

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur
Et de la recherche scientifique
Université de Jijel

BC.03.04

03/02

Faculté des Sciences
Département de Biochimie et Microbiologie

MEMOIRE

En Vue de l'Obtention du Diplôme des Etudes Supérieures en
Biologie

Option : Biochimie

THEME

Extraction et étude de l'activité
antibactérienne des huiles essentielles du

Thymus vulgaris

Membre de Jury :

- ❖ IDOUI Tayeb : Président
- ❖ SEBTI Mohamed : examinateur
- ❖ BOUDJERDA Djamel : examinateur
- ❖ LEGHOUCI Essaid : Examinateur

Présenté par :

- BOUMALEK Nabila
- BOUMELLIT Kheira
- DAIK Wassila

PROMOTION 2004



Remerciement

Avec nos profonds sentiments de respect et de reconnaissance , nous tenons à présenter nos sincères remerciements à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Nous tenons aussi à passer nos vifs remerciement à Mr.leghouchi qui n'a jamais cessé de nous témoigner et de nous prodiger ses précieux conseils .

*Nous remercions le professeurs :
Mr Boudjarda .Dj pour son aide .*

*Nous remercions les professeurs :Mr IDOUI.T
Et Mr SEBTI.M^{ed} pour avoir bien voulu s'intéresser à ce travail et le juger.*

Sans oublier de remercier les personnels du laboratoire de biologie .

En fin nous remercions très vivement :

D'avoir accepté du juger ce modeste travail .





SOMMAIRE

Introduction :Partie bibliographique

I- Les plantes médicinales.....	1
I-1-Introduction	1
I-2-Effets thérapeutiques des plantes médicinales.....	1
•Plantes à propriété anti-dépressive.....	1
• Sommeil et les plantes sédatives.....	1
• Les plantes diurétiques.....	2
• Les plantes utilisées dans les affections pulmonaires bénignes	2
• Les plantes stimulantes et apéritives	2
• Les plantes hépatotropes.....	2
• Les plantes à propriétés hormonales.....	2
• Les plantes utilisées dans la constipation.....	2
• Les plantes utilisées dans les diarrhées bénignes.....	3
• Les plantes utilisées dans les inflammations.....	3
II- Les huiles essentielles :.....	4
II-1-Historique.....	4
II-2-Définition	4
II-3-Constituants majeurs	5
II-3-1- Les terpènes	5
II-3-2-Les composés phénoliques.....	8
II-3-3- Les métabolites secondaires azotés	9
II-4- propriétés physiques.....	10
II-5-Facteurs de variabilité des H.E.....	10
II-5-1- Existences de chémotypes.....	10
II-5-2- Facteurs extrinsèques.....	10
II-5-3- Procédé d'obtention	10
II-6- Classification des H.E.....	10
II-6-1- H.E hydrocarbonés	11
II-6-2- H.E oxygénés	11
II-6-3- H.E sulfurés	11
II-7-Les excipients idéaux des H.E.....	11
II-8- Mode d'emploi des H.E.....	12
II-9-L'utilité des H.E.....	12
II-10- Toxicité des H.E.....	13
III- Le thymus vulgaris :.....	14
III-1- Historique.....	14
III-2- Description.....	14
III-3- Culture	14
III-4- Habitat.....	14

III-5- Odeur.....	14
III-6- Saveur.....	14
III-7- Classification et étude écologique.....	14
III-8- Composition chimique de l'H.E de <i>T.vulgaris</i>	16
III-9- Action médicinale et utilisation de <i>T.vulgaris</i>	18

Partie expérimentale

II-Matériel et méthode	19
II.1.Materiel	19
II.1.1 Materiel d'extraction des H.E.....	19
II.1.2Matériel végétale	19
II.1.3-Matériel bactériologique.....	19
II.2.Méthodes.....	21
II.2.1.Mode Opérateur d'extraction	21
II.2.2Méthode de détermination de la CMI.....	21
A- Définition de la contraction minurale inhibitrice.....	21
B- Technique de diffusion sur gélose	21
B.1-Préparation du milieu de culture.....	21
B.2-Enrichissement des souches	21
B.3-Préparation de l'inoculum.....	21
B.4-Ensemencement par inondation	22
B.5- Confection des puits.....	22
B.6-Préparation des dilution.....	22
III- Résultats et discussions	24
III.1- Dosage des H.E du <i>T.vulgaris</i>	24
III.2- Etude de l'activité antibactérienne des H.E du <i>T.vugaris</i>	25
III.3-Analyse statistique.....	32
III.4-Discussion générale	33
Conclusion Générale .	

Liste des abréviations :

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice .

E.coli : *Esherichia coli* .

Fig : Figure .

H . E : Huile essentielle .

T.vulgaris : *Thymus vulgaris*

Liste des tableaux :

Tableau I : Classification des différents terpènes .

Tableau II : Les composés phénoliques les plus importantes .

Tableau III : Principaux métabolites secondaires .

Tableau IV : Préparation des dilutions .

Tableau V : Rendement en HE de *T. Vulgaris* .

Tableau VI : Diamètres des zones d'inhibition pour l'HE .

Introduction

Introduction

Les huiles essentielles sont des Substances liquides, volatiles, aromatiques de couleur, de densité et d'odeur variables, elles ont une valeur thérapeutique merveilleuse et aujourd'hui nous ne pouvons pas et ne devons pas les négliger. Elles sont actives à doses très faibles [27].

L'huile essentielle de *Thymus Vulgaris* riche en Thymol et carvacrol est douées de propriétés antibactériennes et antifongiques facilement mises en évidence in vitro [4] .

Notre travail se divise en deux parties :

- la première partie est consacrée à une étude bibliographique qui porte sur les connaissances acquises sur les H.E de *Thymus vulgaris*.
- la deuxième partie est expérimentale où nous avons réalisé dans un premier temps l'extraction et le dosage des H.E en utilisant la méthode d'hydrodistillation, dans un deuxième temps l'activité antibactérienne de ses huiles a été testée sur cinq souches (03 souches d'*E.coli* et 02 souches de *salmonella*) avec détermination de la CMI.

Partie

Bibliographique

I- Les plantes médicinales :

I-1- Introduction

Depuis la nuit de temps nos ancêtres ce sont tourné vers les plantes pour soulager leurs douleurs, guérir leurs blessures et leurs maladies, c'est ainsi que ceux-ci leurs attribua des pouvoirs surnaturelles ou plutôt psychothérapique [12].

Aujourd'hui de nombreuses populations dans les pays en voie de développement pratiquent la médecine par les plantes. En Europe et en Amérique du nord, on assiste à un renouveau de l'intérêt envers ces techniques naturelles, grâce à une meilleure connaissance des mécanismes qui régissent l'action des plantes mais aussi à la création de standards de sécurité, de qualité et de fiabilité en matière de préparations [13].

Les plantes contiennent des éléments actifs qui les aident à se défendre des insectes, des moisissures et d'autres parasites, mais aussi de l'excès de rayons ultraviolets en provenance du soleil [13], il suffit de les connaître, de les étudier pour savoir que leurs bois, et leurs feuilles, de leurs racines et de leurs fleurs, s'exhalent de vivifiantes essences qui fortifient nos organes régénérant note sang et neutralisent les principes méphitiques qui nous entourent [3].

I-2- l'effet thérapeutique des plantes médicinales :

Les plantes médicinales favorisent l'hygiène de vie elles nous offrent un médicament naturel [15]. Les plantes médicinales de phytothérapie permettent d'aborder les traitements de façon plus globale et moins agressive en éliminant la plupart des effets secondaires [15] :

- Plante a propriété antidéprissive : certains plantes renferment des principes actifs bénéfiques dans le traitement de troubles passagers de l'humeur et des dépressions légères par leur effet stimulant de système nerveux [16].
- Sommeil et les plantes sédatives : on regroupe dans même catégorie d'une part les plantes qu'ont une activité sédative générale c'est à dire qu'elles tendent à supposer à la nervosité et à réduire l'activités des individus, et d'autre part, celles qui induisent le sommeil ou facilitent l'endormissement, certains de ces plantes sédatives possèdent aussi des propriétés anxiolytiques c'est à dire qu'elles luttent contre l'anxiété [16].

- Les plantes diurétiques : se sont des plantes qui étaient traditionnellement utilisés comme dépuratives , elles stimulent la fonction rénale et induisent une augmentation des urines généralement les plantes diurétiques sont aussi actives sur le foie , induisant également une augmentation de la sécrétion biliaire , les plantes diurétiques sont indiquées pour éliminer la rétention d'eau notamment dans le cas de l'œdème [16].
- Les plantes utilisées dans les affections pulmonaires bénignes : Ont des propriétés antitussives et sont indiqués dans les toux sèches d'autres plantes vont présenter des effets expectorants facilitant la fluidité des mucus et l'expectoration des glaires. Elles sont indiqués dans les toux grasses ou productives .d'autres plantes ont des propriétés antiseptiques pulmonaires car l'HE qu'elles renferment s'élimine par les poumons et induit un effet antibactérien [16].
- Plantes stimulantes et apéritives : certains parties de plantes sont riches en vitamine C et sont considérées comme stimulants. D'autres espèces renferment les principes amers qui stimulent l'appétit et favorisent par conséquent la prise de poids [16].
- Les plantes hépatotropes : possèdent un effet au niveau du foie, elles peuvent avoir une fonction stimulante sur les cellules de foie en induisant une augmentation de la bile, c'est l'effet cholérétique. D'autres espèces auront des propriétés hépatoprotectrice en protégeant le foie lors d'agressions notamment dans le cas d'hépatite [16].
- Les plantes à propriété hormonale : certaines espèces sont utiles pour soulager les règles douloureuse [16].
- Les plantes utiles dans la constipation : les plantes utilisés dans le traitement de la constipation sont repartis en deux groupes : les plantes laxatives qui peuvent être utilisés en traitement symptomatique de la constipation et sans effet irritant sur l'intestin , et les plantes laxatives stimulantes qui ne peuvent être utilisés qu'en traitement court dans le cas de constipation occasionnelle[16].

- Les plantes utilisées dans les diarrhées bénignes : Les substances naturelles des plantes traditionnellement utilisées dans le traitement de la diarrhée sont généralement des Tanins qui possèdent des propriétés antidiarrhéitiques, antibactériennes et antifongiques [16].
- Les plantes utilisées dans les inflammations : Certaines plantes ont des principes actifs qui leur confèrent des propriétés anti-inflammatoires, cette action s'accompagne bien souvent d'un effet analgésique. Ce sont des plantes utiles dans les traitements des inflammations aiguës comme les entérites ou dans les douleurs inflammatoire chronique comme l'arthrose [16].

II- Les huiles essentielles :

II-1 Historique :

Les plus anciennes civilisations ont utilisé les plantes aromatiques dans un but thérapeutique ; en onguents, bains ou fumigations, elles ont tout temps pour des thérapies performantes [28]. Les huiles essentielles offrent en cela une matière exceptionnelle car leurs fragrances pourront agir sur le mental tandis que leur concentration biochimique de principe actif terpénique traitera les divers troubles organiques associés [17].

Il y a plus de trente mille ans, les Aborigènes, exploitaient déjà tout ce que la nature pouvait leur apporter. Leur exceptionnelle connaissance de la flore indigène leur autorisait l'emploi courant des feuilles de plusieurs espèces de melaleuca dont les huiles essentielles sont d'une importance capitale dans l'arsenal thérapeutique de la médecine aromatique. En Inde, la médecine Ayurvédique fait largement écho de l'emploi thérapeutique des plantes locales dont les huiles essentielles peuvent être considérées comme le prana, souffle de vie apporté par l'énergie des H E [17]. Mais la civilisation la plus avancée dans l'usage des H E est l'Egypte et la période : des pharaons, les médecins et les prêtres de cette époque utilisaient et largement les plantes aromatiques pour l'embaumement car ils maîtrisaient les vertus antibactériennes et antiprurides de certains d'entre elles [17].

Les Romains et les Grecs en faisaient largement usage aussi de nombreux écrits attestent de l'utilisation fréquente de ces substances au titre d'argents thérapeutique pour l'aromatisation des bains, dans les parfums et dans les vins aromatiques [8].

Mais l'extraction proprement dite des huiles essentielles par le processus de distillation à la vapeur d'eau nous vient du monde arabe ou un grand médecin Ibn Sina met au point l'alambic qui permet l'obtention des H E. Il faudra attendre le XII siècle pour que l'aromathérapie s'incruste définitivement en occident , Au retour des croisades, les chevaliers rapportent les découvertes de la distillation à la vapeur et l'emploi des H E [17].

Les H E furent découvertes par le chimiste M. Cratte fossé en 1928. celui ci plongeait, par réflexion, sa main brûlée lors d'une explosion dans son laboratoire dans le premier liquide proximité, et fut stupéfait de constater qu'aucune lésion n'apparue , il s'intéressa alors aux propriétés de ce liquide qui est l'huile essentielle de lavande , l'étude des propriétés des H E commença alors [19].

II -2 Définition :

La pharmacopée Française 1965 définit les H E comme des produits de composition généralement assez complexe renfermant les molécules volatiles contenues dans les végétaux et plus au moins modifiés au cours de la préparation [4].

La norme AFNOR NET 75-006-(1987) a donné la définition suivante « produit obtenu à partir d'une matière première végétale soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citruses, soit par distillation à sec, l'H E est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » [4].

L'huile essentielle est la sécrétion naturelle de la plante elle est élaborée par ses organes sécréteurs qui sont localisées dans les différentes parties des plantes et des arbres aromatiques, semence, racine, bois, feuille, fruit et de fleur [14]. Les H E sont des assemblages de molécules diverses ayant chacune leurs propriétés particulières ». Elles peuvent être utilisées pures, uniquement sur le conseil d'un médecin aromathérapeute, mais toujours avec de petite quantité du fait de la concentration de leurs principes actifs.

Elles entrent également dans la composition de très nombreux produits médicaux (gélules , crèmes, suppositoires , gouttes) et l'environnement olfactif du patient dans un but médical , ce pouvoir des senteurs aromatiques crée un environnement propice à la guérison et ouvre de nouvelles perspectives pour l'amélioration du bien être des malades [18].

II -3 Constituants majeurs des huiles essentielles :

II 3 - 1 Les terpènes et dérivés :

Les terpènes sont présents dans les végétaux, dont ils sont souvent les constituants odoriférants, et dont on sait depuis longtemps les extraits sous la forme d' H E. De nombreux composés terpéniques sont employés en parfumerie ou dans divers autres industries [22]. Les terpènes sont des hydrocarbures (carbone et hydrogènes seulement) Formés par l'agglomération de plusieurs isoprènes ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{=C-CH=CH}_2$) [20]. Ces terpènes sont biosynthétisés à la suite de couplage de deux au moins entités à 5 carbones dont la structure est celle de l'isoprène ou 2-méthyl -1,3- diène [21].

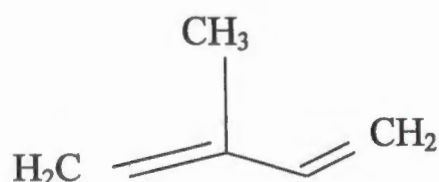


Fig. 1 : le squelette de base de terpène (isoprène) [20].

Les hydrocarbures terpéniques ont pour formules brutes $C_{10} H_{16}$ (mono terpène) $C_{20}H_{32}$ (diterpènes), $C_{30} H_{48}$ (tri terpène) ou $C_{40} H_{64}$ (tétraterpène) [22]. Les composés terpéniques oxygénés ont des chaînes carbonées analogues à celles des hydrocarbures, acycliques ou cycliques mais sont parfois moins insaturés que les hydrocarbures correspondants [22]. Les terpènes peuvent être classés par leur nombre de motifs ainsi que par leur arrangement :

- C5 : 1 motifs Hémiterpènes.
- C10 : 2 motifs monoterpènes.
- C15 : 3 motifs sesquiterpènes.
- C20 : 4 motifs Diterpènes.
- C25 : 5 motifs sesterpènes.
- C30 : 6 motifs triterpènes.
- C40 : 8 motifs caroténoïdes.
- >C 40 < 8 motifs caoutchoucs.

Tableau I : Classification des différents terpènes [10],[8] .

Groupe de substance	Exemples	Propriétés pharmacologiques
-Mono terpène (C10 H16)	-Acyclique : myrcène ocimène -Monocyclique:Thymol thym. -Bi et tricyclique : pinane. -Réguliers : isocamphane -Irrégulier	-Stimulant de système immunitaire. -Action révulsive sur la peau utile en cas de douleurs localisées : ils sont donc antalgiques à action percutanée.
Sesquiterpènes	B- cadinène - Lactone sesquiterpinine	-légèrement hypotenseurs calment et anti inflammatoires , Antibactériennes surtout à l'encontre des Gram positive -Antifongiques et antiparasitaires .
Diterpènes C20 H32	Florsholine (lamiacèae)	- hypotenseur .
Triterpène (C30 H48)et stéroïdes	-linéaire : squalene -polycyclique :betulane, ursane aleane .	-contraceptifs , anabolisants . -anti inflammatoire , analgésique .
Tétraterpène C40 H64	Caroténoïdes (B. carotène) . Acide carote noïdique : La carotenoidique : La crocétine .	- En pharmacie comme dans l'industrie agro - alimentaire ils peuvent être utilisés comme colorants naturels efficaces , non toxiques . - L'activité vitaminique A

II-3-2. Les composés phénoliques :

Les composés de ce groupe important de métabolite secondaires végétaux se reconnaissent à la présence d'un ou de plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction : éther, ester hétéroside [10], [8]. Ces composés contiennent exclusivement du carbone, de l'hydrogène, et de l'oxygène, on peut donc sans problème les rapprocher des glucides et des isoprénoides traités précédemment [8].

Tableau II : Composés phénoliques les plus importantes [4], [8].

Groupe de substances	Exemples	Propriétés pharmacologiques
Phénols simples	Catéchol, thymol , phloroglucinol , guaiacol	-propriétés antiseptiques urinaires .
-Acides phénols dérivés de l'acide Benzoïque -Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique	-Acide gallique -Acide vanillique -Acide caféique Acide férulique Acide rosmarimique Acide lithospermique	-propriétés anti-inflammatoires -ces composés sont anti-bactériens et antifongiques à l'égard des organismes phytopathogènes.
Coumarines	Exuloside , osthol , subérosine	-les coumarines sont présentés comme : -veinotonique , vaxulo-protecteur -vasodilatatrices coronariennes - ont une action favorable sur les troubles de la sénescence cérébrale
Lignines	Dibenzylbutanes	Propriétés cytostatiques et antimitotiques.
Shikimates .	Xanthones , styrylpyrones , stilbenoides	-Anti-inflammatoire
flavonoïdes .	Isoflavones , chalcone	Les flavonoïdes agissent surtout sur des maladies tel que : manifestation de la fragilité capillaire, les maladies vineuses Autre action : agissent sur le métabolisme, ils sont des laxatifs et purgatifs [9].

II-3-3- Métabolites secondaires azotés :

Ces substances se caractérisent par le fait qu'elles contiennent de l'azote et que dans la plupart des cas, celui-ci entre dans leur structure moléculaire sous la forme d'un acide aminé ou de son dérivé décarboxylé. Quelques rares composés de ce groupe amine, par exemple de celui de l'aspartate : en d'autre terme, leur structure a une autre origine biogénétique. la classification courante distingue : les amines , les hétérosides de la moutarde (glucosinolate) , les bétalaine , les alcaloïdes , tous les composé phénylpropanique [8].

Tableau III : Principaux métabolites secondaires [4].

Groupe de substance	Exemples	Propriétés pharmacologiques
Acide -aminé non de constituants protéines	-Acide 4-methyl glutarique -Acide azétidine-2 carboxylique	-la fonction de ces acides aminés est souvent aussi mal connue que celle de la plupart des métabolites secondaires . - beaucoup se révèlent toxiques à l'encontre de prédateurs (champignons micro-organisme ,) - ces acides aminés sont dans l'état actuel des connaissances , dépourvus d'intérêt pharmacologique
Hétérosides de la moutarde (glucosinalats)	Sinigrósíde	- toxique , mais il peuvent aussi avoir des avantages pour plusieurs auteurs , leur présence dans la ration alimentaire pourrait avoir un effet protecteur à l'encontre des substances cancérógènes au niveau de cõlon

II-4- Propriétés Physiques :

Les HE sont liquides à température ambiante, elles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes [4]. Elles perdent progressivement leur action si elles ne sont pas scellées dans des flacons étanches. Après chaque utilisation, un flacon d'huiles essentielles sera hermétiquement fermé pour préserver sa richesse moléculaire [23]. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart devient la lumière polarisée [4]. Elles sont très sensibles aux rayons ultraviolets qui modifient leur structure biochimique [9]. Les HE sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, mais insolubles dans l'eau [9].

II-5 Facteurs de variabilité des HE :

II-5-1- Existence de chémotypes :

Les chémotypes, on dit aussi races chimiques, sont très fréquents chez les plantes à huiles essentielles, l'un des exemples les plus démonstratifs est celui du Thym [4].

II-5-2- Facteurs extrinsèques :

Il s'agit de l'incidence des facteurs de l'environnement et des pratiques culturales, la température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime des vents exercent une influence directe surtout chez les espèces qui possèdent des structures histologiques de stockage superficielles ex : poils sécréteurs des lamiales, lorsque la localisation est plus profonde la qualité est beaucoup plus constante [4].

II-5-3- Procédé d'obtention :

L'habilité des constituants des HE explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation est le plus souvent différente de celle du mélange des constituants initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal [4]. Au cours de l'hydrodistillation, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters mais aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations, des oxydations... [4].

III-6 – Classification des HE :

La composition des HE est excessivement variable. Dans ces conditions, il est difficile d'en établir une classification, on ne peut que les grouper, et le groupement employé, quoique déficient, peut cependant être utile [1]. Il y aura ainsi trois groupes, dont seul le dernier est assez homogène [1].

- Les cires : spécialement conçues pour la fabrication des suppositoires et des ovules à base d'huiles essentielles permettent l'administration des remèdes aromathérapiques avec un maximum d'efficacité, un minimum d'intolérance et le plus grand respect pour ces quintessences absorbées, en premier lieu , par les veines hémorroïdaires puis surtout par la veine cave avant d'être véhiculées dans l'organisme par la circulation générale [23].

II-8- Mode d'emploi des huiles essentielles :

Les huiles essentielles pénètrent dans l'organisme par toute les voies d'administration [2]

L'action de ces huiles par voie cutanée est particulièrement performante [24] car elles peuvent facilement absorbées par les tissus cutanés avant de passer dans la circulation sanguine et imprégner tous les organes[2] . Elles peuvent être tout aussi aisément inhalées par la voie respiratoire et par les poumons qui les distribueront dans le flux sanguin. La voie orale est largement utilisée par les thérapeutes .elle peut cependant présenter quelques problèmes d'intolérance digestive face à quelques huiles essentielles surtout celles qui sont riches en phénols. La voie rectale est une voie royale pour mesurer la rapidité d'action et l'efficacité. Enfin, ces molécules aromatiques volatiles sont captées par des milliers de chémorécepteurs au niveau de l'épithélium olfactif [2] .

II-9- L'utilité des huiles essentielles :

- Elles ont un pouvoir antiseptique : Ce pouvoir antiseptique s'exerce à l'encontre des bactéries pathogènes variées , y compris des souches habituellement antibiorésistantes. [15]. [L'activité antiseptique concerne surtout de thymol et de carvacrole qui agit en détruisant la paroi bactérienne.] Cette activité a été démontré vis-à-vis des bactéries gram positive et gram négative, des champignons, levures comme *Candida albicans* et même sur certaine virus sans développer aucun effet mutagène[10] les doses actives sont en générale faibles et celles qui sont démontrées par une expérimentation in vitro sont directement transposable pour une utilisation par voie externe [15]. L'efficacité des huiles essentielles contre les agents infectieux souvent supérieur à celle des antibiotiques, les huiles essentielles ne sont d'ailleurs pas « antibiotiques » mais « eubiotiques» (qui favorisent la vie) Car elles sont capables de s'attaquer aux germes pathogènes [24].
- Elles ont un pouvoir énergetisant (recharge en énergie) : Les huiles essentielles émettent des rayonnements électromagnétiques dont les longueurs d'ondes varient suivant les molécules qu 'elles contiennent .elles rechargent les organes déficients en énergie en leur cédant des électrons nos défenses naturelles sont tributaires de nos réserves d'énergie .

Cette recharge des batteries cellulaires améliore donc l'efficacité de notre système immunitaire.

- Elles ont un pouvoir cicatrisant : Les huiles essentielles agissent par stimulation des tissus , la cicatrisation se fait aussi bien au niveau de la peau que des tissus profondes (muqueuses organes).
- Elles ont un pouvoir antidouleur et anti-inflammatoire : Grâce à leurs propriétés détoxifiantes, elles nettoient en profondeur les toxines et déchets organiques responsables de certaines douleurs. Certaines d'entre elles ont de plus un pouvoir anesthésiant.
- Elles ont un pouvoir antiviral : Les virus donnent lieu à des pathologies protéiformes (très variées) dont certaines posent des problèmes non résolubles aujourd'hui .Les réponses classiques à ces infections étant très limitées dans l'arsenal pharmaceutique. Les HE constituent une aubaine pour traiter ces fléaux infectieux, plus d'une dizaine d'HE ont des propriétés antivirales. Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques et certaines pathologies virales graves se trouvent très nettement améliorées. De plus les cellules saines des patients utilisant des HE , acquièrent une résistance particulière vis à vis de la pénétration virale. L'HE agit indistinctement sur tous les virus et c'est la raison pour laquelle il faut recommander l'emploi systématique dans toutes les affections virales.
- Elles ont un pouvoir antifongique : L'H.E de *T. vulgaris* est un puissant antifongique [4],son activité a été mise en évidence in-vitro vis-à-vis des levures comme *condida albicans* et des champignons responsables de mycose(infection fongique)[10].

II-10- Toxicité des HE :

Les HE chemotypées sont très puissantes et certaines pourraient générer des effets secondaires ou toxiques[23]. La toxicité chronique des HE est assez mal connue[4] on connaît par contre beaucoup mieux le risque de toxicité aiguë lié à une ingestion massive en particulier neurotoxicité des huiles essentielles à thuyone ou à pinocamphone [4] : Ces cétones présentent une toxicité pour les tissus nerveux immatures fragilisés[23] , et induisent des crises épileptiforme et tétaniforme des troubles physiques et sensoriels nécessitant l'Hospitalisation .

D'autres mono terpènes sont également toxiques à dose forte les huiles essentielles de térébenthine de genévrier et de santal stimulent l'activité rénale et peuvent irriter les néphrons des patients souffrant d'insuffisance rénale [23].

Les huiles essentielles phénolées ou riches en aldéhyde sont très agressives pour la peau [9] . Cette toxicité non négligeable conduit à adopter une attitude prudente face à la pratique telles que l'aromathérapie lorsqu'elles utilisent des huiles essentielles pures et à dose forte par voie orale [4].

III- Le Thymus vulgaris :

III-1- Historique :

Le nom de thym est dérivé de verbe grec " Thio " qui signifie "Je parfume " il semble que de tous temps le thym ait en des applications culinaires peut être même il était déjà consommé avant la grec antique [30]. Dans l'antiquité romaine, on brûlait les feuilles de thym comme insecticide, c'était un moyen de chasser les mouches sans esclavage .on estimait à Rome que le meilleur miel d'athènes était butiné dans le thym [30].

III-2- Description:

Petite plante vivace aromatique, le thym forme des buissons de 5 à 15 cm de haut, à nombreuses tiges quadrangulaires, rampantes et s'enracinant, ces tiges se recouvrent de petite feuille turquoise pâle. les fleurs poussent en tête des tiges florales dressées, dans la partie supérieure de la tige se forment des verticilles impaires composés de menues fleurs blanchâtres à rosées. toute la plante est odoriférante [29].

III-3- Culture :

Le thym est une plante vivace facile à cultiver qui demande très peu d'entretien à condition de la placer dans des conditions adéquates : un sol bien draine , poreux , très rocailleux et surtout en plein soleil.

III-4 Habitat :

L'ensemble des zones tempérées du pourtour méditerranéen.

III-5- Odeur :

Aromatique, intense et caractéristique rappelant le thymol [10].

III-6- Saveur :

Aromatique , légèrement âpre [10].

III-7- Classification :

- Embranchement = Angiospermes.
- Classe : Dicotyledones.
- Sous classe : Gamopetales.
- Ordre = Lamiales.
- Famille = Lamiaceae.
- Genre = THYMUS.
- Espèce = *thymus vulgaris*.



Fig 2 : La plante de *T. vulgaris* [11].

III-8- Composition chimique de l'huile essentielle de Thymus –Vulgaris :

L'huile essentielle renfermant surtout des isomères monoterpéniques thymol = méthyle -5- isopropyl -2 phénol (25-30%) et carvacrol = méthyl -6- isopropyl -3 phénol (3- 10%) une faible part de phénol et également présente dans la drogue sous forme d'hétérosides, notamment de galactosides autres monoterpènes = P – cymène , γ – terpinène , linalol , camphre et limonène[10]. Autre constituants ont été caractérisés = acides rosmarinique et cafeique tanins , flavonoïdes [hymonine , circilinéol, et γ – methoxy - circilinéol caractéristique] , triterpènes et dérivés du biplényl d'origine mono terpénique sont également présent [10] .



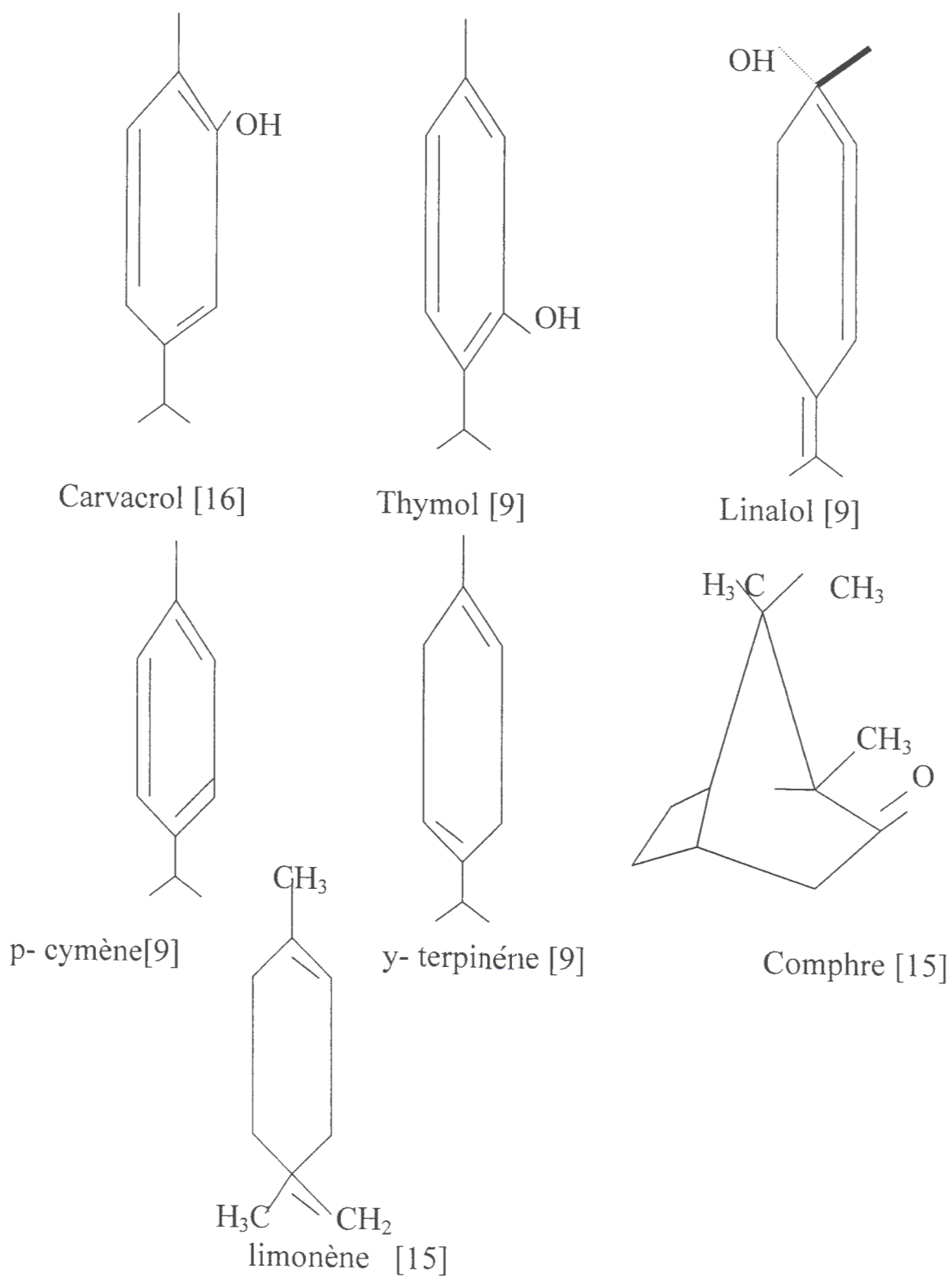


Fig 3 : les principaux constituants d'HE de *thymus vulgaris* .

III-9- Action médicinale et utilisation de *thymus vulgaris* :

Antiseptique, tonique et carminative, expectorant et spasmolytique bronchique par voie interne , en raison de la teneur en huile essentielle principalement indiqué dans les bronchites aiguës et chroniques et coqueluche et d'une façon générale dans les états inflammatoires des voies respiratoires supérieures; l'activité résulte à la fois d'une augmentation des sécrétions qui sont véhiculées Par les mouvements ciliaires des branches [10].

Le thé de thym arrêtera la fermentions gastrique, il est utile dans les cas de spasme (contraction musculaire involontaire, intense et passagée) de vent et colique (violente douleur abdominale), et aidera à favoriser la transpiration, et abaissera la fièvre . [25]

L'huile de thym est utilisé en tant que rubefacient (rougissement de la peau) et compteur-irritant dans le rhumatisme

Le thym entre dans la formule pour le tabac d'herbe, et utilisé sous cette forme est bon pour la digestion , le mal de tête et la somnolence (état intermédiaire entre le sommeil et la veille) . [25]

Le thym est hyperémiant ; son pouvoir antibactérien et désodorisant est mis à profit dans les inflammations bucco pharyngées, les stomatites (inflammation de la muqueuse buccale) . [10]

Parmi les constituants les plus importants de thym , on trouve le thymol qui a une action comme désinfectant est permanente et en même temps puissante. Il est moins irritante à la peau , n'agit pas entant que caustique (qui attaque les substances organiques), et est un poison moins puissant aux mammifères. chez les animaux plus hauts. Il agit en tant qu'irritant et anesthésique locaux à la peau et à la membrane muqueuse. elle est employée comme lotion et collutoire antiseptique; comme peinture dans la teigne tonsurante, dans l'eczéma, les affections parasitaire de la peau et les brûlures ; comme onguent dans le catarrhe nasal, et une solution alcoolique peut être inhalée pour le laryngitis (inflammation aigue ou chromique du larynx).

Les affections bronchiques et la coqueluche, il est le plus utile contre la gorge endolorie septique, particulièrement pendant la scarlatine(maladie infectieuse avec fièvre et éruption érythémateuse) . [25]

Matériel et Méthodes

II-Matériel et Méthodes :

II.1-Matériel :

II.1.1-Matériel d'extraction des HE :

Pour déterminer la teneur en HE par hydrodistillation on utilise l'appareil de clevanger. L'appareil de ver résistant de faible dilatation thermique comprend :

- Un ballon à fond rond de 1 litre à col court et rodé.
- Un appareil de condensation s'adaptant exactement sur le ballon comprend divers parties entièrement soudées.
- Un réfrigérant avec une entrée et une sortie d'eau.
- Un tube de communication entre les 02 tubes reliés au robinet et au ballon (voir figure N° 04) .

II.1.2-Matériel végétal :

La plante de *T. vulgaris* (feuilles, tiges, fleurs) a pour origine la région de jijel et elle était récolté à la fin de printemps et le début d'été (mois de mai).

II.1.3-Matériel bactériologique :

Les souches utilisés proviennent du laboratoire de microbiologie de l'institut des sciences de la nature de l'université de jijel : 3 souches d'*E.coli* (isolé à partir du foie et de la rate, sac vitelline des poussins), 2 souches de *Salmonella*.

- milieux de culture :

Les milieux de culture utilisés sont les suivants :

- La gélose Muller Hinton : pour faire l'aromatogramme.
- L'eau physiologique stérile : pour faire la suspension bactérienne.
- Bouillon nutritif :pour l'enrichissement des souches.
- Gélose de conservation.

Le réactif utilisé est l'huile de vaseline pour préparer les diluants.

-Autres matériel :

- L'étuve
- Bain marie
- La micro pipettes : 100ML de marque « Nichipet EV »
- L'anse de platine.
- Pipteur .
- Pipette de pasteur.

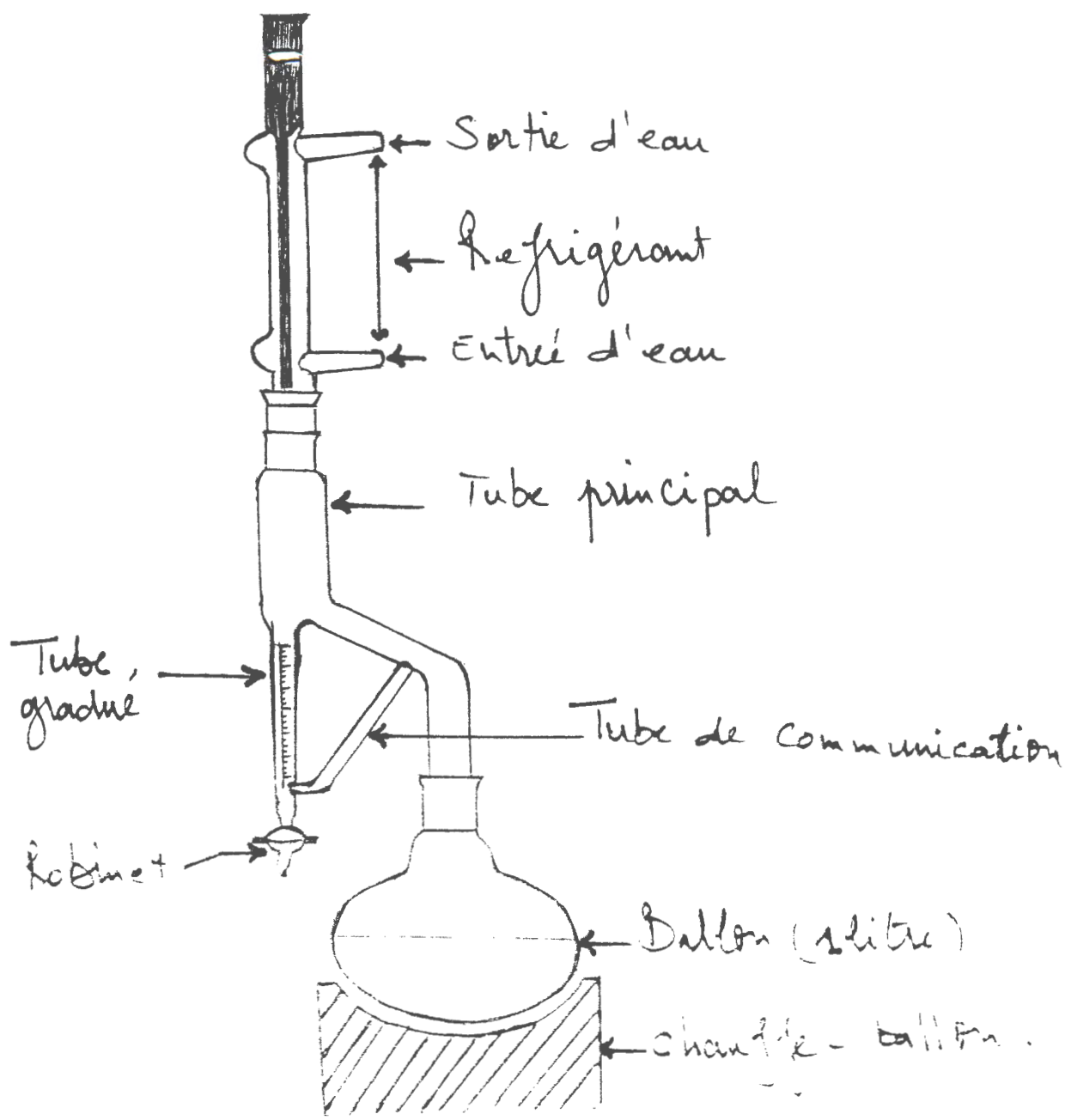


Fig 04 : Dispositif d'hydrodistillation clevanger [26]

II.2-Méthodes

II.2.1-Mode opératoire d'extraction :

L'hydrodistillation consiste à :

- nettoyer l'appareil avant l'emploi à l'éther, à l'eau, en retournant plusieurs fois .
- remplir le ballon avec de l'eau au $\frac{2}{3}$ du volume.
- introduire 100g de la matière végétale (thym) qui est déjà séchée et coupée en petit morceaux.
- adapter au ballon l'appareil de condensation.
- Placer le ballon sur le chauffe ballon.

Le procédé dure environ deux heures pour avoir la totalité des HE

II.2.2-Méthode de détermination de la CMI :

A-Définition de la CMI :

La CMI est la plus faible concentration de la substance antimicrobienne qui inhibe la croissance visible de germe.

B-Technique de diffusion sur gélose :

B.1- Préparation du milieu de culture :

Dans les boîtes de pétri de 90 mm on fait couler la gélose de Muller hinton . La couche du gélose doit avoir une épaisseur de 4mm.

B.2- Enrichissement des souches :

A partir de chaque souche, on fait une culture dans un tube contenant le bouillon nutritif, puis on incube les tubes à 37 c° pendant 24 heures.

B.3- Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture pure de salmonella et d' *E. Coli*, on dilue à l'aide d'une anse de platine dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 % et on homogénéise la suspension bactérienne.

La densité de 'inoculum préparé ne doit pas dépasser 0,5 MC farland.

B.4- Ensemencement par inondation :

On submerge la surface de la gélose par la suspension bactérienne de façon à recouvrir cette dernière. On accélère le recouvrement par des mouvements de rotation dans les 02 axes .

A l'aide d'une pipette de pasteur on aspire la totalité du liquide, puis on mit les boites dans l'étuve pour les sécher pendant 15 minutes à 45 c°.

5- Confection des puits :

On confectionne six puits dans chaque boite de pétri on dépose une goutte de gélose de conservation stérile ou fond de chaque puits pour souder la base de ces derniers . chaque boite contient 6 puits distants de 2cm .

6- Préparation des dilutions :

La dilution de l'HE de thymus vulgaris se fait dans l'huile de vaseline. Les différentes concentrations testées sont représentées dans le tableau IV.

Tableau IV : Préparation des dilutions .

Volume de e HE (μl)	Volume du diluante(μl).	Volume totale (μl).	Dilution
60	240	300	1/5
30	270	300	1/10
20	280	300	1/15
15	285	300	1/20
12	288	300	1/25
10	290	300	1/30

7) Distribution des dilutions :

A partir de chaque dilution on dépose 50 μ l dans le puit correspondant et on prépare un témoin qui ne contient que l'huile de vaseline dans un puit, puis on incube à 37 c° pendant 24 heures.

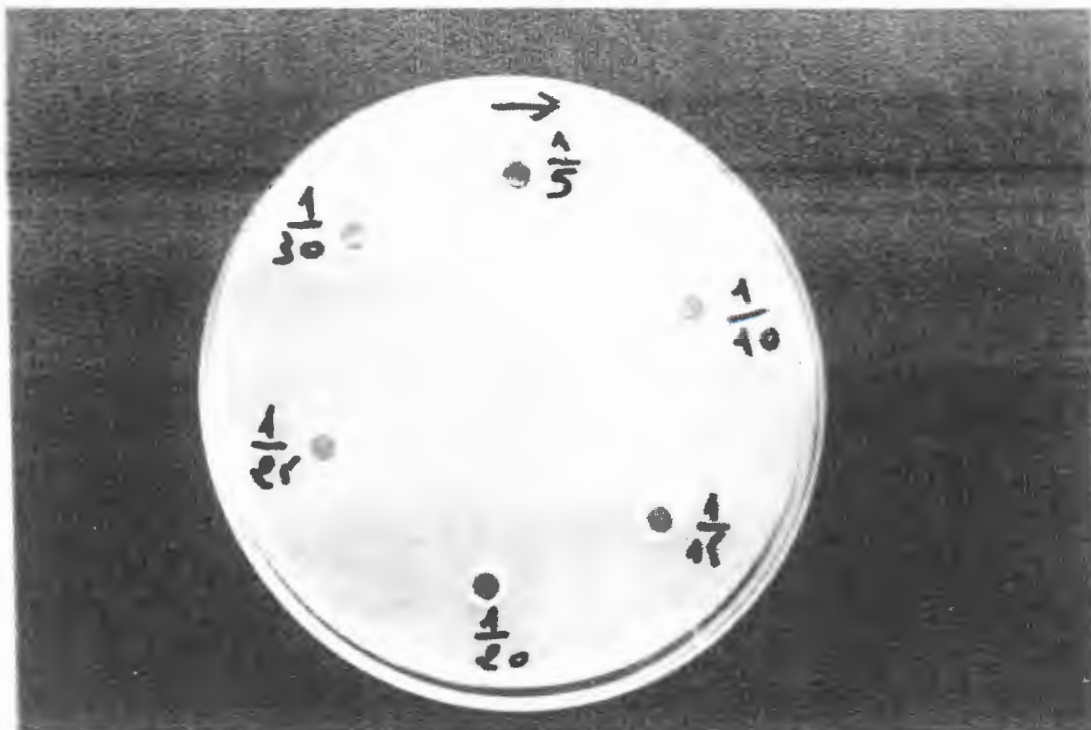


Fig 5, la position des puits et les différentes dilutions

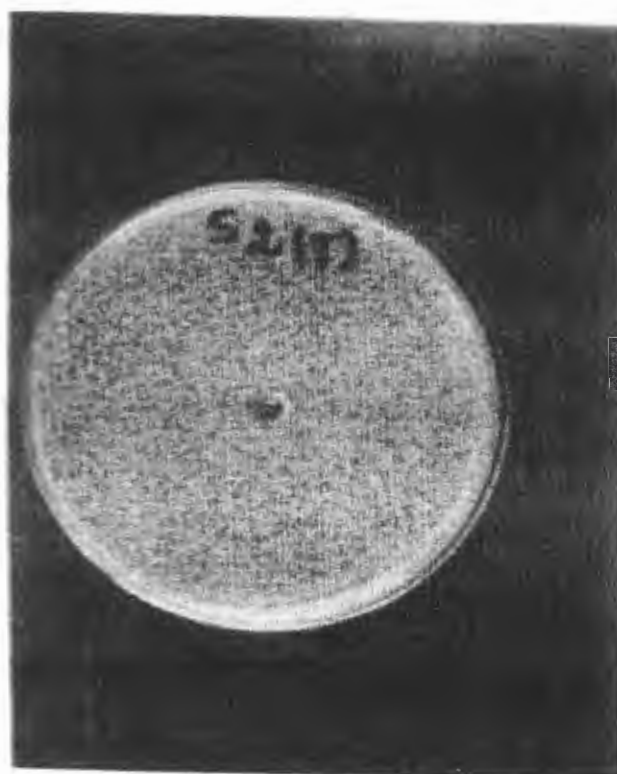


Fig 6: Temoin (l'effet de l'huile de vaseline)

Résultats

Et

Discussion

III-RESULTATS ET DISCUSSION

Dans ce chapitre, nous allons représenter les résultats obtenus quant à l'extraction des HE du *T.vulgaris*, effet antibactérien de ces huiles et l'analyse statistique.

III.1.Extraction des huiles essentielles du *Thymus vulgaris* :

Les résultats obtenus concernant le dosage des huiles essentielles du *Thymus vulgaris*, sont regroupés dans le tableau N° V :

Tableau V : Rendement en HE de *T.vulgaris*

Nombre d'extraction	1	2	3	4
Poids de la matière végétale sèche (g)	50	70	30	38
Volume d'H.E obtenu (ml)	0,5	0,8	0,2	0,4
Rendement (%)	0,96	1,09	0,63	1,00
Le rendement moyen	0,4			

Nous avons fait 4 extractions, pour chaque extraction nous avons utilisé successivement 50g, 70g, 30g, 38g de la matière végétale sèche.

Après hydrodistillation, le rendement moyen obtenu est 0.4.

III.2- Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles du *Thymus vulgaris* :

Les résultats globaux obtenus quant à l'activité antibactérienne des HE du *T.vulgaris*, sont représentés dans le tableau N° VI, pour mieux visualiser les résultats obtenus la représentation graphique choisie est celle des histogrammes en utilisant le tableur Excel XP.

Tableau : Diamètres des zones d'inhibition pour l'H . E .

Diluants Souches	Diamètre des zones d'inhibition (mm)					
	1/5	1/10	1/15	1/20	1/25	1/30
S1	23	17	12	11	00	00
S2	25	25	19	15	12	15
S3	30	25	20	15	09	10
S4	15	13	10	10	00	00
S6	20	20	16	13	10	00
temoin	00	00	00	00	00	00

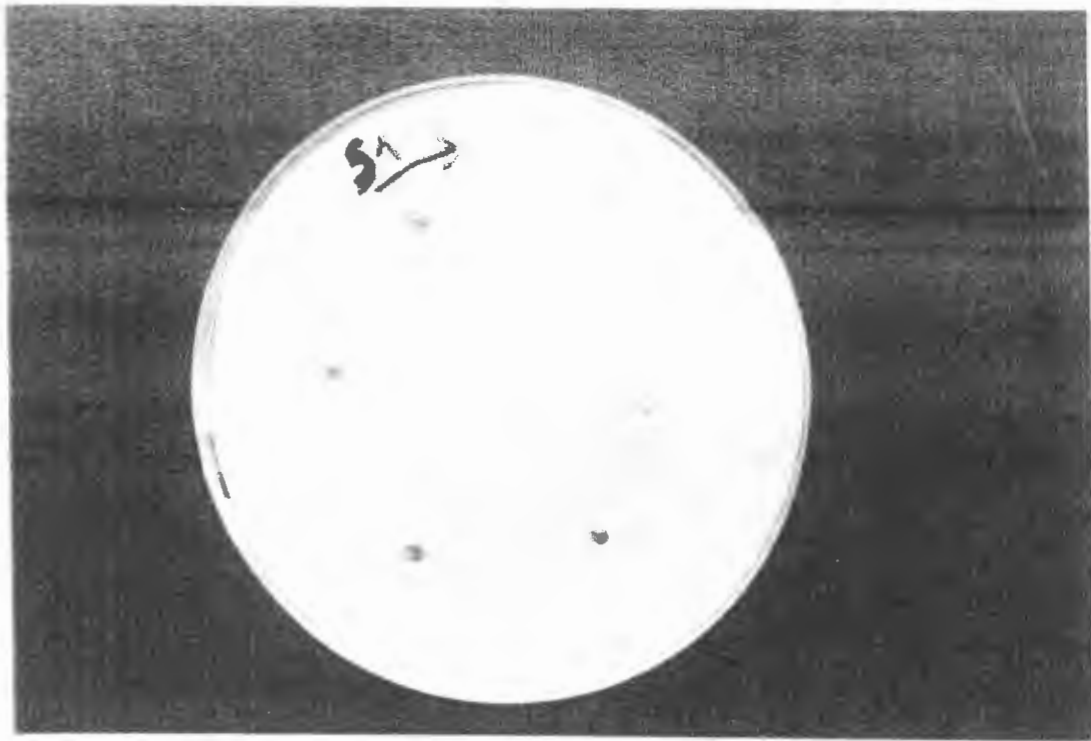


Fig 7, résultats de la sensibilité des salmonelles aux différentes dilutions d'HE de T.vulgaris

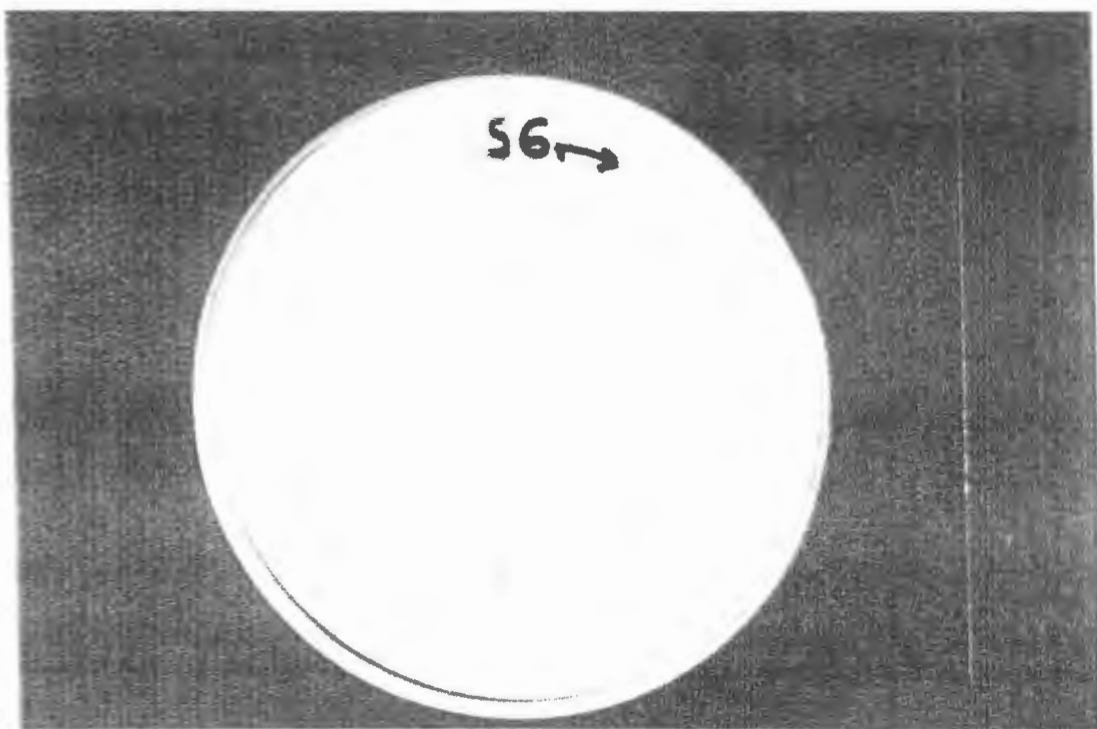


Fig 8, résultats de la sensibilité des E.coli aux différentes dilutions d'HE de T.vulgaris

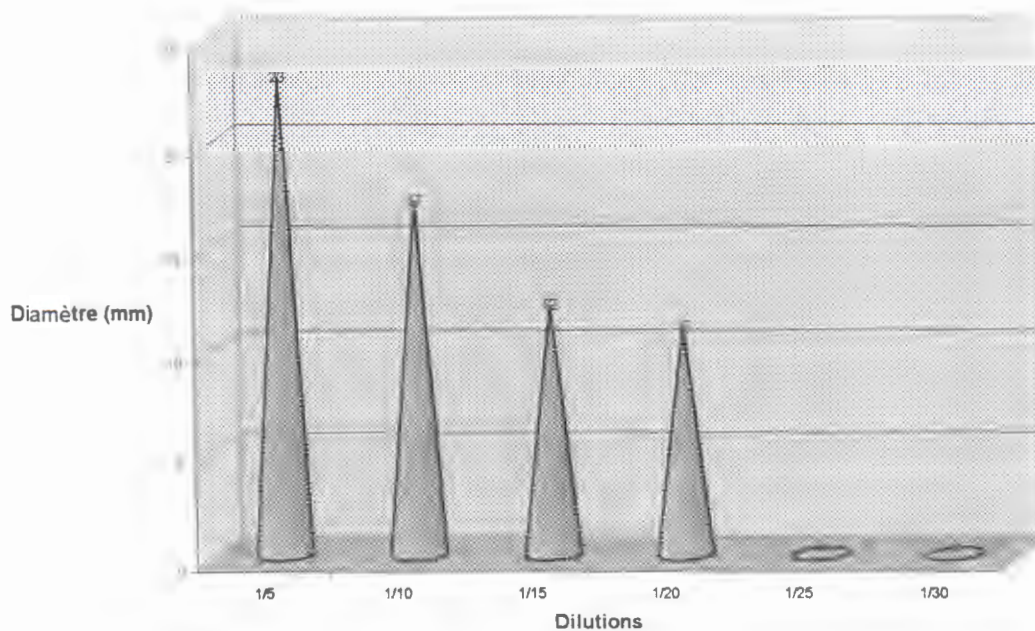


figure n°9 : Evolution du diamètre de zones d'inhibition (mm) en fonction du dilution des huiles essentielles du thymus vulgaris (souche1 :semonella)

Souche 1 : Salmonella SPP

Le diamètre de la zone d'inhibition pour la dilution 1/5 est très élevé (23 mm) après cette dilution les diamètres diminuent d'une façon remarquable jusqu'à la dilution 1/25 où le diamètre devient nul . la CMI de cette souche est égale 1/25 (voire fig 9) .

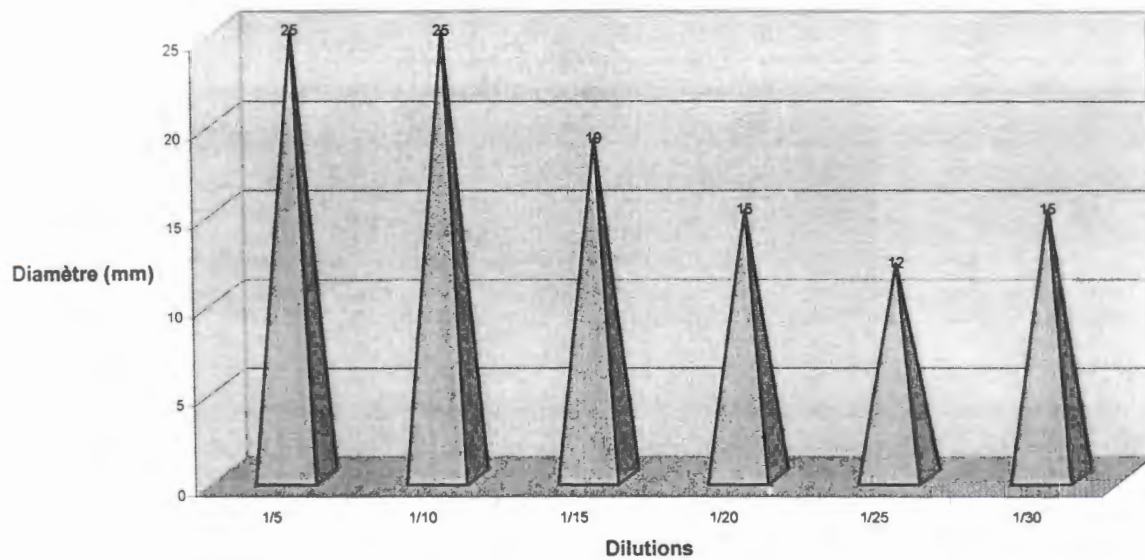


figure n° 10 : Evolution du diamètre de zones d'inhibition (mm) en fonction du dilution des huiles essentielles du thymus vulgaris (souche2 :E.Coli)

Souche 2 : E.coli

Le diamètre est très élevé pour les dilution 1/5 et 1/10 (25 mm), puis on observe une diminution des diamètres . la CMI est égale 1/25 (voir fig 10).

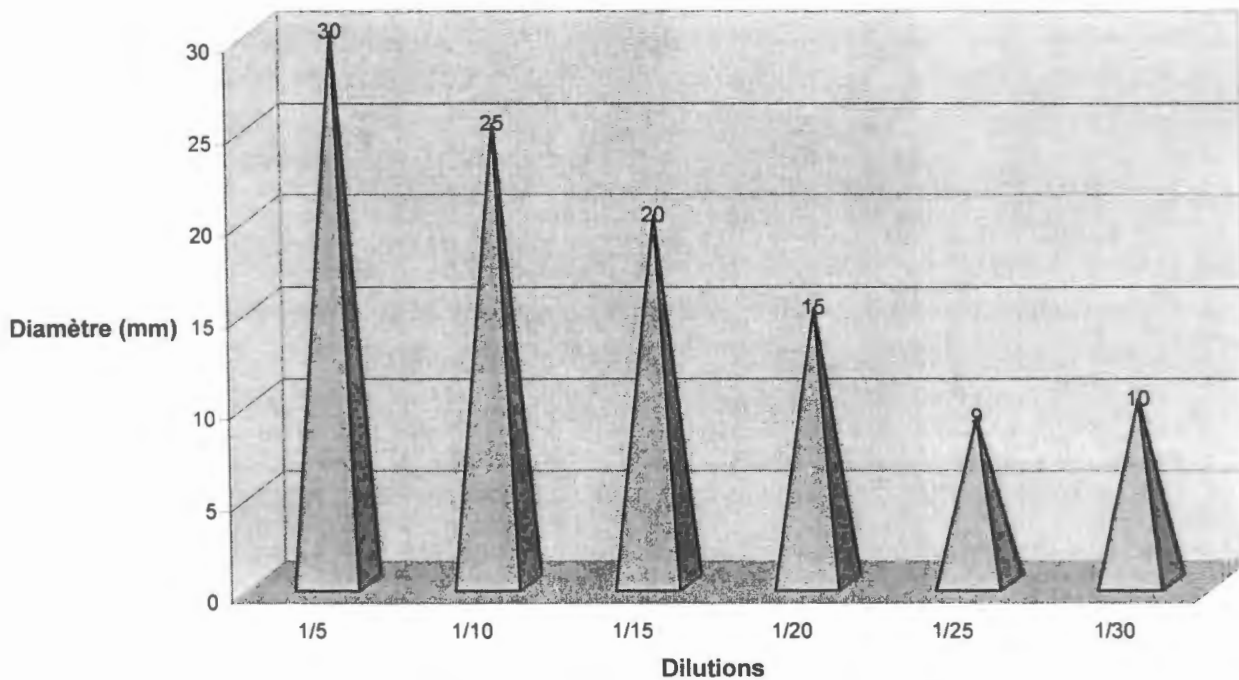


figure n° 11 : Evolution du diamètre de zones d'inhibition (mm) en fonction du dilution des huiles essentielles du thymus vulgaris (souche3 :Salmonella)

Souche 3 : Salmonella SPP

Le diamètre de la zone d'inhibition de cette souche pour la dilution 1/25 est plus élevé que les autres souches puis quand la dilution de l'H.E augmente, les diamètres des zones d'inhibition seront diminués .la CMI est égale 1/25 (fig 11).

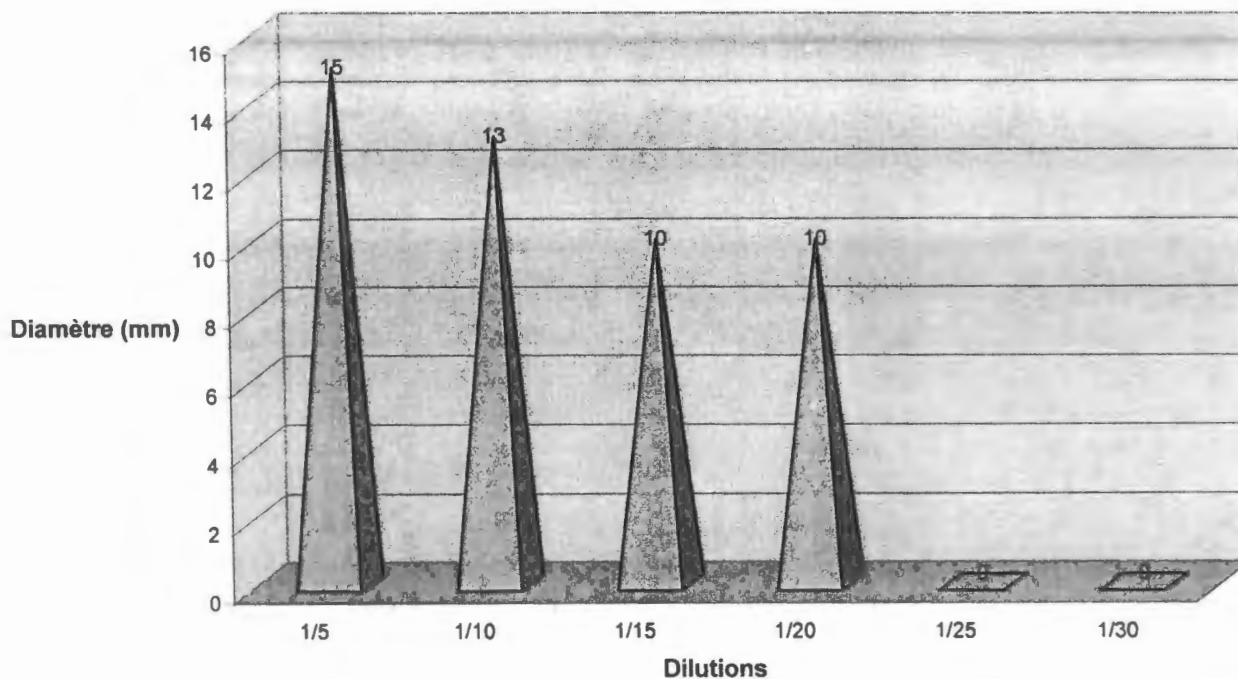


figure n° 12 : Evolution du diamètre de zones d'inhibition (mm) en fonction du dilution des huiles essentielles du thymus vulgaris (souche4 :E.coli)

Souche 4 : E.coli

Les diamètres des zones d'inhibitions sont diminués légèrement entre les dilution 1/5 et 1/20. après cette dilution, le diamètre devient nul. La CMI de cette souche est égale 1/20 (voir fig 12).

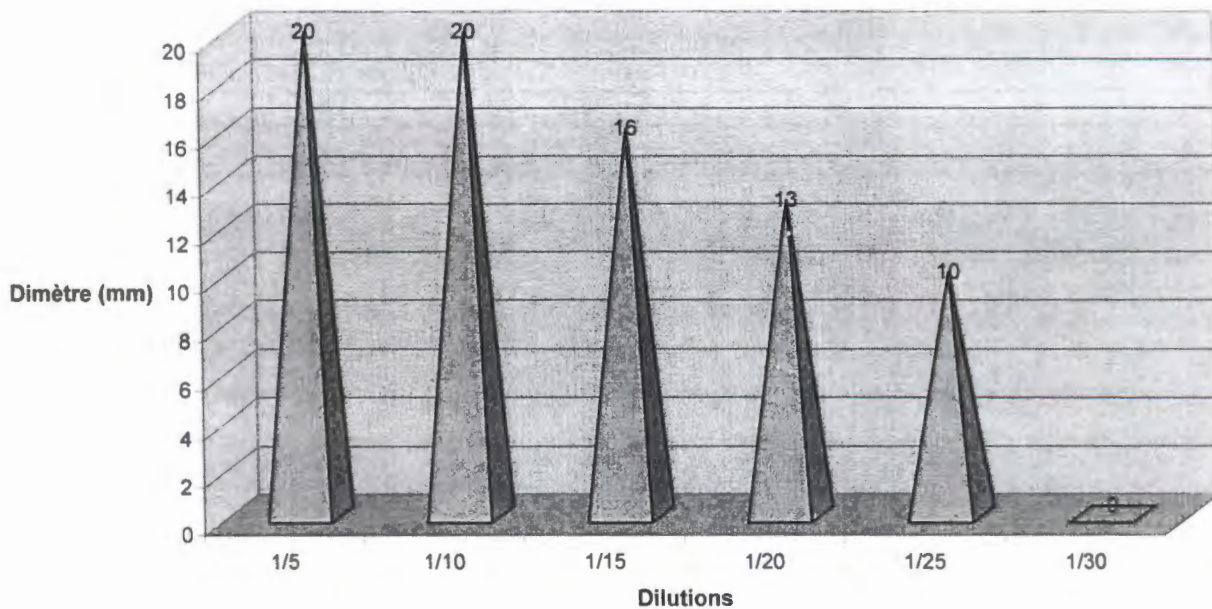


figure n° 13 : Evolution du diamètre de zones d'inhibition (mm) en fonction du dilution des huiles essentielles du thymus vulgaris (souche6 :E.coli)

Souche 6 : E.coli

Le diamètre est très élevé (20mm) pour les dilutions 1/5 et 1/10 puis on observe une diminution des diamètres jusqu'à la dilution 1/30 où le diamètre devient nul (voir fig 13).

III.3-Analyse statistique :

Afin de comparer les moyennes des diamètres des zones d'inhibition causées par les différentes dilution des huiles nous avons utilisé e logiciel statistica pour Windows, version 5.1 , la figure montre que les souches (2,3) sont très sensibles par rapport aux autres souches étudiées. Cette sensibilité est hautement significative ($p < 0.000$).

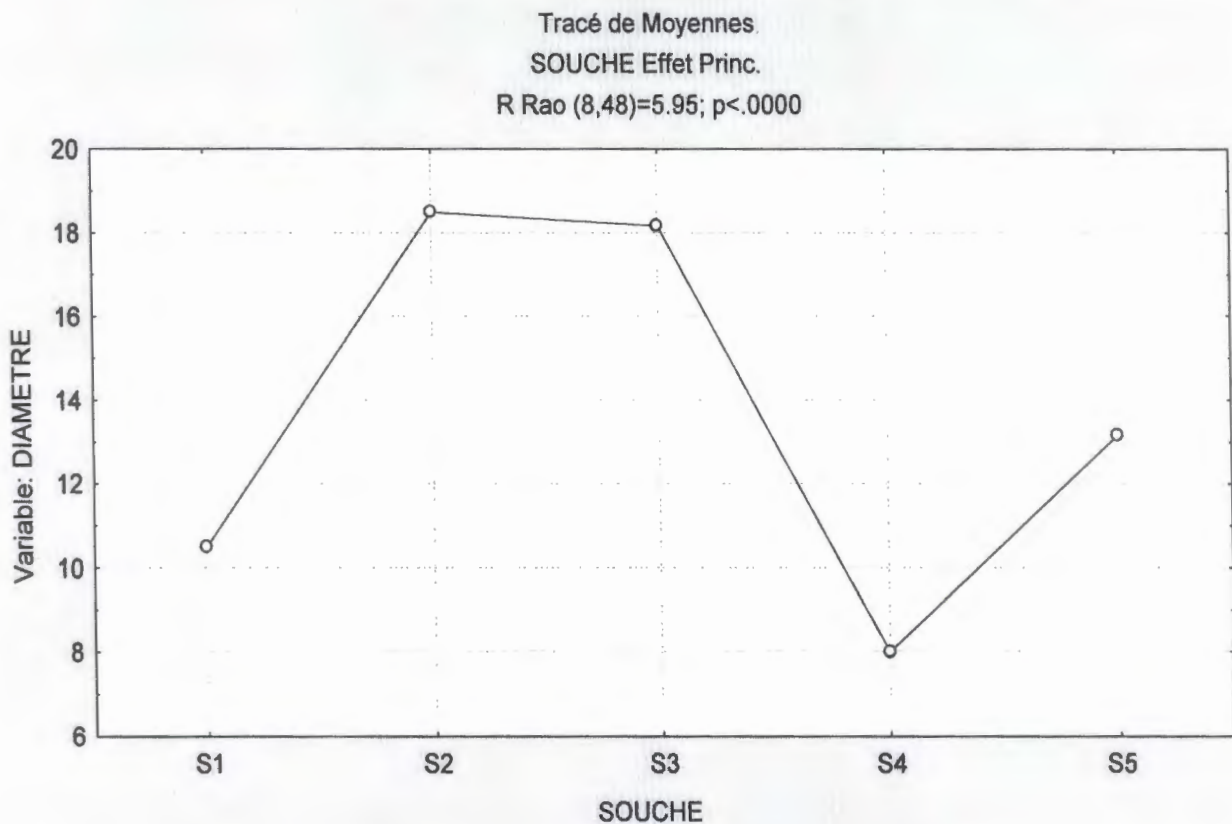


Figure N°14 : Comparaison des moyennes des diamètres de zones d'inhibition causée par les différentes souches bactériennes étudiées par l'analyse statistique ANOVA.

L'étude réalisée sur différentes souches bactériennes nous a permis de montrer que ce sont surtout les souches (s2,s3) : qui présentent le plus sensibilité à ces huiles essentielles.

III-4 Discussion générale.

Dans le but d'estimation de teneur en H.E de *T.vulgaris* de la région de Jijel, nous avons réalisé une hydrodistillation de la dite plante.

Les résultats obtenus montrent qu'une grande quantité de la matière végétale est nécessaire pour extraire une quantité infime d'HE ,mais le rendement en HE de *T.vulgaris* obtenu reste le mieux par apport aux autres types d'HE.

Pour estimer le pouvoir antibactérien des HE de *T.vulgaris* nous avons déterminé la CMI de chaque souche étudié ,les zones claires obtenues montrent l'existence d'une inhibition de la croissance pathogène et donnent une indication de l'activité antibactérienne des HE.

Si la zone d'inhibition mesure 2à3mm,l'HE possède une bonne action bactéricide sur les germes testés , ce qui signifie que les germes sont sensibles.

Si la zone d'inhibition mesure plus de 3mm,l'efficacité de l'HE est excellente donc les germes sont très sensibles.

S'il n'y a pas de zone claire ,l'HE développe aucune activité sur le germe donc les germes sont résistants. [2].

Les 05 souches ont montré une sensibilité variable vis -à-vis aux HE de *T.vulgaris* ,cette variabilité des résultats est probablement due à la variation des chimiotypes et des serotypes des souches. [7].

La CMI trouvé se situe généralement entre 1/20et1/30 et qui reste inférieure à celle rapporté par **SAGDICO.O.,2003** et qui sont estimés de 1/4-1/10.

Cette variabilité des résultats pourrait être due à la composition chimique des HE et à leurs concentrations en principes actifs notamment le carvacrol et le thymol .

De plus **Srou M. et Essawi T.2000.**, ont révélé que cette composition varie en fonction de la période de récolte et la méthode de séchage.[6] .

L'étude statistique par l'analyse des variances selon l'analyse statistique ANOVA entre les valeurs des zones d'inhibition et hautement significative.

Conclusion Générale

Conclusion Générale :

Le but de notre travail est la détermination de la teneur en huiles essentielles par hydrodistillation , cette dernière nous prouve qu'une grande quantité de la matière végétale est nécessaire pour extraire une quantité infime d'huile essentielle .

La détermination de la CMI d' HE de *Thymus Vulgaris* pour 05 souches différentes révèle que ces dernières ont une sensibilité vis – à – vis de huile de *T. vulgaris* ceci montre qu'il y a une activité antibactérienne .

L'activité bactericide des huiles essentielles est identique à celle des antibiotiques , pour valider cette approche la technique utilisé est l'aromatogramme qui ouvre les portes d'une thérapie globale .

Références bibliographiques.

- 1-ALGORISA LIOT., et JANOTAN GORIS., 1949.Pharmacie galénique.Ed..Masson et cie,P.547.
- 2-BELAICHE.P.,1979.Traité de phytothérapie et aromathérapie, tome1,P.33.
- 3-B LOUD.A.,1998.plantes médicinales d'Algérie. OPU.Alger.
- 4-BRUNETON.J. ,1993.Pharmacognosie.Phytochimie,plantes médicinales .Ed.TEC et DOC.LAVOISIER ,Paris,P.199-625.
- 5-EBERLIN.T.,1994.Les antibiotiques .Classification, mode d'action ,utilisation thérapeutique .Ed.Nathan,Paris ,P.86.
- 6-ESSAWI.T. , SROUR M. ,Screening of some palestinian medicinal plants for antibacterial activity, Journal of Ethnopharmacology, vol.70,issue 3,2000,P.343-349.
- 7-HUDAIB .M.,SPERONI.E.,DIPETRA.A.M.,CAVRINI.V.,2002. GC/MS evolution of thyme (Thymus vulgaris) oil composition and variation during the vegetative cycle.J.Pharma and Biom Analy ,Vol 29,Iss 4,P.691-700.
- 8-RICHTER.G.,1993.Métabolisme des végétaux .physiologie et biochimie.Ed.TEC et DOC,Paris ,P.392.
- 9-ROBERT LAFFONT.,1948.La médecine par les fleurs .
- 10-WICHTL.M.,ANTON .R.,1999.Plantes thérapeutiques. Traditions,pratique officinale, science et thérapeutique .Ed.TEC et DOC,Paris P.554-557-
- 11- 2002 ، د. محسن الحاج . طب الأعشاب ؛ تراث و علم ، الطبعة الثانية ، 2002

Sites d'Internet :

- 12-Les plantes médicinales.www.plante santé -free.fr.
- 13-Les plantes médicinales.www.enfic.org.
- 14-Huiles essentielles .www.luberon- news.com..
- 15-La phytothérapie.www.anveroi.com.
- 16-Effet thérapeutique des plantes médicinales.
- www.ethnopharmacologia.org/jardin.htm.
- 17-File:///C :/Docume ~1\MERS \LOCALS~1\ Temp\tig DFEK.htm.
- 18-Action des huiles essentielles .www.floriale.fr.
- 19-Historique des huiles essentielles .www.sanaflore..com.
- 20-Les constituants des huiles essentielles .www.tioldepice.free.
- 21-Les terpènes.www.univ-hn.fr.
- 22-Les composés aromatiques.www.membres.lycos.fr.
- 23- Huiles essentielles .www.beauté et nature.com..
- 24- L'utilité des huiles essentielles .www.naturothèque .org .
- 25- Action médicinale du T.vulgaris .www.nisbett.com..
- 26-Les techniques d'extraction.www.web -science.com.
- 27-Aromatogramme.www.huiles -essentielles.tv.
- 28-L'aromatogramme.www.aci-multimedia.net.
- 29-Le thym .www.ceppam.com.
- 30-L'intérêt de T.vulgaris .www.cyberlit -free.fr.

Résumé

Thymus vulgaris est une plante aromatique, qui se différencie des autres plantes médicinales par leurs principes odoriférants et parfumés appelés « huiles essentielles » qui ont un usage thérapeutique.

Afin d'estimer la teneur en HE de *T. vulgaris*, une hydrodistillation a été réalisée en utilisant le dispositif clivanger.

L'activité antibactérienne des HE de *T. vulgaris* a été vérifiée sur des souches (3 souches d'*E.coli* et 2 souches salmonella). Les résultats obtenus montrent que les souche bactériennes utilisées ont une sensibilité variable vis à vis de l'HE et que la CMI se situe généralement entre les dilutions 1/20 et 1/25.

ملخص

T. vulgaris هي نبتة عطرية تختلف عن بقية النباتات الطبية باحتوائها على مواد عطرية تسمى الزيوت الأساسية ذات استعمال طبي واسع. ومن أجل تقدير مردود هذه الزيوت قمنا بعملية التقطير البخاري باستعمال آلة « clevanger ». وقد تم إثبات أن لهذه الزيوت الأساسية تأثير فعال على خمس سلالات بكتيرية (2 salmonella, 3 E .Coli). النتائج المتحصل عليها بينت أن السلالات البكتيرية الخمس لها حساسية متغيرة اتجاه هذه الزيوت، وقيمة التركيز الأدنى المثبط محصور بين 20/1 و 25/1.

Summary

T. vulgaris is an aromatic plant, which is different from the other plant by odoriferous and scented principles called « essential oils » which have a therapeutic use.

With end to estimate the HE content of *T. vulgaris*, a hydrodistillation at summer carried out by using the device clivonger.

The antibacteriennes activity of the HE of *T. vulgaris* was to check on stumps (3 stumps of E .coli, 2 stumps of salmonella).

The results obtained show that the bacterial stumps used have variable sensitivity lives has screen of HE and that CMI is generally located between 1/20 and 1/25.

mots-clés : plante de *thymus vulgaris* – les huiles essentielles- la CMI