet bactéricide en agissant sur la paroi bactérienne.

IV-1-4-Milieus de culture et solutions

- ✓ Le bouillon nutritif (BN).
- ✓ Les milieux de culture Chapman et VRBL.
- ✓ Le milieu de culture Muller Hinton.
- ✓ Eau de source et l'eau distillée.
- ✓ Eau physiologique.
- ✓ Le sulfate de sodium Anhydride (Na_2SO_4).

IV-2- Méthodes

IV-2-1- Extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par la méthode d'hydrodistillation dans un appareil de type **Clevenger** modifié: 50g de la plante sont introduite dans un ballon de 500ml imprégnés d'eau de source, l'ensemble est apporté à ébullition pendant 2 à 3 heures. Les vapeurs chargées d'HE ; en traversant un réfrigérant se condensent et chutent dans un flacon puis sont transférés dans une ampoule à décarter.

Après avoir laissé reposer le contenu quelque temps on distingue deux phases, l'huile essentielle moins dense est au dessus de l'eau aromatique, alors il est possible d'éliminer presque la quasi-totalité de l'eau. Il nous reste que l'huile essentielle dans l'ampoule à décarter et une petite quantité d'eau qu'on peut éliminer par l'ajout de sulfate de sodium anhydride.

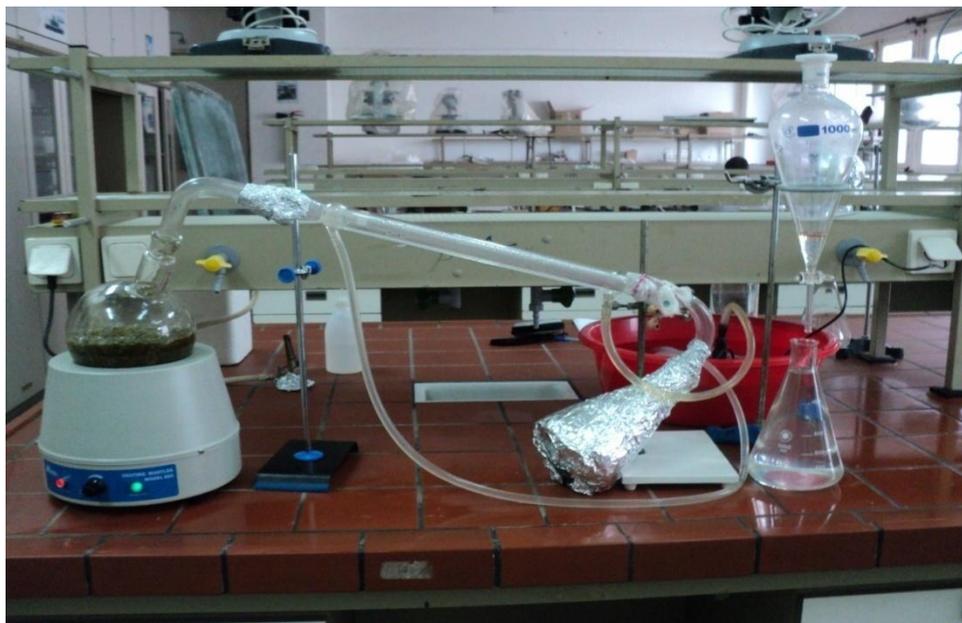


Figure 5 : Photo du dispositif d'extraction

Après récupération de l'huile essentielle, on calcule le rendement qui est le rapport de poids de l'huile essentielle extraite sur le poids de la matière végétale. Ce rapport permet d'estimer la production en HE des plantes (Williams et Luscenzi, 1994) :

$$R\% = P_A / P_B \times 100$$

R% = Rendement en l'huile essentielle

P_A = Poids d'huile essentielle

P_B = poids de plante 50 g



Figure 6: Huile essentielle de *Thymus algeriensis*

Une fois HE récupérée, elle est conservée à 4°C dans des flacons opaques à l'abri de la lumière et l'humidité pour une utilisation ultérieure.

IV-2-2-Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* et les deux antibiotiques (ampicilline et céfazoline)

Dans le but de tester l'effet antibactérien de l'huile essentielle, d'ampicilline et de céfazoline ainsi que leurs mélanges sur les deux bactéries Gram⁺ (*Staphylococcus aureus*) et Gram- (*Escherichia coli*) on a suivi le protocole si dessous (**Anonyme I**).

➤ Préparation de l'inoculum

Pour avoir l'inoculum de 10⁷ UFC/ml, trois à quatre colonies d'une culture jeune (18 à 24h) d'*E. coli* sur milieu VRBL (annexe III-C) et dix à onze colonies pour *S. aureus* sur milieu Chapman (annexe III-B) sont prises et mélangées dans 9 ml d'eau physiologique (annexe III-F) stérile et homogénéisée par vortex. A l'aide d'un spectrophotomètre on mesure l'absorbance à la longueur d'onde de 448nm pour *E. coli* et à 525nm pour *S. aureus* (**Anonyme I**).

➤ Préparation des disques

Les disques sont obtenus à partir de papier Wattman n°1 avec un diamètre de 6 mm, ces disques sont mis dans une boîte en verre recouverte du papier aluminium. Ensuite ils sont stérilisés au four pasteur à 180°C pendant 30min (**Anonyme I**).

➤ Préparation des différentes dilutions

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 % (annexe III-E). Elle permet d'obtenir, dans le milieu, une répartition homogène des huiles essentielles et d'augmenter au maximum le contact germe – huile essentielle.

Des dilutions d'HE et d'ATB sont préparées à 1/2, d' 1/4 et d'1/8 dans la solution d'agar à partir de la solution mère à 10⁻¹ (1/1v/v) (annexe I) pour l'HE et dans l'eau physiologique pour les ATB (annexe II).

3ml d'huile essentielle utilisée pèse 2,87×10³mg donc les dilutions obtenues et leurs concentrations sont présentées dans le tableau suivant.

Tableau III: Préparation des différentes dilutions d'huile essentielle et d'antibiotiques

Les dilutions	1/1	1/2	1/4	1/8
Concentration en HE de <i>Thymus algeriensis</i> ($\times 10^3$ mg/ml)	0,095	0,047	0,023	0,011
Concentration en ATB (amp et céf) (mg/ml)	1	0,75	0,5	0,25

Le mélange d'huile essentielle, ampicilline et céfazoline est obtenu par l'association de chaque concentration à celle qui lui correspond.

➤ Aromatogramme

Afin de tester l'activité antibactérienne, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur milieu solide (méthode des disques), en utilisant des disques imbibés, d'HE, céfazoline et d'ampicilline et d'autre sont imbibés du mélange (HE, amp et céf) (**Anonyme I**).

- ❖ Une suspension bactérienne de 10^7 UFC/ml d'*E. coli* et *S. aureus* estensemencée sur la gélose Mueller-Hinton (annexe III-D) par la méthode d'écouvillonnage qui consiste à :
 - Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
 - l'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
 - frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche de haut en bas en stries serrées.
 - répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- ❖ Les boîtes sont ensuite laissées sécher à l'étuve pendant 20 min.
- ❖ Les disques préparés préalablement sont déposés aseptiquement à la surface de la gélose sèche.
- ❖ Ensuite, les disques sont imbibés par 10 μ l d'HE, céf, amp et un mélange d'HE et ATB.
- ❖ Les boîtes sont incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24h.
- ❖ La lecture est effectuée par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions.

Chapitre V

Résultats et discussion

V-1-Rendement en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle, extraite de *Thymus algeriensis* a donné une valeur de **1,04%** qui est plus élevé par rapport à celle obtenue par **Amarti et al., (2010)** à partir de la partie aérienne de *Thymus algeriensis* du Maroc qui est de 0,3 %. Ce dernier taux est légèrement faible par rapport à celui obtenu par **Dob et al., (2006)** qui est de 1,13 %.

Le résultat obtenu s'est avéré plus faible que celui obtenu par **Haddouchi et al., (2009)** à partir des feuilles de *Thymus fontanesii* de la région de Mostaganem qui est de 2% et moins faible par rapport à celui obtenu par **Amarti et al., (2010)** qui est de 1,2% à partir de la partie aérienne du *Thymus ciliatus* du Maroc, et en **(2011)** à partir de la partie aérienne de *Thymus zygis* qui est de 1,1%.

Ces différences de rendement en huile essentielle peuvent dépendre de nombreux facteurs (stade de croissance, conditions pédoclimatiques, technique d'extraction et la région de la récolte...etc.) (**Sefidkon et al., 2001**).

V-2-Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* et de deux antibiotiques (ampicilline et céfazoline)

Cette étude vise à évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* et de deux antibiotiques (amp et céf) puis de l'association de l'HE et ATB on utilisant la méthode des disques.

L'utilisation des témoins a favorisé une comparaison juste et fiable de l'effet des HES et les deux antibiotiques contre ces bactéries.

Les diamètres des zones d'inhibitions des bactéries testées sont mesurés et résumés dans le tableau IV.

Tableau IV : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* et de deux antibiotiques (amp et céf) sur *E. coli* et *S. aureus*.

		Concentration en HE ×10 ³ (mg/ml)				Concentration en amp (mg/ml)				Concentration en céf (mg/ml)			
		0,095	0,047	0,023	0,011	1	0,75	0,5	0,25	1	0,75	0,5	0,25
D (mm)	<i>E. coli</i>	++++ (10)	+++ (08)	-	-	-	-	-	-	++++ (22)	++++ (20)	++++ (19)	++++ (18)
	<i>S. aureus</i>	++++ (12)	++++ (10)	+++ (08)	-	++++ (32)	++++ (32)	++++ (30)	++++ (26)	++++ (29)	++++ (27)	++++ (26)	++++ (25)

D : Diamètre des zones d'inhibitions.

++++ : Activité très forte

- : pas de zone d'inhibition.

+++ : Activité forte

On a interprété nos résultats selon **Redriguez Vaquero et al, 2007 :**

Selon ces résultats, on note que l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* a exercé une forte activité antibactérienne sur *S. aureus* bien que sur *E. coli*. La concentration de 0,047 ×10³ mg/ml qui correspond à la dilution 1/2 v/v était suffisante pour inhiber la croissance d'*E. coli* alors que *S. aureus* était plus sensible avec une concentration d'inhibition de 0,023 ×10³mg/ml qui correspond à la dilution de 1/4 v/v. Ces résultats sont en accord à celle de **Haddouchi et al., (2009)** qui ont montré que la plupart des HES sont très actives sur les staphylocoques.

En effet, l'inhibition de la croissance des deux souches testées diminue relativement avec l'abaissement de la concentration. Cependant, la concentration de 0,011×10³ mg/ml qui correspond à la dilution de 1/8v/v n'a montré aucun effet (absence de zone d'inhibition) sur les deux souches testées.

Les diamètres des zones d'inhibition sont représentés dans les figures 7et 8.



Témoin



E. coli traité par l'HE

Figure 7 : Les zones d'inhibition de la croissance d'*E. coli* traitée par les différentes concentrations d'HE de *Thymus algeriensis*.



Témoin

*S. aureus* traitée par l'HE

Figure 8 : Les zones d'inhibition de la croissance de *S. aureus* traitée par les différentes concentrations d'HE de *Thymus algeriensis*.

Les résultats obtenus sont comparable à ceux obtenus par **Amarti et al., (2010)**, lors d'une étude sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* et *Thymus ciliatus* du Maroc sur quatre souches bactériennes (dont *E. coli* et *S. aureus*) montrant que l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* exerce une forte activité sur les deux souches mais qui reste faible par rapport à l'huile essentielle de *Thymus ciliatus*. Cette faible activité peut être due à la présence dans l'HE de *Thymus algeriensis* de l' α -pinène (20,5 %), du β -pinène (8,02 %) et du limonène (4,85 %) reconnus pour leurs faibles activités antibactériennes (**Knobloch, 1989**).

Par ailleurs, le test de sensibilité des deux souches testées vis-à-vis l'ampicilline a montré une très forte activité sur *S. aureus* et ça se traduit par des zones d'inhibition dont le diamètre compris entre 32 et 26 mm; toutefois, cet antibiotique n'exerce aucun effet pour les différentes concentrations testées sur *E. coli* (absence de zones d'inhibitions). En effet la résistance d'*E. coli* vis-à-vis l'ampicilline est connue (**El Harim et Lamdouar, 1995**).

Les zones d'inhibitions sont représentées dans la figure 9.

*E. coli* traitée par amp*S. aureus* traitée par amp

Figure 9 : Les zones d'inhibition de la croissance d'*E. coli* et *S. aureus* traitées par les différentes concentrations d'ampicilline.

En revanche, les deux souches traitées par céfazoline ont montré que *S. aureus* est apparue plus sensible, où le grand diamètre de zone d'inhibition est de 29mm observé à la concentration de 1mg/ml (1/1v/v) par contre la concentration de 0,25mg/ml (1/8v/v) a donné une zone d'inhibition de 25mm de diamètre. Tandis que, *E. coli* est apparue moins sensible vis-à-vis de la céfazoline. Les diamètres de zones d'inhibition sont compris entre 22 et 18mm. Les résultats sont représentés dans la figure 10.



E. coli traitée par céf



S. aureus traitée par céf

Figure 10 : Les zones d'inhibition de la croissance d'*E.coli* et *S.aureus* traitées par les différentes concentrations de céfazoline.

La céfazoline et l'ampicilline agissent au niveau de la paroi bactérienne en inhibant la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane entraînant une lyse bactérienne (Yala *et al.*, 2001).

VI-3-Test de l'effet de l'association de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* et de deux antibiotiques sur *Escherichia coli* et *Stapylococcus aureus*

Afin de tester l'effet de l'association de l'HE de *Thymus algeriensis* et les deux antibiotiques (amp et céf) sur une bactérie à Gram- (*E. coli*) et une bactérie à Gram⁺ (*S. aureus*) on a procédé à mélanger les trois extraits, concentration par concentration (chaque dilution avec celle qui lui correspond).

Les résultats de ce test sont représentés dans le tableau V.

Tableau V : Activité antibactérienne de l'association de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* et de deux antibiotiques (amp et céf) sur *E. coli* et *S. aureus*.

		Diamètre des zones d'inhibitions (mm)			
		<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
Mélange (HE + céf + amp)	SM	++++	(17)	++++	(27)
	1/2	++++	(14)	++++	(25)
	1/4	++++	(13)	++++	(24)
	1/8	++++	(12)	++++	(22)

++++ : Très forte activité.

SM : Solution mère.

D'après les résultats aussi obtenus on constate qu'il ya une très forte activité du mélange sur les deux souches testées bien sur *S. aureus* que sur *E. coli*.

La plus grande surface d'inhibition est observée dans le cas de *S. aureus* (22 → 27mm), alors que *E. coli* est apparue moins sensible avec un diamètre d'inhibition compris entre 12 et 17mm. Les zones d'inhibitions sont représentées dans la figure 11.



E. coli traitée par le mélange



S. aureus traitée par le mélange

Figure 11 : Les zones d'inhibition de la croissance d'*E. coli* et *S. aureus* traitées par le mélange (HE, amp et céf).

D'une façon générale, l'HE et les deux antibiotiques testés sont plus active contre les bactéries Gram⁺ que les bactéries Gram⁻, ce résultat peut s'expliquer par la richesse de la paroi des bactéries Gram⁺ en protéines tandis que chez les souches Gram⁻, elle est surtout assemblée en lipopolysaccharides (LPS), la membrane extérieure de ces dernières constitue une barrière de perméabilité efficace. Le LPS, grâce à ses charges négatives de surface,

empêche la diffusion des molécules hydrophobes, et les protéines excluent le passage des molécules hydrophiles de poids moléculaire élevé. Alors que les bactéries Gram⁺ sont moins protégées contre les agents antibactériens (**Hogan et Kolter, 2002**). Cela semble avoir une nette corrélation avec nos résultats obtenus.

Après avoir testé l'activité antimicrobienne d'HE de *Thymus algeriensis* et les deux antibiotiques testés séparément sur les deux souches bactériennes étudiés et on comparant avec l'activité du mélange sur ses dernière, on constate que les diamètres des zones d'inhibitions de mélange est moins important par rapport à la somme de ceux des antibiotiques et l'HE testés séparément, ce ci explique l'effet antagoniste entre les composés du mélange. En outre des travaux faites au par avant ont montré que l'association de deux antibiotiques appartenant à la famille des béta lactamines donne un effet synergique (**Afoun, 2011**).

Les résultats de cette étude ont confirmé qu'il est préférable d'utiliser l'HE de *Thymus algeriensis* et les antibiotiques (dont ampicilline et céfazole) séparément que de les associer, ou bien d'associer l'HE de *Thymus algeriensis* avec d'autre antibiotiques ou avec d'autre HES afin d'avoir un effet synergique potentiel ou synergique additif.

Conclusion

Conclusion et perspectives

La présente étude nous a permis d'étudier l'effet d'association de l'huile essentielle d'une plante aromatique appartenant à la famille des Labiées «*Thymus algeriensis* (Bois et Reut) » et de deux antibiotiques appartenant à la famille des bêta lactamines «ampicilline et céfazoline» sur deux souches bactériennes Gram positif «*Staphylococcus aureus*» et Gram négatif «*Escherichia coli*».

Les échantillons de *Thymus algeriensis* récoltés au niveau de la région de Toudja en mois de Mars ont fournis un rendement en huile essentielle qui est de **1,04%**.

L'étude de l'activité antibactérienne de l'HE de *Thymus algeriensis* a montré une très forte activité sur les deux souches testées.

À l'égard de l'essence de *Thymus algeriensis* : *Escherichia coli* s'est montrée plus résistante avec une concentration d'inhibition de $0,047 \times 10^3$ mg/ml, alors que *Staphylococcus aureus* a été inhibé à partir de la concentration de $0,023 \times 10^3$ mg/ml (obtention de la même zone d'inhibition égale à 8 mm).

Cependant, *Staphylococcus aureus* traitée par les différentes concentrations de l'ampicilline et céfazoline a montré une très forte sensibilité, alors qu'*Escherichia coli* s'est avéré résistante à l'ampicilline et moins sensible vis-à-vis de la céfazoline aux mêmes concentrations.

Les résultats que nous avons obtenus confirment la puissante activité antibactérienne de l'HE de cette espèce ainsi que les deux antibiotiques.

L'effet d'association de l'HE de *Thymus algeriensis* et les deux antibiotiques qui a été l'objectif de notre travail montre une très forte activité contre les deux bactéries testées, mais qui reste moins importantes que celles des fractions testées séparément.

Au terme de cette étude, nous avons constaté que l'association de l'huile essentielle, ampicilline et céfazoline testées sur les bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* diminue l'activité de l'ampicilline et céfazoline, elle est inférieure à la somme des effets de chaque extrait du mélange prise séparément. Donc l'effet de cette association est un effet antagoniste.

A l'issue de ce travail, nous proposons quelques perspectives pour l'amélioration et une meilleure exploitation de *Thymus algeriensis* :

- ✓ Déterminer les activités des HES comme l'activité antivirale, antifongique, anti oxydante et anti inflammatoire,...etc.
- ✓ Tester leurs effets sur les microorganismes et éventuellement l'effet synergique ou additif avec d'autres antibiotiques ou avec d'autres HES.
- ✓ Déterminer la concentration minimale inhibitrice et ceci en testant différentes concentrations de l'huile essentielle ainsi que les antibiotiques.
- ✓ Faire une étude détaillée sur les activités biologiques de ces huiles pour montrer leurs importance et la possibilité de leurs exploitation dans certains domaines : pharmaceutique, cosmétique, insecticide, alimentaire,... etc.

Références bibliographiques

- **Afoun L, Afoun O., (2011).** Etude de mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* sur *Staphylococcus aureus*. Université Abderrahmane Mira de Bejaia. mémoire d'ingénieur. P : 31.
- **Amarti F, Satrani B, Ghanmi M, Farah F, Aafi A, Aarab L, El Ajjouri M, Chaouch A., (2010).** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. Et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. de Maroc. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. **14**(1), 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 antioxydant de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. Phytothérapie, 9:149–157.
- **Anonyme I.** CA-SFM, Comité de la société française de Microbiologie, Recommandation **2010**, Ed janvier. P1-490.
- **Belghazi L, Lahlou N, Alaoui Ismaili M, Abou saouiria T, Habti N, Tantaoui Iraki A, Talbi M, Blaghen M et Fellat-Zarrouck K., (2002).** Extraction et analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de la Menthe pouliot. Test antifongique. In : étude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Congrès de biochimie. Casablanca. Biochimie et Santé. 38-40.
- **Benkiniouar R, Rhouati S, Touil A, Seguin E et Chosson E., (2007).** Flavonoids from *Thymus algeriensis* chemistry of natural compounds, Vol 43, No 3. UDC 547, 972.
- **Bruneton J., (1993).** Pharmacognosie photochimie plante médicinales-. Tec & Doc Lavoisier, Paris.
- **Bruneton J., (1999).** "Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales" Editions Tec & Doc, Ed médicales internationales.
- **Brunton J., (1987).** Elément de phytochimie et de pharmacognosie. Tec & Doc-Lavoisier, Paris.
- **Caillard J., (2003).** Les plantes, des usines chimiques en miniature. Dossier de ressources documentaires. CRDP Midi-Pyrénées. p6.

- **Carson C.F. et Riley T.V., (1995).** Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. In : Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Journal Application Bacteriol, 78(3): 264-269.
- **Carson, C. F, Mee B. J, et Riley T. V., (2002).** Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. In : métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 46: 1914–1920.
- **Chevalier A., (1996).** Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd Ed) Dorling Kindersley Limited, Londres. P: 19, 20, 142, 127, 65.
- **Clevenger J. F., (1928).** Apparatus for the determination of volatile oil. J Am Pharm Assoc 17: 346–1.
- **Colette B., (2008).** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermo-mécanique d'herbe aromatiques. Application généralisées.
- **Couderc L., (2001).** Toxicité des huiles essentielles. Thèse de doctorat Ecole Nationale Vétérinaire, Toulouse.
- **Cox S. D, Mann C. M, Markham J. L, Bell H. C, Gustafson J. E, Warmington J. R et Wyllie S. G., (2000).** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). In : métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Journal of Applied Microbiology 88: 170-175.
- **Dedet J.P., (2007).** La Microbiologie, de ses origines aux maladies émergentes Dunod, Paris, p : 205.
- **Degryse A, Delplala I. et Voinier M., (2008).** Risques et bénéfices possible des huiles essentielles. Ecole des Hautes Etudes En Santé Publique.
- **Denooz R., (2010).** Intérêt clinique et économique du suivi thérapeutique pharmacologique pour des médicaments habituellement non contrôlés, thèse doctorat en Sciences Biomédicales et Pharmaceutiques, Université de Liège, Faculté de Médecine. P : 24.
- **Djerroumi A. et Nacef M., (2004).** 100 plantes médicinales d'Algérie. In : Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Saugé) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Ed Palais du livre. P 135 -131.

- **Dob T, Darhmane D, Benabdelkader T et Chelghoum T.C., (2006).** Studies on the essential oils and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. *Int. J.Aromatherapy*, **16**(2), 95-100.
- **Dorman H.J. et Deans S.G., (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plants volatile oils. In : métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. *Journal Application Microbiology*, **88**(2): 308-316.
- **Elberling J. et Skov P.S., (2007).** Increased release of histamine in patients with respiratory symptoms related to perfume. In : Les huiles essentielles. *Clin Exp Allergy*. Nov, **37** (11): 1676-80.
- **El Harim - El Mdouar L, Lamdouar - Bouazzaoui N., (1995).** Antibiothérapie des infections materno-fœtales. Service de néonatalogie, Hôpital d'enfants, C.H.U. Ibn Sina, Rabat. Tome 2, N° 13, p 183 – 188.
- **Fauchère, J.L. et Avril J.L., (2002).** "Bactériologie générale et médicale". In : détermination "in vitro " du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'eucalyptus, myrte, clous de girofle et sarriette, et leur application à la conservation de la viande fraîche type hachée. Ellipses Ed Paris, (365).
- **Fouché J.G, Marquet A, Hamburckers A., (2000).** Les plantes Médicinales, de la plante au médicament. Observation du Mode des plantes Sart-Tilman.
- **Franhomme P., (1981).** L'aromatologie à visée anti-infectieuse. In : étude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum* *Phytomdecine*. 25-47.
- **Franhomme P. et Pénoël D., (1990).** L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. In : étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Roger Jallois éditeur. Limoges. 445 p.
- **Francois J, Chomar M, Weber M, Gerard A., (2003).** De l'antibiogramme à la prescription. In : étude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. BIOMERIEUX, 2ème Ed: p8-p22.
- **Haddouchi F, Lazouni H.A, Meziane A et Benmansour A., (2009).** Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. Université Aboubekr BELKAID, Tlemcen, Algérie. **05**(2), 246 - 259

- **Hala G.M, Christ H. et Carla K., (2000).** Traditional uses of *Salvia libanotica* (East Mediterranean sage) and the effects of essential oils. In : étude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum* . Journal of Ethnopharmacology, 71(3): 513-520.
- **Hogan D. et Kolter R., (2002).** Why are bacteria refractory to antimicrobials? In : Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. Current opinion in Microbiology 5: 272–4.
- **Homburger F. et Boger E., (1968).** The carcinogenicity of essential oils flavors and spices. In : étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. A review. Cancer Res. 28, 2372-2374.
- **Huang, (1987).** Perfumer and flavorist, April /May 1988, In Progress in essential oils. Vol.13, P:67.
- **Jacques G. et Paltz S.A., (1997).** Le fascinant pouvoir des huiles essentielles. In : Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Fascicule du laboratoire "Jacque Paltz".
- **Kalemba D. et Kunicka A., (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. In : Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action *Cur ; Med. Chem.* 10: 813-829.
- **Knobloch K., (1989).** Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. In : Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. Et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. de Maroc *J. Essent. Oil. Res.*, 1, 119-128.
- **Larpent J. P. et Sanglier J.J., (1989).** Biotechnologie des antibiotiques. Ed MASSON. Paris. P: 1, 10.
- **Lavigne J.P., (2007).** Effet des antibiotiques et mécanismes de résistances. Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes.
- **Leclercq R., (2006).** Macrolides-lincosamides-streptogramines. In : antibiogramme Courvalain P., Leclercq R., Bingen B. 2ème Ed: P299-324
- **Lee K.H, Huang E.S, Pagana J.S. et Geissman T.A., (1971).** Cytotoxicity of sesquiterpenes lactones. In Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles

essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum* . Cancer.Reasearch., 31: 1649-1654.

- **Leminor L. et Veron M., (1989).** Bactériologie Médicale. In : classification et mode d'action des antibiotiques. Flammarion : 1107 p.
- **Lopes N, Kato M.J, Andrade Eloisa H.A, Maia J.G.S, Yoshida M., Planchart A.R. et Katzin A.M., (1999).** Antimalarial use of volatile oil from leaves of *Viola surinamensis* (Rol) Warb. In : étude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Journal of Ethnopharmacology. 67. 313-319.
- **Lubinic E., (2003).** Les huiles essentielles et leurs utilisation. Manuel pratique d'Aromathérapie. Ed Vigot.
- **Mebarki N., (2010).** Extraction de l'huile essentielle de *thymus fantanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne. Thèse de magistère, Université de M'hamed Bougara Boumerdes. Méridionales. Ed. CNRS. Paris. p1170.
- **Moggi G, Guignolini L., (1982).** Les fleurs et les plantes du jardin, Ed Solar, p. 12.
- **Mohammedi Z., (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielle et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de magistère en biologie option : produits naturels, activité biologique et synthèse. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen. P : 4.
- **Naganuma M, Hirose S, Nakayama Y, Nakajima K, Someya T., (1985).** A study of the phototoxicity of lemon oil. In : étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémisynthèse. Arch. Dermatol. Res. 278, 31-36.
- **Quézel P. et Santa S., (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed du centre national de la recherche scientifique. Paris. Tome II. P : 806, 784.
- **Rasooli I. et Mirmostafa S.A., (2003).** Bacterial Susceptibility to and Chemical Composition of Essential Oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *Journal of Agricultural and Food chemistry*. 51: 2200-2205.
- **Redriguez Vaquero M. J, Albert M. R. et de Nuda M. M.C., (2007).** Antimicrobial effet of phenolic compends from diferents wines. Food control, 18: 93-101.

- **Rey A., (1992).** Dictionnaire historique de la langue française. In : Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Coridothymus capitatus* (L.) Reichenb. Fil. Robert.
- **Rhayour K.H., (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed ben Abdellah Faculté des sciences Dhar Mehraz-Fés.
- **Schwammle B, Winkelhausen E, Kusmanova S et Steiner W., (2001).** Isolation of carvacrol Assimilating Microorganisms. Biotechnol. 39 (4).
- **Sefidkon F, Jalili A, Mirhaji T., (2001).** Essential oil composition of three *Artemisia* spp. from Iran. In : composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *cladanthus mixtus*. *Flavour Fragr. J.*, **17**(2), 150-152.
- **Smith C.K., Moore C.A, Alahi E.N, Smart, A.T. et Hotchkiss, S.A., (2000).** Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *ToxicoS*. In : étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse *Appl. Pharmacol.* 168,189-99.
- **Teisseire P.J., (1991).** Chimie des Substances Odorantes. In : Caractérisation des huiles essentielles de trois plantes aromatiques : *Hyptis Spicigera*, *Pluchea Ovalis* et *Laggera Aurita*. Technique et documentation Lavoisier. Paris. P : 480.
- **Ultée A, Kets E.P.W. et Smid E.J., (1999).** Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *J. Appl. Microbiol.*, 65(10): 4606-4610.
- **Ursula et Fotsch C. et Wacker S., (2008).** Connaissance des herbes (Thym). Janvier Newsletter. EGK Caisse de Santé, série de Brigitte Speck. P : 5
- **Vokou D, Chalkos D, Karamanlidou G, Yiangou G., (2002).** Activation of soil respiration and shift of the microbial population balance to *Lavandula stoechas* essential oil. *J. of chem. Ecol.* 28(4), 755-768.
- **Wichtl M. et Anton R., (2003).** Les plantes thérapeutiques. Tradition, pratiques officinales, sciences et thérapeutiques. Ed TEC et DOC. Lavoisier.
- **Wiley J. M, Sherwood L. M, Woolverton C. J., (2010).** Microbiologie .3^{ème} Ed De Boeck. P: 840.

- **Williams L R, Luscenzi II., (1994).** Essential oil from *Malaleuca dissitiflora*. A potential source of high quality tee tree oil. Industrial crops and productions, 2:211-221.
- **Yala D, Merad A. S, Mohamadi D, Ouar Korich M.N., (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb N° 91.
- **Zaika L., (1988).** «Spices and herbs-their antimicrobial activity and its determination». In : risques et bénéfices possible des huiles essentielles. Journal of Food Safety 9-2: (97-118).
- **Zani F, Massimo G, Benvenuti S, Bianchi A, Albasini A, Melegari M, Vampa G, Bellotti A, et Mazza P., (1991).** Studies on the Genotoxic Properties of Essential Oils with *Bacillus subtilis* rec-Assay and *Salmonella*/Microsome Reversion Assay. In: métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Planta Medica 57: 237-241.
- **Zhiri A. et Baudoux D., (2005).** Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. Aromathérapie scientifique. Ed Inspir Development. Luxembourg. P: 09.

Glossaire :

Acné : Maladie éruptive de la peau. Il s'agit principalement d'un dysfonctionnement des glandes sébacées situées à la base des follicules pileux de la peau, qui apparaît le plus souvent sur le visage, le cou, la poitrine et le dos.

Allergène : Substance, capable de provoquer une réaction allergique.

Analgésique : Combat la douleur.

Anti-inflammatoires : Qui atténue les tuméfactions et les rougeurs provoquées par une agression traumatiques, chimique ou microbienne.

Antipaludéens : Médicaments utilisés dans le traitement curatif ou préventif du paludisme (ou malaria). Ils sont également appelés anti-malariques ou antipaludiques.

Antiseptique : Détruit les micro-organismes responsables des infections.

Antispasmodique : Substance qui permet de lutter contre les spasmes, agit généralement en empêchant la contraction des fibres musculaires de l'intestin et des voies urinaires.

Aromathérapie : C'est une technique médicale naturelle de soins par les huiles essentielles.

Arthrite : Inflammation des articulations.

Asthme : Maladie respiratoire au cours de laquelle le spasme et la constriction des bronches ainsi qu'un gonflement de leur muqueuse provoquent une obstruction des voies respiratoires

Bronchite : Inflammation aiguë ou chronique des bronches et des bronchioles (les plus petites ramifications des bronches).

Convalescence : Période de retour progressif à un état de bonne santé après une maladie, une blessure ou une opération.

Cystite : Inflammation de la vessie, généralement due à une infection bactérienne de l'urètre, du vagin ou, dans des cas plus complexes, des reins.

Décoction : Préparation qui consiste à faire bouillir de l'eau avec des racines, des baies ou des graines.

Dépuratif : Corps contribuant à l'expulsion des impuretés dans le sang (éliminer les toxines).

Diurétique : Qui stimule la sécrétion de l'urine.

Drainage lymphatique : Massage destiné à favoriser l'évacuation des nodules dans la circulation lymphatique.

Expectorant : Qui facilite l'expulsion par la bouche des matières encombrants les voies respiratoires.

Goutte : Maladie métabolique due à une hausse d'acide urique dans le sang.

Hypotension : Tension artérielle basse.

Inflammation : Réaction pathologique qui s'établit à la suite d'une agression traumatique, chimique, microbienne de l'organisme, et qui se caractérise par de la chaleur, de la rougeur, de la douleur et de la tuméfaction.

Irritant : Substance susceptible de causer des inflammations douloureuses.

La maladie de Crohn : Est une inflammation, de cause inconnue, touchant la partie terminale de l'iléon (dernière partie de l'intestin grêle).

Le Malaria : C'est une maladie parasitaire des régions chaudes due au plasmodium et transmise par les moustiques, anophèles.

Méningite : Inflammation des méninges d'origine microbienne ou virale.

Neurotoxique : Qui affecte le système nerveux.

Obésité : Excès de poids dû à une surcharge en tissu adipeux dans l'ensemble de l'organisme, et plus particulièrement dans les espaces sous-cutanés.

ORL : Spécialité médicale et chirurgicale qui étudie et soigne les maladies de l'oreille, du nez et du larynx.

Pneumonie : Infection d'une partie d'un poumon. Les pneumonies, appelées autrefois congestions pulmonaires, peuvent être causées par des bactéries, des virus ou des parasites.

Pollinisateur : Assure le transfert de pollen de l'étamine d'une fleur au stigmate du pistil ou à l'ovule d'une autre fleur (les abeilles).

Psyché : Qui en grec signifie « âme », est couramment considérée comme la personnification de l'âme humaine qui trouve dans l'amour ou la poursuite d'un idéal la force de surmonter les épreuves.

Rhumatisme : Atteinte inflammatoire ou dégénérative des articulations et touche parfois les muscles.

Sédatifs : Médicaments, substances ou techniques thérapeutiques qui calment l'excès d'activité d'un organe ou du psychisme, ou atténue un symptôme.

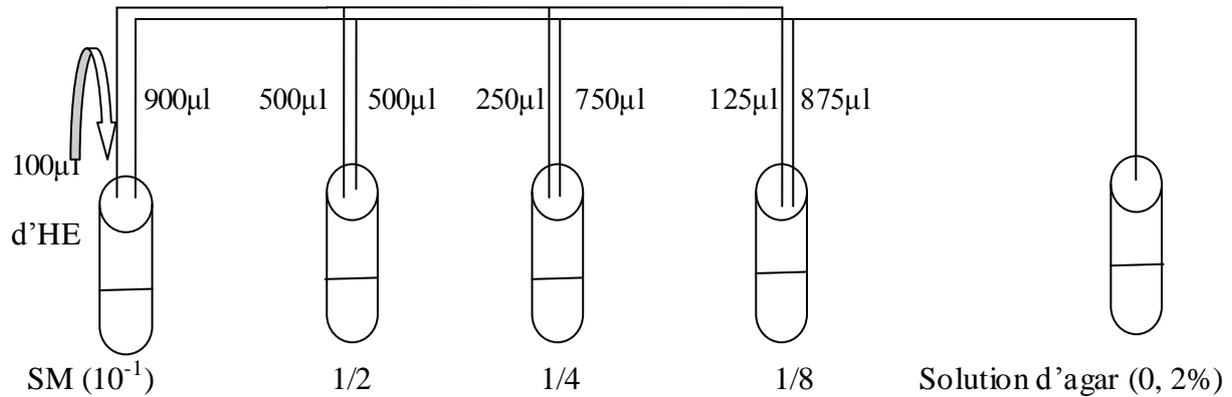
Tuberculose : Maladie infectieuse d'origine bactérienne, chronique ou aiguë, pouvant affecter toutes les parties du corps, mais touchant le plus fréquemment les poumons.

Vermifuge : Elimine et évacue les vers intestinaux.

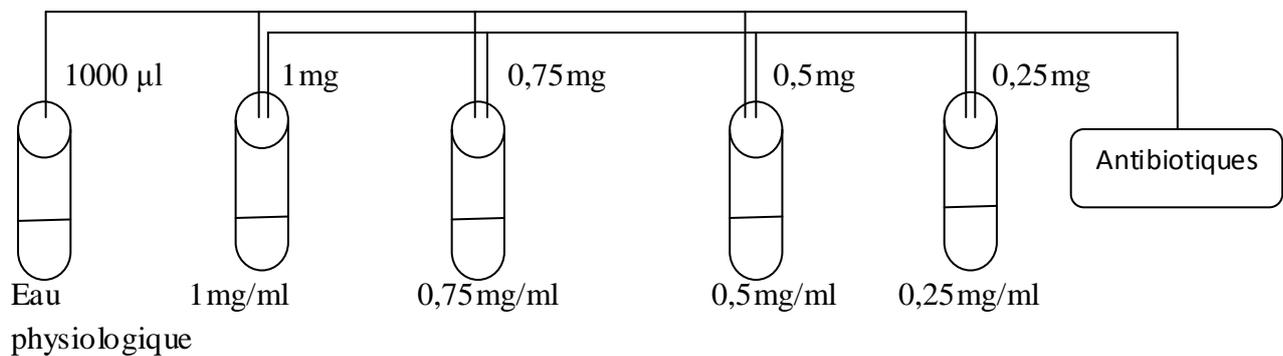
Annexes

Liste des annexes

Annexe I : Préparation des dilutions de l'HE de *Thymus algeriensis*



Annexe II: Préparation des différentes concentrations d'antibiotiques (amp et céf)



Annexe III : Les milieux de cultures et solutions

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

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

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

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

- E-Solution d'Agar à 0,2% :

Agar agar	0,2g
Eau distillé	100ml

- F-Eau physiologique :

Na Cl	9g
Eau distillé	1000ml

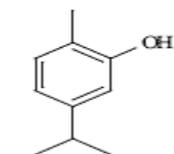
Annexe IV: les différentes familles des antibiotiques, leurs mode d'action, quelques indications ainsi que leurs cibles.

Familles des antibiotiques	Quelques principes actifs	Quelques indications	Mode d'action	Spectre d'action	Référence
Beta-lactamines (Pénicillines)	Amoxicilline Penicilline G et V Piperacilline	Divers bronchites, pneumonie, ORL et méningites	Inhibiteur de synthèse de la paroi bactérienne (bactéricide)	Gram ⁺ (staphylocoque, streptocoques et pneumocoque)	(Lavigne, 2007) (Dedet, 2007)
Beta-lactamines (Céphalosporines)	-1 ^{ère} génération Céfazoline Céfaclor -2 ^{ème} génération Céfamandole Cefuroxime	Divers bronchites, pneumonies, ORL et méningites	Inhibiteur de synthèse de la paroi bactérienne (bactéricide)	Les Céphalosporines de 1 ^{ère} génération sont actives contre Staphylocoque, <i>E. coli</i> ,	(Lavigne, 2007)

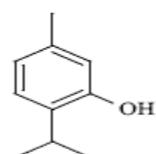
	-3 ^{eme} Génération Cefixime Ceftazidine Cefotaxime			<i>Proteus mirabilis</i> et Klebsiella	(Denooz, 2010)
Aminosides (Aminoglycosides)	Streptomycine	Tuberculose	Perturbation de la synthèse protéique au niveau de la fraction 30S de ribosome (bactéricide)	agissant sur les bacilles Gram négatifs aérobies, les entérobactéries et sur les bacilles à Gram positif (<i>Listeria</i>).	(Yala et al., 2001)
	Néomycine Tobramycine Amikacine Gentamicine	Maladies infectieuses des yeux, intestinales et plaies infectées			
Macrolides	Azitromycine Erythromycine Roxithromycine Clarithromycine	ORL, infections génitales	inhibent la synthèse protéique bactérienne en se fixant sur l'unité 50S du ribosome et bloquent la réunion du dernier stade de la synthèse. (bactériostatiques)	-Cocci Gram+ et Gram- -Bacilles à Gram+ : <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Bacillus</i> -bacilles à Gram- : Campylobacter, Helicobacter, Legionella	(Francois et al., 2003). (Leminor et al., 1989). (Leclercq, 2006).
Tétracyclines	Chlortétracycline (Auréomycine®) Tétracycline base (Tetracyne®) Oxytétracycline (Terramycine®),	Acné, infections génitales, pulmonaire	Fixation réversible à la sous-unité 30S des ribosomes empêchant l'attachement des Aminoacyl-tRNA au site A du ribosome. Bactériostatiques	-Bacilles à Gram négatif et positif. -Cocci à Gram négatif alors que celle de Gram positif sont résistantes	(Yala et al., 2001) (Lavigne, 2007)

Quinolones	ciprofloxacine levofloxacine moxifloxacine norfloxacine ofloxacine	Infections urinaires (cystite), infections génitales	inhibent la synthèse de l'ADN de la bactérie en se fixant sur le complexe "ADN-ADN gyrase" en empêchant la réplication et transcription de l'ADN bactérien.	bactéries à Gram négatif, les cocci à Gram positif	(Yala et al., 2001)
Sulfamides	sulfaméthoxazole et trimetoprim=co-trimoxazole sulfazalazine	Lors d'échec avec d'autres antibiotiques lors d'infections urinaires, génitales, maladie de Crohn (sulfazalazine)	Entre en compétition avec PAB (acide para-amino-benzoïque en bloquant l'action de la synthétase. (bactériostatique).	-Elles ont un large spectre mais qui est réduit à cause de la résistance. -Cocci à Gram positif et négatif. -Bacilles à Gram positif	(Yala et al., 2001)

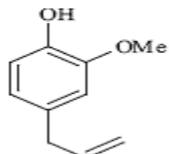
Annexe V : Composés impliqués dans les activités antibactériennes des huiles essentielles (Kalemba et Kunicka, 2003).



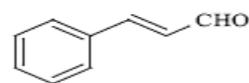
a/ Carvacrol



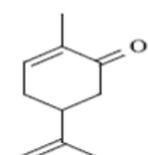
b/ Thymol



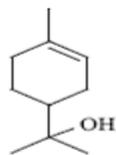
c/ Eugénol



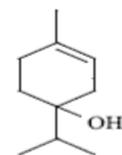
d/ Cinnamaldéhyde



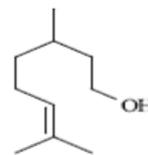
e/ Carvone



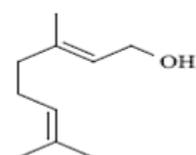
f/ α -Terpinéol



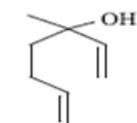
g/ Terpinène-4-ol



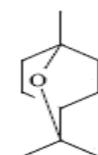
h/ Citronellol



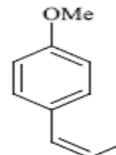
i/ Géraniol



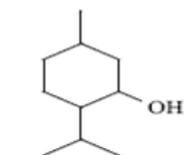
j/ Linalol



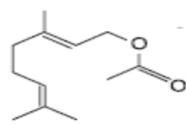
k/ 1,8-Cinéole



l/ Anéthole



m/ Menthol



n/ Acétate de géranyle

Résumé

Ce travail a eu pour objectif d'évaluer l'effet d'association de l'huile essentielle d'une plante aromatique (*Thymus algeriensis* [Bois et Reut]) et de deux antibiotiques de la famille des béta lactamines (ampicilline et céfazoline) sur deux souches bactériennes Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et Gram négatif (*Escherichia coli*). L'extraction des huiles par hydrodistillation a fourni un rendement de **1,04%**.

L'étude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle et de deux antibiotiques testés séparément a montré une très forte activité sur les deux souches. On revanche, leurs association a aussi montré une très forte activité mais moins importante que celle des antibiotiques seuls. A la lumière de cette étude, on a constaté que l'effet d'association de l'huile essentielle et les deux antibiotiques est un effet antagoniste sur les deux souches testées.

Mots clés : Plantes aromatiques, *Thymus algeriensis*, huiles essentielles, antibiotiques, béta lactamines (ampicilline et céfazoline), effet antibactérien.

Abstract

This work aimed to evaluate the effect of association of the essential oil of an aromatic plant (*Thymus algeriensis* [Bois et Reut]) and two antibiotics of the family of beta lactamines (ampicilline and cefazoline) on two Gram positive (*S. aureus*) and Gram negative (*E. coli*) bacterial strains. The extraction of oils, by water distillation, provided a yield of **1, 04%**.

The study of the antibacterial effect of essential oil and two antibiotics tested separately showed a very strong activity on the two strains. Theirs association showed a strong activity but less significant as that of antibiotics alone. The results obtained in this study showed that the effect of association of essential oil and the two antibiotics are an antagonistic effect on the two strains tested.

Key words: Aromatic plants, *Thymus algeriensis*, Essential oils, antibiotics, beta lactamines (ampicillin and cefazolin), antibacterial effect.