



## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

N° D'ORDRE : /FM/DP/2018

Présentée et soutenue publiquement le : 10 Juillet 2018

En vue de l'obtention du diplôme de Docteur en pharmacie

**Contribution à l'étude de la composition chimique  
et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de  
l'huile essentielle de *Thymus sp***

Réalisé par : HESSAS Thafsouth & SIMOUD Sounia

Encadré par : Dr SELLAH Nesrine

### Composition du jury :

DAHMOUNE Amina

MAHU Faculté de Médecine UMMTO

Présidente du jury

SELLAH Nesrine

MAHU Faculté de Médecine UMMTO

Promotrice

LOUADJ Larbi

Responsable du module de pharmacognosie

Examineur

MERABET Imane

AHU Faculté de Médecine UMMTO

Examinatrice



## Remerciements

*Nous remercions tout d'abord Dieu le tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné courage, force et volonté pour réaliser ce travail.*

*Il est difficile d'énumérer toutes les personnes de près ou de loin, qui n'ont cessé de témoigner leur soutien moral ou matériel à notre égard. Nous les remercions donc infiniment.*

*Tout d'abord, nous exprimons notre profonde reconnaissance et toute notre gratitude à notre promotrice Dr Sellah, Maître Assistante en Pharmacognosie pour l'aide et le suivi qu'elle nous a fournis tout au long de la réalisation de ce mémoire. Ses conseils et ses encouragements nous ont permis de mener à bien ce mémoire.*

*Nos sincères remerciements aux Dr Dahmoun, Dr Louadj, Pr Mamou, Pr Azzam, Dr Ameziane, Dr Aboukhoulaf, Dr Boubrit pour avoir mis à notre disposition le nécessaire pour la réalisation de ce travail.*

*Nous remercions chaleureusement tous les résidents qui nous ont aidés de près ou de loin dans l'accomplissement de ce travail : Dr Boursouti Mourad, Dr Akli Karima, Dr Abdoun.*

*Nos vifs remerciements au personnel des laboratoires: de pharmacognosie, d'hydro bromatologie et d'analytique. Ainsi qu'au personnel du laboratoire de Microbiologie de CHU de Tizi Ouzou : Nedir Mohammed.*



## *Dédicaces*

*A ma chère mère, que dieux te protège et te garde.*

*A la mémoire de mon père, puisse Dieux l'accueillir dans son vaste paradis.*

*A mon cher époux Sofiane*

*A ma sœur Lila et ses fils : Alys, Ancen*

*A ma sœur Linda et ses enfants : Abd islam, Amal et Thilelli.*

*A mon frère Amar*

*A mes beaux-frères : Djurgurtha, Ali et ma belle-sœur Samira.*

*A la mémoire de mon oncle Arab, puisse Dieux l'accueillir dans son paradis.*

*A ma famille Simoud et belle famille Saheb.*

*A ma meilleure amie Sarah.*

*A ma collègue et amie Thafouth.*

*Sonia*





## *Dédicaces*

*A mes parents, qui n'ont jamais cessé de me soutenir et de m'encourager par leurs prières et leurs sacrifices. Que dieu vous accorde une longue vie.*

*A mes deux frères : Rahim et Yahia et ma petite sœur : Imane, dont la présence m'a toujours donné la force d'aller de l'avant.*

*A toutes ma grande famille*

*A tous mes amis (es)*

*A mon amie et collègue Sonia*

*A tous mes enseignants, depuis mes premières années d'études*

*A tous ceux qui me sont chères et que j'ai omis de citer*

*Thafsouth*



<b>LISTE DES ABREVIATIONS.....</b>	<b>iv</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>vi</b>
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<b>vii</b>
<b>LISTE DES ANNEXES.....</b>	<b>x</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>OBJECTIFS.....</b>	<b>2</b>
<b>PARTIE THEORIQUE</b>	
<b>CHAPITRE I : LA PHYTOTHERAPIE</b>	
<b>1. Définition.....</b>	<b>3</b>
<b>2. Historique.....</b>	<b>3</b>
<b>3. Quelques types de phytothérapie.....</b>	<b>5</b>
<b>4. Définitions de quelques préparations à partir de plantes.....</b>	<b>6</b>
<b>CHAPITRE II : LES HUILLE ESSENTIELLES</b>	
<b>1. Définition.....</b>	<b>8</b>
<b>2. Localisation et rôle physiologique des huiles essentielles pour la plante .....</b>	<b>9</b>
<b>3. Répartition des huiles essentielles dans le règne végétale.....</b>	<b>10</b>
<b>4. Composition chimique des huiles essentielles .....</b>	<b>10</b>
<b>5. Biosynthèse des huiles essentielles.....</b>	<b>11</b>
<b>6. Facteurs influençant la composition chimique.....</b>	<b>14</b>
<b>7. Les méthodes d'extraction des HE.....</b>	<b>16</b>
7. 1. Méthodes conventionnelle d'extraction .....	16
7.2. Méthodes innovantes d'extraction .....	20
<b>8. Caractérisation des huiles essentielles :.....</b>	<b>21</b>
8.1.Caractérisation organoleptique .....	21
8.2.Caractérisation physique.....	22
8.3.Caractérisation chimique.....	23
8.4.Caractérisation chromatographique.....	23

<b>9. Conservation et étiquetage des HE</b> .....	<b>24</b>
<b>10. Intérêts des HE :</b> .....	<b>25</b>
10.1. Intérêts des HE en thérapeutique.....	25
10.2. Intérêts des HE en parfumerie .....	26
10.3. Intérêts des HE en cosmétologie .....	26
10.4. Intérêts des HE en agroalimentaire.....	27
<b>11. Mode d'utilisation des HE</b> .....	<b>27</b>
<b>12. Toxicologie des HE :</b> .....	<b>28</b>
12.1. Toxicocinétique des HE.....	28
12.2. Toxicité liée à la durée d'exposition.....	30
12.3. Toxicité liée aux organes.....	31
<b>13. Précautions d'emploi</b> .....	<b>32</b>
<b>14. Réglementation des HE</b> .....	<b>33</b>

## CHAPITRE III : ACTIVITE ANTIMICROBIENNE

<b>1. Introduction</b> .....	<b>36</b>
<b>2. Bactéries</b> .....	<b>36</b>
2.1. Définition.....	36
2.2. Activité antibactérienne des huiles essentielles.....	37
2.3. Les facteurs influençant l'activité antimicrobienne des HE.....	37
2.3.1. Activité liée à la composition chimique.....	37
2.3.2. Activité liée au microorganisme .....	38
<b>3. Champignons</b>	
3.1 Définition.....	39
3.2 Activité antifongique des huiles essentielles .....	39
<b>4. activité antivirale</b> .....	<b>40</b>
<b>5. activité antiparasitaire</b> .....	<b>40</b>
<b>6. activité antiseptique</b> .....	<b>40</b>

## PARTIE EXPÉRIMENTALE

### I. LA MONOGRAPHIE DE LA PLANTE: *Thymus sp*

<b>1. Nom scientifique</b> .....	<b>41</b>
<b>2. Nom vernaculaire</b> .....	<b>41</b>
<b>3. Systématique</b> .....	<b>41</b>

# Table des matières

---

4. Description botanique.....	41
5. Culture.....	41
6. Distribution géographique .....	42
7. Composition chimique .....	42
8. Usages et propriétés thérapeutiques .....	43
9. Toxicité.....	44
<b>II. MATÉRIELS ET METHODES</b>	
<b>II-1. Matériels.....</b>	<b>46</b>
<b>II-2. Méthodes.....</b>	<b>47</b>
<b>1. Étude anatomique de la plante de <i>Thymus</i> sp.....</b>	<b>47</b>
1.1.Préparation des organes.....	48
1.2. Réalisation des coupes.....	48
1.3.Technique de la double coloration .....	48
1.4.Observation microscopique.....	50
<b>2. Extraction de l'huile essentielle de <i>Thymus</i> sp .....</b>	<b>50</b>
<b>3. Caractérisation de l'huile essentielle.....</b>	<b>52</b>
3.1.Caractérisation organoleptique.....	52
3.2.Caractérisation physicochimique.....	52
3.3.Caractérisation chromatographique.....	59
<b>4. Préparations à partir de plante.....</b>	<b>62</b>
<b>5. Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE de <i>Thymus</i> sp.....</b>	<b>63</b>
5.1. Évaluation qualitative : Aromatogramme.....	63
5.2.Évaluation quantitative : CMI.....	70
<b>III. RÉSULTATS.....</b>	<b>73</b>
<b>IV. DISCUSSION.....</b>	<b>96</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>105</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	
<b>ANNEXES</b>	
<b>RÉSUMÉ</b>	

## Liste des abréviations

---

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub>** : pouvoir rotatoire

**°C** : degré Celsius

**$\mu$ l** : microlitre

**AFNOR** : Agence Française de Normalisation

**AFSSAPS** : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé.

**AMV**: Acide Mévalonique

**CHU** : Centre Hospitalo-universitaire.

**CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuse

**CCM** : Chromatographie sur Couche Mince

**cl** : centilitre

**d** : densité relative

**DL50** : Dose Létale 50

**D** : diamètre des halos

**dm** : décimètre

**g** : gramme

**G** : grossissement

**h** : heure

**HE** : huile essentielle

**HECT** : huile essentielle chémotypée

**HSV** : herpès simplex virus

**I<sub>A</sub>** : Indice d'Acide

**I<sub>E</sub>** : Indice d'Ester

**I<sub>s</sub>** : Indice de Saponification

**Kg** : Kilogramme

**l** : litre

**LPS** : Lipopolysaccharide

**m**: masse

**ml** : millilitre

**mg** : milligramme

**min** : minute

**mm** : millimètre

## Liste des abréviations

---

**MH** : Muller Hinton

**Max** : maximum

**N** : Normale

**NF** : Normes Françaises

**nT'** : indice de réfraction

**NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

**ORL** : Oto-Rhino-Laryngologie

**PPI-2** : pyrophosphate d'isopentén-2-yle

**PPI-3** : pyrophosphate d'isopentén-3-yle

**PPG** : pyrophosphate de géranyl

**PPF** : pyrophosphate de farnésyl

**Rat** : Rendement

**SM** : spectrométrie de masse

**T** : temps

**V** : volume

**UMMTO** : Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau I :</b> liste de réactifs et solvants employés dans la partie expérimentale.....	46
<b>Tableau II:</b> résumé du résultat de la CCM.....	83
<b>Tableau III :</b> teneur des différents composés de l'HE de <i>Thymus</i> sp.....	85
<b>Tableau IV:</b> résultats de l'aromatogramme de l'huile essentielle pure de <i>Thymus</i> sp.....	88
<b>Tableau V:</b> résultats de l'aromatogramme pour les différentes dilutions de l'huile essentielle de <i>Thymus</i> sp.....	89
<b>Tableau VI:</b> résultats de l'aromatogramme pour les différentes préparations à partir de la poudre de thym.....	92
<b>Tableau VII:</b> résultats des CMI pour les souches bactériennes testées.....	93
<b>Tableau VIII:</b> résultat des CMI pour <i>Candida</i> sp.....	94
<b>Tableau IX:</b> comparaison des caractères organoleptiques de notre huile essentielle avec 02 études rapportées par la littérature.....	97
<b>Tableau X:</b> comparaison de la densité de notre huile essentielle avec 02 études rapportées par la littérature.....	98
<b>Tableau XI:</b> comparaison de l'indice de réfraction, du pouvoir rotatoire et de la miscibilité à l'éthanol de notre HE avec 02 études rapportées par la littérature.....	98
<b>Tableau XII:</b> comparaison de l'indice d'acide, de l'indice de saponification et de l'indice d'ester de notre HE avec 02 études rapportées par la littérature.....	99
<b>Tableau XIII:</b> les principaux constituants de l'huile essentielle de <i>Thymus</i> sp à carvacrol rapportés par la littérature (exprimés en %)......	99
<b>Tableau XIV:</b> estimation de l'activité antimicrobienne de notre HE sur les germes testés....	101
<b>Tableau XV:</b> comparaison entre les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE étudiée avec d'autres études.....	102
<b>Tableau XVI:</b> comparaison des diamètres d'inhibitions des 03 préparations à l'HE pure....	103
<b>Tableau XVII:</b> comparaison des CMI de quelques études d'HE de thym a carvacrol avec celles de l'HE étudiée.....	104

## Liste des figures

---

<b>Figure 1:</b> Exemple de synthèse des dérivés du phénylpropane.....	14
<b>Figure 2:</b> l'hydrodistillation simple .....	17
<b>Figure 3:</b> distillation à vapeur saturée.....	18
<b>Figure 4:</b> l'hydrodiffusion.....	18
<b>Figure 5:</b> Photos à gauche d'une pelatrice et à droite d'une centrifugeuse séparatrice de l'essence de citrus.....	19
<b>Figure 6:</b> dispositif d'extraction assistée par micro-ondes.....	21
<b>Figure 7:</b> Principaux sites d'action des huiles essentielles.....	37
<b>Figure 8 :</b> distribution géographique du thym dans le monde.....	42
<b>Figure 9 :</b> réalisation des coupes de <i>Thymus</i> sp.....	48
<b>Figure 10:</b> <b>A-</b> coupes placées dans l'eau de Javel ; <b>B-</b> rinçage à l'eau.....	49
<b>Figure 11:</b> <b>A-</b> coupes minces dans l'acide acétique ; <b>B-</b> dans le vert d'iode ; <b>C-</b> dans le rouge congo.....	49
<b>Figure 12 :</b> <b>A-</b> couche mince de poudre sur une lame ; <b>B-</b> ajout du réactif de Gazet ; <b>C-</b> lame prête à être observé .....	50
<b>Figure 13 :</b> le Clevenger (hydrodistillateur standardisé).....	51
<b>Figure 14:</b> étapes préalables à l'extraction.....	52
<b>Figure 15:</b> pesé de la fiole : <b>A-</b> vide ; <b>B-</b> contenant de l'eau purifiée ; <b>C-</b> contenant l'HE.....	53
<b>Figure 16:</b> le réfractomètre d'Abbe.....	54
<b>Figure 17:</b> le polarimètre.....	55
<b>Figure 18 :</b> le mélange réactionnel: HE + éthanol.....	56
<b>Figure 19:</b> pesée de l'huile essentielle.....	58
<b>Figure 20:</b> reflux du mélange.....	58
<b>Figure 21:</b> titrage de l'excès de KOH par du HCL .....	58
<b>Figure 22 :</b> plaque CCM.....	59
<b>Figure 23:</b> phase d'élution.....	60
<b>Figure 24 :</b> réactifs utilisés pour la préparation de la vanilline sulfurique.....	61
<b>Figure 25 :</b> les préparations obtenues à partir de la poudre de thym.....	63
<b>Figure 26 :</b> principe de la diffusion sur disque.....	64

## Liste des figures

---

<b>Figure 27:</b> les disques d'aromatogramme.....	65
<b>Figure 28:</b> les différentes dilutions de l'HE.....	66
<b>Figure 29 :</b> préparation des différentes dilutions.....	66
<b>Figure 30:</b> les suspensions microbiennes comparées à l'étalon.....	67
<b>Figure 31:</b> ensemencement des souches microbiennes.....	68
<b>Figure 32 :</b> dépôt des disques d'aromatogramme .....	68
<b>Figure 33 :</b> dépôt de l'huile essentielle pure.....	68
<b>Figure 34:</b> dépôt des différentes dilutions de l'HE.....	69
<b>Figure 35 :</b> les étapes de préparation des dilutions.....	71
<b>Figure 36:</b> observation d'une coupe transversale de la feuille de <i>Thymus</i> sp au microscope optique (G10×10).....	73
<b>Figure 37:</b> observation d'une partie du limbe de la feuille de <i>Thymus</i> sp au microscope optique (G40×10).....	74
<b>Figure 38 :</b> observation des poils tecteurs et sécréteurs au niveau de la feuille de <i>Thymus</i> sp au microscope optique (G40×10).....	75
<b>Figure 39:</b> observation de la nervure centrale de la feuille de <i>Thymus</i> sp au microscope optique (G40×10).....	76
<b>Figure 40 :</b> observation d'une coupe transversale de la tige de <i>Thymus</i> sp au microscope optique (G10×40).....	77
<b>Figure 41 :</b> observation d'une partie de la coupe transversale de la tige de <i>Thymus</i> sp au microscope optique (G10×10).....	77
<b>Figure 42 :</b> les éléments retrouvés après observation de la poudre de <i>Thymus</i> sp au microscope optique (G40×10).....	79
<b>Figure 43 :</b> HE de <i>Thymus</i> sp.....	80
<b>Figure 44:</b> lecture du résultat au réfractomètre.....	80
<b>Figure 45 :</b> huile essentielle miscible à l'éthanol (96°).....	81
<b>Figure 46 :</b> huile essentielle non miscible à l'éthanol (33°).....	82
<b>Figure 47:</b> neutralisation / atteinte du pH 8.3.....	82
<b>Figure 48:</b> aperçu de la plaque de CCM obtenu avec l'huile essentielle de <i>Thymus</i> sp après révélation aux UV.....	84
<b>Figure 49:</b> aperçu de la plaque CCM obtenu avec l'huile essentielle de <i>Thymus</i> sp après révélation chimique.....	84
<b>Figure 50 :</b> profil chromatographique (GC/MS) de l'HE de <i>Thymus</i> sp.....	86
<b>Figure 51:</b> diagramme à secteurs représentant la composition chimique de l'HE de <i>Thymus</i> sp	

## Liste des figures

---

.....	86
<b>Figure 52 :</b> activité antimicrobienne de l'huile essentielle pure de <i>Thymus</i> sp sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (a), <i>Staphylococcus aureus</i> (b), <i>Escherichia coli</i> (c), <i>Candida</i> sp (d).....	86
<b>Figure 53:</b> activité antimicrobienne des différentes dilutions de l'huile essentielle de <i>Thymus</i> sp sur <i>Staphylococcus aureus</i> (a <sub>1</sub> , a <sub>2</sub> ), <i>Escherichia coli</i> (b <sub>1</sub> , b <sub>2</sub> ) et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (c <sub>1</sub> , c <sub>2</sub> ).....	89
<b>Figure 54:</b> activité antimicrobienne de l'infusion de thym sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (a), <i>Staphylococcus aureus</i> (b), <i>Escherichia coli</i> (c), <i>Candida</i> sp (d).....	90
<b>Figure 55:</b> activité antimicrobienne de la décoction de thym sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (a), <i>Staphylococcus aureus</i> (b), <i>Escherichia coli</i> (c), <i>Candida</i> sp (d).....	91
<b>Figure 56:</b> activité antimicrobienne de la macération du thym sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (a), <i>Staphylococcus aureus</i> (b), <i>Escherichia coli</i> (c), <i>Candida</i> sp (d).....	92

## Liste des annexes

---

**Annexe I :** plantes thérapeutiques par familles [4].

**Annexe II :** structure chimique de quelques constituants des HEs [77].

**Annexe III :** les différentes voies de synthèse des HEs [23].

**Annexe IV :** les principales huiles essentielles antibactériennes [20].

**Annexe V :** les principales huiles essentielles antifongiques [20].

**Annexe VI :** les principales huiles essentielles antivirales [20].

**Annexe VII :** les principales espèces de Thym endémiques en Algérie [3].

**Annexe VIII :** composition chimique du réactif Gazet.

# **INTRODUCTION**

# Introduction générale

---

La thérapeutique des infections microbiennes humaines se base principalement sur l'usage des antibiotiques et antifongiques. Cependant, la prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a abouti à l'émergence et la propagation de bactéries multirésistantes.

Produit comme métabolite secondaire par les Plantes Aromatiques Médicinales (PAM), les huiles essentielles semblent être une alternative fiable face à la résistance aux antibiotiques qui constitue un problème majeur de la santé publique.

Connues de façon empirique depuis des siècles, l'étude de ces huiles essentielles est toujours d'une brûlante actualité et leur efficacité anti-infectieuse a été scientifiquement démontrée.

Dans notre travail, on s'intéressera à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite à partir de la poudre de *Thymus* sp et la comparer à celle de certaines préparations : macération, décoction et infusion. Le choix de cette plante est basé sur sa disponibilité tout au long de l'année et l'importance de son rendement ainsi qu'à l'intérêt thérapeutique que promet son huile essentielle.

Notre étude sera scindée en deux parties :

Une partie théorique comprenant trois chapitres, où le premier donnera un bref aperçu sur la phytothérapie et l'aromathérapie, le second sera consacré à l'étude des huiles essentielles d'une manière générale, tandis que le troisième concernera l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.

Une partie expérimentale, quant à elle, comprendra une monographie de la plante étudiée, les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail à savoir l'étude botanique de la plante, l'extraction et la caractérisation organoleptique et physicochimique de l'huile essentielle, l'évaluation de l'activité antimicrobienne de celle-ci et des différentes préparations à partir de la plante, ainsi qu'une présentation des différents résultats obtenus et leur discussion par rapport aux références issues d'une recherche bibliographique.

Elle finira par une conclusion générale résumant les résultats obtenus et dégageant les principales perspectives.

---

# Objectifs

---

## Objectif principale

L'objectif principal de ce travail est de contribuer à l'amélioration de la prise en charge des résistances bactériennes, par l'étude d'une alternative naturelle disponible en Algérie aux agents antimicrobiens de synthèse, représenté par l'huile essentielle de thym (*Thymus* sp).

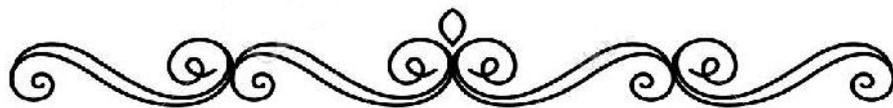
## Objectifs secondaires

- ◆ La réalisation d'une monographie de la plante *Thymus* sp ;
- ◆ L'extraction de l'huile essentielle ;
- ◆ L'étude de ses caractéristiques organoleptiques et physicochimiques ;
- ◆ L'étude de sa composition chimique ;
- ◆ Et enfin, l'évaluation de son pouvoir antimicrobien vis-à-vis de souches bactériennes et fongiques en le comparant à celui de quelques préparations traditionnelles faites à partir de la même plante.

# **PARTIE THÉORIQUE**



**I**  
**LA**  
**PHYTOTHÉRAPIE**



## 1. Définition de la phytothérapie

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 ». La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir ou à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe [1].

## 2. Historique

### Phytothérapie : petit point d'histoire

L'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux. L'observation liée à l'expérience et la transmission des informations glanées au cours des temps font que certains hommes deviennent capables de poser un diagnostic, de retrouver la plante qui soigne et finalement de guérir le malade [2].

Les traces de l'utilisation des plantes médicinales existent dans des textes chinois datant de plus de 5000 ans avant J.C. Le *papyrus égyptien d'Ebers*, que l'on fait remonter à 1600 avant J.C, est le premier recueil consacré aux plantes médicinales [3, 4].

En Inde, les *Veda*, livres sacrés rédigés vers 1500 ans avant J.C, contiennent eux aussi des témoignages de la connaissance des plantes [3,4].

Plus tard, la Grèce antique s'est distinguée avec les premiers thérapeutes du monde occidental [4]. *Hippocrate* (460-356 avant J.C), auquel on attribue la rédaction de l'ensemble des documents du *Corpus Hippocraticum* et *Theophraste*, auteur d'ouvrages considérables tels que « *Historia Plantarum* » dans lesquels il réalise la première tentative de classification de plantes [5].

Au 1<sup>er</sup> siècle après J.C, *Discoride*, un herboriste grec, écrivit un recueil de plus de 500 plantes médicinales, sous le nom de « *Materia medica* » qui a eu une influence considérable sur la médecine occidentale. Il resta la référence principale en Europe jusqu'au XVII<sup>e</sup> siècle et a été traduit dans plusieurs langues [3,4].

Excellent pharmaciens, les Arabes mélangeaient les plantes pour en accroître les effets [3]. ABU BAKR AL-RAZI ou RHAZES (865-925), qui fut l'un des grands médecins de son temps. Il fut suivi par IBN-SINA ou AVICENNE (980-1037) qui écrivit une œuvre qui s'intitule *Canon de la médecine*. Mais le plus grand d'entre eux fut sans aucun doute IBN AL-BAYTAR (1197-1248) qui rédigea le très complet *Somme des Simples* (livre qui contenait une liste de 1400 préparations et plantes médicinales) [6].

### **Naissance des huiles essentielles et avènement de l'aromathérapie moderne**

C'est en Perse, mille ans avant notre ère, que les essences ont été extraites pour la première fois avec l'invention de la distillation.

Les Grecs et les Romains ont été de grands utilisateurs de parfums, notamment sous forme de bains et de massages aromatiques. De nombreux auteurs se sont penchés sur les vertus thérapeutiques de ces substances.

Cependant, les vrais fondateurs de l'aromathérapie sont les arabes qui, avec l'invention de l'alambic ont affiné la technique de distillation.

Avicenne (980-1037), produit la première huile essentielle pure, l'huile essentielle de *Rosa centifolia*, et en décrit plusieurs autres dans le *Canon de la médecine*.

A la fin du XVI<sup>e</sup> siècle, les propriétés thérapeutiques d'une centaine d'huiles essentielles sont connues. De nombreuses préparations contiennent des plantes aromatiques comme notamment les «eaux florales», dont certaines existent encore de nos jours [7].

Le terme « aromathérapie » fut employé pour la première fois par le chimiste et parfumeur français René Maurice Gattefossé (1881-1950) au début du XX<sup>e</sup> Siècle.

Néanmoins, celui que l'on considère comme étant le « père de la phyto-aromathérapie moderne » n'est autre que Jean Valnet, médecin français. Il étudia notamment les propriétés des huiles essentielles, définissant ainsi les indications et les posologies à respecter pour une bonne utilisation de l'aromathérapie [8].

Par la suite, l'intérêt pour l'aromathérapie n'a pas décliné, du fait de l'engouement actuel pour les médecines naturelles et des échecs de l'allopathie à l'encontre de certaines pathologies virales ou des résistances bactériennes [7].

### 3. Quelques types de phytothérapie

#### La gemmothérapie

Communément appelé « médecine des bourgeons ». Du terme latin *gemme*, qui signifie à la fois bourgeon et pierre précieuse. La gemmothérapie utilise exclusivement les tissus embryonnaires frais des plantes, arbres et arbustes, c'est-à-dire les bourgeons, les jeunes pousses et les radicules.

Ces embryons, macérés dans un mélange d'eau, d'alcool et de glycérine, servent à fabriquer des solutions dans lesquelles se concentrent les principes actifs des végétaux. On les nomme macérât.

Leurs vertus thérapeutiques alléguées varient, évidemment, selon la plante dont ils proviennent : le cassis pour l'énergie, le sapin contre la toux, l'aubépine pour le cœur...

Selon la théorie, les bourgeons posséderaient certaines propriétés thérapeutiques supérieures à celles des diverses parties de la plante mature.

Le bourgeon, étant un embryon, porterait en lui le potentiel de développement de la plante, un peu comme s'il était à la fois les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits. Il contient également de fortes concentrations d'éléments actifs comme des hormones, des oligo-éléments, de vitamines, des minéraux, e c t [9].

#### L'homéopathie

Le terme « homéopathie » provient du grec *homoios* qui signifie « semblable » et de *pathos*, qui veut dire « maladie ». Elle a été mise au point par le médecin allemand Samuel Hahnemann il y a environ deux cents ans [10].

Le principe de base de l'homéopathie est la règle de similitude « les semblables sont guéris par les semblables » [10]. C'est-à-dire soigner en donnant au patient une quantité infime de substances diluées (d'origine végétale, animale ou minérale) afin de provoquer des symptômes semblables à ceux de la maladie qu'on désire combattre [11].

L'action de l'homéopathie a souvent été considérée comme une stimulation des défenses immunitaires qui conduit à des processus de guérison naturelle [10].

**L'aromathérapie**

L'aromathérapie est l'art et la science d'utiliser des huiles essentielles qui mettent les arômes et les bienfaits des plantes au service de la santé et de la beauté.

Le mot « Aromathérapie » issu du latin « *aroma* : odeur » et du grec « *therapein* : soin » fut inventé en 1928 par le chimiste français René-Maurice Gattefossé [12].

Une définition plus complète est : « l'aromathérapie scientifique médicale est définie comme étant l'utilisation d'Huiles Essentielles chémotypées, c'est à dire de composition biochimique bien connue, par voie cutanée, orale, vaginale, rectale, nasale, auriculaire et olfactive afin d'assurer un complément de soin ou un soin préventif ou curatif d'un large panel d'affections chez l'homme, l'animal et la plante, tant au niveau de la destruction des foyers infectieux pathogènes que de la gestion des troubles symptomatiques, organiques ou fonctionnels de ladite affection » [13].

**4. Définitions de quelques préparations à base de plantes****La tisane**

Les tisanes sont des préparations aqueuses de plantes médicinales entières ou de parties de celles-ci, convenablement divisées pour être plus facilement pénétrées par l'eau. Elles sont administrées à des fins thérapeutiques. Elles peuvent encore servir de boissons aux malades ou de véhicules pour l'administration de divers médicaments.

Les tisanes sont obtenues par macération, infusion ou décoction, dans des récipients couverts, en utilisant de l'eau potable [14].

**1. L'infusion**

Elle consiste à verser de l'eau bouillante sur la plante hachée. Il est préférable de remuer légèrement avec une cuillère afin que la diffusion des principes actifs soit complète. Laisser infuser le temps nécessaire (quelques minutes à 1h selon la plante) ensuite filtrer [15].

Posologie : 3 à 4 doses (500 ml) par jour.

Conservation : 24h dans un bocal fermé et placé au réfrigérateur ou dans endroit fermé [3].

**2. La décoction**

Il s'agit de mettre la plante dans une casserole, la recouvrir d'eau froide et porter à ébullition [15].

Posologie : 3 à 4 doses (500ml) par jour [3].

Conservation : 48h maximums au frais ou au réfrigérateur [15].

### **3. La macération**

La plante est trempée dans un liquide : eau, alcool, huile, vinaigre... pendant une période d'au moins 15 jours. Elle se garde plus longtemps [15].

Posologie : 3 tasses (15 cl) à 3 bols (25cl) par jour selon les cas [16].

Conservation : 3 jours ou plus (21 jour max) [16].

### **La teinture**

Pour l'obtenir, il suffit de laisser macérer la plante dans l'alcool : les principes actifs se dissolvent ainsi facilement. Elle est plus efficace que la décoction et l'infusion. D'un emploi simple, elle se conserve pendant 2 ans [3].

Posologie : 2,5ml de teinture dilué dans 25 ml d'eau ou de jus de fruits, 2 ou 3 fois par jour [3].

Conservation : pendant 2 ans dans des bouteilles en verre teinté, stérilisées et placées dans un endroit frais et sombre [3].

### **Le cataplasme**

Obtenu en chauffant la plante pendant 2 min. La presser pour en extraire le liquide, ensuite appliquer la plante encore chaude sur la partie atteinte. Il est appliqué sur la peau pour soulager les douleurs musculaires et les névralgies [3].

### **Le sirop**

Obtenu en faisant chauffer à feu doux la décoction ou l'infusion dans une casserole. Ensuite ajouter le sucre ou le miel, tout en remuant jusqu'à ce que la préparation prenne une consistance sirupeuse. Laisser refroidir, puis verser le dans des flacons en verre stérilisé.

Posologie : 1 à 2 c. à c 3fois par jour.

Conservation : 6 mois maximum au frais [3].



## **II**

# **LES HUILES ESSENTIELLES**



### 1. Définition des huiles essentielles

Selon la Commission de la Pharmacopée Européenne (01-2008 : 2098) : une huile essentielle est un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit 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 » [17].

Selon AFNOR NF T 75-006 (février 1998) : huile essentielle: « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention; elle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition [par exemple, redistillation, aération, ...] » [18].

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ses composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante et au fait qu'elles soient inflammables [18].

Les différents procédés d'extraction des huiles essentielles permettent de définir plusieurs termes qui sont utilisés dans la pratique courante :

- 1) Concrète: extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir d'une matière première fraîche d'origine végétale, par extraction au moyen d'un solvant non aqueux suivie d'une élimination de ce solvant par un procédé physique.
- 2) Résinoïdes : extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir de matière première sèche d'origine végétale, par extraction à l'aide d'un solvant non aqueux, suivie de l'élimination de ce solvant par un procédé physique.
- 3) Pommade florale : corps gras parfumé obtenu à partir de fleurs soit par « enfleurage à froid » soit par « enfleurage à chaud ».
- 4) Absolue: produit ayant une odeur caractéristique, obtenu à partir d'une concrète, d'une pommade florale ou d'un résinoïde par l'extraction à l'éthanol à température ambiante. La solution éthanolique obtenue est généralement refroidie et filtrée dans le but de supprimer les cires ; l'éthanol est ensuite éliminé par distillation.

- 5) Eau florale : obtenue lors de la distillation des plantes par condensation de la vapeur d'eau chargée d'huile essentielle, et séparation des deux phases obtenues en HE et eau florale moins concentrée en composés odorants.
- 6) Hydrolat : résulte de la macération d'une plante dans l'eau. [18]

### 2. Localisation et rôle physiologique pour la plante

- Localisation

Les huiles essentielles sont produites dans le protoplasme cellulaire des plantes aromatiques et représentent les produits du métabolisme secondaire [19]. La synthèse et l'accumulation de ces métabolites dans les organes sont associées à la présence de structures histologiques spécialisées : cellules sécrétrices. Les cellules sécrétrices sont rarement isolées, mais le plus souvent regroupées dans des poches (Myrtaceae, Rutaceae) dans des canaux sécréteurs (Apiaceae, Composeae) ou dans des poils sécréteurs (Lamiacées). Ces cellules sont le plus souvent à la périphérie des organes extérieurs de la plante [20].

La partie de la plante utilisée pour obtenir l'huile essentielle doit être précisée, soit pour des questions de rendement (par exemple : la fleur de lavande contient beaucoup plus d'huile essentielle que la tige), soit parce que la composition chimique de la partie considérée conduira à une application spécifique très intéressante (c'est le cas d'oranger amer (*Citrus aurantium*, Rutaceae): l'épicarpe frais du fruit fournit l'essence de Curaçao utilisée pour confectionner des cocktails, les fleurs fournissent l'huile de Néroli (eau de fleur d'oranger amer), les feuilles et les petits rameaux fournissent l'essence de petit grain de bigaradier).

Sur le plan quantitatif, les teneurs en huiles essentielles des plantes pouvant les contenir sont très faible, souvent inférieur à 1%. Des teneurs fortes comme celle du bouton florale du giroflier (15 %) sont rares et exceptionnelles [19, 20].

- Rôle physiologique

Le rôle biologique des HE dans la plante n'est pas bien défini, il est vraisemblable qu'elles aient un rôle écologique [19].

Elles permettent entre autre à la plante de se défendre contre les agressions extérieures. Elles ont des propriétés attractives ou répulsives vis-à-vis des prédateurs (herbivores, insectes..).

Par leurs odeurs, ils interviennent dans la pollinisation. Ainsi, par leur pouvoir antiseptique protègent les cultures en inhibant la multiplication des bactéries et parasites du sol [19,20].

### 3. Répartition dans le règne végétal

Dans le règne végétal, les huiles essentielles sont fréquentes chez les végétaux supérieurs. Il y aurait selon Lawrence, 17500 espèces aromatiques [18]. Les genres capables de les élaborer sont répartis dans une cinquantaine de familles appartenant aux ordres des Lamiales, Asterales, laurales, Rutales et des Magnoliales [19].

La classification de certaines de ces plantes selon leurs familles d'appartenance est citée dans **l'Annexe I**.

### 4. Composition chimique des huiles essentielles

Ce sont des mélanges complexes et variables de différents composés chimiques dissous l'un dans l'autre formant des solutions homogènes. Ces constituants appartiennent quasi exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part [19] (**Annexe II**).

#### 4.1. Terpènes et terpénoïdes

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires. Leur classification est basée sur le nombre de répétition de l'unité de base : isoprène ; Hémiterpène (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20). Ils représentent le groupe le plus important [18].

- **Monoterpènes**

Plus de 900 monoterpènes connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurales : les monoterpènes acycliques, monocycliques ou bicycliques. Ils constituent parfois plus de 90 % d'HE.

Dans cette catégorie de composés, il existe de nombreuses molécules fonctionnalisées, à savoir, par exemple:

- ✓ Alcools: acyclique (géraniol, citronellol), monocycliques (menthol), bicycliques (bornéol).
- ✓ Aldéhydes : le plus souvent acycliques (géraniol, néral, citronellal).

- ✓ Cétones : acycliques (tagétone), monocyclique (menthone, isomenthone, carvone, pulégone), bicycliques (camphre, fenchone).
- ✓ Esters : acycliques (acétate ou propionate de linalyle, acétate de citronellyle), monocycliques (acétate de menthyle), bicycliques (acétate d'isobomyle)
- ✓ Ethers : 1,8-cinéole eucalyptol) mais aussi les éthers cycliques tétrahydrofuraniques ou di- et tétrahydropyraniques qui pour certains jouent un rôle majeur dans l'arôme des fruits (oxyde de linalol ou de rose).
- ✓ Peroxydes : ascaridole.
- ✓ Phénols : thymol, carvacrol [18].

- **Sesquiterpènes**

C'est la classe la plus diversifiée des terpènes puisqu'elle contient plus de 3000 molécules. Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédent, carbures, alcools et cétones étant les plus fréquents

### 4.2. Composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les HE. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des HE. On peut citer en exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou de girofle [23].

### 4.3. Composés d'origine diverse

En générale, ils sont de faibles poids moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions par exemple : l'heptane et la paraffine dans l'essence de camomille.

## 5. Biogenèse des composés des huiles essentielles

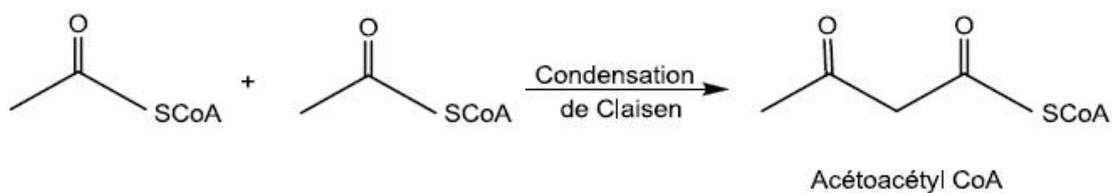
La biosynthèse des constituants des huiles essentielles emprunte deux voies utilisant comme intermédiaire soit l'acide mévalonique, soit l'acide shikimique respectivement pour les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes [24] (**Annexe III**).

### 5.1. Voie des terpénoïdes

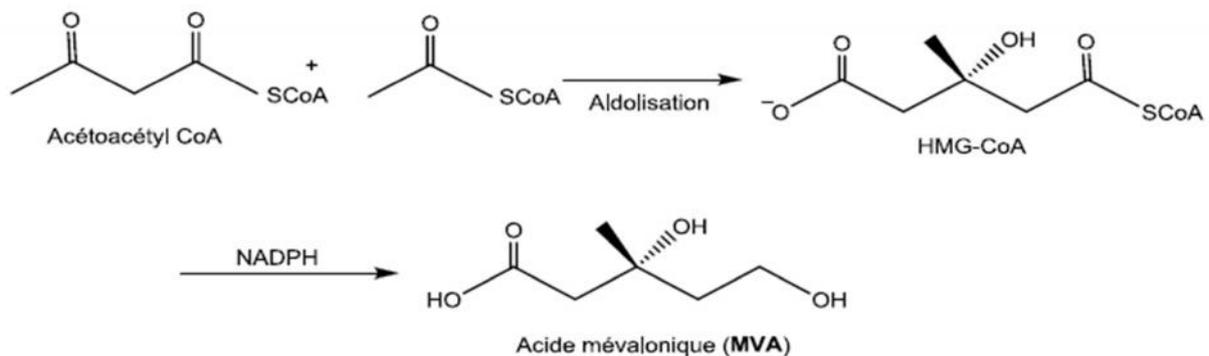
L'unité de base de la synthèse des terpènes est *l'isopentényl-diphosphate* : PPI3 et son isomère le diméthylallyl-diphosphate: PPI2. Deux voies de biosynthèse conduisent à ces unités de bases à 5 atomes de carbone.

- ✓ La première est la voie du mévalonate. Elle prend son origine au niveau de l'acétylcoenzyme A (produit de la glycolyse). Elle débute par la condensation de trois unités d'acétylCoA, passe par un composé en C<sub>6</sub> (le mévalonate) et conduit au PPI3.

Pour cette voie principale, la première étape est une condensation de type Claisen entre deux molécules d'acétylCoA pour conduire à l'acétoacétylCoA.



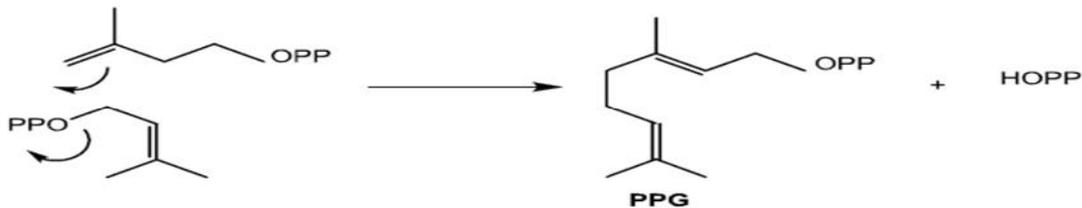
La deuxième étape est une réaction d'aldolisation entre une 3<sup>ème</sup> molécule d'acétylCoA et l'acétoacétylCoA. Après hydrolyse et réduction par le NADPH, il y a formation de l'acide mévalonique.



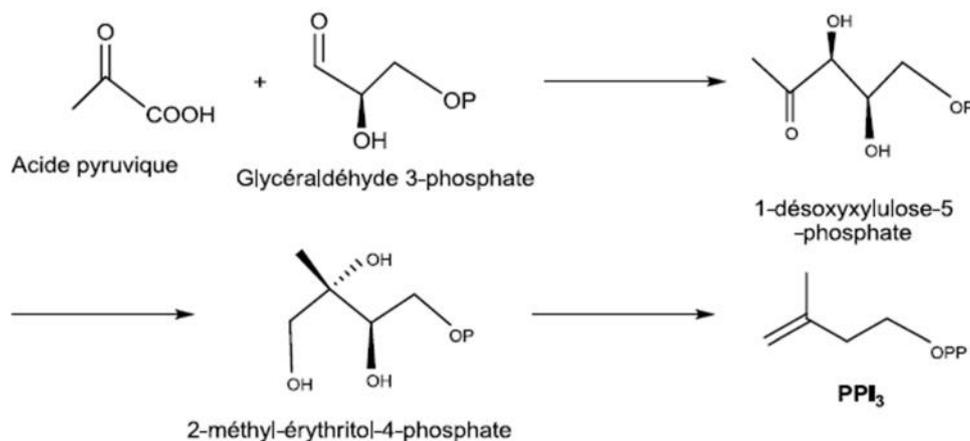
La déshydratation et la décarboxylation de l'acide mévalonique(MVA) par une élimination concertée après sa pyrophosphorylation par l'ATP permettent d'aboutir aux deux intermédiaires en C<sub>5</sub>, bio-précurseur des terpènes : le PPI3 et le PPI2.

Les deux intermédiaires PPI3 et PPI2 réagissent entre eux pour générer le pyrophosphate de géranyle (PPG) point de départ de tous les monoterpénoïdes.

La condensation d'une autre unité de PPI<sub>3</sub> sur le pyrophosphate de géranyle donne le pyrophosphate de farnésyle (PPF), précurseur de tous les sesquiterpènes. Selon ce processus, le squalène (triterpènes) est obtenu, ainsi que les autres terpénoïdes.



- ✓ La seconde voie, la voie du méthylérythritol phosphate (MEP) nommée aussi la voie non mévalonique. Elle commence par la condensation d'une unité pyruvate (C<sub>3</sub>) avec une unité de glycéraldéhyde 3-phosphate (C<sub>3</sub>) et conduit au méthylérythritol phosphate, un composé intermédiaire en C<sub>5</sub>. Plusieurs étapes enzymatiques conduisent ensuite à la synthèse de PPI<sub>3</sub>.

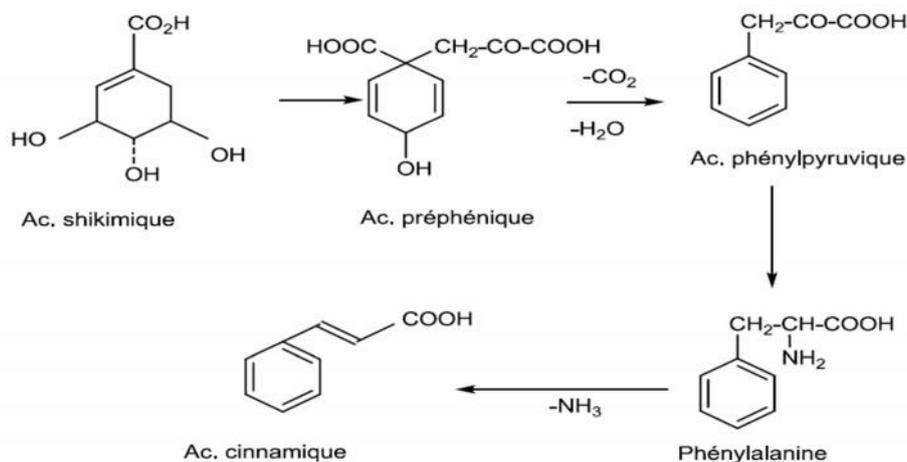


## 5.2. La voie des phénylpropanoïdes (composés aromatiques)

La biosynthèse des dérivés du phénylpropane se fait par l'intermédiaire de l'acide shikimique qui représente le principal mode d'accumulation des phénols dans les plantes. Cette voie fait intervenir une série de réactions et représente le chemin biosynthétique des acides aminés aromatiques (phénylalanine, tryptophane...).

L'acide est obtenu par condensation de l'acide pyruvique activé par phosphorylation sur un sucre phosphorylé. L'addition d'une deuxième molécule d'acide pyruvique activé fournit l'acide préphénique qui par déshydratation et décarboxylation donne l'acide phénylpyruvique.

Cet acide aromatique se transforme en phénylalanine, acide aminé aromatique, qui est à l'origine du métabolisme des composés aromatiques. La **figure 1** illustre les principales étapes de la formation des dérivés aromatiques: Exemple de l'acide cinnamique [24].



**Figure 1:** Exemple de synthèse des dérivés du phénylpropane.

## 6. Les facteurs influençant la composition chimique

❖ **L'origine botanique :** La composition d'une huile essentielle varie selon l'espèce productrice. Par exemple l'huile essentielle de deux espèces de sauge : la sauge officinale (*Salvia officinalis*) et la sauge sclarée (*Salvia sclarea*), qui peuvent être vendus sous l'appellation d'essence de sauge. La première, riche en cétones neurotoxiques, peut provoquer des épilepsies, alors que la deuxième possède des esters aromatiques antiépileptiques [25].

❖ **L'organe producteur :** La composition et le rendement d'une HE varient selon la partie de la plante à partir de laquelle elle est extraite. Exemple: le bigaradier [20].

❖ **Cycle végétatif:** Pour une espèce donnée, la proportion des différents constituants d'une huile essentielle peut varier tout au long du développement, des variations parfois très importantes sont couramment observées dans certaines espèces, par exemple pour la coriandre, la teneur en linalol est 50% plus élevée dans le fruit mur que dans le fruit vert. De ce fait le choix d'une date de récolte s'impose [26].

❖ **Existence de chimiotypes :** les chimiotypes ou races chimiques sont très fréquents chez les plantes à huiles essentielles. Ce sont des plantes appartenant à la même espèce botanique

présentant des compositions différentes en fonction des conditions écologiques (écologie locale, terrain, exposition, altitude...), également en raison de la légère différence dans les voies de biosynthèse ce qui peut avoir une influence sur leur activité thérapeutique. L'exemple démonstratif est celui du thym (*thymus vulgaris*L) de la Méditerranée occidentale. On compte pour cette espèce, Morphologiquement homogènes et caryologiquement stables, sept chimiotypes différents : 5 à alcools (géraniol, linalol, thuyanol, terpéniol, myrcéol) leurs huiles sont douces, jaune, ayant une faible activité bactéricide et irritante ; 2 thyms sont à phénol (thymol et carvacrol) leur huile est rouge et elle est un puissant bactéricide et irritant [18].

❖ **Température, Rayonnement solaires** : elles sont les plus influentes sur la composition des HE, d'ailleurs elles agissent sur celle-ci simultanément [26].

Quelques exemples illustrent cette influence :

- Chez la menthe poivrée, les jours longs et les nuits tempérées conduisent à des rendements en HE plus élevés et à une augmentation de la teneur en menthofuranes. Au contraire, les nuits froides favorisent la formation de menthol.
- Chez certains citrus, la teneur en HE est d'autant plus élevée que la température est importante [18, 7].

❖ **Mode d'obtention** : la labilité des constituants des huiles essentielles explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation, soit le plus souvent différente de celle du mélange initialement présents dans les organes sécréteurs du végétal. Au cours de l'hydrodistillation, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters mais aussi des réarrangements, isomérisations, des racémisations et des oxydations. Donc, pour assurer la qualité du produit et sa constance, il est important d'étudier, de définir et de contrôler l'ensemble des paramètres de la culture à l'élaboration du produit final [18].

❖ **Facteurs génétiques**

- **les hybridations**

Les hybridations introduisent l'hétérogénéité dans une population végétale. La composition des huiles essentielles issues de ces hybrides est variable et se situe en général entre celles des huiles essentielles mères [26].

- **les mutations**

Par mutation, une nouvelle race chimique peut apparaître. Elle peut être à peine perceptible dans les caractères morphologiques, alors qu'elle est susceptible de provoquer de profondes modifications dans la composition de l'huile essentielle [26].

### 7. Méthodes d'extraction des HE

Plusieurs méthodes sont connues pour extraire les essences aromatiques des végétaux. Les principales méthodes d'extraction sont basées sur l'entraînement à la vapeur d'eau, l'expression, la solubilité et la volatilité. Chacune d'elles donne une image différente de la composition de l'huile essentielle du produit.

Le choix de la méthode la mieux adaptée à l'extraction de l'huile essentielle d'un végétal se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire et de l'usage de l'extrait [18].

#### 7.1. Les méthodes conventionnelles d'extraction

##### 7.1.1. Entraînement à la vapeur d'eau

Il existe trois méthodes de distillation qui reposent sur le principe d'entraînement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau : l'hydrodistillation, la distillation à la vapeur saturée et l'hydrodiffusion.

La différence entre ces trois modes réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériel végétal [19].

##### 7.1.1.1. Hydrodistillation simple

La méthode par hydrodistillation est traditionnellement la plus couramment utilisée (environ 80% des cas) car elle est la plus économique [20]. Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic 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 [25] (**Figure 2**).

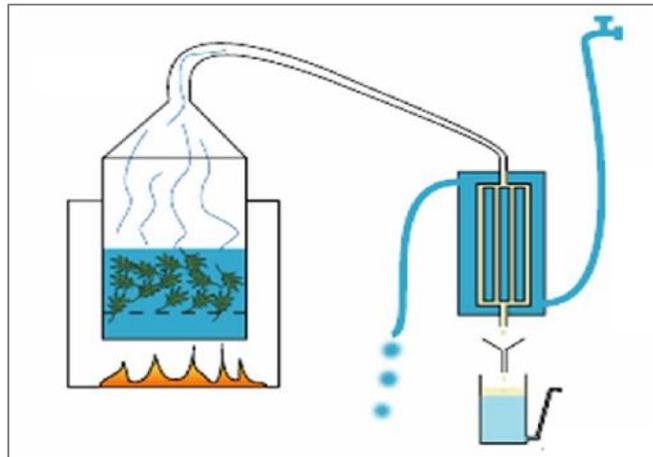


Figure 2: l'hydrodistillation simple [28]

### 7.1.1.2. Distillation à vapeur saturée

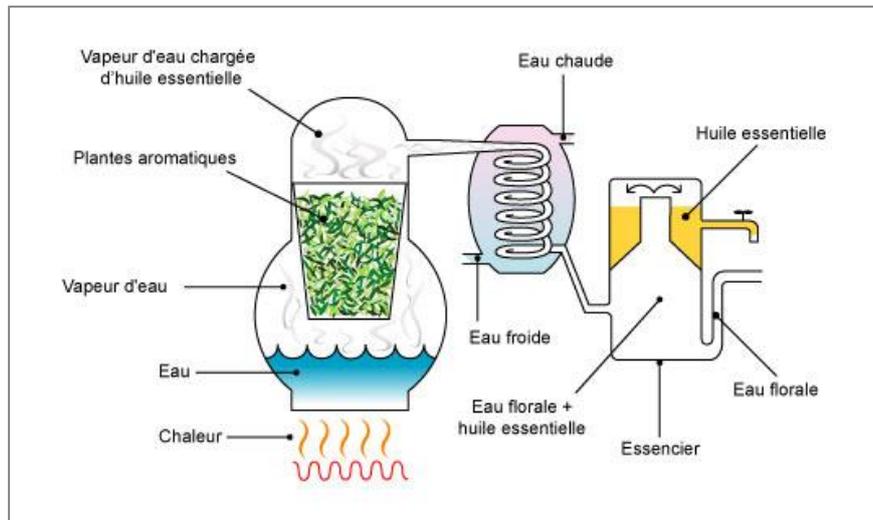
L'entraînement à la vapeur d'eau pure est le procédé qui donne les meilleures garanties de qualité [23].

Dans ce procédé, le végétal n'est pas en contact avec l'eau : la vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées [25].

La vapeur fait éclater les cellules à essence. Les molécules aromatiques sont captées par la vapeur qui se charge de molécules volatiles. A la sortie de la cuve, la vapeur s'est combinée aux HE. La condensation et le refroidissement s'effectuent dans un serpentin.

A la sortie du serpentin, un essencier recueille la vapeur refroidie et revenue à l'état d'eau et l'HE. La différence de densité entre les deux liquides facilite la séparation de cette dernière qui, à quelque exception près, est plus légère que l'eau [23].

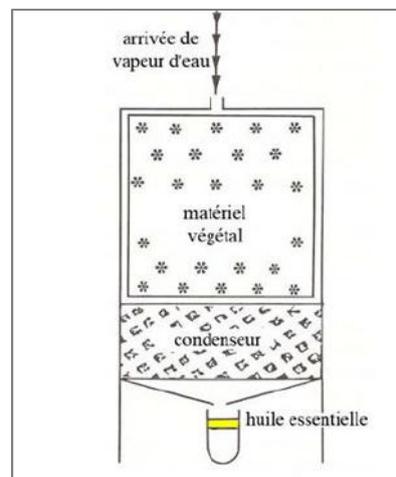
L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile [27].



**Figure 3:** distillation à vapeur saturée [29]

### 7.1.1.3. Hydrodiffusion

L'hydro diffusion consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale, du haut vers le bas [25]. La condensation du mélange de vapeur contenant l'huile se produit sous la grille retenant la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur [27].



**Figure 4:** l'hydro diffusion [27]

### 7.1.2. Expression mécanique à froid

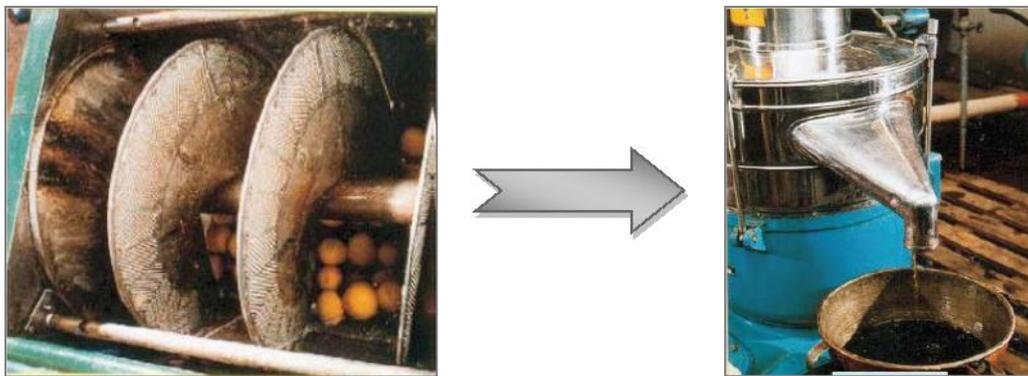
Ce mode d'obtention particulier est réalisé uniquement pour les fruits de la famille botanique des Rutaceae (citron, orange, bergamote, mandarine, etc.). C'est une méthode simple qui consiste à briser mécaniquement par abrasion les poches oléifères localisées au niveau de

l'écorce ou du péricarpe du fruit pour en recueillir le contenu [27]. L'huile essentielle est séparée du jus de fruit par un procédé mécanique de décantation à froid.

De nos jours, l'expression mécanique reste le procédé le plus simple et le seul ne modifiant pas le produit obtenu. Ainsi, l'HE recueillie porte le nom d'essence.

Le produit obtenu ne subissant pas de modifications, les essences obtenues par extraction mécanique possèdent une activité thérapeutique nettement supérieure à celle des HE produites par d'autres procédés.

En effet, contrairement aux HE uniquement constituées de molécules volatiles, les essences, quant à elles, renferment des composés non volatiles comme des flavonoïdes ou encore des stéroïdes [15].



**Figure 5 :** Photos à gauche d'une pelatrice et à droite d'une centrifugeuse séparatrice de l'essence de *Citrus* [30].

### 7.1.3. Enfleurage

Cette technique est l'un des plus anciens procédés, elle a été au départ utilisée par les égyptiens. Il semblerait que l'application majeure soit en parfumerie, et ne concerne que les fleurs fragiles, qui gardent l'odeur après la cueillette, mais dont l'hydro distillation risque de dégrader les molécules odorantes présentes. Cette technique consiste à mettre les fleurs en contact avec un corps gras inodore. Le mélange est ensuite épuisé par un solvant organique, puis ce dernier est évaporé [3].

Lorsque les fleurs sont peu fragiles à la chaleur (par exemple, les fleurs d'oranger, d'acacia, de mimosa), un enfleurage à chaud est réalisé vers 60-70°C, par leur infusion dans des graisses fondues ou des huiles. Cette méthode est plus rapide que celle à température ambiante [3].

### 7.1.4. Extraction par les solvants

Cette forme d'extraction est couramment employée pour l'industrie des arômes, mais doit impérativement être proscrite pour un usage thérapeutique, excepté si le seul solvant est l'alcool pur [5].

L'extraction proprement dite est généralement précédée d'une division de la drogue: contusion des organes frais, hachage des drogues herbacées, concassage des racines et rhizomes, réduction en copeaux des bois [4].

Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui sera ensuite éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne la concrète: mélange odorant de consistance pâteuse. L'extraction de la concrète avec l'alcool conduit à l'absolue [1].

Cette technique est utilisée avec les plantes dont l'extraction d'huiles essentielles grâce à l'hydrodistillation est inefficace: c'est le cas du jasmin, de certaines roses, du narcisse, du néroli du mimosa [2].

### **7.2. Les méthodes innovantes d'extraction**

#### **7.2.1. Extraction par les gaz supercritiques**

Les fluides supercritiques peuvent être définis comme toute substance se trouvant dans des conditions de température et de pression supérieures à sa température critique et sa pression critique. Ils possèdent certaines propriétés physico-chimiques typiques des gaz, et d'autres proches de celles des liquides.

Les propriétés du dioxyde de carbone en font le fluide le plus utilisé car remplissent toutes les conditions nécessaires à une utilisation en extraction en phase supercritique.

Le CO<sub>2</sub> est inerte, non toxique et accessible à un prix raisonnable pour un degré de pureté élevé. De plus, il est gazeux à température ambiante, ce qui facilite la récupération de l'extrait final en ne laissant aucun résidu toxique [8].

Le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant [9].

### 7.2.2. Extraction assistée par micro-ondes

Cette méthode consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes sans ajouter ni eau ni solvant organique. Les parties du végétal les plus riches en eau, comme les vacuoles, absorbent les ondes puis les convertissent en chaleur, engendrant une augmentation rapide et soudaine de la température au sein de ces structures. Ces dernières éclatent sous la pression régnant dans l'extracteur, libérant ainsi les molécules olfactives. Puis les vapeurs d'eau entraînent l'HE. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation de façon continue du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, et le retour de l'excès d'eau à l'intérieur du ballon afin de maintenir le taux d'humidité propre au matériel végétal.

Pour les plantes aromatiques, après seulement 30 minutes d'extraction, les rendements en huiles essentielles obtenus sont identiques à ceux obtenus après 6 heures d'hydrodistillation [10,11].

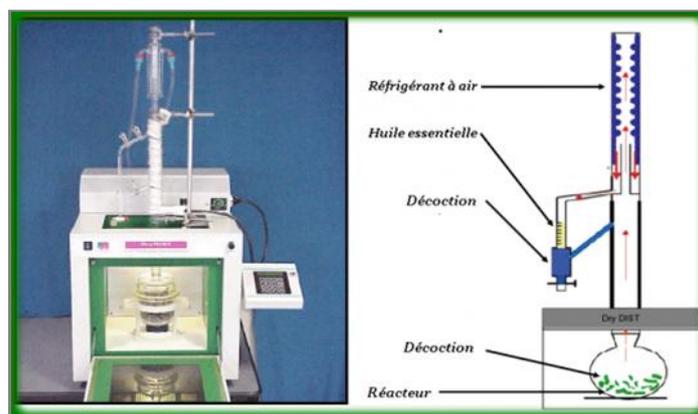


Figure 6: dispositif d'extraction assistée par micro-ondes [29].

## 8. Caractérisation des huiles essentielles

### 8.1. Caractérisation organoleptique

Liquides à température ambiante, rarement visqueuse (myrrhe), certaines cristallisent partiellement ou totalement à plus faible température (anis: anéthol; menthe des champs : menthol ; thym saturéioïde: bornéol). Les huiles essentielles sont volatiles et n'ont pas le toucher gras et onctueux, ce qui les différencie des huiles fixes [20, 33].

La plupart d'entre elles sont incolores ou jaune pâle lorsqu'elles viennent d'être préparées à l'exception des essences à azulènes qui sont bleues (ex : camomille allemande), de l'essence d'absinthe qui est verte, de celle de girofle qui est brune et de celle de wintergreen (Gaulthérie

couchée) qui est rougeâtre. D'odeur agréable, aromatique. Pour la saveur, elle peut être douce, piquante, caractéristique, fruité, fraîche, e c t [34].

### 8.2. Caractérisation physique

**Pouvoir rotatoire :** c'est une propriété des molécules chirales, celles-ci ont la propriété de dévier le vecteur d'un faisceau lumineux les traversant [20,31]. Il est mesuré à l'aide d'un polarimètre.

Les huiles essentielles sont le plus souvent optiquement actives.

**Densité relative:** elle représente le rapport de la masse d'un volume de liquide (HE pour notre cas) par la masse du même volume d'eau. Elle est sans unité et varie en fonction de la température. La densité relative est mesurée par deux appareils : le densimètre et le pycnomètre. La densité des HE est en général inférieure à celle de l'eau à l'exception des HEs de sassafras, de cannelle et de girofle [18].

**Indice de réfraction :** c'est une grandeur sans dimension, caractéristique d'un milieu, décrivant le comportement de la lumière dans celui-ci [31]; Il est mesuré couramment par le réfractomètre d'Abbe [20].

La détermination de l'indice de réfraction pour une huile essentielle permet seulement de vérifier si elle est conforme aux normes établies [20]. Les HEs ont souvent un indice de réfraction élevé (1,45-1,56) [7].

### Solubilité des huiles essentielles

- **Dans l'eau :** elles ne sont naturellement pas, ou très peu, solubles dans l'eau ; certains composants sont néanmoins plus solubles que d'autres (verbénone du romarin officinal, lavandulol de la lavande vraie) ; quelques-unes ont des constituants particulièrement solubles, ce qui entraîne, durant la distillation des écorces de cannelle, l'obtention habituelle d'émulsions [33].

- **Dans les huiles fixes :** elles sont totalement solubles dans les huiles grasses [26].

- **Dans l'éthanol :** Une huile essentielle est dite miscible à V volumes et plus de l'éthanol de titre alcalimétrique déterminé à la température de 20°C, lorsque le mélange de 1 volume d'huile essentielle et de V volumes de cet éthanol est limpide, et le reste après addition graduelle d'éthanol de même titre jusqu'à un total de 20 volumes [23].

- **Dans les solvants organiques :** les HE s'y solubilisent très bien [33].

### **8.3. Caractérisation chimique**

**Indice d'acide :** IA est le nombre de milligramme (mg) de potasse nécessaire pour neutraliser les acides libres contenus dans 1 gramme (g) d'HE [20].

**Indice de saponification :** Is est le nombre de milligramme (mg) d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides libres et saponifier les acides estérifiés contenus dans un gramme d'HE [31].

**Indice d'ester :** IE est le nombre de milligramme de potasse nécessaire pour saponifier les esters présents dans 1 gramme d'HE [20].

### **8.4. Caractérisation chromatographique**

Différentes méthodes analytiques peuvent être utilisées, telles que la spectroscopie infrarouge, chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie en phase gazeuse (CPG), la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) qui est la méthode la mieux adaptée à l'analyse des huiles essentielles [2].

#### **✓ Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

C'est une méthode d'analyse qualitative et quantitative des mélanges complexes de composés gazeux ou susceptible d'être vaporisé sans décomposition [33].

L'échantillon est vaporisé et injecté en tête de colonne. L'élution est assurée par un flux de gaz inerte: phase mobile (H<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, Hélium...).

La CPG est basée sur la répartition du produit analysé entre la phase gazeuse mobile et une phase liquide ou solide stationnaire. Les substances séparées sont affichées sur le chromatogramme, et chaque pic est caractérisé par un temps de rétention et une surface permettant ainsi de déterminer l'identité et le pourcentage de chaque constituant [17].

#### **✓ Spectrométrie de masse (SM)**

Comme la CPG, La spectrométrie de masse est une technique analytique qualitative et quantitative dont le domaine d'application est très étendu [50].

### ✓ Le couplage CPG / SM

Le couplage CPG/SM est la technique de référence dans le domaine des HE, elle permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse de différents constituants d'un mélange complexe [24]. Elle fournit un chromatogramme accompagné d'un ensemble de spectre de masse correspondant à chaque pic chromatographique, ce qui permet l'identification de la majorité des constituants séparés par la CPG [50].

### ✓ Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium.

Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant migre à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse au-dessous de front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Généralement, en CCM les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires [35].

## 9. Conservation et étiquetage

### 9.1. Conservation

En raison de l'instabilité et la sensibilité à la chaleur, à l'air ainsi qu'à la lumière des molécules constitutives des HE, des précautions particulières lors de leurs conservations sont recommandées.

En effet, les conséquences de la dégradation sont nombreuses : photo isomérisation, hydrolyse, coupure oxydative, peroxydation, décomposition en cétones et alcool... Celles-ci peuvent modifier et /ou mettre en cause l'innocuité de l'HE [36].

- L'emploi de flaconnage en verre coloré et foncé (brun ou ambré), en aluminium ou en acier inoxydable, de faible volume, évite la détérioration de l'HE par l'oxygène et la lumière [19,26].

- Le flacon doit être pourvu d'un bouchon vissé et bien scellé pour éviter l'évaporation. L'emploi de petites billes en verre à la surface de l'HE réduit l'action oxydante de l'air.

- Le stockage doit se faire dans un endroit sec (à l'abri de toute trace d'humidité), frais (loin des sources de chaleur), dépourvu de la lumière, même artificielle et à l'abri du froid.

La durée de conservation d'une HE, si on a respecté les bonnes conditions de stockage, est environ 3 ans. Les essences d'agrumes font exception, ils ne peuvent se conserver que pendant 6 mois [7].

### 9.2. Etiquetage

Les informations qui doivent figurer sur l'étiquette sont les suivantes :

- Nom scientifique et vernaculaire de la plante.
- La partie de la plante utilisée.
- L'origine de la plante ou lieu de production.
- Mode d'obtention de l'HE.
- La variété et le chémotype s'il existe.
- Numéro de lot, date de production et date de péremption.
- Nom, adresse et numéro de téléphone du fournisseur [37].

## 10. Intérêts des huiles essentielles

### 10.1. Intérêt thérapeutique

Les huiles essentielles présentent différentes propriétés pharmacologiques sur nombreuses cibles de l'organisme. Elles sont de plus en plus utilisées en pharmacie pures ou au sein de spécialités que ce soit à des fins d'aromatisation (excipient) ou comme principe actif, parmi ces propriétés on cite :

- ❖ **Insecticide** : Certaines huiles sont insectifuges ou insecticides comme celles possédant des fonctions aldéhydes par exemple : le citronnellal contenu dans l'Eucalyptus citronné ou citronnelle éloignent les poux, mouches [8, 21].
- ❖ **Anti-inflammatoire** : Les huiles essentielles possédant des aldéhydes ont des propriétés actives contre l'inflammation par voie interne comme l'HE du Gingembre [21].
- ❖ **Régulatrices du système nerveux**

- *Calmantes, anxiolytique* : Les aldéhydes monoterpénique de type citrals contenu par exemple dans l'huile essentielle de Mélisse ou celle de verveine citronnée favorisent la détente et le sommeil [38].

- *Analgésique, antalgiques* : Les HE les plus connus pour leur action antalgique sont celles du Gingembre, Giroflier, Eucalyptus citronné, Lavande vraie [21].

### ❖ **Drainantes respiratoires**

- *Expectorantes* : les HE riches en oxydes (1, 8 cinéole) comme l'HE d'*Eucalyptus globulus* agissent sur les glandes bronchiques et sur les cils de la muqueuse bronchique [21].

- *Fluidifiantes* : les HE possédant des cétones (comme la verbénone de l'HE du Romarin) ont une action mucolytique en dissolvant les sécrétions accumulées au niveau de la muqueuse [21].

❖ **Cicatrisantes** : Les huiles essentielles cicatrisantes sont celles de Ciste, de Lavande vraie, d'Immortelle de Myrrhe On utilise souvent un mélange de plusieurs HE cicatrisante avec une HE végétale tel que l'huile d'amande douce [21].

❖ **Digestives** : Certaines HE, comme le cumin ou encore le fenouil, attisent l'appétit et améliorent la digestion. D'autre comme la menthe ou le carvi stimulent les voies biliaires du fait de leurs actions cholagogues et cholérétiques [8].

❖ **Dermatologiques** : Les HE de lavande officinale et d'eucalyptus citronné apaisent avec succès les démangeaisons dues aux piqûres d'insectes, d'ortie, de méduse...l'action lipolytique du citron et du lemongrass permet de lutter contre la cellulite par dissolution des graisses [8].

❖ **Endocrino-régulatrices** : Certaines HE ont la capacité de réguler l'ensemble des glandes endocriniennes de l'organisme : l'HE de myrrhe atténue une hyperthyroïdie en freinant l'activité de la thyroïde [8].

### **10.2. Intérêt des HE en parfumerie**

Les huiles essentielles à l'état dilué, sont utilisées dans les parfums et les eaux de toilettes. L'industrie de parfumerie consomme d'importants tonnages d'essences (60%) en particulier celles de Rose, de Jasmin, de violettes, de verveine... [20,24].

### **10.3. Intérêt des HE en cosmétologie**

Les huiles essentielles sont utilisées depuis longtemps en cosmétologie. En raison de leurs propriétés diverses, elles prennent soin de la peau et de ses désordres (acné, rides..), les cheveux (pellicules, cheveux cassants, ternes, sec..), la silhouette (vergetures, cellulite..).

Les principes actifs des HE franchissent très rapidement la barrière cutanée et sont absorbées par la peau pour agir en douceur [22].

### 10.4. Intérêt agroalimentaire

En vertu de leurs propriétés antiseptiques et aromatisantes, les HE sont employées quotidiennement dans les préparations culinaires (ail, thym, laurier..). Elles sont également très prisées en liquoristeries (boissons anisés, kummel..) et en confiserie (bonbons, chocolat..).

Leur pouvoir antioxydant leur permet de conserver les aliments en évitant les moisissures, conservation du *smen* par exemple par le thym et le romarin [24].

## 11. Mode d'utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent s'utiliser de plusieurs façons :

### ❖ Voie respiratoire

La diffusion aérienne des huiles essentielles est la voie la plus logique puisqu'elles sont volatiles [39].

- **Inhalation sèche** : elle consiste à déposer quelques gouttes d'HE pures sur un mouchoir, elle est pratique à faire la journée [39].

- **Inhalation humide** : Dans un inhalateur, mélanger une cuillère à soupe d'alcool à 90° et 5 à 6 gouttes d'HE, puis compléter d'eau chaude, non bouillante pour ne pas altérer les HE. Inhaler les vapeurs d'eau concentrées en HE, pendant 5 à 10 minutes deux fois par jour.

L'inhalateur peut être remplacé par un bol, dans ce cas il faut mettre une serviette sur la tête pour éviter la disparition des vapeurs et garder les yeux fermés [39].

- **Diffusion dans l'atmosphère** : la diffusion dans l'atmosphère se fait à l'aide d'un diffuseur électrique pendant 5 à 15 min, 5 à 6 fois par jour. Le diffuseur doit être placé de façon à ne pas diffuser directement vers le visage ou les yeux [21, 39].

- **Aérosol** : il est exclusivement réservé à la prescription médicale. Cette voie est particulièrement intéressante pour traiter les pathologies pulmonaires (bronchite, bronchiolite, rhinite, sinusite.) [39].

❖ **Voie orale** : Elle dévoile son intérêt dans le traitement des infections digestives, respiratoires, urinaires ou gynécologiques.

L'ingestion ne doit jamais se faire pure : il faut toujours les diluer avec de l'huile végétale ou par exemple dans du miel.

La voie sublinguale est très efficace car la face inférieure est richement vascularisée permettant ainsi une action très rapide. Elle est idéale pour les pathologies pharyngées telles que les angines [8,39].

Exemple d'HE administrée par voie orale : HE de thym à thuyanol diluée dans du miel en cas d'angine chez un enfant de plus de 7 ans [8].

### ❖ Voie cutanée

*En friction* (l'HE d'Hélichryse italienne pour faire disparaître les ecchymoses), *en compresse* (l'HE de Géranium bourbon et d'arbre à thé pour les peaux grasses), *en massage* (HE de camomille, de jasmin et de rose pour un effet relaxant), *dans le bain* (HE de citronnelle ou de pamplemousse pour un bain énergisant) [8].

### ❖ Voie rectale

C'est la meilleure voie pour administrer des huiles essentielles aux enfants et nourrissons, notamment en cas de pathologies aiguës. Elle est également intéressante chez les sujets qui ne supportant pas l'administration par voie orale (Nausée, vomissement et ulcères). Elle est réalisée par l'emploi des suppositoires. Exemple d'HE administrée par cette voie : HE d'*Eucalyptus globulus* pour ses propriétés antiseptiques [8, 39].

### ❖ Gargarisme

Il consiste à mettre 4 goutte d'HE dans un dispersant puis effectuer un gargarisme, il est préconisée en cas d'inflammation des muqueuses buccales ou de la gorge.

Exemple d'HE appliquées par cette voie : HE de Basilic pour ses propriétés anti-infectieuses, HE de Lavande vraie en cas d'aphtes ou de douleurs dentaires [8].

## 12. Toxicologie des huiles essentielles

### 12.1. Toxicocinétique des huiles essentielles

L'action des HE est assimilée à l'action de l'un ou de quelque uns de ses composants, ainsi qu'à certains métabolites issus de ses constituants. Et du fait que les HE sont constitués d'un mélange d'une multitude de composés, il est difficile d'établir leurs toxicocinétique [34].

On peut toutefois décrire les règles générales régissant la cinétique d'absorption des HE.

### Absorption

Le passage de molécules dans l'organisme est principalement réalisé par diffusion passive.

Les caractéristiques de cette dernière sont les suivantes : sans énergie, non saturable, non spécifique et fonction d'un gradient allant de la zone la plus concentrée vers la moins concentrée.

Dans le cadre d'une intoxication accidentelle, l'absorption de l'huile dans l'organisme peut se faire par trois voies :

#### ❖ Orale

Dans le cas d'une administration d'huile essentielle en gouttes, pures ou diluées, la muqueuse buccale est déjà mise à contribution pour l'absorption de l'HE. L'absorption se poursuit ensuite au niveau des parois stomacales et intestinales. Les données obtenues pour la voie orale indiquent une biodisponibilité de 95.6%.

La voie orale présente néanmoins un défaut gênant: certains constituants des HEs sont irritants pour la muqueuse gastro-intestinale et cette irritation est dépendante de la concentration de ses constituants [17].

#### ❖ Cutanée

Par voie cutanée, l'absorption des HE est également rapide. Les composées passent dans le sang et sont acheminés directement vers les organes sans passage par le foie ou les poumons. La biodisponibilité est donc quasi-totale. Cette voie d'entrée est donc particulièrement dangereuse [34].

#### ❖ Respiratoire

L'HE atteint l'épithélium alvéolaire. A partir de cet épithélium, les différents composés peuvent être absorbés et se retrouver dans l'organisme.

Cette voie est d'un grand intérêt dans le traitement des affections ORL. Cependant en raison de l'excellente diffusion des HEs, on peut également l'appliquer pour d'autres pathologies [17,34].

### Distribution

Dans le sang, les substances aromatiques se fixent réversiblement aux protéines plasmatiques. Le complexe substance-protéine est atoxique.

Les substances aromatiques étant lipophiles, leur passage du sang vers les organes riches en lipides se trouve facilité. Elles passent rapidement dans le cerveau et le foie, les muscles, puis

sont stockées dans le tissu adipeux. De fait, une administration des doses répétées peut entraîner une toxicité par accumulation [17,20].

### **Métabolisme**

Une fois absorbées, les molécules aromatiques vont subir des réactions enzymatiques dont le but final est de rendre ces substances plus hydrophiles et accélérer ainsi leur élimination au niveau rénal.

La plupart des organes sont capables de métaboliser les xénobiotiques, cependant l'organe majeur du métabolisme reste le foie.

De manière classique, les réactions de biotransformation sont divisées en 2 phases :

- Les réactions de phase I : On retrouve dans cette phase les réactions d'hydrolyse (les esters donneront ainsi des alcools et des acides carboxyliques), d'oxydation (qui entraîne l'addition d'atomes d'oxygène, d'azote ou de soufre) et de réduction.

Les réactions d'oxydation sont principalement assurées par les Cytochromes P450, présents en quantité élevée dans les microsomes au niveau hépatique.

- Les réactions de phase II : sont dites de conjugaison. Les substances métabolisées vont être fixées sur des molécules endogènes très polaires rendant l'ensemble suffisamment hydrophile pour pouvoir être éliminé. Ces molécules donneront des réactions de glucuronoconjugaison, de glycoconjugaison et de sulfoconjugaison [17, 34].

### **Elimination**

L'élimination des substances exogènes se fait principalement par les reins, le foie, les poumons et la peau. Mais on retient surtout la part importante que représentent les reins dans cette fonction. L'élimination est aussi caractérisée par le temps mis pour épurer ces substances [17]. L'insuffisance de l'élimination d'une substance se traduit par un allongement de sa demi-vie, un risque d'accumulation et une augmentation de toxicité [20].

### **12.2.Toxicité liée à la durée d'exposition**

#### **Toxicité aigüe**

En règle générale, la toxicité aigüe des HE est définie surtout pour la voie orale. En effet, les accidents les plus graves sont généralement observés chez les enfants suite à l'ingestion de quantités importantes d'huiles essentielles [25].

Elle est mesurée par la DL50 (dose létale 50) donnant pour une population test donnée (rongeurs le plus souvent), dans des conditions expérimentales définies, la dose tuant 50% des cobayes. La dose létale varie avec le poids corporel, elle est comptée en g/kg de poids corporel [20].

On connaît aussi la neurotoxicité des huiles essentielles à thuyones (thuya, absinthe, tanaïsie, sauge officinale) ou à pinocamphone (hysope): ces huiles essentielles induisent des crises épileptiformes et tétaniformes, des troubles psychiques et sensoriels nécessitant l'hospitalisation [25].

### **Toxicité chronique**

La toxicité chronique des huiles essentielles est assez mal connue, au moins en ce qui concerne leur utilisation dans le cadre de pratiques comme l'aromathérapie et ce quelle que soit la voie d'administration: les éventuels effets secondaires ne sont que rarement signalés. On dispose par contre de beaucoup de données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que représente leur emploi (surtout celui de leurs constituants ou des plantes qui en renferment) en tant qu'arômes alimentaires (ou épices, condiments, etc.), domaine dans lequel les doses ingérées journalièrement sont le plus souvent très faibles [25].

### **12.3.Toxicologie liée aux organes**

#### **Toxicité dermique**

L'usage des huiles essentielles en application locale, en parfumerie ou en cosmétique, peut générer des irritations, photosensibilisation voire des allergies [8].

- les phénols, les aldéhydes aromatiques, certains aldéhydes terpéniques certains esters peuvent irriter les peaux sensibles. C'est l'exemple de la Cannelle, le Basilic exotique, la Menthe, le Clou de girofle, le Thym, .... [27].
- Les furocoumarines des essences d'agrumes (citron, orange amère, bergamote), de Khella et d'Angélique (racine) sont photosensibilisantes [27].
- Les lactones sont allergisantes lorsque leur concentration augmente au sein de l'HE. C'est le cas par exemple du Massoia, l'Inule, l'Absinthe, la Mélisse,.... [37].

#### **Hépatotoxicité**

Les phénols peuvent devenir hépatotoxiques lorsqu'ils sont employés à doses élevées sur de longues périodes, dépassant ainsi les capacités de sulfoconjugaison hépatique. Le carvacrol est le phénol le plus toxique. Les pyranocoumarines (*Ammi visnaga*, Apiaceae) sont hépatotoxique à hautes doses [27,37].

### **Néphrotoxicité**

Les terpènes pris par voie orale (térébenthine, genévrier, santal), stimulent fortement l'activité des néphrons et pourraient engendrer une inflammation des reins. Elles doivent donc être utilisées sur une courte durée [23,27].

### **Neurotoxicité**

Les cétones et dans une moindre mesure les lactones sont agressives pour les tissus nerveux et peuvent développer une toxicité suivant le type de cétone, la dose, la voie d'administration et la posologie (camphre, thuya, hysope, aneth).

Risque de convulsions épileptiforme pour des doses allant de 35 à 70 gouttes avec l'Armoise, le Persil, l'Hysope et le thuya [27].

### **Toxicité pulmonaire**

On dispose de peu de données sur cette toxicité. D'après les cas bibliographiques et expérimentaux, les huiles ne sont pas irritantes mais il faut rester vigilant[17].

### **Toxicité cardiovasculaire**

Certaines molécules aromatiques agissent sur le système cardiovasculaire.

Ainsi l'eugénol, le thymol et le carvacrol exercent un blocage au niveau des canaux calciques de cellules cardiaques humaines.

Le menthol lui serait responsable de cas de fibrillations auriculaire et de bradycardie relevés chez des fumeurs de cigarettes mentholées.

Le cinnamaldéhyde contenu dans l'HE d'écorce de cannelle a lui aussi montré un effet hypotenseur en agissant sur les canaux calciques des cellules musculaires lisses vasculaires [17].

### **Cancérogénicité**

Les études ont montré l'apparition de tumeurs chez les rongeurs exposés à divers composés aromatiques. Notamment, les molécules de la famille des alkylbenzènes comme l' -asarone (acore), le méthyleugénol, le safrole (sassafras) et l'estragol (basilic, estragon) sont toutes carcinogènes chez les rongeurs. Cet effet est indirect, après la transformation en métabolites toxiques [17,25].

## **13. Précautions d'emploi des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont entièrement naturelles. Toutefois, il est important de savoir qu'elles sont très concentrées et doivent être utilisées avec précaution.

- Certaines huiles essentielles pures sont dermocaustiques, comme l'huile essentielle de thym vulgaire. Il faudra donc les diluer dans une huile végétale (amande douce, olive...).
- Il faut toujours respecter les voies d'absorption indiquées ainsi que la posologie.
- Il ne faut jamais appliquer d'huile essentielle pure sur les yeux, le nez, le conduit auditif, les muqueuses ano-génitales. Il existe des exceptions avec l'huile essentielle de Géranium bourbon utilisée dans les saignements de nez ou par exemple, l'huile essentielle de Giroflier utilisée pour soigner les aphtes.
- En cas de contact ou d'ingestion accidentel, il ne faut pas utiliser de l'eau mais diluer avec une huile végétale.
- Il ne faut pas mettre sur la peau des huiles essentielles avant toute exposition au soleil.
- Il faut faire attention aux interactions avec les traitements des patients. Les huiles essentielles peuvent interagir avec un médicament. Par exemple, l'huile essentielle d'ail stimule la thyroïde alors que celle de fenouil diminue son activité.
- Il faut éviter d'utiliser l'huile essentielle de menthe poivrée sur une zone trop étendue du corps car elle peut provoquer des convulsions, un effet vasoconstricteur et anesthésiant. Elle est fortement contre-indiquée chez la femme enceinte, et chez le nourrisson jusqu'aux enfants âgés de moins de sept ans.
- Pendant la grossesse et la période d'allaitement, il est particulièrement important de ne pas user de l'huile essentielle.
- L'usage des huiles essentielles doit être très prudent chez les enfants de moins de 12 ans [21,38].

### 14. Réglementation

Selon sa composition et la présentation qui en est faite, une HE destinée au consommateur pourra être considérée comme un médicament, un cosmétique ou une denrée alimentaire.

#### ➤ Réglementation algérienne

- *Huiles essentielles et médicament*

Selon la définition du médicament, donné par l'article 170 de la loi n° 85-05 du 16 février 1985 relative à la protection et à la promotion de la santé «On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques ». Donc une HE qui présente une quelconque allégation thérapeutique sur son conditionnement sera considéré comme médicament. Le statut d'une HE est ainsi déterminé par son usage et par son activité pharmacologique [50].

Les spécialités pharmaceutiques à base d'HE répondent à la définition des médicaments à base de plantes, par conséquent ils doivent être conformes à la réglementation régissant les médicaments et faire l'objet d'une demande d'autorisation de mise sur le marché.

La loi n°85-05 précise dans l'article 171 «sont également assimilés à des médicaments:

- Les produits d'hygiène et produits cosmétiques contenant des substances vénéneuses à des doses et concentrations supérieures à celles fixées par arrêté du ministre chargé de la santé .
- Les produits diététiques ou destinés à l'alimentation animale qui renferment des substances non alimentaires leur conférant des propriétés sur la santé humaine» [50].

En effet, un grand nombre de produits cosmétiques comprennent dans leur composition des huiles essentielles, il est donc nécessaire de prendre en considération les risques que ces substances peuvent faire courir à la santé des consommateurs [51].

### • *Huiles essentielles et vente en l'état*

Le code de la santé publique précise dans l'article 190 de la loi n°85-05 du 16 février 1985 relative à la protection et la promotion de la santé que «La production, le transport, l'importation, l'exportation, la détention, l'offre, la cession, l'acquisition, l'emploi de substances ou plantes vénéneuses stupéfiante et non stupéfiante ainsi que la culture de ces plantes, sont fixées par voie réglementaire ». Par conséquent les HE et les produits à base d'HE répondant aux critères cités ci-dessus entrent dans le champ de cette directive [50].

### ➤ **Réglementation française**

En l'absence d'un cadre réglementaire spécifique aux HE, les médicaments à base d'HE doivent être conformes à la réglementation des médicaments à base de plantes.

« Les médicaments à base de plantes sont des médicaments dont les principes actifs sont exclusivement des drogues végétales et/ou des préparations à base de drogue(s) végétale(s) » [21,52].

Certaines huiles essentielles ne peuvent être vendues en l'état et le Code de la Santé Publique précise dans l'article L.4211-1 6° que « *la vente au détail et toute dispensation des huiles essentielles dont la liste est fixée par décret, ainsi que leurs dilutions et préparations ne constituant ni des produits cosmétiques, ni des produits à usage ménager, ni des denrées ou boissons alimentaires appartiennent au monopôle pharmaceutique.* »

Il existe seize huiles essentielles ne pouvant être vendues que par les pharmaciens du fait de leur toxicité comme les huiles essentielles d'armoise, d'absinthe, de rue, de sauge, de sabine et c t [6,21].



**III**  
**ACTIVITÉ**  
**ANTIMICROBIENNE**



## **1. Introduction**

L'organisme humain, constamment exposé à une multitude de microbes (bactéries, virus, parasites, champignons microscopique), possède un système complexe de défense qui lui permet de rencontrer ou d'héberger ces microbes sans leur permettre d'envahir ses tissus. Cependant, dans certaines conditions, l'infection peut entraîner une maladie infectieuse grave. Pour lutter contre ces infections, de nombreux programmes ont été conduit pour découvrir et développer de nombreux agents antimicrobiens d'origine biologique [25].

Un agent antimicrobien, est un agent qui tue les micro-organismes ou inhibe leur croissance. Celui qui les tue est appelé « microbicide » et celui qui inhibe seulement leur croissance est appelé « microbiostatique » [43].

Un micro-organisme est un organisme vivant microscopique (1à2 micromètre), unicellulaire, il peut être une bactérie, un virus, champignon microscopique (micromycète).

La plupart de ces microbes sont sans danger et beaucoup sont bénéfiques, voir indispensables « flore microbienne » [44,45].

## **2. Bactéries**

### **2.1. Définition**

Les bactéries sont des micro-organismes, unicellulaires et procaryotes présents dans tous les milieux [25, 44]. Une infime minorité des bactéries est pathogène, l'immense majorité est bénéfique et indispensable aux processus biologiques. Ainsi, les bactéries participent à des nombreux cycles, comme le cycle de l'azote. Elles vivent en symbiose ou en parfaite harmonie avec leurs hôtes. En tenant le seul exemple de l'homme, il présente une flore normale estimée à  $10^{14}$ , soit cent mille milliards [44].

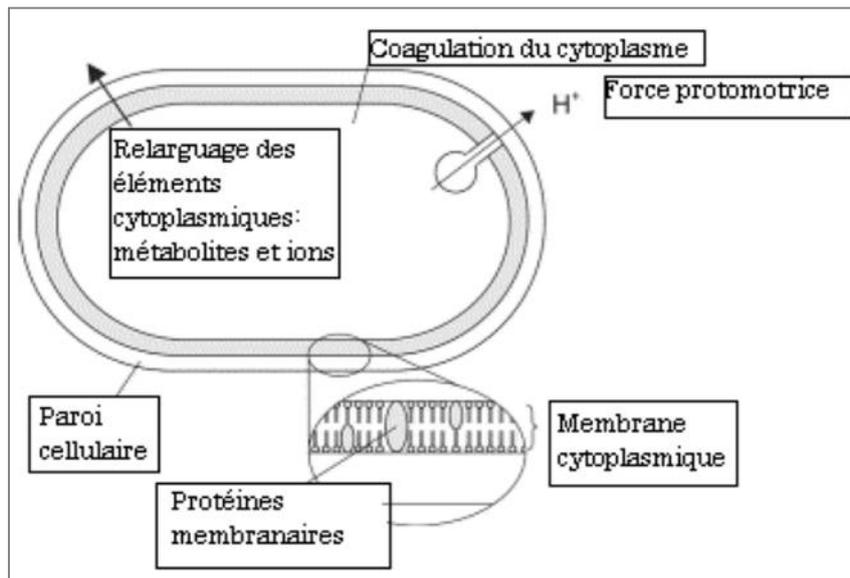
Elles mesurent environ 1 micromètre et sont donc invisibles à l'œil nu. Au microscope optique, elles peuvent être observées soit à l'état frais ou après coloration de gram. La coloration de gram permet de distinguer deux groupes de bactéries : les bactéries à gram positif (colorées en violet) et les bactéries à gram négatif (colorées en rose). Cette distinction de la réponse à la coloration est due à la différence qui existe dans la composition des parois bactérienne [25].

## 2.2. Activité antibactérienne des huiles essentielles

Le mécanisme d'action antibactérien des huiles essentielles n'est pas bien élucidé. Compte tenu de la diversité des molécules présentes dans les huiles essentielles, l'activité antibactérienne semble résulter d'une combinaison de plusieurs modes d'action, impliquant différentes cibles cellulaires [24].

Parmi les mécanismes qui seraient mis en jeu, on cite :

- Précipitation des protéines et des acides nucléiques.
- Inhibition de la synthèse des macromolécules (ADN, ARN, protéine et peptidoglycanes).
- Inhibition de la perméabilité membranaire sélective et détérioration membranaire.
- Inhibition de la glycolyse et déplétion potassique.
- Modification de la morphologie de la cellule bactérienne.
- Absorption et formation d'un film autour de la cellule bactérienne avec inhibition des processus de respiration, d'absorption et d'excrétion [12] (**Figure 7**)



**Figure 7** : principaux sites d'action des huiles essentielles [49]

## 2.3. Les facteurs influençant l'activité antimicrobienne des HE

L'efficacité antimicrobienne des HE dépend de deux paramètres principaux : la composition chimique de l'HE d'une part et le micro-organisme d'autre part [12].

### 2.3.1. Activité liée à la composition chimique

L'activité des huiles essentielles est souvent attribuée à l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs. Toutefois, les composés minoritaires pourraient agir de manière synergique [12].

Les composés chimiques connus pour leur efficacité antimicrobienne et leur large spectre sont Les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools ( $\alpha$ -terpinéol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes, les cétones et plus rarement les carbures.

Les phénols, dont le thymol et l'eugénol, sont responsables de l'activité bactéricide des huiles essentielles qui en contiennent. Ils produisent des dégâts irréversibles au niveau de la membrane. Cependant, il est à signaler que les phénols seuls ne sont pas responsables de l'intégralité de l'activité des huiles essentielles; les autres composés chimiques doivent également être pris en compte [12].

Les alcools sont généralement plus connus pour leur activité létale que bactériostatique sur les Cellules végétatives, en dénaturant les protéines.

Les aldéhydes, fortement électro-négatif à double liaison, deviennent de puissants agents antimicrobiens en réagissant avec les composés nitrés vitaux (protéines et acides nucléiques) des bactéries [12].

### **2.3.2. Activité liée au microorganisme**

Une huile essentielle peut être biocide vis-à-vis de certaines souches, biostatique vis-à-vis d'autres ou encore n'avoir aucun effet. Ceci peut être lié au type de microorganisme (à Gram positif ou à Gram négatif), à son métabolisme et à sa résistance [12].

En effet, les bactéries Gram négatif seraient plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries Gram positif grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram négatif est plus riche en lipo-polysaccharides et en protéines que ceux de Gram positif la rendant plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer [46] (Annexe IV).

## **3. Champignon**

### 3.1. Définition

Les mycètes (champignons) sont des organismes eucaryotes, appartenant au règne Fungi. Ils sont hétérotrophes, se nourrissent par absorption à partir du mycélium (réseau de filaments).

Les mycètes vivent en commensaux (à l'exemple du *Candida* sp) chez l'homme sans occasionner de lésions ; parfois en parasites d'où le terme « mycoses » pour les lésions qu'ils occasionnent. Selon l'état immunitaire du patient, ils peuvent passer du commensalisme au parasitisme.

On distingue trois types : les champignons filamenteux, les levuriformes et les di morphiques [45]

### 3.2. Activité antifongique des huiles essentielles

Elles agissent à différents niveaux :

- ✓ Sur la paroi ;
- ✓ Sur la membrane ;
- ✓ Sur la synthèse des acides nucléiques ;
- ✓ Sur la synthèse des stérols ; [47]

Certaines huiles essentielles altèrent la perméabilité cellulaire en s'incorporant entre les chaînes grasses acyles constitutives des bicouches lipidiques membranaires et en inhibant la synthèse d'ergostérol, perturbant ainsi la fluidité de la membrane plasmique et conduisant à des altérations et des déformations empêchant l'adhésion des champignons aux muqueuses réduisant ainsi leur virulence et leur contagiosité [20].

Les groupes moléculaires cités en priorité pour leur action antibactérienne se révèlent également actifs sur les champignons. Néanmoins, le traitement sera de plus longue durée [33].

L'activité antifongique est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance du champignon déterminée par simple observation macroscopique, elle décroît selon le type de fonction chimique : **Phénols** > **Alcools** > **Aldéhydes** > **Cétones** > **Ethers** > **Hydrocarbures** [48].

Les HE de cannelle, clou de girofle ou Niaouli par exemples sont des antifongiques [21] (**Annexe V**).

#### **4. Activité antivirale**

La plupart des virus sont sensibles aux HE à phénol. Etant lipophiles, les HE peuvent pénétrer dans l'enveloppe des virus et sont donc plus actives sur les virus enveloppés comme le HSV 1 et 2 (herpès) [38].

Plus d'une dizaine d'HE possèdent des propriétés antivirales, on peut citer l'HE de Ravintsara, l'huile essentielle de Bois de Hô, ou l'huile essentielle de Cannelle de Ceylan [21] (**Annexe VI**).

#### **5. Activité antiparasitaire**

Les molécules aromatiques possédant des phénols et alcools terpéniques ont une action puissante contre les parasites [21].

Les cétones ont également une activité antiparasitaire mais leur utilisation est plus limitée en raison de leurs neurotoxicité [38].

Certains oxydes, comme l'ascaridole, sont également très spécifiques de la lutte antiparasitaire, et constituent de bons anthelminthiques [33].

Le thym à linalol, la sarriette des montagnes ont d'excellentes huiles essentielles antiparasitaires [21].

#### **6. Activité antiseptique**

Les molécules aromatiques sont donc capables de détruire les germes infectieux, et de s'opposer à leurs prolifération tant dans les organismes vivants que dans l'environnement.

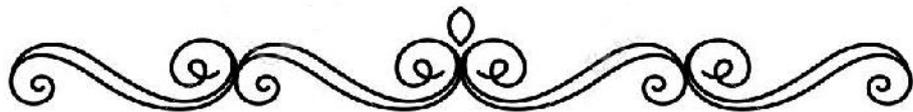
Les alcools alliés aux cinéole, comme c'est le cas dans l'HE d'*Eucalyptus radiata*, sont intéressants en période hivernale pour l'assainissement de l'air des habitations [33].

# **PARTIE ÉXPÉRIMENTALE**



**I**

**MONOGRAPHIE  
DE PLANTE**



Dans cette partie, on va donner la monographie du genre *Thymus*, en se basant sur les résultats qui seront énoncés ultérieurement.

### **1. Nom scientifique**

*Thymus sp*

### **2. Noms vernaculaires**

-Français : thym des jardins, Farigoule, frigoule, barigoule.

-Anglais : commonthyme, gardenthyme

-Arabe : زعيرة

-kabyle : Tizaartate, Tizerdite [14, 53].

### **3. Systématique**

Règne : Plantae

Embranchement : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Thymus* [54].

### **4 Description botanique**

Les thyms (*Thymus sp*) sont des sous arbrisseaux ligneux, pouvant atteindre 40cm de hauteur. Ils possèdent de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur verte foncé, et qui sont recouvertes de poils tecteurs et sécréteurs (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de mono-terpènes. Les calices et les jeunes tiges sont aussi couverts de ces structures qui libèrent l'essence par simple contact, bien qu'en plus faible densité sur les tiges. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose [54,55].

### **5 Culture**

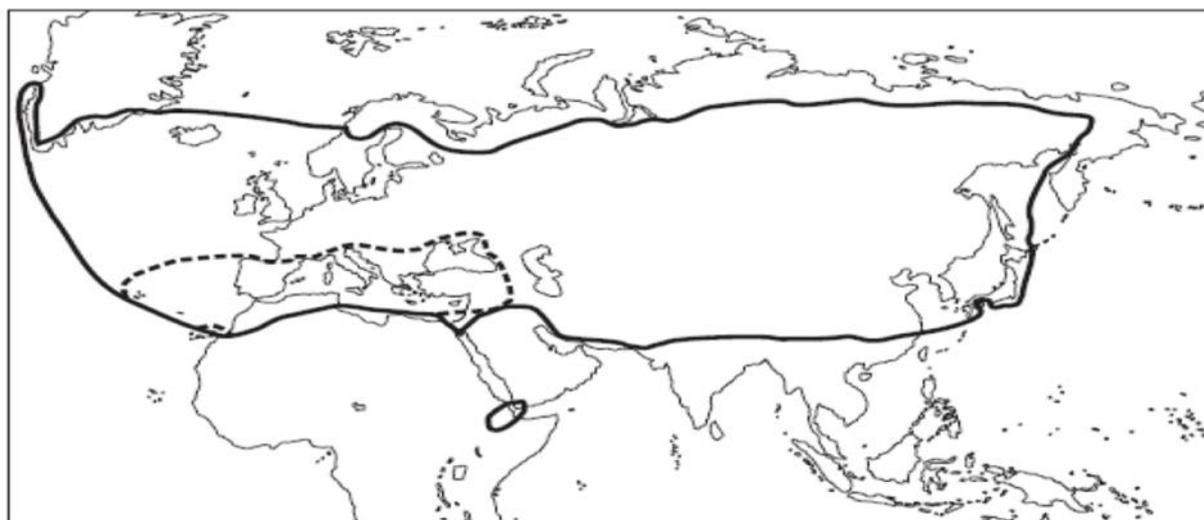
Le thym est très résistant, il pousse bien sur des collines arides et rocailleuses des régions méditerranéenne. Il nécessite des endroits ensoleillés et supporte relativement bien la sécheresse. C'est d'ailleurs sur ce genre de sols que se développe mieux son arôme. Dans les endroits de forte gelée, une protection est recommandée durant l'hiver.

La reproduction se fait par semis ou bouturage, réalisée mis avril ou plus rarement en aout [31,56].

## 6. Distribution géographique

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des lamiaceae, il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la Méditerranée. C'est une plante très répandue dans le nord-ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye). Elle pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut la trouver également en Sibérie et même en Himalaya [57].

Environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen dont 12 sont localisés en Algérie et 8 d'entre elles sont endémiques en Algérie ou en Afrique du nord. Ces espèces sont réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides [53,58]. (**Figure 8**)



**Figure 8** : distribution géographique du thym dans le monde [59].

Les espèces endémiques en Algérie sont citées dans l'**Annexe VII**.

## 7. Composition chimique

### ◆ Flavonoïdes

- Flavones : Lutéoline, thymonine et thymusine
- Flavanones : hespéridine
- Flavanols et dihydroflavanol : Quercétine.

### ◆ Acides phénoliques

- Acide caféique
- Acide rosmarinique (principale polyphénol antioxydant).

◆ **Huile essentielle**

Le thymol et le carvacrol sont les principaux composés phénoliques du genre *Thymus*. Ainsi que le para-cymène, 1,8 cinéol et le linalol. Les huiles essentielles contiennent aussi d'autres monoterpènes et sesquiterpènes tel que :

- $\alpha,\gamma$  terpinène
- $\beta,E$ -caryophyllène
- Oxyde de caryophyllène
- $\beta$  pinène
- Camphre
- Bornéol
- Terpinolène

Les espèces du thym peuvent être regroupées selon des chémotypes identifiés par leur richesse en certains composants par exemple :

**Chémotype 1** : huile essentielle riche en carvacrol ;

**Chémotype 2** : huile essentielle riche en monoterpènes aromatiques (principalement thymol) et plus pauvre en carvacrol ;

**Chémotype 3** : huiles essentielle riche en 1,8 cinéol [60].

## **8. Propriétés thérapeutiques et usages**

### **8.1. Propriétés thérapeutiques**

- Antimicrobienne : antibactérienne, antifongique et antivirale;
- Antioxydante ;
- Antispasmodique et antitussive ;
- Tonique, utérotonique, neurotonique et cardiotonique ;
- Antalgique ;
- Antidiabétique ;
- Immunostimulante par augmentation des IgA [33,54].

### **8.2. Usage traditionnel et courant**

- **Usage de la drogue**

### En cuisine

Le thym est une plante aromatique odorante, très utilisée en cuisine dans la préparation de nombreux plats [18]

### En thérapeutique

Traitement symptomatique de la toux.

Traitement symptomatique des troubles digestifs : ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructations, flatulences [18].

La drogue est employé pour son activité spasmolytique comme stomachique et carminatif, mais aussi comme diurétique, désinfectant urinaire et vermifuge [14]

En usage local, elle est utilisée :

- En cas de nez bouché et de rhume
- Pour le traitement de petites plaies après lavage abondant.
- En bain de bouche pour l'hygiène buccale [18].
- En cas d'amygdalite [10].
- Pour le traitement de l'acné et des verrues [10].

La Commission E précise que la feuille et les fleurs sont utilisées dans le traitement symptomatique des bronchites et de la coqueluche, ainsi qu'en cas d'inflammation des voies respiratoires supérieures.

### • Usage de l'huile essentielle

L'huile essentielle est largement utilisée en aromathérapie comme antiseptique. Elle entre dans la composition de diverses spécialités (pommades antiseptiques et cicatrisantes, sirops pour le traitement des affections des voies respiratoires, préparations pour l'antisepsie buccale).

Le thym est utilisé sous forme de bains aromatiques ainsi qu'en traitement complémentaire en cas d'affections aiguës ou chroniques des voies respiratoires ou de prurit lié à une dermatose. On l'utilise aussi en frictions, diluée à 10 %, pour traiter les douleurs rhumatismales et les névralgies [56].

## 9. Toxicité et précautions d'emploi

L'usage en qualité d'épice du thym et de son huile essentielle, à des doses usuelles (jusqu'à 20 gouttes d'HE/jour) ne présente aucun risque de toxicité ni aigue, ni chronique.

Le potentiel de sensibilisation du thym est faible. Quelques réactions allergiques ont été observées ponctuellement, mais il existe des réactions croisées avec d'autres plantes de la famille des Lamiaceae. L'huile essentielle de thym ne provoque par contre aucune sensibilisation [56].

L'huile essentielle utilisée à l'état pur sur la peau peut provoquer une irritation cutanée (dermocaustique) [61].

Demandez un avis médical avant d'employer les préparations à base de thym pendant la grossesse et l'allaitement car nous ne disposons pas de connaissances scientifiques suffisantes à ce sujet.

Les bains de thym sont contre indiqués en cas de blessures cutanées, de dermatoses, de fièvre, d'insuffisance cardiaque [10].

L'usage du thymol par voie interne est contre indiqué en cas d'entéocolites, d'insuffisance cardiaque et durant la grossesse [14].



## **II**

# **MATÉRIELS ET MÉTHODES**



La partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de Pharmacognosie, du laboratoire d'hydrobromatologie et du laboratoire d'analytique de la faculté de médecine UMMTO. A l'exception de l'étude de l'activité antimicrobienne, qui elle, a été réalisée au niveau de laboratoire de Microbiologie-Parasitologie du CHU Tizi Ouzou.

## II.1. Matériel

### 1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal, utilisé pour la réalisation des coupes histologiques, est constitué des parties aériennes de *Thymus* sp qui a été acheté dans la région de Béni Douala en Janvier 2018.

Tandis que, pour l'étude microscopique et l'extraction, la plante pulvérisée a été achetée auprès d'un épicier à Tizi Ouzou ville.

### 1.2. Réactifs et solvants

Les réactifs et les solvants employés sont cités dans le tableau suivant (**Tableau I**):

**Tableau I** : liste des réactifs et solvants utilisés dans la partie pratique

réactifs	Solvants
<b>Vert d'Iode</b>	Hypochlorite de sodium
<b>Rouge Congo</b>	Eau distillé
<b>Glycérine</b>	Ethanol absolu
<b>Acide acétique</b>	Ethanol 80%
<b>Réactif de Gazet</b>	Ethanol 60 %
<b>Sulfate de sodium anhydre ( Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)</b>	Ethanol 33%
<b>Hydroxyde de potassium (KOH)</b>	Ethanol 96%
<b>Acide chlorhydrique (HCL)</b>	Pentane
<b>Phénophtaléine</b>	Acétate d'éthyle
<b>Diméthylsulfoxyde (DMSO)</b>	Toluène
<b>Thymol</b>	
<b>Acide sulfurique</b>	
<b>Vanilline</b>	

### 1.3. Verrerie

- Eprouvettes
- Lames et lamelles
- Verres de montre
- Clevenger (hydrodistillateur standardisé par la pharmacopée européenne 3<sup>ème</sup> édition)
- Ballon mono col
- Erlenmeyer
- Fioles jaugés
- Béchers
- Burettes
- Réfrigérant à boule
- Pipettes pasteur
- Tubes à essai
- Cuve à CCM

### 1.4. Appareillage

- Microscope optique
- Chauffe ballon
- Balance analytique
- Réfractomètre d'Abbe
- Polarimètre
- Ph mètre
- Agitateur magnétique
- Chambre noire à UV
- Etuve
- Autoclave
- GC-MS SQ8T mass spectrometer clarus 680.
- Agitateur à ultrasons

## II.2. MÉTHODES

### 1. Etude anatomique de la plante *Thymus* sp

Pour chercher des spécificités morphologiques et anatomiques de la plante et localiser éventuellement les sites sécréteurs des huiles essentielles, des coupes histologiques

microscopiques au niveau de la tige et des feuilles de la plante ont été réalisés puis colorés par la technique de la double coloration (Vert d'iode - Rouge Congo), celles-ci permettent la distinction des différents constituants tissulaires de la plante.

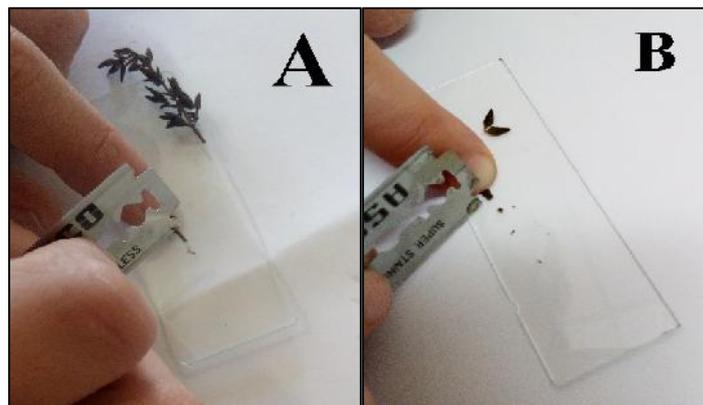
### 1.1. Préparation des organes

Une solution de conservation a été préparée afin de ramollir les organes et de faciliter la réalisation des coupes. La solution est composée de :

- 10 ml d'eau distillée
- 10 ml de glycérine
- 10 ml d'alcool absolu.

### 1.2. Réalisation des coupes

A l'aide d'une lame de rasoir, ont été réalisés des coupes transversales aussi fines que possible au niveau de la tige et les feuilles préalablement ramolli dans la solution de conservation.



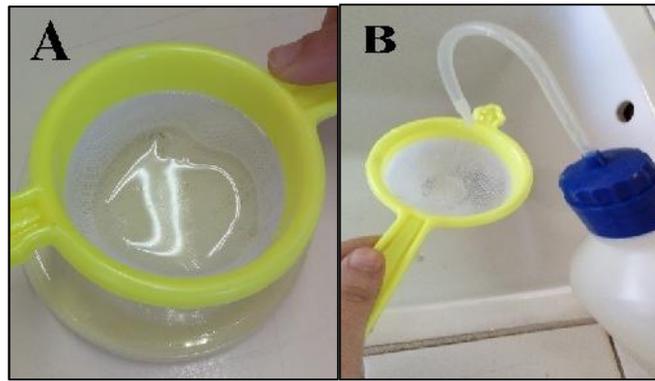
**Figure 9:** réalisation des coupes de *Thymus* sp au niveau de :

A : la tige ; B : la feuille [75]

Après la réalisation des coupes, celles-ci ont été déposées dans une passoire afin d'effectuer la coloration.

### 1.3. Technique de la double coloration

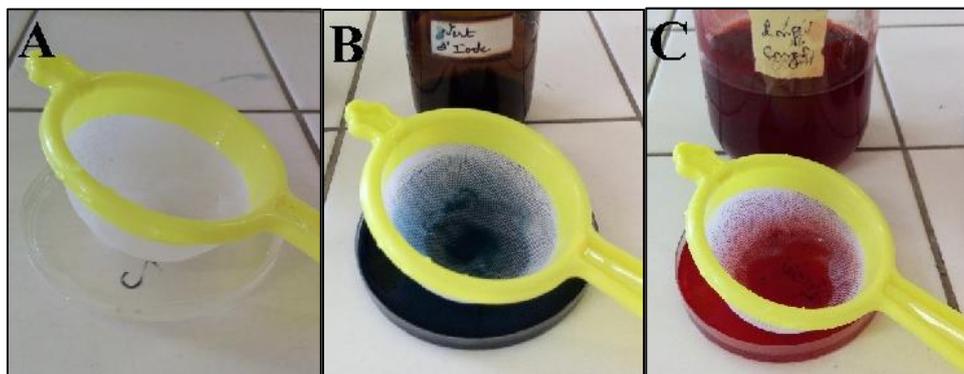
- ◆ Les coupes histologiques ont été placées dans une solution d'hypochlorite de sodium (eau de javel) pendant 20 min afin de les vider de leurs contenus cellulaires et de ne garder que les parois squelettiques.
- ◆ Puis elles ont été lavées à l'eau distillée plusieurs fois pour enlever l'excès d'hypochlorite de sodium.



**Figure 10 :** A- coupes placées dans l'eau de Javel ; B- rinçage à l'eau [75].

◆ Elles ont ensuite été introduites successivement

- Dans une solution d'acide acétique à 1 % préalablement préparé en diluant 1 ml d'acide acétique dans 100 ml d'eau distillée afin d'éliminer les restes d'eau javel et préparer les coupes à la coloration.
- Dans une solution de Vert d'iode (colore les tissus lignifiés et scléreux en vert) pendant 30 secondes à 1 min, suivi immédiatement par un rinçage à l'eau jusqu'à ce que l'eau de rinçage devienne limpide.
- Puis, dans une solution de Rouge Congo (colore les parois celluloseuses en rose) pendant 5 minutes, suivi également par un rinçage à l'eau distillée.

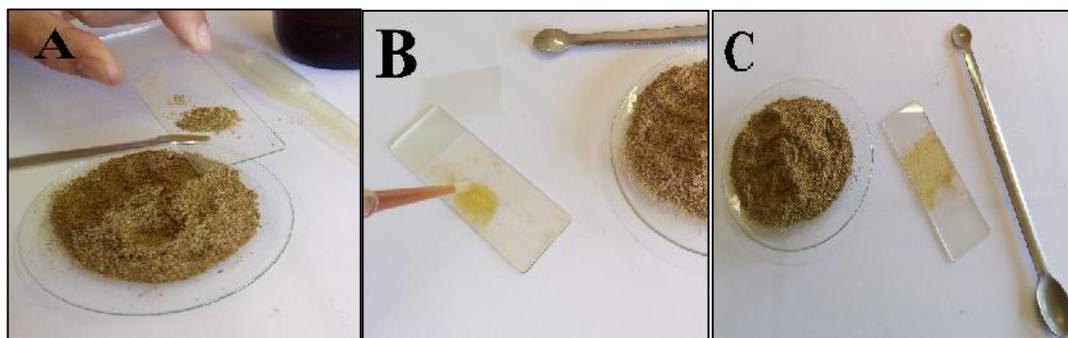


**Figure 11:** A- coupes minces dans l'acide acétique ; B- dans le vert d'iode ; C- dans le rouge congo [75]

- Et enfin, les coupes ont été déposées entre lames et lamelles additionnées d'une goutte de glycérine puis ont été observées au microscope optique.

#### 1.4. Etude microscopique de la poudre

Une fine couche de la poudre a été déposée sur une lame, à laquelle est ajoutée une goutte du réactif de GAZET et a été recouverte d'une lamelle. La lame a été ensuite observée au microscope optique.



**Figure 12:** A- couche mince de poudre sur une lame ; B- ajout du réactif de Gazet ; C- lame prête à être observé [75].

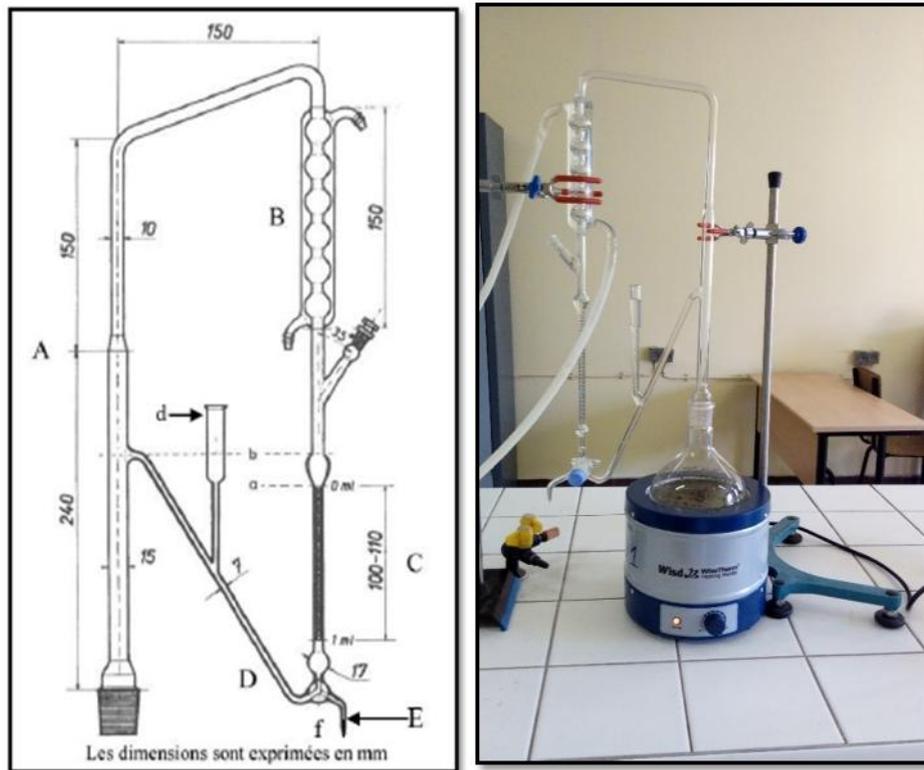
🚦 Le réactif de Gazet

Tous les éléments de la poudre végétale, sous l'action du réactif de Gazet Le Chatelier, deviennent transparents ou prennent une coloration particulière :

- Les éléments lignifiés (vaisseaux du bois, fibres, cellules scléreuses et certains poils) se colorent en jaune-vert très clair ;
- Les éléments subérifiés sont colorés en rouge brun (Soudan III) ;
- Les lipides, huiles essentielles, résines et latex sont colorés en rouge orangé (Soudan III) ;
- L'amidon se colore en bleu foncé à noir sous l'influence de l'iode.

## 2. Extraction de l'huile essentielle

Pour extraire l'huile essentielle de *Thymus* sp, la technique d'hydrodistillation simple a été utilisée, celle-ci se produit dans l'appareil de Clevenger et consiste à porter à ébullition l'eau à laquelle est mélangée la poudre dans un ballon de laboratoire, et ce, grâce à un chauffe ballon. Les vapeurs hétérogènes ascendantes provenant du ballon progressent dans la partie A puis se condensent sur la surface froide du réfrigérant (partie B). Le condensat est récupéré dans la partie C où l'huile essentielle se sépare de la phase aqueuse grâce à leurs différences de densité. L'eau en excès retourne dans le ballon par la partie D qu'un robinet à 3 voies (f) fait communiquer avec la partie C. (**Figure13**)



**Figure 13** : le Clevenger (hydrodistillateur standardisé) [75]

Afin de réaliser cette extraction, les étapes suivantes ont préalablement été réalisées :

- 1) Peser 50 grammes de la poudre du *Thymus* sp, les mélanger à 500 ml d'eau contenue dans un ballon de laboratoire d'un litre de volume.
- 2) Placer ce ballon dans le chauffe-ballon et introduire l'ouverture du Clevenger dans celle du ballon.
- 3) Etablir un équilibre entre les volumes d'eau présents dans les parties basses du Clevenger (C, D et d) en introduisant de l'eau par l'ouverture « d » jusqu'à atteindre le niveau « b ».
- 4) Allumer le chauffe ballon.





**Figure 14:** étapes préalables à l'extraction (les numéros correspondent aux étapes sus-citées) [75].

Après deux heures et demie d'extraction, les deux phases (eau florale et huile essentielle) présentes dans la partie C et la partie E sont séparées en tournant le robinet à 3 voies.

L'huile essentielle a été déshydratée avec du sulfate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) pour éliminer les traces d'eau avant d'être conservée dans un flacon en verre hermétique et ombré à température ambiante.

### 3. Caractérisation de l'huile essentielle

#### 3.1. Caractérisation organoleptique

Cette caractérisation a porté sur trois volets :

- ✓ L'aspect
- ✓ La couleur
- ✓ L'odeur

#### 3.2. Caractérisation physico-chimique

Tous les caractères physico-chimiques sont réalisés selon les normes AFNOR 2000.

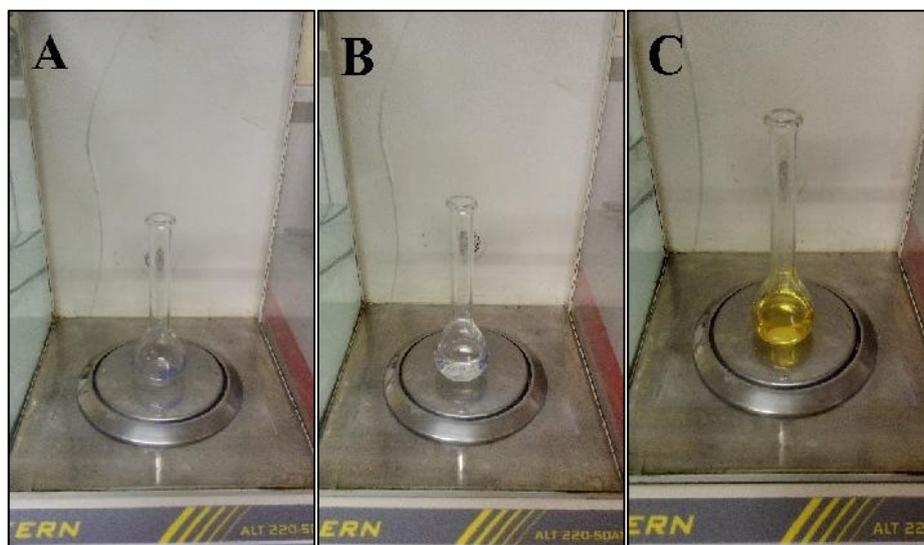
##### ❖ Caractères physiques

- ✓ **Densité relative**

L'AFNOR recommande l'utilisation d'un pycnomètre d'une capacité de 5 ml, mais à défaut, celui-ci a été remplacé par une fiole jaugée d'une capacité de 20 ml.

Peser successivement : la fiole vide, la fiole remplie de volumes égaux d'HE et d'eau purifiée récemment préparée.

Noter à chaque fois leurs poids exacts ; La pesée a été réalisée à une température de 20°C, à l'aide d'une balance analytique.



**Figure15** : pesé de la fiole : **A-** vide ; **B-** contenant de l'eau purifiée ; **C-** contenant de l'HE [75].

Calcul de la densité de l'huile essentielle à partir de la loi suivante :

$$d = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

$m_0$ : masse en gramme de la fiole de 10 ml vide ;

$m_1$ : masse en gramme de la fiole remplie d'eau purifiée ;

$m_2$ : masse en gramme de la fiole remplie d'HE de *Thymus* sp.

### ✓ Indice de réfraction

Le réfractomètre d'Abbe a été utilisé pour mesurer l'indice de réfraction de l'huile essentielle, à une température T indiquée par le thermomètre de l'appareil.



**Figure 16:** le réfractomètre d'Abbe [75].

Le réfractomètre a été préalablement étalonné à l'aide d'une solution tampon.

Placer une goutte d'HE *dethymus* sp sur le prisme du réfractomètre ;

Effectuer le réglage nécessaire grâce à la micro-visse ; puis lire le résultat.

L'indice de réfraction diminue lorsque la température augmente. Lorsque sa mesure est réalisée à une température  $T^{\circ}\text{C}$ , utiliser la formule suivante pour la ramener à la valeur de référence de  $20^{\circ}\text{C}$  :

$$n_{T'} = n_T + 0,00045 * (T - T')$$

$n_{T'}$  : indice de réfraction de référence ;

$n_T$  : indice de réfraction mesurée de l'HE à une température  $T^{\circ}\text{C}$  ;

$T$  : température de mesure de l'indice de réfraction de l'HE ;

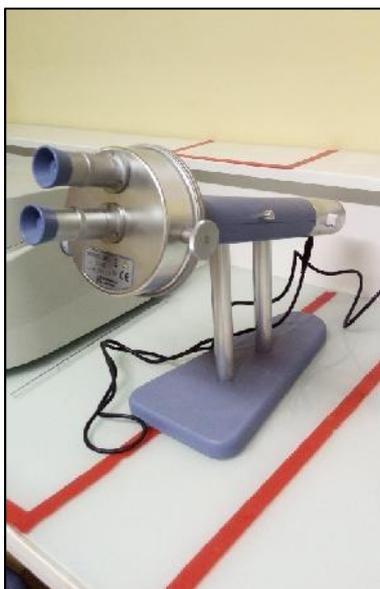
$T'$  : température de référence qui est de  $20^{\circ}\text{C}$ .

#### ✓ **Pouvoir rotatoire**

L'AFNOR recommande une dilution de l'huile essentielle dans l'éthanol à raison de 0.2 g dans 100 ml. Par soucis d'économie une dilution de 0.04 g dans 20ml a été réalisée.

Remplir la cellule du polarimètre par l'huile essentielle diluée. La température de référence est de  $20^{\circ}\text{C}$ .

Lire l'angle de rotation à l'aide de l'appareil.



**Figure 17:** le polarimètre [75].

Calculer le pouvoir rotatoire par la formule suivante :

$$[\alpha]_{d=20}^{20} = \alpha / (L * C)$$

$[\alpha]_{d=20}^{20}$  : pouvoir rotatoire spécifique de l'HE à 20°C ;

$\alpha$  : angle de déviation de la lumière polarisée (lu sur le polarimètre) en ° ;

C : concentration de l'essence exprimée en g/100ml;

L : trajet optique ou épaisseur de la cellule de mesure en dm

#### ✓ Miscibilité à l'éthanol

A partir de l'éthanol absolu, différents titres ont été préparés. Respectivement 96%, 80%, 60% et le 33%.

En prenant l'exemple de l'éthanol à 80%, 100ml ont été préparées selon la loi suivante :

$$T = (T_{\text{voulu}} \times V_{\text{final}}) / T_i$$

T : taux de mouillage (volume d'éthanol à prélever)

$T_{\text{voulu}}$  : titre d'éthanol voulu

$V_{\text{final}}$  : volume de la solution totale

$T_i$  : titre initial de l'éthanol

Donc, 80ml d'éthanol absolu, 20ml d'eau purifiée sont mis dans une fiole jaugée de 100ml. Puis agités à l'aide d'un agitateur magnétique.

Dans un Erlen Meyer, mettre 1 ml d'HE de *Thymus* sp puis ajouter graduellement à l'aide d'une burette, l'éthanol à 80% à la température de 20°C.

Évaluer leur miscibilité en agitant énergiquement lors de l'ajout du solvant. Lorsque la solution obtenue est parfaitement limpide, noter le volume V de la chute de burette, puis poursuivre l'addition de l'éthanol (solvant) par fractions de 0,5 ml jusqu'à un total de 20 ml en agitant après chaque addition ; la solution doit rester limpide.

Répéter l'opération pour chaque titre alcalimétrique d'éthanol.

La miscibilité des huiles essentielles dans l'éthanol à la température de 20°C, est exprimée par : un volume d'huile essentielle dans V volumes d'éthanol de titre t.

### ❖ Caractères chimiques :

#### ✓ Indice d'acide :

2 g d'HE, 5 ml d'éthanol à 96 % sont mis dans un erlenmeyer.



**Figure 18:** le mélange réactionnel : HE + éthanol [75].

Ensuite, on titre par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (KOH) 0.1N contenu dans une burette.

Le point d'équivalence a été mis en évidence avec un PH mètre à la place de la phénophtaléine sachant que le point de virage de cette dernière est de 8.3. Lorsque cette valeur est affichée par le PH mètre, la chute de burette est prise.

L'indice d'acide ( $I_A$ ) est calculé par la formule suivante :

$$I_A = V \times C \times (56.11/m)$$

V : volume de KOH utilisé en (ml)

C : concentration en moles par litre de la solution de KOH

m : masse de la prise d'essai

✓ **Indice de saponification :**

Afin des réaliser cet indice, une solution d'hydroxyde de potassium 0.5N et une solution d'acide chlorhydrique 0.5N sont requises.

- 100 ml d' HCL à 0.5N ont été préparé à partir d'une solution initiale d'acide chlorhydrique de titre 12.16 M selon la loi d'équivalence :

$$V_1 = (C_2 \times V_2) / C_1$$

$V_1$  : volume d'HCL à prélever de la solution mère.

$V_2$  : volume de la solution finale.

$C_1$  : titre de la solution mère d'HCL.

$C_2$  : titre de la solution d'HCL finale.

Donc, 6.08ml d'HCL à 12.16M sont placés dans une fiole jaugée de 100ml auxquelles a été ajoutée de l'eau purifiée jusqu'au trait de jauge. L'homogénéisation étant assurée par un agitateur magnétique.

- 100 ml de KOH 0.5 N ont été préparé en dissolvant 2.8 g de pastilles de KOH dans 100ml d'éthanol absolu.

Cette masse a été calculée en prenant en compte la masse molaire de la KOH, qui équivaut à 56.11g/mol, en procédant ainsi :

$$\begin{array}{l} 56.11 \text{ g} \longrightarrow 1 \text{ mol/l} \\ m \longrightarrow 0.5 \text{ mol/l} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} 56.11 \text{ g} \\ m \end{array}} \right\} \text{ donc } 28.05 \text{ g} \longrightarrow 1 \text{ l}$$

$$\begin{array}{l} 28.05 \text{ g} \longrightarrow 1000 \text{ ml} \\ m' \longrightarrow 100 \text{ ml} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} 28.05 \text{ g} \\ m' \end{array}} \right\} \text{ donc } 2.8 \text{ g} \longrightarrow 100 \text{ ml}$$

Dans un ballon de 250ml, on introduit 1g d'HE de *Thymus* sp et 25ml d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (KOH) 0.5M à l'aide d'une burette. L'ensemble est porté au reflux pendant 1h.



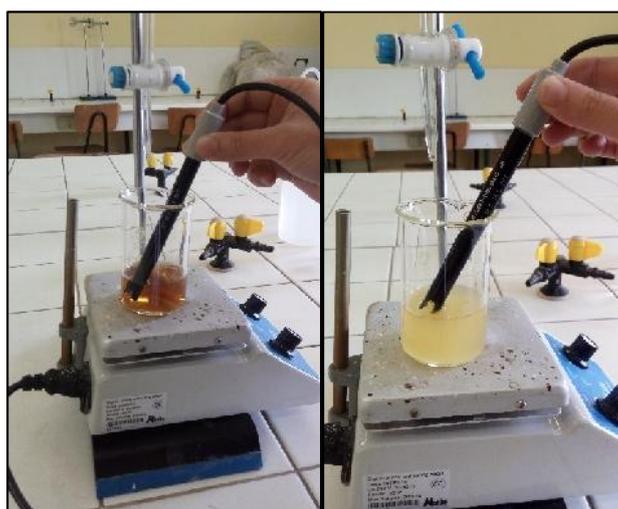
**Figure 19** : pesée de l'huile essentielle [75].



**Figure 20**: reflux du mélange [75].

Après refroidissement de la solution, on ajoute 20ml d'eau distillée.

L'excès de KOH est titré par une solution d'acide chlorhydrique (HCL) 0.5N.



**Figure 21** : titrage de l'excès de KOH par du HCL [75].

Le point d'équivalence a été mis en évidence de la même manière expliquée précédemment.

Une opération à blanc est réalisée dans les mêmes conditions que précédemment.

L'indice de saponification ( $I_s$ ) est calculé à l'aide de la relation suivante :

$$I_s = [28.05 \times (V_0 - V) / m]$$

$V_0$  : volume en (ml) de la solution d'HCL pris dans l'essai à blanc.

$V$  : volume en (ml) de la solution d'HCL pris en présence de l'HE.

$m$  : masse en (g) de la prise d'essai.

**✓ Indice d'ester :**

Calcule de l'indice d'ester ( $I_E$ ) à partir de l'indice de saponification ( $I_S$ ) et de l'indice d'acide ( $I_A$ ) par la relation suivante :

$$I_E = I_S - I_A$$

**3.3. Caractérisation chromatographique****✓ Chromatographie sur couche mince (CCM)**

La CCM a été réalisé selon le protocole de la Pharmacopée Européenne 7.0 [76] concernant l'huile essentielle du thym.

**Solution à examiner**

La Pharmacopée recommande la dissolution de 0.2 g d'huile essentielle de thym dans 10 ml de pentane. Faute de l'absence de fioles jaugées de 10 ml, on a utilisé une fiole jaugé de 20 ml dans laquelle on a pesé 0.4 g d'huile essentielle. La fiole a été complété jusqu'au trait de jauge avec du pentane.

**Solution témoin**

Dans une fiole jaugée de 20 ml, On a dissout 0.3g de thymol dans 20 ml de pentane.

**Plaque**

Sur une plaque au gel de silice pour CCM, on a tracé une ligne de dépôt à 2cm du bas de la plaque. On a placé sur cette ligne deux marques bien espacées : pour l'huile essentielle et pour le témoin. À 15cm de la première ligne, on a tracé la ligne de fin d'élution.



**Figure 22:** plaque CCM

### Phase mobile

A l'aide d'une pipette 5 ml d'acétate d'éthyle ont été prélevé auquel 95 ml de toluène ont été ajouté (5:95 v/v) dans une fiole jaugé de 100 ml. Cette phase a été versé dans la cuve chromatographique qui a été fermé afin d'éviter l'évaporation des solvants.

### Dépôt et développement

Sur la ligne de dépôt, 20  $\mu$ l de la solution à examiner ont été déposé et 20  $\mu$ l de la solution témoin sur leurs marques respectives à l'aide d'une micropipette.

La plaque a été placée verticalement dans la cuve préalablement saturée par les vapeurs de la phase mobile : la ligne de dépôt doit être au-dessus du niveau du solvant. Puis on l'a fermé.

La phase mobile contenue dans la cuve monte le long de la plaque. Après 1h d'élution la plaque a été retirée et laissée sécher à l'air libre.



**Figure 23** : phase d'élution [75].

### Révélation du chromatogramme

- **Révélation aux UV** : la plaque a été introduite après séchage dans une chambre noire à UV et observée à une longueur d'onde comprise entre 254 nm et 365nm.
- **Révélation chimique** : elle a été faite à l'aide de la vanilline sulfurique. Après avoir pulvérisé la solution révélatrice, la plaque est chauffée à l'étuve (100 C°) pendant 5 min.

**🚩 Préparation du réactif de révélation**

Dans un Erlen Meyer, dissoudre 2g de vanilline dans 200ml d'éthanol absolu. Homogénéiser la solution aux ultrasons. Ajouter 4ml d'acide sulfurique goutte à goutte [31].



**Figure 24** : réactifs utilisés pour la préparation de la vanilline sulfurique [75].

**Exploitation de la CCM**

La distance parcourue entre la ligne de dépôt et le centre de la tache est caractéristique de l'espèce chimique : elle est identique que l'espèce soit pure (témoin) ou dans un mélange (HE).

Les espèces qui ont migrées à des hauteurs identiques sont les mêmes.

Le rapport frontal ou rate of flow ( $R_f$ ) pour chaque tache observée a été calculé comme suit :

$$R_f = h / H$$

h : la distance entre la ligne de dépôt et le centre de la tache

H : la distance entre la ligne de dépôt et le front du solvant

**✓ Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG / SM)**

Afin de déterminer la composition chimique de l'huile essentielle de thym, l'analyse par CPG-SM a été réalisée au centre national de toxicologie (CNT) selon une procédure interne qui est la suivante :

- Conditions expérimentales
- Type d'instrument: PE AutoSysteme GC with built-in Autosampler
- Dilution : 1/500 dans toluène ;
- Type d'injecteur : normal
- Volume d'injection : 1µL
- Température d'injection : 250°C
- Colonne : 30m ; diamètre interne 0,32 mm ; diamètre de fil 0,25 mm ;
- Programme thermique : 50°C pendant 10 min ; montée à 200°C en 25 min, hold 10 min ;
- Débit de phase mobile : 1ml/min
- Mode d'ionisation : Impact Électronique (IE), 70 eV (mode positif) ;
- Type d'analyse full scan masse entre 40 et 450 m/z ;
- Temps d'analyse : 45min

## **4. Préparations à partir de la poudre de thym**

### **4.1.Préparation de la macération**

La macération a été préparée en mélangeant une cuillère à soupe de la poudre de thym avec un bol d'eau froide du robinet, puis laissée tremper pendant quelques heures.

Elle a été ensuite filtrée puis versée dans un flacon et conservée au frais [3].

### **4.2.Préparation de la décoction**

20g de la poudre de thym ont été placées dans une casserole, puis recouvertes de 750ml d'eau froide et portées à ébullition. La préparation a été laissée sur le feu 20 minutes, jusqu'à réduction d'un tiers environ.

La décoction est ensuite filtrée avec une passoire puis versée dans un flacon et conservée au frais [3].

### 4.3. Préparation de l'infusion

20g de poudre de thym ont été placées dans une tasse, 500 ml d'eau bouillante ont été versée dessus. La tasse a été couverte et laissée infuser 10 minutes.

L'infusion é été ensuite filtrée avec une passoire puis versée dans un flacon et conservée au frais [3].

La décoction et l'infusion ont été préparées le même jour de l'évaluation de l'activité antimicrobienne. Tandis que la macération a été préparée 2 jours auparavant.



**Figure 25** : les préparations obtenues à partir de la poudre de thym [75].

## 5. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'HETS

### 5.1. Evaluation qualitative : Aromatogramme

L'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne de l'HE ou d'un extrait aromatique est réalisée par la méthode de diffusion sur disque, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité ou la résistance des bactéries.

Le principe de la méthode repose sur le pouvoir migratoire du composé testé en milieu solide (MH) dans une boîte de pétri, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible.

L'activité antibactérienne sur la cible est appréciée par la mesure de la zone d'inhibition [24, 62].

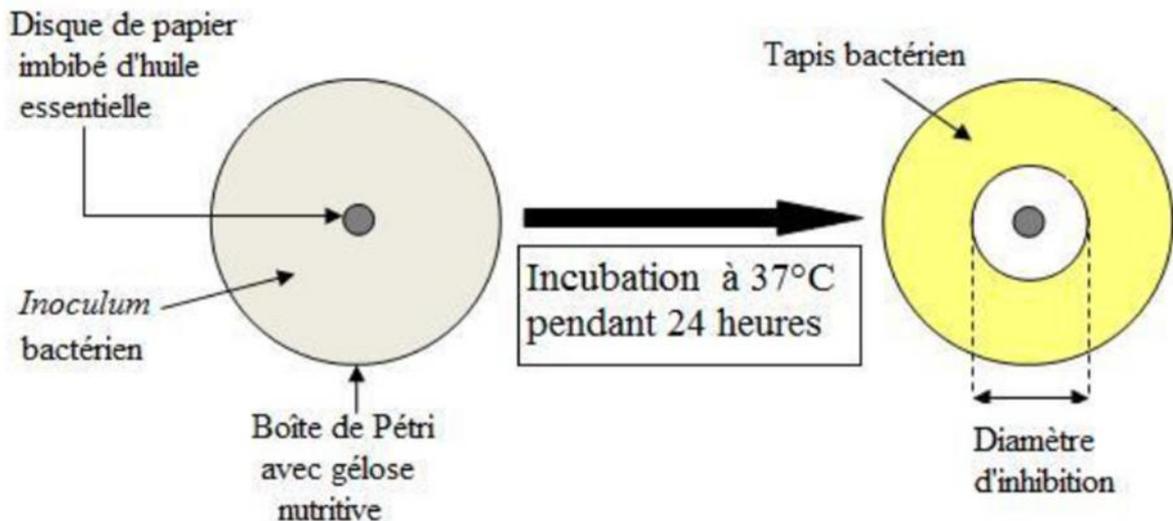


Figure 26: PRINCIPE DE LA DIFFUSION SUR DISQUE [51].

#### ◆ Souches microbiennes

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits de *Thymus* sp sont les suivantes :

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ;
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ;
- *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ces souches de collection internationale ATCC (American type culture collection) ont toutes été fournies par le laboratoire de microbiologie parasitologie du CHU Nedir Mohammed de Tizi Ouzou.

Une souche fongique *Candida* sp a été isolée à partir de prélèvements de malades hospitalisés.

#### ◆ Ré-isolement des souches microbiennes

Afin d'obtenir des souches microbiennes pures et jeunes, des ré-isolements réguliers ont été effectués selon la méthode des stries, avec la pipette pasteur sur le milieu Hektoen pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, le milieu Chapman pour *Staphylococcus aureus* et le milieu Sabouraud pour *Candida* sp.

#### ◆ Préparation des disques d'aromatogramme

Des disques de 6 mm de diamètre sont préparés à partir du papier buvard, ensuite ils sont mis dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave 30 minutes à 120°C, puis stockés à une température ambiante (le tube à essai est hermétiquement fermé).

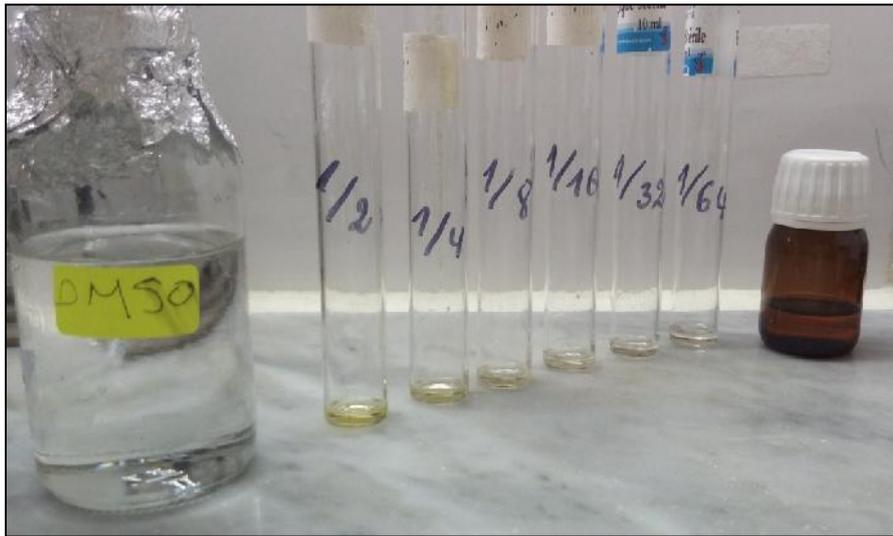


**Figure 27** : les disques [75].

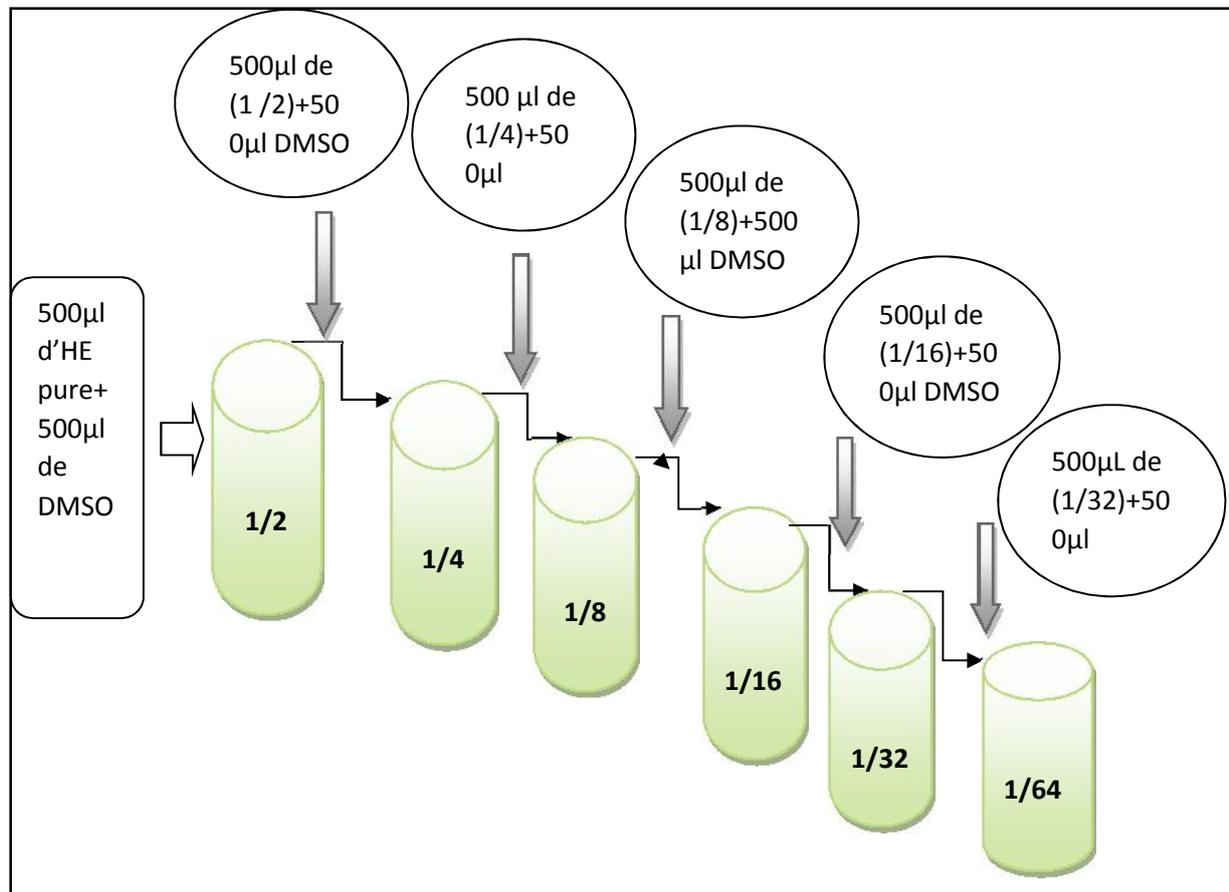
### ◆ Préparation des dilutions de l'HE

Une série de dilutions de l'huile essentielle de thym dans le DMSO (diméthylsulfoxyde) a été réalisée en débutant par une dilution à 1/2 jusqu'à la dilution de 1/64, dans des tubes en verre stériles :

- Le premier contient 500  $\mu$ l d'huile essentielle et 500  $\mu$ l de DMSO.
- 500  $\mu$ l de la première dilution sont transférées dans le deuxième tube (1/4) auquel on rajoute 500  $\mu$ l de DMSO, puis agiter.
- des dilutions à 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 sont préparés de la même manière selon le schéma de la **Figure 29**



**Figure 28:** les différentes dilutions de l'HE [75].



**Figure 29 :** préparation des différentes dilutions

#### ◆ Préparation des suspensions microbiennes

- A partir d'une culture pure des bactéries à tester sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une pipette pasteur scellée, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger la pipette pasteur dans 5 ml d'eau physiologique stérile.

- bien homogénéiser la suspension bactérienne, sa densité a été ajusté à 0.5 Mc Farland en comparant à un étalon.
- l'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum.



Figure 30 : préparation des suspensions microbiennes [75].

### ◆ L'Ensemencement

- Le milieu de culture utilisé est Muller – Hinton (MH), qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse).
- L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.



Figure 31 : ensemencement des souches microbiennes [75].

#### ◆ Dépôt des disques d'aromatogramme

Une fois les géloses Muller – Hinton sont ensemencées, les disques préalablement préparés sont disposés sur la surface de la gélose dans des conditions stériles, à raison de trois disques par boîte de pétrie pour les différentes dilutions et un disque par boîte pour l'huile essentielle pure et les autres préparations, à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen. Puis, ils ont été imbibés par 10 $\mu$ l de chaque composé testé.

Les boîtes ont été maintenues à température ambiante pendant 20 minutes pour que les composés puissent diffuser.



Figure 32 : dépôt des disques [75]. Figure 33 : dépôt de l'huile essentielle pure [75].

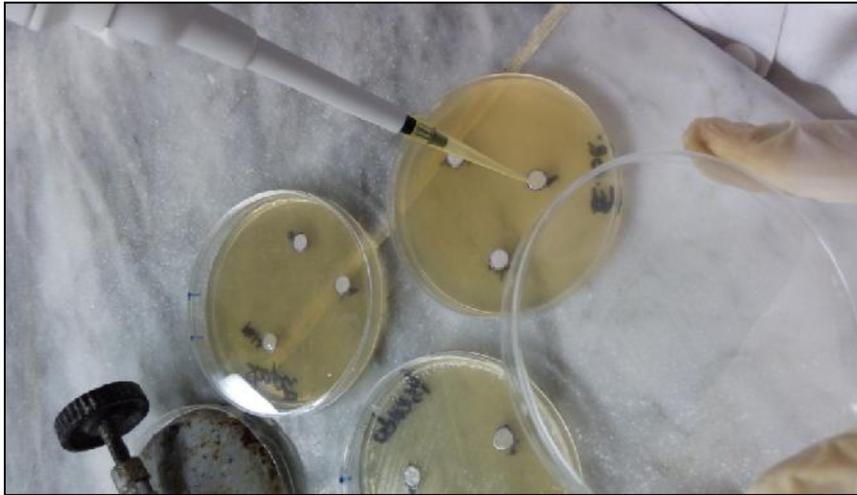


Figure 34 : dépôt des différentes dilutions de l'HE [75].

◆ **Contrôle négatif**

Dans chaque boîte de pétri, Un disque de papier buvard a été déposé sans être imbibé.

◆ **Incubation**

Les boîtes ont été incubées à l'étuve à 37 °C pendant 24 h pour les souches bactériennes, et pendant 48 à 72 h pour la souche fongique.

◆ **Expression des résultats**

L'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo autour des disques, dont le diamètre a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (y compris le diamètre du disque de 6 mm). Une échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle en se basant sur les diamètres des zones d'inhibition (D) permet de distinguer 5 classes d'HE [63].

- Très fortement inhibitrice : D 30 mm
- Fortement inhibitrice : 21 mm D 29 mm
- Modérément inhibitrice : 16 mm D 20 mm
- Légèrement inhibitrice : 11 mm D 16 mm
- Non inhibitrice : D 10 mm

La sensibilité des souches aux agents antimicrobiens a été classifiée en fonction des diamètres d'inhibition des zones d'inhibition selon Djeddi et Al, 2000 [64] comme suite :

(-) souche résistante (D 8 mm) ;

- (+) souche sensible (9mm  $\leq$  D  $\leq$  14mm) ;
- (+ +) souche très sensible (15mm  $\leq$  D  $\leq$  19 mm) ;
- (+ + +) extrêmement sensible (D  $>$ 20 mm).

### 5.2.Evaluation quantitative : CMI

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) correspond à la plus petite concentration de l'huile essentielle inhibant toute croissance microbienne visible à l'œil nu. Elle est réalisée, pour chaque espèce ayant montrée une sensibilité à l'égard de l'huile essentielle lors de l'essai précédent, par la technique de dilutions en milieu solide [65].

#### ◆ Préparation des suspensions microbiennes

Elles ont été préparé comme précédemment

#### ◆ Préparation des dilutions de l'huile essentielle

Une série de dilution de l'HE de thym dans le milieu gélosé est réalisée en commençant par une dilution à 2% jusqu'à la dilution de 0.06%. Elles sont préparées comme suit :

- Incorporer 1 ml de l'HE du Thym. Dans 49 ml d'un milieu gélosé MH (ou Sabouraud) liquéfié. Agiter afin d'homogénéiser le mélange. Une dilution (D0) à 2% volumes à volumes (v/v) a alors été obtenue.
- Prélever 25 ml du mélange précédent (D0) et les diviser dans deux boites de pétri à 12,5 ml chacune.
- Ajouter 25 ml du milieu gélosé liquéfié MH (ou Sabouraud) au 25 ml restant de D0 à 2% afin d'obtenir une dilution (D1) à 1%.
- Prélever 25 ml de D1 et les diviser dans deux boites de pétri à 12,5 ml chacune, puis ajouter 25 ml du milieu gélosé liquéfié MH (ou Sabouraud) au 25 ml restant de D1 permettant ainsi d'obtenir une dilution (D2) à 0,5%.
- Poursuivre les mêmes étapes afin de réaliser les dilutions : D3 à 0,25%, D4 à 0,125%, D5 à 0,0625% et D6 à 0.03125%.
- préparer également deux boites sans huile essentielle comme témoins négatifs, l'une à 12.5ml de MH et l'autre à 12.5 ml de Sabouraud.

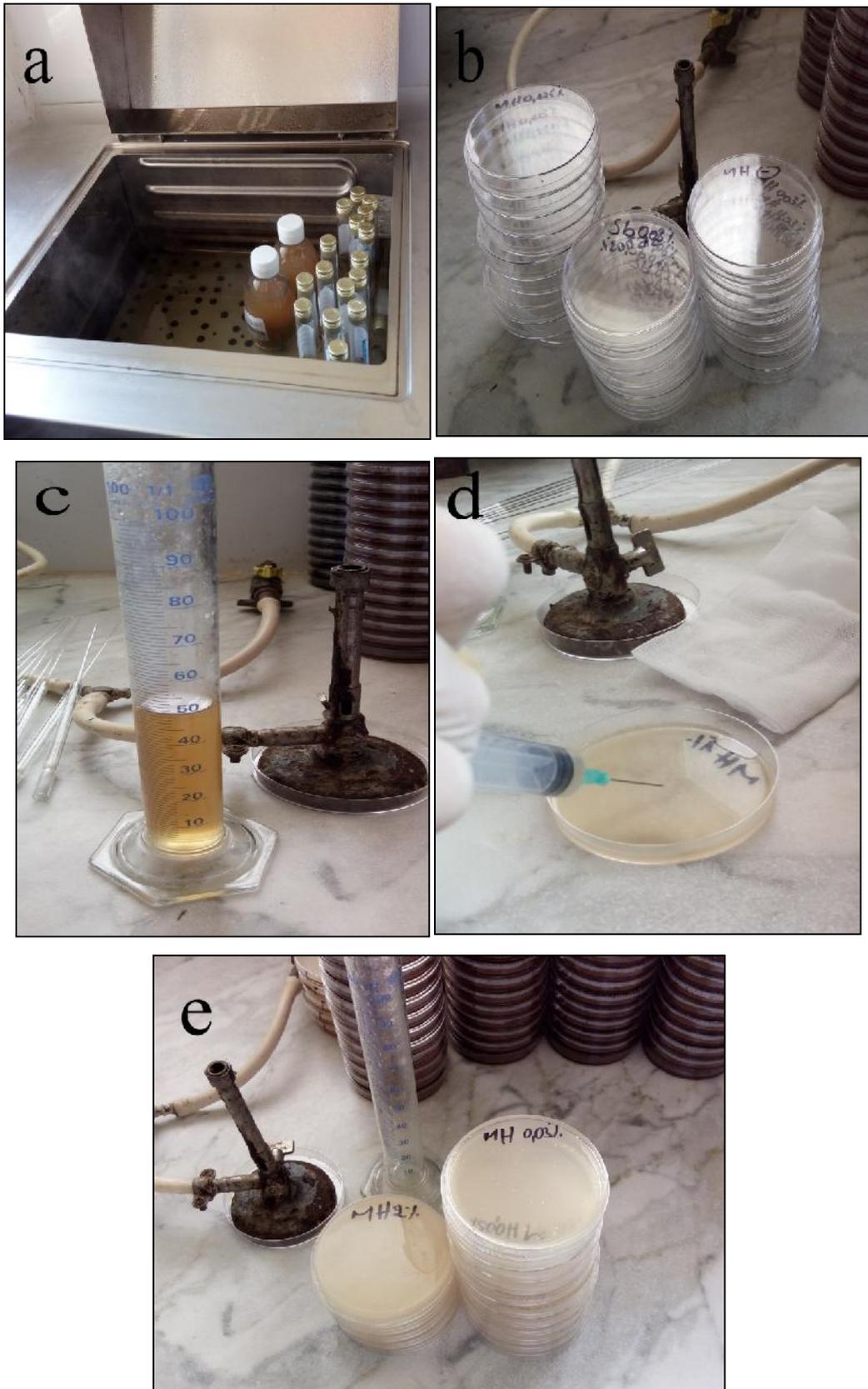


Figure 35 : les étapes de préparation des dilutions [75].

### ◆ Etallement des suspensions microbiennes

Après solidification des milieux, les différentes suspensions microbiennes ont été étalées à l'aide d'un écouvillon sur le MH et à l'aide d'un râteau sur le Sabouraud.

### ◆ Incubation

Les boîtes MH ont été incubées à 37°C pendant 24 heures et les boîtes Sabouraud pendant 48-72 heures.

### ◆ Lecture

La CMI correspond à la plus petite concentration en huile essentielle de *Thymus sp* inhibant toute croissance bactérienne ou fongique visible à l'œil nu.



# **III**

# **RÉSULTATS**

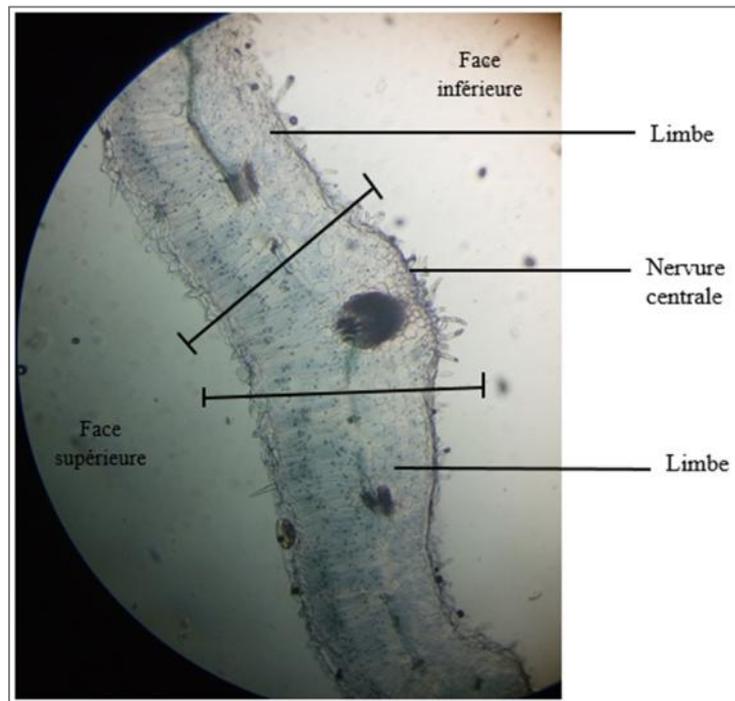


## 1. Étude anatomique de la plante

### 1.1. Observation des coupes

#### ✓ Coupe transversale de la feuille

La coupe transversale de la feuille de *Thymus* sp, organe à symétrie bilatérale, observée au microscope optique (Grossissement 10X10) a permis de distinguer deux parties : le limbe et la nervure centrale (**Figure 36**).



**Figure 36** : observation d'une coupe transversale de la feuille de *Thymus* sp au microscope optique (G10×10).

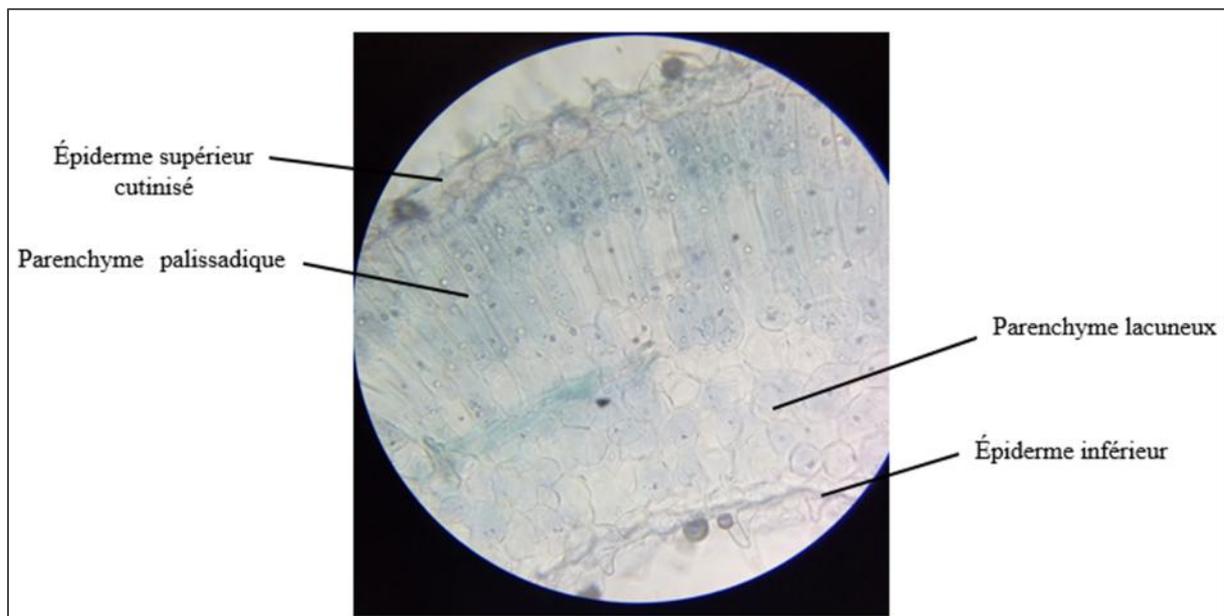
De plus, on peut noter que :

- Le mésophylle est hétérogène, composé d'un parenchyme palissadique à la face ventrale et d'un parenchyme lacuneux à la face dorsale, et asymétrique.
- Présence de vaisseaux conducteurs secondaires

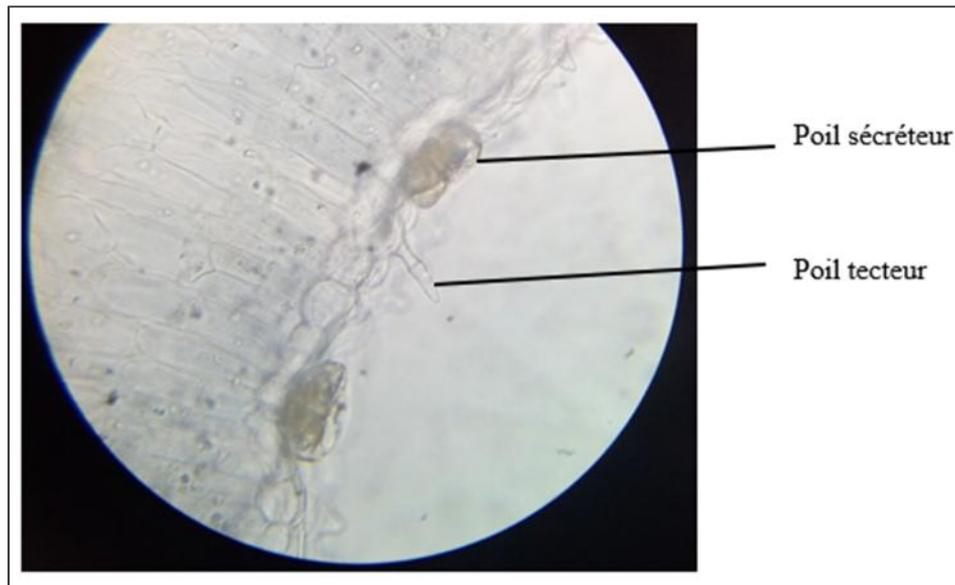
➤ C'est une feuille de Dicotylédone

On observe au niveau du limbe, de l'extérieur vers l'intérieur au grossissement 40X10:

- Un épiderme supérieur cutinisé constitué d'une seule assise de cellules à paroi fine cellulosique colorées en rose par le rouge congo; rôle de protection contre les agressions extérieures (**Figure 37**);
- Annexes de l'épiderme :  
Poils tecteurs longs, pluricellulaires, unisériés, à paroi verruqueuse, nombreux, caractéristiques.  
Poils sécréteurs à tête pluricellulaire, généralement huit cellules et pieds unicellulaire, caractéristiques des Lamiaceae, certains apparaissent colorés en jaune car ils sont remplis d'huile essentielle, ils sont très nombreux (**Figure 38**).
- Deux assises de parenchyme palissadique constitué de cellules allongées à paroi fine cellulosique colorée en rose ; rôle de remplissage
- Un parenchyme lacuneux (parenchyme de remplissage) avec de grandes cellules arrondies (plus de trois cellules) à paroi fine cellulosique colorée en rose par le rouge congo formants des lacunes entre elles ;
- Des nervures secondaires ;
- Un épiderme inférieur avec stomates, poils tecteurs et sécréteurs (**Figure 36**).



**Figure 37:** observation d'une partie du limbe de la feuille de *Thymus* sp au microscope optique (G40×10).



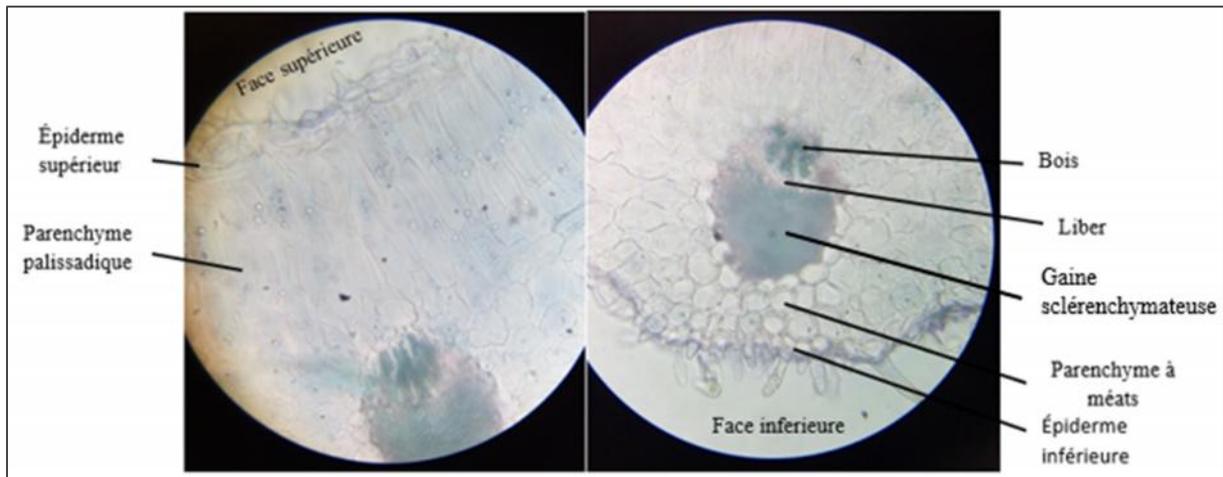
**Figure 38:** observation des poils tecteurs et sécréteurs au niveau de la feuille de *Thymus sp* au microscope optique (G40×10).

On observe au niveau de la nervure principale de l'extérieur vers l'intérieur les éléments suivants (**Figure 39**):

- Un épiderme supérieur de même constitution que celui du limbe ;
- Un parenchyme palissadique ;
- Les éléments conducteurs : faisceaux libéro-ligneux :
  - Liber (phloème secondaire) ; ce sont des petites cellules arrondies paroi épaisse, cellulosique colorée en rose par le rouge congo, rôle : conduction de la sève élaborée
  - Bois ; constitué par des cellules polygonales à paroi épaisse lignifiée colorée en vert par le vert d'iode, rôle : conduction de la sève brute
  - Liber interne coloré en rose ;

Ces éléments sont entourés partiellement par une gaine sclérenchymateuse constituée de cellules à paroi lignifié, épaisse, au centre très réduit, colorée en vert ; rôle de soutien. Le tout constitue le faisceau libéro-ligneux ;

- Dans la partie inférieure au-dessous de cette nervure se localise un parenchyme à méats : constitué par des cellules à paroi fine, cellulosique colorée en rose par le rouge congo, chaque ensemble de trois cellule laisse un vide appelé méat (rôle de remplissage) ;
- Un épiderme inférieur.



**Figure 39** : observation de la nervure centrale de la feuille de *Thymus* sp au microscope optique (G40×10).

#### ✓ Coupe transversale de la tige

La coupe transversale de la tige de *Thymus* sp, un organe à section quadrangulaire et à symétrie axiale (**Figure 40**), a permis de distinguer, de l'extérieur vers l'intérieur, les éléments suivant :

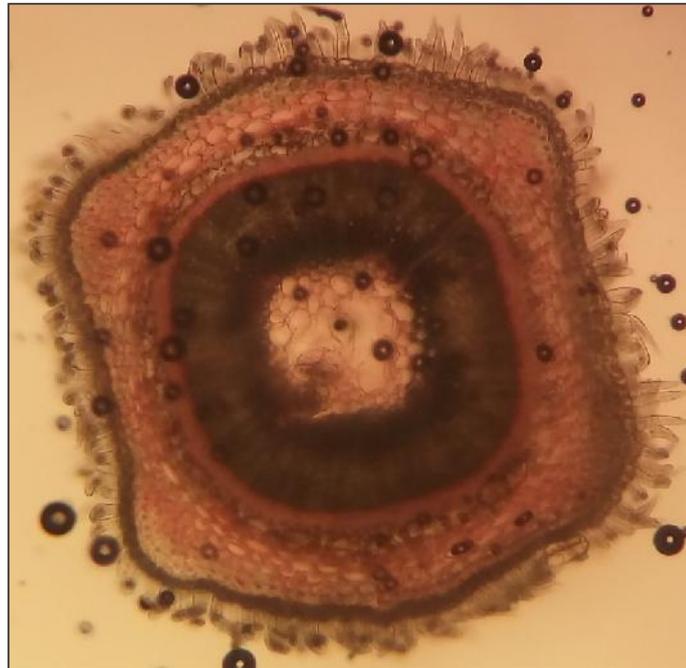
#### **Le cortex**, comprenant (**Figure 41**):

- Un épiderme constitué d'une seule assise de cellules à paroi fine pecto-cellulosique colorées en rose par le rouge congo; rôle de protection contre les agressions extérieures, accompagné par de nombreux poils tecteurs pluricellulaires, unisériés à paroi verruqueuse ;
- Un collenchyme, angulaire constitué de cellules vivantes à paroi épaissie et colorées en rose par le rouge congo. C'est un tissu de soutien ;
- Un parenchyme cortical constitué de cellules à paroi pecto-cellulosique fine colorées en rose. C'est un tissu de remplissage ;

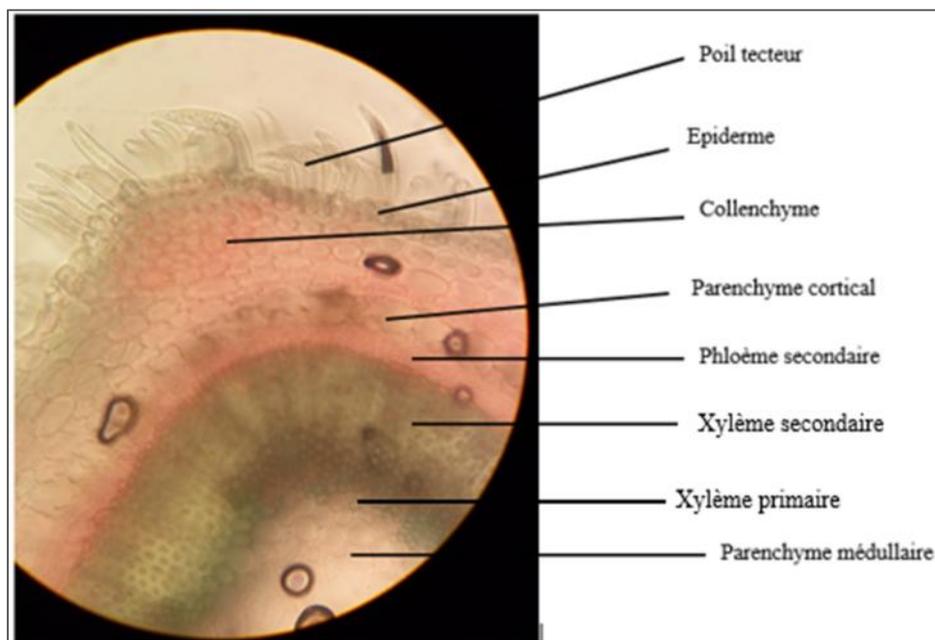
#### **Le cylindre central**, comprenant (**Figure 41**):

- Le faisceau cribro-vasculaire disposé en un seul cercle et constitué de :
  - Un phloème secondaire (Liber): ce sont des petites cellules arrondies à paroi épaissie, cellulosique colorée en rose par le rouge congo. Il assure la conduction de la sève élaborée ;
  - Un xylème secondaire (Bois) à différenciation centrifuge: ce sont des cellules alignées à paroi épaissie lignifiée colorée en vert par le vert d'iode. Il assure la conduction de la sève brute ;

- Un xylème primaire : ce sont des cellules plus grandes, de disposition anarchique
- Un parenchyme médullaire constitué de très grande cellules à fines parois pecto-cellulosiques colorées en rose.



**Figure 40** : observation d'une coupe transversale de la tige de *Thymus* sp sous microscope optique (G10×40)



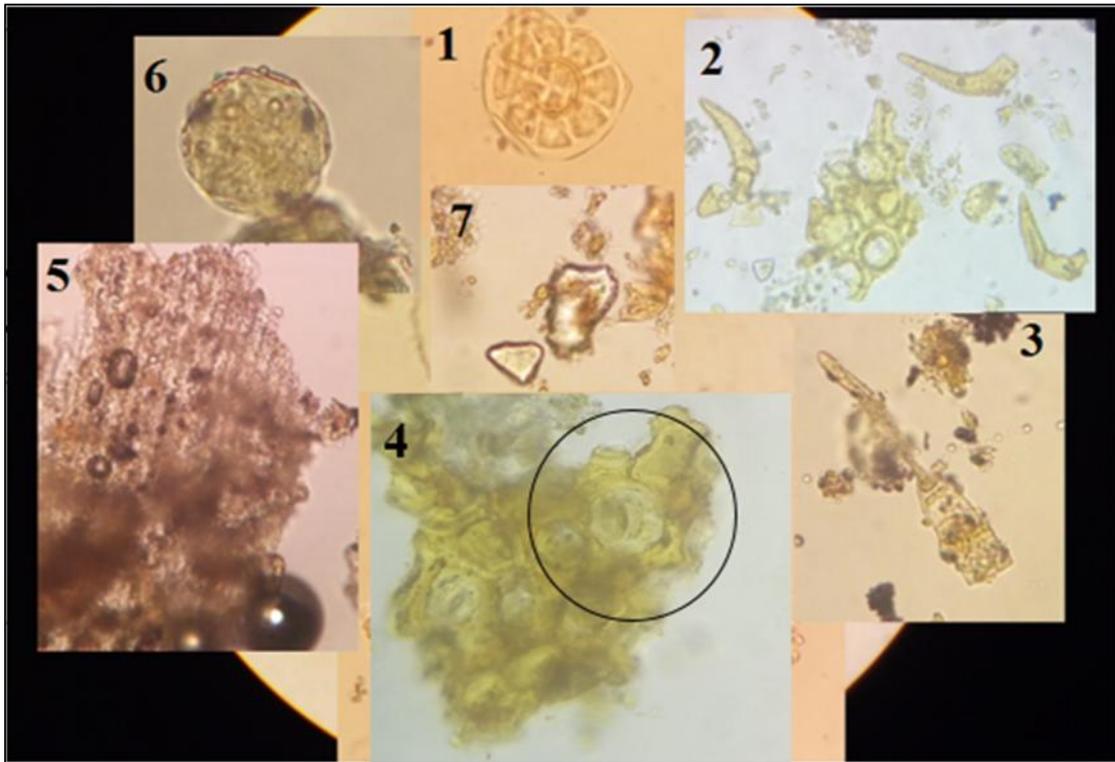
**Figure 41** : observation d'une partie de la coupe transversale de la tige de *Thymus* sp au microscope optique (G10×10).

**1.2.Observation de la poudre de drogue**

L'observation au microscope optique G 10X40 d'un échantillon de poudre des feuilles délayée dans une goutte du réactif de Gazet Le Chatelier révèle la présence de **(Figure 42)** :

- poils tecteurs très abondants, longs, pluricellulaires, unisériés, à paroi verruqueuse ;
- Poil tecteur de la corolle ;
- Poils sécréteurs à tête pluricellulaire, généralement huit cellules et pieds unicellulaire, caractéristiques des Lamiaceae ;
- fragments de parenchyme ;
- nombreux prismes d'oxalate de calcium de grande taille ;
- fragments d'épiderme avec stomates paracytiques ;
- débris de vaisseaux spiralés du bois ;
- fragments de cellules épidermiques avec les cicatrices des poils tecteurs ;
- têtes sécrétrices détachées des pieds ;
- grains de pollen à 06 pores germinatifs.

Aucun élément étranger n'est noté.



**Figure 42:** les éléments retrouvés après observation de la poudre de *Thymus sp* au microscope optique (G40× 10)

1- poil sécréteur vu d'en haut, 2- poils tecteurs et fragment d'épiderme avec cicatrice de poils tecteurs, 3- poil tecteur de la corolle, 4- fragment d'épiderme avec stomates paracytiques 5- débris de vaisseaux spiralés du bois, 6- grain de pollen à 6 pores germinatifs, 7- prismes d'oxalate de calcium de grande taille

## 2. Rendement de l'extraction

$R^{dt\%} = (m_{HE}/m_{Végétale}) \times 100$	$R^{dt\%} = 2.31 \%$
$m_{HE} = 1.159 \text{ g}$	$m_{Végétal} = 50 \text{ g}$

A la fin de l'extraction, un volume de 1.05 ml d'HE de *Thymus sp* a été récupéré. Ce qui représente un rendement de 2.31%.

## 3. Caractérisation organoleptique

Cette caractérisation de l'HE de *Thymus sp* a portée sur trois volets :

- L'aspect : liquide mobile, limpide ;
- La couleur : jaune foncé ;
- L'odeur : caractéristique et semblable à celle de la plante de *Thymus*

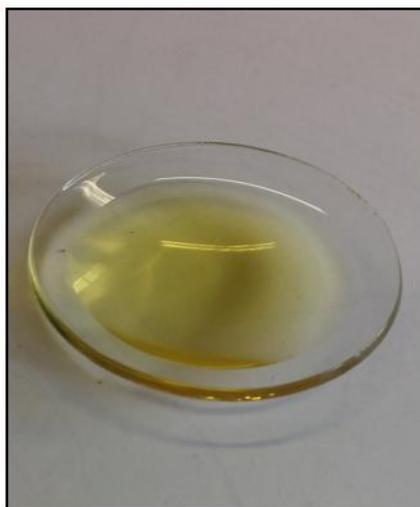


Figure 43: HE de *Thymus* sp [75].

#### 4. Caractérisation physico-chimique et analytique

##### 4.1. Caractères physiques

- La densité relative

$d = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$		$d = 0.966$
$m_0 = 23.7469 \text{ g}$	$m_1 = 33.74027 \text{ g}$	$m_2 = 33.4093 \text{ g}$

La densité de l'HE de Thym testée est égale à 0.966.

- Indice de réfraction



Figure 44: lecture du résultat au réfractomètre [75].

$n_T = n_{T'} + 0.0004 \times (T' - T)$		$n_T = 1.51$
$n_{T'} = 1.514$	$T = 20^\circ\text{C}$	$T' = 22.4^\circ\text{C}$

L'indice de réfraction de l'HE de Thym testée est égal à 1.51.

- **Pouvoir rotatoire**

$[\alpha]_d^{20} = \alpha / (L \times C)$	$[\alpha]_d^{20} = + 28.75$	
$= 11.5^\circ$	$L = 2 \text{ dm}$	$C = 0.2 \text{ g / 100 ml d'éthanol}$

L'HE de Thym testée dévie la lumière polarisée vers la gauche (lévogyre), avec un angle de rotation de 28.75.

- **Miscibilité à l'éthanol**

L'huile essentielle de *Thymus* sp a été miscible à tous les volumes d'éthanol de titre alcalimétrique de **96°** à la température de 20°. Le mélange était limpide, et l'est resté après addition graduelle d'éthanol de même titre jusqu'à un total de 20 volumes.



**Figure 45:** huile essentielle miscible à l'éthanol (96°) [75].

L'huile essentielle de *Thymus* sp est miscible à **V = 1,5 ml** (1,5 Volumes) d'éthanol de titre alcalimétrique de **80°** à la température de 20°C. Le mélange était limpide, et l'est resté après addition graduelle d'éthanol de même titre jusqu'à un total de 20 volumes.

L'huile essentielle de *Thymus* sp est miscible à **V = 4.5 ml** (4.5 Volumes) d'éthanol de titre alcalimétrique de **60°** à la température de 20°C. Le mélange était limpide, et l'est resté après addition graduelle d'éthanol de même titre jusqu'à un total de 20 volumes.

L'huile essentielle de *Thymus* sp n'est pas miscible, même après l'ajout de 20 volumes, à l'éthanol de titre alcalimétrique de **33°** à la température de 20°C.



**Figure 46:** huile essentielle non miscible à l'éthanol (33°) [75].

#### 4.2. Caractères chimiques

- **Indice d'acide**



**Figure 47:** neutralisation/ atteinte du pH 8.3 [75].

$I_A = V \times C \times (56.11/m)$		$I_A = 5,6$
$V = 2 \text{ ml}$	$C = 0.1 \text{ N}$	$m = 2 \text{ g}$

L'indice d'acide de l'HE de thym analysé est égal à 5,6.

- **Indice de saponification**

$I_s = [28.05 \times (V_0 - V)/m]$		$I_s = 98.175$
$V_0 = 15 \text{ ml}$	$V = 11.5 \text{ ml}$	$m = 1 \text{ g}$

L'indice de saponification de l'HE du thym est égal à 98.175.

- **Indice d'ester**

$I_E = I_S - I_A$	$I_E = 92,57$
-------------------	---------------

L'indice d'ester de l'HE du thym analysé est égal à 92,57.

#### 4.3. Caractérisation analytique

- **Chromatographie sur couche mince (CCM)**
  - **Révélation aux UV**

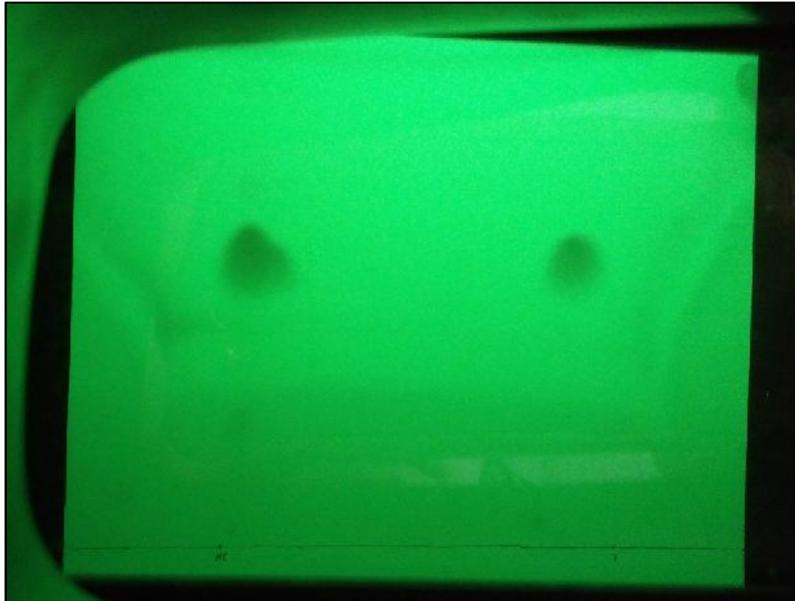
**Tableau II:** résumé du résultat de la CCM

	Solution témoin (Thymol)	Solution d'huile essentielle		
		1ere tache	2eme tache	3 <sup>ème</sup> tache
Distance parcourue (cm)	8.5	3.7	8.2	14,5
Rapport frontal (cm)	0.56	0.25	0.55	0,96

On observe la présence de deux taches sombres ayant un rapport frontal presque identique : la première au niveau du témoin avec un  $R_f$  de 0.56 et la deuxième au niveau de l'HE avec un  $R_f$  de 0.55.

On observe aussi la présence de deux autres taches au niveau de l'HE avec des rapports frontaux différents des premiers égales à 0,25 et 0,96.

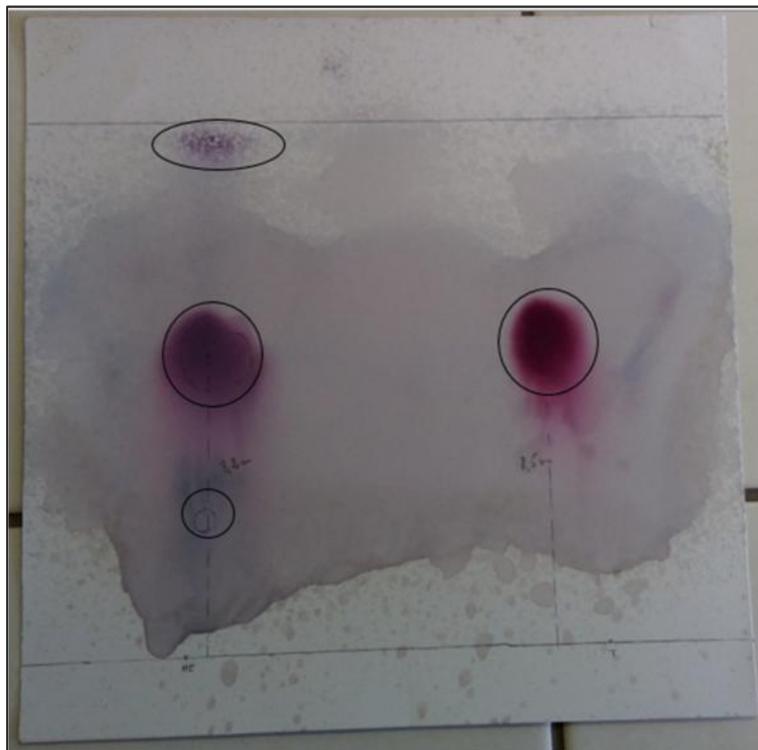
Par conséquent, l'HE de Thym utilisée est une huile à thymol ou à carvacrol, avec présence d'autres composés secondaires.



**Figure 48:** aperçu de la plaque de CCM obtenu avec l'huile essentielle de *Thymus* sp après révélation aux UV [75].

– **Révélation chimique**

La vanilline sulfurique a permis de colorer les taches, précédemment observées sous UV, en rose.

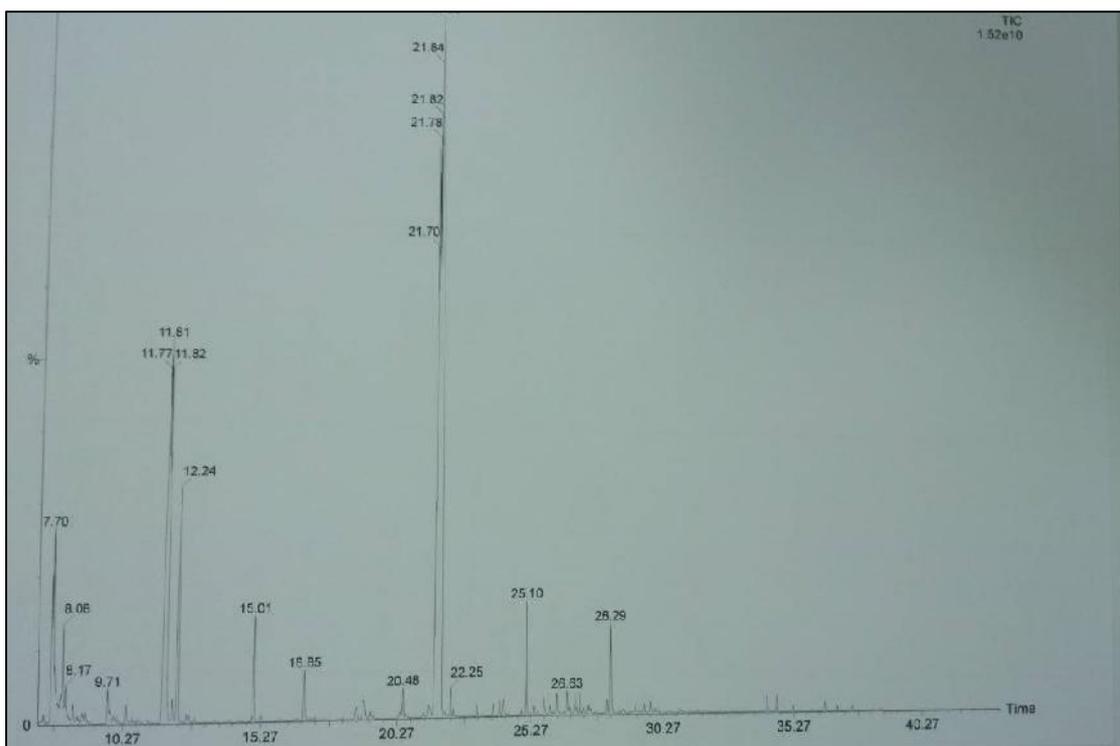


**Figure 49:** aperçu de la plaque CCM obtenu avec l'huile essentielle de *Thymus* sp après révélation chimique [75].

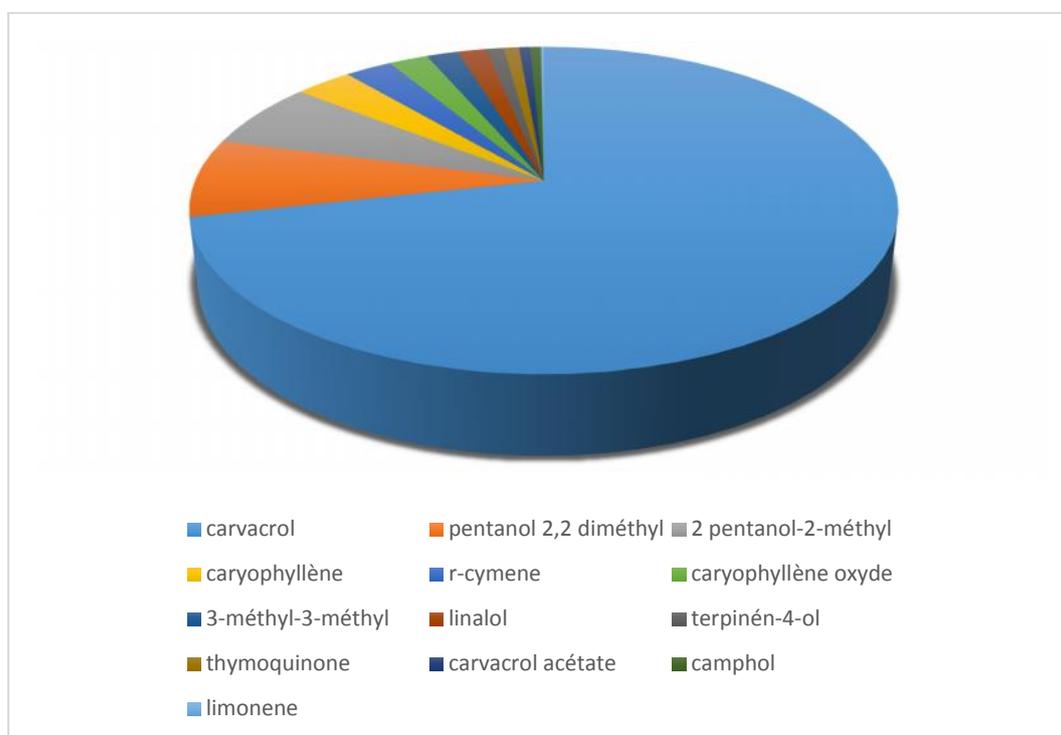
- Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

**Tableau III:** teneur des différents composés de l'HE de *Thymus* sp

Composé	Classe chimique	Tr (min)	Surface	Teneurs %
Carvacrol	monoterpène	21,8	2719353600	71.4
Pentanol 2,2 dimethyl	–	12,24	296157600	7.77
2 pentanol-2-méthyl	–	7,7	249816960	6.56
Caryophyllène	Sesquiterpène	25,10	118483656	3.11
p-cymene	Monoterpène	15,01	98987880	2.59
Caryophyllène oxide	sesquiterpène	28,29	80845856	2.12
3 methyl 3 methyl	–	8,08	65120608	1.71
Linalol	Alcool terpénique	16,85	59800564	1.57
Terninen-4-ol	terpinéol	19,01	35673172	0.936
Thymoquinone	PA	20,45	32073608	0.84
Carvacrol acétate	–	12,25	22885876	0.6
Camphol	Alcool secondaire	18,74	22564252	0.59
Limonene	monoterpène	15,28	5832057	0.15



**Figure 50:** profil chromatographique (GC/MS) de l'HE de *Thymus* sp.



**Figure 51:** diagramme à secteurs représentant la composition chimique de l'HE de *Thymus* sp

- Avec un taux de 71.4%, le carvacrol est le composé majoritaire de notre HE. Par conséquent, le thym utilisé est un thym à carvacrol.

- Il est noté l'absence complète du thymol.
- Présence d'un taux assez important de thymoquinone.

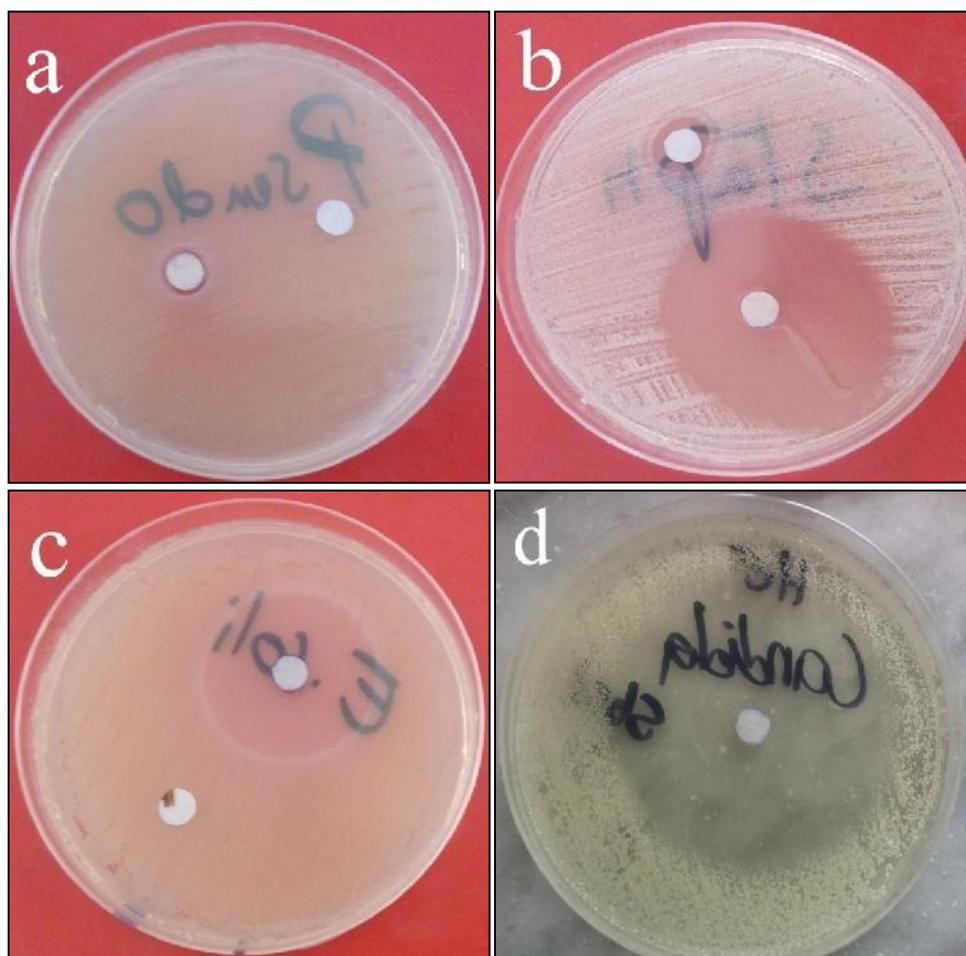
## 5. Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE de *Thymus sp*

### 5.1. Aromatogramme

La sensibilité des différentes souches microbiennes se traduit par un halo autour du disque imprégné du composé testé. Le diamètre du halo est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse.

#### 5.1.1. Huile essentielle pure

Les résultats sont présentés dans le tableau IV :



**Figure 52:** activité antimicrobienne de l'huile essentielle pure de *Thymus sp* sur *Pseudomonas aeruginosa* (a), *Staphylococcus aureus* (b), *Escherichia coli* (c), *Candida sp* (d) [75].

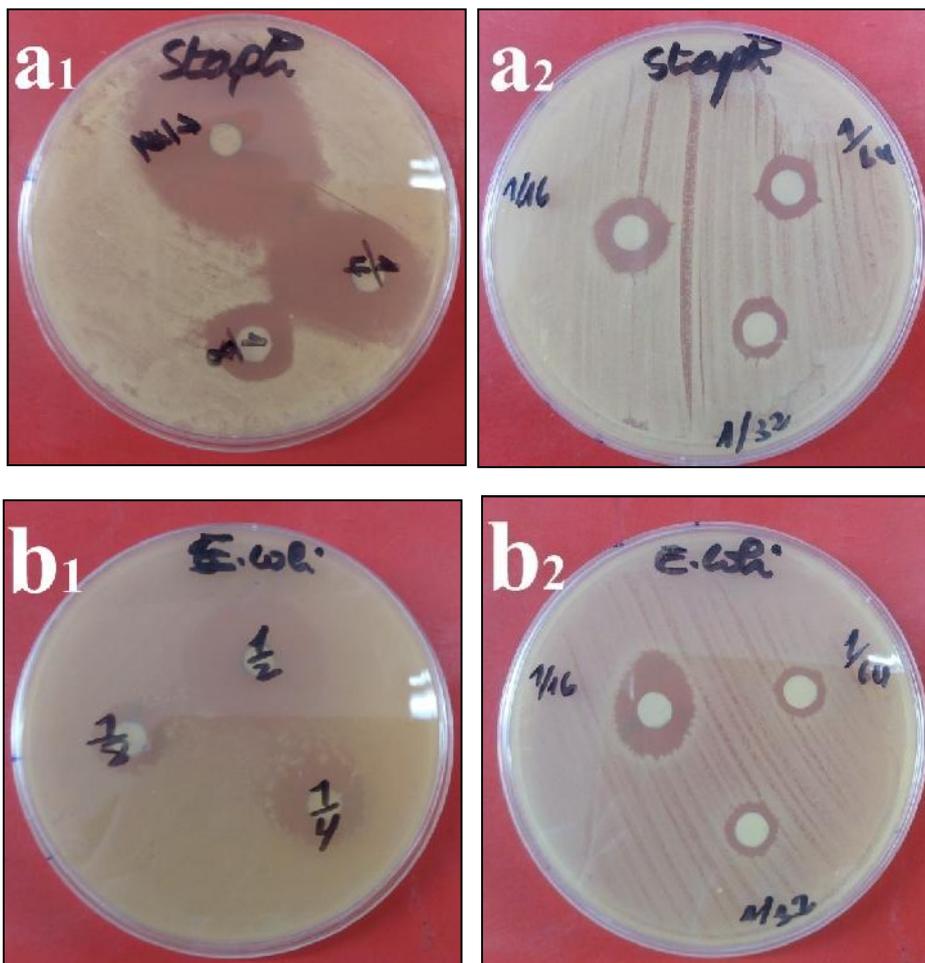
**Tableau IV:** résultats de l'aromatogramme de l'huile essentielle pure de *Thymus* sp

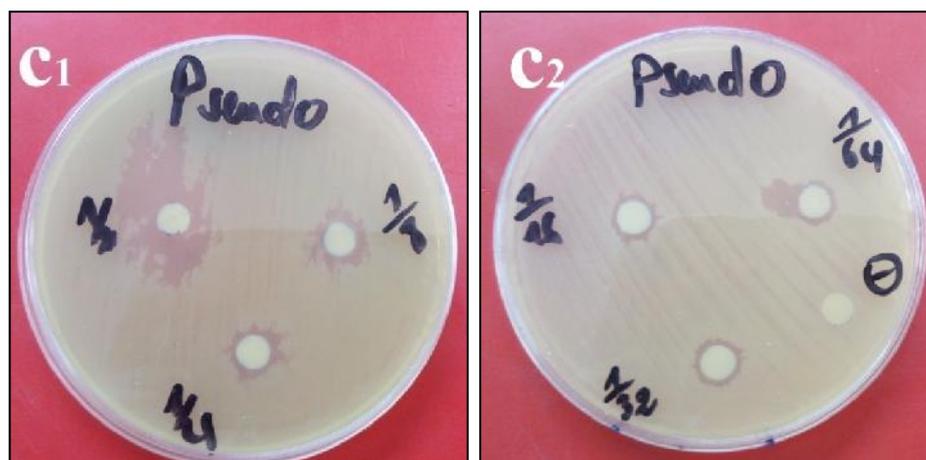
Souche microbienne	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida</i> sp
Diamètre d'inhibition	40 mm	32 mm	7 mm	50 mm

Les espèces microbiennes testées présentent des diamètres d'inhibition différents vis-à-vis de l'huile essentielle du thym.

L'espèce qui présente le plus grand diamètre étant *Candida* sp, suivie de *Staphylococcus aureus*, puis *Escherichia coli* et enfin *Pseudomonas aeruginosa* avec le plus faible diamètre.

### 5.1.2. Les différentes dilutions de l'huile essentielle





**Figure 53:** activité antimicrobienne des différentes dilutions de l'huile essentielle de *Thymus* sp sur *Staphylococcus aureus* (a<sub>1</sub>, a<sub>2</sub>), *Escherichia coli* (b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>) et *Pseudomonas aeruginosa* (c<sub>1</sub>, c<sub>2</sub>) [75].

**Tableau V:** résultats de l'aromatogramme pour les différentes dilutions de l'huile essentielle de *Thymus* sp

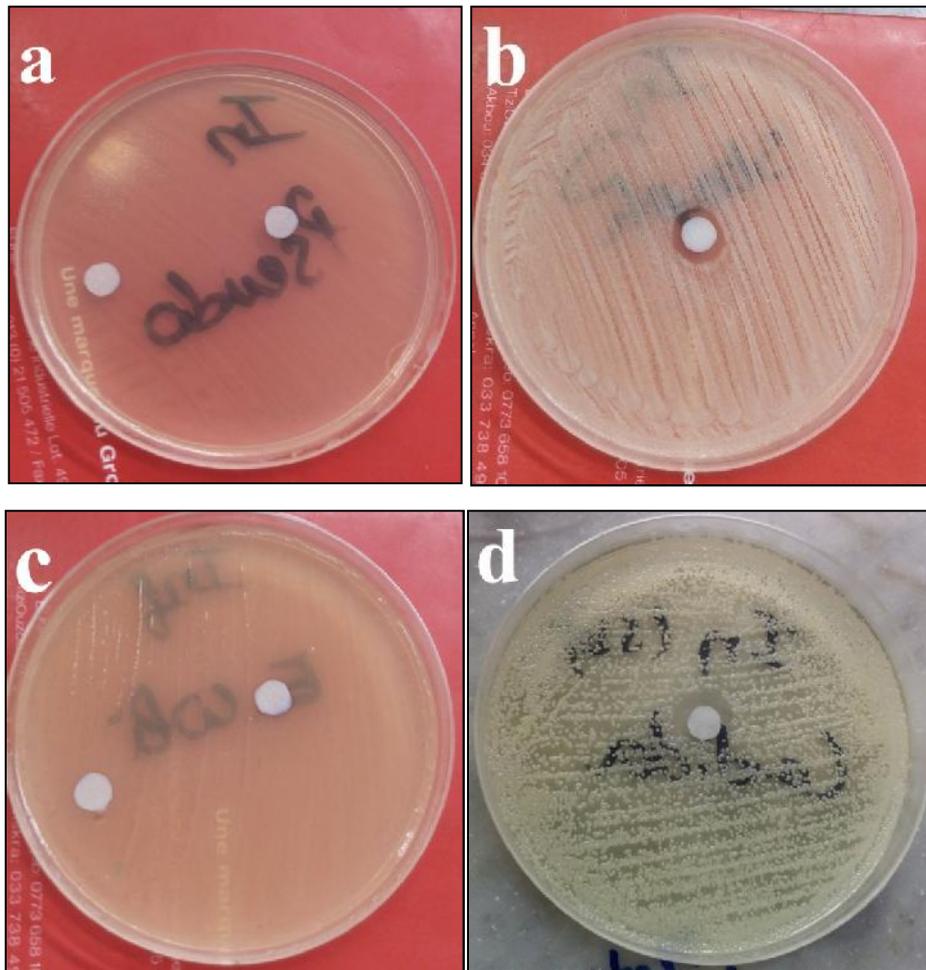
Dilutions	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
<i>Staphylococcus aureus</i>	32mm	23mm	14mm	11mm	10mm	9mm
<i>Escherichia coli</i>	25mm	17mm	11mm	13mm	8mm	8mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7mm	7mm	7mm	6mm	6mm	6mm

*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* manifestent une diminution du diamètre d'inhibition parallèle à la décroissance des concentrations de l'huile essentielle.

*Pseudomonas aeruginosa* manifeste une constance dans les diamètres d'inhibition.

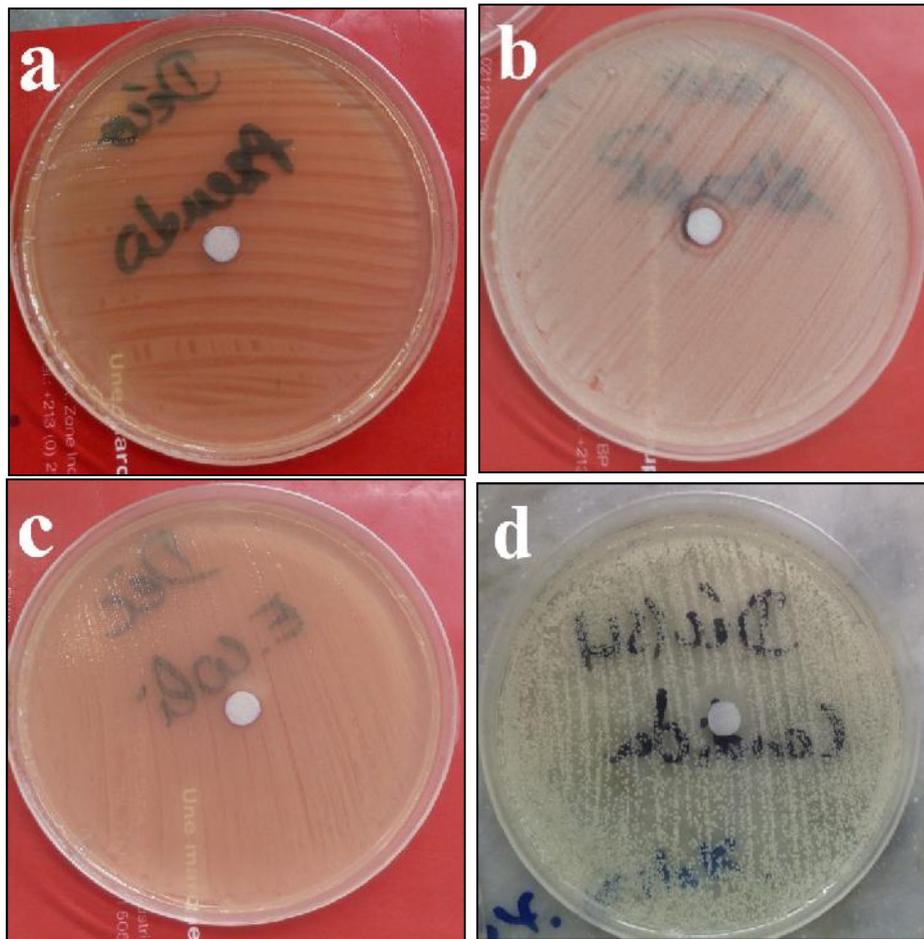
### 5.1.3. Les extraits aromatiques :

#### ❖ infusion



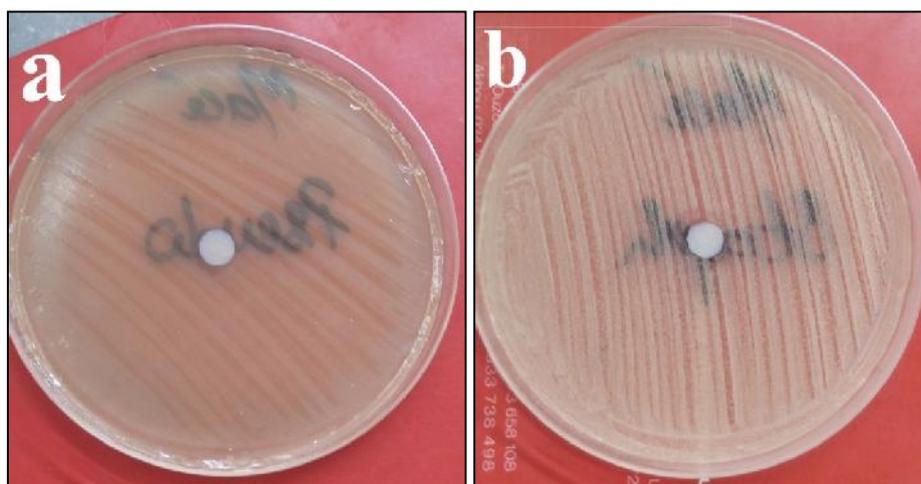
**Figure 54:** activité antimicrobienne de l'infusion de thym sur *Pseudomonas aeruginosa* (a), *Staphylococcus aureus* (b), *Escherichia coli* (c), *Candida sp* (d) [75].

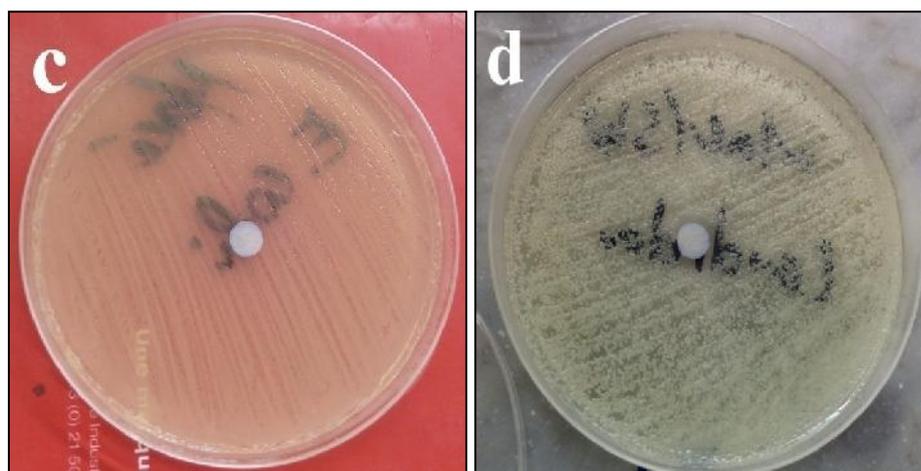
❖ **Décoction**



**Figure 55:** activité antimicrobienne de la décoction de thym sur *Pseudomonas aeruginosa* (a), *Staphylococcus aureus* (b), *Escherichia coli* (c), *Candida sp* (d) [75].

#### ❖ Macération





**Figure 56:** activité antimicrobienne de la macération du thym sur *Pseudomonas aeruginosa* (a), *Staphylococcus aureus* (b), *Escherichia coli* (c), *Candida sp* (d) [75].

**Tableau VI:** résultats de l'aromatogramme des différentes préparations à partir de la poudre du thym.

extraits souches	Décoction	Infusion	Macération
<i>Staphylococcus aureus</i>	6 mm	8 mm	0 mm
<i>Escherichia coli</i>	0 mm	0 mm	0 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 mm	0 mm	0 mm
<i>Candida sp</i>	10 mm	9 mm	9 mm

Pour toutes les préparations ; à savoir : décoction, infusion, macération, seul *Candida sp* présente un diamètre d'inhibition considérable.

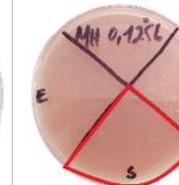
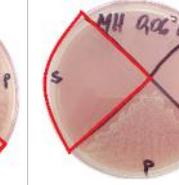
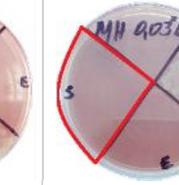
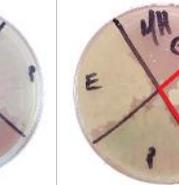
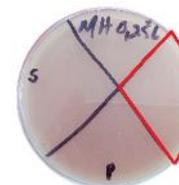
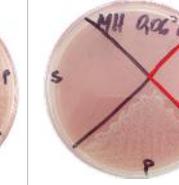
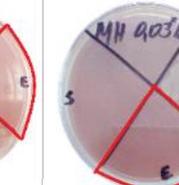
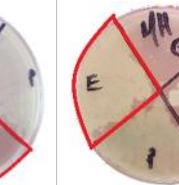
## 5.2. Evaluation quantitative de l'activité antimicrobienne

### Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice CMI

Pour les souches microbiennes ayant montré une sensibilité à l'égard de l'huile essentielle de *Thymus sp* lors de l'évaluation qualitative de son activité antimicrobienne (à savoir : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Candida sp*), une recherche de la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été réalisée.

Les résultats sont exprimés dans les tableaux suivants :

Tableau VII: résultats des CMI pour les souches bactériennes testées

Concentration en HE	2%	1%	0.5%	0.25%	0.125%	0.06%	0.03%	Témoin négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	+
Image								
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	+
Image								

La zone délimitée en rouge correspond à la partie de la boîte de pétri dédiée au germe étudié.

Tableau VIII: résultat des CMI pour Candida sp

Concentration en HE	2%	1%	0.5%	0.25%	0.125%	0.06%	0.03%
<i>Candida sp</i>							

+ : pousse microbienne

- : absence de pousse microbienne

- Aucune croissance bactérienne visible n'a été observée dans la zone dédiée à *Staphylococcus aureus* pour toutes les concentrations de l'HE. La CMI de *S.aureus* est par conséquent inférieure ou égale à 0.03%.
- Aucune croissance bactérienne visible n'a été observée dans la zone dédiée à *Escherichia coli* pour toutes les concentrations de l'HE. La CMI de *E.coli* est par conséquent aussi inférieure ou égale à 0.03%.
- Pour *Candida* sp, une culture fongique a été observée dans la boîte témoin et dans la dilution 0.03%, celle-ci a été absente dans les dilutions suivantes, à savoir de 0.06 à 2%. La CMI de *Candida* sp est donc de l'ordre de 0.06%.



# **IV**

# **DISCUSSION**



Au cours de la présente étude, un certain nombre de contraintes peuvent être soulevées :

- Difficulté à avoir toute la quantité nécessaire de la même espèce de plante chez le même fournisseur.
- L'utilisation de poudre de plante au lieu de la plante entière empêche la détermination exacte de l'espèce.
- Manque de réactifs, de matériels et de témoins.
- Pas de protocole décrit dans les normes officiels concernant l'activité antimicrobienne des HE.
- La littérature offre peu d'information sur les espèces de thym algériennes.

Tous les résultats obtenus seront discutés par rapport aux espèces de *Thymus* ayant le carvacrol comme composé majoritaire.

### 1. Etude anatomique de la plante

La présence de poils sécréteurs, à tête pluricellulaire et à huit cellules sécrétrices d'huiles essentielles, est un caractère constant dans le genre *Thymus* et ceci concorde avec les résultats de l'étude anatomique de *Thymus* sp [76].

### 2. Rendement

Le rendement moyen en huile essentielle a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante.

Notre poudre a fourni un taux d'environ 2.31%. Ce dernier est légèrement supérieur à celui de *Thymus capitatus* donné par **Amarti et al. (2008)** [66], et à celui de *Thymus fontanesii* donné par **Haddouchi et al. (2009)** [67] qui sont respectivement 2,05% et 2%.

Il est inférieur à celui de *Thymus ciliatus* donné par **Bousmaha Marroki et al. (2014)** [68], qui est compris entre 3% et 5,1%.

Cette valeur est également supérieure à la norme générale des HE retrouvée dans la littérature.

### 3. Caractères organoleptiques

**Tableau IX:** comparaison des caractères organoleptiques de notre huile essentielle avec 02 études rapportées par la littérature

	HE testée	Kholkhal (2014)	Fethi (2015)
<b>Aspect</b>	Liquide mobile et limpide	Solution huileuse	Liquide
<b>Couleur</b>	Jaune foncé	Jaune foncé	Jaune clair
<b>Odeur</b>	Forte, aromatique et semblable à celle de la plante	Très forte	Forte, balsamique et fraîche

Les caractères organoleptiques de notre HE sont comparables à ceux de Kholkhal (2014) [71], et légèrement différents de ceux de Fethi (2015) [57].

### 4. Caractérisation physicochimique

#### 4.1 Caractères physiques

- Densité relative

**Tableau X:** comparaison de la densité de notre huile essentielle avec 02 études rapportées par la littérature

	Haddouchi et al (2009)	Kholkhal F (2015)	HE testée
Densité	0.9219	0.9521-0.9602	0.966

La densité de l'HE testée est comparable à celle de **Kholkhal F (2015)** [71] et légèrement supérieure à celle de **Haddouchi et al (2009)** [67]. Cette discordance peut être expliquée par une différence de pureté des HE testés et des conditions opératoires selon **Kaloustian J (2012)** [73].

Cette valeur concorde avec la norme générale des HE retrouvée dans la littérature.

- Indice de réfraction, pouvoir rotatoire et miscibilité à l'éthanol

**Tableau XI:** comparaison de l'indice de réfraction, du pouvoir rotatoire et de la miscibilité à l'éthanol de notre HE avec 02 études rapportées par la littérature

Paramètre	Haddouchi et al (2009)	Kholkhal F (2015)	HE testée
Indice de réfraction	1,4999	1,487	1,51
Pouvoir rotatoire	+ 3.4313	–	+28,75
Miscibilité à l'éthanol 96°	0,6V/1V	3V / 1V	0,5 V/V

Pour l'indice de réfraction, notre résultat est comparable à celui de **Haddouchi et al (2009)** et **Kholkhal F (2015)**.

Pour le pouvoir rotatoire, il est largement supérieur à celui trouvé par **Haddouchi et al (2009)**.

Or, ces deux indices concordent avec les valeurs générales retrouvées dans la littérature concernant les HE.

Pour la miscibilité à l'éthanol, notre résultat est comparable à celui de **Haddouchi et al (2009)**, et légèrement inférieur à celui de **Kholkhal F (2015)**. Cette dissimilitude peut être dû au titre d'éthanol utilisé et que notre HE est très miscible à l'éthanol.

#### 4.2. Caractères chimiques

**Tableau XII:** comparaison de l'indice d'acide, de l'indice de saponification et de l'indice d'ester de notre HE avec 02 études rapportées par la littérature

	<b>Haddouchi et al (2009)</b>	<b>Kholkhal F (2015)</b>	<b>HE testée</b>
Indice d'acide	1,458	négatif	5,6
Indice de saponification	18,28 (déduit)	négatif	98,175
Indice d'ester	16,83	négatif	92,57

Les indices chimiques de notre HE sont considérablement supérieurs à ceux trouvés par **Haddouchi et al (2009)**, ceci est probablement dû à la composition chimique de celle-ci.

Par contre, ces résultats ont été considérés négatifs selon **Kholkhal F (2015)**, vu que, dès l'addition des premières gouttes de KOH éthylique une couleur « vert noirâtre » est apparu et non pas la couleur « rose » attendue.

- **La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse GC/MS**

Les résultats de la GC/MS de l'huile essentielle étudiée ont révélé que la plupart des constituants de l'huile essentielle de la poudre de *Thymus* sp faisaient partie de la classe chimique des terpènes et des composés terpéniques représentés majoritairement par le monoterpène, carvacrol.

La composition de l'HE étudié est comparée à d'autres études de thym ayant le carvacrol comme composé majoritaire (**Tableau XIII**)

**Tableau XIII:** les principaux constituants de l'huile essentielle de *Thymus* sp à carvacrol rapportés par la littérature (exprimés en %)

Composé	HE testée	Algérie				Maroc
		<b>Bekhechi et al (2007) (moyenne)</b>	<b>Bousmaha -marroki et al (2007) (moyenne)</b>	<b>Boukhatem et al (2014)</b>	<b>Sidali et al (2014)</b>	<b>Amarti et al (2008)</b>
Carvacrol	71.4	68.42	75.6	83.8	55.1	70.92
Caryophyllène	3.11	0.76	1.83	–	0.6	–
$\rho$ -cymène	2.59	7.5	5.2	8.1	9.2	10.6
Caryophyllène oxide	2.12	0.16	0.3	–	–	–
Linalol	1.57	3.26	1.28	1.44	3.8	3.86
Terpinen-4-ol	0.936	0.3	0.71	–	0.3	–

Carvacrol acétate	0.6	–	–	–	–	–
Limonène	0.15	0.56	0.2	–	1.1	–
Thymol	–	0.6	0.33	0.23	1.5	0.38

La plupart des composés retrouvés dans l'HE étudiée sont retrouvés dans les études citées à des taux variables, notamment dans l'étude algérienne réalisée par **Bekhechi et al (2007)** [72] sur *Thymus fontanesii*.

La variation dans les taux peut être expliquée par des différences dans l'origine botanique, dans les conditions climatiques et dans l'origine édaphique des plantes utilisées.

Cependant, on a noté aussi la présence de composés non retrouvés dans aucune des études citées, notamment le Pentanol 2,2 diméthyl, le 2 pentanol-2-méthyl, 3 méthyl 3 méthyl et le camphol. Ces derniers pourraient être le résultat de la dégradation de l'HE, suite à sa trop longue conservation dans des conditions non appropriées.

Un autre composé étranger aux huiles essentielles de thymus a été aussi signalé, la thymoquinone. Ce dernier se trouve être le principe actif du cumin noir, *Nigella sativa*.

Par conséquent, la poudre de Thym qu'on a utilisé est probablement contaminée par du cumin noir.

- **La chromatographie sur couche mince CCM**

La CCM a révélé la présence d'un composé majoritaire.

Comparativement au résultat de la CPG, ce composé est le carvacrol même si le thymol utilisé est le thymol. Ceci pourrait être expliqué par le fait que le carvacrol et le thymol ont la même structure chimique, ils diffèrent dans la position d'un alcool.

## 5. Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE de *Thymus* sp

### a. Evaluation qualitative

- **HE pure**

Pour la technique de l'aromatogramme, l'activité antimicrobienne de l'HE de *Thymus* sp pure a pu être estimée en se basant sur les diamètres des zones d'inhibition obtenus selon l'échelle donnée par Mutai et Al, 2009.

Les résultats sont résumés dans le tableau XIV suivant :

**Tableau XIV:** estimation de l'activité antimicrobienne de notre HE sur les germes testés

Souches microbiennes	Diamètre d'inhibition obtenu (D)	Activité antimicrobienne référence des HEs	Conclusion
<i>Staphylococcus aureus</i>	40mm	D 30 mm	L'HE testée est très fortement inhibitrice
<i>Escherichia coli</i>	32mm	D 30 mm	L'HE testée est très fortement inhibitrice
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7mm	D 10 mm	L'HE testée est non inhibitrice
<i>Candida sp</i>	50mm	D 30 mm	L'HE testée est très fortement inhibitrice

L'HE de *Thymus sp* pure a une très forte activité sur toutes les souches testées (D = 30 mm) sauf sur *Pseudomonas aeruginosa* (D = 10 mm).

Le diamètre d'inhibition varie de 7 à 40mm pour les souches bactériennes, le plus grand diamètre étant obtenu avec *Staphylococcus aureus* (40mm) et le plus petit par *Pseudomonas aeruginosa* (7mm).

Donc, les résultats obtenus montrent que l'HE de *Thymus sp* possède un spectre d'activité antibactérienne plus large sur les Gram+ (*Staphylococcus aureus*) que sur les Gram – (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*). Cette différence a été expliquée selon **Boukhatem et Al, (2014)** [69] par le fait que les Gram- possèdent une résistance intrinsèque aux agents antimicrobiens, qui est en relation avec la nature de leur paroi bactérienne. Chez les bactéries à Gram+, le peptidoglycane est très épais et associé à des protéines pariétales. Par contre chez les bactéries à Gram-, le peptidoglycane est très fin et associé à une enveloppe externe complexe définissant un espace périplasmique. Cette membrane externe est une bicouche lipidique asymétrique hydrophobe constituée de phospholipides, de protéines (porines) et lipopolysaccharides (LPS). L'espace périplasmique est rempli d'enzymes qui dégradent et inactivent les substances complexes.

Par ailleurs, quelques autres études de l'activité antimicrobienne d'HEs de Thymus à carvacrol contre certains germes testés dans la présente étude ont été trouvées. Les résultats obtenus diffèrent d'une étude à l'autre et elles sont présentées dans le tableau suivant (**Tableau XV**) :

**Tableau XV:** comparaison entre les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE étudiée avec d'autres études

étude (diamètre d'inhibition) Souches microbiennes	<b>Boukhatem et Al. (2014)</b> (20µl/disque)	<b>Sidali et Al. (2014)</b> (20µl/disque)	<b>Bekhechi et Al. (2007)</b> (3µl/disque)
<i>Staphylococcus aureus</i>	60mm	13mm	26mm
<i>Escherichia coli</i>	30mm	10mm	23mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10mm	–	8mm
<i>Candida sp</i>	–	13mm	–

D'après le tableau, une nette différence a été constatée entre les résultats trouvés dans la littérature et les nôtres :

- Le diamètre d'inhibition de *Staphylococcus aureus* testé est inférieur à celui trouvé par **Boukhatem et al(2014)** [69] tandis que, il est supérieur au diamètre trouvé par **Sidali et al (2014)** [70] et **Bekhechi et al (2007)** [72].
- Le diamètre d'inhibition d'*Escherichia coli* testé est presque identique à celui trouvé par **Boukhatem et al(2014)** [69], il est supérieur à celui trouvé par **Sidali et al (2014)** [70] et **Bekhechi et al (2007)** [72].
- La principale différence entre les résultats de ces études et ceux de la nôtre est que *Pseudomonas aeruginosa*, testé dans ces derniers est sensible aux huiles essentielles des *Thymus* à carvacrol contrairement à notre huile essentielle.

Les divergences entre les résultats peuvent s'expliquer par :

- une divergence dans les volumes d'huile essentielle utilisés par disque. Cependant, dans les études de **Boukhatem et al(2014)** [69] et de **Bekhichi et al (2007)** [72] qui malgré l'utilisation du même volume, les diamètres obtenus sont largement plus faibles chez **Bekhichi et al (2007)** [72]. Ceci pourrait être expliqué par une teneur en carvacrol plus faible.
- Une différence d'activité entre les huiles essentielles des différentes espèces de thym à carvacrol : ce qui est illustré dans les études des HEs de *Thymus vulgaris* par **Sidali et al (2014)** [70] et celle de *Thymus fontanesii* par **Bekhechi et al (2007)** [72] qui ont manifesté des activités antimicrobiennes différentes.

- Préparation à base de la poudre de plante

L'activité antimicrobienne des trois préparations faites à partir de la poudre de Thym ont été comparées à l'activité de l'HE pure extraite à partir de la même poudre selon l'échelle de sensibilité des souches aux agents antimicrobiens donnée par **Djeddi et Al (2007)** [64] :

Les résultats sont résumés dans le tableau XVI:

**Tableau XVI:** comparaison des diamètres d'inhibitions des 03 préparations à l'HE pure

Souches microbiennes	Infusion	Décoction	Macération	HE pure	Taille référence du halo d'inhibition
<i>Staphylococcus aureus</i>	8 mm	6 mm	0 mm	40mm	D 8 mm
<i>Escherichia coli</i>	0 mm	0 mm	0 mm	32mm	D 8 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 mm	0 mm	0 mm	7mm	D 8 mm
<i>Candida sp</i>	9 mm	10 mm	9 mm	50mm	9mm D 14mm

Toutes les souches bactériennes ont manifestés une résistance apparente à l'ensemble des trois préparations selon les tailles références du halo d'inhibition. Tandis que *Candida sp* a montré une faible sensibilité.

La sensibilité des quatre souches microbiennes à l'égard des préparations est largement inférieure à celle obtenue avec notre huile essentielle.

Donc, c'est l'HE qui est responsable de l'activité antimicrobienne des plantes qui la contiennent.

Egalement, l'usage traditionnel en infusion, décoction et macération n'est pas aussi efficace que l'huile essentielle.

Mais il ne s'agit que d'une étude *in vitro*, les études *in vivo* pourraient avoir un autre résultat car ces préparations à base de plantes peuvent avoir un effet sur l'organisme autre que celui observé sur les microorganismes *in vitro*.

## b. Evaluation quantitative

Les CMI obtenues dans notre étude sont comparées à quelques autres études.

**Tableau XVII** : comparaison des CMI de quelques études d'HE de thym a carvacrol avec celles de l'HE étudiée

Etudes	Bekhechi et al (2007)	Bousmaha et al (2007)	Kaloustian et al (2008)	Notre étude
<i>Staphylococcus aureus</i>	340 µg/ml	920 µg/ml	2000 µg/ml	289.8 µg/ml
<i>Escherichia coli</i>	380 µg/ml	960-980 µg/ml	1000 µg/ml	289.8 µg/ml
<i>Candida sp</i>	–	1000 µg/ml	–	579.6 µg/ml

- Pour les trois espèces microbiennes testées, la CMI de l'HE étudiée est inférieure aux CMI de l'HE des études citées.

Ces résultats pourraient être expliqués par le fait que les HE des trois études cités contiennent un faible taux de thymol contrairement à l'HE testée. Car, selon **Dorman et al (2000)** [74], le thymol est le composé qui possède le plus large spectre d'activité antibactérienne suivie du carvacrol.

Et la présence des deux phénols permet d'avoir un effet synergique.

# CONCLUSION

## Conclusion générale

---

De nos jours, les huiles essentielles sont des substances très sollicitées dans divers domaines. La thérapeutique médicale étant le domaine dans lequel elles sont le plus prometteuses avec leur activité antimicrobienne, qui peut être mise à profit face aux résistances bactériennes qui ne cessent d'augmenter.

Le présent travail a été consacré à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'une espèce de thym à carvacrol, *Thymus* sp, précédé par une extraction de l'huile essentielle et une étude histologique, physicochimique et chromatographique. Il a fait aussi l'objet de la détermination de la composition chimique de l'huile essentielle afin de contribuer à sa valorisation dans le dessein d'une meilleure exploitation.

Une comparaison avec l'activité antimicrobienne de trois préparations traditionnelles à partir de même plante a été également entreprise afin d'évaluer leurs efficacité.

L'huile essentielle de la poudre de thym a été obtenue par hydrodistillation avec un rendement de 2.31%. La détermination des caractères organoleptiques et physicochimiques (densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, miscibilité à l'éthanol, indice d'acide, indice d'ester) a donné des résultats pour la plupart différents de ceux donnés par la littérature.

La composition chimique de l'huile essentielle a été déterminée qualitativement par CCM et quantitativement par GC/MS. Cette dernière a révélé la présence de 13 composés dont le carvacrol comme composé majoritaire.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus* sp et des 03 préparations a été réalisée *in vitro* sur trois souches bactériennes et une souche fongique fournis par le laboratoire de microbiologie-parasitologie du CHU Neddar Mouhammed.

Les résultats de l'aromatogramme ont démontré que notre HE présente un important pouvoir inhibiteur contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Candida* sp, et aucun pouvoir inhibiteur contre *Pseudomonas aeruginosa*.

Par ailleurs, les résultats négatifs de l'aromatogramme des préparations traditionnelles à base de plantes a permis de conclure que l'huile essentielle serait seule responsable de l'activité antimicrobienne.

## Conclusion générale

---

- Perspectives et recommandations :

Les résultats de l'activité antimicrobienne obtenus laissent entrevoir des perspectives d'application dans l'industrie pharmaceutique aussi intéressante pour les espèces de thym à carvacrol que les espèces à thymol. Et ceci, certainement, après l'étude approfondie de la composition chimique de l'huile essentielle et du spectre d'action antimicrobien.

Cependant, la détermination exacte de l'espèce utilisée est nécessaire pour éviter toute erreur possible.

A la suite de notre présente étude, on recommande le développement d'une réglementation algérienne concernant les huiles essentielles et une étude approfondit sur les HE des plantes algériennes.

Aussi, il serait intéressant de faire des campagnes d'information et de sensibilisation de la population sur la meilleure façon d'utiliser les plantes et leurs huiles essentielles. Car les huiles essentielles peuvent être utilisées par presque toutes les voies d'administration, surtout locale, mais avec grandes précautions.

**RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

## Références bibliographiques

---

- [1] Chabrier J-Y. Plantes Médicinales et Formes d'utilisation en phytothérapie. [Thèse] Université Henri Poincare-Nancy. 2010
- [2] Jammaledine M. Extraction et caractérisation de la composition des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et *Juniperus oxycedrus* du Moyen Atlas [Mémoire]. Université sidi mohammed ben abdellah. Fès, 2010.
- [3] Iserin P. Encyclopédie des plantes médicinales 2<sup>ème</sup> édition. Paris: Larousse. Edition 2001.
- [4] Wicht M, Anton R. Plantes thérapeutiques. Tradition pratique officinales, science et thérapeutique. 2<sup>ème</sup> édition. Paris : Edition TEC et DOC.
- [5] Jorite S. La phytothérapie, une discipline entre passé et future : de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel. [Thèse]. Bordeaux, Université de Bordeaux, 2015.
- [6] Abdelaziz M. Caractérisation activité antimicrobienne de trois espèces de Saugé [thèse]. Chlef. Université Hassiba Benbouali, 2013
- [7] Courtial S. précis d'aromathérapie vétérinaire à l'usage des pharmaciens d'officine [thèse]. Université de Nante, faculté de pharmacie. 2005
- [8] Muther L. Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant [thèse].Faculté de pharmacie de Clermont Ferrand, 2015
- [9] gemmothérapie-définition [en ligne].consulté en février 2018. Disponible sur : <http://www.passeportsanté.net/fr>
- [10] Grunwald J, Janicke C. Guide de la PHYTOTHERAPIE. 2<sup>ème</sup>edition. Edition MARABOUT. Italie : 2006.
- [11] Homéopathie-Définition, avantage et controverse. [En ligne].2018 ; consulté le 28 février 2018.disponible sur : [www.santé-medecine.journaldesfemmes.fr](http://www.santé-medecine.journaldesfemmes.fr)
- [12] Cusson C. L'Aromathérapie & Les huiles essentielles [Livre En ligne]. 2007 [consulté en Mars 2018]. Disponible sur : <http://www.doc-developpement-durable.org>
- [13] Girard G. LES PROPRIETES DES HUILES ESSENTIELLES DANS LES SOINS BUCCO-DENTAIRE D'HIER A AUJOURD'HUI [Thèse]. Nancy : Université Henri Poincare ; 2010
- [14] Wichtl M, Anton R. PLANTES THERAPEUTIQUES : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2<sup>ème</sup> édition. Edition TEC et DOC. 2003.
- [15] Lacoste S. Ma bible de la phytothérapie [magazine]. Edition : Quotidien Malin, 2014.
- [16] Tisanes : Infusion, décoction, macération : Mode d'emplois [en ligne]. [Consulté en février 2018]. Disponible sur: [www.Via-les-Herbes.com](http://www.Via-les-Herbes.com)
- [17] Benoit G. Etat des lieux sur l'aromathérapie dans les officines : enquête sectorielle dans le département de Vienne [Thèse]. Université de poitiers faculté de médecine et de pharmacie, 2015.
- [18] Brunton J. Pharmacognosie photochimie plantes médicinales 3<sup>ème</sup> édition. Paris

## Références bibliographiques

---

- [19] Dorosso Sonate J. Composition chimique des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : valorisation. Université Ouagadougou. 2002.
- [20] Kaloustian J, Hadji-Minaglo F. La connaissance des huiles essentielles : qualitologie et aromathérapie. Paris. Edition Springer. 2012
- [21] Mayer F. utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Etude de cas en maison de retraite. [Thèse] Université de Lorraine, 2012.
- [22] évidence box. Les huiles essentielles dans les cosmétiques [en ligne]. [Consulté le 27 janvier 2018]. Disponible sur <http://box-evidence.com>.
- [23] Chouiteh O. composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra* [thèse] Oran : Université d'Oran 2012.
- [24] Ouis N. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil [thèse]. Université d'Oran, 2015.
- [25] Fekih N. Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *Pinus* poussant en Algérie [thèse]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid. 2015.
- [26] Biotechnologie végétale. Les huiles essentielles [en ligne]. 2012 [consulté en Janvier 2018]. Disponible sur [http : mira biotéchnologievégétale.blogspot.com](http://mira.biotéchnologievégétale.blogspot.com)
- [27] Elhaib A. Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformation catalytique [thèse] Toulouse : Université de Toulouse. 2011.
- [28] Simple-hydrodistillation [en ligne]. Consulté en Juin 2018. disponible sur: [www.researchgate.net](http://www.researchgate.net).
- [29] Boutamani.M. Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du *Curcuma longa* et *Myristica fragrans* en fonction du temps et de la technique utilisée. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, Alger, 2013. [En ligne]. [Consulté en Juin 2018]. Disponible sur: [www.mémoireonline.com](http://www.mémoireonline.com)
- [30] Bousbia N. Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. [Thèse]. Alger. Ecole nationale supérieure agronomique, 2011.
- [31] Wikipidia. Encyclopédie en ligne. Disponible sur [www.wikipidia.fr](http://www.wikipidia.fr)
- [32] Boutayeb Abd. Etude bibliographique sur les huiles essentielles et végétales. Université Ibn Tofail .2013 [en ligne]. [Consulté en Juin 2018]. Disponible : [www.mémoireonline.com](http://www.mémoireonline.com)
- [33] Franchrome P , Jollois R, Pénoel D. L'aromathérapie exactement : encyclopédie de l'utilisation des extraits aromatiques. Paris : Edition Roger Jollois. 2001.
- [34] Haddad D, Hadji D. Contribution à l'étude des huiles essentielles de *Myrtus communis L.* [thèse]. Université Mouloud Mammeri. Tizi ousou, 2016
- [35] Benayad N. Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse. [Thèse]. UNIVERSITÉ MOHAMMED V. FACULTÉ DES SCIENCES. RABAT. 2013.

## Références bibliographiques

---

- [36] Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles : Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles [En ligne]. Mai 2008 ; Consulté le 12 Déc 2016. Disponible sur le site : <http://www.afssaps.sante.fr>
- [37] Chabert G. myrtacées et aromathérapie [thèse]. Faculté de pharmacie de Grenoble, Université Joseph Fourier, 2013.
- [38] Velé H. Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments [thèse]. Université Angers, 2015.
- [39] Dasilva F. Utilisation des huiles essentielles en infectiologie ORL [thèse]. Université Henricare-Nancy, 2010.
- [40] Obame Engonga LC. Etude phytochimique de quelques plantes aromatiques et médicinales Africaines. [Thèse]. Ouagadougou. Université d'Ouagadougou, 2009.
- [41] Définition d'un agent antimicrobien. Aquaportail.com. [En ligne] consulté le Février 2018. Disponible sur [http // : www.aquaportail.com](http://www.aquaportail.com)
- [42] les micro-organismes, contamination, infectiologie et protection. [En ligne] consulté en Février 2018 disponible sur [www.intellego.fr](http://www.intellego.fr)
- [43] Drouet E. Le monde microbien: partie1 : Microbes et microbiologie [cour], consulté le février 2018 disponible sur [www.medatice-grenoble.fr](http://www.medatice-grenoble.fr).
- [44] Perron K, Schrenzel J, Linder P. des bactéries et des homes de la santé au développement durable. [Brochure].3<sup>ème</sup> journée de microbiologie, septembre 2010. Disponible sur [www.unige.ch/public](http://www.unige.ch/public).
- [45] ANOFEL coordonné par Chabasse D, Danis M, Guiguen C, Richard-Lenoble D, Botterel F, Miégeville M. Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. Paris: Masson, 2007.
- [46] Toure D. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Cote d'Ivoire. [Thèse]. Cote d'Ivoire, 2015.
- [47] Activité antifongique [en ligne].consulté en Février 2018. Disponible sur [www.infectiologie.com](http://www.infectiologie.com)
- [48] Chemloul F. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* de la région de Tlemcen [mémoire]. Tlemcen, 2014
- [49] Gaboriau B. Etat des lieux sur l'aromathérapie dans les officines : enquête sectorielle dans le département de la Vienne [thèse]. Université de POITIERS Faculté de Médecine et de Pharmacie. 2015.
- [50] loi 85-5 du 16 février 1985 relative à la protection et à la promotion de la santé.
- [51] Kachetel L, Sahmi A. ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE DE L'HUILE ESSENTIELLE EXTRAITE DES FRUITS DE *Coriandrum sativum* L. [Mémoire]. Université UMMTO, 2016.
- [52] Thomas A. Utilisation des huiles essentielles chez le sportif [thèse]. Université Lorraine, 2016.

## Références bibliographiques

---

- [53] Quezel et Santa S. NOUVELLE FLORE DE L'ALGERIE ET DES REGIONS DESERTIQUES MERIDIONALES. Edition du centre nationale de la recherche scientifique. Paris, 1963.
- [54] Goetz P, Guedira K. Phytothérapie anti-infectieuse. Paris: Springer, 2012.
- [55] Mebarki N. Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fantanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse antimicrobienne. [Mémoire]. Boumerdès : Université mhamed Bougara, 2010.
- [56] Arvy MP, Gallouin F. Épices, aromates et condiments. Édition Clerc- Saint- Amand- Montrond. N d'édition : 003063-02.2007. France.
- [57] Aissani F. *Analyse sensorielle de la viande bovine additionnée aux huiles essentielles Thymus ciliatus (Zaitra) et Ammoïdes verticillata (Nunkha)*. [Mémoire]. Tlemcen : Université ABOUBAKER BELKAID, 2015.
- [58] Bessedik MD, Khenfer BH. Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Thymus algeriensis* contre quelques champignons phytopathogènes des palmes du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L).
- [59] Abdelli W. Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris* [thèse]. MOSTAGANEM : UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS, 2017.
- [60] Zeghib A. Étude phytochimique et activité antioxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huile essentielle de quatre espèces endémiques du genre *Thymus*. [Thèse]. Constantine : Université Constantine 1, 2013.
- [61] A. Zhiri, D. Baudoux. HUILES ESSENTIELLES CHÉMOTYPÉES ET LEURS SYNERGIES. Edition Inspir Development. Luxembourg.
- [62] Labiod R. Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide [Thèse]. Université Badji Mokhtar- Annaba.2016
- [63] Mutai C, Bii C, Abatis D, Roussis V- Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupane triterpenes- Journal of Ethnopharmacologie ; doi : 10.2016/ jep.02.007.2009.
- [64] Djeddi S, Bouchenah N, Settar I- Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Rosmarinus officinalis* from ALGERIA- Chemistry of Natural Compounds; vol.43: N)4.2007.
- [65] BOUALEM S, BOUMRAR Silia. Formulation d'un gel désinfectant à base de l'huile essentielle de Romarin (*Rosmarinus officinalis* L) et évaluation de son activité antimicrobienne. [Mémoire] Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou. 2016.
- [66] Amarti F, B Satrani, A Aifi. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc, Springer 2008. Doi : DOI 10.1007/s10298-008-0346-7.

## Références bibliographiques

---

- [67] HADDOUCHI F, Hamadi Abd LAZOUNI Abd, MEZIANE et BENMANSOUR abd. Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. Afrique SCIENCE 05(2) (2009) 246 – 259.
- [68] Bousmaha-Marroki L, Atik-Bekkara F, Félix Tomi & Joseph Casanova. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. ssp. eu-ciliatus Maire from Algeria. Journal of Essential Oil Research, 2007. DOI: 10.1080/10412905.2007.9699960.
- [69] Boukhatem MN, Ferhat MA, Saidi F. Valorisation de l'essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris* L.) en aromathérapie anti-infectieuse. ISSN 2028-9324 Vol. 8 No. 4 Oct. 2014, pp. 1418-1431.
- [70] L. SIDALI, M. BRADA, M-L FAUCONNIER & G. LOGNAY. Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* du Nord d'Algérie. Publié par PhytoChem & BioSub Journal. Vol. 8(3) 2014 ISSN 2170-1768. DOI:10.163.pcbsj/2014.8.3.156
- [71] Kholkhal F. Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp coloratus et ssp euciliatus. [Thèse]. Tlemcen, Université Abou Bekr Belkaid, 2014.
- [72] Ch Bekhechi, F Atik Bekkara and Dj E Abdelouahid, F Tomi, J Casanova. Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii* Boiss et Reut from Algeria. Journal of Essential Oil Research, 19, 594–596 (November/December 2007).
- [73] J. Kaloustian, J. Chevalier, C. Mikail, M. Martino, L. Abou, M.-F. Vergnes. Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. Springer 2008  
DOI 10.1007/s10298-008-0307-1.
- [74] H.J.D. DORMAN, S.G. DEANS. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology 2000, 88, 308–316.
- [75] Hexas Thafsouth, Simoud Sonia.
- [76] Pharmacopée Européenne 7<sup>ème</sup> édition.
- [77] Taleb Toudert K. extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de la kabylie évaluation de leurs effet sur la broche du niébé. Tizi ouzou, UMMTO, 2015.

# **ANNEXES**

## Annexes

### Annexe I: liste de plantes aromatiques par familles [14]

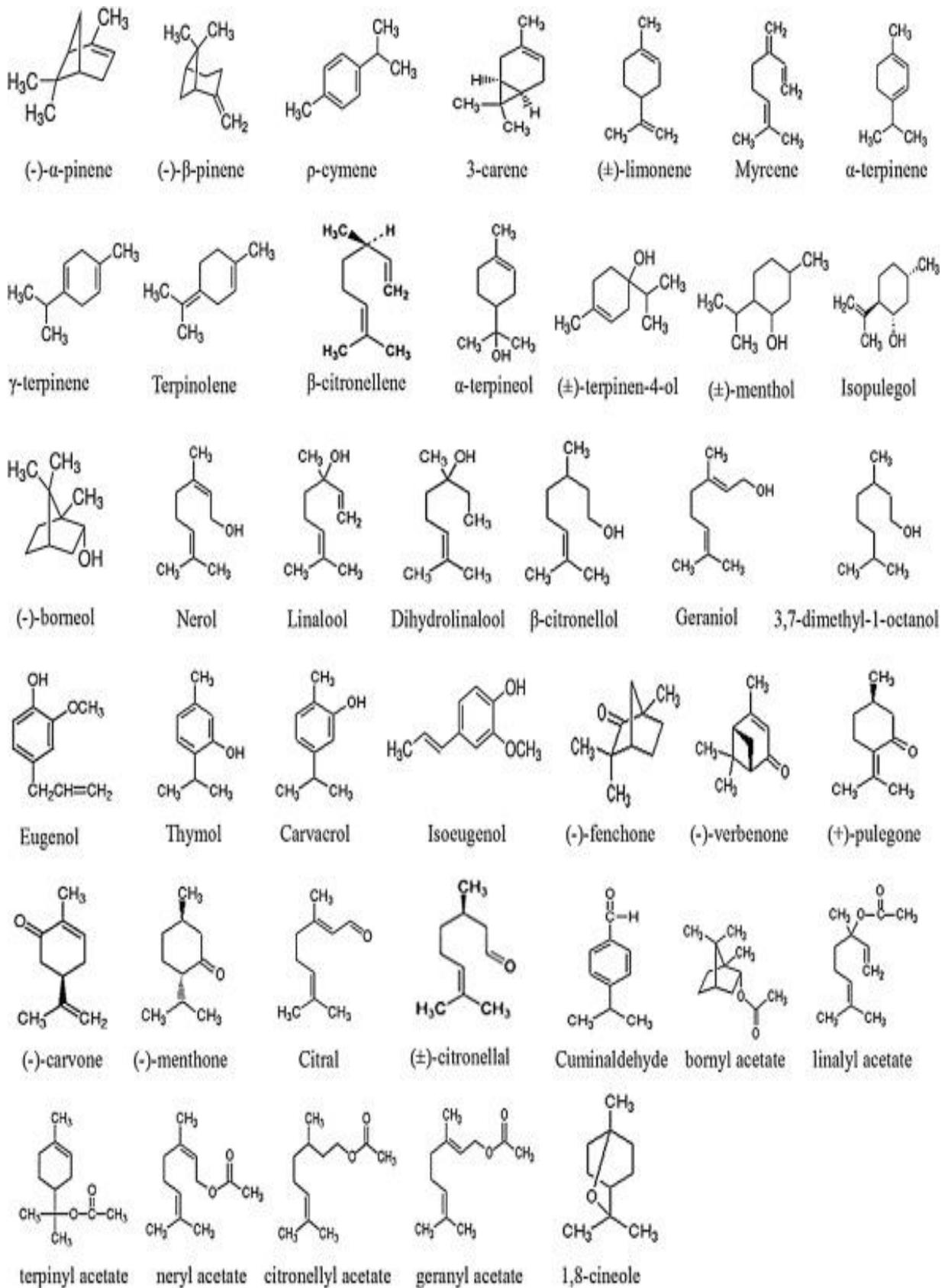
Famille botanique	Nom français	Nom latin
<b>Anacardiacées</b>	Sumac	<i>Rhus coraria</i>
	Poivre rose du Brésil	<i>Schinus terebinthifolius</i>
	Poivre rose du Pérou	<i>Schinus molle</i>
<b>Annonacées</b>	Poivre de Guinée	<i>Xylopiya aethiopica</i>
<b>Apiacées</b>	Ajowan	<i>Trachyspermum ammi</i>
	Aneth	<i>Anethum graveolens</i>
	Angélique	<i>Angelica archangelica</i>
	Anis	<i>Pimpinella anisum</i>
	Ase fétide	<i>Ferula assa-foetida</i>
	Carvi	<i>Carum carvi</i>
	Céleri	<i>Apium graveolens</i>
	Cerfeuil	<i>Anthriscus cerefolium</i>
	Cerfeuil musqué	<i>Myrrhis odorata</i>
	Coriandre	<i>Coriandrum sativum</i>
	Cumin	<i>Cuminum cyminum</i>
	Fenouil	<i>Foeniculum vulgare</i>
	Livèche	<i>Levisticum officinale</i>
	Persil	<i>Petroselinum crispum</i>
<b>Astéracées</b>	Armoise	<i>Artemisia vulgaris</i>
	Aurone	<i>Artemisia obrotanum</i>
	Estragon	<i>Artemisia dracunculul</i>
	Tanaisie	<i>Tanacetum vulgare</i>
<b>Bixacées</b>	Rocou	<i>Bixa orellana</i>
<b>Boraginacées</b>	Bourrache	<i>Borago officinalis</i>
<b>Brassicacées</b>	Cresson alénois	<i>Lepidum sativum</i>
	Cresson de fontaine	<i>Nasturtium officinale</i>
	Moutarde blanche	<i>Sinapis alba</i>
	Moutarde brune	<i>Brassica juncea</i>
	Raifort	<i>Armoracia rusticana</i>
<b>Caesalpiniacées</b>	Tamarin	<i>Tamarindus indica</i>
<b>Cannabinacées</b>	Houblon	<i>Humulus lupulus</i>
<b>Capparidacées</b>	Câpre	<i>Capparis spinosa</i>
<b>Cupressacées</b>	Genièvre	<i>Juniperus communis</i>
<b>Fabacées</b>	Fenugrec	<i>Trigonella foenum-graecum</i>
	Soja	<i>Glycine max</i>
<b>Illiciacées</b>	Badiane	<i>Illicium verum</i>
<b>Iridacées</b>	Safran	<i>Crocus sativum</i>
<b>Lamiacées</b>	Basilic	<i>Ocimum basilicum</i>
	Hysope	<i>Hyssopus officinalis</i>
	Marjolaine	<i>Origanum majorana</i>
	Mélisse	<i>Melissa officinalis</i>
	Menthes	<i>Mentha citrata</i>
	Menthe bergamte	<i>Mentha spicata</i>
	Menthe a feuilles rondes	<i>Mentha suaveolens</i>
	Menthe poivrée	<i>Mentha X piperita</i>
	Menthe pouliot	<i>Mentha pulegium</i>
	Monarde	<i>Monarda didyma</i>
	Origan	<i>Origanum vulgare</i>

## Annexes

	Romarin	<i>Rosmarinus officinalis</i>
	Sarriette	<i>Satureja hortensis</i>
	Sauge	<i>Salvia officinalis</i>
	Thym	<i>Thymus vulgaris</i>
<b>Lauracées</b>	Cannelle de Ceylan	<i>Cinnamomum verum</i>
	Cannelle de Chine	<i>Cinnamomum aromaticum</i>
	Laurier	<i>Laurus nobilis</i>
	Sassafras	<i>Sassafras albidum</i>
<b>Liliacées</b>	Ail	<i>Allium sativum</i>
	Ail des ours	<i>Allium ursinum</i>
	Ciboule	<i>Allium fistulosum</i>
	Ciboulette	<i>Allium schoenoprasum</i>
	Echalote	<i>Allium cepa var. ascalonicum</i>
	Oignon	<i>Allium cepa var. cepa</i>
	Poireau	<i>Allium porrum var. porrum</i>
<b>Myristicacées</b>	Muscade	<i>Myristica fragrans</i>
<b>Myrtacées</b>	Girofle	<i>Syzygium aromaticum</i>
	Piment de la Jamaïque	<i>Piment dioica</i>
<b>Oléacées</b>	Olive	<i>Olea europea</i>
<b>Orchidacées</b>	Vanille	<i>Vanilla planifolia</i>
<b>Pédaliacées</b>	Sésame	<i>Sesamum orientale</i>
<b>Pipéracées</b>	Poivres	<i>Piper nigrum</i>
<b>Poacées</b>	Citronnelle	<i>Cymbopogon citrates</i>
<b>Ranunculacées</b>	Nigelle	<i>Nigella sativa</i>
<b>Rosacées</b>	Pimprenelle	<i>Sanguisorba minor</i>
<b>Rubiacées</b>	Aspérule	<i>Galium odoratum</i>
<b>Rutacées</b>	Agrumes	<i>Citrus sp.</i>
	Bigaradier	<i>Citrus aurantium</i>
	Cédrat	<i>Citrus medica</i>
	Citron	<i>Citrus limon</i>
	Poivre du sichuan	<i>Zanthoxylum piperitum</i>
	Rue	<i>Ruta graveolens</i>
<b>Solanacées</b>	Piment doux	<i>Capsicum annuum</i>
	Piment fort	<i>Capsicum frutescens</i>
<b>Tropaéolacées</b>	Capucine	<i>Tropaeolum majus</i>
<b>Verbénacées</b>	Verveine odorante	<i>Aloysia triphylla</i>
<b>Zinzibéracées</b>	Cardamome	<i>Elettaria cardamomum</i>
	Curcuma	<i>Curcuma domestica</i>
	Galanga	<i>Alpinia officinarum</i>
	Gingembre	<i>Zingiber officinale</i>
	Poivre maniguette	<i>Aframomum melegueta</i>

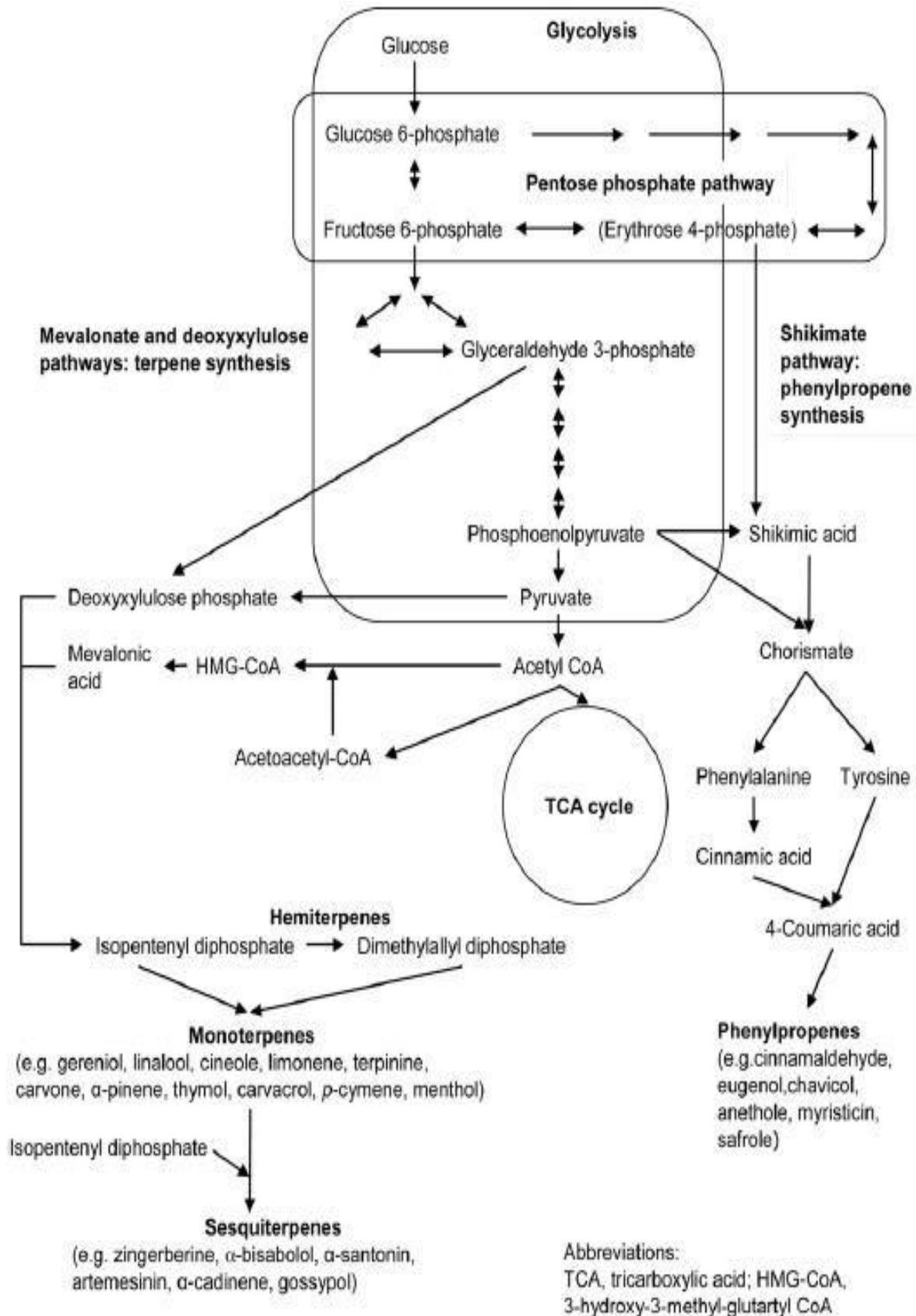
## Annexes

### Annexe II : structure chimique de quelques constituants des huiles essentielles [77]



## Annexes

### Annexe III : les différentes voies de synthèse des HE [23]



## Annexes

### Annexe IV : les principales huiles essentielles antibacteriennes [20].

Dénomination latine	Plante et type d'extrait et partie utilisée	Molécule(s) d'intérêt	Précaution
<i>Cinnamomum verum</i> J. Presl.	HE cannelle écorce	Cinnamaldéhyde, eugénol	Caustique sur muqueuse et peau (choix galénique important)
<i>Cinnamomum verum</i> J. Presl	HE cannelle feuille	Eugénol, alcool cinnamique	Caustique sur muqueuse et peau (choix galénique important). Attention <i>per os</i> , l'eugénol est un antiagrégant plaquettaire
<i>Eugenia caryophyllata</i> Thumb.	HE girofle clou, griffe et feuille	Eugénol	Caustique sur muqueuse et peau (choix galénique important). Attention <i>per os</i> , l'eugénol est un antiagrégant plaquettaire)
<i>Satureja montana</i> L.	HE sarriette des montagnes sommité fleurie	Carvacrol	Caustique sur muqueuse et peau (choix galénique important)
<i>Satureja hortensis</i> L.	HE sarriette des jardins sommité fleurie	Carvacrol, thymol	Caustique sur muqueuse et peau (choix galénique important)
<i>Origanum compactum</i> Bentham	HE origan compacte partie aérienne	Carvacrol, thymol	Caustique sur muqueuse et peau (choix galénique important)
<i>Origanum vulgare</i> L.	HE origan d'Europe partie aérienne	Carvacrol, linalol, thymol	Caustique sur muqueuse et peau (choix galénique important)
<i>Thymus vulgaris</i> L.	HE thym ct thymol sommité fleurie	Thymol, carvacrol	Caustique sur muqueuse et peau (choix galénique important)
<i>Thymus vulgaris</i> L.	HE thym ct carvacrol sommité fleurie	Carvacrol, thymol	Caustique sur muqueuse et peau (choix galénique important)
<i>Thymus capitatus</i> Hoffm & Link	HE origan d'Espagne	Carvacrol, linalol, bornéol	Caustique sur muqueuse et peau (choix galénique important)
<i>Pimenta racemosa</i> (Miller) J.W. Moore	HE Bay Dominique feuille	Eugénol	Caustique sur muqueuse et peau (choix galénique important)
<i>Melaleuca alternifolia</i> Cheel.	HE arbre à thé rameau fraîchement taillé	Terpinène-4-ol, globulol, viridoflorol	Aucune connue
<i>Thymus vulgaris</i> L.	HE thym ct thuyanol sommité fleurie	Thuyanol, linalol	Aucune connue
<i>Thymus vulgaris</i> L.	HE thym ct linalol sommité fleurie	Linalol	Aucune connue
<i>Thymus vulgaris</i> L.	HE thym ct géranol sommité fleurie	Géranol	Aucune connue
<i>Thymus satureioides</i> Cosson	HE thym satureioides sommité fleurie	Bornéol, linalol, octanol-3	Aucune connue
<i>Fokienia hodginsii</i> (Dunn) Henry et H.H.Thomas	HE Pei-mou, bois de Siam, bois du tronc	Fokiéol + nérolidol trans	Aucune connue
<i>Ocimum gratissimum</i> L.	HE basilic tropical partie aérienne fleurie	Eugénol, thymol selon les origines	Caustique sur muqueuse et peau (choix galénique important)

## Annexes

**Annexe V** : les principales huiles essentielles antifongiques [20].

Dénomination latine	Plante et type d'extrait	Molécule(s) d'intérêt	Précaution
Toutes les HE	antibactériennes	Voir le tableau IX	Aucune connue
<i>Cuminum cyminum</i> L.	HE cumin semence	Cuminaldéhyde	Aucune connue
HE <i>Laurus nobilis</i> L.	HE laurier d'Appolon Rameau fraîchement taillé	1,8-cinéole, linalol, terpinène-4-ol, terpinéol $\alpha$	Utiliser avec prudence chez l'enfant de moins de 7 ans. Interdit avant l'âge de 36 mois.
<i>Cymbogon citratus</i> (DC) Stapf et <i>Cymbopogon flexuosus</i> Stapf.	HE lemon-grass	Citral (géraniol + néral)	Aucune connue
<i>Eucalyptus citriodora</i> Hook.f.	HE eucalyptus citronné rameau fraîchement taillé	Citronellal, citronellol, géraniol, linalol	Aucune connue
<i>Coriandrum sativum</i> L.	HE coriandre semence	Linalol	Aucune connue
<i>Pelargonium graveolens</i> l'Herit. Ex Aiton	HE géranium partie aérienne	Quelle que soit l'origine – citronellol, géraniol, linalol, terpinéol $\alpha$	Aucune connue
<i>Mentha suaveolens</i>	HE menthe suave partie aérienne fleurie	Pipériténone oxyde	Éviter <i>per os</i>
<i>Melaleuca leucadendron</i> L.	HE cajeput rameaux fraîchement taillés	1,8-cinéole + terpinéol $\alpha$ . Il existe un chémotype à platyphylol, extrêmement actif.	Utiliser avec prudence chez l'enfant de moins de 7 ans. Interdit avant l'âge de 36 mois
<i>Melaleuca quinquenevia</i> (Cav.) ST Blake	HE niaouli rameaux fraîchement taillés	1,8-cinéole + terpinéol $\alpha$	Utiliser avec prudence chez l'enfant de moins de 7 ans. Interdit avant l'âge de 36 mois
<i>Litsea cubeba</i> (Lour.) Persoon	HE litsée citronnée fruit	Citral, citronellol, linalol, citronellal	Aucune connue
<i>Commiphora myrrha</i> (Ness) Engler var. <i>molmol</i>	HE myrrhe amère	furanosesquiterpènes	Aucune connue
<i>Cymbopogon martini</i> Stapf. Var <i>motia</i>	HE palmarosa	Géraniol, linalol	Aucune connue
<i>Ocimum sanctum</i> L.	HE Tulsi partie aérienne fleurie	Eugénol, méthyl eugénol, méthyl chavicol	Aucune connue Pourrait néanmoins s'avérer caustique pour la peau et les muqueuses (choix galénique important)

## Annexes

**Annexe VI** : principales huiles essentielles antivirales [20].

<b>Dénomination latine</b>	<b>Plante et type d'extrait</b>	<b>Molécule (s) d'intérêt</b>	<b>Précaution</b>
<i>Ormenis multicaulis</i> Braun-Blanquet et Maire	HE camomille du maroc partie aerienn e fleurie	Santolina alcool, yomogi alcool, linalol, artemisia alcool, citronellol	Aucune connue
<i>Monarda fistulosa</i> Lvar menthaefolia (Graham) Fernald. Forma « sweet »	HE monarde géranio l	géranio l	Aucune connue
<i>Thymus vulgaris</i> L	HE thym et thuyanol sommité fleurie	Thuyanol, linalol	Aucune connue
<i>Thymus vulgaris</i> L	HE thym et linalol sommité fleurie	Linalol	Aucune connue
<i>Thymus vulgaris</i> L	HE thym et géranio l sommité fleurie	Géranio l	Aucune connue
<i>Melaleuca alternifolia</i> Cheel	HE arbre à thé rameau fraîchement taillé	Terpinène-4-ol, globulol, viridoflorol	Aucune connue
<i>Nigella sativa</i> L	HE nigelle cultivée semence	Thymoquinone, carvacrol, linalol, terpinène-4-ol, thymol	Aucune connue
<i>Myrocarpus frondosus</i> Freire Allemao	HE cabreuva des forets, bois du tronc	Cadinol, farnésol, bisabolol	Aucune connue
<i>Mentha citrata</i> Ehrh	HE menthe bergamotte origine France plante coupée pré fané	Linalol, terpinéol , géranio l	Aucune connue
<i>Inula graveolens</i> Desf	HE inule odorante sommité fleurie	Bornéol, terpinéol	Aucune connue
<i>Amyris balsamifera</i> L	HE Amyris bois du tronc	Elémol, eudesmol	Aucune connue
<i>Cistus ladaniferus</i> L	HE ciste labdanum-partie aérienne séchée partiellement	Bornéol, géranio l, géranio l, eugénol nérol, lédol	Aucune connue
<i>Coriandrum sativum</i> L	HE coriandre semence	Linalol	Aucune connue

## Annexes

### Annexe VII : liste des principales espèces du thym en Algérie [53].

<i>Espèce</i>	Localisation et caractéristique
<i>Thymus capitatus</i> L.	Très rare dans le sous-secteur de l'atlas tellien
<i>Thymus fontanesii</i> Bois et Reut.	Commun dans le Tell Endémique Algérien et Tunisien
<i>Thymus commutatus</i> Batt	Très rare dans le sous-secteur de l'atlas saharien constantinois. Endémique Algérien et Marocain
<i>Thymus dreatensis</i> Batt	Très rare dans le secteur du Tell constantinois et de la petite Kabylie. Endémique
<i>Thymus numidicus</i> Poiret	Assez rare dans : le sous-secteur de l'atlas tellien, le secteur du Tell constantinois et petite et grande Kabylie. Endémique Algérien et Tunisien
<i>Thymus guyonii</i> de Noé	Rare dans : le sous-secteur des hauts plateaux algérois, oranais et constantinois. Endémique
<i>Thymus lanceolatus</i> Desf	Rare dans : le sous-secteur de l'atlas tellien algérois (Terni) et de l'atlas tellien oranais (Médéa, Benchicao), le sous-secteur des hauts plateaux algérois et oranais (Tiaret) et constantinois (Aumale). Endémique
<i>Thymus pallidus</i> Coss	Très rare dans le sous-secteur de l'atlas saharien constantinois.
<i>Thymus glandulosus</i> Lag	Très rare dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois et oranais.
<i>Thymus hirtus</i> Willd	Commun sauf sur le littoral.
<i>Thymus algeriensis</i> Bois et Reut	Très commun dans toutes les régions montagneuses et rares ailleurs. Endémique nord-africain
<i>Thymus munbyanus</i> Desf	Endémique nord-africain

## Annexes

---

### Annexe VIII : composition chimique du réactif de Gazet du Chatelier

C'est un liquide de couleur rouge orangée, stable et de bonne conservation composé de :

- Acide lactique ..... 60 ml
- Acide lactique saturé de Soudan III ..... 45 ml
- Sulfate d'aniline ..... 1.10 g
- Iode bisublimé ..... 0.10 g
- Iodure de potassium ..... 1 g
- Alcool à 95° ..... 10 ml
- HCL concentré et pur ..... 6 ml
- Eau distillée ..... 80 ml

### ❖ Résumé :

L'objectif de cette étude est de contribuer à la prise en charge des résistances bactériennes en étudiant une alternative naturelle représentée par l'huile essentielle de *Thymus* sp. Ainsi qu'une estimation de l'efficacité de quelques usages traditionnels de cette même plante.

Pour cela, le thym a fait l'objet d'une étude histologique. Puis une extraction de son huile essentielle par hydrodistillation a été effectuée, suivie d'une étude physicochimique et chromatographique.

L'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle a été effectuée sur 04 souches microbiennes et comparée à celle de 03 préparations traditionnelles.

Les résultats ont montrés une activité antimicrobienne importante de l'huile essentielle à l'égard de toutes les souches microbiennes utilisées sauf le *Pseudomonas aeruginosa*. Contrairement à une activité nulle des préparations.

Ils ont également révélé que c'est l'huile essentielle qui est responsable de l'activité antimicrobienne. Par conséquent, l'usage traditionnel des plantes ne serait pas efficace contre les affections bactériennes.

Mots clés : *Thymus* sp, huile essentielle, hydrodistillation, carvacrol, activité antimicrobienne.

### ❖ Abstract:

The objective of this study is to contribute to the management of bacterial resistance by studying a natural alternative represented by the essential oil of *Thymus* sp. As well as an estimate of the effectiveness of some traditional uses of this same plant.

For this, the thyme has been the subject of a histological study. Then an extraction of its essential oil by hydrodistillation was carried out, followed by a physicochemical and chromatographic study.

The study of the antimicrobial activity of the essential oil was carried out on 04 microbial strains and compared to that of 03 traditional preparations.

The results showed significant antimicrobial activity of the essential oil against all microbial strains used except *Pseudomonas aeruginosa*. Unlike zero activity of the preparations.

They also revealed that it is the essential oil that is responsible for the antimicrobial activity. Therefore, traditional use of plants would not be effective against bacterial diseases.

Key words: *Thymus* sp, essential oil, hydrodistillation, carvacrol, antimicrobial activity.