



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi -Tébessa-



كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option: biologie moléculaire et cellulaire

Thème:

**Comparaison de l'effet antibactérien et
antifongique des huiles essentielles de romarin et
thymus**

Présenté par:

Zairi Manel

Bouchagoura Hizia

Devant le jury:

Mme FENGHOUR H.	MCB Université de Larbi Tébessi	Présidente
Mme SMAALI S.	MCB Université de Larbi Tébessi	Rapporteuse
M. GHRISSI	MAA Université de Larbi Tébessi	Examinateur

Date de soutenance: 20-06-2019

Année Universitaire : 2018-2019

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques et ils possèdent un très large éventail d'activité biologique. Cependant, l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études. (Stahl-Biskup et Saez, 2002). Dans la lutte perpétuelle contre les infections microbiennes, les antibiotiques ont été considérés comme l'arme absolue. Mais le phénomène de l'antibiorésistance à travers les différents genres et espèce. les effets secondaires des médicaments de synthèse, sous-estimé ont remis d'actualité la phytothérapie (Mazari et *al.*, 2010).

Le développement des techniques d'analyse chimique a permis de révéler qu'une espèce végétale peut synthétiser des milliers de molécules différents, ceux-ci appartiennent à deux types de métabolismes : primaire et secondaire. Le métabolisme secondaire, modelé par le temps et l'évolution, caractérise le profil chimique original de chaque espèce végétale, conduisant à une grande biodiversité moléculaire (Benjilali, 2004). Dans le réservoir chimique des plantes, les huiles essentielles représentent des molécules bioactives de fortes valeurs, utilisées dans la pharmacologie car elles ont un effet spécifique sur d'autres organismes. (Lucchesi, 2006).

Un intérêt considérable a été suscité aux huiles essentielles extraites à partir de plantes médicinales et dotées d'activités antimicrobiennes vis-à-vis des microorganismes pathogènes, (Alzoreky et Nakahava, 2003). De nombreuses études ont été réalisées en vue de l'estimation du pouvoir antiseptique des huiles essentielles depuis très longtemps

A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore Algérienne en général, on s'est intéressé aux espèces qui sont l'une des familles les plus utilisées comme source d'extraits à fort pouvoir antimicrobien à l'échelle mondiale (Mazari et *al.*, 2010): *Thymus*

algeriensis *Romarinus officinalis* vis-à-vis de souches bactériennes pathogènes et des souches fongiques.

Notre travail est divisé en deux parties :

- Partie bibliographique qui contient trois chapitres :
 - ✓ Généralité sur les plantes médicinales et les huiles essentielles
 - ✓ Généralité sur le *Romarinus officinalis*
 - ✓ Généralité sur le *Thymus algeriensis*
- une partie expérimentale qui contient
 - ✓ matériels et méthodes
 - ✓ résultat et discussion

I .Les plantes médicinales

I .1.phytothérapie

Est un mot d'origine grecque : « phyto » qui veut dire plante et «therapeuein» qui veut dire soigner. Autrement dit, au sens étymologique, c'est « la thérapeutique par les plantes » elle utilise les plantes ou les formes promptement dérivées des plantes, en excluant les principes actifs purs issus de celles-ci. Les plantes sont consommées sous plusieurs formes : en l'état (infusions) ou après transformation (teintures, extraits, médicaments à base de plantes...) (LAKHDAR, 2015)

Par ailleurs, L'aromathérapie, l'art de soigner par les huiles essentielles, est devenue une science méthodique depuis qu'elle repose sur une classification de ces huiles selon leur capacité à défendre contre les bactéries. Il y a une vingtaine d'années, les docteurs Maurice Girault et Paul Belaiche ont mis au point l'aromatogramme, méthode comparable à l'antibiogramme, qui permet de déceler quelles sont les huiles essentielles les plus efficace sur un germe donné (Larousse des plantes médicinales 2001)

I .2 . Définition des plantes médicinales

Il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers difficultés. Ils sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Frouhat et lahcini, 2013). Leur utilisation a pris un essor considérable dans les industries de parfum, produits cosmétiques et pharmaceutiques. Les plantes sont la source principale de substances actives où au moins 35 000 espèces sont utilisées dans le monde.

L'Algérie avec sa diversité de climats et de sols, sa situation géographique et ses reliefs, présente une flore de 3 510 espèces dont 450 espèces sont répertoriées dans les hauts plateaux et le grand sud du pays (MOUAS et al,2017)

L'organisation mondiale de la santé (OMS) considère que, dans de nombreux pays peu développés, les plantes et leurs composants représentent la première source de remède.

I .3. Classification des plantes médicinales et aromatiques

La classification des plantes peut se faire en fonction de nombreux intérêts (Kateb, 1989):

- Classification botanique (systématique). (Frouhat et lahcini, 2013)
- Classification thérapeutique (action physiologique).
- Classification chimique (nature du principe actif).

□ Classification commerciale (intérêt commercial).

I.4. Domaines d'application des plantes

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés, on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve dans les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi-synthèse.

Les Plantes médicinales sont utilisées en alimentation dans les boissons, les colorants.

En parallèle, les utilisations de substances issues des plantes en médecine en tant que médicament pour l'homme sont diverses, en urologie, dermatologie, gastrites aiguës, toux, ulcères d'estomac, laxatifs, sommeil et désordres nerveux, en systèmes cardiovasculaires, en drogues immunostimulantes, antispasmodiques et anti-inflammatoires contre le diabète, en activité antioxydante et en activité antimicrobienne.

Par ailleurs, les Plantes médicinales sont aussi utilisés en agriculture comme pesticides biologique, en cosmétiques comme des produits de beauté, d'hygiène, parfums (MOUTIE, 2016)

II. Les huiles essentielles

II. 1. Définition des huiles essentielles

Une huile essentielle nommée aussi essence est un mélange de substances aromatiques Volatiles peu complexe issue et portée par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytopathogènes (Lahlou, 2004).

Selon la pharmacopée européenne, l'huile essentielle est : «un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (MOUTIE, 2016)

II. 2. Répartition des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles peuvent être synthétisées par tous les organes de la plante, notamment les bourgeons, les fleurs, les feuilles, les tiges, les rameaux, les graines, les fruits, les racines, le bois ou l'écorce. Elles sont localisées dans les cellules sécrétoires, les cavités, les canaux, les cellules épidermiques ou les trichomes glandulaires (Chami, 2005)

II. 3. Composition chimique

La composition des huiles essentielles est très complexe, ce sont des mélanges fortement variables et analysables, ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par les origines biogénétiques distinctes :

- le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) Les terpénoïdes constituent un vaste groupe de métabolisme secondaire de structure diverse, important dans de nombreuses interactions biotiques (Judd et *al.*, 2002). C'est le groupe le plus important. Les terpènes sont des molécules organiques constituées par un multiple de 5 atomes de carbone de formule générale $[C_5H_8]_n$.

Le point de départ de la synthèse des terpènes est l'isoprène C_5H_8 dont le précurseur est l'acétyl-CoA. Deux molécules d'acétyl-CoA donnent l'acéto-acétyl-CoA ; une troisième molécule ajoutée par condensation, fait apparaître la 3-hydroxy-3-méthylglutaiyl-CoA (HMG-CoA). Ce dernier à son tour, par réduction enzymatique se transforme en mévalonate ou l'acide mévalonique (MVA) (biogénétiquement, le précurseur universel de tous les terpènes) qui sera converti en isopentényl diphosphate (IPP) qui en s'isomérisant donne diméthylallyl pyrophosphate DMAPP (Bruneton, 1999).

- Le groupe des composés aromatiques : Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et sesquiterpènes. Ce sont souvent des allyles- et des propénylphénols, et rarement des aldéhydes dans les huiles essentielles des composés en $(C_6- C_3)$ tels que la vanilline et l'antranilate de méthyle (Bruneton, 1999).

Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (Benayad, 2008).

II. 4. Caractéristique physiques

Les HE possèdent en commun un certains nombres de propriétés physiques (Bruneton, 1999) :

- Elles sont solubles dans : l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la pluparts des solvants organiques.
- La densité est généralement inférieure à celle de l'eau.
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont très altérables et sensibles à l'oxydation.
- Elles sont liquides à température ambiante.
- Elles sont incolores ou de couleur jaune pale.
- Elles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixe

II. 5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

II. 5.1. Distillation et entrainement à la vapeur

C'est le procédé le mieux adapté à l'extraction des essences. (Bego, 2001). Le matériel végétale n'est pas en contact avec l'eau, son principe réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « Vapeur d'eau- huile essentielle » dispersé dans la matière végétale (Lucchesi, 2005). Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entrainant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation, le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat (Benjlali, 2004).

II. 5.2. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode nommée pour l'extraction des huiles essentielles (Lucchesi, 2005). Selon Bruneton (1999), l'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétale à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition, les vapeurs hétérogènes condensées sur une surface froide se transforme à l'état liquide, le mélange l'huile- eau se sépare par différence de densité. Cette méthode est généralement utilisée en cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont

thermorésistants (Lucchesi, 2005). La Figure 1 illustre l'appareillage de l'hydrodistillation.

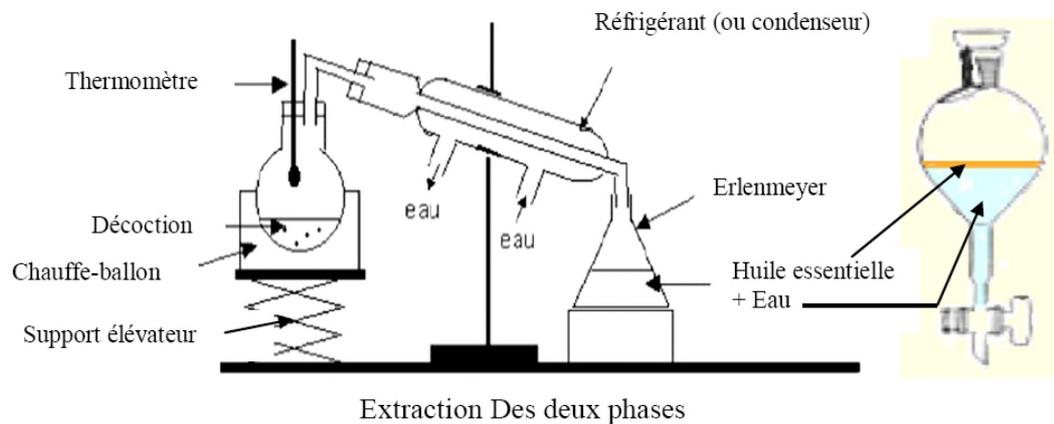


Figure 01: Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile (Benjilali, 2004).

II. 5. 3. Extraction par les solvants volatils

C'est une méthode qui est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation. Elle est basée sur le pouvoir qu'ont certains solvants organiques à dissoudre les composants des huiles essentielles. Dans ce procédé un épuisement des plantes est effectué à l'aide d'un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé « concrète ». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à « l'absolu » (Belaiche, 1979 ; Duraffourd et *al.*, 1990). Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques : sélectivité, stabilité, inertie chimique, température d'ébullition pas trop élevée pour permettre son élimination totale et pas trop faible pour éviter les pertes, sécurité de manipulation c'est-à-dire non toxique ou inflammable (Bruneton, 1999).

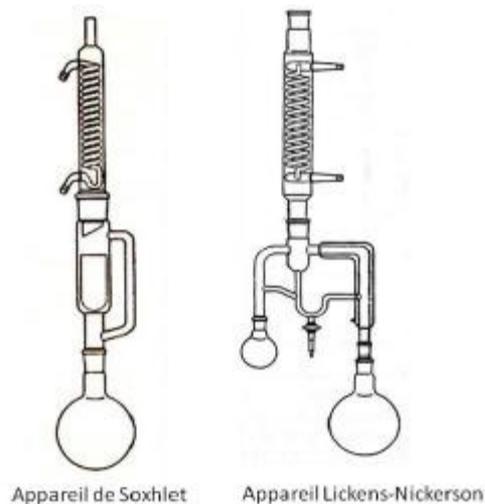


Figure 02: Montage d'extraction par solvant (Belaiche, 1979)

II. 5 .4.Extraction par enfleurage

Ce procédé met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras, elle consiste à déposer des plantes en particulier les organes fragiles (pétale des roses) sur une couche mince de graisse. Selon les espèces, l'absorption des huiles essentielles des pétales par le gras peut prendre de 24 heures à 72 heures. Les pétales sont éliminés et remplacés par des pétales frais jusqu'à saturation du corps gras. On épuise ce corps gras par un solvant que l'on évapore ensuite sous vide (Belaiche, 1979 ; France-Ida, 1996).

II. 5.5.Extraction sans solvant assistée par micro-ondes

Cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques (Wang et *al.*, 2006). Le procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale.

Le montage obtenu se rapproche sensiblement d'un montage d'hydrodistillation classique. Le réacteur contenant seulement le matériel végétal est chauffé par les micro-ondes à l'intérieur du four, les vapeurs sont ensuite entraînées dans le col de cygne avant d'être condensées dans le réfrigérant puis recueillies dans un essencier. Les graines sont en permanence humides, ce qui ne laisse aucune chance à la réalisation d'éventuelles réactions secondaires, néfastes à la qualité du produit obtenu (Lucchesi, 2006).

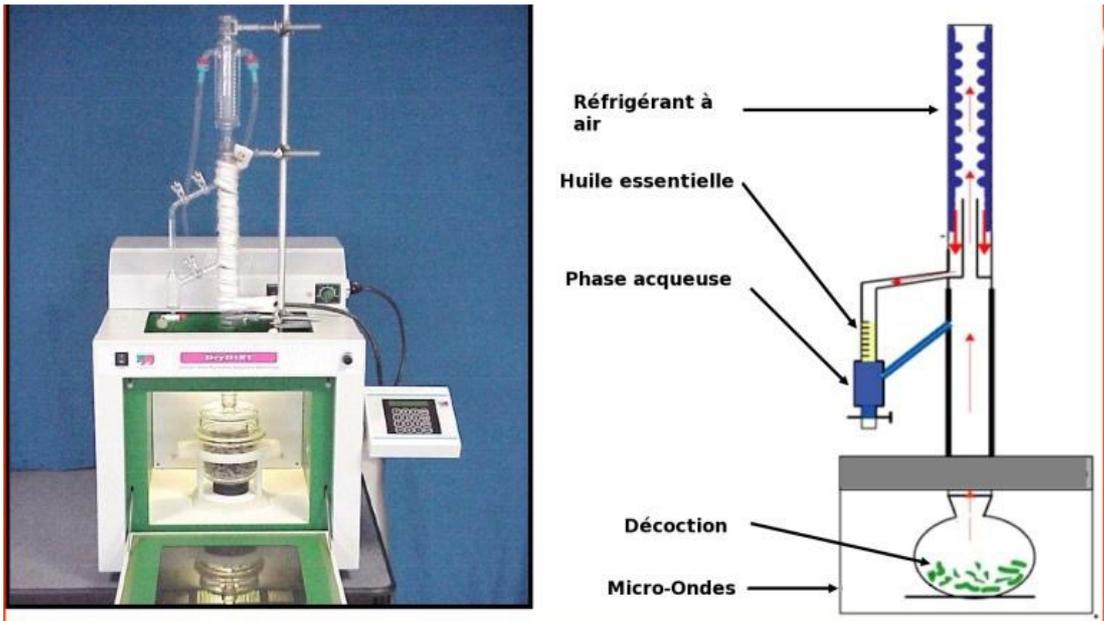


Figure 03 : Montage d'extraction assistée par micro-onde (Pinto *et al.* 2007).

II. 6. Activités biologiques des huiles essentielles

Beaucoup des composés naturels isolés à partir des plantes aromatiques et médicinales ont différentes activités biologiques (Nikolić *et al.*, 2014) ; antioxydante (Miura *et al.*, 2002), anti-inflammatoire, Anti antiseptique, et antimicrobienne (Rasooli *et al.*, 2006).

II. 6.1. Activité antifongique

Les HE des plantes aromatiques sont connus pour avoir des propriétés antifongiques (Pinto *et al.* 2007).

Pour les levures, elles agissent sur la biomasse et la production du pseudomycélium alors qu'elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxine chez les moisissures (Edris, 2007).

L'activité antifongique des huiles du Thym sont attribuées au Thymol et au carvacrol. Ils provoquent une dégénérescence des champignons Hyphes qui semblent vider leur contenu cytoplasmique (Zambonelli *et al.*, 1996).

II. 6.2. Activité antimicrobienne

Dans les années 1980, plusieurs études sur les huiles essentielles pour prouver leurs effets antimicrobiens (Peter, 2004). Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leur toxines (Edris, 2007).

L'huile essentielle de Thym a montré une large gamme de l'activité antibactérienne contre les microorganismes qui avaient développé une résistance aux antibiotiques (Nelson, 1997).

Juven et ses collaborateurs, (1994) confirment que ce sont les phénols (Thymol, Carvacrol), qui donne à l'huile essentielle le caractère antibactérien. Ces terpènes se lient à l'aminé et aux groupes hydroxylamine des protéines de la membrane bactérienne modifiant leur perméabilité et entraînant la mort de la bactérie.

II. 6.3. Activité anti-inflammatoire

Les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite (Bourkhiss *et al.*, 2010).

Le potentiel thérapeutique très varié des huiles essentielles a attiré, ces dernières années, l'attention de chercheurs quant à leur possible activité contre le cancer. De ce fait, les huiles essentielles et leurs constituants volatils font dorénavant l'objet d'études dans la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux (Edris, 2007). Dans un test de dépistage, *in vitro*, (test d'inhibition de la cycloxygénases) de plusieurs huiles essentielles, l'huile de Thym exerce un effet inhibiteur sur la biosynthèse des prostaglandines (Peter, 2004).

II.6.4. Activité anti oxydante

L'activité antioxydante des huiles essentielles est l'une des propriétés biologiques de grand intérêt. Les huiles essentielles de cannelle, de muscade, de clou de girofle, d'origan et de Thym possèdent de puissants composés antioxydants (Edris, 2007).

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes qui agissent comme captateurs de radicaux libres. Ces derniers sont des espèces chimiques ou des molécules contenant un ou plusieurs électrons non appariés causant des dommages à d'autres molécules. Ces espèces chimiques sont générées, *in vivo*,

sous forme dérivés oxygénés réactives ERO tels que l'anion super oxyde, le radical hydroxyle et peroxyde d'hydrogène, qui sont très réactifs (Halliwell *et al.*, 1990).

II. 7 . Domaine d'utilisation des huiles essentielles

II. 7.1.En pharmacie :

Le contenu des plantes en essence et la nature chimique des constituants leurs confèrent de grandes perspectives d'application, ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médicale et pharmaceutique.

En effet, les huiles essentielles ont un champ d'activité très large, elles inhibent la croissance des bactéries, et des levures (Duarte *et al.*, 2005) et également des moisissures (Koba *et al.*, 2004), de plus elles sont très efficaces sur les microorganismes résistants aux antibiotiques.

II. 7.2. En cosmétologie

Le secteur d'hygiène et l'industrie des cosmétiques sont également des Consommateurs, la majorité des produits cosmétiques contiennent une quantité de l'huile essentielle comme élément parfumant et aussi élément assurant une odeur agréable (Bruneton, 1999).

II. 7.3.En industries agroalimentaires

Les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées dans la conservation des denrées alimentaires et cela grâce à leur activité antimicrobienne à large spectre sans pour autant dénaturer le goût car ces aromates entrent dans la composition des préparations alimentaires (Kurita et Koike, 1982).

II. 7.4. En agriculture

Les pesticides naturels basés, notamment, sur les huiles essentielles représentent une altérative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons (Isman, 2000 ; Dayan *et al.*, 2009). Les huiles essentielles sont utilisées comme agent de lutte biologique dans plusieurs cas y compris le cas de niébé infectée par *Callosobruchus maculatus* (Ilboudo, 2009).

II. 8. Toxicité des huiles essentielles

Plusieurs HE sont connus pour leur toxicité : c'est le cas, par exemple, des essences à anéthol à action convulsivante à forte dose ; il en est de même des essences à thuyone (thuya). Notons que les essences absorbées seules comme médicaments, en usage interne (aromathérapie), peuvent présenter une certaine toxicité. Dans le monde actuel des produits naturels, il convient de ne pas utiliser ces substances de façon abusive. Les huiles essentielles doivent être prises à bon escient et à doses adaptées afin d'éviter de dommageables effets secondaires, parce que l'efficacité et la toxicité ce n'est souvent qu'une question de quantité (Binet et Brunel, 1968)

II. 9. Conservation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des substances sensibles et très délicates, ce qui rend leur conservation difficile et obligatoire dans le but de limiter les risques de dégradation, ces dégradations peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons opaques à l'abri de la chaleur et de la lumière (Valnet, 2000).

II. Généralité sur *Rosmarinus officinalis*

II.1 Historique

Le Romarin est un arbrisseau qui doit son nom au latin ros, rosée et marinus, marin. En effet, d'après la légende, le Romarin est une plante que l'on retrouvera seulement dans les régions où s'étend la rosée venant de la mer, au petit jour. Dans d'autres régions, on le surnomme "la Rose de mer" en latin Rosa marina qui a donné son nom au genre (Escuder, 2007)

Iklil Al Jabal ,Klil, Hatssalouban, Hassalban, Lazir ,Azîr, Ouzbir ,Aklel, Touzala (Makhloufi, 2013)

Le romarin, chargé de symboles chez les Anciens qui en faisait des couronnes, a servi à l'élaboration d'un remède longtemps réputé, « l'Eau de la reine de Hongrie » qui en fait est un alcoolat : à l'aide de ce remède, la souveraine, âgée de 72 ans, guérit des rhumatismes et de la podagre (Botineau, 2010). Les médecins arabes utilisaient beaucoup le romarin et ce sont eux qui réussirent les premiers à en extraire l'huile essentielle (Fuinel, 2003)

II.2 Description

Le Romarin, plante commune à l'état sauvage, est l'une des plantes les plus populaires en Algérie, puisqu'on la trouve dans tous les jardins et les parcs en bordure odorante (Zermane, 2010). Le romarin est un arbrisseau de la famille des lamiaceae (Zeghad, 2009). de 50 cm à 1 mètre et plus, toujours vert, très aromatique, très rameux, très feuillé (Makhloufi .2013). Les feuilles sont coriaces, persistantes, sessiles, linéaires, entières, enroulées sur les bords, vertes et ponctuées dessus, blanches tomenteuses à la face inférieure (Rameau et Dumé, 2008). Son écorce s'écaille sur les branches les plus âgées et son odeur est extrêmement odorante et tenace (Makhloufi, 2013) .La floraison commence dès les mois de janvier/ février et se poursuit jusqu'en avril – mai (Zeghad, 2009).

Les fleurs sont réunies au sommet des rameaux, bleues pâles à blanchâtre, pratiquement sessiles, disposées en petites grappes axillaires et terminales, bractées tomenteuses lancéolées (Rameau et Dumé, 2008). Le calice velu à dents bordées de blanc, elles portent deux étamines ayant une petite dent vers leur base comme pour la plupart des Lamiacées (Zeghad ,2009). Le fruit est de forme ovoïde. Il est entouré par un calice persistant, sec est

constitué de quatre akènes (tétrakène). Il attire les insectes (entomophiles) pour assurer la pollinisation (entomogame) (Eloutassi, 2004)

II.3 La systématique de l'espèce *Rosmarinus officinalis*

La classification botanique de cette plante est décrite comme suit (QUEZEL et SANTA, 1963)

Règne : plantes

Embranchement: Spermaphytes

Classe: Dicotylédones

Ordre : Lamiales (labiales)

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce: *Rosmarinus officinalis*

II.4 Les huiles essentielles

Le Romarin est relativement riche en l'huile essentielle (1 à 5%). Les organes pouvant renfermer l'huile essentielle sont les fleurs et les feuilles mais la plus haute qualité est obtenue à partir de ces dernières. Des études phytochimiques antérieures de cette espèce ont montré que cette plante accumule plus de 50 composants terpéniques qui rentrent dans la composition chimique d'huile essentielle de romarin dont les constituants principaux sont : camphre (15- 25%) ; α -pinène(19,6%) ; Bornéol et estérifié (10,0%) ; 1,8 Cinéol (15-50%) Limonène (3,6%) (Albert et al., 1996)

➤ Principaux constituants :

Le composé majoritaire de l'huile essentielle du Romarin varie d'une région à l'autre (tableau 01).

Tableau 01 : Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de l'huile essentielle de Romarin (Makhloufi, 2013)

Composé majoritaire	%	Origine	Référence
α -pinène Camphre β -pinène	23,1 14,5 12,2	Algérie (Tlemcen)	(AtikBekkara et al .,2007)
α -pinène Linalool Pipéritone	14,9 14,9 23,7	IRAN(Tehran)	(Gachkar et al ., 2007).
α -pinène 1,8-cinéole	10,2 61,4	TURQUIE(Izmir)	(YesilCeliktas et al.,2007)
α -pinène 1,8-cinéole Camphre	11,4 50,2 9,1	MAROC	(Ouraïni et al ., 2005)
α -pinène Limonène Camphre	13,5 21,7 21,6	SERBIE(Vojvodina)	(Bozin et al ., 2007)

II.5 Propriétés du *Romarin*

➤ Activité antibactérienne

Celiktas et al (2007) ont étudié l'activité antibactérienne des huiles essentielles et des extraits méthanoliques de romarin de trois régions différentes et pendant quatre intervalles de l'année. Ils ont trouvé que les bactéries testées étaient sensibles aux huiles essentielles mais partiellement aux extraits méthanoliques et d'après leurs résultats ont indiqué que l'activité antibactérienne des huiles essentielles diffère selon les variations régionales et saisonnières.

➤ Activité antifongique

La biosynthèse de l'aflatoxine a été inhibée totalement par l'huile essentielle du *Romarin* à une concentration de 450 ppm (RASOOLI et al., 2008), ce qui montre un potentiel important de cette huile essentielle en tant que préservatif naturel contre *Aspergillus parasiticus*.

Sacchetti et son équipe (2005) ont marqué que les huiles essentielles du *Romarin* une activité inhibitrice modérée sur les cinq levures (« *Candida albicans* », « *Rhodotorula glutinis* », « *Schizosaccharomyces pombe* », « *Saccharomyces cerevisiae* », « *Yarrowia Lipolytica* » examinées .

➤ Activité antivirale

L'évaluation de l'activité antivirale de l'extrait commercial du *Romarin* a indiqué qu'il ya une inhibition de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) à la concentration très basses 0.1% . Cependant, le carnosol a montré une activité (anti-HIV) à une concentration modérée qui n'était pas cytotoxique (ARUOMA *et al.*, 1996).

➤ Activité ovicide

L'huile essentielle du *Romarin* s'est avérée comme un agent ovicide contre trois espèces de Moustique (*Anophelesstephensi*, *Aedesaegyptiet*, *Culexquinquefasciatus*) (GILLJ *et al.*, 2007)

➤ Activité anti-oxydante

L'activité anti-oxydante du *Romarin* est connue depuis environ 30 années.

le *Romarin* est largement accepté en tantqu'épices dont l'activité anti-oxydante la plus élevée (WANG *et al.*, 2008).

Plusieurs auteurs ont étudié l'utilisation des extraits du *Romarin* comme antioxydantpour conserver les produits à base de viande (BALENTINE *et al.*, 2006) (FERNANDEZ-LOPEZ *et al.*,2005) (SEBROTYNEK *et al.*,2005).

➤ Effet anti-cancérogène

Grace à certains composants (Carnosol, Rosmaridiphénol, Rosmanol et l'acide rosmarinique), le *Romarin* est considéré comme une thérapie contre le cancer (ATIK BEKKARA *et al.*, 2007).

➤ Effet anti-acétylcholinestérase

L'extrait méthanolique du *Romarin* a montré une inhibition modérée (17%) de l'enzyme d'acétylcholinestérase à une concentration de 0.1%, en utilisant la méthode colorimétrique d'Ellman. (ADSERSEN *et al.*, 2006).

➤ Effet hypoglycémiant

BAKIREL et son équipes (2008) ont montrée que les extraits éthanoliques du romarin ont eu une activité hypoglycémiant remarquable a une dose de 200 mg/kg, après administration oral de différentes dose des extraits à 3groupes de lapins (groupe 01 :lapins ayant une glycémie normal, groupe 02 : lapins ayant unehyperglycémie provoquée par l'administration oral du glucose, groupe 03 : lapins diabétiques d'alloxaneont).

➤ Effet anti-hépatotoxique

De nombreuses études ont été faites pour étudier l'effet anti hépatotoxique du *Romarin*, Marie et ces collaborateurs (2004) ont réalisé une étude dont le but d'évaluer l'évaluation de l'efficacité des l'extraits méthanoliques du *Romarin*-dans la normalisation de certains paramètres histologiques et biochimiques du foie, après l'ingestion d'un hépatotoxine le tétrachlorure de carbone(CCL4). Leurs résultats ont indiqué que cet extrait a empêché la peroxydation lipidique, (l'information, la nécrose, normalisé les taux de la bilirubine, la glycogène et l'activité du l'alanine aminotransférase) et il a augmenté l'activité du glutathion-S-transférase (GST).

II.6 Vertus médicinales

Le romarin est un hypoglycémique, il soigne les affections oculaires (Bnouham et al., 2002) et il est utilisé comme antiseptique, cholagogue, antispasmodique, vulnéraire et diurétique (Koubissi, 2002).

En médecine traditionnelle, le romarin aide à la digestion, traite les céphalées et les migraines, les blanchêtes, les coliques, améliore les fonctions hépatiques et biliaires en cas de troubles digestifs. Il est utilisé en usage externe pour soigner les rhumatismes et les troubles circulatoires (Teuscher, 2005).

II.7 Usages du romarin

II.7.1 Phytothérapie

➤ Voie externe

L'huile essentielle de romarin soulage les troubles rhumatismaux et de la circulation Sanguine, soigne les blessures, soulage les maux de tête, améliore la mémoire et la concentration, fortifie les convalescents, combat les effets du stress et de la fatigue, traite l'inflammation des voies respiratoires et de la sphère ORL. (Bousbia, 2011)

Pour les extrait, ils sont utilisés dans les traitements externes des entorses, foulures, contusions, torticolis.. L'extrait alcoolique du romarin agit sur les ulcères, les plaies, les dermatoses parasitaires. La décoction aqueuse s'utilise en gargarismes (agines) et en bains de bouche (aphtes) ou elle est ajoutée à des bains stimulant (Bousbia, 2011)

➤ Voie interne : Le romarin est un stimulant antispasmodique et cholagogue. Il est indiqué pour ses qualités stimulantes dans les dyspepsies atoniques, les fermentations

intestinales, les asthénies, le surmenage, les états adynamiques des fièvres typhoïdes ou muqueuses, de la grippe. En sa qualité d'antispasmodique, il est bénéfique dans le catarrhe chronique des bronches, la coqueluche, les vomissements nerveux ; c'est un bon cholagogue utilisé dans les cholécystites chroniques, certaines ascites et cirrhoses, les ictères; c'est aussi un emménagogue (aménorrhée dysménorrhée) et un diurétique (hydropisies), un anti-VIH et anti-cancer (Bousbia, 2011)

II.7.2 Parfumerie et cosmétique

Le romarin entre dans la composition de parfums surtout masculins, hespéridés aromatiques (eaux de Cologne), boisés et fougères aromatiques, ainsi que dans la formulation des pommades dermiques (Bousbia, 2011). Grâce à la capacité de stimulation des terminaisons nerveuses cutanées, le romarin est employé comme tonique dans des bains moussants, et comme liniment pour muscles fatigués à une dose de 1 à 2%. Il a des propriétés dermo-purifiantes qui lui permettent l'utilisation dans la préparation de déodorants. En lotion et shampooing, à une dose de 0.5 à 1%, l'extrait de romarin stimule le cuir chevelu (Martini, 2011).

II.7.3 Industrie agro-alimentaire

Les extraits végétaux de romarin présentent un pouvoir antioxydant important et peuvent être appliqués à la conservation des aliments et des huiles lipidiques, ces propriétés sont dues aux acides poly phénoliques (rosmarinique, caféique) (Zoubeidi, 2004).

L'épice et l'huile de romarin sont largement utilisés en alimentation. il est utilisé dans les aliments cuits, viande, condiment assaisonnement, les aliments industriels, casse-croûtes, sauces et autres, avec le niveau maximum utilisé d'environ 0.41% (4.098 ppm) dans les aliments cuits. L'huile est utilisée dans les desserts glacés, confiseries, aliments cuits, gélatures et pouding, viande, condiments et assaisonnement, entre autres, avec le niveau maximum utilisé d'environ 0,003%(26.2 ppm), en alimentation diététique et tisanes (Zoubeidi, 2004).

III. Généralité sur *Thymus algeriensis*

III.1 Historique

Le nom *Thymus* vient probablement du latin "*Thymus*" qui signifie «parfumé» ou du grec "*Thymos*" qui signifie "courage" ou "force" (Stahl-Biskup et Saez, 2002).

Plusieurs dénominations ont été données aux espèces du genre *Thymus*; en Amazigh: Azukni, Tazuknite, en Arabe : Ziitra (Stahl-Biskup et Saez, 2002).

Les grecques brûlaient cette herbe pour chasser les insectes piquants de la maison. Le thym représentait le style et l'élégance des premiers Grecs, et l'esprit républicain en France au moyen Age. A cette époque, les moines bénédictins apportaient du Thym en Europe centrale et en Angleterre car ils pensaient que les oreillers à Thym soulageaient l'épilepsie et la mélancolie. Au XVII siècle, le Thym a été utilisé au cours de la peste qui a balayé l'Europe. Il est utilisé aussi par les Egyptiens pour embaumer les morts. Les Romains, de leur part brûlaient le Thym pour éloigner les créatures venimeuses. Ils s'en servaient aussi pour aromatiser le fromage (Charles, 2012)

III.2 Botanique

Les plantes du genre *Thymus* sont des arbustes perpétuels herbacés avec des racines ligneuses, elles peuvent atteindre une hauteur de 45 cm (2 pieds). Les tiges sont verticales, les branches sont persistantes, les feuilles sont aromatiques et recouvertes de glandes et les fleurs sont colorées avec une couleur violette pâle à deux lèvres avec un calice glandulaire (Charles, 2012) Ce genre contient des propriétés aromatiques et médicinales—. La connaissance de la composition chimique et les effets pharmacologiques de ce genre permettent la classification des différents chémotype. Ces espèces de *Thymus*, serent contrent, en plaine, en montagne, dans les rocailles, les garrigues, les pelouses et les broussailles (Bellakhdar, 1997)

III.3 La systématique de l'espèce *Thymus algeriensis*

Le genre *Thymus* comprend à peu près 70 à 80 espèces de plantes ligneuses (Crespo et al., 1991) . D'après Quezel et Santa (1963), *Thymus algeriensis* une espèce qui appartient à:

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Thymus
Espèce	<i>Thymus algeriensis</i>

III.4 Description morphologique

En général *Thymus* est un sous arbrisseau pouvant atteindre plus de 25 cm de long, d'une odeur forte, aromatisant très agréable (Stahl-Biskup et Saez, 2002). Cette plante est composée de :

III.4. 1. Tige

Les tiges sont ligneuses et rameaux sers, grêles plus ou moins dressés et velus, recouvert feuille s'opposées (Belhadi et Ayat, 2011).

III.4. 2. Feuilles

Les feuilles sont florales sessiles ou courtement pétiolées, décussées. Les thymus possèdent de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur verte foncée, et qui sont recouvertes de poils et de glandes appelées *trichomes*. Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de mono terpènes (Soto et *al.*, 2006).

III.4. 3 : Fleurs

Elles sont rosées, elles sont forme grêle à fleurs très petites d'environ 5 à 6mm. Epis florifères courts et étroits ne dépassant guère 15×12 mm, elles groupées en épis, de couleur violette, pale, avec quatre étamines didynames (Guy, 2005 ; Soto et *al.*, 2006)

III.5 Huiles essentielles du thymus

L'essence du thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives (Naghdi, 2004). Elles sont composées par des molécules aromatiques d'origine végétale présentant une très grande diversité de structure.

Plusieurs espèces de thym possèdent de nombreuses activités biologiques tels que antispasmodique, antimicrobienne, antibactérienne, antiviral, antioxydant et activité fongicide des , anti-inflammatoire, antiseptique, carminatif (Rasooli et al., 2006).

Une étude menée par Dob et al., (2006) sur les thymus d'Afrique du nord a démontré que le composé majoritaire était le thymol chez les espèces d'Algérie et du Maroc et le carvacrol chez les espèces de Tunisie

III.5.1 Compositions chimiques de *Thymus algeriensis*

Les études qui ont été effectuées par Fatiha et al., (2010) sur les huiles essentielles de *Thymus algeriensis*, ils ont permis d'identifier 48 composés.

Deux constituants chimiques dominent l'huile essentielle de *T. algeriensis*: Le camphre (27,7 %) et l' α -pinène (20,5 %). D'autres composés sont également présents, mais à des teneurs moins importantes : α -thujène (9,64 %), β -pinène (8,02 %), 1,8-cinéole (7,69 %), limonène (4,85%), sabinène (3,84 %) et bornéol (2,53 %). L'ensemble de ces constituants contribue au mélange à concurrence de 84,77 % (Rasooli et al., 2006). Cette composition chimique est différente de celle de l'huile essentielle étudiée par (Dob et al., 2006) qui contient comme principaux constituants le linalol (43,3 %), le thymol (29,2 %) et le p -cymène (6,8%).

Les essences de *Thymus algeriensis* originaires de Khedara et Fatoum Souda (Algérie) présentent les mêmes composés majoritaires, mais elles sont plus riches en α -pinène (27,14-25,52%) qu'en camphre (8,77-8,45 %), en plus du 1,8-cinéole (7,69-7,68 %), du sabinène (5,25 -5,61 %) et du β -pinène (2,66 -3,12 %) (Giordani et al., 2008).

III.6 Usage traditionnel du Thym

Le thym est utilisé comme aromate en cuisine et comme plante médicinale, dans les tisanes ou même dans les bonbons. En tisane, il sert à soigner les infections respiratoires. Une tisane de thym est également efficace pour drainer le foie, ce qui fait qu'il est recommandé par la naturopathie pour les personnes subissant une chimiothérapie, traitement très destructeur pour le foie (Djerroumi et Nacef, 2004).

Il est considérée aussi comme l'un des remèdes populaires les plus utiles et efficaces, dans le traitement des affections respiratoires ; rhume, grippe, et angine. il est recommandée contre tous les types de faiblesse, et indiquée pour les crampes d'estomac, les inflammations pulmonaires et les palpitations, ainsi que les affections de la bouche, les contusions (lésion produite par un choc sans déchirure de la peau), les accidents articulaires et la cicatrisation des plaies et aussi l'expulsion des gaz intestinaux (Hans, 2007). C'est aussi un excellent calmant (Yakhlef, 2010)

III.7 Propriétés des huiles essentielles

III.7.1 Propriétés médicinales

Le thym d'Algérie est un amer astringent, stomachique, diaphorétique, antispasmodique et stimulant (Beloud, 2001). Le thymol est un antiseptique puissant, il est 25 fois plus actif que le phénol, sur lequel il possède l'avantage de moins irriter les muqueuses. C'est un désodorisant efficace et un vermifuge (ascaris et oxyures). L'essence de thym est stomachique et carminative (Paul, 2008). Le thym est l'un des remède populaires les plus utiles, dans les traitements des affections respiratoires (rhumes , grippe ,angines) et des troubles gastriques (dyspepsies ,crampes ,flatuosités) (Beloud, 2001) .

III.7.2 Propriétés digestives

Le thym est un stimulant digestif utile dans le manque d'appétit et la digestion pénible (Guy, 2005).

III.7.3 Propriétés antiseptiques

Ces propriétés antiseptiques sont dues à l'activité antibactérienne de l'huile essentielle à thymol et à carvacrol (Guy, 2005 ; Loic, 2006).

L'huile essentielle de cette plante entre dans les formulations de diverses spécialités : Pommades antiseptiques et cicatrisantes, sirops pour traitement des affections des voies respiratoires, préparation pour inhalation (Bruneton, 1999).

III.7.4 Propriétés Industrielles

Les plantes aromatiques, les épices et leur huile essentielle sont utilisés depuis des siècles dans la préparation alimentaire non seulement pour la saveur qu'elles apportent mais également pour empêcher le développement de la contamination alimentaire.

Plusieurs travaux ont montré que l'huile essentielle de thym, de cannelle, d'orange, de romarin, de clou de girofle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxigenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables d'infections alimentaires. Ceci est dû à la présence dans ces dernières de composés ayant des propriétés antimicrobiennes et anti-oxydantes (Mebarki, 2010).

III.7.5 Propriétés pharmacologiques

Les propriétés pharmacologiques de la plante thym et de ses différents extraits, en particulier l'huile essentielle et l'extrait aqueux, ont été bien étudiées.

En plus de leurs nombreuses utilisations traditionnelles, la plante et ses extraits ont trouvé de nombreuses applications industrielles (principalement comme additifs alimentaires) et médicinales.

Les recherches actuelles réalisées sur les effets des extraits de cette plante sur différents systèmes *in vitro* et *in vivo* ont ressorti plusieurs effets de grande importance pour la pharmacie et l'industrie moderne, parmi lesquels on cite les plus importants (Yakhlef, 2010).

L'huile essentielle de thym, riche en phénols, est douée de propriétés antibactériennes facilement mises en évidence in vitro. En effet, l'Imonocytogène, souche hautement pathogène, présente une sensibilité élevée à cette huile (Yakhlef, 2010).

III.7.5. 1 Effets anti-inflammatoire

L'huile essentielle également utilisée en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite. Le potentiel thérapeutique très varié des huiles essentielles a attiré, ces dernières années, l'attention de chercheurs quant à leur possible activité contre le cancer.

De ce fait, l'huile essentielle et leurs constituants volatils font dorénavant l'objet d'études dans la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux (Mebarki, 2010)

I. L'objectif de travaille

L'ensemble de ce travail a été réalisé aux laboratoires de microbiologie de l'Université de Tébessa pendant une durée de 04 mois (février-mai 2019)

Nos objectifs ont été les suivants

- étude de rendement des huiles essentielles du romarin et thymus
- étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de romarin et thymus
- étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de romain et thymus
- Comparaison de l'effet anti microbien des huiles essentielles de romain et thymus

II. . Matériels et méthodes

II. 1 – Matériels

II. 1. 1. Matériels végétales

La partie aérienne des plantes a été récoltée a partir des de régions différentes, elles ont été nettoyées et séchées à l'abri de la lumière et l'humidité. Après séchage, les feuilletts ont été récupérés et conservés dans des sacs de papier propres à l'abri de la lumière et l'humidité jusqu'au moment d'extraction.

II.1.1.1. *Thymus algeriensis*

Cette plante a été récoltée a partir de région de Chenoua (Djebel Chenoua) est une montagne de 900 m d'altitude, située dans la région de Tipaza (la kabylie du Dahra), au nord de l'Algérie.



Photo 01 : la présentation morphologique de *Thymus algeriensis*

II.1.1.2 *Romarinus officinalis L*

Cette plante a été récoltée à partir de région de (ain zarga) willaya de de tebessa, daïra ouenza



Photo 02 : la présentation morphologique de *Romarinus officinalis L*

II. 1. 2 Matériels biologiques

Les souches microbiennes utilisées dans ce travail ont été identifiées à partir des prélèvements urinaires et cliniques.

Elles ont été fournies par le laboratoire de bactériologie de l'hôpital (Bougerra Boularess) de Bekeria laboratoire de Dr. Allallou et de Ziadi

- Caractéristiques des souches microbiennes utilisées
 - *Escherichia Coli* ou E.coli est une bactérie à gram négative, responsables de plusieurs maladies comme la gastro-entérite, les infections urinaires, les méningites
 - *Staphylococcus aureus* est une bactérie à gram positive, elle est responsable des infections nosocomiales
 - *Staphylococcus saprophyticus*, une bactérie à gram positive, est une des principales causes d'infections urinaires

- *Klebsiella pneumoniae* est une entérobactérie, c'est-à-dire un bacille à Gram négatif, cause des infections communautaires
 - *Pseudomonas* est une bactérie à gram négative, responsable de nombreuses maladies nosocomiales (contractées à l'hôpital)
 - *Citrobacter* font partie de la famille des Enterobacteriaceae; il s'agit de bacilles ou de coccobacilles Gram négatif, Les bactéries du genre Citrobacter sont des agents pathogènes nosocomiaux opportunistes rares
 - *Proteus mirabilis* sont des bacilles à Gram négative, sont fréquemment en cause dans les infections des voies urinaires compliquées
 - *Enterobacter cloacae* sont des bacilles Gram négatif, Elles sont responsables d'infections urinaires, méningites, septicémies
 - *Streptococcus spp* est un cocci à Gram positif, elle cause plusieurs infection
 - *Candida albicans* est un champignon, peuvent causer des affections potentiellement mortelle
 - *Candida tropicalis* est un champignon, cause des Infections superficielles de la peau, des muqueuses et des ongles
- Conservation des souches

Les souches bactériennes ont été conservées à 4 C dans la gélose nutritive inclinée

II. 1 .3 Matériels et appareillages

- Grands matériels :
 - Agitateur
 - Autoclave
 - Bain marie
 - Balance
 - Etuve
 - Plaque chauffante
 - Réfrigérateur
- Petits matériels :
 - Anse de platine
 - Barreaux magnétique
 - Bec bunsen

- Boîtes de Pétri
- Portoirs
- Micropipette
- Papier watman n°1
- Pipettes Pasteur
- Spatule
- Les verreries
 - béchers gradués,
 - éprouvettes graduées,
 - tubes à essai stériles,
 - les flacons,
 - les erlynes
- Milieux utilisés
 - Gélose nutritive
 - Gélose Muller- Hinton
 - Gélose sabouraud chloramphénicol

II. 2 Méthodes

II. 2.1 - Méthode d'extraction des huiles essentielles

L'hydrodistillation est le procédé suivi pour extraire les huiles essentielles du végétal Au moyen d'un dispositif d'extraction de type Clevenger (Figure n°1). Elle consiste à mettre 100 g du végétal coupé grossièrement dans un ballon en verre avec une quantité d'eau distillée suffisante pour recouvrir la matière végétale. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile qui se dégagent passent à travers le serpentín de refroidissement en verre où aura lieu la condensation. L'opération d'extraction dure deux heures à partir du début de l'ébullition. L'huile ainsi obtenue est récupérée. Enfin, l'huile obtenue est conservée dans des flacons opaques bien scellés à une température basse (4 °C).

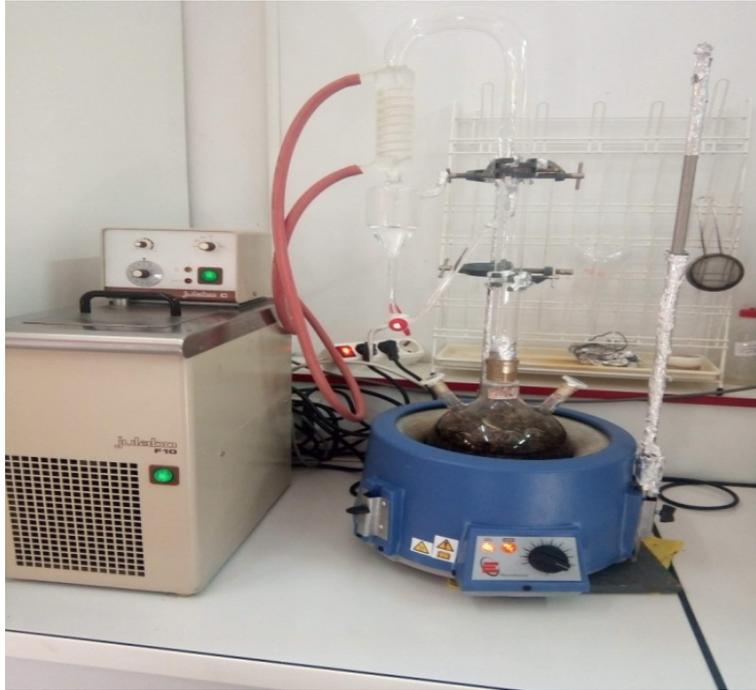


Photo 03:présentation de l'hydrodistillateur utilisé pour l'extraction des huiles essentielles



Photo 04: ballon à fond rond contient le matériel végétal

II. 2.2 Rendements

Le calcul du rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de la matière végétale et la masse de l'huile essentielle obtenue (Belyagoubi, 2006), selon la formule suivante :

$$R_{HE} = \frac{MHE}{Ms} \cdot 100$$

R: rendement en huile essentielle.

MHE : la masse d'huile essentielle.

Ms : la masse de la matière végétale en g.

III. Activité antibactérienne de l'huile essentielle

III-1 Aromatogramme sur milieu solide

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion des disques sur milieu solide ou aromatogramme. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des huiles essentielles sur un milieu solide (milieu sabouraud chloramphénicol , Gélose Muller- Hinton et Gélose nutritive) à l'intérieure d'une boîte de pétri qui consiste à déterminer la résistance ou la sensibilité vis-à-vis de cette huile essentielle. La méthode de diffusion des disques appliquée est celle décrite par Hussain *et al.* (2010).

III-2 Préparation de la suspension bactérienne

- A l'aide d'une pipette Pasteur, quelques colonies bien isolées des souches cibles –ont été prélevées à partir d'une culture fraîche de 18 à 24 h sur milieu gélosé nutritif
- Puis déchargées dans de l'eau physiologique et homogénéisées à l'aide d'un vortex
- Cet inoculum sert à ensemercer par écouvillonnage des boîtes de Pétri stériles préalablement coulées par la gélose MH , sur une épaisseur de 4 mm et séchées 30 min à température ambiante avant emplois

III-3 Application des disques des huiles essentielles

- Des disques de papier Wattman N°1 de 6 mm de diamètre ont été préparés, stérilisés puis déposés à la surface des boîtes ensemencées (un disque par boîte)
- Les disques sont par la suite chargés avec 10 µl de chaque HE
- Les boîtes sont laissées diffusées pendant 2 heures à 4°C, puis incubées à 37°C pendant 18-24h. Trois essais sont réalisés pour chaque test
- Les diamètres sont mesurés en mm et le résultat étant la moyenne des trois essais
 - Interprétation

Au terme du temps d'incubation, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés en mm à l'aide d'une règle.

- Non sensible (-) ou résistante: <8 mm
- Sensible (+) = 8-12 mm
- Très sensible (++) = 12-19mm
- Extrêmement sensible (+++) >15mm

IV. Analyses statistiques

La saisie et l'analyse statistique des données ont été réalisées à l'aide du logiciel StatPlus version 6.1.7.0 2016 pour MAC. Ce logiciel permet la détermination des fréquences des variables qualitatives, la détermination des moyennes et des écarts types pour les variables quantitatives; la comparaison des moyennes. Le test statistique utilisé est le test T . Les différences ont été considérées comme significatives lorsque $P < 0.05$

Conclusion

L'objectif de notre travail consiste à faire une comparaison entre l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* et l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* vis-à-vis de souches bactériennes Gram positives (*Streptococcus spp*, *staphylococcus Saprophytiucs*, *staphylococcus aureus*) et Gram négatives (*E. coli*, *Pseudomonas aerogenosa*, *enterobacter cloacea*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter sp*) et des champignons (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*).

Les rendements des huiles essentielles *Thymus algeriensis* ont été plus élevés par rapport au *Rosmarinus officinalis* ($2.34 \pm 0.58\%$ contre $1.51 \pm 0.33\%$)

Les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles a révélé que l'huile essentielle de *Thymus* a eu un effet remarquable sur les bactéries à Gram+ par rapport aux bactéries Gram – : ce pendant, leur activité antifongique a été tres importante vis à-vis des champignons (levures).

Pour l'huile essentielle de *Rosmarinu sofficialis* les résultats d'aromatogramme ont montré une activité moyenne ces HE sur les bactéries à Gram – et les levures . Par contre, aucune activité a été montre sur les bactéries à Gram +

les résultats des études statistiques nous ont permit de montrer l'efficacité des HE de *thymus algs* par rapport aux HE de *Romarinus off* sur les microorganismes étudiés

Ces résultats peuvent représenter une base de recherche sur la substitution des agents antimicrobien classiques par les extraits des plantes qui ne cessent de nous étonner par leur pouvoir mal exploité mais très prometteur.