



UNIVERSITÉ
DE BISKRA

Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la
terre et de l'univers
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence / 2025

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté et soutenu par :
BENSALAH Mohamed Oussama
BENBOUZID Meriem
Encadré par : **Dr. MEDDOUR Asma**

Le : mardi 3 juin 2025

*Activité antibactérienne des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*, *Ziziphus spina-christi* et *Rosmarinus officinalis**

Jury :

M.	Hamza Harkat	MAA	Université de Biskra	Président
Dr.	Meddour Asma	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Dr.	Wissame Zekri	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2024/2025

Table de matière

Remerciement.....	II
Dédicace.....	III
Table de matière.....	IV
Liste des tableaux.....	V
Liste des figures.....	VI
Liste des abréviations.....	VII
Introduction générale.....	1
Partie bibliographique.....	
Chapitre 1: Généralités sur les plantes étudiées.....	
1. <i>Thymus vulgaris</i> (Thym commun).....	2
1.1. Nomenclature et description botanique.....	2
1.2. Classification.....	2
1.3. Répartition géographique et écologie.....	3
1.4. Composition chimique et activités biologiques.....	4
2. <i>Ziziphus spina-christi</i> (Jujubier épineux).....	5
2.1. Nomenclature et description botanique.....	5
2.2. Classification.....	5
2.3. Répartition géographique et écologie.....	6
2.4. Composition chimique et activités biologiques.....	6
2.5. Usages traditionnels.....	7
3. <i>Rosmarinus officinalis</i> (Romarin).....	7
3.1. Nomenclature et description botanique.....	7
3.2. Classification botanique.....	8
3.3. Répartition géographique et écologie.....	8
3.4. Composition chimique et activités biologiques.....	8
3.5. Usages traditionnels.....	9
Chapitre 2: Huiles essentielles.....	
1. Les huiles essentielles.....	10
2. Usage traditionnel en Algérie : Un patrimoine ancestral.....	11
Partie pratique.....	9
Chapitre 3: Matériel et Méthodes.....	
1. Matériel.....	12

1.1. Matériel biologiques	11
1.1.1. Matériel végétale	11
1.1.2. Souches bactériennes	11
1.1.2.1 Conservation des souches	13
1.1.2.2. Milieux de culture	13
1.1.3. Matériel non biologique	13
2. Méthodes	13
2.1. Extraction par hydrodistillation (méthode de Clevenger)	13
2.2. Tests préliminaires	15
2.2.1. Alcaloïdes	15
2.2.2. Tannins	15
2.2.3. Flavonoïdes.....	15
2.3. Obtention des souches cliniques	15
2.4. Obtention des souches de référence	16
2.5. Test de l'activité anti bactérienne	16
2.5.1. Test de diffusion en milieu gélosé.....	16
2.5.2. Préparation des échantillons et leurs dilutions	16
2.5.4. Préparation des suspensions bactériennes et ajustement de la densité.....	17
2.5.6. Préparation et imprégnation des disques	18
2.5.7. Incubation	18
3. Expression des résultats.....	18
Chapitre 4: Résultats et discussions.....	
1. Résultats et discussion.....	20
1.1 Rendement des différentes plantes en huiles essentielles	20
1.2 Tests préliminaires	20
2. Résultats des tests antibactériennes	21
2.1. Résultats des tests sur les souches bactériennes référenciées :	21
2.2. Résultats des tests sur les souches bactériennes cliniques :	29
2.3. Discussion des tests des bactéries cliniques	33
Conclusion.....	36
Bibliographie :	
Annexe :.....	
Résumé	

Remerciement

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements, avant tout à Dieu Tout-Puissant et Miséricordieux, qui m'a accordé la force, le courage et la volonté d'achever ce modeste travail.

J'adresse mes remerciements les plus vifs à Madame Maddour Asma, ma superviseure, pour la confiance qu'elle m'a témoignée, ses conseils avisés, ses orientations précieuses ainsi que son soutien scientifique et moral tout au long des différentes étapes de ce travail.

Je remercie les honorables membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail, ainsi que l'ensemble des membres du laboratoire du Département des Sciences de la Nature et de la Vie, pour leur accueil et leur assistance

Je remercie également chaleureusement Mme Alima, technicienne de laboratoire, pour sa disponibilité, sa gentillesse et sa collaboration continue durant toute la période de réalisation de ce mémoire.

Je tiens à adresser une mention spéciale à Mme Halima Keraifi, pharmacienne à l'hôpital, pour son soutien précieux et son aide inestimable durant la phase pratique de cette étude.

Ma reconnaissance va également à Monsieur le Directeur de l'Hôpital Achour Zian Ouled Djellal, M. Tataiat Salah, au Chef du service de laboratoire médical, M. Zanouda Said, ainsi qu'à M. Benbouzid Lakhdar, pour leur disponibilité, leur accueil et les facilités accordées pour la réalisation de ce travail sur le terrain.

Je tiens à remercier tout particulièrement mes amies, pour leur soutien moral, leurs encouragements constants et leur présence fidèle tout au long de ce parcours.

Enfin, ma gratitude s'étend à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réussite de ce travail. À vous tous : merci.

Dédicace

Avant tout, grâce à Allah, le Tout-Puissant, qui m'a guidé et soutenu à chaque étape de ce parcours, je dédie ce travail à toutes les personnes qui ont cru en moi et m'ont soutenu, de près ou de loin.

Je le dédie de tout cœur à mes chers parents, à ma mère et à mon père, piliers de ma vie, pour leur amour inépuisable, leurs prières silencieuses, leurs sacrifices quotidiens et leur soutien indéfectible. Sans eux, rien n'aurait été possible.

À ma sœur et à mes deux frères, pour leur présence rassurante, leurs mots d'encouragement et leur affection sincère qui m'ont porté dans les moments de doute.

À mes amis fidèles, pour leur compréhension, leur patience, et leur soutien moral tout au long de cette aventure parfois difficile, mais enrichissante.

À Mme Alima, ingénieure de laboratoire, dont la générosité, la disponibilité et les conseils avisés m'ont été d'un grand secours. Sa présence bienveillante a marqué mon parcours.

À mes collègues, et plus particulièrement à Ben Maria et Ben Nesrine, pour leur solidarité, leur esprit d'équipe, leur bonne humeur et les instants partagés qui ont allégé les moments les plus intenses.

Enfin, je dédie ce mémoire à toutes celles et ceux qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à sa réalisation. Votre soutien, même discret, a compté.

Merci à vous, du fond du cœur.

ben.oussama

Dédicace

À mon cher père, De toi, j'ai appris les plus nobles significations du sacrifice et de la fraternité. Tu as toujours été mon modèle et ma source de force. Merci pour ta confiance et ton soutien constant.

À ma chère mère, Toi qui as été la prière exaucée, la tendresse qui m'enveloppe à chaque fois que je suis fatiguée. Sans toi, je ne serais pas celle que je suis aujourd'hui.

À mes trois frères, Compagnons de vie et soutien des jours, vous êtes ma joie et les cœurs les plus proches du mien.

À ma grand-mère bien-aimée "Mama Habiba", Tes prières sont la source de ma paix, et ton amour un pont entre les générations. Que Dieu te garde parmi nous, lumière et chaleur de notre foyer.

À toutes les familles Ben Bouzid, Sakhri et Djoudir, Chaque moment de chaleur et d'affection de votre part a nourri mon parcours. Merci pour chaque sourire et chaque prière.

À mon mari, Merci de m'avoir soutenue à chaque pas. Ta présence à mes côtés a rendu le chemin plus doux et plus beau.

À mon amie de toujours, Celle qui a partagé avec moi les moments de joie et de fatigue. Tu as toujours été un précieux soutien, compagne du cœur et de l'esprit

À mes amies d'enfance et d'études, chacune par son nom, À vous toutes, j'offre ce mémoire en gage d'amour et de reconnaissance. Vous êtes une partie intégrante de ma réussite ben.meriam .

Liste des tableaux

Tableau 1 Composition chimique et activités biologiques du thym (Patil <i>et al.</i> , 2021)	4
Tableau 2 Les souches de référence	16
Tableau 3 Les différentes concentrations des échantillons	17
Tableau 4 Rendements des différentes plantes en huiles essentielles.....	20
Tableau 5 Résultats des tests phytochimiques.	20
Tableau 6 Diamètres des zones d'inhibition de la croissance d' <i>E.coli</i> par les différentes huiles.	22
Tableau 7 Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de <i>S. aureus</i> par les différentes huiles	25
Tableau 8 Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de <i>P. aeruginosa</i> par les différentes huiles	27
Tableau 9 Diamètres des zones d'inhibition de la croissance d' <i>E. coli</i> par les différentes huiles	29
Tableau 10 Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de <i>S. aureus</i> par les différentes huiles	30
Tableau 11 Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de <i>P. aeruginosa</i> par les différentes huiles	32

Liste des figures

Figure 1 <i>Thymus vulgaris</i> . (Sindhu . Usha Kiran Reddy, 2017)	2
Figure 2 <i>Ziziphus spina-christi</i> (site web 01).....	6
Figure 3 <i>Rosmarinus officinalis</i> (site web 02)	7
Figure 4 Protocole d'extraction des huiles essentielles.....	14
Figure 5 Activité des différentes huiles sur <i>E. coli</i> de référence.....	24
Figure 6 Activité des différentes huiles sur <i>S. aureus</i> de référence.	26
Figure 7 Activité des différentes huiles sur <i>P. aeruginosa</i> de référence.....	28
Figure 8 Activité des différentes huiles sur <i>E. coli</i> clinique.	30
Figure 9 Activité des différentes huiles sur <i>S. aureus</i> clinique.....	31
Figure 10 Activité des différentes huiles sur <i>P. aeruginosa</i> clinique.	33

Liste des photos

photo 1 <i>Thymus vulgaris</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i> et <i>Ziziphus spina-christi</i> (de gauche à 11	11
photo 2 Méthode de Clevenger	14
photo 3 Préparation de gélose de Mueller Hinton.....	18

Liste des abréviations

DMSO : diméthylsulfoxyde

IUCN : Union internationale pour la conservation de la nature (International Union for Conservation of Nature)

NaCl : chlorure de sodium

Rs : huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

S: sensible

Thy : huile essentielle de *Thymus vulgaris*

Zi : huile essentielle de *Ziziphus spina-christi*

Introduction générale

Face à l'émergence croissante de résistances bactériennes aux antibiotiques conventionnels, la recherche de solutions alternatives d'origine naturelle s'impose comme une priorité mondiale.

Les plantes médicinales jouent un rôle important dans la prévention et le traitement des maladies. Elles représentent l'une des plus anciennes formes de médecine utilisées à travers les cultures et les civilisations pour leurs propriétés thérapeutiques. Près de 80% de la population mondiale encore utilise les plantes médicinales comme source du traitement d'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (who, 2002).

Parmi les composés des plantes les plus prometteurs, figurent les huiles essentielles ; extraits riches en composés bioactifs aux propriétés antimicrobiennes avérées.

Dans le cadre de la valorisation des huiles essentielles des plantes médicinales, les huiles de *Thymus vulgaris*, *Ziziphus spina-christi* et *Rosmarinus officinalis*, plante reconnue pour ses multiples usages thérapeutiques en médecine traditionnelle notamment pour leurs propriétés antimicrobiennes, ont été choisis pour les étudier. L'activité antibactérienne de ces huiles, séparées ou des combinaisons de deux et de trois huiles, est l'objectif de ce travail.

Notre travail, est organisé en deux parties :

- Partie bibliographique : est divisée en deux chapitres :
 - Le premier chapitre renferme des généralités sur les plantes étudiées.
 - Le deuxième chapitre donne un résumé sur les huiles essentielles,
- Partie pratique : c'est notre travail la partie pratique, il est divisé aussi en deux chapitres :
 - Matériel et méthodes : décrit le matériel et les différentes méthodes suivis pour réaliser ce mémoire
 - Résultats et discussions : présente les résultats obtenus et leurs discussions

Partie bibliographique

Chapitre 1 :

Généralités sur les plantes étudiées

1. *Thymus vulgaris* (Thym commun)

1.1. Nomenclature et description botanique

Thymus vulgaris L. également connu sous le nom de thym commun est une petite plante herbacée médicinale vivace. Il pousse généralement comme un sous-arbrisseau de 5 à 30 cm de hauteur (peut atteindre rarement plus de 40 cm de haut) avec des racines ligneuses et fibreuses. Il possède de nombreuses tiges dures et ramifiées (10 à 20 cm de haut) avec de petites feuilles gris-vert, ovales à rectangulaires et légèrement charnues et des fleurs blanc ou violet qui s'épanouissent de mai à septembre et dégagent un parfum caractéristique, dû au thymol (Figure 1) (Sindhu et Usha Kiran Reddy, 2017)



Figure 1. *Thymus vulgaris*. (Sindhu et Usha Kiran Reddy, 2017)

1.2. Classification

Thymus vulgaris est l'une des plantes de la famille des Lamiacées, plantes à fleurs, avec environ 220 genres et près de 4 000 espèces réparties dans le monde. Selon Khela, (2014), la classification du Thym est :

Règne : Plantae (plantes).

Classe : Magnoliopsida (plantes à fleurs).

Ordre : Lamiales (ordre des plantes aromatiques comme la menthe ou la lavande).

Famille : Lamiaceae.

Genre : *Thymus*.

Espèce : *Thymus vulgaris*.

Noms communs : Farigoule ou frigoule (France), Tomillo (Espagne)

Le nom vernaculaire : « Zaatar »

les synonymes : *Origanum thymus* Kuntze, *Thymus collinus* Salisb (Rankou *et al.*, 2018).

1.3. Répartition géographique et écologie

Le thym est originaire du bassin méditerranéen, d'Afrique du Nord et de plusieurs régions d'Asie, et se distingue par sa grande diversité dans le monde. Actuellement il est cultivé dans de nombreuses régions tempérées et subtropicales à travers le monde (Reddy, 2014).

En Algérie, on peut le trouver, généralement, dans les zones arides et semi-arides par exemple l'Atlas saharien. Il pousse spontanément, et il est cultivé pour ses usages culinaires et médicaux. (Reddy 2014).

Le thym pousse bien dans les climats tempérés à chauds, secs et ensoleillés, il a besoin du plein soleil pour se développer pleinement. Le thym préfère les sols légers et bien drainés, avec un pH compris entre 5,0 et 8,0 (Reddy 2014).

1.4. Composition chimique et activités biologiques

Le thym est riche en composés bioactifs qui le confèrent des effets pharmacologiques très importantes (tableau suivant) notamment :

Tableau 1. Composition chimique et activités biologiques du thym (Patil *et al.*, 2021)

Classe	Composé	Activités biologiques
Composés phénoliques	Acide quinique, acide p-hydroxy-benzoïque, acide oxypropanoïque, acide p-coumarique, acide caféique, acide syringique, acid gentisique, acide rosmarinique, acide ferulique	Antioxydant, antimicrobienne, anticancéreuse, immunomodulateur, gastro-neuro-, cardio-, néphro- et hépatoprotectrices, anti-inflammatoire, anti-allergique, antidépresseur, antidiabétique.
Terpenoids	Thymol, Carvacrol, Geraniol, Linalool, p-Cymene, γ -terpinene Limonene β -Caryophyllene, β -Pinene, α -Terpineol	Antioxydant, antimicrobienne, neuro et hépatoprotectrices, anticancéreux, anti-hyper-lipidémique, anti-inflammatoire, analgésique, antitussif, anxiolytique, anti-hypertension, immunomodulateur, antiparasitaire, antispasmodique.
Flavonoïdes	Apigenin, Luteolin, Cirsimaritin, Xanthomicrol	Antioxydant, antimicrobienne, antidiabétique, neuro- cardio et hépatoprotectrices, anticancéreux, antidépresseur, anti-inflammatoire, anti-insomnie, anti-Alzheimer, antispasmodique, antiplaquettaire,

1.5. Usages traditionnels

Le thym est utilisé depuis l'antiquité pour ces effets :

- Culinaire : il est largement utilisé dans la cuisine méditerranéenne pour aromatiser les plats de viande, les soupes et les sauces. (Patil *et al.*, 2021)
- Médicinal : « Zaatar » est très utilisé en médecine traditionnelle sous plusieurs formes : les feuilles sont utilisées en infusion contre la toux, en décoction pour guérir les maux de tête, hypertension et gastrites, en usage externe comme cicatrisants et antiseptiques. Les feuilles de thym sont riches en huile essentielle dont les propriétés sont mises à profit en phytothérapie. Très antiseptique, le thym est utilisé à ce titre pour soigner les infections pulmonaires. Son action antiseptique s'exerce également sur le système digestif, notamment en cas de diarrhée et il est aussi vermifuge (Patil *et al.*, 2021).

- Cosmétique : son huile essentielle est employée en aromathérapie pour ses propriétés relaxantes et antiseptiques (Patil *et al.*, 2021).

2. *Ziziphus spina-christi* (Jujubier épineux)

2.1. Nomenclature et description botanique

Ziziphus spina-christi (L.) Willd., connu sous le nom de jujubier épineux ou Sidr, est une espèce médicinale majeure appartenant à la famille des Rhamnaceae. C'est un arbre épineux pouvant atteindre jusqu'à 15 mètres de hauteur, avec des rameaux tordus, des feuilles ovales, alternes, persistantes, coriaces et brillantes sur leur face supérieure. Il produit des fruits appelés drupes, globuleuses ou ovoïdes, de couleur jaune devenant brune à maturité, consommés frais ou séchés (Khaleel *et al.*, 2016; Yahia *et al.*, 2020). Ces fruits sont également utilisés pour leur richesse en nutriments et leur potentiel médicinal reconnu dans les pharmacopées traditionnelles (Elshiekh, 2022).

2.2. Classification

La classification botanique de *Ziziphus spina-christi* est confirmée dans plusieurs études de taxonomie végétale et sert de base à son identification dans les régions arides (Yahia *et al.*, 2020; Elshiekh, 2022)

Règne : Plantae (plantes).

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Rosales

Famille : Rhamnaceae

Genre : *Ziziphus*

Espèce : *Ziziphus spina-christi*

Les noms communs : jujubier épineux, Sidr ou Épine du Christ.



Figure 2. *Ziziphus spina-christi* (site web 01)

2.3. Répartition géographique et écologie

Ziziphus spina-christi est originaire des régions tropicales sèches, et sa répartition couvre une grande partie de l'Afrique du Nord, du Moyen-Orient, du Sahel, de l'Asie du Sud-Ouest jusqu'à l'Inde (Khaleel *et al.*, 2016).

En Algérie, il est très fréquent dans les zones arides et semi-arides, notamment dans les hauts plateaux et les régions sahariennes, où il est adapté aux conditions extrêmes. Il joue un rôle écologique important dans la stabilisation des sols, la lutte contre la désertification et la fourniture de ressources alimentaires et médicinales aux communautés (Elshiekh 2022).

2.4. Composition chimique et activités biologiques

Ziziphus spina-christi contient une grande variété de composés phytochimiques qui lui confèrent ses nombreuses propriétés pharmacologiques. Ces composés incluent :

- **Alcaloïdes** : comme la ziziphine et la spinanine, à effets sédatifs et hypotenseurs.
- **Flavonoïdes** : dont la quercétine, la rutine et la catéchine, qui présentent des effets antioxydants, anti-inflammatoires et vasoprotecteurs.
- **Triterpènes** : notamment l'acide bêtulinique, reconnu pour son activité anticancéreuse.
- **Saponines** : responsables d'une activité antimicrobienne et immunomodulatrice.
- **Tanins** : ayant une action astringente, cicatrisante et antimicrobienne.
- **Acides phénoliques** : tels que l'acide caféique, chlorogénique et coumarique, qui agissent comme antioxydants naturels.
- **Vitamine C et polysaccharides** : impliqués dans la stimulation de la réponse immunitaire.

Les études rapportent une forte concentration de ces composés dans les extraits méthanoliques des feuilles, qui sont souvent plus actifs que les extraits aqueux. (Khaleel *et al*; 2016 Yahia *et al*; 2020 Elshiekh, 2022).

2.5. Usages traditionnels

Ziziphus spina-christi est largement utilisé dans la médecine traditionnelle de plusieurs cultures. Les feuilles, fruits, et écorces sont souvent employés pour traiter diverses affections, grâce à leurs propriétés pharmacologiques avérées. Traditionnellement, les extraits de cette plante sont utilisés pour leurs effets anti-inflammatoires, antimicrobiens et sédatifs. Par exemple, les fruits sont souvent consommés pour soulager les troubles digestifs et améliorer l'appétit (Khaleel *et al.*, 2016; Yahia *et al.*, 2020) . De plus, les racines et leur écorces sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter des affections comme les maladies de la peau, les infections respiratoires, ainsi que pour favoriser la cicatrisation des plaies (Elshiekh, 2022).

3. *Rosmarinus officinalis* (Romarin)

3.1. Nomenclature et description botanique

Rosmarinus officinalis L., communément appelé romarin, est une plante aromatique de la famille des Lamiaceae. Il se présente sous la forme d'un arbrisseau vivace pouvant atteindre deux mètres de hauteur, doté de feuilles persistantes, linéaires et coriaces, d'un vert foncé brillant sur le dessus et blanchâtres au revers. Les fleurs, généralement bleu pâle à violacées, sont regroupées en inflorescences axillaires et attirent de nombreux pollinisateurs. Cette plante est largement utilisée en phytothérapie et dans les traditions culinaires du bassin méditerranéen (Yahia Bילו, 2015 ; Nieto *et al.*, 2018).



Figure 3. *Rosmarinus officinalis* (site web 02)

3.2. Classification botanique

La classification scientifique du romarin, selon Yahia Bilot, (2015) est la suivante :

Règne : Plantae

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *Rosmarinus officinalis*

À noter que certaines sources botaniques récentes placent désormais cette espèce sous le nom *Salvia rosmarinus*, reflétant une mise à jour taxonomique (Borges *et al.*, 2019).

3.3. Répartition géographique et écologie

Originaire du bassin méditerranéen, *Rosmarinus officinalis* s'est largement répandu dans plusieurs régions du globe, notamment en Europe méridionale, en Amérique, en Asie occidentale et en Australie. Il affectionne particulièrement les climats secs et ensoleillés.

En Algérie, il pousse abondamment dans les zones côtières, les hauts plateaux et les régions montagneuses (Yahia Bilot, 2015; Borges *et al.*, 2019).

3.4. Composition chimique et activités biologiques

Le romarin possède une composition phytochimique riche et complexe, responsable de ses nombreuses propriétés thérapeutiques. Les principaux composants identifiés sont :

- **Les diterpènes** : notamment le carnosol et l'acide carnosique, qui présentent des effets antioxydants, anti-inflammatoires et anticancéreux remarquables (Nieto *et al.*, 2018; Borges *et al.*, 2019)
- **Les composés phénoliques** : comme l'acide rosmarinique, qui contribue significativement à son activité antioxydante et anti-inflammatoire (Yahia Bilot, 2015).
- **Les huiles essentielles** : riches en monoterpènes volatils tels que le 1,8-cinéole, le camphène, le bornéol et l' α -pinène, qui confèrent au romarin ses effets antiseptiques, expectorants et relaxants des muscles lisses (Borges *et al.*, 2019).

Le romarin a fait l'objet de nombreuses études démontrant ses effets bénéfiques sur la santé humaine. Parmi les activités principales observées : activité antioxydante (Yahia Bilot, 2015);, activité anti-inflammatoire (Borges *et al.*, 2019), activité neuroprotectrice activité antimicrobienne, activité anticancéreuse (Nieto *et al.*, 2018).

3.5. Usages traditionnels

Depuis l'Antiquité, le romarin est une plante centrale dans les pharmacopées traditionnelles des régions méditerranéennes. Il est utilisé en infusion, en fumigation ou en onguent pour soulager une variété de maux : troubles digestifs, douleurs articulaires, états grippaux, fatigue nerveuse et pertes de mémoire. Dans plusieurs cultures, il est également considéré comme un purificateur spirituel et un symbole de mémoire (Borges *et al.*, 2019); (Nieto *et al.*, 2018).

En Algérie, *Rosmarinus officinalis* est traditionnellement utilisé par les guérisseurs pour soulager les douleurs musculaires et articulaires, les troubles digestifs et menstruels, ainsi que comme stimulant général. Ces applications empiriques rejoignent les résultats scientifiques modernes, qui confirment ses effets anti-inflammatoires et antioxydants grâce à sa richesse en composés phénoliques et terpéniques. (Belhouala & Benarba, 2021)

Chapitre 2 :

Huiles essentielles

1. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles, obtenues par distillation à la vapeur ou hydrodistillation de plantes aromatiques, sont des mélanges complexes de composés volatils tels que les terpènes, les phénols et les esters. Utilisées depuis l'Antiquité en Égypte, en Mésopotamie, en Chine ou encore en Inde, elles occupent une place centrale dans les pharmacopées traditionnelles pour leurs propriétés médicinales, cosmétiques et rituelles. Aujourd'hui, leur intérêt est ravivé dans les domaines de la médecine, de l'agroalimentaire et de la cosmétologie, notamment en raison de leur potentiel contre les infections microbiennes résistantes, les pathologies chroniques, et leur rôle dans la réduction du stress oxydatif (Bakkali *et al.*, 2008)

Les huiles essentielles se composent principalement de monoterpènes, de sesquiterpènes, de phénols et / ou encore de dérivés aromatiques, dont la synergie explique leur diversité d'action biologique. Plusieurs études ont démontré leur activité antimicrobienne, antifongique, antivirale, antioxydante, anti-inflammatoire, cytotoxique contre les cellules cancéreuses, et leur capacité à perturber les membranes mitochondriales ou bactériennes (Bakkali *et al.*, 2008)

1.1. Distillation à la vapeur

La distillation à la vapeur est une méthode d'extraction d'huiles essentielles où de la vapeur d'eau générée en externe est injectée à travers une matrice végétale. La vapeur entraîne les composés volatils aromatiques, qui sont ensuite condensés et séparés pour obtenir l'huile essentielle (Machado *et al.*, 2022) .

1.2. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est une méthode traditionnelle d'extraction des huiles essentielles où les matières végétales sont immergées dans l'eau et portées à ébullition. La vapeur générée, chargée des composés volatils aromatiques, est condensée et collectée, permettant la séparation de l'huile essentielle (phase hydrophobe) et de l'hydrolat (phase aqueuse) (Barros *et al.*, 2022).

2. Usage traditionnel en Algérie : Un patrimoine ancestral

Les usages des huiles essentielles constituent une diversité culturelle, ils varient selon les contextes géographiques et culturels, en lien avec la disponibilité botanique et les savoirs ancestraux.

En Algérie, les huiles essentielles occupent une place essentielle dans la médecine traditionnelle, notamment dans les régions d'Alger, de Kabylie et du Tell Atlas. Des enquêtes ethnobotaniques ont recensé plus de 80 espèces végétales utilisées pour la production d'huiles essentielles, parmi lesquelles figurent le thym, le romarin, l'armoise blanche, la menthe poivrée,

et le lentisque. Ces huiles sont utilisées sous forme d'inhalations, de massages ou d'applications locales pour traiter les affections respiratoires, digestives, dermatologiques, ainsi que pour la désinfection et la conservation des aliments (Bakkali *et al.*, 2008).

Partie pratique

Chapitre 3 :

Matériel et méthodes

Matériel et Méthodes

.1. Matériel

Cette étude a été menée dans les laboratoires du département des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Biskra, ainsi qu'au laboratoire de microbiologie de l'hôpital Achour Zian Ouled Jalal . L'expérimentation repose principalement sur l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentiels de *Thymus vulgaris*, *Ziziphus spina-christi* et *Rosmarinus officinalis*, sur trois souches de référence et deux souches cliniques.

1.1. Matériel biologiques

1.1.1. Matériel végétale

Dans ce travail, nous avons choisi de travailler avec les trois plants endémiques *Thymus vulgaris*, *Ziziphus spina-christi* et *Rosmarinus officinalis*. Les parties aériennes de ces plantes ont été achetées d'auprès un arboriste du marches Zgag Benramdhan de Biskra en Février 2025.

L'identification des échantillons a été réalisée au laboratoire pédagogique de département de SNV de l'université de Biskra. Les plantes ont été triées et nettoyées puis utilisées.

Ces plantes ont été nettoyées pour servir à l'extraction des huiles essentielles.



Photo 1. Les échantillons de *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis* et *Ziziphus spina-christi* (de gauche à droite).

1.1.2. Souches bactériennes

Dans cette étude, on a utilisé des souches bactériennes référenciées obtenu du laboratoire de microbiologie de département de SNV de l'université de Khanchela et des souches cliniques prélevées des patients de l'hôpital Achour Zian Ouled Jalal.

1.1.2.1. Conservation des souches

Les souches bactériennes ont été conservées dans le réfrigérateur à -5° C, dans des boites de Pétri contenant du milieu de conservation comme gélose nutritive, et maintenues en vie par des repiquages continus, sur des milieux de culture gélosés.

1.1.2.2. Milieux de culture

On a utilisé deux milieux de culture :

1. **Gélose nutritive (GN)** : utilisée pour l'isolement des souches bactériennes ainsi que pour leur repiquage.
2. **Gélose Mueller-Hinton (MH)** : milieu de culture polyvalent destiné à l'isolement et à la croissance de divers micro-organismes exigeants ; il est également employé dans les tests de sensibilité aux agents antimicrobiens

1.1.3. Matériel non biologique

Le matériel utilisé au laboratoire comprend divers équipements, produits chimiques et verreries (voir annexe).

2. Méthodes

2.1. Extraction par hydrodistillation (méthode de Clevenger)

L'hydrodistillation est l'une des méthodes conventionnelles d'extraction des huiles essentielles, consistant à chauffer une matrice végétale. Au cours du processus de distillation, les matériaux volatils des plantes sont extraits des résidus avec de la vapeur de solvant ou de l'eau, puis condensés en un liquide dans un dispositif de condensation et facilement éliminés en fonction des différences de densité (Zhou *et al.*, 2023).

La quantité de plante utilisée doit être en adéquation avec le volume d'eau ajouté dans l'appareil de distillation. Dans notre cas, et pour chaque plante, 350 g de matière végétale ont été hydro-distillés avec un volume d'eau suffisant (1L) à l'aide de l'appareil de Clevenger. L'extraction a été réalisée à ébullition douce pendant environ 4 heures. La vapeur d'eau entraîne les composés volatils, qui sont ensuite condensés et récupérés dans la burette du dispositif. Les huiles obtenues sont conservées dans des flacons hermétiques à l'abri de la lumière et à basse température jusqu'à leur utilisation.

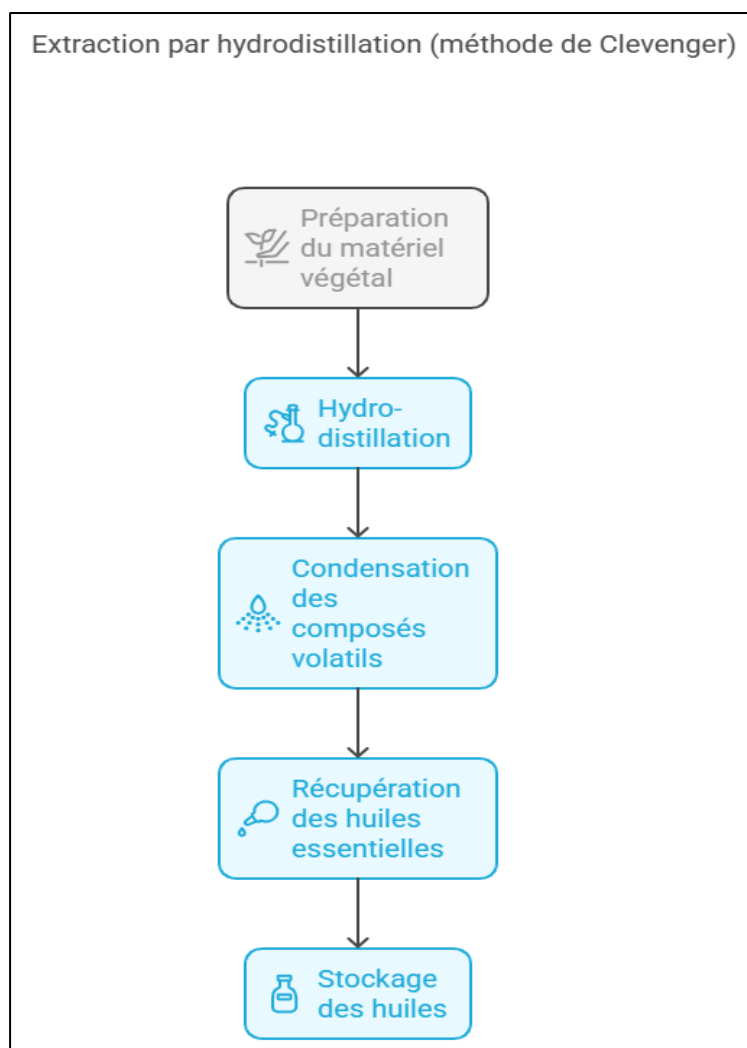


Figure 4. Protocole d'extraction des huiles essentielles



Photo 2. Méthode de Clevenger.

2.2. Tests préliminaires

Sont des tests de caractérisation en tubes, elles sont faites selon Tiwari *et al.*, (2011)

2.2.1. Alcaloïdes

a. Principe :

Les alcaloïdes sont des molécules azotées basiques et le réactif de Dragendorff, mélange de nitrate de bismuth et de l'iodure de potassium, réagit avec ces molécules et forme un précipité orangé ou rouge-brun, signe de leur présence.

b. Expression des résultats :

La présence d'un précipité rouge indique la présence d'alcaloïdes.

2.2.2. Tannins

a. Principe :

Les tanins sont des polyphénols capables de précipiter les protéines. Lors de l'ajout de gélatine (solution à 1%) en présence NaCl, forme un précipité blanc, ce précipité indique la présence de tanins condensés ou hydrolysables.

b. Expression des résultats :

La formation du précipité blanc , indique la présence des tannins.

2.2.3. Flavonoïdes

a. Principe :

Les flavonoïdes ont des groupements phénoliques qui réagissent en milieu basique. L'ajout de NaOH donne une coloration jaune intense, cette coloration est la cause de l'ionisation des groupements hydroxyles. Cette couleur peut s'atténuer ou disparaître après acidification.

b. Expression des résultats :

La présence de couleur jaune intense, indique la présence de flavonoïdes.

2.3. Obtention des souches cliniques

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude ont été isolées d'échantillons cliniques obtenus à partir des patients hospitalisés à l'hôpital l'hôpital Achour Zian Ouled Jalal. La souche d'*Escherichia coli* a été isolée à partir d'un patients ayant une diarrhée ; l'échantillon a été prélevé du matière fécal du patient, cette bactérie est souvent pathogène.

La souche de *Staphylococcus aureus* a été obtenue à partir d'un liquide d'épanchement articulaire, indique une infection ostéo-articulaire de type arthrite septique.

Pour *Pseudomonas aeruginosa*, la souche a été obtenue des urines d'un patient ayant une opération et hospitalisé sur une longue période. Ce contexte clinique, associé à une

immunodépression potentielle et à une exposition prolongée à un environnement hospitalier, a favorisé le développement d'une infection urinaire nosocomiale.

Les souches isolées ont été conservées sur gélose nutritive avec des repiquages successifs pour servir aux analyses microbiologiques.

2.4. Obtention des souches de référence

Les souches sont obtenues des laboratoires pédagogiques de département SNV de l'université de Khanchela.

Tableau 2. Les souches de référence.

Bactérie	Reference
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC700603
<i>Pseudomonas areuginose</i>	ATCC25922

2.5. Test de l'activité anti bactérienne

2.5.1. Test de diffusion en milieu gélosé

Le test de diffusion en milieu gélosé est une méthode utilisée pour mesurer Les zones d'inhibition des extraits (huiles essentielles) ou des antibiotiques. Il consiste à déposer un disque imprégné de l'échantillon à tester sur une gélose (ex. Müller-Hinton) préalablement ensemencée avec un inoculum bactérien. Après incubation (24 à 48 heures à 37 °C), un halo d'inhibition de la culture bactérienne se forme autour du disque (Jolyguillou, 2006).

2.5.2. Préparation des échantillons et leurs dilutions

Les échantillons étudiés dans ce travail, sont les huiles essentielles des trois plantes, des combinaisons de deux et enfin le mélange de ces huiles

Pour chaque échantillon, sept doses ont été utilisées ; l'huile net et ses dilutions effectuées par le DMSO .

Les concentrations obtenues sont mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau 3. Les différentes concentrations des échantillons

Dilutions	Concentrations	Dilutions	Concentrations
1	100 %	1/4	8,3%
1/2	16,6 %	1/8	4,15%

2.5.3. Stérilisation du matériel et des tubes avec de l'eau physiologique

Tous le matériel utilisé (tubes à essai, pipettes, spatules, etc.) a été stérilisé à l'autoclave afin d'éviter toute contamination. Ainsi que, des tubes contenant de l'eau physiologique (solution saline stérile à 0,9 %) utilisée pour la préparation des suspensions bactériennes, ont également été stérilisés selon la même procédure.

2.5.4. Préparation des suspensions bactériennes et ajustement de la densité

Les souches bactériennes référenciés et cliniques, utilisées pour des tests d'activité antibactérienne, ont été réactivées par repiquage sur gélose nutritive, puis incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Ce procédé a permis d'obtenir des cultures jeune et actives, nécessaires à la préparation des inoculum standards pour les tests microbiologiques.

Les colonies jeune obtenues après incubation ont été prélevées et mettre en suspension dans l'eau physiologique stérile. La densité bactérienne des suspensions a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620 nm. Les valeurs d'absorbance ont été fait pour s'assurer que la densité bactérienne est dans un intervalle entre 0,08 et 0,13, afin de garantir une concentration standardisée des bactéries pour tous les tests. Les lectures obtenues étaient les suivantes : *Escherichia coli* (0,08), *Pseudomonas aeruginosa* (0,14) et *Staphylococcus aureus* (0,13). Bien que la densité de *Pseudomonas aeruginosa* dépassé la limite supérieure, elle reste dans une marge acceptable pour les essais microbiens.

2.5.5. Préparation de gélose de Mueller Hinton

38 g de poudre de gélose Mueller-Hinton ont été dissouts dans une quantité appropriée d'eau distillée (1L), conformément aux instructions du fabricant. La solution a été chauffée jusqu'à ébullition lentement, sous agitation continue, afin d'obtenir une solution homogène et complète du milieu. La solution obtenue ensuite a été stérilisée à l'autoclave à une température contrôlée de 121 °C pendant 15 minutes. Cette étape de chauffage vise à éliminer tout contaminants et à prévenir toute intervention avec le milieu de culture pour être sûr que les analyses microbiologiques ultérieures sera précise (Machado et al., 2022).



Photo 3. Préparation de gélose de Mueller Hinton

2.5.6. Préparation et imprégnation des disques

Des disques de papier Wattman n° 3 ont été découpés (6 mm), et transférés dans des tubes à essai stériles et autoclavés. Chaque lot de disques stériles a ensuite été immergé pendant 45 minutes dans les différentes dilutions du test (concentrations : 1, 1/2, 1/4 et 1/8...). Après imprégnation, les disques ont été déposés à la surface de gélose Mueller-Hinton préalablement ensemencée par étalement de la suspension bactérienne.

2.5.7. Incubation

L'incubation s'effectue dans une étuve, à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Les résultats sont observés le lendemain de l'expérience en mesurant le diamètre des halos clairs (zones d'inhibition) autour des disques, en millimètres, le diamètre de l'inhibition, ce qui permet d'évaluer l'efficacité de la substance active.

3. Expression des résultats

Les tests ont été réalisés en duplicate. Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ SD.

Chapitre 4 :

Résultats et discussions

1. Résultats et discussion

Ce chapitre fut présenté des résultats des test des 3 huiles essentielles, sur des souches bactériennes cliniques et des souches référenciées.

1.1.Rendement des différentes plantes en huiles essentielles

Les résultats des rendements par rapport à la matière sèche sont présentés sur le tableau suivant :

Tableau 4. Rendements des différentes plantes en huiles essentielles.

Huiles essentielles Plante	Abréviation	Couleur	Rendement en huiles essentiels (%)
<i>Thymus vulgaris</i>	Thy	Jaune	1,1 %
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Rs	Jaune-blanc	0,8%
<i>Ziziphus spina-christi</i>	Zi	Jaune-vert	39,4 %

Du tableau, on remarque que l'huile essentielle de Zi a présenté un rendement très élevé de 39,4 %, un chiffre bien supérieur aux valeurs rapportées, qui se situent généralement entre 0,3 % et 1,5 %. Cela peut être attribué soit à une composition biochimique spécifique, riche en métabolites volatils, soit à une coextraction de composés non volatils (comme des cires ou des lipides lourds) transportés par la vapeur d'eau. La coloration jaune - vert observée pourrait être le signe de pigments végétaux tels que les chlorophylles ou les caroténoïdes, responsables de la couleur intense de l'huile (Elshiekh, 2022), (Yahia Bilito, 2015).

Le rendement de 1,1 % observé pour l'huile essentielle de Thy est en parfaite cohérence avec les valeurs généralement rapportées dans la littérature (1 à 2 %). La couleur jaune de l'huile est caractéristique des phénols aromatiques tels que le thymol et le carvacrol, des composés majoritaires reconnus pour leurs effets antimicrobiens puissants. Ces résultats soulignent non seulement la richesse en huile essentielle de cette espèce, mais également la performance de la méthode d'extraction appliquée. (Patil et al., 2021) (Reddy 2014) (Rankou et al., 2018).

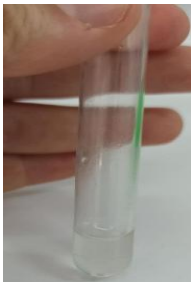
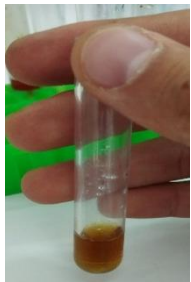
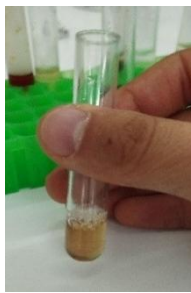
L'huile essentielle de Rs a présenté un rendement de 0,8 %, se situant dans la plage des

valeurs connues (0,5 à 2,5 %), bien que proche de sa limite inférieure. La coloration jaune pâle tirant sur le blanc pourrait refléter une faible teneur en pigments, et une prédominance de composés incolores tels que le 1,8-cinéole, le camphre ou le bornéol, qui sont fréquents dans cette espèce. Le rendement modéré pourrait être influencé par des facteurs tels que l'état de maturité des feuilles, les conditions environnementales locales, ou encore la durée de séchage avant extraction (Borges *et al.*, 2019) (Nieto *et al.*, 2018).

1.2. Tests préliminaires

Les résultats des tests phytochimiques sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 5. Résultats des tests phytochimiques.

Molécule	Réactifs	Caractérisation	Extraits		
			Thy	Rs	Zi
Alcaloïdes	Dragendorff	Couleur rouge	+	+	+
					
Tanins	Gélatine 1% + NaCl	Précipité blanc	+	+	-
					
Flavonoïdes	Reactif alcalin : NaOH	Jaune	+	+	+
					

Les résultats de l'analyse qualitative des métabolites secondaires dans les huiles essentielles des trois plantes (Tableau 5) révèlent la présence des alcaloïdes et des flavonoïdes dans les trois huiles, ainsi que l'absence des tanins dans l'huile de (Zi). Ces observations sont conformes aux résultats rapportés dans la littérature scientifique. En effet, les alcaloïdes, composés azotés aux nombreuses propriétés pharmacologiques, sont souvent détectés dans les extraits végétaux, bien que leur présence dans les huiles essentielles soit généralement faible en raison de leur faible volatilité (Harborne, 1998).

Les résultats ont montré la présence de tanins dans la plante Zi (Hussein & Hamad, 2021) mais dans nos résultats cela n'a pas été observé, et cela peut être dû à ces composés polyphénoliques sont hydrosolubles et peu volatils, ce qui limite leur présence dans les huiles essentielles obtenues par distillation (Harborne, 1998).

En revanche, la détection positive des tanins dans Thy et Rs Les résultats de (Patil *et al.*, 2021) et (Akroum, 2021) ont montré la présence des tanins. Correspond aux résultats classiques de tests basés sur la précipitation avec la gélatine (Tiwari *et al.*, 2011). Ces composés sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes, ce qui souligne l'intérêt pharmacologique des extraits contenant des tanins.

Enfin, la présence de flavonoïdes dans les huiles essentielles des trois plantes analysées est en accord avec les résultats des tests alcalins (NaOH) qui induisent une coloration jaune caractéristique (Harborne, 1998). Ces composés phénoliques sont réputés pour leur rôle antioxydant et anti-inflammatoire, et leur détection est fréquemment rapportée dans les extraits de Thy, Rs et Zi (Akroum, 2021; Hussein & Hamad, 2021.; Patil *et al.*, 2021).

2. Résultats des tests antibactériennes

L'évaluation de l'activité antibactérienne des différentes huiles a été effectuée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne pour chaque disque.

2.1. Résultats des tests sur les souches bactériennes référenciées :

Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau 6. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance d'*E.coli* par les différentes huiles.

Dillution Huile	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	1/1	1/2	1/4	1/8
Thy	40 ± 1	8 ± 1	8 ± 0,7	10 ± 0,7
Rs	10 ± 1	/	/	/
Zi	/	/	/	/
Thy + Rs	8 ± 1	8 ± 1	/	/
Thy + Zi	30 ± 0,7	10 ± 0,7	8 ± 1	/
Rs + Zi	8 ± 1	/	/	/
Thy + Rs + Zi	22 ± 0,7	8 ± 1	8 ± 1	/

A. Activité individuelle des huiles essentielles

Parmi les trois huiles essentielles testées, Thy s'est révélée la plus active contre *Escherichia coli*, avec une zone d'inhibition maximale de 40 ± 1 mm à la dilution 1/1. L'activité antibactérienne diminue ensuite aux dilutions suivantes mais persiste. Cette efficacité due à la richesse de l'huile en molécules phénoliques, les thymols et les carvacrols qui ont des propriétés antimicrobiennes. Ces molécules agissent principalement par désorganisation des membranes cellulaires bactériennes, entraînant des pertes ioniques et la dénaturation des protéines membranaires, ce qui mène à lyse cellulaire (Patil *et al.*, 2021).

L'huile Rs a montré une activité antimicrobienne modeste, avec une zone d'inhibition de 10 ± 1 mm uniquement à la dilution 1/1, et aucune activité détectable aux autres dilutions. Ce résultat est cohérent avec les données de (Yahia Bילו, 2015), qui attribue cette faible activité à la prédominance de composés tels que le 1,8-cinéole, le camphre et l' α -pinène, dont les effets antibactériens restent limités en comparaison des phénols. (Nieto et al., 2018) ainsi que (Borges et al., 2019) confirment cette observation en soulignant que l'huile de romarin est plus efficace contre certaines bactéries Gram-positives, alors que son action contre les Gram-négatives, comme *E. coli*, demeure relativement faible. D'après (Belhouala & Benarba, 2021) cette huile est surtout reconnue pour ses effets antioxydants et anti-inflammatoires, en raison de la présence de l'acide rosmarinique et des diterpènes (carnosol, acide carnosique), plus que pour ses propriétés antimicrobiennes.

L'huile essentielle de (Zi), lorsqu'elle est testée seule, n'a montré aucune activité antibactérienne mesurable contre *Escherichia coli*, quelle que soit la dilution appliquée. Ce résultat suggère soit une faible concentration en composés actifs contre les bactéries Gram-négatives, soit une volatilité insuffisante des constituants capables de diffuser efficacement dans le milieu gélosé (Elshiekh, 2022). Selon (Khaleel *et al.*, 2016), l'huile de *Ziziphus* contient principalement des flavonoïdes, des saponines et certains tanins, dont l'effet antimicrobien est plus marqué contre les bactéries Gram-positives. Cela s'explique par la structure particulière de la membrane externe des bactéries Gram-négatives, comme *E. coli*, qui possède une barrière lipopolysaccharidique réduisant considérablement la pénétration des agents hydrophobes (Yahia *et al.*, 2020).

B. Activité des combinaisons d'huiles essentielles

L'association (Thy + Rs) a montré une activité antibactérienne modérée, avec des zones d'inhibition de 8 ± 1 mm à la dilution 1/1 et 1/2. Contrairement à certaines attentes d'une synergie, les résultats indiquent une atténuation de l'effet du thym seul, probablement en raison de la dilution des phénols actifs par les composants moins puissants du romarin. Selon Nieto *et al.*, (2018) et Belhouala & Benarba, (2021), ce type de combinaison peut entraîner un effet additif ou antagoniste en fonction des proportions et des interactions moléculaires entre composés actifs.

Malgré l'inactivité de Zi lorsqu'elle est utilisée seule, certaines combinaisons avec d'autres huiles ont montré un effet antibactérien notable. L'association (Thy + Zi) a donné lieu à une activité significative dose dépendante, avec des zones d'inhibition de $30 \pm 0,7$ mm à 1/1, $10 \pm 0,7$ mm à 1/2, et 8 ± 1 mm à 1/4. Cette amélioration peut être attribuée à une action synergique, où l'huile de *Ziziphus* joue un rôle complémentaire en favorisant la diffusion ou la stabilisation des phénols du thym dans le milieu (Khaleel *et al.*, 2016) (Elshiekh, 2022). Une hypothèse possible est que certains composés non actifs seuls peuvent agir en modulateurs de la perméabilité membranaire bactérienne, facilitant l'action des composés phénoliques.

En revanche, la combinaison (Rs + Zi) n'a montré qu'une petite activité (8 ± 1 mm à 1/1). Cette activité reste marginale et pourrait être principalement attribuée à l'effet résiduel du romarin, puisque les deux huiles sont pauvres en phénols aromatiques.

La combinaison des trois huiles essentielles (Thy + Rs + Zi) a permis d'obtenir des zones d'inhibition de $22 \pm 0,7$ mm à 1/1, 8 ± 1 mm à 1/2 et 8 ± 1 mm à 1/4. Bien que ces résultats traduisent une certaine efficacité antimicrobienne contre *Escherichia coli*, ils restent nettement inférieurs à ceux obtenus avec l'huile de thym seule, en particulier à forte concentration. Cette diminution d'activité peut s'expliquer par une dilution importante des

composés phénoliques majeurs du thym, reconnus pour leur fort pouvoir bactéricide (Nieto *et al.*, 2018; Belhouala & Benarba, 2021). L'ajout des huiles de Rs et Zi dont l'efficacité est plus modérée voire absente contre les bactéries Gram-négatives (Yahia Bilito, 2015); (Yahia *et al.*, 2020) pourrait atténuer l'effet global sans apporter de véritable synergie.

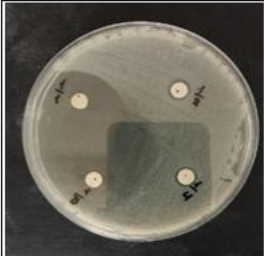
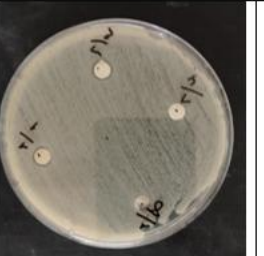
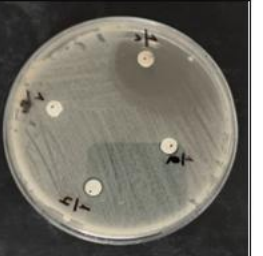
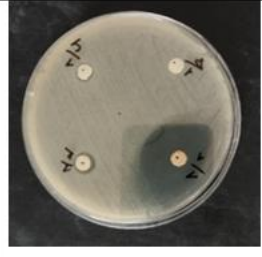
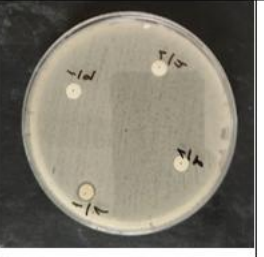
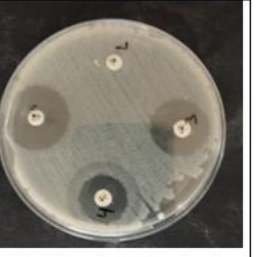
			
Effet de <u>Thy</u> sur <i>E. coli</i>	Effet de <u>Rs</u> sur <i>E. coli</i>	Effet de (<u>Thy+Rs</u>) sur <i>E. coli</i>	Effet de (<u>Thy+Rs + Zi</u>) sur <i>E. coli</i>
			
L'effet de <u>Zi</u> sur <i>E. coli</i>	L'effet de <u>Thy+Zi</u> sur <i>E. coli</i>	L'effet de <u>Zi+Rs</u> sur <i>E. coli</i>	Témoin

Figure 5. Activité des différentes huiles sur *E. coli* de référence

Tableau 7. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de *S. aureus* par les différentes huiles

Dillution Huile	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	1/1	1/2	1/4	1/6
Thy	48 ± 0,7	36 ± 0,7	30 ± 0,7	10 ± 1
Rs	12 ± 1	/	/	/
Zi	/	/	/	/
Thy + Rs	S	S	S	S
Thy + Zi	36 ± 0,7	16 ± 1	8 ± 1	/
Rs+ Zi	/	/	/	/
Thy + Rs + Zi	34 ± 0,7	14 ± 1	/	/

A. Activité individuelle des huiles

L'huile Thy a montré la plus forte activité antibactérienne dose dépendante, avec des diamètres de zones d'inhibition atteignant 48 ± 0,7 mm à la dilution 1/1, 36 ± 0,7 mm (1/2), 30 ± 0,7 mm (1/4) et 10 ± 1 mm (1/8). Cette efficacité remarquable est principalement attribuée à sa richesse en thymol et carvacrol, deux composés phénoliques connus pour perturber la perméabilité de la membrane bactérienne et induire la fuite du contenu intracellulaire, mécanisme particulièrement efficace contre les bactéries Gram-positives comme *S. aureus* (Patil *et al.*, 2021).

En comparaison, Rs a présenté une activité plus modérée, avec un diamètre de 12 ± 1 mm à la dilution 1/1. Cette efficacité limitée peut être liée à une faible concentration en composés phénoliques majeurs. Les composés dominants tels que le camphre, le 1,8-cinéole ou encore l' α -pinène ont une activité antimicrobienne, mais celle-ci demeure globalement inférieure à celle des phénols, en particulier face aux bactéries Gram-positives (Yahia Bilito, 2015).

Quant à Zi, aucune activité inhibitrice n'a été observée lorsqu'elle a été utilisée seule contre *S. aureus*. Cette absence d'effet peut être expliquée par une faible concentration en composés bioactifs ou par un manque de synergie entre ses constituants. Les mêmes résultats ont été décrits dans plusieurs études (Khaleel *et al.*, 2016) ; (Elshiekh, 2022) .

B. Activité des combinaisons

La combinaison (Thy + Rs) a permis d'obtenir une inhibition complète de la croissance de *S. aureus* à toutes les dilutions testées (notée « S »). Cette synergie suggère une interaction

bénéfique entre les phénols du thym et les monoterpènes du romarin, permettant une altération plus marquée de la membrane bactérienne (Belhouala & Benarba, 2021).

L'association (Thy + Zi) a produit des zones d'inhibition de $36 \pm 0,7$ mm (1/1), 16 ± 1 mm (1/2) et 8 ± 1 mm (1/4). Bien que le Zi n'ait montré aucune activité lorsqu'il est utilisé seul, sa présence dans cette combinaison pourrait être modulée par la diffusion des composés actifs du thym, contribuant ainsi à l'effet antibactérien observé (Yahia et al., 2020).

Enfin, la combinaison des trois huiles essentielles (Thy + Rs + Zi) a généré des inhibitions de $34 \pm 0,7$ mm (1/1) et 14 ± 1 mm (1/2). Ces valeurs, bien qu'indicatives d'une certaine efficacité, restent inférieures à celles obtenues avec le thym seul, suggérant que l'ajout d'huiles moins actives dilue l'impact des phénols majeurs du thym, sans bénéfice synergique significatif (Nieto et al., 2018) .

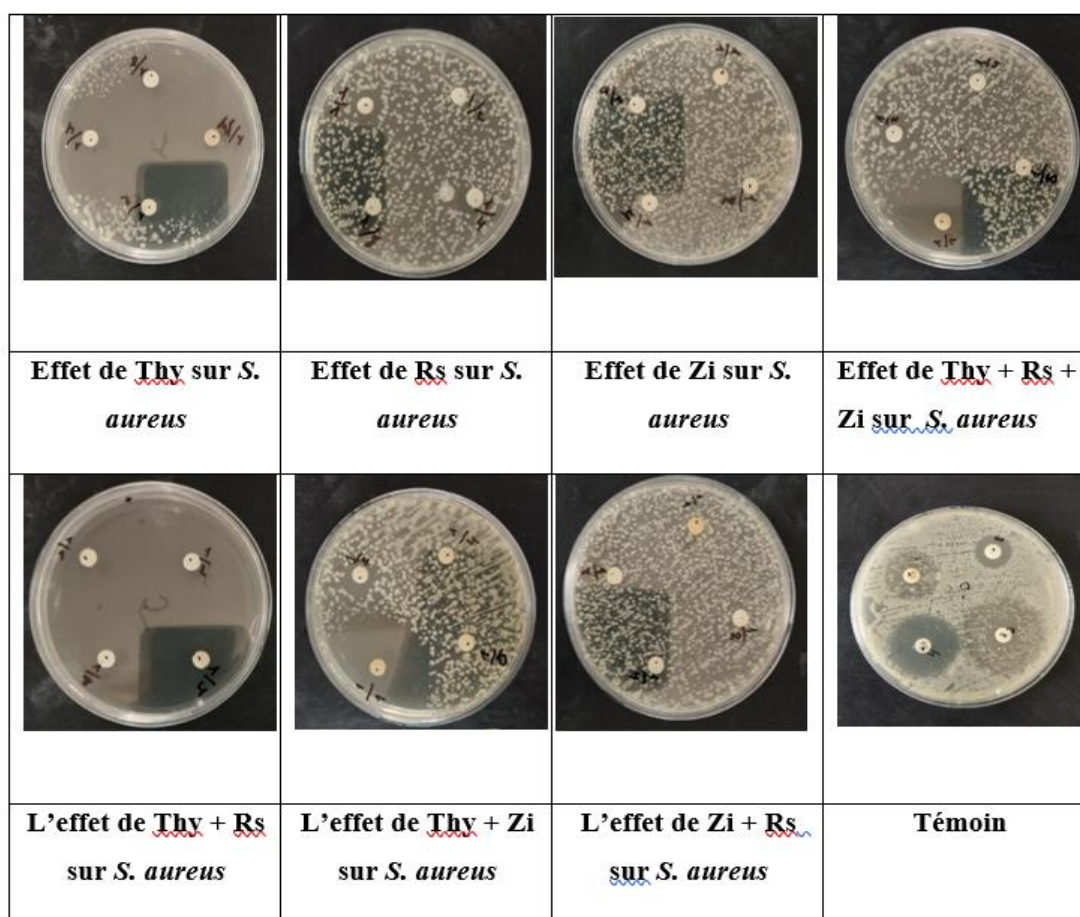


Figure 6. Activité des différentes huiles sur *S. aureus* de référence.

Tableau 8. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de *P. aeruginosa* par les différentes huiles

Dillution Huile	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	1/1	1/2	1/4	1/8
Thy	36 ± 0,7	10 ± 1	/	/
Rs	10 ± 1	/	/	/
Zi	/	/	/	/
Thy + Rs	32 ± 0,7	10 ± 1	8 ± 1	/
Thy + Zi	30 ± 0,7	/	/	8 ± 1
Rs + Zi	8 ± 1	/	/	/
Thy + Rs + Zi	32 ± 0,7	10 ± 1	8 ± 0,7	/

A. Activité individuelle des huiles

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* (Thy) a démontré une activité antibactérienne notable contre *Pseudomonas aeruginosa*, avec une zone d'inhibition de 36 ± 0,7 mm à la dilution 1/1 et de 10 ± 1 mm à 1/2. Cette efficacité est due à ces composés phénoliques tels que le thymol et le carvacrol, connus pour perturber la membrane cytoplasmique et désorganiser les structures internes bactériennes, même chez les bactéries Gram-négatives comme *P. aeruginosa* (Patil *et al.*, 2021).

Rs a généré une inhibition modeste, limitée à 10 ± 1 mm à la dilution 1/1. Ce résultat reflète une action antibactérienne modérée, probablement en lien avec la présence de composés comme le camphre et le 1,8-cinéole, dont l'efficacité reste inférieure à celle des phénols contre les bactéries (Yahia Bילו, 2015).

Aucune zone d'inhibition n'a été observée avec Zi. Cette absence d'activité antibactérienne pourrait s'expliquer par une faible concentration en principes actifs ou par l'incapacité de ces derniers à traverser la membrane externe des bactéries Gram-négatives. (Elshiekh 2022); (Khaleel *et al.*, 2016).

B. Activité des combinaisons

L'association (Thy + Rs) a montré une efficacité importante avec des zones d'inhibition de 32 ± 0,7 mm (1/1), 10 ± 1 mm (1/2) et 8 ± 1 mm (1/4). Ce résultat suggère une interaction synergique entre les phénols du thym et les monoterpènes du romarin, bien que cette synergie dose dépendante (Belhouala & Benarba, 2021).

La combinaison (Thy + Zi) a permis une inhibition de $30 \pm 0,7$ mm (1/1) et de 8 ± 1 mm (1/8). Malgré l'inefficacité du Ziziphus seul, sa présence pourrait légèrement améliorer la diffusion ou la stabilité des molécules actives du thym dans le milieu. (Yahia *et al.*, 2020)

L'association (Rs + Zi) a donné un diamètre d'inhibition de 8 ± 1 mm uniquement à la dilution 1/1, ce qui indique une faible efficacité, probablement liée à la combinaison de deux huiles faiblement actives.

Enfin, la combinaison des trois huiles essentielles (Thy + Rs + Zi) a permis d'obtenir des inhibitions de $32 \pm 0,7$ mm (1/1), 10 ± 1 mm (1/2) et 8 ± 1 mm (1/4). Bien que cette combinaison conserve une certaine activité, elle reste légèrement inférieure à celle du thym seul, ce qui suggère un effet dilutif des deux autres huiles plutôt qu'une véritable synergie.

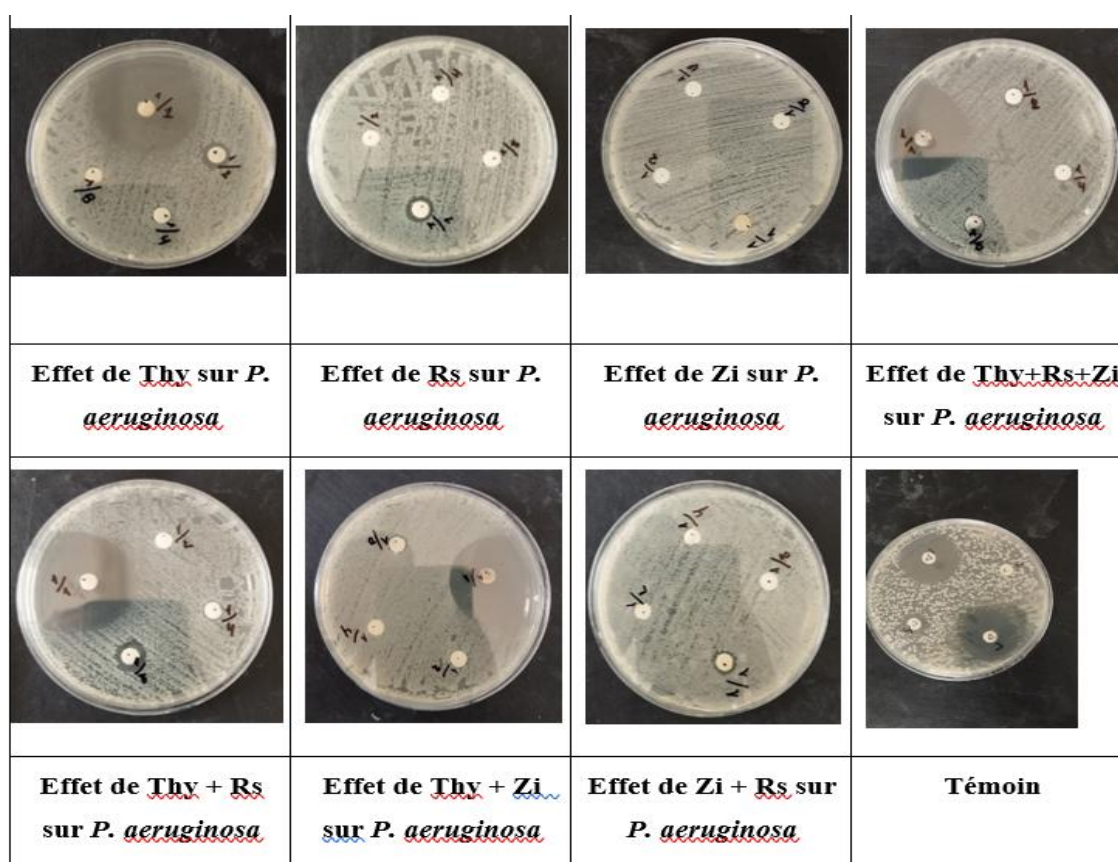


Figure 7. Activité des différentes huiles sur *P. aeruginosa* de référence.

2.2.Résultats des tests sur les souches bactériennes cliniques :

Tableau 9. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance d'*E. coli* par les différentes huiles

Dilution Huile	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	1/1	1/2	¼	1/8
Thy	46 ± 0,7	36 ± 0,7	22 ± 0,7	10 ± 1
Rs	10 ± 0,7	/	/	/
Zi	/	/	/	/
Thy + Rs	30 ± 0,7	20 ± 1	8 ± 1	/
Thy + Zi	28 ± 0,7	14 ± 1	8 ± 1	/
Rs + Zi	9 ± 0,7	/	/	/
Thy + Rs + Zi	26 ± 0,7	22 ± 1	8 ± 1	/

Les résultats montrent que l'huile Thy présente la plus forte activité antibactérienne, Jusqu'à 46 mm et cette activité diminue avec les dilutions, indiquant une activité clairement dose-dépendante. En revanche, Rs n'exerce qu'un effet très faible (10 mm à 1/1) et aucune inhibition à des dilutions plus faibles, tandis que Zi est totalement inefficace seule. Les combinaisons d'huiles révèlent une diminution notable, mais reste importante, de l'activité par rapport à Thy utilisé seul, notamment pour les associations Thy+Rs (30 mm à 1/1), Thy+Zi (28 mm à 1/1) et Thy+Rs+Zi (26 mm à 1/1), traduisant des interactions peuvent être antagonistes entre les composés des différentes huiles. Ces résultats suggèrent que, bien que Thy soit très actif, son efficacité peut être compromise lorsqu'il est associé à des huiles moins actives, soulignant l'importance d'évaluer rigoureusement les interactions dans les formulations à base d'huiles essentielles.

On remarque que notre résultats et meilleur que les résultats de test positif, qui nous avons utilise dedans ces antibiotiques Aztreonam, Difloxacin , Ticarcilline + Acide clavulanique et Ceftazidime comme une témoins positif.

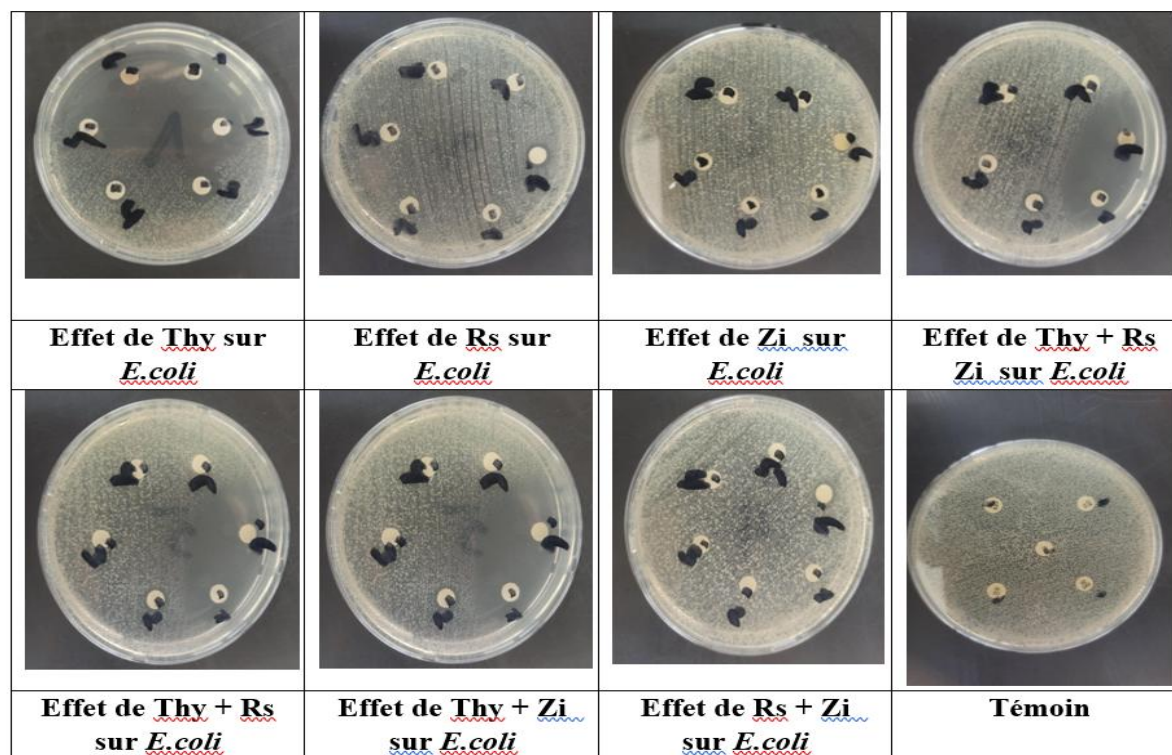


Figure 8. Activité des différentes huiles sur *E. coli* clinique.

Tableau 10. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de *S. aureus* par les différentes huiles

Dilution Huile	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	1/1	1/2	1/4	1/8
Thy	S	S	S	S
Rs	S	S	S	S
Zi	S	S	S	S
Thy + Rs	24 ± 0,7	14 ± 1	8 ± 1	/
Thy + Zi	S	S	S	S
Rs + Zi	S	S	S	S
Thy + Rs + Zi	S	S	S	S

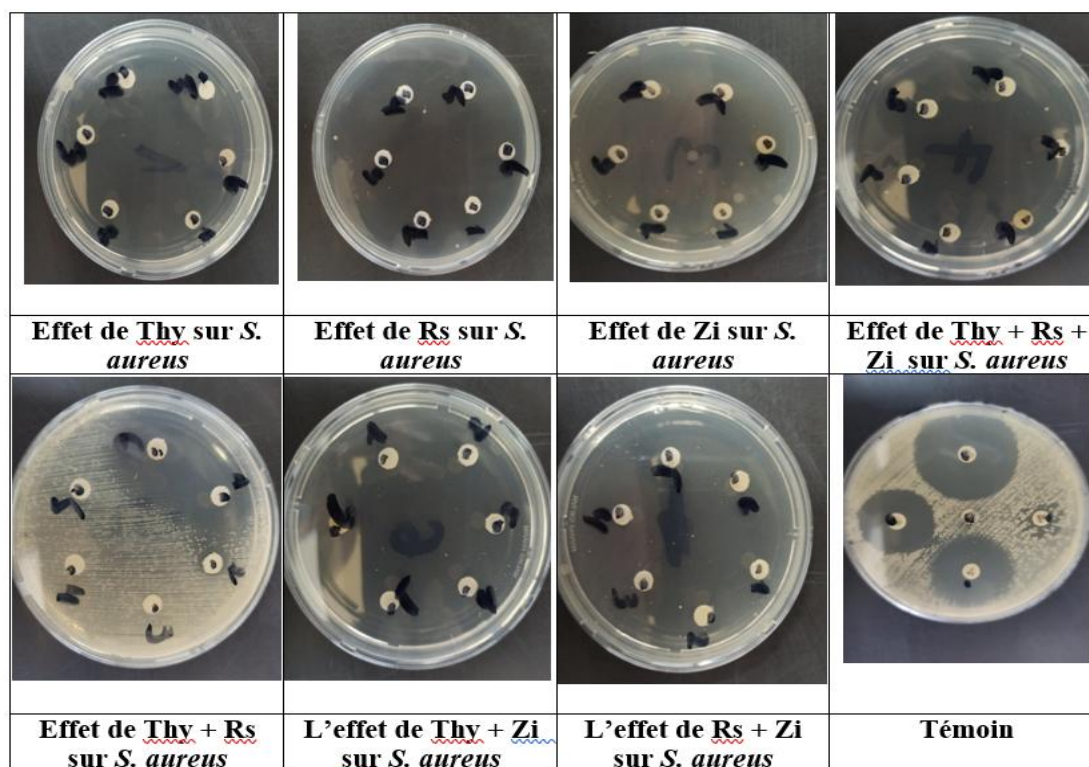


Figure 9. Activité des différentes huiles sur *S. aureus* clinique.

Les résultats montrent que les huiles essentielles Thy, Rs et Zi présentent une activité antibactérienne à toutes les dilutions testées, indiquées comme "S" (sensible), suggérant une inhibition de la croissance bactérienne, bien que non quantifiée par des mesures précises.

L'association Thy + Rs se distingue par une activité mesurable, avec un diamètre de zones d'inhibition de 24 mm traduisant une efficacité moindre des autres huiles, décroissante avec la dilution, mais confirmant une action antibactérienne supérieur aux témoins positifs que nous avons utilisé dedans les antibiotique suivante Bactrim, Ciprolon, Cefazoline et Cefotaxime.

Les autres combinaisons, notamment Thy + Zi, Rs + Zi et Thy + Rs + Zi, sont également jugées actives (S), ce qui suggère une certaine efficacité contre la souche testée, traduit l'effet synergique des combinaisons.

Ces résultats indiquent que toutes les huiles, qu'elles soient utilisées seules ou en mélange, ont une activité antibactérienne détectable.

Tableau 11. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de *P. aeruginosa* par les différentes huiles.

Huile \ Dilution	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	1/1	1/2	1/4	1/8
	S	S	S	S
Thy	S	S	S	S
Rs	S	S	S	S
Zi	S	S	S	S
Thy + Rs	/	/	/	/
Thy + Zi	S	S	S	S
Rs + Zi	S	S	S	S

Les résultats montrent que les huiles essentielles de Thy, Rs et Zi présentent une activité antibactérienne à toutes les dilutions testées, indiquée par la mention "S" (sensible), ce qui témoigne de leur efficacité individuelle contre la souche microbienne étudiée.

Les combinaisons Thy + Zi et Rs + Zi ont également une activité antibactérienne constante à toutes les dilutions, insinuer un maintien, voire un léger renforcement, de l'effet lorsqu'elles sont associées. Par contre, l'association Thy + Rs ne montre aucune inhibition à toutes les dilutions, indiquant une absence totale d'effet antibactérien pour cette combinaison, ce qui suggère une possible interaction antagoniste entre les composés actifs de ces deux huiles.

Bien que chaque huile démontre une activité lorsqu'elle est utilisée seule, certaines associations, comme Thy + Rs, peuvent annuler cet effet, soulignant l'importance de vérifier expérimentalement les interactions entre huiles essentielles avant leur utilisation combinée en thérapie antimicrobien.

La remarque la plus importante c'est que les résultats des huiles sont supérieurs aux résultats des antibiotiques utilisés dans le travail Cefoxitine, Clindamycine, Acide fusidique, et Ciprofloxacine.

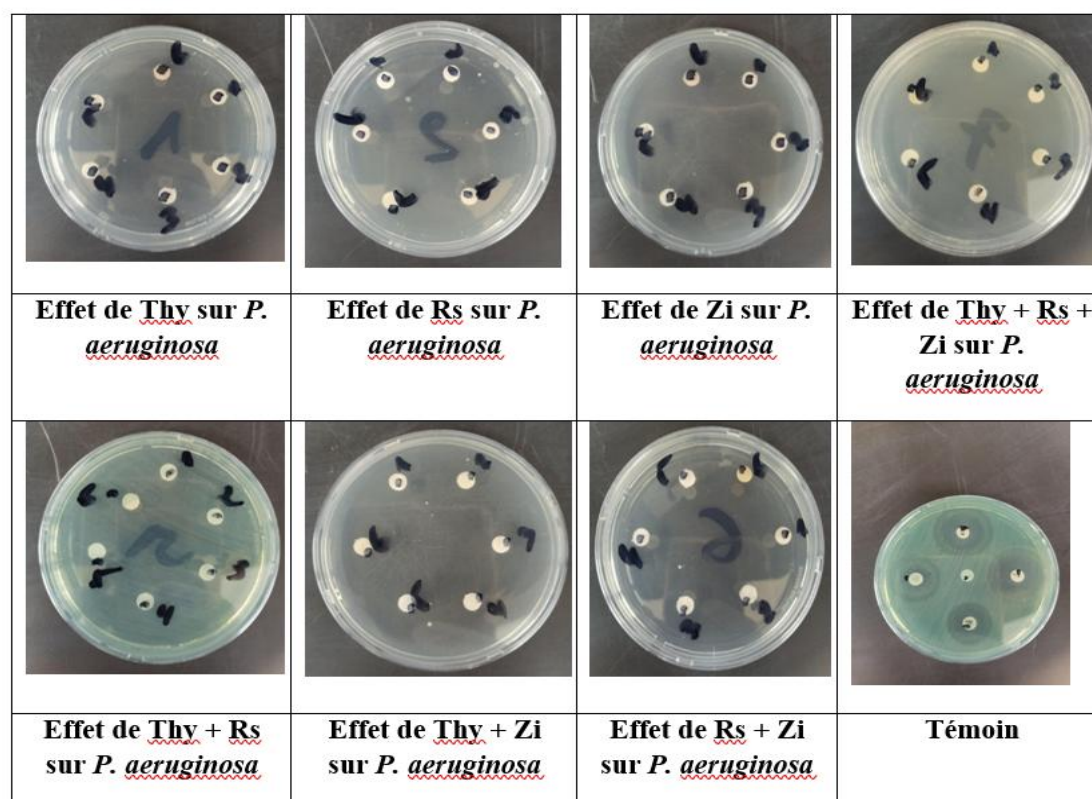


Figure 10. Activité des différentes huiles sur *P. aeruginosa* clinique.

2.3. Discussion des tests des bactéries cliniques

Dans cette étude, les souches bactériennes cliniques ont montré une sensibilité remarquable aux huiles essentielles de Thy, Zi et Rs, se traduisant par une absence totale de croissance sur les milieux d'ensemencement, alors que les souches de référence ont présenté uniquement des zones d'inhibition partielles. Ce phénomène soulève plusieurs points d'interprétation soutenus par les articles scientifiques.

Tout d'abord, les huiles essentielles sont des mélanges complexes de molécules bioactifs (phénols, terpènes, alcools, esters, ...) qui agissent sur plusieurs cibles cellulaires, notamment la membrane cytoplasmique, la perméabilité cellulaire et les enzymes métaboliques (Burt, 2004; Hyldgaard *et al.*, 2012). Cette diversité limite souvent la vitesse du développement et la résistance spécifique.

Les souches cliniques, bien qu'ayant souvent développées des résistances aux antibiotiques chimiques, peuvent présenter une sensibilité accumulée aux huiles essentielles du fait de leur effet sélective ciblée sur les antibiotiques conventionnels, laissant leurs défenses contre les molécules naturelles peu développées (Wink, 2015). De plus, ces souches peuvent avoir des altérations physiologiques ou métaboliques liées à l'adaptation aux antibiotiques, qui

compromettent leur capacité à résister aux stress induits par les huiles essentielles (Zouine *et al.*, 2024)

Par contre, les souches de référence, utilisées en laboratoire depuis longtemps, ont souvent une stabilité génétique qui leur confère une tolérance relative à certains agents antimicrobiens naturels. Cette tolérance se traduit par des zones d'inhibition modérées sans arrêt complet de croissance (Cosentino *et al.*, 1999). Par ailleurs, ces souches peuvent avoir une structure membranaire plus robuste ou des mécanismes de pompage d'efflux qui réduisent la pénétration des composés bioactifs (Nazzaro *et al.*, 2013).

La concentration efficace et la diffusion des huiles essentielles dans le milieu peuvent varier en fonction de la nature de la souche, son mode de croissance et la production éventuelle de biofilm, ce qui influence la réponse observée (Hyldgaard *et al.*, 2012).

Ces observations sont conformes aux travaux démontrant que l'activité antibactérienne des huiles essentielles est souvent plus prononcée sur des souches cliniques multirésistantes, suggérant leur potentiel dans la lutte contre les infections nosocomiales où les antibiotiques classiques échouent (Kalemba & Kunicka, 2003).

Thy contient deux composés, le thymol et le carvacrol, qui contribuent fortement à son activité antibactérienne (Patil *et al.*, 2021; Barros *et al.*, 2022). Plusieurs études ont montré que l'huile essentielle extraite de cette plante présente une efficacité remarquable contre diverses souches bactériennes, notamment Gram positives et Gram négatives. De plus, selon l'IUCN (2018), le thym bénéficie d'une distribution géographique étendue, favorisant ainsi sa valorisation en tant que ressource phytothérapeutique durable.

Rs est largement reconnu pour ses propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et anti-inflammatoires. Son huile essentielle contient des composés bioactifs majeurs tels que le 1,8-cinéole, le camphre, l'acide rosmarinique et le carnosol, qui sont responsables de son activité antimicrobienne contre un large spectre de bactéries pathogènes (Nieto *et al.*, 2018). Plusieurs études ont démontré que l'huile essentielle de romarin exerce une inhibition significative sur des souches bactériennes, y compris celles présentant une résistance aux antibiotiques conventionnels (Yahia Bilot, 2015). Ces résultats confirment le potentiel thérapeutique du romarin comme source naturelle d'agents antibactériens.

De son côté, Zi est une plante médicinale reconnue pour ses multiples usages thérapeutiques. Les études phytochimiques révèlent que cette espèce renferme une richesse importante en composés bioactifs tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes et les tanins, qui contribuent à ses propriétés antimicrobiennes et antioxydantes (Khaleel *et al.*, 2016). Ces composés jouent un rôle clé dans l'inhibition de la croissance de diverses souches

bactériennes pathogènes, ce qui conforte l'intérêt pour l'exploitation de ses extraits et huiles essentielles dans la recherche de nouvelles alternatives naturelles aux antibiotiques classiques (Yahia *et al.*, 2020).

Conclusion

L'augmentation des infections bactériennes résistantes aux antibiotiques, et l'utilisation incontrôlée des antibiotiques est un problème majeur qui s'impose à rechercher d'autres sources ou composés antibactériens.

Les huiles essentielles sont des alternatives naturelles prometteuses. Toutefois, leur efficacité antibactérienne varie selon les espèces végétales utilisées, leur composition chimique et les types de bactéries ciblées.

L'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*, *Ziziphus spina-christi* et *Rosmarinus officinalis* met en évidence l'efficacité de ces plantes médicinales dans la lutte contre diverses bactéries pathogènes. Les résultats obtenus montrent que ces huiles possèdent un pouvoir inhibiteur remarquable, ce qui confirme leur potentiel en tant qu'agents antibactériens naturels.

Chaque plante testée a démontré une capacité variable mais significative, de limiter la croissance bactérienne, grâce à sa richesse en composés bioactifs.

L'utilisation de ces huiles essentielles pourrait représenter une approche efficace, naturelle et durable pour renforcer les stratégies de lutte contre les infections bactériennes, tant dans le domaine médical que dans d'autres secteurs comme l'agroalimentaire ou les cosmétiques. Cela ouvre des perspectives intéressantes des études approfondies, pour le développement de traitements alternatifs, notamment face à l'émergence croissante des résistances aux antibiotiques conventionnels.

Bibliographie :

- Akroum, S. (2021). Activité antimicrobienne des extraits de *Rosmarinus officinalis* et *Zingiber officinale* sur les espèces du genre *Candida* et sur *Streptococcus pneumoniae*. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 79(1), 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2020.06.003>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Barros, M., Redondo, L., Rego, D., Serra, C., & Miloudi, K. (2022). Extraction of Essential Oils from Plants by Hydrodistillation with Pulsed Electric Fields (PEF) Pre-Treatment. *Applied Sciences*, 12(16), 8107. <https://doi.org/10.3390/app12168107>
- Belhouala, K., & Benarba, B. (2021). Medicinal Plants Used by Traditional Healers in Algeria : A Multiregional Ethnobotanical Study. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 760492. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.760492>
- Borges, R. S., Ortiz, B. L. S., Pereira, A. C. M., Keita, H., & Carvalho, J. C. T. (2019). *Rosmarinus officinalis* essential oil : A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. *Journal of Ethnopharmacology*, 229, 29-45. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.09.038>
- Burt, S. (2004). Essential oils : Their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Cosentino, S., Tuberoso, C. I. G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E., & Palmas, F. (1999). In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Letters in Applied Microbiology*, 29(2), 130-135. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.1999.00605.x>
- G. Sindhu T. Usha Kiran Reddy*. (2017). A Review On *Thymus Vulgaris* For Its Reported Pharmacological Activities And Major Chemical Constituents. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.804912>
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods : A guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed). Chapman and Hall.
- Hussein, M. B., & Hamad, M. N. M. (s. d.). *Phytochemical Screening, Antimicrobial and Antioxidant Activity of Ziziphus Spina-Christi (L.) (Rhamnaceae) Leaves and Bark extracts*.
- Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential Oils in Food Preservation : Mode of Action, Synergies, and Interactions with Food Matrix Components. *Frontiers in Microbiology*, 3. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012>
- IUCN. (2018). *Thymus saturejoides* : Rankou, H., M'Sou, S., Ait Babahmad, R.A. & Diarra, A.: The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T139600868A139601223 [Jeu de données]. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-1.RLTS.T139600868A139601223.en>
- Jolyguillou, M. (2006). Intérêt du E-test dans le suivi de l'antibiothérapie. *Réanimation*, 15(3), 237-240. <https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2006.02.003>

- Kalembe, D., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10(10), 813-829. <https://doi.org/10.2174/0929867033457719>
- Khaleel, S., Jaran, A., & Haddadin, M. (2016). Evaluation of Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Three Leaf Extracts of *Ziziphus spina-christi* (Sedr) Grown in Jordan. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 14(6), 1-8. <https://doi.org/10.9734/BJMMR/2016/24935>
- Machado, C. A., Oliveira, F. O., De Andrade, M. A., Hodel, K. V. S., Lepikson, H., & Machado, B. A. S. (2022). Steam Distillation for Essential Oil Extraction : An Evaluation of Technological Advances Based on an Analysis of Patent Documents. *Sustainability*, 14(12), 7119. <https://doi.org/10.3390/su14127119>
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451-1474. <https://doi.org/10.3390/ph6121451>
- Nieto, G., Ros, G., & Castillo, J. (2018). Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.) : A Review. *Medicines*, 5(3), 98. <https://doi.org/10.3390/medicines5030098>
- Patil, S. M., Ramu, R., Shirahatti, P. S., Shivamallu, C., & Amachawadi, R. G. (2021). A systematic review on ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacological aspects of *Thymus vulgaris* Linn. *Heliyon*, 7(5), e07054. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07054>
- Phytochemical Screening, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Ziziphus spina-christi* (L.) Leaves extracts. (2022). *Napata Scientific Journal*, 1(1). <https://doi.org/10.53796/NSJ112>
- Reddy V, P. (2014). Review on *Thymus vulgaris* Traditional Uses and Pharmacological Properties. *Medicinal & Aromatic Plants*, 03(03). <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000164>
- WHO_EDM_TRM_2002.1_eng. (s. d.).
- Wink, M. (2015). Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary Metabolites. *Medicines*, 2(3), 251-286. <https://doi.org/10.3390/medicines2030251>
- Yahia Bilot, Y. (2015). In Vitro and in Vivo Antioxidant Related Effects of Rosemary (<i>Rosmarinus Officinalis</i> L.) Extracts in Humans. *American Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 3(5), 213. <https://doi.org/10.11648/j.ajcem.20150305.13>
- Yahia, Y., Benabderrahim, M. A., Tlili, N., Bagues, M., & Nagaz, K. (2020). Bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from different plant parts of two *Ziziphus* Mill. Species. *PLOS ONE*, 15(5), e0232599. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232599>
- Zhou, W., Li, J., Wang, X., Liu, L., Li, Y., Song, R., Zhang, M., & Li, X. (2023). Research Progress on Extraction, Separation, and Purification Methods of Plant Essential Oils. *Separations*, 10(12), 596. <https://doi.org/10.3390/separations10120596>
- Zouine, N., Ghachtouli, N. E., Abed, S. E., & Koraichi, S. I. (2024). A comprehensive review on medicinal plant extracts as antibacterial agents : Factors, mechanism insights and future prospects. *Scientific African*, 26, e02395. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2024.e02395>
- Site web 01 : <https://www.aldarmakyuae.com/product/crown-of-thorns-3/>
 Site web 02 : <https://www.aldarmakyuae.com/product/rosemary>

Annexe :

Matériels et produits de laboratoire

Matériels et appareillage	Milieux de culture	Soulevant utilises
Clevenger Autoclave Etuve Boîtes de pétri Pipettes pasteurs Ecouvillon Micropipettes Disque Réfrigérateur Agitateur plaque-chauffante Tubes à essai Eppendorf Spectrophotometer	Gélose Mueller Hinton (MH) Gélose nutritive (GN)	Eau distillée Eau physiologique DMSO

Résumé

Ce travail de recherche a porté sur l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites de *Thymus vulgaris*, *Ziziphus spina-christi* et *Rosmarinus officinalis*. L'objectif principal était de comparer leur efficacité contre plusieurs souches bactériennes pathogènes, dans un contexte où la résistance aux antibiotiques constitue un enjeu majeur de santé publique. Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation, puis testées *in vitro* à l'aide de méthodes microbiologiques standards. Les résultats ont révélé que les trois huiles séparées ou des combinaisons, possèdent une activité antibactérienne significative, avec des variations selon les espèces végétales et les souches bactériennes ciblées. *Thymus vulgaris* a présenté l'effet le plus puissant. Ces résultats confirment le potentiel de ces plantes médicinales en tant qu'alternatives naturelles aux antibiotiques de synthèse.

Mots-clés : huiles essentielles, *Thymus vulgaris*, *Ziziphus spina-christi*, *Rosmarinus officinalis*, activité antibactérienne, plantes médicinales, résistance bactérienne,

Abstract

This research focused on evaluating the antibacterial activity of essential oils extracted from *Thymus vulgaris*, *Ziziphus spina-christi*, and *Rosmarinus officinalis*. The main objective was to compare their effectiveness against several pathogenic bacterial strains, in the context of rising antibiotic resistance. The essential oils were extracted by hydrodistillation and tested *in vitro* using standard microbiological methods. Results showed that all three oils separated or combined, exhibited significant antibacterial activity, with varying levels depending on the plant species and bacterial strains. *Thymus vulgaris* showed the strongest effect. These findings highlight the potential of these medicinal plants as natural alternatives to synthetic antibiotics.

Keywords: Essential oils, *Thymus vulgaris*, *Ziziphus spina-christi*, *Rosmarinus officinalis*, antibacterial activity, Medicinal plants, bacterial resistance.

الملخص

يرتكز هذا البحث على تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية المستخلصة من نباتات (الزعتر)، (السدر) و (إكليل الجبل). وكان الهدف الرئيسي هو مقارنة فعاليتها ضد عدة سلالات بكتيرية ممرضة، خاصة في ظل تزايد مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية. تم استخراج الزيوت العطرية عن طريق التقطير المائي، واختبارها مخبرياً باستخدام الطرق الميكروبيولوجية القياسية. أظهرت النتائج أن الزيوت الثلاثة، منفردة أو مجتمعة، تمتلك نشاطاً مضاداً للبكتيريا بدرجات متفاوتة حسب نوع النبات والسلالة البكتيرية، حيث سجل الزعتر أقوى فعالية. تشير هذه النتائج إلى الإمكانات الكبيرة لهذه النباتات الطبية كبدايل طبيعية للمضادات الحيوية الصناعية.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، الزعتر، السدر، إكليل الجبل، النشاط المضاد للبكتيريا، النباتات الطبية، مقاومة البكتيريا.



Déclaration de correction de mémoire de master 2025

Référence du mémoire N°: / 2025	PV de soutenance N°: / 2025	
Nom et prénom(en majuscule) de l'étudiant (e) :	لقب و اسم الطالب(ة) :	
.....	بن. بوزيد جسيم بن. صالح محمد أسامة	
La mention التقدير	Note(./20) العلامة	L'intitulé de mémoire عنوان المذكرة
.....		
Activité antibactérienne des huiles essentielles de Thymus vulgaris, Ziz plus spina-christi et Rosmarinus officinalis		

تصريح وقرار الأستاذ المشرف : Déclaration et décision de l'enseignant promoteur :

Déclaration : Je soussigné (e), <u>Assma MEDDOUR</u> , (grade) <u>M.B.</u> à l'université de <u>Biskra</u> , avoir examiné intégralement ce mémoire après les modifications apportées par l'étudiant. J'atteste que : * le document a été corrigé et il est conforme au model de la forme du département SNV * toutes les corrections ont été faites strictement aux recommandations du jury. * d'autres anomalies ont été corrigées	تصريح : أنا الممضي(ة) أسفله <u>Assma MEDDOUR</u> (الرتبة) <u>M.B.</u> بجامعة <u>Biskra</u> ، أصرح بأنني راجعت محتوى هذه المذكرة كليا مراجعة دقيقة وهذا بعد التصحيحات التي أجراها الطالب بعد المناقشة، وعليه أشهد بأن : * المذكرة تتوافق بشكلها الحالي مع النموذج المعتمد لقسم علوم الطبيعة والحياة. * المذكرة صحت وفقا لكل توصيات لجنة المناقشة * تم تدارك الكثير من الإختلالات المكتشفة بعد المناقشة
--	--

Décision : Sur la base du contenu scientifique, de degré de conformité et de pourcentage des fautes linguistiques, Je décide que ce mémoire doit être classé sous la catégorie			قرار : اعتمادا على درجة مطابقتها للنموذج ، على نسبة الأخطاء اللغوية وعلى المحتوى العلمي أقرر أن تصنف هذه المذكرة في الدرجة :		
acceptable مقبول	ordinaire عادي	bien حسن	très bien جيد جدا	excellent ممتاز	exceptionnel متميز
E	D	C	B ✓	A	A+



التاريخ 2025 / 06 / 05
الأستاذ المشرف
أسامة

NB : Cette fiche doit être collée d'une façon permanente derrière la page de garde sur les copies de mémoire déposées au niveau de la bibliothèque universitaire