

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

N°:



DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUES

OPTION : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

Mémoire présenté pour l'obtention

Du diplôme de Master Académique

Par : HOUICHE Meriem

TROUNI Abla

MAZOUZI Marwa

Intitulé

**Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne
des extraits et de l'huile essentielle de
*Thymus algeriensis***

Soutenu devant le jury composé de :

Mr. HARRAR Abdenassar	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Président
M ^{lle} . DEHIMI Khadidja	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Encadreur
M ^{me} . BISSET Seghira	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examinatrice

Année universitaire : 2021/2022

REMERCIEMENTS

Avant tout propos, nous remercions **Allah** le tout puissant de nous avoir donné la capacité et le courage pour réaliser ce travail.

Nous remercions notre encadreur **Dr. DEHIMI Khadidja** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous a accordé et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury qui ont accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions **Pr. SMAILI Tahar** (UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA) qui a identifié l'espèce étudiée et l'ingénieur de laboratoire **GUELLILE Hamza**.

Nous remercions tous les enseignants et tous les étudiants du département de Microbiologie et Biochimie.

ملخص

Thymus Algeriensis (زعيرة) هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة *Lamiaceae*؛ وهو منتشر على نطاق واسع في الجزائر ويستعمل كبهار وفي الطب التقليدي في علاج أمراض الجهاز التنفسي. تم في هذا العمل تقييم التركيب الكيميائي النباتي والنشاطية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا للمستخلصات والزيت الأساسي للأجزاء الهوائية من النبات. كان مردود مستخلصي الميثانول والماء جد متقارب (8.2% و 8.5%، على التوالي)، بينما قدر مردود الزيت الأساسي بـ 18.85%. تم العثور على أعلى كمية من عديدات الفينول في المستخلص الميثانولي (236.18 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/مغ مستخلص)، بينما كان المستخلص المائي الأغنى بالفلافونويدات (17.15 ميكروغرام مكافئ الكارستين/مغ مستخلص). أظهر المستخلص الميثانولي أفضل نشاطية إزاحية لجذر DPPH ($IC_{50} = 0.79$ مغ/مل). أظهرت دراسة النشاطية المضادة للبكتيريا أن المستخلص الميثانولي فقط له قدرة تثبيط ضد *S. aureus* بمنطقة تثبيط قدرت بـ 11.33 مم عند تركيز 250 مغ/مل. من بين السلالات المدروسة، كان لـ *E. coli* و *S. aureus* حساسية قصوى من الزيت الأساسي للنبات، بمناطق تثبيط قدرت بـ 29 و 25.5 مم، على التوالي.

الكلمات المفتاحية: *Thymus algeriensis*، مستخلص، عديدات الفينول، DPPH، نشاطية مضادة للبكتيريا، زيت أساسي.

RÉSUMÉ

Thymus Algeriensis (Zaitra) est une plante médicinale appartenant à la famille des *Lamiaceae* ; elle est largement distribuée en Algérie et utilisée comme épice et en médecine traditionnelle dans le traitement des affections respiratoires. Dans ce travail, la composition phytochimique et les activités antioxydante et antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle des parties aériennes de la plante ont été évaluées. Les rendements d'extraction des extraits méthanolique et aqueux ont été très proches (8.2 et 8.5 %, respectivement), alors que le rendement de l'huile essentielle était de 18.85 %. La teneur la plus élevée en polyphénols a été trouvée dans l'extrait méthanolique (236.18 µg équivalent d'acide gallique /mg d'extrait), alors que l'extrait aqueux était le plus riche en flavonoïdes (17.15 µg équivalent de quercétine/mg d'extrait). L'extrait méthanolique a montré la meilleure activité antiradicalaire contre le radical DPPH (IC₅₀= 0.79 mg/ml). L'étude de l'activité antibactérienne a montré que seul l'extrait méthanolique possède une inhibition vis-à-vis de *S. aureus*, par une zone d'inhibition de 11.33 mm à une concentration de 250 mg/ml. Parmi les souches testées, *E. coli* et *S. aureus* ont été extrêmement sensibles à l'huile essentielle de la plante, avec des zones d'inhibition de 29 et 25.5 mm, respectivement.

Mots-clés: *Thymus Algeriensis*, extrait, polyphénols, DPPH, activité antibactérienne, huile essentielle.

Abstract

Thymus Algeriensis (Zaitra) is a medicinal plant belonging to the *Lamiaceae* family; it is widely distributed in Algeria and used as spice and in traditional medicine for the treatment of respiratory affections. In this work, phytochemical composition and antioxidant and antibacterial activities of extracts and essential oil from aerial parts of the plant are evaluated. Extraction yields of methanolic and aqueous extracts were very close (8.2% and 8.5%, respectively), while the yield of essential oil was 18.85%. The highest polyphenols content was found in methanolic extract (236.18 µg gallic acid equivalent/mg of extract), while the aqueous extract was the richest in flavonoids (17.15 µg quercetin equivalent/mg of extract). Methanolic extract showed the best scavenging activity against the DPPH radical ($IC_{50} = 0.79$ mg/ml). The study of antibacterial activity showed that only methanolic extract has an inhibition against *S. aureus*, with an inhibition zone of 11.33 mm at a concentration of 250 mg/ml. Among tested strains, *E. coli* and *S. aureus* were extremely sensitive to the essential oil of the plant, with inhibition zones of 29 and 25.5 mm, respectively.

Key words: *Thymus Algeriensis*, extract, polyphenols, DPPH, antibacterial activity, essential oil.

Liste des abréviations :

ATB : Antibiotique

ATCC : American Type Culture Collection

DMSO: Diméthylsulfoxyde

DPPH : 2,2-diphényl-1 picrylhydrazile

EAG : Equivalent d'acide gallique

EQ : Equivalent de quercétine

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

GM: Gentamicine

HE : Huile essentielle

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

IC₅₀ : Concentration de l'échantillon fournissant 50% d'inhibition

MHA: Mueller-Hinton Agar

NADPH: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NOS: Nitric Oxide Synthase.

ROS: Reactive oxygen species

SOD: Superoxyde dismutase

UV: Rayonnements Ultra-violets

Liste des figures :

Figure 1 : Distribution du genre <i>Thymus</i> dans le monde	4
Figure 2 : Structures chimiques des principales familles des flavonoïdes.....	6
Figure 3 : Structure du noyau phénol	7
Figure 4 : Structure chimique des tannins. A : Hydrolysables, B : Condensés	7
Figure 5 : Modes d'action des principaux antibiotiques.....	11
Figure 6 : Schéma général des mécanismes de résistance aux antibiotiques	12
Figure 7 : La plante <i>Thymus algeriensis</i> . A : Plante dans son environnement. B : Parties aériennes.	14
Figure 8 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	18
Figure 9 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	19
Figure 10 : Les concentrations des extraits de <i>Thymus algeriensis</i> et de la quercétine inhibitrices de 50 % du radical DPPH (IC ₅₀).....	26
Figure 11 : Photos représentant l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique, l'huile essentielle (HE) et la gentamycine (GM) sur les souches étudiées.	28

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Sources endogènes et exogènes des espèces réactives d'oxygène	9
Tableaux 2: Principaux antioxydants non enzymatiques	10
Tableau 3 : Rendements des extractions aqueuse, méthanolique et de l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i>	23
Tableau 4: Analyse phytochimique des différents extraits de <i>Thymus algeriensis</i>	24
Tableau 5: Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits de <i>Thymus algeriensis</i>	25
Tableau 6: Diamètres des zones d'inhibition résultant de l'effet antibactérien des extraits et de l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i>	27

Sommaire

Introduction	1
Chapitre 1. Revue bibliographique.	
1. La plante <i>Thymus algeriensis</i>	3
1.1. La famille des <i>Lamiaceae</i>	3
1.2. Le genre <i>Thymus</i>	3
1. 2.1. Description botanique	3
1.2.2. Répartition géographique	3
1.3. L'espèce <i>Thymus algeriensis</i>	4
1.3.1. Description botanique	4
1.3.2. Classification systématique	4
1.3.3. Noms vernaculaires de la plante	5
1.3.4. Composition chimique	5
1.3.5. Utilisation traditionnelle	5
2. Les métabolites secondaires	6
2.1. Les polyphénols.....	6
2.2. Les flavonoïdes	6
2.3. Les tannins.....	6
2.4. Les huiles essentielle	7
3 .Stress oxydatif, radicaux libres et antioxydants	8
3.1. Stresse oxydatif.....	8
3.2. Les radicaux libres	8
3.2.1.Définition	8
3.2.2.Origine des espèces réactives oxygénées	8
3.3. Les antioxydants.....	9
3.3.1. Définition	9

3.3.2. Les classes des antioxydants	9
3.3.3. Les antioxydants enzymatiques.....	9
3.3.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	10
4. Les antibiotiques et la résistance bactérienne.....	10
4.1. Modes d'action des antibiotiques	11
4.2. Mécanismes de la résistance bactérienne.....	12
Chapitre 2 : Matériel et méthodes.	
1. Matériel	14
1.1. Matériel végétal.....	14
1.2. Souches bactériennes.....	14
1.3. Produits chimiques	14
2. Méthodes	15
2.1. Méthodes d'extraction.....	15
2.1.1. Préparation de l'extrait aqueux	15
2.1.2. Préparation des extraits méthanoliques	15
2.2. Etude phytochimique	16
2.2.1. Les flavonoïdes	16
2.2.2. Les tannins	16
2.2.3. Les quinones	17
2.2.4. Les terpénoïdes	17
2.2.5. Les saponines	17
2.3. Dosage de quelques métabolites secondaires	17
2.3.1. Dosage de polyphénols totaux	17
2.3.2. Dosage des flavonoïdes	18
2.4. Etude de l'activité anti-radicalaire des extraits de la plante.....	19
2.5. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle de <i>T.algeriensis</i>	19

2.5.1. Préparation de l'inoculum	19
2.5.2. Méthode des puits de diffusion	20
2.5.3. Méthode des disques de diffusion (aromatogramme)	20
2.6. Etude statistique	21
Chapiter 3: Résultat et discussion.	
1. Extraction.....	23
2. Etude phytochimique.....	24
3. Dosage des composés phénoliques de la plante	24
4. Activité antiradicalaire des extraits de <i>Thymus algeriensis</i>.....	25
5. Activité antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle de <i>T. algeriensis</i>.....	26
Conclusion.....	30
Références	32

Introduction

Pendant des milliers d'années, l'homme a utilisé les propriétés des plantes non seulement pour se nourrir, mais aussi pour utiliser des extraits et des préparations à base de plantes pour se soigner ; les plantes médicinales ont été donc considérées comme le pilier de santé et des traitements médicaux (**Fowler, 2006**). Les plantes médicinales sont bien connues pour leurs activités biologiques ce qui a conduit au recours à l'utilisation de plantes dans le monde entier ; ces activités sont dues à la présence des métabolites secondaires dans la composition des plantes médicinales, comme les composés phénoliques et les huiles essentielles (**Morilla, 2014**).

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées réactives et les défenses antioxydantes au niveau cellulaire. Cette situation est liée à plusieurs maladies comme les cancers, les maladies inflammatoires, l'athérosclérose et les maladies neuro-dégénératives. L'antibiorésistance signifie la résistance des bactéries aux antibiotiques due principalement à la mauvaise utilisation de ces médicaments, d'où le recours à la recherche de nouvelles molécules antibactériennes d'origine végétale (**Bouyahia et al., 2017**).

Thymus Algeriensis est une espèce endémique de l'Afrique du Nord, très répandue en Algérie (**El hadji et al., 2010**), elle appartient à la famille des Lamiacées et est couramment utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement des troubles respiratoires et des maladies infectieuses (**Giweli et al., 2013**).

L'objectif essentiel de notre travail est d'étudier l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle préparés à partir des parties aériennes de la plante *Thymus algeriensis*. Cette étude est une contribution à :

- La préparation des extraits aqueux et méthanolique, ainsi que l'huile essentielle à partir de la plante étudiée.
- Le dosage spectrophotométrique des substances bioactives (composés phénoliques).
- L'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de la plante en utilisant le test au DPPH.
- L'étude de l'activité antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle de la plante.

Chapitre 1

Revue bibliographique

1. La plante *Thymus algeriensis*

1.1. La famille des *Lamiaceae*

La famille des Lamiacées, également connue sous le nom de Labiées, est une famille très homogène qui comprend environ 258 genres et plus de 6000 espèces. Ce sont des herbes aromatiques, facilement reconnaissables, avec des tiges quadrangulaires dont les feuilles sont opposées et les fleurs sont bisexuées. C'est une famille importante dont plusieurs espèces sont connues pour leurs propriétés médicinales telle que *Salvia*, *Scutellaria*, *Stachys*, *Hyptis*, *Teucrium*, *Vitex*, *Nepeta* et *Thymus* (Carović-Stanko et al., 2016).

Les espèces appartenant à cette famille sont extrêmement répandues mais prédominantes en Méditerranée comme le thym, les lavandes, le romarin qui sont caractéristiques de la flore arbustive. En revanche, les Lamiacées sont rares dans les régions arctiques et les régions montagneuses (Guignard, 2015).

1.2. Le genre *Thymus*

1.2.1. Description botanique

Le nom thymus est un mot latin, qui signifie parfumé ou en grec thymos, c'est à dire courage (Stahl- biskup et saez, 2002). Les plantes de ce genre sont sous-ligneuses érigées ou prostrées et odorantes. Les feuilles sont plus ou moins contractées. Les inflorescences sont pseudo-verticilles ; le calice est tubuleux à deux lèvres et la corolle est exserte ; les étamines sont saillantes et divergentes et les carpelles sont lisses (Quezel et santa, 1963).

1.2.2. Répartition géographique

1.2.2.1. Dans le monde

Le genre *Thymus* est largement retrouvé dans le monde tel que l'Europe, l'Afrique, l'Asie, le Groenland, le Canada, le Chili et la nouvelle Zélande. *Thymus* regroupe environ 80 espèces, il s'étend vers l'Europe tempérée, l'Asie tempérée, et jusqu'aux îles canaries (Figure 1) (Morales, 2002).

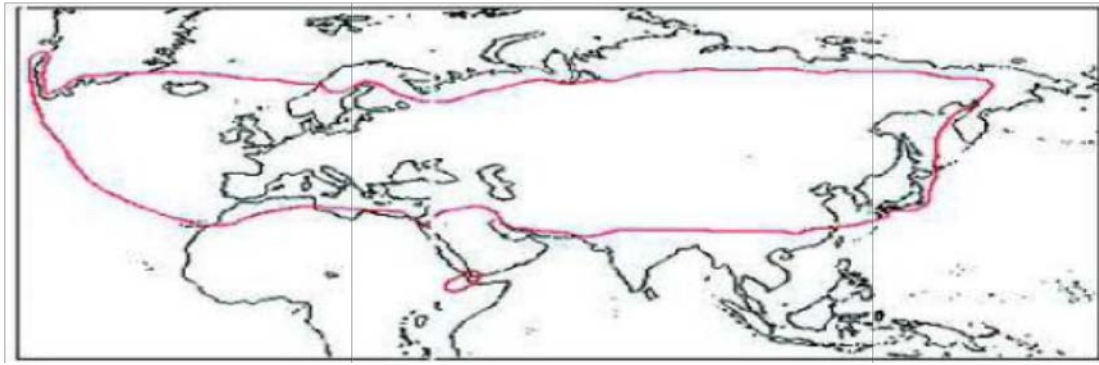


Figure 1 : Distribution du genre *Thymus* dans le monde (cercle rouge). (Morales, 2002).

1.2.2.2. En Algérie

L'Algérie est connue pour son abondance de plantes médicinales et sa diversité bioclimatique. Le genre *Thymus* comprend plusieurs espèces distribuées sur toutes les régions du littoral Algérien et même dans les régions arides intérieures (Saidj, 2006).

1.3. L'espèce *Thymus algeriensis*

1.3.1. Description botanique

Thymus algeriensis est une espèce endémique de l'Afrique du nord très répandue en Algérie, Tunisie, Maroc et Lybie (Ben El Hadj *et al.*, 2012). C'est une plante ligneuse, formant souvent des coussinets. Les rameaux sont serrés, grêles, plus ou moins dressés et velus, recouverts de feuilles opposées, effilées, courtement pétiolées, glabres mais largement cillées à la base, un peu enroulées sur les bords ; les limbes sont ponctués, très glanduleux, mesurant 1 à 2 cm de long sur 2 à 3 de large. Les feuilles florales sont peu déférentes, lancéolées et égalant ou dépassant les calices. Les fleurs sont rossées, en capitules terminaux, avec un calice glanduleux, glabre ou légèrement velu, long 5 à 6 mm à 2 lèvres égales. La corolle dépassant de très peu le calice, bilabée, à lobe médian plus grand (Beloued, 2014).

1.3.2. Classification systématique

La classification botanique de l'espèce *Thymus algeriensis* est comme suit (Quezel et Santa, 1963) :

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicots

Sous classe : Astéridés

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

Genre : *Thymus*

Espèce : *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut

1.3.3. Noms vernaculaires de la plante

- **Noms vernaculaires arabes :** zaitra, Djertil, Hamria, Hamzoucha, Mezouqach (Beloued, 2014).
- **Noms targuis ou berbères :** Azoukni, Rebba, Touchna, Djouchchen (Beloued, 2014).

1.3.4. Composition chimique

Les extraits de *T. algeriensis* contiennent des dérivés glycosides de flavones et de flavonols surtout le kaempférol O-glucuronide ; ainsi que les acides phénoliques avec prédominance de l'acide rosmarinique (Ziani et al., 2019).

Les principaux composants de l'huile essentielle de *T. algeriensis* récoltée au Maroc sont le camphre (27.7%) et le α -pinène (20.5%) (Amarti et al., 2010), alors que la même espèce récoltée en Algérie a donné une autre composition formée majoritairement par le D-germacrène (29.6%), β -caryophyllène (11.0%), E- β -farnésène (7.8%), bicyclogermacrène (4.4%) et δ -cadinène (4.0%) (Kebbi et al., 2020).

1.3.5. Utilisation traditionnelle

Thymus algeriensis est une épice très connue, elle peut être utilisée que ce soit fraîche ou sèche. En médecine traditionnelle, *T. algeriensis* est très connue pour son effet contre les affections pulmonaires, elle est utilisée pour soulager la grippe et la pneumonie sous forme d'infusion. Elle est encore utilisée comme stomachique, diaphorétique, antispasmodique et comme stimulant (Giweli et al., 2013 ; Ziani, 2019 ; Beloued, 2014). Plusieurs activités biologiques de cette plante ont été confirmées , elle a un effet antiseptique, antibactérien, antispasmodique, antifongique et anti-abortif (Benkiniouar et al., 2007 ;Zouari et al., 2011). En plus elle a des activités antioxydantes, antivirales et anti-inflammatoires (Salhi et al., 2016).

2. Les métabolites secondaires

2.1. Les polyphénols

Le terme phénolique est utilisé pour tous les produits chimiques qui ont un noyau aromatique (Figure 2) (**Bruneton, 1999**). Les polyphénols sont un groupe important et très varié de substances naturelles existant dans les plantes et qui sont dotées de plusieurs activités biologiques prouvées (**Urquiaga et Leighton, 2000**).

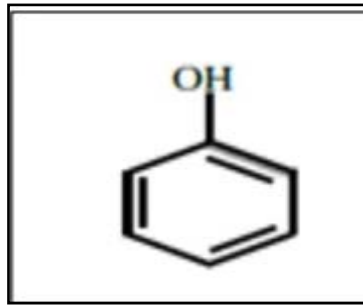


Figure 2 : Structure du noyau phénol (**Achat, 2013**).

2.2. Les flavonoïdes

Ce sont un groupe important de polyphénols. Leur structure de base contient deux cycles aromatiques liés par un hétérocycle central. Ce sont des composés que l'on trouve souvent dans les différentes parties de la plante où sont responsables des couleurs de ceux-ci. Les flavonoïdes sont subdivisés en plusieurs sous groupes comme les flavonols, les flavones, les flavanols et les flavonones (Figure 3) (**Panche, 2016**).

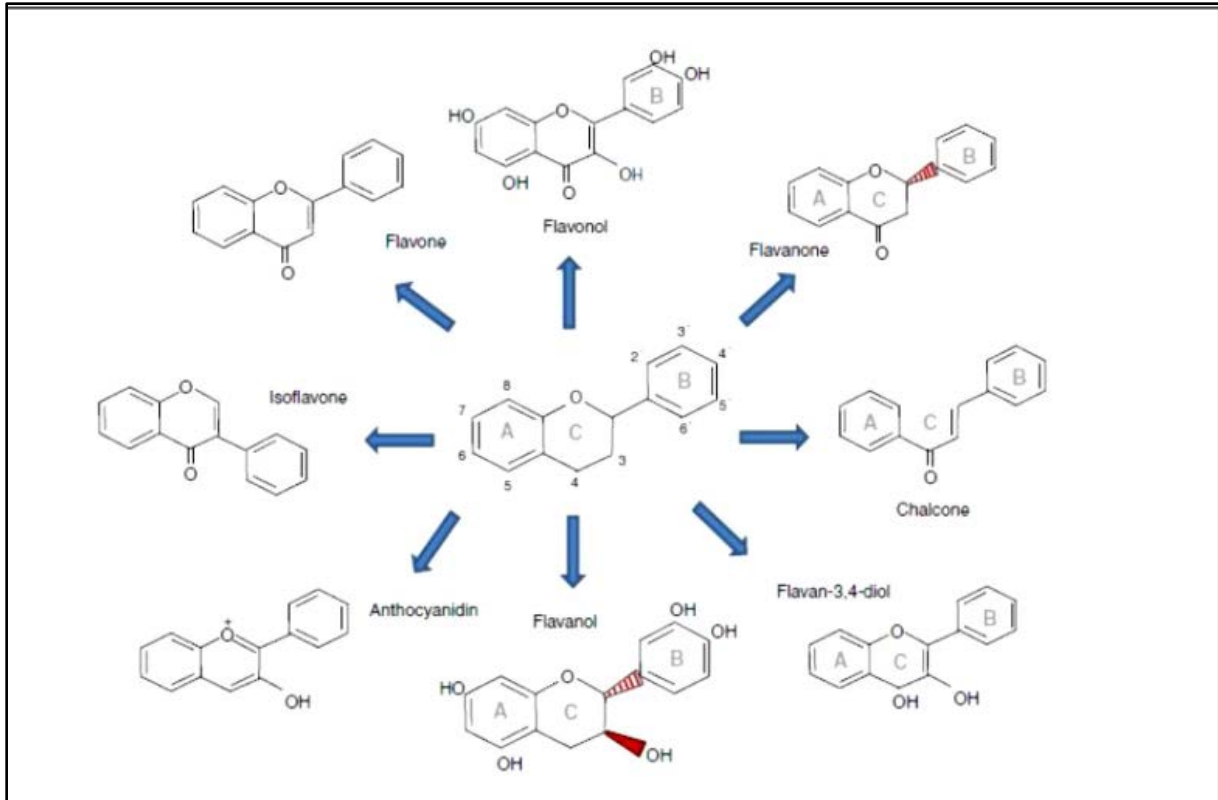


Figure 3: Structures chimiques des principales familles des flavonoïdes (Fraga et Oteiza, 2011).

2.3. Les Tannins

Les tanins sont des métabolites secondaires présents dans de nombreuses plantes et situés essentiellement dans différents organes : tiges, feuilles, fruits (Zimmer, 1996), ils possèdent la propriété de transformer la peau en un matériau imputrescible. Les tanins sont des molécules responsables du goût amer de l'écorce et des feuilles. On distingue deux types de tanins : hydrolysables et condensés (Figure 4) (Bruneton, 1999).

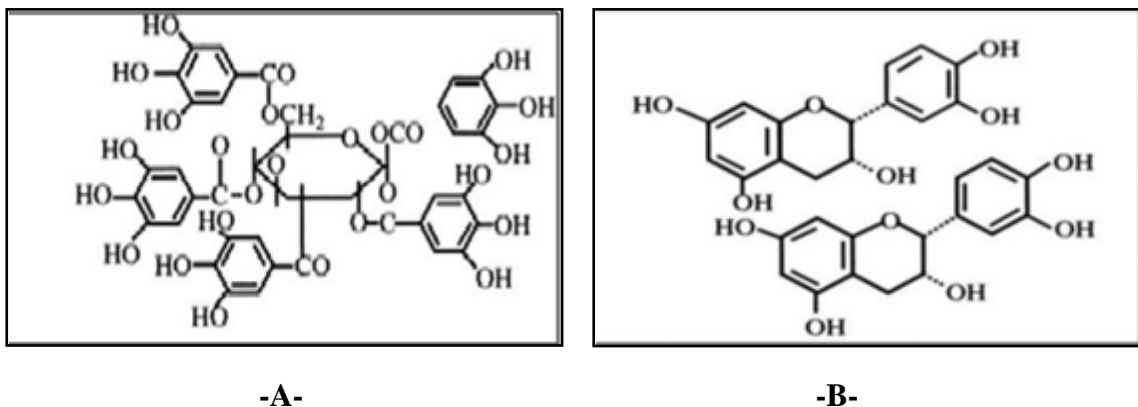


Figure 4 : Structure chimique des tannins. A : Hydrolysables, B : Condensés (Cowan, 1999).

2.4. Les huiles essentielles

Ce sont des extraits huileux de nature végétale qui sont présents dans les plantes aromatiques. L'huile essentielle a généralement une composition complexe formée beaucoup plus de terpènes et de leurs dérivés. Pour obtenir ces huiles, deux méthodes sont utilisées à savoir la technique de la distillation à la vapeur d'eau et la distillation sèche (**Lardry et al., 2007**).

3. Stress oxydatif, radicaux libres et antioxydants

3.1. Le stress oxydatif

En situation physiologique, Le stress oxydant est une circonstance anormale entre la production des espèces réactives d'oxygène (ERO ou ROS) et les systèmes de défenses antioxydants (**Favier, 2003**). Dans ce déséquilibre les radicaux libres oxydent plusieurs molécules au niveau cellulaire ce qui est à l'origine de plusieurs maladies comme les cancers, les maladies inflammatoires tel le syndrome de détresse respiratoire aigu et l'œdème pulmonaire, le vieillissement accéléré, l'Alzheimer, le Parkinson, l'athérosclérose et les complications du diabète (**Atawodi, 2005**).

3.2. Les radicaux libres

3.2.1. Définition

Les radicaux libres sont des molécules ou des atomes possédant un ou plusieurs électrons non appariés, ce sont donc extrêmement réactifs. Ces radicaux libres et leurs précurseurs sont appelés espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Halliwell et al., 2006**). Il existe plusieurs types d'ERO, radicalaires et non-radicalaires. Les ERO sont susceptibles de participer à la dégradation des biomolécules (lipides, protéines, ADN et glucose) (**Favier, 2003**). Les principales ERO sont des formes réduites de l'oxygène comme l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$, réduction à 1 électron), le radical hydroxyl (OH^{\cdot} , réduction à 3 électrons), mais aussi les radicaux oxyl (RO^{\cdot}), peroxy (ROO^{\cdot}) et le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}). Les ERO incluent aussi des espèces non radicalaires, notamment le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 , réduction à 2 électrons), le dioxygène singulet (1O_2), l'acide hypochloreux ($HOCl$), l'ozone (O_3) et le peroxydinitrite ($ONOO^{\cdot}$) (**Baudin, 2006**).

3.2.2. Origine des espèces réactives oxygénées

Les ERO peuvent être d'origine endogène comme les enzymes oxydantes ou d'origine exogène, on parle alors de facteurs environnementaux induisant une surproduction de ces molécules réactives comme les rayonnements UV et les différents types de polluants (Tableau 1). Une alimentation riche en produits végétaux, nous apporte une grande variété d'antioxydants qui peuvent agir en complément de nos défenses naturelles (Afonso et al., 2007).

Tableau 1 : Sources endogènes et exogènes des espèces réactives d'oxygène (Haleng ; 2007).

Sources exogènes	Sources endogènes
Tabagisme, Alcool	Xanthine-oxydase, Inflammation
Médicaments, Exposition au soleil	Altération de la fonction endothéliale
Exercice intense ou mal géré	Surcharge en fer, Oxydation de l'hémoglobine
Pollution, Radiations (X, UV)	Altérations mitochondriales
Contacts avec des substances cancérigènes	Biosynthèse des prostaglandines
	L'enzyme NOS (Nitric Oxide Synthase)
	NADPH oxydase

3.3. Les antioxydants

3.3.1. Définition

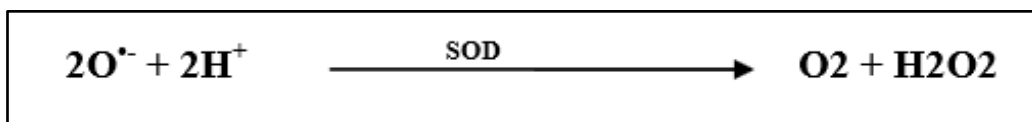
Les antioxydants sont des substances à concentrations relativement faibles, qui ont la capacité de piéger, retarder ou empêcher l'oxydation causée par les radicaux libres (Charles et al., 2005).

3.3.2. Les classes des antioxydants

3.3.2.1. Les antioxydants enzymatiques

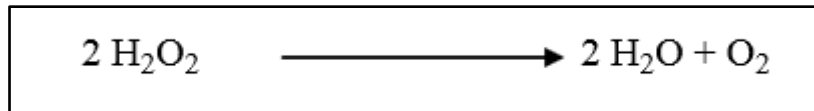
A. La superoxyde dismutase (SOD)

C'est un enzyme ubiquitaire qui élimine l'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$ par une réaction de dismutation qui convertit l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et oxygène moléculaire selon la réaction suivante) (Haleng et al., 2007).



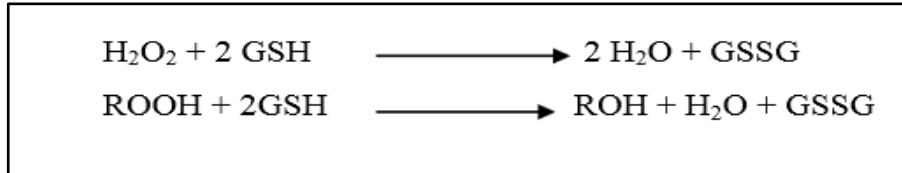
B. La catalase

Une catalase est une oxydoréductase hémique qui catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène (Reynaert et al., 2007) :



C. La glutathion peroxydase (GPX)

Enzyme tétramérique localisée dans les mitochondries et dans le cytosol, elle peut réduire le peroxyde d'hydrogène en eau par les réactions suivantes (Lacolley et al., 2007) :



3.3.2.2. Les antioxydants non enzymatiques

L'organisme possède une seconde ligne de défense « les piègeurs de radicaux libres » qui sont des composés pour la plupart apportés par l'alimentation et dont le rôle essentiel est de neutraliser les effets toxiques des ROS (Tableau 2)

Tableau 2 : Principaux antioxydants non enzymatiques (Evans, 2000 ; Durand et Beaudoux, 2011).

Molécule	Effet antioxydant
Acide ascorbique (vitamine C)	Piéger directement : - L'anion superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$ - Le radical hydroxyle HO^{\bullet} - L'oxygène singulet et réduit le peroxyde d'hydrogène en eau via l'ascorbate peroxydase.
α -tocophérol (vitamine E)	- Piéger l'oxygène singulet en s'oxydant en quinone. - Réagir avec les radicaux peroxydes ROO^{\bullet} pour former un radical tocophéryle.
β carotène	- Piéger les radicaux hydroxyles (HO^{\bullet}) et inhiber les chaînes de peroxydations lipidiques.
Sélénium	- Cofacteur enzymatique de la glutathion peroxydase.

4. Les antibiotiques et la résistance bactérienne

Les infections bactériennes sont les maladies les plus meurtrières et les épidémies les plus répandues causées par différents micro-organismes. De nombreux antibiotiques ont été développés pour les traiter, ce sont des substances antibactériennes produites par des micro-organismes ou des produits de synthèse chimique. La mauvaise utilisation des antibiotiques est à l'origine de la multi-résistance bactérienne (Daglia, 2012 ; Manadhar *et al.*, 2019).

4.1. Modes d'action des antibiotiques

Les agents antibactériens agissent généralement selon des mécanismes qui diffèrent selon le microorganisme cible : endommagement de la paroi, altération des membranes, coagulation du contenu cellulaire, influence sur la synthèse de l'ADN et des protéines (Luis *et al.*, 2014).

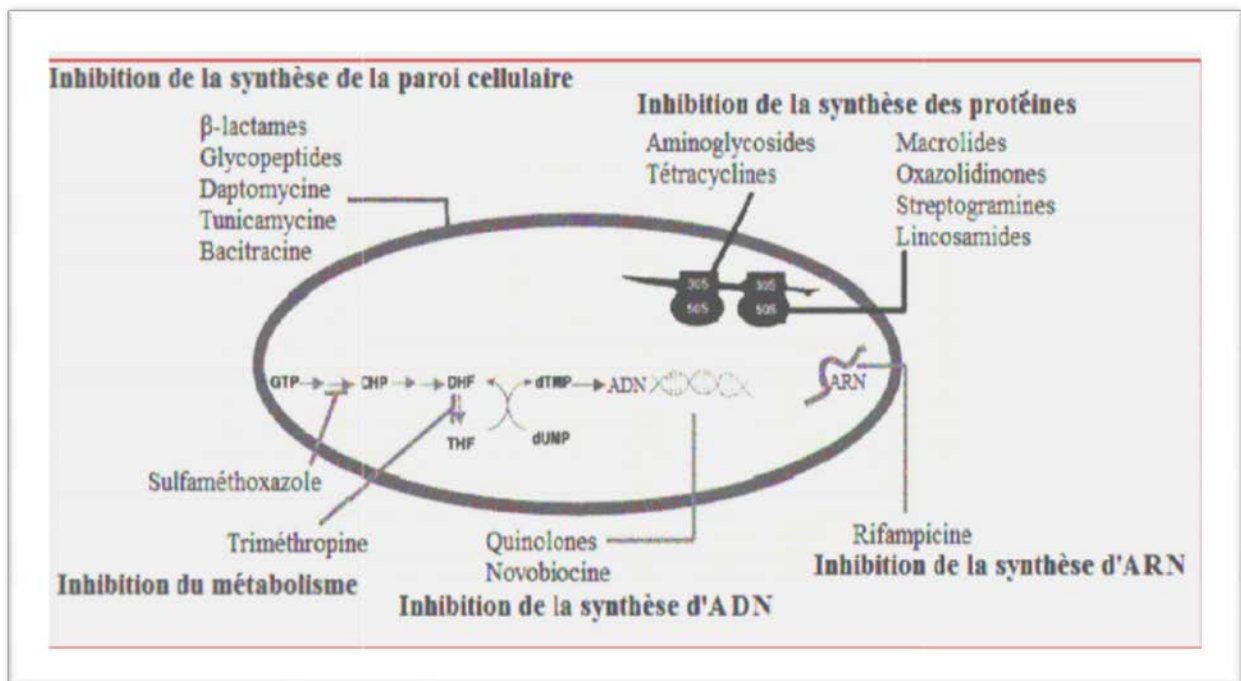


Figure 5: Modes d'action des principaux antibiotiques (Yala *et al.*, 2001).

4.2. Mécanismes de la résistance bactérienne

La résistance des bactéries aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise. Les principaux mécanismes d'action exercés par les bactéries pour rendre les antibiotiques inefficaces sont résumés dans la figure 6. Le mécanisme exercé dépend du mode d'action de l'antibiotique.

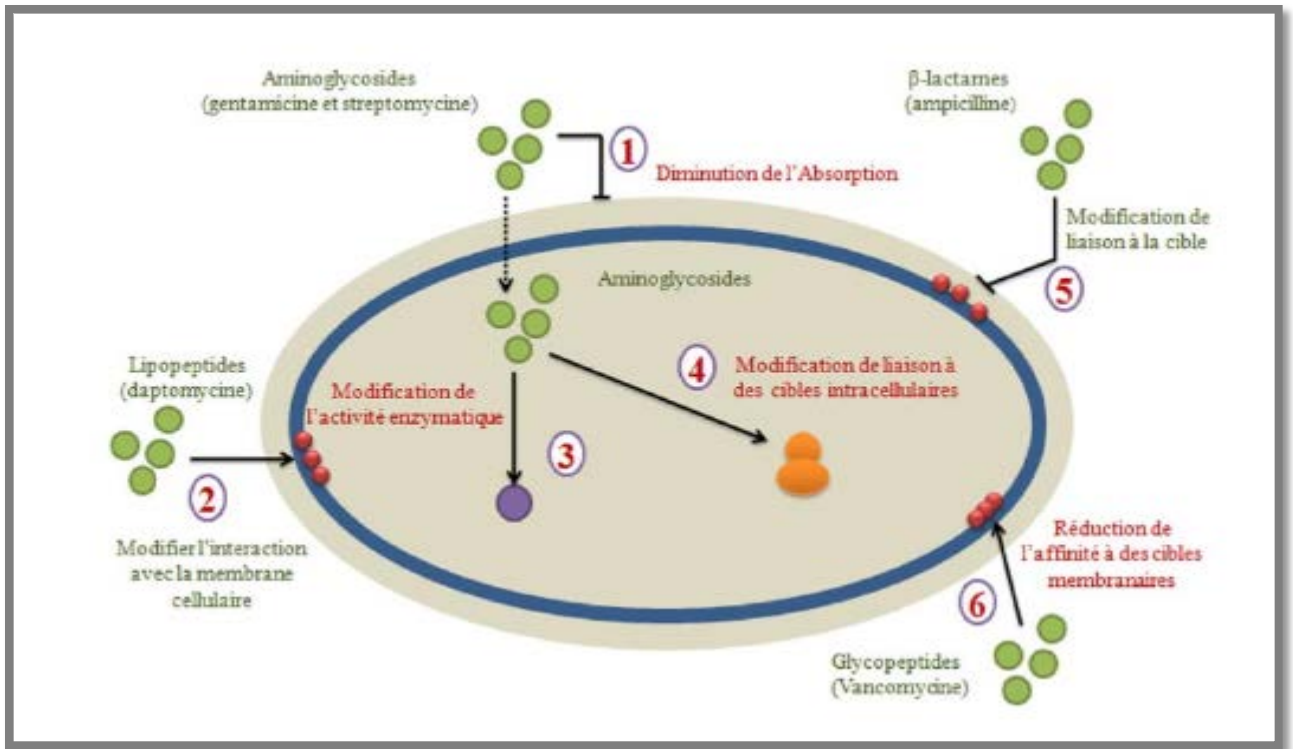


Figure 6 : Schéma général des mécanismes de résistance aux antibiotiques (Bouyahia et al., 2017).

Chapitre 2

Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

La plante *Thymus algeriensis* (Figure 7) a été récoltée en Mars 2022 de la région de Maadid à M'sila. L'identification de l'espèce a été réalisée par Pr. Smaili Tahar (Université de M'sila). Les parties aériennes de la plante ont été nettoyées puis séchées à l'abri du soleil pendant 7 jours. Finalement, le matériel végétal a été broyé et la poudre obtenue a été utilisée dans la préparation des extraits.

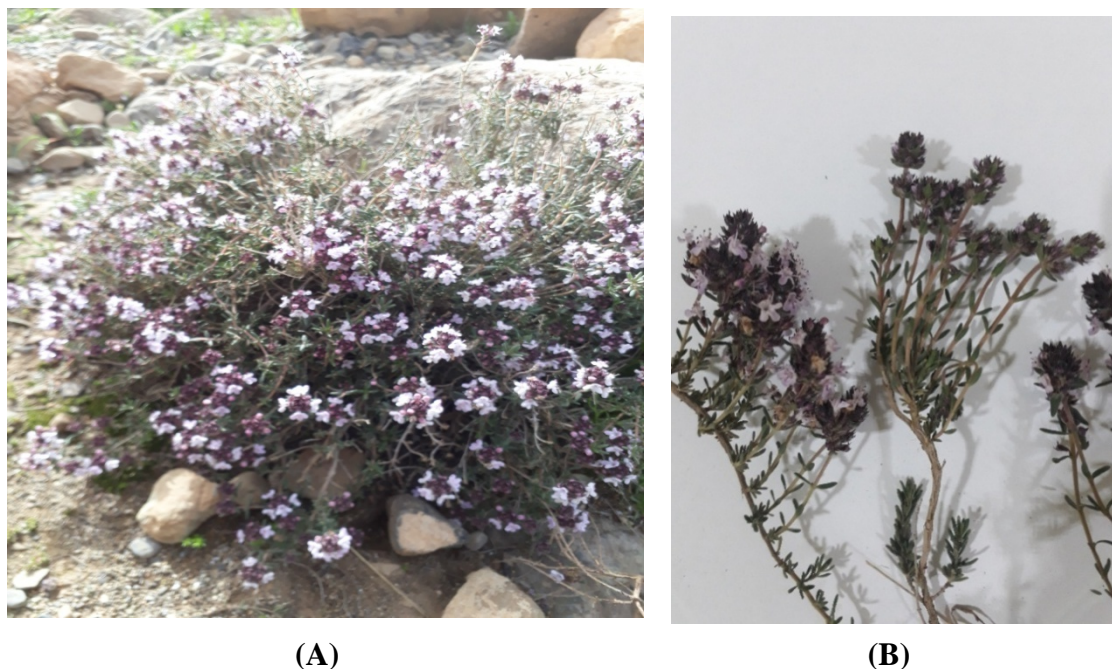


Figure 7 : La plante *Thymus algeriensis*. A : Plante dans son environnement. B : Parties aériennes.

1.2. Souches bactériennes

Les bactéries utilisées pour tester l'activité antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle de la plante *Thymus algeriensis* sont des souches de références de type ATCC (American type culture collection) et sont présentes au niveau de laboratoire de microbiologie (Département de microbiologie et biochimie) : *Staphylococcus aureus* (ATCC22923) de gram positif ; *Escherichia coli* (ATCC22922) de gram négatif et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) de gram négatif.

1.3. Produits chimiques

Tous les réactifs chimiques ainsi que les solvants organiques utilisés dans nos expériences proviennent de Sigma et AnalaR NORMAPUR.

2. Méthodes

2.1. Méthodes d'extraction

Afin d'extraire les molécules actives de la plante *Thymus algeriensis*, on a utilisé deux solvants : l'eau distillée et le méthanol.

2.1.1. Préparation de l'extrait aqueux (décoction)

L'extraction a été effectuée selon la méthode décrite par Gnanaprakash et ses collaborateurs (2010). 20 g du matériel végétal ont été ajoutés à 200 ml d'eau distillée avec agitation à 70°C dans un bain marie pendant 1 heure. Le mélange est laissé à température ambiante à l'abri de la lumière, avec agitation occasionnelle durant 48 heures. La filtration a été réalisée à l'aide de tissu très fin, ensuite par du coton et puis par papier filtre. Le filtrat est évaporé par un rotavapor à 40°C. Le séchage de l'extrait obtenu a été effectué à l'étuve à une température de 40°C pendant 24 h et ensuite conservé dans des eppendorfs à 4°C jusqu'à utilisation.

2.1.2 Préparation de l'extrait méthanolique

L'extraction a été réalisée selon la méthode de Thanabhorn et ses collaborateurs en 2006. 50 g de la poudre de la plante ont été macérés dans 500 ml de méthanol. Le mélange a été laissé deux jours avec agitation occasionnelle à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après la filtration, le filtrat est soumis à une évaporation 40°C. L'extrait obtenu est ensuite séché à l'étuve et conservé dans des eppendorfs à 4°C jusqu'à utilisation.

2.1.3. L'extraction de l'huile essentielle de la plante *Thymus algeriensis*

L'extraction de l'huile essentielle de la plante a été effectuée par Hydrodistillation. Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (**Bruneton, 1999**).

Brièvement, dans un ballon de 2000 ml, on met 100 g des parties aériennes de la plante et on ajoute 1.5 L d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition pendant 3 heures ; à l'aide d'une seringue, on a récupéré l'huile essentielle obtenu qui a été mise dans des eppendorfs et stockée à 4°C jusqu'à utilisation.

2.1.4. Calcul du rendement de l'extraction

Le rendement en extraits et en huile essentielle de la plante est calculé par la formule suivante :

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

R : rendement exprimé en pourcentage.

M : masse en gramme de l'extrait ou de l'huile.

M₀ : masse en gramme de la matière végétale sèche.

2.2. Etude phytochimique

Pour détecter la présence ou l'absence des principales familles des composés chimiques dans les extraits de la plante *Thymus algeriensis*, on utilise des tests phytochimiques selon la méthode décrite par Sunil et ses collaborateurs (2012).

2.2.1. Les flavonoïdes

Pour découvrir la présence de flavonoïdes on a additionné quelques gouttes de NaOH dilué à 1 ml de chaque extrait (aqueux et méthanolique) à une concentration de 5 mg/ml, l'apparition du couleur jaune intense puis sa disparition à l'ajout de HCl indique la présence de flavonoïdes.

2.2.2. Les saponines

500 µl d'extrait (5 mg/ml) sont dilués par 3 ml d'eau distillée et agités vigoureusement pendant 15 minutes. La formation d'une couche stable de mousse indique la présence des saponines.

2.2.3. Les terpénoïdes

La formation d'un anneau brun rougeâtre à l'interface après avoir mélanger 1 ml de chaque extrait (5 mg/ml) avec 0,5 ml de chloroforme puis 0.7 ml H₂SO₄, confirme la présence de terpénoïdes dans les extraits.

2.2.4. Les tannins

Pour tester la présence des tannins, on met dans un tube à essai 1 ml d'extrait (Concentration 5 mg/ml) plus quelques gouttes de chlorure ferrique (FeCl₃) 0.1%. La

présence des tannins est indiquée par la formation d'un précipité noir bleuâtre ou noir verdâtre.

2.2.5. Les quinones

L'apparition d'une coloration rouge après addition de 500 µl d'acide sulfurique concentré à 500 µl de chaque extrait indique la présence de quinones.

2.3. Dosage de quelques métabolites secondaires

2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux des extraits de la plante a été effectué par le test de Folin-Ciocalteu (**Li et al., 2007**). Cet essai est basé sur la réduction en milieu alcalin d'un mélange de phosphotungstène (WO_4^{2-}) et phosphomolybdène (MoO_4^{2-}) du réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques. La coloration bleue produite a une absorption maximale à environ 760-765 nm.

En bref, 1 ml de Folin-Ciocalteu (10 %) est mélangé avec 200 µl de chaque extrait à une concentration de 2 mg/ml ou avec 200 µl de méthanol et l'eau distillé utilisés pour dissoudre les extraits (blanc). Après avoir agiter et incuber durant 4 min, on ajoute 800 µl de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à une concentration de 75 g/l, puis on incube durant 2 h à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance est ensuite mesurée à $\lambda=765$ nm par un spectrophotomètre.

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique (dissout dans le méthanol) est préparée par quatre concentrations différentes (10, 20, 40 et 80 µg/ml) (Figure 8). Les concentrations de polyphénols dans les extraits sont calculées et exprimées en µg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait sec (µg EAG/mg E).

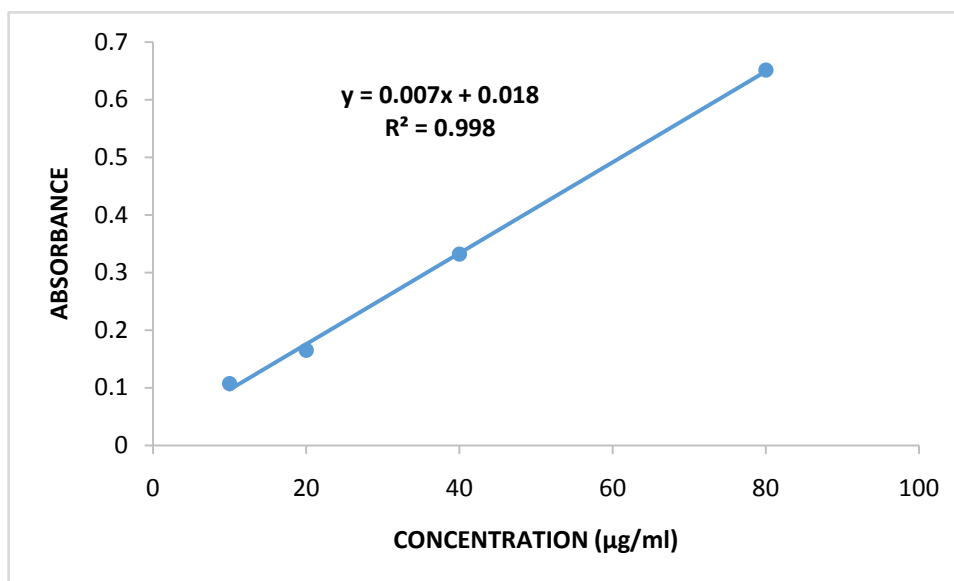


Figure 8 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Chaque point représente la moyenne se trois répétitions.

2.3.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) décrite par Bahorun et ses collaborateurs (1996) a été utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits étudiés. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium).

On additionne 1 ml d' AlCl_3 (2%) à 1 ml de chaque extrait préparés à des concentrations différentes (2 et 4 mg/ml). Après incubation à l'obscurité durant 10 min, l'absorbance est mesurée à $\lambda = 430$ nm. Le calcul de la concentration des flavonoïdes dans les extraits est déduit à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (dissoute dans le méthanol) à différentes concentrations (5, 10, 20 et 40 µg/ml) (Figure 9), elle est exprimée en µg d'équivalent de la quercétine par mg d'extrait sec (µg EQ/mg E).

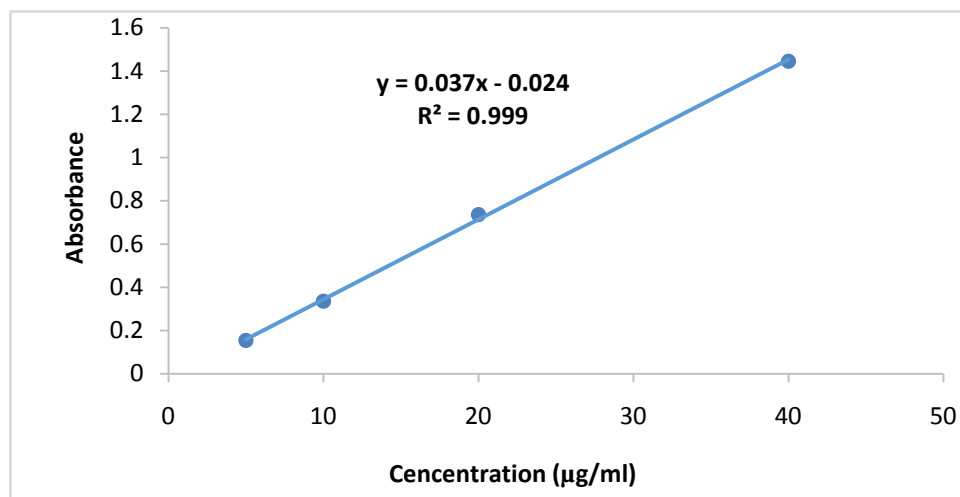


Figure 9: Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Chaque point représente la moyenne se trois répétitions.

2.4. Etude de l'activité anti-radicalaire des extraits de la plante

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la plante *Thymus algeriensis* a été effectuée par le test DPPH (2,2' diphényl-1-picrylhydrazul) réalisé selon le protocole décrit par Brand-Williams et ses collaborateurs (1995). Dans Ce test, les antioxydants réduisent le 2,2' diphényl-1-picrylhydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune le di-phénylpicrylhydrazine ; l'intensité de couleur à 517 nm est donc inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans les extraits.

Brièvement, 1250 µl d'une solution méthanolique de DPPH (0,04 mg/ml) sont ajoutés à 50 µl de chaque extrait (à concentrations différentes) ou à 50 µl de méthanol ou d'eau distillée (blancs). Après agitation, les tubes sont conservés à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 30 min et l'absorbance de la solution est mesurée à 517 nm. La quercétine (dissoute dans le méthanol) est utilisée comme témoin positif. Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est calculé par la formule suivante :

$$I\% = [(A_{\text{blanc}} - A_{\text{éch}}) / A_{\text{blanc}}] \times 100$$

I%: pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH.

A_{blanc} : Absorbance du témoin négatif.

$A_{\text{éch}}$: Absorbance de l'échantillon (l'extrait ou la quercétine).

2.5. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle de *T. algeriensis*

2.5.1. Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance pendant 24 h à 37°C. Une colonie a été prélevée de chaque souche bactérienne et introduite dans 9 ml d'eau physiologie stérile. Après agitation, l'absorbance a été mesurée et ajustée à une valeur allant de 0,08 à 0.13 à une longueur d'onde de 620 nm. La concentration finale de l'inoculum est approximativement de l'ordre de 10^7 - 10^8 UFC /ml (Khrich et *al.*, 2018).

2.5.2. Méthode de puits de diffusion

La gélose Mueller-Hinton a été coulée dans des boîtes de Pétri etensemencée à l'aide des écouvillons par l'inoculum préalablement préparé. Des puits sont ensuite creusés à des points équidistants des bords et du centre des boîtes. 30 µl de chaque extrait à une concentration de 250 mg/ml ont été déposés dans les puits formés. 30 µl d'eau distillée stérile ou de DMSO ont été utilisés comme contrôle négatif, en plus, des disques de la gentamycine (GM) à 10 µg / disque ont été utilisés comme contrôle positif. Les boîtes de Pétri ont été conservées au réfrigérateur pendant une heure, et ensuite incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 h à 24 h.

La lecture a été réalisée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque puits, en mm ; Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et sont classés selon la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits de la plante : non sensible (-) pour les diamètres de 8 mm (pas d'inhibition autour du disque); sensible (+) pour les diamètres de 9 à 14 mm; très sensible (++) pour les diamètres de 15 à 19 mm et extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20 mm (Ponce et *al.*, 2003).

2.5.3. Méthode des disques de diffusion (aromatogramme)

La réalisation de cette méthode repose sur le principe de l'antibiogramme qui est basé sur la diffusion de l'huile essentielle à partir des disques et leur capacité d'inhibition de la croissance microbienne.

A l'aide d'une micropipette, on a prélevé 10 µl de l'huile essentielle de *T. algeriensis* et on a versé ce volume sur les disques de papier whatman stériles placés à la surface des boîtes de Pétri remplies par la gélose Mueller-Hinton et préalablementensemencées par les souches

étudiées. Après conservation à 4°C pendant 1 heure, puis incubation à 37°C pendant 18 à 24 h à l'étuve, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètre.

2.6. Etude statistique

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne de trois répétitions \pm SD. La signification statistique entre le contrôle positif et les échantillons est déterminée par le test ANOVA-One way et les différences sont considérées significatives au seuil de 5% ($p < 0.05$). Les courbes et les histogrammes ont été réalisés à l'aide de programme Microsoft Excel 2007, et les analyses statistiques ont été effectués par le logiciel GraphPad Prism 7.04.

Chapitre 3

Résultats et discussion

1. Extraction

Les deux extraits (méthanolique et aqueux) sont obtenus à partir des parties aériennes de la plante *Thymus algeriensis* en utilisant la technique de macération. L'extraction de l'huile essentielle de la plante a été effectuée par hydrodistillation. Les rendements d'extraction sont exprimés en pourcentage de masse d'extrait ou de l'huile essentielle par rapport à la masse initiale du matériel végétal. Les rendements obtenus sont représentés dans le tableau 3.

Tableau 3: Rendements des extractions aqueuse, méthanolique et de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*.

Extrait	Rendement (%)
Méthanol	08.20
Aqueux	08.50
Huile essentielle	18.85

À partir des résultats obtenus, les rendements d'extraction des deux extraits méthanolique et aqueux sont très proches (8.2 et 8.5 %, respectivement). Les extraits aqueux des plantes sont connus pour être riches en phénols polaires et en flavonoïdes hautement polaires (flavonoïdes di-, tri- et tétra- glycosylés), tandis que le méthanol peut extraire les flavonoïdes, les aminoacides, les terpènes et les cires (**Boussoualim, 2014**).

L'huile essentielle de la plante *Thymus algeriensis* était de couleur jaune avec une odeur fortement aromatique. Le rendement d'extraction de l'huile est égal à 18.85 %. Le rendement obtenu dans cette étude est largement plus important que celui trouvé par **Hazzit et al., (2009)**, où le rendement d'extraction de l'huile de *T. algeriensis* était égal à 0,4 %. Dans une autre étude réalisée par **Zayyad et al.,(2014)**, le rendement d'extraction de l'huile de cette plante était de l'ordre de 2.96 %. Les différences obtenues au niveau des rendements peuvent être attribuées aux conditions climatiques et édaphiques (facteur écologique lié au sol) ainsi qu'au stade végétatif de la plante (**Selka et al., 2016**).

2. Etude phytochimique

Les résultats des divers tests phytochimiques effectués sur les extraits sont représentés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Analyse phytochimique des différents extraits de *Thymus algeriensis*.

Extrait	Méthanolique	Aqueux
Flavonoïdes	+	+
Saponines	+	-
Tannins	+	+
Terpénoïde	+	+
Quinones	+	+

(+): Présence, (-): Absence.

Selon les résultats montrés dans le tableau 4, les flavonoïdes, les terpénoïdes, les tannins et les quinones sont présents dans les deux extraits étudiés, alors que les saponines sont présents seulement dans l'extrait méthanolique.

Les flavonoïdes et les tannins sont des métabolites secondaires qui appartiennent au groupe des polyphénols. Les quinones, connus pour leur activité antimicrobienne, possèdent des cycles aromatiques avec deux substituant cétones et les terpénoïdes sont des précurseurs pour la synthèse des stéroïdes dans les plantes (**Tiwari et al., 2011**).

Selon **Ainanshe et Batool (2016)**, la partie aérienne des feuilles de *Thymus vulgaris*, une espèce du même genre que la plante étudiée dans notre travail, contient les flavonoïdes et les tannins. Une autre étude réalisée par **Mehreen** et ses collaborateurs en **2016**, a confirmé la présence des flavonoïdes dans la partie aérienne de *T. vulgaris*, ainsi que l'absence des saponines, des terpénoïdes et des tannins dans cette plante.

3. Dosage des composés phénoliques de la plante

Les teneurs des extraits étudiés en polyphénols totaux et en flavonoïdes ont été déterminées par des méthodes spectrophotométrique. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits de *Thymus algeriensis*.

Extrait	Teneur en polyphénols ($\mu\text{g EAG/mg E}$)	Teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g EQ/mg E}$)
Méthanolique	236.18 ± 4.47	15.36 ± 0.62
Aqueux	146.35 ± 4.20	17.15 ± 0.34

EAG: équivalent d'acide gallique ; EQ: équivalent de quercétine ; E : extrait.

Selon le tableau 05, les deux extraits de la plante renferment des teneurs considérables en polyphénols totaux ; l'extrait méthanolique est le plus riche en polyphénols ($236.18 \mu\text{g EAG/mg E}$) par rapport à l'extrait aqueux ($146.35 \mu\text{g EAG/mg E}$). Dans une étude effectuée par **Salhi** et ses collaborateurs en **2016**, le taux de polyphénols totaux de l'extrait aqueux des feuilles de *T. algeriensis* est égal à $117.50 \mu\text{g EAG/mg E}$; ce résultat est proche de la valeur trouvée dans notre étude.

Dans le dosage des flavonoïdes, les extraits aqueux et méthanolique ont montré des valeurs proches (17.15 et $15.36 \mu\text{g EQ/mg E}$, respectivement). Dans la même étude précédente (**Salhi et al., 2016**), la teneur en flavonoïdes de l'extrait aqueux des feuilles de la plante est égale à $17.31 \mu\text{g EQ/mg E}$, qui est une valeur semblable à nos résultats.

4. Activité antiradicalaire des extraits de *Thymus algeriensis*

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Thymus algeriensis* a été effectuée par la méthode de DPPH, ce dernier est un radical libre qui peut être réduit par les antioxydants présents dans les extraits végétaux, ainsi sa couleur passe du violet au jaune, ce qui induit la diminution de l'absorbance à 517 nm (**Yaïci et al., 2019**). L'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en IC_{50} , qui correspond à la concentration d'extrait nécessaire pour inhiber ou réduire 50% de la concentration initiale du DPPH•. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 10.

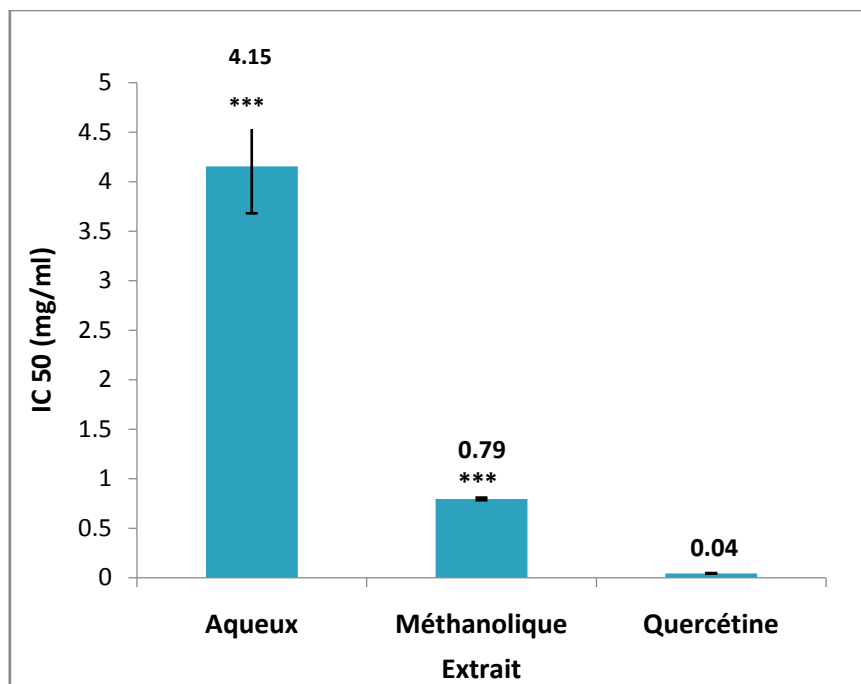


Figure 10 : Les concentrations des extraits de *Thymus algeriensis* et de la quercétine inhibitrices de 50 % du radical DPPH (IC₅₀). Comparaison par rapport au quercétine, ($p < 0.001$)***. Les valeurs représentent la moyenne de trois répétitions \pm SD.

Les extraits aqueux et méthanolique de la plante ont montré une activité radicalaire dose-dépendante. L'extrait méthanolique a été plus actif que la décoction avec des IC₅₀ égale à 0.79 et 4.15 mg/ml, respectivement. L'activité des extraits a été plus faible que celle de la quercétine dont la valeur d'IC₅₀ est de 0.04 mg/ml.

Selon les résultats obtenus par **Nateqi et Mirghazanfari (2018)**, l'extrait méthanolique de *Thymus vulgaris* a été aussi le plus actif dans le piégeage du radical DPPH par rapport à l'extrait aqueux (16.5 et 35.5 mg d'équivalent d'acide ascorbique/g d'extrait, respectivement).

5. Activité antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle de *T. algeriensis*

L'activité antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle de la plante a été évaluée en utilisant la méthode de puits de diffusion pour les extraits et la méthode des disques de diffusion pour l'huile. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 6 et la figure 11.

Tableau 6 : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) résultant de l'effet antibactérien des extraits et de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*.

Extrait	Méthanolique (250 mg/ml)	Aqueux (250 mg/ml)	Huile essentielle	Gentamycine 10 µg/disque
<i>E. coli</i>	NA	NA	29±2.64	25±1
<i>S. aureus</i>	11.33±1.15	NA	25.5±0.7	35.33±0.57
<i>P. aeruginosa</i>	NA	NA	NA	20.5±4.94

NA : non actif.

L'extrait méthanolique a montré une activité antibactérienne seulement contre la souche *S. aureus*, avec une zone d'inhibition de 11.33 mm pour une dose de 250 mg/ml. En revanche, l'extrait aqueux n'a présenté aucune activité antibactérienne vis-à-vis des souches testées.

L'huile essentielle pure de la plante a montré une activité considérable contre les deux souches *E. coli* et *S. aureus*, avec des zones d'inhibition de 29 et 25.5 mm, respectivement. Ces bactéries de Gram négatif et positif sont alors extrêmement sensibles à l'HE de *T. algeriensis*.

La gentamicine utilisée comme contrôle positif semble avoir une action inhibitrice sur la croissance de toutes les souches testées à une dose de 10 µg/disque. Les zones d'inhibition obtenues varient de 20.5 à 35.33 mm. Les trois souches sont donc extrêmement sensibles à cet antibiotique. En outre, le DMSO utilisé comme contrôle négatif n'a montré aucun effet contre les bactéries utilisées.

Selon l'étude réalisée par **Messaoudi et al. en 2019**, l'extrait méthanolique de *T. algeriensis* a montré une activité contre *E. coli* (13 mm), *S. aureus* (19 mm) et *P.aeruginosa* (16.5 mm) à une dose de 50 µl/disque, il a donné des concentrations minimales inhibitrices de 220, 40 et 185 µg/ml, respectivement. Ces résultats sont loin de ceux obtenus dans notre étude.

Dans l'étude effectuée par **Zayyad et al., (2014)**, l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* a montré une activité antibactérienne importante vis-à-vis de *S. aureus* et *E. coli*, ce qui est en accord avec nos résultats.

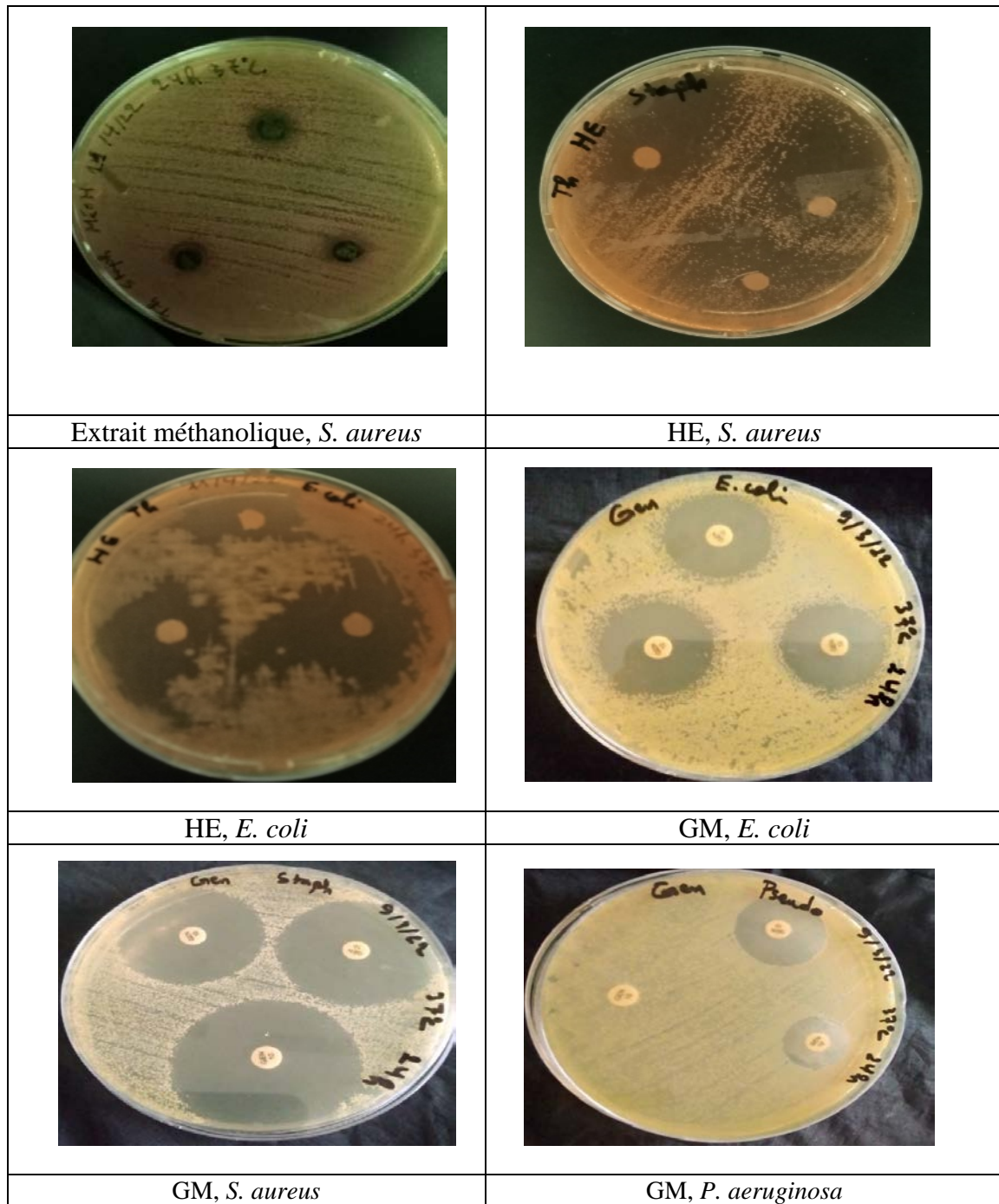


Figure 11 : Photos représentant l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique (250 mg/ml), l'huile essentielle (HE) et la gentamycine (GM) sur les souches étudiées.

Conclusion

Les plantes médicinales sont une source des produits et des substances de composés naturels bioactifs. La région de M'sila présente une végétation naturelle intéressante et diversifiée. *Thymus algeriensis* est une plante médicinale de la famille des lamiacées qui peut être une source de molécules à activités biologiques.

L'étude phytochimique des extraits préparés à partir de la partie aérienne de cette plante a montré la présence des tannins, flavonoïdes, quinones, saponines et terpénoïdes dans ces extraits. Ces derniers ont montré des teneurs intéressantes en polyphénols, surtout l'extrait méthanolique. Les quantités de flavonoïdes ont été proches dans les deux extraits.

L'évaluation de l'activité antioxydant a été déterminée par le test DPPH, où l'extrait méthanolique était le plus puissant par rapport à la décoction. L'activité antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* a été évaluée par la méthode des puits de diffusion et la méthode de disques de diffusion. D'après les résultats d'obtenues, les souches *E. coli* et *S. aureus* ont été extrêmement sensibles à l'HE de la plante. En outre, l'extrait méthanolique a montré une activité contre *S. aureus*.

D'autres études plus avancées sont nécessaires pour la caractérisation des composés chimiques actifs des extraits de la plante, ainsi que pour l'étude de ses activités biologiques *in vitro* et *in vivo*.

Références

- Achat, S. (2013, November). Polyphénols de l'alimentation: extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Avignon.
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxyde dismutase: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7), 636-643.
- Ainanshe, A., & Batool, R. (2016). Evaluation of Bioactivity and Preliminary Phytochemical Investigation of Herbal Plants Against Ampicillin Resistant Bacteria. *Journal of Basic and Applied Sciences*, 12, 109-117.
- Ali, I. B. E. H., Guetat, A., & Boussaid, M. (2012). Chemical and genetic variability of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut.(Lamiaceae), a North African endemic species. *Industrial Crops and Products*, 40, 277-284.
- Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Aarab, L., & Chaouch, A. (2010). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. BASE.antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
- Atawodi, S. E. (2005). Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4(2), 128-133.
- Baudin, B. (2006). Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *Mt cardio*, 2(1), 43-52.
- Beloued, A. Plantes médicinales d'algerie .office des publications universitaires .Edition n :4267.page 206 .
- Benkiniouar, R., Rhouati, S., Touil, A., Seguin, E., & Chosson, E. (2007). Flavonoids from *Thymus algeriensis*. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(3), 321-322.
- Boussoualim, N. (2014). *Activités biologiques de plantes médicinales: Anchusa azurea Mill. et Globularia alypum L. Soutenue* (Doctoral dissertation, Université de Sétif 1-Ferhat Abbas).

Références

- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 1-11.
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. English.
- Carović-Stanko, K., Petek, M., Grdiša, M., Pintar, J., Bedeković, D. A. L. I. B. O. R., & Satovic, Z. (2016). Medicinal plants of the family Lamiaceae as functional foods—a review. *Czech journal of food sciences*, 34(5), 377-390.
- Charles M., Benbrook Ph.D. & Janvier, (2005): Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologique.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.
- Daglia, M., (2012). Polyphénols comme agents antimicrobiens. *Opinion actuelle en biotechnologie*, 23 (2): 174-181.
- Dupont, F., & Guignard, J. L. (2015). Botanique: les familles de plantes. Elsevier Health Sciences.
- Durand, G., & Beaudeau, J. L. (2011). Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives. Lavoisier.
- ElHadj Ali, I. B., Zaouali, Y., Bejaoui, A., & Boussaid, M. (2010). Variation of the chemical composition of essential oils in Tunisian populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae) and implication for conservation. *Chemistry & biodiversity*, 7(5), 1276-1289.
- Evans, W. J. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. *The American journal of clinical nutrition*, 72(2), 647S-652S.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832..
- Fowler, M. W. (2006). Plants, medicines and man. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(12), 1797-1804.
- Fraga, C. G., & Oteiza, P. I. (2011). Dietary flavonoids: role of (–)-epicatechin and related procyanidins in cell signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(4), 813-823.

- Giweli, A. A., Džamić, A. M., Soković, M. D., Ristić, M. S., & Marin, P. D. (2013). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Thymus algeriensis* wild-growing in Libya. *Central European Journal of Biology*, 8 (5), 504–511.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, USA.
- Hazzit, M., Baaliouamer, A., Veríssimo, A. R., Faleiro, M. L., & Miguel, M. G. (2009). Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food chemistry*, 116(3), 714-721.
- Kebbi, S., Fadel, H., Chalchat, J. C., Figueredo, G., Chalard, P., Hazmoune, H., ... & Seghiri, R. (2020). Chemical Composition of Algerian Boiss. & Reut. and L.(Lamiaceae) Essential Oils from the Aures Region. *Acta Scientifica Naturalis*, 7(2), 1-14.
- Khribch, J., Nassik, S., El Houadfi, M., Zrira, S., & Oukessou, M. (2018). Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 6(3), 300-307.
- Lacolley, P., Babuty, D., Boulanger, C., Ghaleh, B., Loirand, G., Pinet, F., & Samuel, J. (2008). Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux.
- Lardry, J. M., & Haberkorn, V. (2007). L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie, la revue*, 7(61), 14-17.
- Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., & Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102(3), 771-776..
- Luís, Â., Silva, F., Sousa, S., Duarte, A. P., & Domingues, F. (2014). Antistaphylococcal and biofilm inhibitory activities of gallic, caffeic, and chlorogenic acids. *Biofouling*, 30(1), 69-79.
- Manadhar, S., Luitel, S., & Dahal, R. K. (2019). In vitro antimicrobial activity of some medicinal plants against human pathogenic bacteria. *Journal of tropical medicine*,

- Mehreen, A., Waheed, M., Liaqat, I., & Arshad, N. (2016). Phytochemical, antimicrobial, and toxicological evaluation of traditional herbs used to treat sore throat. *BioMed research international*.
- Messaoudi, M., Benreguieg, M., Merah, M., & Messaoudi, Z. A. (2019). Antibacterial effects of *Thymus algeriensis* extracts on some pathogenic bacteria. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 41, 48548.
- Morales, R. (2002). The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. *Thym: the genus Thymus*, 1, 1-43.
- Morilla, L. J. G., Sumaya, N. H. N., Rivero, H. I., & Madamba, M. R. S. B. (2014, January). Medicinal plants of the Subanens in Dumingag, Zamboanga del Sur, Philippines. In International conference on food, biological and medical sciences (Vol. 10).
- Nateqi, M., & Mirghazanfari, S. M. (2018). Determination of total phenolic content, antioxidant activity and antifungal effects of *Thymus vulgaris*, *Trachyspermum ammi* and *Trigonella foenum-graecum* extracts on growth of *Fusarium solani*. *Cellular and Molecular Biology*, 64(14), 39-46.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*.
- Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.
- Quezel, P., & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (No. _800).
- Reynaert, N. L., Aesif, S. W., McGovern, T., Brown, A., Wouters, E. F., Irvin, C. G., & Janssen-Heininger, Y. M. (2007). Catalase overexpression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse. *The Journal of Immunology*, 178(6), 3814-3821.
- Saidji, F. (2006). Extraction de l'huile essentielle de thym: *thymus nimidicus* kabylia (Doctoral dissertation).
- Salhi, A., Bouyanzer, A., El Mounsi, I., Bendaha, H., Hamdani, I., El Ouariachi, E., ... & Costa, J. (2016). Chemical composition, antioxidant and anticorrosive activities of *Thymus algeriensis*. *J Mater Environ Sci*, 7(11), 3949-3960.

Références

- Selka, M. A., Chenafa, A., Achouri, M. Y., Aoued, L., Tareb, S., Nourredine, M. A., & Toumi, H. (2016). Activité antimicrobienne et antioxydante des feuilles de *Vitis vinifera* L. *Phytothérapie*, 14(6), 363-369.
- Stahl-Biskup, E. (2002). Essential oil chemistry of the genus *Thymus*—a global view. *Thyme: the genus Thymus*, 17, 75-124.
- Sunil H. G., Shweta P. D. & Patil S. U., (2012): Preliminary Phytochemicals Investigation and TLC Analysis of *Ficus racemosa* Leaves. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*.
- Thanabhorn,S.,Jaijoy,K.,Thamaree,S.,Ingkaninan,K.,Panthong,A.2006.Acuteandsubacute toxicity study of theethanol extract from *Lonicerajaponica* Thunb. *Journal of Ethno pharmacology*.107,370-373.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale pharmaceutica sciencia*, 1(1), 98-106.
- Urquiaga, F. (2000). Plant polyphénols antioxydants and oxidative stress. *Biological research*, 33(2), 55-64.
- Yaici, K., Dahamna, S., Moualek, I., Belhadj, H., & Houali, K. (2019). Évaluation de la teneur des composés phénoliques, des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de l'espèce *Erica arborea* L.(Ericaceae) dans la médecine traditionnelle du Tell sétifi en dans l'Est Algérien. *Phytothérapie*..
- Yala D., MeradA.S., Mohamed D et OuarKorichM.N., (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb* n°91.
- Zayyad, N., Farah, A., & Bahhou, J. (2014). Analyse chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des trois espèces de *Thymus*: *Thymus zygis*, *T. algeriensis* et *T. bleicherianus*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 83(118), 132.
- Ziani, B. E., Heleno, S. A., Bachari, K., Dias, M. I., Alves, M. J., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2019). Phenolic compounds characterization by LC-DAD-ESI/MSn and bioactive properties of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. and *Ephedra alata*Decne. *Food Research International*, 116, 312-319.
- Zimmer, N., & Cordesse, R. (1996). Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *Productions animales*, 9(3), 167-179.

Références

Zouari, N., Fakhfakhc, N., Zouarid, S., Bougatefc, A., Karraya, A., Neffatid, M., & Ayadi, M. (2011). Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut (Lamiaceae). *Food and Bioproducts Processing*, 89, 257-265.