



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج  
Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية  
Département des Sciences Biologiques



# Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

## Intitulé :

Evaluation des propriétés antimicrobiennes des extraits et  
de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*.

Présenté par :

BENHAMMOUDA Nesrine & BERKA Khadidja

Soutenu le 11 / 06 / 2025, Devant le Jury :

	Nom & Prénom	Grade	Affiliation / institution
Président :	Mr. SADRATI Nouari	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrant :	Mme SOUAGUI Yasmina	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj
Examineur :	Mme BOUGUERRA Asma	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2024/2025

## *Remerciement*

Nous remercions Allah le Tout-Puissant de nous avoir donné la santé, la force et le courage nécessaires pour mener ce travail jusqu'au bout.

Nous tenons à vous adresser, Madame Souagui Yasmina, nos remerciements les plus sincères pour votre confiance, vos conseils précieux et votre soutien tout au long de cette aventure, merci du fond du cœur pour votre encadrement, votre présence constante et votre grande gentillesse, qui ont été pour nous d'un précieux réconfort.

Un grand merci à monsieur Sadrati et à madame Bouguerra vous nous faites un grand honneur en acceptant de participer au jury de ce mémoire. Nous tenons à exprimer nos profondes gratitude pour le temps précieux que vous consacrer pour juger ce travail.

Nos remerciements vont également à Sabrina, Wassima et Amel pour leur accueil si chaleureux au sein de leurs laboratoires. Nous vous sommes profondément reconnaissantes pour votre générosité, votre disponibilité et le climat de confiance que vous avez su instaurer. Recevez l'expression de notre sincère gratitude et de notre respect le plus profond.

Nous remercions tout particulièrement monsieur SAMI le chef service de laboratoire d'analyses médicales de l'hôpital Bouzidi Lakhder ainsi que toute son équipe.

Nous tenons à remercier chaleureusement tous les enseignants du département de Biologie pour leur engagement et leur dévouement. Nos remerciements les plus sincères vont en particulier à Monsieur Sadrati, Monsieur Meribai, Monsieur Aithammouda, Madame Souagui Madame Tamine Madame Bouguerra et Madame Iratni, pour leur soutien constant, leur écoute et la richesse de leurs enseignements qui ont grandement contribué à notre formation.

Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à nos parents, qui ont toujours été à nos côtés, nous soutenant sans relâche et croyant en nous avec fierté. Votre amour, vos encouragements et vos sacrifices ont été notre plus grande force. Si nous sommes arrivées jusqu'ici, c'est avant tout grâce à vous. Merci infiniment pour tout ce que vous avez fait pour nous.

Nous remercions également, avec beaucoup de gratitude, toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réussite de ce travail, même si elles ne sont pas nommément citées ici. Votre soutien nous a été d'une grande aide.

# *Dédicace*

À toi, mon père,

Pilier de ma vie, source de courage et de sagesse. Par ta patience, ton travail acharné et ton amour silencieux, tu as toujours été un exemple pour moi. Tu as cru en moi même dans les moments où je doutais, et tu m'as donné la force d'aller toujours plus loin. Ce parcours, je le dois en grande partie à ton soutien constant et à ta présence rassurante. Puisse Allah, Le Tout-Puissant, te protéger, te récompenser pour tous tes sacrifices, et t'accorder santé, bonheur et longue vie.

Je t'aime PAPA

À toi, ma mère,

Mon premier refuge, mon soutien inconditionnel et ma plus grande source d'amour. Par ta douceur, ta patience et tes prières silencieuses, tu as accompagné chacun de mes pas. Tu as toujours été là, dans les moments de doute comme dans les instants de joie, offrant ton cœur sans jamais rien attendre en retour. Ce mémoire est aussi le fruit de ton amour et de tes sacrifices. Que Le Tout-Puissant, Allah, te protège, t'accorde une longue vie, la santé et tout le bonheur que tu mérites.

Je t'aime MAMA

À mes chères sœurs, Amel, Meryem et Asma,

Mes complices, mes confidentes, mes soutiens inestimables. Merci pour votre affection sincère, vos encouragements constants et votre présence à chaque étape de ce parcours. Chacune de vous, à sa manière, a su m'apporter la force, le réconfort et la motivation dont j'avais besoin pour avancer. Ce travail est aussi le vôtre, car il a été nourri de votre bienveillance et de votre amour. Je vous en suis profondément reconnaissante et vous dédie cette réussite de tout cœur.

Je vous aime toutes les trois

À ma meilleure amie et binôme, Khadidja,

Merci d'être toujours là, à chaque étape de ce parcours. Ton soutien, ta patience et ton incroyable sens de l'humour ont été mes forces. On a traversé ensemble des hauts et des bas, mais à chaque défi, tu étais là pour me rappeler que rien n'est impossible. Ce travail est le nôtre,

et je ne pourrais jamais assez te remercier pour tout ce que tu m'as apporté. Je suis tellement reconnaissante de t'avoir à mes côtés. L'aventure continue, ensemble.

À mes chères amies Hadjer, Célia, Raounak, Rofaida et Wissem,

Merci pour votre présence, votre amitié a été un véritable soutien, que ce soit à travers un mot d'encouragement, un fou rire en pleine fatigue ou simplement votre écoute. Vous avez contribué à cette aventure, chacune à votre manière, et pour cela, je vous dédie une part de cette réussite. Je vous porte dans mon cœur avec beaucoup d'affection, aujourd'hui et toujours.

À mon oncle Ghanou,

Je te suis immensément reconnaissante, en particulier pour ces moments précieux où tu m'apprenais à lire, avec une patience et une douceur infinies. Tu m'as transmis bien plus que des mots : tu m'as ouvert les portes du savoir et de la confiance en moi. Ces souvenirs resteront gravés dans mon cœur, aujourd'hui et pour toujours. Qu'Allah te bénisse abondamment, qu'Il te protège et te récompense pour tout le bien que tu as semé autour de toi, inch'Allah.

À mes tantes, Ghania, Khadidja, Naima et Rachida,

Je voudrais vous adresser un merci du fond du cœur. Chacune de vous, à sa manière, m'a apporté quelque chose de précieux. Je n'oublierai jamais les moments où vous m'avez appris et soutenue. Qu'Allah vous bénisse toutes, qu'Il vous accorde la santé, la paix et le bonheur inch'Allah. Je vous aime profondément, et je vous en serai toujours reconnaissante.

À toute ma grande famille BENHAMMOUDA, maternelle et paternelle, petits et grands,

Merci du fond du cœur pour votre amour, vos prières, vos encouragements et votre présence, même à distance. Votre soutien, parfois discret mais toujours sincère, m'a porté tout au long de ce parcours. Cette réussite n'est pas seulement la mienne elle est aussi la vôtre, car elle reflète les valeurs et la force que vous m'avez transmises. Que Dieu vous protège, vous garde en bonne santé et vous comble de bonheur ici-bas et dans l'au-delà.

**NESRINE**

# *Dédicace*

À toi mon père,

Tu es celui qui m'a appris à rêver grand, à persévérer et à toujours garder la tête haute, peu importe les obstacles. Dans tes gestes, tes paroles et ton exemple, tu m'as transmis des valeurs qui me guident chaque jour. Tu es mon repère, celui qui rend chaque moment plus précieux. Merci pour ton amour inébranlable, pour chaque conseil et pour ta force tranquille. Tu es un homme extraordinaire et je suis fière de t'avoir comme père.

Je t'aime Papa

À toi ma mère,

Merci pour ton amour infini, ta patience, ta force et ton soutien indéfectible. Tu as toujours cru en moi, même quand moi je doutais. Tu as su m'encourager, me consoler, me motiver, et surtout, tu as toujours été là, dans les moments les plus durs comme dans les plus heureux. Tes sacrifices, ton écoute, tes prières, ton sourire : tout cela m'a porté plus que tu ne peux l'imaginer. Sans toi, rien de cela n'aurait été possible.

Je t'aime Mama

À mes quatre frères, Adel, Ayoub, Youcef et Wassim,

Mes compagnons de route, mes amis, mes repères. Chacun d'entre vous, à sa manière, a contribué à mon équilibre et à ma motivation. Vos encouragements, vos plaisanteries dans les moments de stress, vos conseils, votre simple présence... tout cela m'a porté plus que vous ne l'imaginez. Je vous remercie pour votre amour fraternel, si précieux à mes yeux. Ce mémoire est bien plus qu'un simple travail universitaire. Il est le reflet de ce que vous m'avez permis de devenir.

Je vous aime tous

À ma tante et sa fille Djamila,

Je remercie du fond du cœur ma tante, une femme exceptionnelle qui a toujours cru en moi. Son amour, ses encouragements et sa présence, même à distance, m'ont été d'un grand réconfort. Tu penses toujours à moi, et je ressens ton soutien à chaque étape. Ce travail est dédié

à mes parents et à toi. Que Dieu te protège et t'accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.

Un grand merci également à sa fille Djamila, qui a été pour moi comme une grande sœur, toujours présente avec gentillesse, écoute et encouragements. Votre affection m'a profondément touché.

À mon binôme, Nesrine,

Merci d'avoir été cette présence constante à mes côtés, toujours là pour relativiser quand le stress prenait trop de place, pour motiver quand le moral baissait, et pour célébrer chaque petite victoire. Merci pour ta rigueur, ton écoute, ta patience (surtout quand je perdais les pédales !), et ta bonne humeur qui a su transformer les pires journées de rédaction en moments mémorables. On dit souvent qu'un binôme, c'est un coup de chance. Moi, je dirais que c'est une bénédiction quand on tombe sur sa meilleure amie. Travailler avec toi a été une source de joie, de force, et d'inspiration. Ce mémoire, c'est le nôtre il porte la trace de notre amitié, de notre complicité et de notre détermination partagée. Je suis fière de ce que nous avons accompli, fière de nous, et surtout profondément reconnaissante de t'avoir eue à mes côtés dans cette aventure unique.

À mes amies, Hadjer, Célia, Wissem, Raounak, Rofaida et Houda

Vous êtes plus que des amis, vous êtes ma famille choisie. Merci pour vos rires, vos soutiens et pour être là dans les bons comme dans les mauvais moments. Chacun de vous apporte quelque chose d'unique dans ma vie, et je me sens chanceuse de vous avoir à mes côtés. Je vous aime et j'ai hâte de continuer à partager ensemble encore beaucoup de souvenirs.

À ma cousine Houda, sa mère et Ichrek,

Merci pour votre amour, votre force et votre présence. Vous êtes mon refuge, ma fierté et ma plus belle richesse. Je vous dédie tout mon cœur.

**KHADIDJA**

## Résumé

La présente étude vise à évaluer l'activité antimicrobienne des extraits et de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*. Les extraits ont été préparés par macération des parties aériennes de la plante : dans le méthanol pour l'extrait méthanolique, et dans l'eau pour l'extrait aqueux. L'huile essentielle, quant à elle, a été extraite par hydrodistillation à l'aide de l'appareil Clevenger. Ces méthodes d'extraction ont permis d'obtenir des rendements de 24,38 % pour l'extrait méthanolique, 6,36 % pour l'extrait aqueux et 2,24 % pour l'huile essentielle. La détermination de l'activité antimicrobienne des extraits, réalisée par la méthode de l'aromatogramme, a été menée sur sept souches bactériennes et une levure (*Candida albicans* ATCC10231). Parmi les micro-organismes testés, quatre sont d'origine clinique (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* sp. et *Serratia* sp.), tandis que les trois autres sont des souches de référence : *Enterococcus faecalis* ATCC49532, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 et *Bacillus subtilis* ATCC6633. Les résultats ont révélé un fort pouvoir inhibiteur de l'extrait méthanolique sur l'ensemble des souches pathogènes testées, à l'exception de *Bacillus subtilis* ATCC6633. En revanche, l'extrait aqueux n'a montré d'activité antibactérienne que vis-à-vis de trois souches cliniques (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* sp. et *Serratia* sp.). L'effet antimicrobien de l'huile essentielle a été évalué par la méthode de microatmosphère révélant un effet spectaculaire sur *Candida albicans* ATCC10231. La méthode de macrodilution en milieu liquide a permis de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI), bactéricides (CMB) et fongicides (CMF). Pour l'extrait méthanolique de *Thymus vulgaris*, les valeurs obtenues variaient de 0,195 à 3,125 mg/ml pour la CMI, et atteignaient 12,5 mg/ml pour la CMB et la CMF. En ce qui concerne l'huile essentielle, les CMI variaient entre 3,125 et 25 µl/ml, tandis que la CMB et la CMF étaient fixées à 25 µl/ml. Aucune activité antimicrobienne n'a été observée avec les concentrations testées pour l'extrait aqueux. En conclusion, ces résultats mettent en évidence le potentiel antimicrobien prometteur de l'extrait méthanolique et de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*, suggérant leur intérêt comme agents naturels dans la lutte contre certaines infections microbiennes, contrairement à l'extrait aqueux dont l'efficacité demeure limitée.

**Mot clés :** activité antimicrobienne, extrait aqueux, extrait méthanolique, huile essentielle, *Thymus vulgaris*.

## Abstract

This study aims to evaluate the antimicrobial activity of extracts and essential oil from *Thymus vulgaris*. The extracts were prepared by macerating the aerial parts of the plant : in methanol for the methanolic extract, and in water for the aqueous extract. The essential oil was extracted by hydrodistillation using a Clevenger apparatus. These extraction methods yielded 24.38% for the methanolic extract, 6.36% for the aqueous extract, and 2.24% for the essential oil. The antimicrobial activity of the extracts was determined using the aromatogram method and was tested against seven bacterial strains and one yeast strain (*Candida albicans* ATCC10231). Among the tested microorganisms, four were of clinical origin (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* sp. and *Serratia* sp.), while the other three were reference strains : *Enterococcus faecalis* ATCC49532, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, and *Bacillus subtilis* ATCC6633. The results revealed strong inhibitory power of the methanolic extract on all tested strains, except for *Bacillus subtilis* ATCC6633. In contrast, the aqueous extract showed antibacterial activity only against three clinical strains (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* sp. and *Serratia* sp.). The antimicrobial activity of the essential oil was evaluated using the microatmosphere method, revealing a remarkable effect on *Candida albicans* ATCC10231. The macrodilution method in liquid medium was used to determine the minimum inhibitory concentrations (MIC), bactericidal concentrations (MBC), and fungicidal concentrations (MFC). For the methanolic extract of *Thymus vulgaris*, MIC values ranged from 0.195 to 3.125 mg/ml, while MBC and MFC values reached 12.5 mg/ml. Regarding the essential oil, MICs ranged from 3.125 to 25 µl/ml, and both MBC and MFC were set at 25 µl/ml. No antimicrobial activity was observed with the tested concentrations of the aqueous extract. In conclusion, these results highlight the promising antimicrobial potential of the methanolic extract and essential oil of *Thymus vulgaris*, suggesting their relevance as natural agents in combating certain microbial infections, whereas the aqueous extract showed limited efficacy.

**Keywords :** antimicrobial activity, aqueous extract, essential oil, methanolic extract, *Thymus vulgaris*.

## المخلص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات وزيت *Thymus vulgaris* العطري. تم تحضير المستخلصات عن طريق نقع الأجزاء الهوائية من النبات: في الميثانول للحصول على المستخلص الميثانولي، وفي الماء للحصول على المستخلص المائي. أما الزيت العطري فقد تم استخلاصه بواسطة التقطير المائي باستخدام جهاز كليفنجر. وقد أسفرت طرق الاستخلاص هذه عن مردود بلغ 24.38% للمستخلص الميثانولي، و6.36% للمستخلص المائي، و2.24% للزيت العطري. تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات باستخدام طريقة "الأروماتوجرام"، وقد أجريت الدراسة على سبعة سلالات بكتيرية وسلالة واحدة من الخمائر (*Candida albicans* ATCC10231) من بين الكائنات الحية الدقيقة المختبرة، كانت أربع سلالات من أصل سريري (*Escherichia coli*)، *Pseudomonas aeruginosa*، *Klebsiella* sp.، و (*Serratia* sp.)، في حين أن السلالات الثلاث الأخرى كانت سلالات مرجعية *Enterococcus* : *Bacillus subtilis* ATCC6633 و *Staphylococcus aureus* ATCC25923 و *faecalis* ATCC49532 كشفت النتائج عن قدرة مثبتة قوية للمستخلص الميثانولي ضد جميع السلالات المختبرة، باستثناء *Bacillus subtilis* ATCC6633. أما المستخلص المائي فقد أظهر نشاطاً مضاداً للبكتيريا تجاه ثلاث سلالات سريرية فقط (*Pseudomonas aeruginosa*، *Klebsiella* sp.، و (*Serratia* sp.) تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات للزيت العطري باستخدام طريقة "الميكروأتموسفير"، وقد أظهر تأثيراً ملحوظاً على *Candida albicans* ATCC10231. وقد تم استخدام طريقة التخفيف في الوسط السائل لتحديد التركيزات المثبطة الدنيا (MIC)، والقاتلة للبكتيريا (MBC)، والقاتلة للفطريات (MFC) بالنسبة للمستخلص الميثانولي من *Thymus vulgaris*، تراوحت قيم MIC من 0.195 إلى 3.125 ملغم/مل، وبلغت قيمة MBC و MFC 12.5 ملغم/مل. أما بالنسبة للزيت العطري، فقد تراوحت قيم MIC بين 3.125 و 25 ميكرو لتر/مل، وكانت كل من MBC و MFC ثابتة عند 25 ميكرو لتر/مل. لم يُلاحظ أي نشاط مضاد للميكروبات عند التركيزات المختبرة للمستخلص المائي. وفي الختام، تبرز هذه النتائج الفعالية المحتملة للمستخلص الميثانولي والزيت العطري لنبتة *Thymus vulgaris* كمضادات ميكروبية طبيعية واعدة، مما يشير إلى أهميتهما في مكافحة بعض العدوى الميكروبية، في حين أظهر المستخلص المائي فعالية محدودة.

**الكلمات المفتاحية:** النشاط المضاد للميكروبات، المستخلص المائي، المستخلص الميثانولي، الزيت العطري، *Thymus vulgaris*

# Table des matières

<b>Résumé</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>المخلص</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des abreviations</b>	
<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I- Synthèse Bibliographique .....</b>	<b>3</b>
I-1. La famille des Lamiacées .....	3
I-2. Caractéristiques de <i>Thymus vulgaris</i> .....	3
I-2.1. Définition.....	3
I-2.2. Description morphologique .....	3
I-2.3. Classification taxonomique .....	4
I-2.4. Habitat et culture .....	4
I-2.5. Répartition géographique .....	5
I-2.6. Usages.....	5
I-3. Les extraits de <i>Thymus vulgaris</i> .....	6
I-4. Huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> .....	7
<b>Chapitre II- Partie expérimentale.....</b>	<b>9</b>
II-1. Matériel et méthodes.....	9
II-1.1 Matériel biologique .....	9
II-1.2 Extraction méthanolique .....	9
II-1.3 Extraction aqueuse .....	10
II-1.4 Calcul du rendement de l'extraction .....	11
II-1.5 Extraction de l'huile essentielle .....	11
II-1.6 Calcul du rendement de l'huile essentielle.....	11
II-1.7 Etude de l'activité antimicrobienne.....	12
II-1.8 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	13
II-1.9 Détermination de la concentration minimale bactéricide/fongicide (CMB/CMF) .	13
II-2. Résultats et discussion .....	14
II-2.1 Résultats de l'extraction.....	14
II-2.1.1 Rendement de l'extraction méthanolique et aqueuse .....	14
II-2.1.2 Rendement de l'extraction de l'huile essentielle.....	14
II-2.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne .....	15

II-2.2.1 Extrait méthanolique et aqueux de <i>T. vulgaris</i> .....	16
II-2.2.2 Huile essentielle de <i>T. vulgaris</i> .....	18
II-2.3 Résultats de la détermination de la CMI et de la CMB .....	20
II-2.3.1 Extrait méthanolique .....	20
II-2.3.2 Extrait aqueux .....	22
II-2.3.3 L'huile essentielle .....	23
<b>Conclusion .....</b>	<b>27</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>28</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Classification botanique de <i>Thymus vulgaris</i> .....	4
<b>Tableau II</b> : Les souches microbiennes utilisées dans l'étude .....	9
<b>Tableau III</b> : Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition des extraits de <i>T.vulgaris</i> .....	16
<b>Tableau IV</b> : Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition de l'HE de <i>T.vulgaris</i> .....	18
<b>Tableau V</b> : Valeurs des paramètres antimicrobiens de l'extrait Mq de <i>T.vulgaris</i> exprimées en mg/ml :.....	21
<b>Tableau VI</b> : Valeurs des paramètres antimicrobiens de l'huile essentielle de <i>T.vulgaris</i> exprimées en µg/ml : .....	24

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Aspect morphologique de <i>Thymus vulgaris</i> .....	4
<b>Figure 2</b> : Répartition de <i>Thymus vulgaris</i> dans différentes régions en Algérie .....	5
<b>Figure 3</b> : Thymol.....	7
<b>Figure 4</b> : Carvacrol.....	7
<b>Figure 5</b> : Linalol .....	8
<b>Figure 6</b> : Acide rosmarinique.....	8
<b>Figure 7</b> : Filtration de l'extrait méthanolique.....	10
<b>Figure 8</b> : Rotavapor.....	10
<b>Figure 9</b> : Filtration de l'extrait aqueux.....	10
<b>Figure 10</b> : Agitation du mélange.....	10
<b>Figure 11</b> : Extraction de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> par hydrodistillation.....	11
<b>Figure 12</b> : Huile essentielle de <i>T.vulgaris</i> récupérée par hydrodistillation .....	14
<b>Figure 13</b> : Diagramme de rendement d'extraction de <i>T.vulgaris</i> .....	14
<b>Figure 14</b> : Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits de <i>Thymus vulgaris</i> .....	16
<b>Figure 15</b> : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de <i>T.vulgaris</i> .....	18
<b>Figure 16</b> : Résultats de la détermination de la CMI de l'extrait méthanolique de <i>T.vulgaris</i>	20
<b>Figure 17</b> : Résultats de la détermination de la CMB de l'extrait méthanolique de <i>T.vulgaris</i>	21
<b>Figure 18</b> : Résultats de la détermination de la CMI de l'extrait aqueux de <i>T.vulgaris</i> .....	22
<b>Figure 19</b> : Résultats de la détermination de la CMI de l'HE de <i>T.vulgaris</i> .....	23
<b>Figure 20</b> : Résultats de la détermination de la CMB de l'HE de <i>T.vulgaris</i> .....	24

## Liste des abréviations

**ATCC** : American Type Culture Collection

**BN** : Bouillon Nutritif

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide

**C°** : Degré Celsius

**CMF** : Concentration Minimale Fongicide

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**Extrait Mq** : Extrait méthanolique

**Extrait Aq** : extrait aqueux

**GN** : gélose nutritif

**HE** : Huile essentielle

**mm** : Millimètre

**ml** : Millilitre

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

***T.vulgaris*** : *Thymus vulgaris*

**µg** : Microgramme

**µl** : Microlitre

# **Introduction**

## Introduction

Les infections d'origine microbienne restent une menace sérieuse pour la santé publique, et leur fréquence est en constante augmentation (**Hulin et al., 1998**). L'usage intensif voire abusif des antibiotiques, tant en médecine humaine qu'en élevage, a favorisé l'émergence de souches bactériennes résistantes (**Mebarki, 2010 ; Yakhlef, 2010 ; Kahlouch Riachi, 2014**). Cette résistance, aujourd'hui largement répandue à l'échelle mondiale, représente un défi majeur pour les systèmes de santé (**Akoua et al., 2004 ; Guessennnd et al., 2008 ; Abdelli, 2017**). Face à cette problématique, la recherche se tourne vers des alternatives thérapeutiques plus sûres et efficaces. Les huiles essentielles ou les extraits bruts, riches en molécules naturelles bioactives, suscitent un intérêt de multiples études pour leur éventuelle utilisation comme alternative dans le traitement des maladies infectieuses (**Mebarki, 2010 ; Boughendjioua, 2015**).

L'usage des plantes médicinales est profondément enraciné dans l'histoire des civilisations et a évolué avec elles. À travers le monde, les traces laissées par les sociétés anciennes témoignent de l'importance constante accordée à ces végétaux, que ce soit à des fins thérapeutiques, pour la fabrication de parfums ou dans la cuisine. D'après un rapport de l'Organisation mondiale de la santé (**OMS, 2013**), près de 80 % de la population mondiale a encore recours à la médecine traditionnelle pour répondre à ses besoins en matière de santé. Les plantes médicinales occupent désormais une place essentielle dans la recherche pharmacologique et le développement de médicaments. Leur intérêt ne se limite pas à l'utilisation directe de leurs composants comme agents thérapeutiques, mais s'étend également à leur rôle en tant que matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme sources d'inspiration pour la création de composés aux propriétés pharmacologiques actives (**OMS, 1998**). En Afrique, environ 6 377 espèces végétales sont recensées comme étant utilisées, dont plus de 4 000 sont des plantes médicinales. Celles-ci représentent près de 90% des pratiques de la médecine traditionnelle sur le continent (**OMS, 2002**).

Située au cœur du bassin méditerranéen, l'Algérie bénéficie d'une position géographique stratégique qui lui confère une végétation exceptionnellement riche et diversifiée. Son territoire abrite une flore spontanée composée de nombreuses espèces de plantes aromatiques, notamment celles de la famille des Lamiacées, reconnues pour leur richesse en métabolites secondaires (**Snoussi et al., 2003**). Cette famille regroupe des plantes largement utilisées telles que le thym, le romarin, la lavande ou la menthe, toutes appréciées pour leurs propriétés thérapeutiques. La grande diversité des taxons végétaux représente ainsi une ressource précieuse pour la recherche ciblée de composés bioactifs (**Taïbi et al., 2020**). Parmi les genres les plus étudiés au sein des Lamiacées, *Thymus* se distingue par sa complexité taxonomique,

son fort polymorphisme morphologique, ainsi que par la composition variable de ses huiles essentielles (**Madouni, 2023**). Ce genre comprend plusieurs espèces, dont *Thymus vulgaris*, reconnues pour leur potentiel antimicrobien. Les huiles essentielles issues de ces plantes ont démontré une activité contre une grande variété de bactéries, y compris celles résistantes aux antibiotiques. Cependant, cette efficacité peut varier selon la nature de l'huile essentielle et la souche bactérienne ciblée (**Kalemba et Kunicka, 2003**).

L'objectif de notre travail, est d'évaluer *in vitro* l'effet antimicrobien de l'huile essentielle et des extraits des feuilles de *Thymus vulgaris* contre des souches pathogènes. Il s'agira également de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) et fongicide (CMF).

Ce manuscrit est divisé en deux parties, la première représente une synthèse bibliographique qui décrit la plante. La deuxième partie est consacrée au matériel et aux méthodes ainsi qu'aux résultats et discussion. Enfin le manuscrit est conclu par une conclusion.

# **Chapitre I- Synthèse Bibliographique**

## Chapitre I- Synthèse Bibliographique

### I-1. La famille des Lamiacées

Les *Lamiaceae*, également appelées Labiées (du latin *labia*, signifiant « lèvre » en référence à la forme bilabiée de leurs fleurs), constituent une famille botanique riche et bien caractérisée (Couplan, 2000 ; Naghibi et al., 2005). Elle regroupe environ 6970 espèces réparties en quelque 240 genres (Meyer et al., 2004). Il s'agit de l'une des premières familles identifiées par les botanistes, grâce à des traits morphologiques distinctifs (Pistrick, 2002).

Ces plantes, le plus souvent herbacées et aromatiques, se distinguent par leurs tiges quadrangulaires et leurs feuilles opposées, généralement dépourvues de stipules. Les fleurs, généralement hermaphrodites et pentamères (Meyer et al., 2004), sont regroupées en cymes axillaires contractées ou en inflorescences terminales simulant des épis. Le fruit est typiquement composé de quatre akènes partiellement soudés par leur face interne (Messaili, 1995).

En Algérie, cette famille occupe une place importante dans la flore locale. Toutefois, la détermination de certains genres peut s'avérer complexe en raison de la grande variabilité morphologique des espèces (Hammoudi, 2015).

Les *Lamiaceae* se caractérisent également par la présence fréquente de poils glanduleux et de glandes sous-épidermiques, responsables de leur forte odeur. Ces plantes sont en effet majoritairement riches en huiles essentielles, ce qui explique leur caractère fortement aromatique (Zeghib, 2013).

### I-2. Caractéristiques de *Thymus vulgaris*

#### I-2.1. Définition

Le terme "*Thymus*" tire son origine du grec « *thymon* », signifiant "parfum", en référence à l'agréable senteur que cette plante dégage naturellement ou lorsqu'elle est brûlée (Zeghib, 2013). Parmi les Lamiacées, l'espèce la plus emblématique est *Thymus vulgaris* (Amiot, 2005), nommée ainsi par Carl von Linné en 1753, et toujours reconnue sous cette appellation dans les classifications scientifiques actuelles. Elle se distingue par ses propriétés aromatiques et médicinales multiples (Tamert et al., 2017). En français comme en anglais, le nom du genre – "thym" ou "thyme" – est couramment utilisé pour désigner spécifiquement *Thymus vulgaris*. En Algérie, cette plante est connue sous le nom de "zaaitra" (Teuscher et al., 2005).

#### I-2.2. Description morphologique

*Thymus vulgaris* est un petit sous-arbrisseau vivace (Figure 1), aromatique et touffu, atteignant généralement une hauteur de 20 à 30 cm (Benbouali, 2006). Ses tiges, ligneuses à la base et herbacées dans leur partie supérieure, présentent une forme presque cylindrique. Les feuilles, très petites et ovales, ont les bords enroulés vers le dessous, des nervures latérales bien

marquées, des pétioles très courts et une face inférieure blanchâtre. Les fleurs, quant à elles, sont de couleur rose pâle à blanche, mesurent entre 4 et 6 mm de long, sont pédicellées et regroupées généralement par trois à l'aisselle des feuilles supérieures (**Cheurfa, 2015**).



**Figure 1** : Aspect morphologique de *Thymus vulgaris* (**Saint Savourin, 2005**)

### I-2.3. Classification taxonomique

La situation botanique de l'espèce *Thymus vulgaris* est donnée dans le tableau I

**Tableau I** : Classification botanique de *Thymus vulgaris* (**Goetz et Ghédira, 2012**)

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta
Sous embranchement	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris</i>

### I-2.4. Habitat et culture

Le *Thymus vulgaris*, espèce caractéristique des garrigues, se développe particulièrement bien dans les régions calcaires et rocheuses, jusqu'à une altitude de 2500 mètres (**Pitman, 2004 ; Polese, 2006**). Il favorise les terrains légers, correctement drainés, arides ou perméables, légèrement alcalins, constamment exposés au soleil, et modérément pourvus en matière organique et en minéraux nutritifs (**Rey, 1990 ; Small et Deutsch, 2001 ; Peter, 2004**). Cette plante ne peut survivre dans des sols lourds et saturés d'eau, ce qui compromet sa survie. Elle est capable de se développer dans une gamme de pH qui va de 4,5 à 8,0 et s'acclimata à

divers types de climats tant que la température annuelle moyenne reste entre 7 et 20 °C (Small et Deutsch, 2001 ; Peter, 2004).

## I-2.5. Répartition géographique

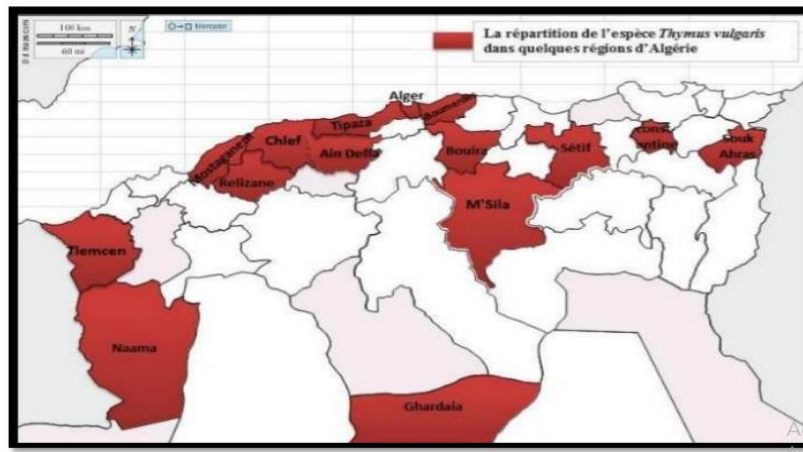
### I-2.5.1. Dans le monde

Le thym est largement distribué à travers l'Europe, l'Asie occidentale et la région méditerranéenne. Il est particulièrement présent en Afrique du Nord-Ouest (Maroc, Tunisie, Algérie, Libye), dans les massifs montagneux d'Éthiopie et du sud-ouest de la péninsule Arabique, ainsi que dans la région du Sinaï en Égypte (Abdelli, 2017). On le retrouve également dans les régions macaronésiennes (îles Canaries, Madère, Açores), dans l'Himalaya, et jusqu'aux zones tropicales et au Japon.

La Méditerranée occidentale est reconnue comme le berceau du genre *Thymus*, et plus spécifiquement, l'espèce *Thymus vulgaris* est originaire du sud de l'Europe, de l'Espagne à l'Italie (Morales, 1997 ; Peter, 2004).

### I-2.5.2. En Algérie

Parmi les plus de 300 espèces de thym recensées à travers le monde, 12 sont présentes en Algérie, dont 9 sont endémiques au pays. Ces espèces se répartissent sur l'ensemble du territoire national, allant du nord algérois à l'Atlas saharien, ainsi que des régions du Constantinois jusqu'à l'Oranais (Abdelli, 2017).



**Figure 2 :** Répartition de *Thymus vulgaris* dans différentes régions en Algérie (Abdelli, 2017)

## I-2.6. Usages

*Thymus vulgaris* est particulièrement utilisé dans les domaines alimentaire et médicinal traditionnel (Adwan et al., 2006). Son huile essentielle est très appréciée en aromathérapie et entre dans la composition de nombreux produits des industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Tisserand, 2014).

En usage interne, les parties aériennes du thym sont consommées en infusion ou en décoction pour traiter des troubles digestifs, la toux, les infections respiratoires, les rhumes et les affections urinaires (**Hashim et Gamil, 1988 ; Polese, 2006**). En application externe, elles sont utilisées pour soulager les inflammations telles que les rhumatismes, les douleurs musculaires, les piqûres d'insectes ou autres douleurs locales (**Namsa et al., 2009**).

Le thym peut également être utilisé par inhalation, bain de bouche ou comme additif de bain pour stimuler la circulation sanguine et apaiser les états de fatigue ou de dépression nerveuse (**Özcan et Chalchat, 2004 ; Polese, 2006**). Son huile essentielle est couramment intégrée dans diverses préparations pharmaceutiques, telles que des pommades antiseptiques, des émulsions, ainsi que dans des gouttes, sirops ou gélules destinés au traitement des troubles respiratoires (**Zarzuelo et Crespo, 2002 ; Tiwari et Tandon, 2004**).

### **I-3. Les extraits de *Thymus vulgaris***

La famille des Lamiacées est fréquemment exploitée pour l'extraction de composés actifs d'intérêt (**Gedikoğlu, 2019**), ils peuvent être obtenus par différentes méthodes d'extraction, telles que la macération en utilisant des solvants comme l'eau ou le méthanol. La composition chimique de chaque extrait varie en fonction de la méthode d'extraction et du solvant employé (**Yakhlef, 2011**).

#### **I-3.1 Les polyphénols**

Les polyphénols sont des métabolites secondaires végétaux multiphénoliques, abondants dans des plantes comme *Thymus vulgaris* (**Kulšić et al., 2005**), où ils comprennent principalement les flavonoïdes et les acides phénoliques (acide rosmarinique, caféique), connus pour leurs puissantes propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (**Chira et al., 2008**).

#### **I-3.2 Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques largement présents dans *Thymus vulgaris*, notamment l'apigénine, la lutéoline, la quercétine et leurs dérivés glycosylés (**Harborne & Williams, 2000 ; Dapkevicius et al., 2002**). Ce sont des pigments végétaux cristallins, généralement jaunes, connus pour leurs puissantes propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (**Pietta, 2000 ; Middleton et al., 2000**). Ils agissent notamment en neutralisant les radicaux libres et en modulant l'activité enzymatique liée au stress oxydatif.

#### I-4. Huile essentielle de *Thymus vulgaris*

Une huile essentielle est un mélange naturel complexe composé de métabolites secondaires volatils, lipophiles et aromatiques, généralement sous forme liquide, présents dans des tissus végétaux spécialisés (Bruneton, 1993 ; Kalemba et Kunicka, 2003). L'huile essentielle de plante est essentiellement composée de :

##### I-4.1. Thymol

Le thymol (2-isopropyl-5-méthylphénol) est un phénol monoterpénoïde, principal composé présent dans *Thymus vulgaris* ainsi que dans d'autres plantes appartenant à la famille des Lamiacées (Buckingham, 1994). C'est un composé cristallin de couleur blanche, à l'odeur aromatique, qui possède de fortes propriétés antiseptiques, antioxydantes, antibactériennes et antifongiques (Aeschbach et al., 1994 ; Cosentino et al., 1999 ; Venturini et al., 2012).

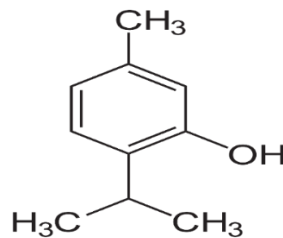


Figure 3 : Thymol (Aly et al., 2005)

##### I-4.2. Carvacrol

Le carvacrol (5-isopropyl-2-méthylphénol ; poids moléculaire 150,21) est également un phénol monoterpénoïde que l'on retrouve dans l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* ainsi que dans de nombreuses autres herbes et épices aromatiques. De nombreuses activités biologiques ont été attribuées au carvacrol, notamment des effets antithrombotiques (Enomoto et al., 2001), anti-inflammatoires (Sosa et al., 2005), antimicrobiens (Ben Arfa et al., 2006), ainsi qu'une capacité d'inhibition de l'acétylcholinestérase (Jukic et al., 2007).

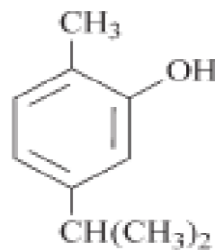
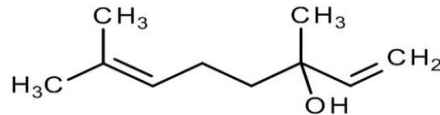


Figure 4 : Carvacrol (De Vincenzi et al, 2004)

### I-4.3. Linalol

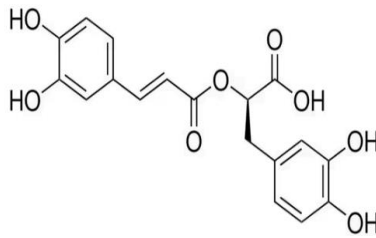
Le linalol est un alcool monoterpénique qui constitue l'un des principaux composants volatils dans les huiles essentielles de plusieurs espèces de plantes aromatiques, y compris *Thymus vulgaris* (Elisabetsky *et al.*, 1995). Des études ont montré que ce composé possède des effets antiviraux, anti-inflammatoires, antioxydants, antinociceptifs, ainsi que des propriétés analgésiques et anesthésiques locales.



**Figure 5 : Linalol (Bagetta et al, 2010)**

### I-4.4. Acide rosmarinique

L'acide rosmarinique (acide 3,4-dihydroxyphényllactique) est présent dans *Thymus vulgaris* ainsi que dans de nombreuses autres plantes de la famille des Lamiacées. Il possède des propriétés antimutagènes, antioxydantes, anti-inflammatoires, antivirales et antiallergiques. (Parnham and Kesselring, 1985).



**Figure 6 : Acide rosmarinique (Petersen and Simmonds, 2003)**

## **Chapitre II**

### **Partie expérimentale**

## II-1. Matériel et méthodes

### II-1.1 Matériel biologique

#### II-1.1.1 La plante

La plante *Thymus vulgaris* a été achetée chez un herboriste au mois de février 2025 dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj.

Les feuilles de *Thymus vulgaris* ont été séchées à l'ombre, pendant deux semaines et broyées à l'aide d'un moulin électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine pour faciliter le contact de matières végétales et solvant d'extraction.

#### II-1.1.2 Les microorganismes

Les souches pathogènes utilisées dans cette étude sont des souches de références appartenant à la collection du laboratoire de microbiologie de BBA, et des souches cliniques qui ont été récupérées au niveau du laboratoire d'analyse médical de l'hôpital Bouzidi Lakhder à Bordj Bou Arreridj (Tableau II).

**Tableau II** : Les souches microbiennes utilisées dans l'étude

Souche	Référence	Type
<i>Escherichia coli</i>	Clinique (ECBU)	Gram négatif
<i>Serratia sp.</i>	Clinique (pus)	Gram négatif
<i>Klebsiella sp.</i>	Clinique (pus)	Gram négatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Clinique (ECBU)	Gram négatif
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 49532	Gram positif
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Gram positif
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	Gram positif
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	Levure

#### II-1.2 Extraction méthanolique

L'extraction a été faite par macération de 12,5g de matière végétale (poudre de feuilles) dans 250ml de méthanol, sous agitation pendant 24 heures, puis l'ensemble a été filtré sur papier Wathman (figure 7). Le solvant du filtrat a été éliminé à l'aide d'un rotavapor à 40°C (figure 8) pour récupérer l'extrait méthanolique brut (Tamert, 2017).



**Figure 7 :** Filtration de l'extrait méthanolique



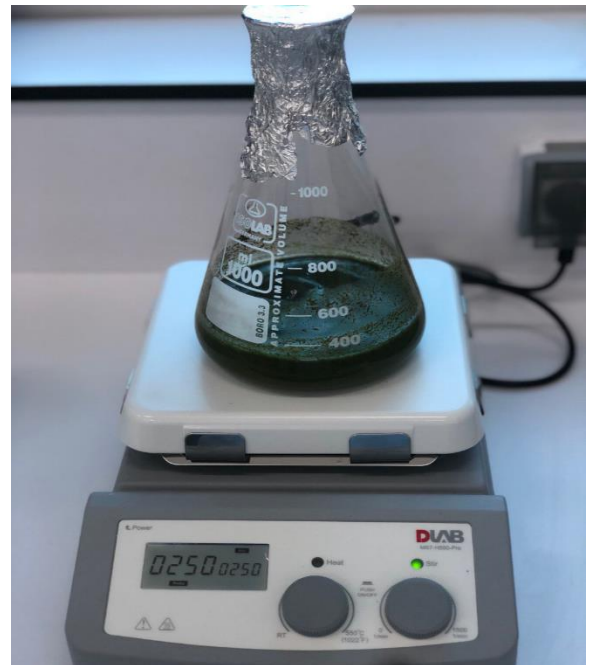
**Figure 8 :** Rotavapor

### II-1.3 Extraction aqueuse

Une quantité de 25g de poudre de feuilles a été mise à macérer sous agitation à température ambiante dans 250ml d'eau distillée pendant 24 heures, puis filtrée sur papier Wathman (figure 9 et 10). L'eau a été par la suite éliminée à l'aide du rotavapor à 40°C (Yakhlef, 2011).



**Figure 9 :** Filtration de l'extrait aqueux



**Figure 10 :** Agitation du mélange

### II-1.4 Calcul du rendement de l'extraction

Le rendement de l'extraction a été déterminé par le rapport entre la masse de l'extrait obtenu et la masse de la matière première végétale utilisée, selon la formule suivante (AFNOR, 1986) :

$$R (\%) = (M_1 / M_0) \times 100$$

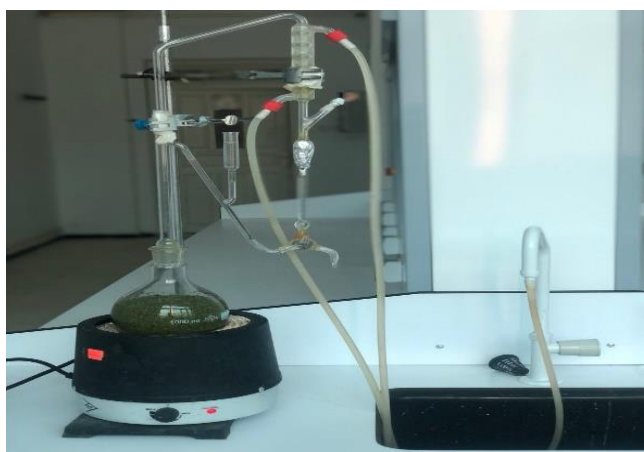
R : Rendement de l'extraction en %

M<sub>1</sub> : Masse en gramme de l'extrait obtenu

M<sub>0</sub> : Masse en gramme de la matière végétale initiale

### II-1.5 Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger (figure 11). Avant son utilisation, le dispositif a été soigneusement nettoyé afin d'éliminer toute trace de poussière ou de corps gras susceptibles de contaminer l'huile essentielle durant le processus d'extraction (Touré, 2015). 180g de feuilles de *Thymus vulgaris* ont été placés dans un ballon de 1 litre contenant de l'eau distillée. Le mélange a ensuite été porté à ébullition pendant trois heures à l'aide d'un chauffe-ballon. Les vapeurs contenant l'huile essentielle passent à travers un réfrigérant, où elles se condensent avant de s'écouler dans une ampoule de décantation. L'huile se sépare naturellement de l'eau en raison de la différence de densité. Le produit obtenu est ensuite stocké à 4 °C dans des tubes en verre opaques, hermétiquement fermés, afin de le protéger de la lumière et de l'oxygène jusqu'à son utilisation (Mebarki, 2010 ; Abdelli, 2017).



**Figure 11** : Extraction de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* par hydrodistillation (photo personnelle)

### II-1.6 Calcul du rendement de l'huile essentielle

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal utilisé, il est exprimé en pourcentage et calculé par la méthode suivante (Afnor, 2000).

$$\text{RHE} = \text{M}'/\text{M}. (100)$$

RHE : rendement en huiles essentielles.

M' : masse d'huiles essentielles obtenu en gramme.

M : masse du matériel végétal utilisée en gramme.

### **II-1.7 Etude de l'activité antimicrobienne**

De nombreuses méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits peuvent être utilisées, qui peuvent parfois donner des résultats divergents en fonction des conditions expérimentales choisies par chaque opérateur (**Suhr et Nielsen, 2003**).

#### **II-1.7.1 Méthode de l'aromatogramme (Technique de Vincent)**

Dans la présente étude, la méthode de diffusion sur agar a été utilisée pour mettre en évidence l'activité des extraits. Une méthode basée sur le principe de l'antibiogramme (**NCCLS, 1997**).

À l'aide d'une pince stérile, des disques de papier Wathman stériles de 6mm de diamètre, contenant 20µL de chaque extrait sont placés sur une gélose nutritive préalablement inoculée par inondation avec la suspension microbienne de chaque souche. Les boîtes de Pétri ont été ensuite fermées et laissées diffuser au réfrigérateur pendant 1h avant d'être incubées à 37°C pendant 24h (**Yakhlef, 2010**).

La mesure du diamètre de la zone d'inhibition créée autour de chaque disque permet d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits. L'importance des diamètres des zones indique l'effet des extraits sur les souches examinées (**Abdelli, 2017**). Les essais ont été effectués en double.

#### **II-1.7.2 Méthode en phase vapeur (Microatmosphère)**

Dans le but d'apprécier les propriétés antimicrobiennes de la phase volatile de l'HE cette méthode a été utilisée, ce qui la distingue de l'aromatogramme réside principalement dans la position du disque imprégné.

À l'aide d'une pince stérile, des disques de papier Wathman stériles de 6mm de diamètre, contenant 10µL d'HE sont placés au centre du couvercle de la boîte Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé préalablement inoculée par inondation avec la suspension microbienne de chaque souche.

L'incubation et la lecture des résultats ont été menées de la même manière que la première méthode (Aromatogramme). La boîte est fermée avec le couvercle en bas et mise à l'étuve à température adéquate 37°C pendant 24 heures. Il se produit alors une évaporation des

substances qui, en contact avec les microorganismes ensemencés sur la gélose, va inhiber leur croissance (**Boukhatem et al., 2014**). Les essais ont été effectués en double.

### **II-1.8 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

Cette méthode implique l'inoculation d'une série de concentrations décroissantes d'huile essentielle et d'extraits de *Thymus vulgaris* à l'aide d'un inoculum standardisé. L'observation de la gamme post-incubation permet d'atteindre la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui représente la concentration minimale en huile essentielle et en extraits capable d'empêcher la croissance microbienne (**Touhami, 2017**).

Une solution mère d'extrait méthanolique et aqueux (d'une concentration finale de 50 mg/ml) est obtenue en bouillon nutritif, puis une série de dilutions de raison géométrique 2 a été réalisée en prélevant 0,5 ml de chaque tube. La gamme de concentrations finales ainsi obtenue correspond à 12,5 3,125-0,78-0,195 et 0,048 mg/ml. Un témoin a été également préparé (BN) pour la comparaison des résultats (**Yakhlef, et al., 2011**).

En ce qui concerne l'huile essentielle une solution mère d'une concentration finale de 100 µl/ml est obtenue en bouillon nutritif, puis une série de dilutions de raison géométrique 2 est réalisée. La gamme de concentrations finales ainsi obtenue correspond à 50-25-12,5-6,25 et 3.125 µl/ml.

### **II-1.9 Détermination de la concentration minimale bactéricide/fongicide (CMB/CMF)**

La CMB/CMF représente la concentration minimale en huile essentielle ou extrait capable d'éliminer plus de 99,9 % de la population microbienne initiale (ce qui correspond à moins de 0,01 % de survivants). Elle caractérise l'effet bactéricide ou fongicide d'une huile essentielle ou d'un extrait (**Touhami, 2017**).

Le contenu des tubes dans lesquels aucun trouble n'a été observé, a servi à ensemencer la gélose nutritive et ce, par des stries à l'aide d'un écouvillon en commençant par le tube correspondant à la CMI. La boîte de Pétri est ensuite incubée à 37°C pendant 24h. La boîte où aucune croissance bactérienne/fongique n'est apparue correspond à la CMB/CMF.

## II-2. Résultats et discussion

### II-2.1 Résultats de l'extraction

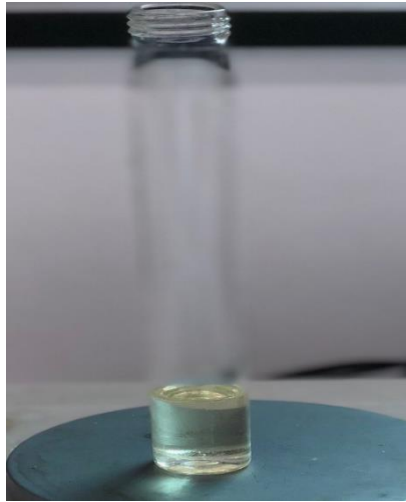
On définit les rendements des extraits comme la proportion entre la quantité de substances végétales obtenues et la quantité de matière végétale exploitée. Les rendements obtenus dans cette étude sont présentés sur le diagramme (figure 13).

#### II-2.1.1 Rendement de l'extraction méthanolique et aqueuse

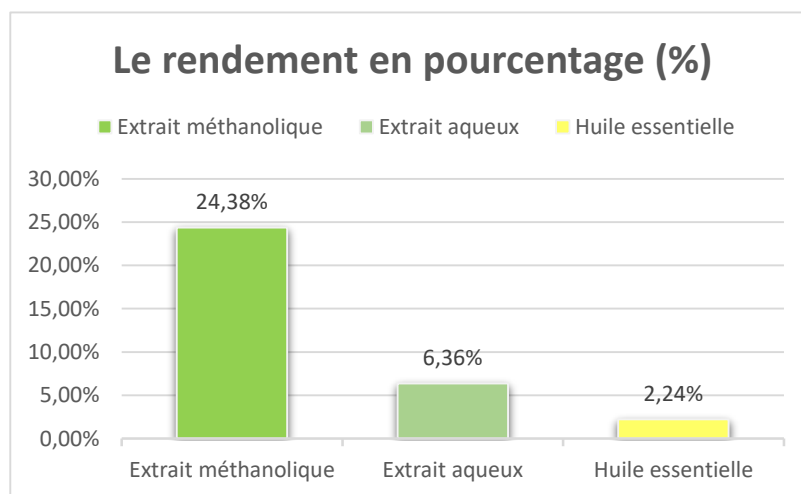
Le rendement obtenu en extrait méthanolique des feuilles sèches du *T. vulgaris* était de 24,38%, tandis que celui de l'extrait aqueux était de 6,36%.

#### II-2.1.2 Rendement de l'extraction de l'huile essentielle

Une quantité suffisante en HE est récupérée avec un taux de 2,24%, de couleur jaune pâle (Figure12) et d'une odeur aromatique très forte.



**Figure 12 :** Huile essentielle de *T.vulgaris* récupérée par hydrodistillation



**Figure 13 :** Diagramme de rendement d'extraction de *T.vulgaris*

Le genre *Thymus* est réputé pour son taux élevé en huile essentielle par rapport à de nombreuses autres plantes. En effet, une étude réalisée en 2017 par Abdelli, a permis d'obtenir des rendements moyens en huiles essentielles à partir des feuilles sèches de *T. vulgaris* de Tlemcen et de Mostaganem atteignant respectivement 4,2 et 2,2%, ce qui est identique à nos résultat (avec le thym de Mostaganem 2.2%). Une autre étude réalisée par **Brada et al., (2009)** sur l'espèce provenant de Chlef située au nord-ouest de l'Algérie, a montré également un rendement très proche du notre et qui est de l'ordre de 2,6%. D'autre part, des résultats inférieurs ont été obtenus par *T. vulgaris* récoltée au nord du pays et plus exactement, à Blida et Boumerdes correspondant à des taux respectifs de 1,58% (**Bouguerra et al., 2017**) et 1,1% (**Oulebsir-Mohandkaci et al., 2015**). En dehors de l'Algérie, **Badi et al., (2004)** ont observé une production supérieure d'huile essentielle pour le thym de Jordanie, atteignant 5,40%. Alors que des taux plus bas ont été observés en Iran (1,87%) (**Kazemi et al., 2012**), au Mexique (1,7%) (**Soto-Medivil et al., 2006**), au Maroc (1,0%) (**Imelouane et al., 2009 ; El-Akhal et al., 2015**) et en Inde (0,3%) (**Syamasundar et al., 2008**).

En étant primordiale en termes de rendement et de qualité de l'huile essentielle le choix de la période de récolte définit les variations du rendement des huiles essentielles. D'autres facteurs peuvent également avoir un impact tels que la zone géographique de collecte, le climat, la génétique de la plante, l'organe utilisé, le stade de développement, le degré de fraîcheur, la période de séchage, la méthode ainsi que le matériel d'extraction utilisés (**Benbouali, 2006 ; Touré, 2015 ; Abdelli, 2017**).

## II-2.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne

Le présent travail s'intéresse à l'étude de l'effet antimicrobien des extraits (Aq et Mq) et de l'HE d'une plante médicinale, il s'agit du thym (*Thymus vulgaris*), vis-à-vis de sept espèces bactériennes et une levure.

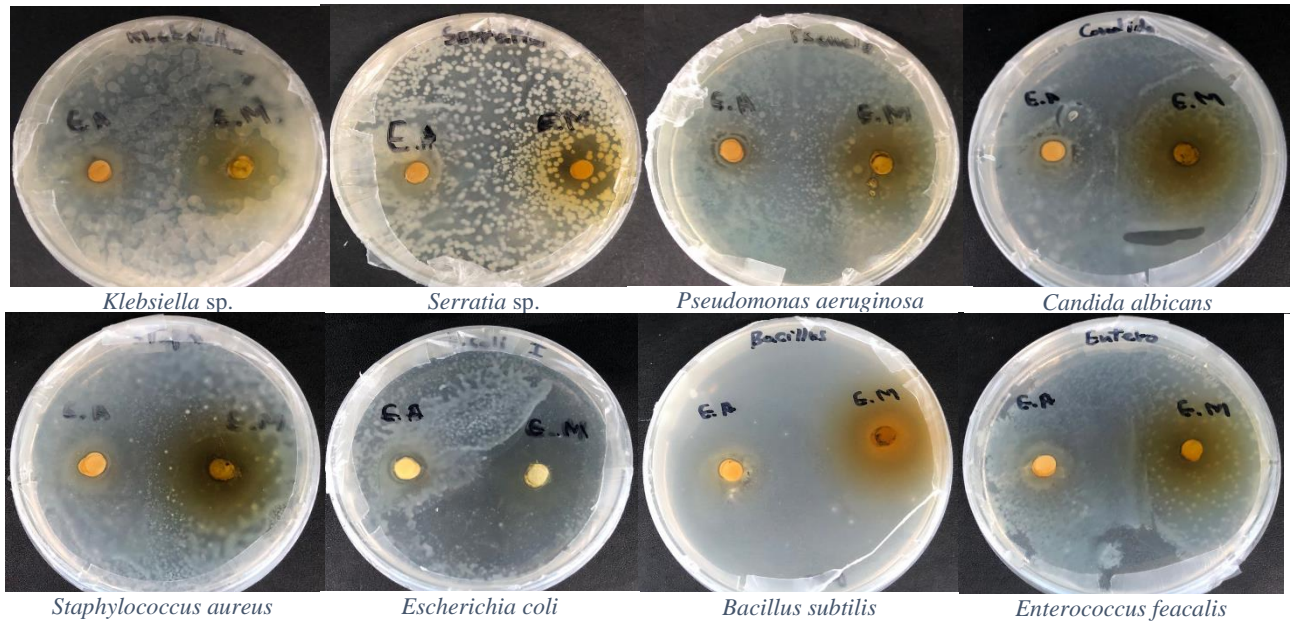
L'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imbibé des extraits examinés. La zone d'inhibition varie d'une bactérie à l'autre ainsi que d'un extrait à un autre.

D'après **Ponce et al., (2003)** ainsi que **Moreira et al., (2005)**, la sensibilité des micro-organismes est déterminée par le diamètre des halos d'inhibition de la manière suivante :

- Non sensible (-) pour les diamètres inférieurs à 8 mm
- Sensible (+) pour les diamètres variant de 9 à 14 mm
- Très sensible (++) pour les diamètres allant de 15 à 19 mm
- Extrêmement sensible (+++) pour les diamètres supérieurs à 20 mm.

### II-2.2.1 Extrait méthanolique et aqueux de *T. vulgaris*

Les résultats obtenus concernant l'activité antimicrobienne des extraits (Aq et Mq) du Thym par la méthode de diffusion sur gélose sont montrés dans la figure 14.



**Figure 14 :** Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits de *Thymus vulgaris*

Les résultats du test de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* sur les souches pathogènes testées sont présentés dans le Tableau III ci-dessous.

**Tableau III :** Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition des extraits de *T. vulgaris*

Les microorganismes cibles	Diamètres des zones d'inhibition (mm)	
	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	18	0
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	25	0
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49532	17	0
<i>Escherichia coli</i>	14	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25	10
<i>Klebsiella sp.</i>	20	14
<i>Serratia sp.</i>	18	18

L'extrait méthanolique a montré une activité envers toutes les souches pathogènes testées à l'exception de *B. subtilis* ATCC6633, tandis que l'extrait aqueux possède une activité antibactérienne vis-à-vis de trois souches seulement (*Klebsiella sp.*, *Serratia sp.* et *Pseudomonas aeruginosa*).

Les résultats du tableau III montrent que les valeurs des zones d'inhibition pour l'extrait méthanolique du *T. vulgaris* varient de 14mm à 25mm et exerce un effet antibactérien très accentué sur la souche de référence *S. aureus* ATCC25923 et sur la souche clinique *P. aeruginosa* avec un diamètre d'inhibition de 25mm. Alors qu'*E. coli* est la plus résistante avec un diamètre d'inhibition de 14mm suivi d'*E. faecalis* ATCC49532, *Serratia* sp. et *Klebsiella* sp. avec des diamètres d'inhibition de 17mm, 18mm et 20mm respectivement.

D'autre part l'extrait aqueux semble inactif contre *B. subtilis* ATCC6633, *S. aureus* ATCC25923, *E. faecalis* ATCC49532 et *E. coli*, et montrent une activité vis-à-vis de *P. aeruginosa* et *Klebsiella* sp. avec des diamètres d'inhibition de 10mm, 14mm respectivement, on note également que *Serratia* sp. montre le même diamètre d'inhibition de 18mm pour les deux extraits méthanolique et aqueux.

En ce qui concerne la levure *C. albicans* ATCC10231 une zone d'inhibition de 18mm a été notée pour l'extrait méthanolique et aucun effet antimicrobien n'a été observé pour l'extrait aqueux.

Par ailleurs, nous avons comparé nos résultats obtenus des deux extraits Mq et Aq de *T. vulgaris* avec ceux d'**Essawi et Srour (2000)**, ces deux chercheurs ont enregistré une forte activité par rapport à nos résultats concernant l'extrait Aq : *S. aureus* ATCC25923 (27.5mm). **Yakhlef et al., (2011)** ont également trouvé des diamètres d'inhibition beaucoup plus élevés de 31.2mm jusqu'à 34mm avec l'extrait méthanolique. Cela est peut-être dû au fait que nous avons utilisé des méthodes d'extraction différentes.

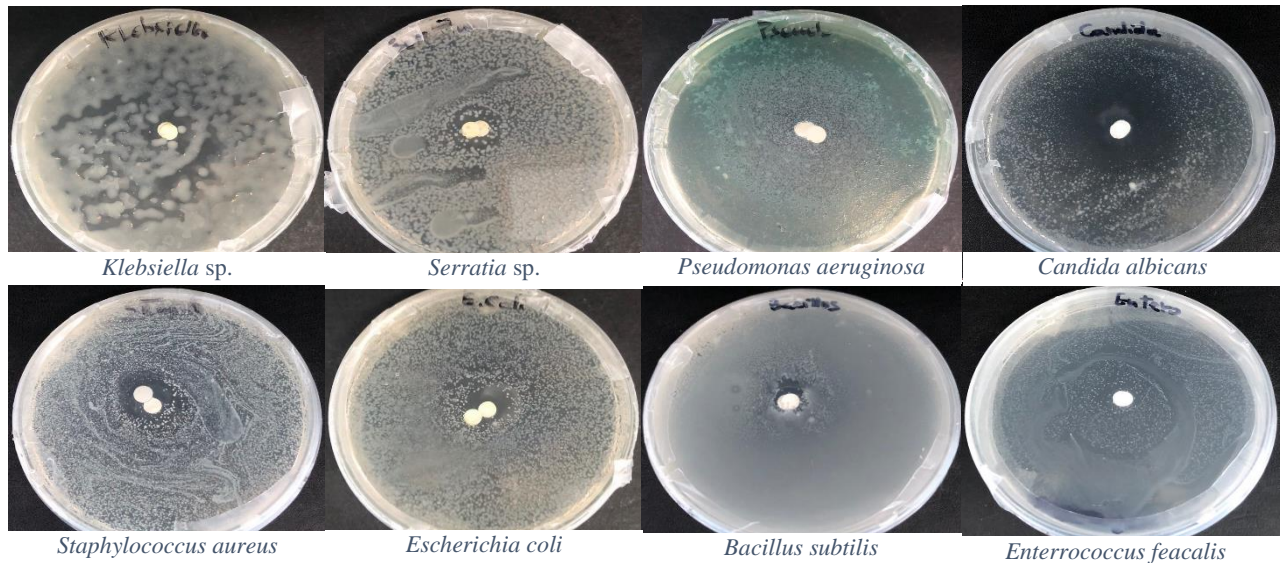
La souche *S. aureus* ATCC25923 Gram-positif, présente une sensibilité accrue par rapport aux autres souches bactériennes testées à Gram-négatif. Il n'est pas étonnant que ces bactéries soient résistantes, en réalité, elles possèdent une résistance naturelle aux agents biocides liée à la composition de leurs membranes externes. Ces dernières, constituées de lipopolysaccharides, formant une barrière étanche aux composés hydrophobes (**Yakhlef et al., 2011**). Malgré cela *P. aeruginosa* (Gram-négatif) montre une forte sensibilité tout comme *S. aureus* ATCC25923. Ces résultats indiquent clairement que la susceptibilité des bactéries n'est toujours pas liée au Gram, mais à plusieurs paramètres tels que ; le type de micro-organismes ciblés, la méthode d'évaluation de l'activité, le type et la concentration de l'extrait, la nature et la structure des molécules bioactives (**Hammoudi, 2015**).

Les extraits aqueux et méthanoliques issus de la même plante ont montré des activités différentes. Il n'existe pas de règle générale à ce sujet, mais dans la plupart des cas, les extraits organiques présentent une activité égale ou supérieure à celle des extraits aqueux (**Essawi et Srour 2000**).

L'action antimicrobienne des extraits végétaux est attribuée aux divers composés chimiques contenus dans ces derniers. Ainsi, les fluctuations dans l'activité antimicrobienne des extraits peuvent être expliquées par la variation de leur composition chimique. La performance optimale d'un extrait pourrait ne pas être attribuée à un ingrédient actif majeur, mais plutôt à l'effet combiné (synergie) de divers composants qui composent cet extrait (Essawi et Srour, 2000).

### II-2.2.2 Huile essentielle de *T. vulgaris*

Les résultats obtenus concernant l'activité antimicrobienne de l'HE de *T. vulgaris* par la méthode de microatmosphère sont montrés dans la figure 15.



**Figure 15** : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de *T.vulgaris*

Les résultats du test d'activité antimicrobienne exprimée par le diamètre de la zone d'inhibition de l'HE de *Thymus vulgaris* sur des souches pathogènes testées, sont représentés dans le Tableau IV.

**Tableau IV** : Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition de l'HE de *T.vulgaris*

Les microorganismes cibles	Diamètre des zones d'inhibition (mm)
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	30
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	15
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC49532	0
<i>Escherichia coli</i>	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0
<i>Klebsiella</i> sp.	10
<i>Serratia</i> sp.	15

L'huile essentielle de *T. vulgaris* représente une activité antimicrobienne intéressante vis-à-vis des bactéries et la levure *C. albicans* ATCC10231 testées sauf vis-à-vis d'*E. faecalis* ATCC49532 et de *P. aeruginosa*, qui peut être lié à leur grande capacité à développer des résistances vis-à-vis de nombreuses substances anti microbiennes d'où leur implication fréquente dans les infections hospitalières (Mann et al., 2000). De nombreux auteurs mentionnent la sensibilité réduite des souches de *P. aeruginosa* à l'huile essentielle de *T. vulgaris* (Thuille et al., 2003 ; Bouhdid et al., 2006). Par comparaison entre les souches pathogènes, les bactéries les moins sensibles sont *B. subtilis* ATCC6633, *E. coli* et *Klebsiella* sp. avec un diamètre d'inhibition de 10mm suivis de *S. aureus* ATCC25923 et *Serratia* sp. avec un diamètre de 15mm, dans le cas de la levure *C. albicans* ATCC10231, les résultats sont intéressants car on a noté la plus grande zone d'inhibition avec un diamètre de 30mm.

Nous constatons qu'il existe une nette différence entre nos résultats et ceux trouvés dans la littérature, malgré l'utilisation de la même espèce végétale. Selon le travail de Borugă et al., (2014) et ayant utilisé la méthode de l'aromatogramme et une quantité de 10µL de l'HE de *T.vulgaris*, les diamètres des zones d'inhibition obtenus sur *E. coli* ATCC25922, *P. aeruginosa* ATCC27853 et *C. albicans* ont été respectivement de 30.67mm, 14mm et 25.74mm, ces résultats sont plus ou moins semblables aux nôtres en ce qui concerne la levure. Lalami et al., (2013) a montré qu'avec un volume de 1.5µL d'HE, *E.coli* et *S.aureus* ont toutes les deux un diamètre de 9.2mm. Tandis que Boukhatem et al., (2014) a utilisé la méthode de phase en vapeur en utilisant un disque de 9mm imbibé d'une concentration en HE de 20µL ce qui lui a permis de détecter des zones d'inhibition beaucoup plus élevées par rapport aux nôtres ; chez *E. coli* 40mm, *Serratia* sp. 50mm et *S. aureus* 53mm et des résultats semblables concernant *Klebsiella* sp. avec un diamètre de 11mm et *P. aeruginosa* qui s'est avérée résistante.

L'HE de *T. vulgaris* témoigne d'une activité antibactérienne importante sur les bactéries à Gram+ comme sur les bactéries à Gram- (Cheurfa et al., 2013). L'effet antimicrobien des HEs est attribué à la présence majoritaire de phénols tels que le thymol et le carvacrol dans l'huile essentielle du thym (Valero et al., 2006 ; Kaloustian et al., 2008). Plus les teneurs en phénols sont élevées, plus les HEs sont efficaces (Zhiri, 2006 ; Mebarki, 2010). Cependant, les phénols ne sont pas les seuls responsables de l'intégralité de cette activité. L'ensemble de la composition chimique de l'HE doit être pris en considération, car les composés minoritaires peuvent renforcer l'action des composés majoritaires par synergie (Burt, 2004 ; Yakhlef et al., 2011 ; Bassolé et Juliani, 2012 ; Borugă et al., 2014). De même, Lahlou (2004) a démontré que les huiles essentielles sont plus efficaces sur le plan antimicrobien que leurs composés majoritaires lorsqu'ils sont évalués individuellement. En effet, l'efficacité optimale d'un extrait

peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés à l'origine de cet extrait (Essawi et Srour, 2000).

De plus, certaines recherches ont démontré que les bactéries à Gram négatif semblent être plus résistantes aux HEs que les bactéries à Gram positif en raison de la composition de leur membrane externe (Mebarki, 2010). Ainsi, la membrane externe des bactéries Gram négatif contient plus de lipopolysaccharides et de protéines que celle des bactéries Gram positif, ce qui la rend plus hydrophile et empêche l'adhésion des terpènes hydrophobes.

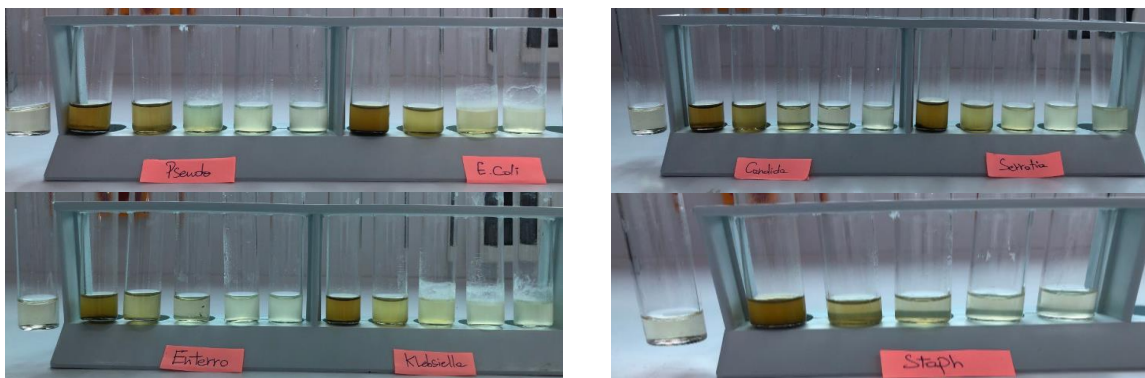
Toutefois, quelques exceptions existent. Des études ont décrit les bactéries Gram négatif comme *Aeromonas hydrophila* (Wan et al., 1998) et *Campylobacter jejuni* (Wannissorn et al., 2005) comme particulièrement sensibles aux huiles essentielles. Cependant, certaines recherches ont démontré que les bactéries Gram positif pourraient être plus résistantes aux huiles essentielles par rapport aux bactéries Gram négatif (Marzouk et al., 2006 ; Lakhdar, 2015). Alors que nos résultats (tableau V) démontrent clairement la sensibilité des bactéries Gram négatif aussi bien que les bactéries Gram positif.

En somme, la susceptibilité des bactéries semble en réalité indépendante du Gram (Sokmen et al., 2004 ; Bekhechi et al., 2008), et peut dépendre plutôt des huiles essentielles utilisées (Prabuseeninivasan et al., 2006). Ceci confirme les conclusions de Cushnie et al., (2003) qui affirme que chaque composé agit différemment sur les microorganismes. C'est-à-dire, qu'un composé peut avoir une action très importante sur un microorganisme et une action moindre, voire même nulle sur un autre.

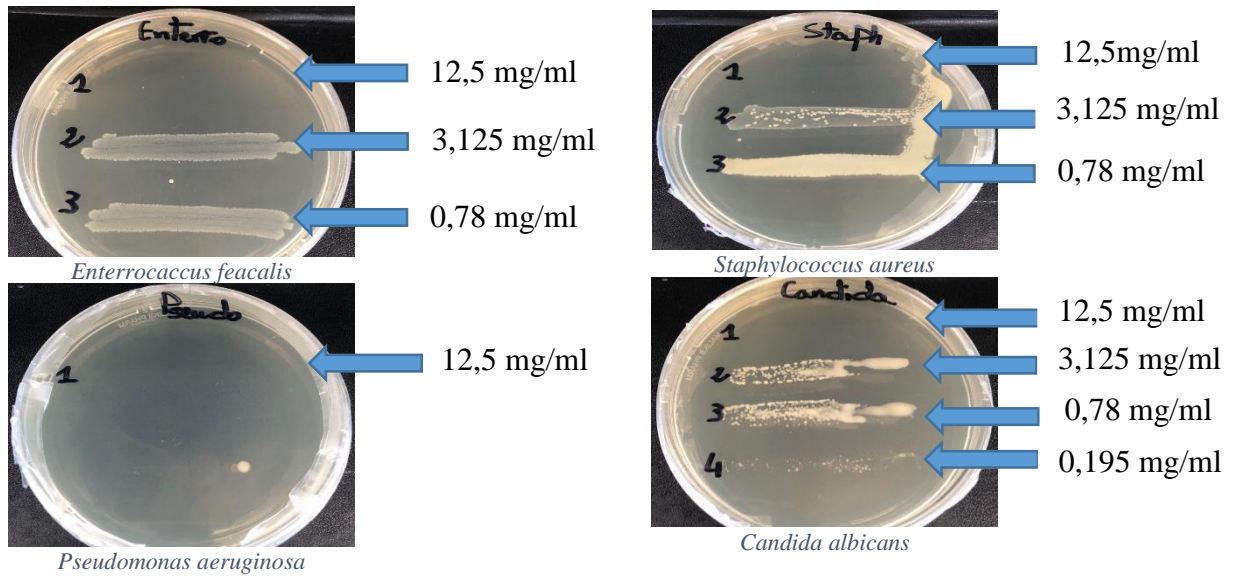
## II-2.3 Résultats de la détermination de la CMI et de la CMB

### II-2.3.1 Extrait méthanolique

La détermination des paramètres antimicrobiens (CMI et CMB) de l'extrait Mq de *T. vulgaris* a été effectuée seulement sur les microorganismes ayant présenté une sensibilité par le test d'aromatogramme. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau V et représentés sur les figures 16 et 17.



**Figure 16** : Résultats de la détermination de la CMI de l'extrait méthanolique de *T. vulgaris*



**Figure 17 :** Résultats de la détermination de la CMB de l'extrait méthanolique de *T.vulgaris*

Nous remarquons que l'extrait Mq du thym a exercé une grande activité contre 4 souches parmi les 7 souches microbiennes testées (tableau V). Les valeurs ont été obtenues à une gamme allant de 0,195 à 3,125 mg/ml pour la CMI et de 12,5 mg/ml pour la CMB et la CMF.

**Tableau VI :** Valeurs des paramètres antimicrobiens de l'extrait Mq de *T.vulgaris* exprimées en mg/ml

Les Microorganismes	Extrait méthanolique (mg/ml)			
	CMI	CMB	CMB/CMI	Activité
<i>E. faecalis</i> ATCC 49532	0,78	12,5	16	Bactériostatique
<i>S. aureus</i> ATTC 25923	0,78	12,5	16	Bactériostatique
<i>P.aeruginosa</i>	3,125	12,5	4	Bactéricide
<i>E. coli</i>	-	-	-	-
<i>Serratia</i> sp.	-	-	-	-
<i>Klebsiella</i> sp.	-	-	-	-
	CMI	CMF	CMF/CMI	Activité
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	0,195	12,5	64	Fongistatique

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; CMF : Concentration Minimale Fongicide

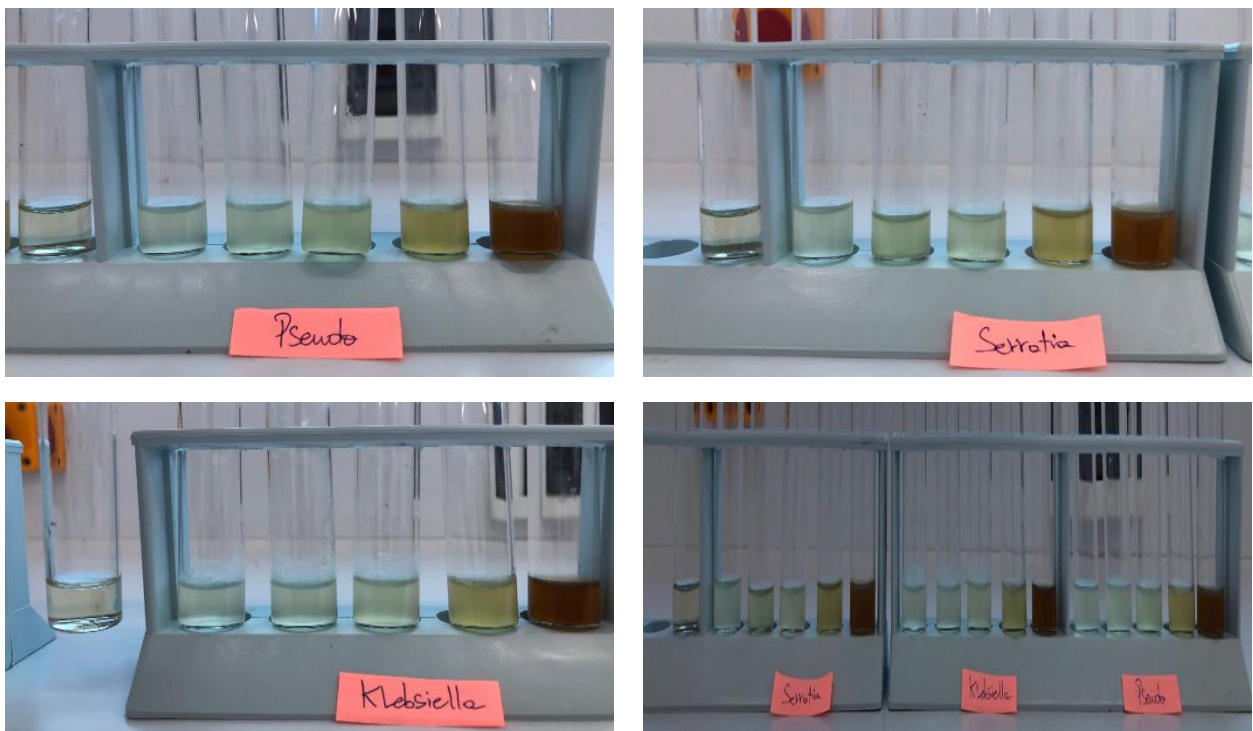
En comparant nos résultats avec ceux de **Yakhlef et al., (2011)** qui ont utilisé une gamme de concentrations d'extrait Mq de 0,5-0,25-0,125-0,0625-0,0312% µg/ml, on constate qu'il a obtenu des résultats négatifs en ce qui concerne *S. aureus* ATCC25923, *E. coli* et *C. albicans* ATCC10231 et cela correspond à ce que nous avons concernant *E. coli*. Tandis qu'on a obtenu une activité inhibitrice à partir d'une concentration de 0,78 et 0,195 mg/ml pour *S. aureus* ATCC25923 et *C. albicans* ATCC10231 respectivement.

Selon **Marmonier (1990)**, si le rapport d'activité CMB/CMI ou CMF/CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égal à 4, cette dernière est qualifiée de substance bactéricide ou fongicide et si le rapport est supérieur à 4, elle est alors dite bactériostatique ou fongistatique. En se référant aux résultats obtenus dans le tableau V, nous avons relevé que l'extrait Mq de *T. vulgaris*, est bactériostatique envers *E. faecalis* ATCC49532 et *S. aureus* ATCC25923 où le rapport CMB/CMI est de 16 (>4), fongistatique pour *C. albicans* ATCC10231 où le rapport CMF/CMI est de 64 (>4), tandis qu'il exerce une activité bactéricide vis-à-vis *P. aeruginosa* où le rapport CMB/CMI est égale à 4.

D'après **Yakhlef (2010)**, les extraits étudiés présentent une teneur relativement élevée en flavonoïdes. Il est ainsi raisonnable de supposer que l'activité antimicrobienne observée résulte, du moins en partie, à la présence de ces composés bioactifs.

### II-2.3.2 Extrait aqueux

La détermination de la CMI de l'extrait Aq de *T. vulgaris* a été effectuée seulement sur les microorganismes ayant présenté une sensibilité par le test d'aromatogramme. Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 18.

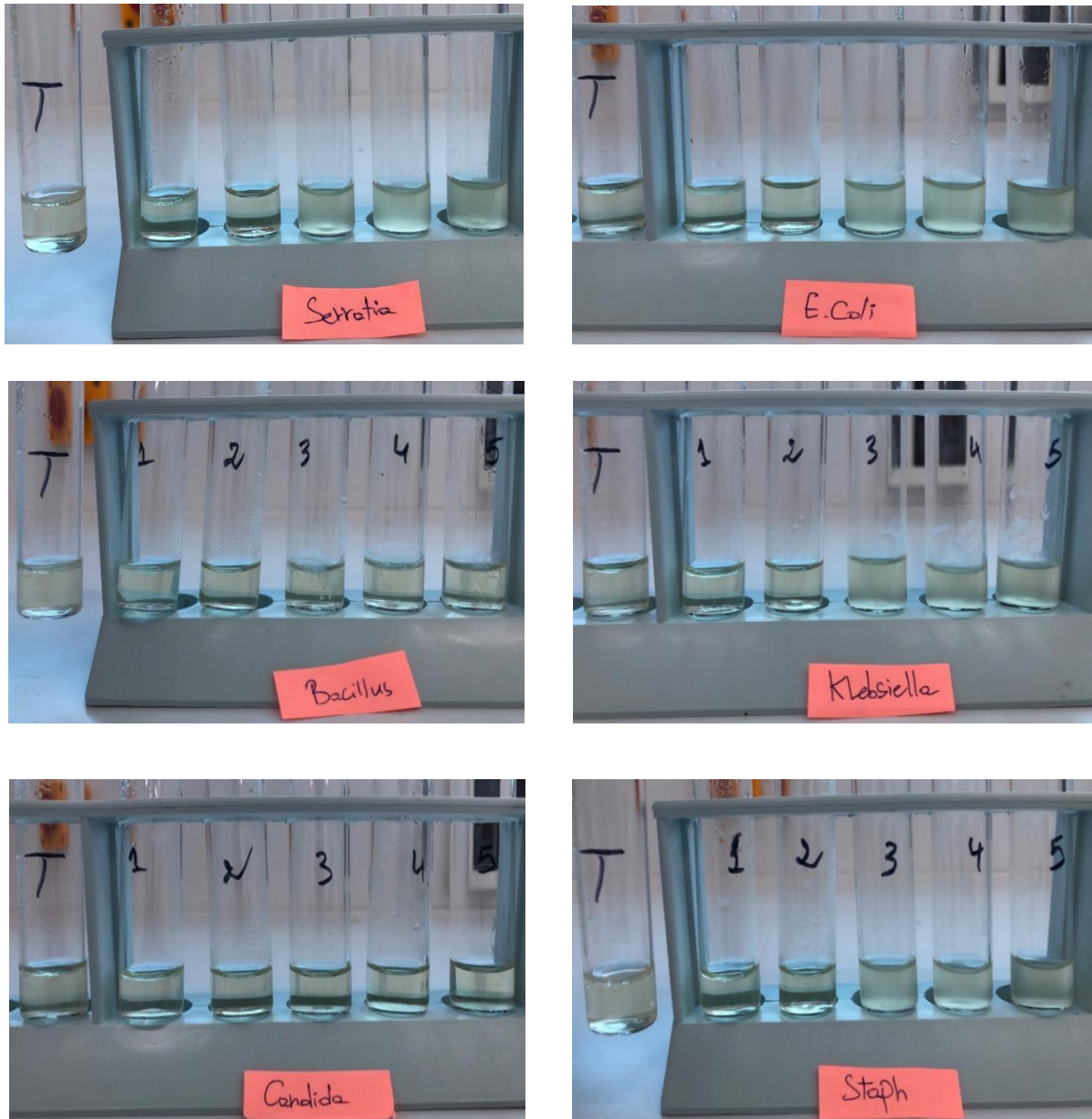


**Figure 18** : Résultats de la détermination de la CMI de l'extrait aqueux de *T. vulgaris*

Aucune activité antibactérienne n'a été observée pour l'extrait aqueux. Ce résultat pourrait être attribué aux concentrations trop faibles des dilutions, qui seraient insuffisantes pour exercer un effet inhibiteur sur les souches bactériennes testées.

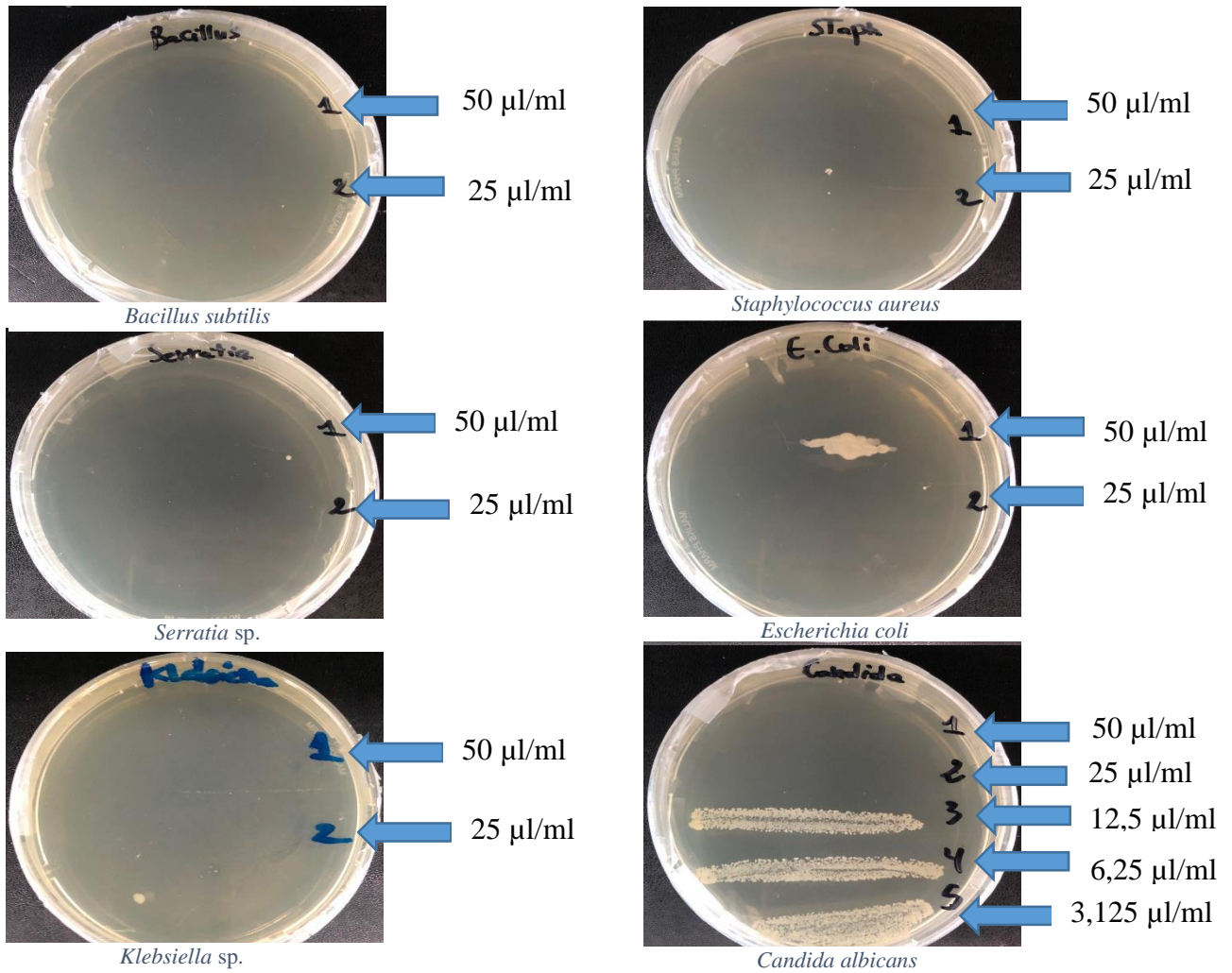
### II-2.3.3 L'huile essentielle

La détermination des paramètres antimicrobiens (CMI, CMB et CMF) de l'huile essentielle de *T. vulgaris* n'a été réalisée que sur les microorganismes ayant montré une sensibilité au test de microatmosphère. Les résultats sont synthétisés dans le tableau VI et illustrés dans les figures 19 et 20.



**Figure 19 :** Résultats de la détermination de la CMI de l'HE de *T.vulgaris*

D'après les résultats obtenus, nous constatant que l'HE de *T.vulgaris* présente une grande activité inhibitrice contre 6 souches parmi les 8 souches microbiennes testées (tableau VI). Les valeurs ont été obtenues à une gamme de concentrations allant de 3,125 à 25  $\mu\text{l/ml}$  pour la CMI et de 25  $\mu\text{l/ml}$  pour la CMB et la CMF.



**Figure 20 :** Résultats de la détermination de la CMB de l'HE de *T.vulgaris*

**Tableau VII :** Valeurs des paramètres antimicrobiens de l'huile essentielle de *T.vulgaris* exprimées en  $\mu\text{l/ml}$

Les microorganismes	L'huile essentielle ( $\mu\text{l/ml}$ )			
	CMI	CMB	CMB/CMI	Activité
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	25	25	1	Bactéricide
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	25	25	1	Bactéricide
<i>E. coli</i>	25	25	1	Bactéricide
<i>Klebsiella</i> sp.	25	25	1	Bactéricide
<i>Serratia</i> sp.	25	25	1	Bactéricide
	CMI	CMF	CMF/CMI	Activité
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	3.125	25	8	Fongistatique

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; CMF : Concentration Minimale Fongicide

Les résultats du tableau VIII montrent que l'HE de *T. vulgaris* exerce une activité bactéricide vis-à-vis de toutes les souches testées (CMB/CMI=1<4) et fongistatique contre la levure *C. albicans* ATCC10231 (CMF/CMB = 8>4) ce qui montre que l'HE manifeste le même effet antibactérien que ce soit sur les bactéries à Gram positif ou bien les bactéries à Gram négatif.

En se référant aux résultats obtenus par **Abdelli (2017)** avec une gamme de concentrations d'HE de 0,0781 à 10 µl/ml (v/v), il paraît que l'HE de *T. vulgaris* de Tlemcen et celle de Mostaganem entraînent une activité bactéricide contre *B. subtilis* et *E. coli* ce qui corrobore avec nos résultats. Or, une activité fongicide contre *C. albicans* a été remarquée.

Plusieurs études ont montré que la majorité des HEs évaluées pour leurs propriétés antimicrobiennes exercent une action plus marquée sur les souches à Gram positif que sur celles à Gram négatif (**Kalemba et Kunicka, 2003; Trombetta et al., 2005**). Cette différence d'efficacité s'explique par les caractéristiques structurales distinctes des parois cellulaires, en effet la membrane externe riche en lipopolysaccharides forme une barrière de perméabilité hydrophile qui limite la diffusion des composés hydrophobes, tels que ceux contenus dans les huiles essentielles (**Nikaido et Vaara, 1985 ; Trombetta et al., 2005**). Néanmoins, certaines recherches ne mettent en évidence aucune sélectivité antimicrobienne marquée entre les bactéries à Gram positif et celles à Gram négatif (**Guesmi et Boudabous, 2006**).

L'action antimicrobienne de *T. vulgaris* pourrait être due à sa forte concentration en composés phénoliques, surtout au thymol et au carvacrol, ainsi qu'aux hydrocarbures terpéniques :  $\gamma$ -terpinène, *p*-cymène,  $\alpha$ -pinène et à l'alcool terpénique : linalool qui sont les composants majeurs. Plusieurs recherches ont clairement prouvé que ces éléments avaient des caractéristiques antimicrobiennes (**Rota et al., 2004 ; Rota et al., 2008 ; Imelouane et al., 2009 ; Soković et al., 2009 ; Sienkiewicz et al., 2012**). L'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes n'est pas clairement définie (**Burt, 2004**). En outre, des composés minoritaires dans l'huile essentielle, pourrait aussi contribuer à l'activité antimicrobienne par synergie avec les composés principaux (**Burt, 2004 ; Borugă et al., 2014**).

Le mode d'action de la majorité des composés semble reposer sur leurs propriétés lipophiles, qui leur permettent d'altérer la perméabilité de la membrane cytoplasmique des cellules bactériennes. C'est notamment le cas du thymol, du myrcène, du limonène et du  $\beta$ -phellandrène (**Cowan, 1999 ; Filipowicz et al., 2003 ; Veldhuizen et al., 2006 ; Gómez-Estaca et al., 2010**). Ces composés sont également capables de désactiver des enzymes essentielles, de perturber le fonctionnement du matériel génétique, ainsi que les processus de production d'énergie et de synthèse des composants structuraux de la cellule (**Conner et Beuchat, 1984 ; Davidson, 2001**). Le *p*-cymène semble également exercer une action sur la

membrane cellulaire, mais selon un mécanisme distinct. Il s'accumule en grande quantité dans la membrane, induisant une expansion des phospholipides et augmentant ainsi les espaces intermoléculaires, ce qui facilite les fuites d'ions (Ultee et al., 2002).

Des études ont prouvé que l'huile essentielle de *T. vulgaris* a la capacité d'empêcher la prolifération de diverses souches fongiques telles que *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus*, *Saprolegnia* et *Zygorhynchus*. Cette huile pourrait renforcer l'action antifongique de l'amphotéricine B contre *C. albicans* (Giordani et al., 2004 ; Pina-Vaz et al., 2004).

L'activité antifongique des composés aromatiques est associée à la présence de phénols (eugénol, thymol, isoeugénol, p-n-propylphénol et chavicol 4-allyl-2-6-diméthoxyphénol) qui sont les plus puissants, suivis par les alcools, les aldéhydes (cinnamique et hydrocinnamique), les lactones sesquiterpéniques, les cétones, les éthers et les hydrocarbures (Ultee et al., 2002 ; Zhiri, 2006). Selon des recherches, l'existence de groupements alkyles dans le noyau benzénique des phénols renforce leur effet antifongique (Kurita et al., 1981 ; KocićTanackov et Dimić, 2013).

Les huiles essentielles ont généralement un effet sur la biomasse et la production de pseudomycélium chez les levures, tout en inhibant la germination des spores, l'allongement du mycélium et la toxicogénèse chez les moisissures (Hulin et al., 1998). Deux mécanismes distincts peuvent expliquer l'action antifongique des huiles essentielles ; certains composants peuvent déclencher une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique qui conduira à sa rupture, entraînant ainsi une fuite d'électrolytes et un épuisement d'acides aminés et de sucres, tandis que d'autres peuvent s'intégrer aux lipides membranaires, provoquant ainsi une perte des fonctions membranaires (Suppakul et al., 2003).

# **Conclusion**

---

## Conclusion

En vue de l'importance thérapeutique et économique des plantes médicinales, cette étude a été réalisée afin d'explorer les activités biologiques des extraits et de l'huile essentielle du *Thymus vulgaris*, une plante médicinale appartenant à la famille des Lamiacées. L'ensemble des résultats obtenus nous ont permis de constater les points suivants : Les extraits obtenus par macération et hydrodistillation ont présenté des rendements variables. Tous les extraits ont montré un effet au moins sur une des souches microbiennes testées. On remarque aussi que la plante *Thymus vulgaris* possède des propriétés antimicrobiennes très appréciées, ce qui justifie son utilisation en médecine traditionnelle comme remède antibactérien.

La mise en évidence de l'activité antimicrobienne par la méthode de l'aromatogramme a montré un effet notable des extraits de *T. vulgaris* sur la majorité des souches testées, à l'exception de *Bacillus subtilis* ATCC6633, qui s'est révélée résistante. Les extraits ont généré des zones d'inhibition de tailles variables selon la souche. Par ailleurs, l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle, évaluée par la méthode de microatmosphère, a révélé une forte inhibition de la levure *Candida albicans* ATCC10231, tandis que *Enterococcus faecalis* ATCC49532 et *Pseudomonas aeruginosa* se sont montrées résistantes. Les autres souches testées ont présenté une réponse intermédiaire.

La méthode de macrodilution en milieu liquide a permis de déterminer les concentrations minimales inhibitrices, bactéricides et fongicides. L'huile essentielle a démontré une activité bactéricide contre toutes les souches étudiées et une activité fongistatique vis-à-vis de la levure *C. albicans* ATCC10231. L'extrait méthanolique, quant à lui, a exercé une activité fongistatique et bactériostatique contre la levure *C. albicans* et les souches *E. faecalis* ATCC49532, *S. aureus* ATCC25923, ainsi qu'une activité bactéricide contre *P. aeruginosa*.

Les résultats de notre étude révèlent l'importance et l'efficacité antimicrobienne des extraits de la plante *T. vulgaris*. De ce fait, il serait pertinent d'envisager l'isolement et la purification des molécules bioactives responsables des effets thérapeutiques, afin d'identifier les composés spécifiques à l'origine de cette activité.

## **Références bibliographiques**

- Abdelli, W. (2017). *Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de Juniperus phoenicea et de Thymus vulgaris* (Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis - Mostaganem).
- Adwan, G., Abu-Shanab, B., Adwan, K., & Abu-Shanab, F. (2006). Antibacterial effects of nutraceutical plants growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa*. *Turkish Journal of Biology*, 30, 239–242.
- Aeschbach, R., Löliger, J., Scott, B. C., Murcia, A., Butler, J., Halliwell, B., & Aruoma, O. I. (1994). Antioxidant action of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food and Chemical Toxicology*, 32(1), 31–36.
- AFNOR (Association Française de Normalisation), 1986, Recueil des normes françaises. *AFNOR*, Paris, 57p
- AFNOR (Association Française de Normalisation). (2000). *Recueil des normes françaises "huiles essentielles" : Monographies relatives aux huiles essentielles*. AFNOR, Paris.
- Akoua, K., Guessennd, N., Gbonon, V., Faye-Ketté, H., & Dosso, M. (2004). Methicillin resistance of Staphylococcus in Abidjan 1998–2001 : A new problem. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 34(3), 132–136.
- Aly, S. E., Abo-Sereih, N., & El-Massry, K. E. (2005). Production of flavouring compounds through genetically engineered *Saccharomyces cerevisiae* and their evaluation as antioxidant and antimicrobial. *Journal of Agricultural Science*, 11, 205–219.
- Amiot, J. (2005). *Thymus vulgaris, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires*. Thèse de doctorat, École nationale supérieure agronomique de Montpellier.
- Badi, N. H., Yazdani, D., Mohammad Ali, S., & Nazari, F. (2004). Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme (*Thymus vulgaris*). *Industrial Crops and Products*, 19, 231–236.
- Bagetta, G., Morrone, L. A., Rombolà, L., Amantea, D., Russo, R., & Berliocchi, L. (2010). Neuropharmacology of the essential oil of bergamot. *Fitoterapia*, 81(6), 453–461.
- Bassolé, I. H. N., & Juliani, H. R. (2012). Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, 17(4), 3989–4006.
- Bekhechi, C., Atik-Bekkara, F., & Abdelouahid, D. E. (2008). Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie*, 6, 153–159.
- Ben Arfa, A., Combes, S., Preziosi-Belloy, L., Gontard, N., & Chalier, P. (2006). Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Letters in Applied Microbiology*, 43, 149–154.
- Benbouali, A. (2006). *Thymus vulgaris L. : étude de la composition chimique et des propriétés biologiques de l'huile essentielle*.
- Borugă, O., Jianu, C., Mișcă, C., Goleț, I., Gruia, A. T., & Horhat, F. G. (2014). *Thymus vulgaris* essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Medicine and Life*, 7(3), 56–60.
- Bougdah, N., Djebbar, F. T., & Soltani, N. (2017). Algerian *Thymus vulgaris* essential oil: Chemical composition and larvicidal activity against the mosquito *Culex pipiens*. *International Journal of Mosquito Research*, 4(1), 37–42.

- Bouguerra, N., Tine Djebbar, F., & Soltani, N. (2017). *Algerian Thymus vulgaris essential oil: chemical composition and larvicidal activity against the mosquito Culex pipiens*. International Journal of Mosquito Research,
- Bouhdid, S., Idaomar, M., Zhiri, A., Baudoux, D., Skali, N. S., & Abrini, J. (2006). *Thymus essential oils: Chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities*. In *Congrès International de Biochimie*, Agadir, Morocco, May 9–12, pp. 1–4.
- Boughendjioua, H. (2015). *Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau. Composition chimique, activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de Citrus limon, Cinnamomum zeylanicum et Thymus numidicus* (Thèse de doctorat, Biologie Végétale, Université Badji Mokhtar – Annaba), pp. 15, 24–25, 34.
- Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kameli, A., Saidi, F., Taibi, H., & Djamel, T. (2014). Potential application of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil as antibacterial drug in aromatherapy. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 8, 1418–1431.
- Brada, M., Achour, D., Wathelet, J.-P., & Lognay, G. (2009). Study of essential oils of some plants from Algeria (*Salvia officinalis*, *Thymus vulgaris* and *Ruta chalepensis*). In *8ème congrès de la Société Algérienne de Chimie*, Béjaïa, Algérie, May 26–28.
- Braga, P. C., Dal Sasso, M., Fonti, E., & Culici, M. (2009). Antioxidant activity of bisabolol: Inhibitory effects on chemiluminescence of human neutrophil burst and cell-free systems. *Pharmacology*, 83(2), 110–115.
- Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales* (2e éd.). Paris : Tec & Doc, Lavoisier, 915 p.
- Buckingham, J. (1994). *Dictionary of natural products*. London: Chapman & Hall.
- Burt, S. (2004). Essential oils: Antibacterial properties and potential applications in food – A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.
- Cheurfa, M. (2013). Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites. *Phytothérapie*, 11, 154–160.
- Cheurfa, M. (2015). *Intérêt des biomolécules d'origine végétale sur la santé* (Thèse de doctorat LMD, sciences alimentaires et nutrition, Université Hassiba Ben Bouali – Chlef), pp. 4–7, 12, 19, 27–41.
- Chira, K., Suh, J.-H., Saucier, C., & Teissedre, P.-L. (2008). Phytonutrition fondamentale. *Phytothérapie*, 6, 75–82.
- Conner, D. E., & Beuchat, L. R. (1984). Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *Journal of Food Science*, 49, 429–434.
- Cosentino, S., Tuberoso, C. I., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E., & Palmas, F. (1999). In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Letters in Applied Microbiology*, 29(2), 130–135.
- Couplan, F. (2000). *Dictionnaire d'étymologie de botanique : Comprendre facilement tous les noms scientifiques*. Lausanne & Paris : Delachaux et Niestlé, 238 p.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582.
- Cushnie, T. P., Hamilton, V. E. S., & Lamb, A. J. (2003). Assessment of the antimicrobial activity of selected flavonoids and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiological Research*, 158(4), 281–289.
- Dapkevicius, A., Venskutonis, R., van Beek, T. A., & Linssen, J. P. H. (2002). Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(1), 140–146.
- Daru, P. (2023). Plant-based ingredients in personal care products. In *Personal care products and human health* (pp. 97–112).

- Davidson, P. M. (2001). Chemical preservatives and naturally antimicrobial compounds. In M. P. Doyle, L. R. Beuchat, & T. J. Montville (Eds.), *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers* (2nd ed., pp. 593–628). ASM Press, Washington.
- De Vincenzi, M., Stamatii, A., De Vincenzi, A., & Silano, M. (2004). Constituents of aromatic plants: Carvacrol. *Fitoterapia*, 75(7–8), 801–804.
- El-Akhal, F., Greche, H., Ouazzani Chahdi, F., Guemmouh, R., & El Ouali Lalami, A. (2015). Composition chimique et activité larvicide sur *Culex pipiens* d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* cultivées au Maroc. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 6(1), 214–219.
- Elisabetsky, E., Coelho de Souza, G. P., dos Santos, M. A. C., Siqueira, I. R., & Amador, T. A. (1995). Sedative properties of linalool. *Fitoterapia*, 66(5), 407–414.
- Enomoto, S., Asano, R., Iwahori, Y., Narui, T., & Okada, Y. (2001). Hematological studies on black cumin oil from the seeds of *Nigella sativa* L. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 24(3), 307–310.
- Essawi, T., & Srour, M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 70(3), 343–349. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00189-1](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00189-1)
- Filipowicz N., Kaminski M. Kurlenda J., Asztemborska M, 2003, Antibacterial and antifungal activity of juniper berry oil and its selected components. *Phytother Res*, 17(3), 227-231p
- Gedikoğlu, A., Sökmen, M., & Çivit, A. (2019). Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *Food Science & Nutrition*, 7, 1704–1714.
- Giordani R., Regli P., Kaloustian J., Mikail C., Abou L., Portugal H, 2004, Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. *Phytother Res*, 18(12), 990-995p
- Goetz, P., & Ghédira, K. (2012). *Phytothérapie anti-infectieuse*. Springer Science & Business Media, 394 p.
- Gómez-Estaca, J., López de Lacey, A., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2010). Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology*, 27(7), 889–896.
- Giordani, R., Regli, P., Kaloustian, J., Mikail, C., Abou, L., & Portugal, H. (2004). Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. *Phytotherapy Research*, 18(12), 990–995.
- Guessennd N., Bremont S., Gbonon V., KacouN'Douba A., Ekaza E., Lambert T., Dosso M., Courvalin P., (2008). Résistance aux quinolones de type qnr chez les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi à Abidjan en Côte d'Ivoire. *Pathologie Biologie*, 56 : 439-446.
- Guesmi, A., & Boudabous, A. (2006). Activité antimicrobienne de cinq huiles essentielles associées dans les produits de thalassothérapie. *Revue des Régions Arides*, numéro spécial, 224–230.
- Hammoudi, R. (2015). Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien [Thèse de doctorat ès sciences, Université Kasdi Merbah – Ouargla]. Département de biologie.
- Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481–504.
- Hashim, S., & Gamil, M. (1988). *Plants and herbs between the Iraqi folk medicine and scientific research*. Baghdad, Dar revolution of Press and Publication.

- Hulin, V., Mathot, A. G., Mafart, P., & Dufossé, L. (1998). Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. *Sciences des aliments*, 18(6), 563–582.
- Imelouane, B., Amhamdi, H., Wathelet, J. P., Ankit, M., Khedid, K., & El Bachiri, A. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *International Journal of Agriculture & Biology*, 11(2), 205–208.
- Jukic, M., Politeo, O., Maksimovic, M., Milos, M., & Milos, M. (2007). In vitro acetylcholinesterase inhibitory properties of thymol, carvacrol and their derivatives thymoquinone and thymohydroquinone. *Phytotherapy Research*, 21(3), 259–261.
- Kahlouche-Riachi, F. (2014). *Évaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie*. Thèse de Doctorat, Sciences Vétérinaires, UNIVERSITE DE CONSTANTINE 1, 104 p.
- Kalemba, D., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10, 813–829.
- Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L., & Vergnes, M. F. (2008). Étude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*, 6, 160–164.
- Kazemi, M., Mousavi, E., & Bandrez, N. (2012). Chemical compositions and antibacterial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* and *Tanacetum parthenium*. *Research Journal of Soil Biology*, 4(2), 21–31.
- Kocić-Tanackov S.D., Dimić G.R, 2013, Antifungal activity of essential oils in the control of food-borne fungi growth and mycotoxin biosynthesis in food. In: Microbial pathogens and strategies for combating them: Science, technology and education (edited by A Méndez-Vilas), pp 838-849. Formatex Research Center, Badajoz, Spain
- Kulšić, T., Dragovic-Uzelac, V., & Miloš, M. (2005). Antioxidant activity of aqueous tea infusions prepared from oregano, thyme and wild thyme. *Food Technology and Biotechnology*, 44(4), 485–492.
- Kurita N., Miyaji M., Kurane R., Takahara Y, 1981, Antifungal activity of components of essential oils. *Agricultural and Biological Chemistry*, 45(4), 945-952p
- Lakhdar, L. (2015). *Évaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* : Étude in vitro* [Thèse de doctorat, Université Mohammed V de Rabat]. *Sciences Odontologiques*, 6 ; 38-45 p.
- Lahlou, M. (2004). Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18(6), 435–448.
- Lalami, A. E. O., Fouad, E. A., Ouedrhiri, W., Chahdi, F. O., Guemmouh, R., & Greche, H. (2013). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *Thymus vulgaris* et *Thymus satureioides*. *Les Technologies de Laboratoire*, 8(31).
- Madouni, N. (2023). *Étude ethnobotanique et évaluation des activités antioxydante et biologiques des extraits et des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et *Thymus serpyllum* de la région de Mascara* [Thèse de doctorat, Université Mustapha Stambouli de Mascara].
- Mann, C. M., Cox, S. D., & Markham, J. L. (2000). The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* contributes to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Letters in Applied Microbiology*, 30, 294–297.
- Marjorie, M. C. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 564–582.
- Marmonier, A. A. (1990). *Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques*. In *Bactériologie Médicale, techniques usuelles* (pp. 227–236). Paris, France : DOIN Édition.

- Marzouk, Z., Neffati, A., Marzouk, B., Chraief, I., Khemiss, F., Chekir Ghedira, L., & Boukef, K. (2006). Chemical composition and antibacterial and antimutagenic activity of Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. oil from Kasrine. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 4(3–4), 61–65.
- Mebarki, N. (2010). *Extraction de l'huile essentielle de Thymus fontanesii et application à la formulation d'une forme médicamenteuse – antimicrobienne*. Magister, Génie des procédés chimiques et pharmaceutiques, Université M'hamed Bougara Boumerdes, 1 ; 14 ; 29–31 ; 51 ; 107 p.
- Messaili, B. (1995). *Botanique, systématique des spermaphytes*. Alger : OPU (Office des Publications Universitaires), 91 p.
- Meyer, S., Reeb, C., & Bosdeveix, R. (2004). *Botanique, biologie et physiologie végétales*. Paris : Éditions Maloine.
- Middleton E.J., Kandaswami C., Theoharides T.C, 2000, The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharm Rev*, 52(4), 673-751p
- Morales, R. (1997). Synopsis of the genus *Thymus* L. in the Mediterranean area. *Lagascalia*
- Morales, R. (2002). The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In E. Stahl-Biskup & F. Sáez (Eds.), *Thyme: The genus Thymus* (pp. 1–43). London: Taylor & Francis.
- Moreira, M. R., Ponce, A. G., De Valle, C. E., & Roura, S. I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie (LWT)*, 38, 565–570.
- Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi, M. S., & Ghorbani, A. (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran: From ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 63–79 p.
- Namsa, N. D., Tag, H., Mandal, M., Kalita, P., & Das, A. K. (2009). An ethnobotanical study of traditional anti-inflammatory plants used by the Lohit Community of Arunachal Pradesh, India. *Journal of Ethnopharmacology*, 125, 234–245 p.
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). (1997). *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard M2-A7*. Wayne, PA, USA: National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- Nikaido, H., & Vaara, M. (1985). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiological Reviews*, 49(1), 1–32 p.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (1998). *Réglementation des médicaments à base de plantes : La situation dans le monde*. WHO/TRM/98.1, Genève, Suisse, 65 p.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2002). *Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005*. WHO/EDM/TRM/2002.1, Genève, Suisse, 135 p.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2013). *Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023*. ISBN 978 92 4 250609 9, Genève, Suisse, 72 p.
- Oulebsir-Mohandkaci, H., & Ait Kaki, S. (2015). Essential oil of two Algerian aromatic plants *Thymus vulgaris* and *Eucalyptus globulus* as bio-insecticides against aphid *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Wulfenia Journal*, 22(2), 185–197 p.
- Özcan, M., & Chalchat, J.-C. (2004). Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 30(4), 68–73 p.
- Parnham, M. J., & Kesselring, K. (1985). Rosmarinic acid. *Drugs of the Future*, 10(9), 756–757.
- Peter, K. V. (2004). *Handbook of herbs and spices*. Cambridge, MA: Elsevier, 376 p.

- Petersen, M., & Simmonds, M. S. J. (2003). Rosmarinic acid. *Phytochemistry*, 62(2), 121–125.
- Pietta, P. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035–1042.
- Pina-Vaz, C., Gonçalves Rodrigues, A., Pinto, E., Costa-de-Oliveira, S., Tavares, C., Salgueiro, L., Cavaleiro, C., Gonçalves, M. J., & Martinez-de-Oliveira, J. (2004). Antifungal activity of *Thymus* oils and their major compound. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 18(1), 73–78.
- Pistrick, K. (2002). Notes on neglected and underutilized crops: Current taxonomical overview of cultivated plants in the families Umbelliferae and Labiatae. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49(3), 211–225.
- Pitman, V. (2004). *Aromatherapy: A practical approach*. Cheltenham, UK : Nelson Thornes, 364 p.
- Polese, J. M. (2006). *La culture des plantes aromatiques*. Paris : Éditions Artémis, 93
- Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C. E., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie (LWT)*, 36, 679–684.
- Prabuseenivasan, S., Jajakumar, M., & Ignacimuthu, S. (2006). *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6, 39.
- Rey, C. (1990). La culture du thym en Suisse. *Revue horticole suisse*, 63, 20–22.
- Rojas, A., Hernandez, L., Pereda-Miranda, R., & Mata, R. (1992). Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 35, 275–283.
- Rota, M. C., Carramiñana, J. J., Burillo, J., & Herrera, A. (2004). *In vitro* antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected foodborne pathogens. *Journal of Food Protection*, 67, 1252–1256.
- Rota, M. C., Herrera, A., Martínez, R. M., Sotomayor, J. A., & Jordán, M. J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*, 19(7), 681–687.
- Sienkiewicz, M., Łysakowska, M., Denys, P., & Kowalczyk, E. (2012). Antimicrobial activity of thyme essential oil against multidrug resistant clinical bacterial strains. *Microbial Drug Resistance*, 18(2), 137–148.
- Small, E., & Deutsch, G. (2001). *Herbes culinaires pour nos jardins de pays froid*. Ottawa : NRC Research Press, 193 p.
- Snoussi S.A., Djazouli Z.E., Aroun M.E.F., Sahli Z, 2003, Les plantes maraichères, industrielles, condimentaires, aromatiques, médicinales et ornementales. *Annexes sur La Biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie MATE-GEF/PNUD : Projet ALG/97/G31*
- Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, H. A., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., Sokmen, M., & Sahin, F. (2004). The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, 15, 627–634.
- Soković, M., Vukojević, J., Martin, P. D., Brkić, D. D., Vajs, V., & van Griensven, L. J. L. D. (2009). Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. *Molecules*, 14(1), 238–249.
- Sosa, S., Altinier, G., Politi, M., Braca, A., Morelli, I., & Loggia, R. D. (2005). Extracts and constituents of *Lavandula multifida* with topical anti-inflammatory activity. *Phytomedicine*, 12(4), 271–277.

- Soto-Medívil, E. A., Moreno-Rodríguez, J. F., Estarrón-Espinosa, M., García-Fajardo, J. A., & Obledo-Vázquez, E. N. (2006). Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*. *e-Gnosis*, 4(16), 1–7.
- Suhr, K. I., & Nielsen, P. V. (2003). Antifungal activity of essential oil evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 665–674.
- Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K., & Bigger, S. W. (2003). Antimicrobial properties of basil and its possible application in food packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3197–3207.
- Syamasundar, K. V., Srinivasulu, B., Stephen, A., Ramesh, S., & Rao, R. R. (2008). Chemical composition of volatile oil of *Thymus vulgaris* L. from Western Ghats of India. *Journal of Spices and Aromatic Crops*, 17(3), 255–258.
- Taïbi, K., AitAbderrahim, L., Ferhat, K., Betta, S., Taïbi, F., Bouraada, F. Boussaid, M.
- (2020)a.Ethnopharmacological study of natural products used for traditional cancer therapy in Algeria. *Saudi Pharm. J.* 28(11): 1451–1465. doi:10.1016/j.jsps.2020.09.011.
- Tamert, A., Latreche, A., & Aouad, L. (2017). Phytochemical screening and antimicrobial activity of extracts of *Thymus serpyllum* and *Thymus vulgaris* from the Mount of Tessala (Western Algeria). *Pharmacognosie*, 15, 384–394.
- Teuscher, E., Anton, R., & Lobstein, A. (2005). *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Paris : Tec & Doc Lavoisier, 521 p.
- Thuille, N., Fille, M., & Nagl, M. (2003). Bactericidal activity of herbal extracts. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 206, 217–221.
- Tisserand, M. (2014). *Aromatherapy vs MRSA: Antimicrobial essential oils to combat bacterial infection, including the superbug*. London : Singing Dragon, 192 p.
- Tiwari, M., & Tandon, V. (2004). *Medicinal plants* (Vol. 2). New Delhi : Gyan Publishing House, 653 p.
- Touhami, A. (2017). Étude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l’Est algérien pendant les deux périodes de développement (Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba).
- Touré, D. (2015). Études chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d’Ivoire (Thèse de doctorat, Biochimie, Université Félix Houphouët-Boigny), 5–15 ; 41 ; 49 ; 81 p.
- Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., Saija, A., Mazzanti, G., & Bisignano, G. (2005). Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(6), 2474–2478.
- 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 Environmental Microbiology*, 68(4), 1561–1568.
- Valero, M., & Francés, E. (2006). Synergistic bactericidal effect of carvacrol, cinnamaldehyde, or thymol and refrigeration to inhibit *Bacillus cereus* in carrot broth. *Food Microbiology*, 23(1), 68–73.
- Veldhuizen, T. J. A., Tjeerdsma-van Bokhoven, J. L. M., Zweijtzter, C., Burt, S. A., & Haagsman, H. P. (2006). Structural requirements for the antimicrobial activity of carvacrol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(5), 1874–1879.
- Venturini, M. E., Blanco, D., & Oria, R. (2012). *In vitro* antifungal activity of several antimicrobial compound against *Penicillium expansum*. *Journal of Food Protection*, 65(5), 834–839.

- Wan, J., Wilcock, A., & Coventry, M. J. (1998). The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology*, 84(2), 152–158.
- Wannisor, B., Jarikasem, S., Siriwangchai, T., & Thubthimthed, S. (2005). Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia*, 76(2), 233–236.
- Yakhlef, G. (2010). Étude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L. [Mémoire de Magister, Université El Hadj Lakhdar – Batna], 110 p.
- Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Ethnopharmacologie*, 9, 209–218.
- Zarzuelo, A., & Crespo, E. (2002). The medicinal and non-medicinal uses of thyme. In E. Stahl-Biskup & F. Sáez (Eds.), *Thyme: The genus Thymus* (pp. 263–292). New York: Taylor and Francis. *Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles*.
- Zeghib, A. (2013). Étude phytochimique et activités antioxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huiles essentielles de quatre espèces endémiques du genre *Thymus* (Thèse de doctorat en sciences, Chimie organique, Université de Constantine 1), 2–10.
- Zhiri, A. (2006). Les huiles essentielles : un pouvoir antimicrobien avéré. *Nutra News – Science, Nutrition, Prévention et Santé*, 12, 8.