



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ IBN-KHALDOUN - TIARET-ANNEXE

SOUGUEUR

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Pour l'obtention du diplôme de Master

Filière : CHIMIE

Spécialité : Chimie Organique

Par :

KHITOUR MOHAMED AMINE & BACHANI TORKIA

THÈME

**L'Etude biologique de l'extrait méthanolique de
la plante médicinale *Thymus vulgaris*. et
comparer son efficacité à certains antibiotiques.**

Soutenue publiquement le : 12 / 10 / 2020 devant le Jury composé de:

<i>D^r DJAKHDANE .K</i>	M. C .B	Université de Tiaret	Présidente
<i>M^{me} MAIZI .Y</i>	M. A. A	Université de Tiaret	Examinatrice
<i>M^{lle} LAOUD .A</i>	M. A .B	Université de Tiaret	Examinatrice
<i>D^r ATMANI . A</i>	M. C .B	Université de Tiaret	Encadreur

PROMOTION 2019 /2020

Remerciements



*Nous voudrions présenter nos remerciements à notre
encadreur Mr ATMANI .A .*

*Nous voudrions également lui témoigner notre gratitude pour
sa patience et son soutien qui nous a été précieux afin de mener
notre travail à bon port.*

Merci



Dédicace



A notre chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de notre études.

A notre chères sœurs pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral .

A notre chers frères,....., pour leur appui et leur encouragement .

A toute notre famille pour leur soutien tout au long de notre parcours universitaire.

Merci d'être toujours là pour nous.



Résumé :

Ce travail vise à étudier l'extrait de la plante médicinale *Thymus vulgaris* (*Lamiaceae*), commune dans la médecine populaire algérienne. Où nous avons analysé l'extrait de la plante et révélé la présence de certains composés chimiques (polyphénols).

L'extrait a également fait l'objet d'une étude extra-organique pour détecter son activité antimicrobienne potentielle contre six types de bactéries, dont quatre sont de référence *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylocoque aureus* (ATCC 25293), *Staphylocoque coagulasse* (ATCC 5118) , Deux ont été isolés de patients , *Klepsiella pneumonie*

Et *Entérocoque*, en utilisant la méthode de diffusion HDD. Son efficacité a été comparée à certains antibiotiques. (E_{15µg}), (C_{30µg}), (CTX_{30µg}), (AMX_{25µg}) (CZN_{30µg}), (CXN_{30µg}).

Les antibiotiques ont montré des taux plus élevés contre certains isolats bactériens par rapport à l'extrait aqueux de méthanol de feuilles de thym .Les taux d'inhibition de la croissance bactérienne contre les antibiotiques variaient entre 00 et 30 mm.

Le taux d'effet le plus élevé de l'extrait aqueux au méthanol de feuille de thym était de 18 mm contre (ATTC 27853) et le taux d'efficacité antibiotique le plus élevé était celui du CTX 30 microgrammes de 30 mm de diamètre contre *Escherichia coli*.

Mots clés: *Thymus vulgaris*, activité antimicrobienne, taux d'inhibition, extrait d'éthanol antibiotique.

Summary

This work aims to study the extract of the medicinal plant *Thymus vulgaris* (*Lamiaceae*), which is common in Algerian folk medicine. Where we analyzed the extract of the plant and revealed the presence of some chemical compounds (polyphenols).

The extract was also the subject of an extra-organic study to detect its potential antimicrobial activity against six types of bacteria, four of which are reference *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25293), *Staphylococcus coagulans* (ATCC 5118), Two of them were isolated from patients, *Klebsiella pneumoniae* and *Enterococcus*, using the HDD diffusion method. Its effectiveness has been compared to certain antibiotics (E_{15μg})

(C_{30μg}), (CTX_{30μg}), (AMX_{25μg}) (CZN_{30μg}), (CXN_{30μg}).

Antibiotics showed higher levels against some bacterial isolates compared to aqueous methanol extract

of thyme leaves. Rates of inhibition of bacterial growth against antibiotics ranged from 00 to 30 mm.

The highest effect rate of aqueous methanol extract of thyme leaf was 18mm versus (ATCC 27853) and the highest antibiotic efficacy rate was that of 30 micrograms CTX 30 mm diameter versus *Escherichia coli*.

Key words: *Thymus vulgaris*, antimicrobial activity, inhibition rate, ethanol extract, antibiotic.

ملخص :

يهدف هذا العمل الى دراسة مستخلص النبتة الطبية *Thymus vulgaris (Lamiaceae)* الشائعة في الطب الجزائري الشعبي. حيث قمنا بتحليل مستخلص النبتة وتم الكشف عن وجود بعض المركبات الكيميائية (الفينولات المتعددة) .

المستخلص خضع ايضا للدراسة خارج العضوية للكشف عن نشاطه المضاد للميكروبات المحتملة ضد ستة انواع من البكتيريا اربعة منها مرجعية (*Escherichia coli (ATCC 25922)* و *Pseudomonas aeruginosa (ATCC27853)* و *Staphylocoque aureus (ATCC 25293)* و *Staphylocoque* (*Klepsiella pneumonie (ATCC 5118)* واثنتان منها تم عزلهما عن المرضى *coagulasse (ATCC 5118)* وذلك باستعمال طريقة الانتشار من خلال القرص الصلب وقد تمت مقارنة فعاليته ببعض الحيوية المضادات (AMX25µg), (CTX30µg), (C30µg), (E15µg), (CXN30µg), (CZN30µg) أظهرت المضادات الحيوية مستويات مرتفعة ضد بعض العزلات البكتيرية مقارنة بمستخلص (إيثانول/ماء) لأوراق الزعتر وتراوحت معدلات تثبيط نمو البكتيريا تجاه المضادات الحيوية بين 00 و 30 ملم. حيث كان أعلى معدل تأثير لمستخلص الميثانول المائي لأوراق الزعتر 18 مم ضد *Pseudomonas aeruginosa (ATTC 27853)* وأعلى معدل نجاعة للمضادات الحيوية كان ل CTX 30 ميكروغرام بقطر 30 ملم ضد الإشريكية القولونية.

المفتاحية الكلمات : *Thymus vulgaris*, الإيثانول مستخلص , تثبيط معدلات , للبكتيريا المضاد النشاط المضادات الحيوية.

Table des matières

Titre	page
Introduction.....	1
Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales et La plante sélectionnée	
I-1- les plantes médicinales	5
I-2- la phytothérapie	5
I-3- Utilisation traditionnelle des plantes médicinales.	5
I-4- Métabolites secondaires.....	6
I-4-1- Généralité	6
I-4-2- Définition des métabolites secondaires.....	6
I-4-3- classement des métabolites secondaires.....	6
I-4-3-a- Les composés phénoliques.....	6
I-4-3-a-1- Classification des composés phénoliques.....	7
I-4-3-b- Les Alcaloïdes.....	8
I-4-3-b-1- classification des Alcaloïdes.....	9
I-4-3-c- Les terpenoïdes.....	9
I-4-3-c-1- classification des terpenoïdes.....	10
I-5- Plante étudiée.....	10
I-5-a- La famille des lamiacées.....	10
I-5-b- Thymus vulgaris.....	11
I-5-c- Description morphologique.....	11
I-5-d- Classification Taxonomique.....	12
I-5-e- Nom vernaculaire.....	13
I-5-f- Habitat.....	13
I-5-g- Utilisaion des feuilles de T. vulgaris.....	13
I-5-h- Composition chimique.....	14
I-5-i- Répartition géographique de la plante.....	16
I-5-i-1- Dans le monde.....	16
I-5-i-2- En Algérie.....	16
I-5-j- Activité antibactériennes du T. vulgaris.....	17
Chapitre II: les antibiotiques.	
II-1- Définition.....	19

II-2- Morphologie d'une bactérie.....	19
II-2-1-Les classifications bactérienne.	20
II-3 - Classification des antibiotiques.....	21
II-3-1- Critères de Classification.	21
II-3 -1- a-Origine	21
II-3 -1-b- Mode d'action	21
II-3 -1- c- Spectre d'activité.....	21
II-3-1-d- Nature chimique.....	21
II-4 - mode d'action des antibiotiques.....	22
II-4-1- Sur la paroi bactérienne.....	22
II-4 -1-a -Les bêta-lactamine.....	22
II-4 -1-b- Les glycopeptides.....	22
II-4 -1 -c- La fosfomycine.....	22
II-4 -2- Sur la membrane cellulaire.....	22
II-4 -2-a- Les polymyxines.....	22
II-4 -3- Sur les ribosomes.....	23
II-4 -3- a- Les phénicolés.....	23
II-4-3-b- Les tétracyclines.....	23
II-4-3-c- Les macrolides, lincosamides et synergistines.....	23
II-4-3-d- L'acide fusidique.....	23
II-4-3-e- Les aminosides.....	23
II-4-4- Sur l'ADN.....	23
II-4-4-a- Les sulfamides et le triméthoprim.....	23
II-4-4-b- Les quinolones.....	24
II-4-4-c- Les rifamycines.....	24
II-4-3-d- Les nitro-imidazolés.....	24
II-5 -Résistance aux antibiotiques	24
II-5 -1- La résistance bactérienne naturelle	25
II-5 -1- La résistance acquise	26
II-6 - Evolution des bactéries résistantes aux antibiotiques	26
Chapitre III : Matériels et méthodes et discussion des résultats	
III-1- Objectif.....	28

III-2- Matériel.	28
III-2-1- Matériels non biologique.	28
III-2-2- Matière végétale	30
III-2-3- Traitements préliminaires du matériel végétal	30
III-2-4- Détection chimique de certaines substances actives dans les feuilles du thym.	31
III-2-4-a- détection des glycosides.	31
III-2-4-b- Détection des phénols.....	31
III-2-4-c- Détection des alcaloïdes.....	32
III-2-4-d- Détection des terpènes et des stroïdes	32
III-2-4-e- Détection des résines.....	32
III-2-4-f- Détection des saponines.....	32
III-2-4-g- Détection des tanins.....	32
III-2-4-h- Détection des flavones.....	33
III-2-4-i- Détection des Coumarines.....	33
III-2-4-j- Détection des huiles volatiles	33
III-3- Bactéries utilisées.....	34
III-3-1- Milieu de culture.....	35
III-3- Antibiotiques.....	35
III-4- Méthodes expérimentales.....	35
III-4- 1- Les étapes de travail.....	35
III-4- 2- Extraction des composés bioactifs.....	37
III-4- 3- Etude de l'activité biologique des feuilles de thym.....	38
III-5- Méthode du travail.....	38
III-5-1- Préparation des comprimés.....	38
III-5-2- Préparation du milieu agricole.....	38
III-5-3- Préparation de la suspension bactérienne.....	38
III-5-1- culture et couvain.....	38
III-6- Résultats.....	41
III-7- Etude de l'efficacité biologique des antibiotiques.....	41
III-7- 1- Préparation du milieu agricole.....	41
III-7- 2- Préparation de la suspension bactérienne.....	41
III-7- 3- culture et couvain.....	41

III-8- Résultats.....	43
III-9- Résultats généraux.....	43
Conclusion générale.....	46
Références bibliographiques.....	48
Annexe	55

Liste des tableaux

Titre	page
Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales et La plante sélectionnée.	
Tableau (I-1):Classification des composés phénoliques.....	8
Tableau (I-2):Différentes classes de terpène.....	10
Tableau (I-3):Classification taxonomique de <i>T.vulgaris</i>	12
Tableau (I-4):Teneur en polyphénols (en μg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du <i>T. vulgaris</i>	14
Tableau (I-5):Les principaux flavonoïdes trouvés par plusieurs auteurs dans les feuilles de <i>T.vulgaris</i>	15
Chapitre III : Matériels et méthodes et discussion des résultats.	
Tableau (III-1): liste des matériels non biologiques utilisés pendant la manipulation.....	29
Tableau (III-2): Résultats de la détection chimique préliminaire de certaines substances actives dans les feuilles du thym.. ..	34
Tableau(III-3): Taux de diamètres d'inhibition pour différentes concentrations d'extrait méthanolique - μg / ml d'eau pour de feuilles de thym vis-à-vis des bactéries.....	40
Tableau (III-4): Taux de diamètres d'inhibition antibiotique (en mm) contre les bactéries....	42

Liste des figures

Titre	page
Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales et La plante sélectionnée	
Figure (I-1): Squelette de base des polyphénols.	07
Figure (I-2): Structure de base de l'isoprène.	09
Figure (I-3): Aspect morphologiques de Thym.	12
Figure(I-4): Répartition géographique des espèces de thym dans le monde.	16
Figure (II-5): Répartition géographique du thym en Algérie	17
Chapitre II: les antibiotiques.	
Figure (II-1): Schéma d'une bactérie.	19
Figure (II-2): différents types de classifications des bactéries.	20
Figure (II-3): la coloration de Gram.	21
Figure(II-4): Schéma : mode d'action des antibiotiques.....	24
Figure (II-5): Cibles bactériennes et mécanisme de résistance aux antibiotiques.	25
Figure (II-6): Croissance rapide de production de penicillinase par <i>Staphylococcus aureus</i>	26
Chapitre III : Matériels et méthodes et discussion des résultats.	
Figure (III-1): Zone de prélèvement de récolte de l'espèce T. Vulgaris.	30
Figure (III-2): La Matière végétal sèche.	31
Figure(III-3): plan de travail.	36
Figure (III-4): montre l'extraction du thym.	37
Figure(III-5): Comment préparer le milieu de culture pour la suspension bactérienne avec culture et couvain.	39
Figure(III-6): Taux de diamètres d'inhibition pour l'extrait (méthanol /eau) en $\mu\text{g} / \text{ml}$ pour feuilles de thym contre les bactéries.	40
Figure (III-7): Comment mesurer le diamètre de la zone d'inhibition autour des comprimés d'antibiotiques avec une règle.	42
Figure (III-8): Taux de diamètres d'inhibition antibiotique (en mm) contre les bactéries.	43

Liste des abréviations

Symbole du terme	Interprétation du terme
T. vulgaris	Thymus vulgaris
ATB	Antibiotique
ATCC	American Type Culture Collection
N-Oxyd	Amine-oxyde
E _{15μg}	Erythromycine a une concentration de 15 Microgramme
C _{30μg}	Chloramphénicol a une concentration de 30 Microgramme
CTX _{30μg}	Céfotaxime a une concentration de 30 Microgramme
AMX _{25μg}	Amoxicillin a une concentration de 25 Microgramme
CZN _{30μg}	Cefazoline a une concentration de 30 Microgramme
CXN _{30μg}	Cefalexine a une concentration de 30 Microgramme
DMSO	dimethyl sulfoxide . (CH ₃) ₂ SO
NaOH	hydroxyde de sodium
KCl	chlorure de potassium
HgCl	chlorure de mercure
HCl	Acide chlorhydrique
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique concentré

Introduction

Introduction

L'utilisation des plantes aromatiques par l'homme est une pratique antique [1] .. De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes, compte tenu de leurs propriétés aromatiques, comme source d'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle. Cependant, cet utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement des observations au cours des siècles [2].

Les plantes médicinales sont devenues importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs [3].

Cependant, en tant que sources de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale [4]. Il est certain que la plupart des antibiotiques prescrits dérivent des microorganismes et que, un à trois antibiotiques sont mis sur le marché chaque année [5] , mais il est aussi évident que les agents antimicrobiens d'origine végétale ont leur place dans l'arsenal de médicaments prescrits par les cliniciens et à juste titre [6]. Chaque antibiotique a une durée de vie effective limitée au bout de laquelle les microorganismes développent des résistances. Le phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques est du en grande partie à la prescription massive d'antibiotiques par les médecins et leur mauvaise administration. Egalement, l'utilisation des antibiotiques en agriculture comme promoteurs de la croissance et dans la prévention des infections est suspectée de contribuer au développement de souches résistantes non seulement chez les animaux mais aussi chez les populations humaines. Ces différentes difficultés ont suscité notre intérêt pour la recherche d'autres substances antibactériennes pouvant constituer une solution alternative contre les résistances aux antibiotiques [7].

Malgré la nature hétérogène d'une biodiversité immense du continent africain en général et de l'Algérie en particulier, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes[8].

C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier *Thymus vulgaris* , La labiée très fréquemment employée dans le pourtour méditerranéen et en Algérie et leur efficacité dans le traitement de nombreuses maladies infectieuses.

L'objectif de notre travail vise en particulier à étudier l'effet antibactérien des composés bioactifs de cette plante extrait par usage des solvants à différentes polarités (Méthanol et l'eau) Plusieurs méthodes microbiologiques et approches techniques ont été utilisées lors de cette étude :

1. Extraction des composés bioactifs de cette plante
2. Procéder à des extractions à Méthanol et à l'eau des principaux composés bioactifs de la plante.
3. Suivre les effets antibactériens des extraits de *Thymus vulgaris* cultivés in vitro par la méthode de contact direct sur milieu solide.
4. Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits de la plante effectuée en comparaison à un certain ATB.
5. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).

Chapitre I



*Généralités sur les plantes
médicinales et La plante
sélectionnée: Thymus vulgaris*

I-1- les plantes médicinales :

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses [9]. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne [10].

I-2- la phytothérapie :

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement « Soigner avec les plantes ». Il s'agit d'une pratique millénaire basée sur un savoir empirique qui s'est transmis et enrichi au fil d'innombrables générations. La phytothérapie, étymologiquement le traitement par les plantes, est une méthode thérapeutique qui utilise l'action des plantes médicinales [11] .

La Phytothérapie est une médecine qui utilise des plantes - ou la seule "partie active" de ces plantes - ayant des propriétés thérapeutiques. Ces plantes sont appelées "plantes médicinales".

Les préparations peuvent être obtenues par macération, infusion, décoction, ou sous forme de teinture, poudre totale, extraits,... etc. Les plantes médicinales peuvent être des espèces cultivées mais dans la plupart des cas des espèces sauvages [12].

I-3- Utilisation traditionnelle des plantes médicinales :

Depuis 150 ans, les plantes médicinales ont fourni à la pharmacie des médicaments très efficaces. Aujourd'hui, de nombreux travaux menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie, nous montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui ont été testées sont souvent d'une part, des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et d'autre part seraient quasiment dépourvues de toxicité[13].

Un certain nombre de plantes médicinales est encore utilisé de nos jours sous forme de décoction, infusions, macération et cataplasmes. Mais la plupart d'entre elles ont été délaissées au profit de produits pharmaceutiques de synthèse. Cependant, les connaissances actuelles permettent d'analyser ces plantes et souvent l'activité préconisée par nos ancêtres [14].

I-4- Métabolites secondaires :**I-4-1- Généralité :**

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides)[15], qui participent à la structure de la cellule végétale ainsi qu'à son fonctionnement de base [16]. Ces métabolites sont aussi définis comme des molécules qui se trouvent dans toutes les cellules végétales et nécessaire à leur croissance et à leur développement[9] Par opposition les métabolites secondaires ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse mais sont synthétisé à partir des métabolisme primaire et résultent des réactions chimiques ultérieures[17].

I-4-2- Définition des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures, et qui ont une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Dans plus de 200 00 structures ont été définies[18]. Ce sont des molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions entre les plantes et les animaux, ils constituent un ensemble des produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti- inflammatoires et anti carcinogènes ou mutagènes[19].

I-4-3- classement des métabolites secondaires :

Nous pouvons classer les métabolites secondaires en trois groupes, chacune renferme une très grande diversité biologique [20].

- Les composés phénoliques .
- les alcaloïdes.
- Les terpenoïdes .

I-4-3-a- Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre (figure 1), ou engagé dans une autre fonction tels que: éther, ester, hétéroside [21].

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel. Ils peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien lui permettant de résister au diverses agression vis-à-vis des organismes

pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stressés variés [22].

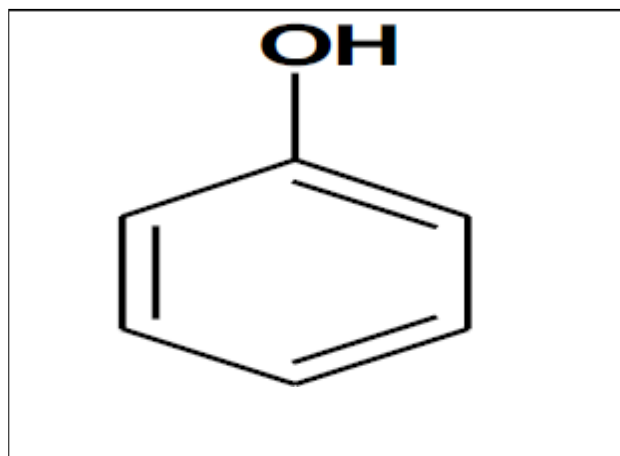


Figure (II-1): Squelette de base des polyphénols

I-4-3-a-1- Classification des composés phénoliques :

Les composés phénoliques, ce terme recouvre un groupe très vaste et diversifié de composés chimiques. Ces composés peuvent être classés en un certain nombre de façons. Harborne et Simmonds (1964) ont classés en groupes ces composés sur la base du nombre d'atomes de carbone dans la molécule [16]. (tableau (II-1)).

Tableau (II-1): Classification des composés phénoliques

Structure	classe
C6	Phénols simple
C6-C1	Acide phénolique et composante liée
C6-C2	Acetophenone et acide phenylacetique
C6-C3	Acide cinnamique et aldehyde cinnamyle et alcool cinnamyle
C6-C3	Coumarine, isocoumarine et chromone
C15	Chalcones, aurones, dyhydrochalcones
C15	flavanes
C15	flavones
C15	flavnones
C15	flavnonoles

C15	Anthocyanidines
C15	Anthocyanines
C30	Biflavonyls
C6-C1-C6,C6-C2-C6	Benzophenones,Xanthones,stilbenes
C6,C10,C14	Quinones
C18	Betacyanines
Lignans , neolignans	Dimers ou oligomers
Lignin	polymère
Tanins	Oligomers ou polymères
Phobaphenes	polymers

I-4-3-b- Les Alcaloïdes :

Le terme alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du XIXe siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme bases, comme des alcalis (de l'arabe al Kalys, la soude et du grec eidos, l'aspect) [23]. Ils existent plusieurs types d'alcaloïdes, certains ont de structures très simples, d'autres de structures beaucoup plus complexes [24].

I-4-3-b-1- classification des Alcaloïdes :

Nous distinguons 3 classes [25].

- **Les alcaloïdes vrais** : ce sont des dérivés d'acides aminés, dont l'atome d'azote est inclus dans le système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde. Ils représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes et ils sont toxiques [26].
- **Les pseudo-alcaloïdes** :
 - ils présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés [27]. Dans la majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate [28].
- **Les proto-alcaloïdes** : Ce sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique ; ils ont une réaction basique et sont élaborés in vivo à partir d'acides aminés [29] [30].

I-4-3-c- Les terpenoïdes :

Les terpénoïdes constituant un ensemble connu et très vaste des métabolites secondaire des végétaux, ce sont des molécules polyisoprénique qu'on trouve également dans le règne animal [31].

Les terpenoïdes sont responsables de la couleur et l'odeur des plantes et des épices (piments, curies) [32]. et ont des propriétés biologiques et pharmacologiques variées : cyostatiques, antiviraux, anti-inflammatoires, anti- œdémateuses, cytoprotectives, immunomodulatrices, analgésiques, antibactériennes et antifongiques [33].

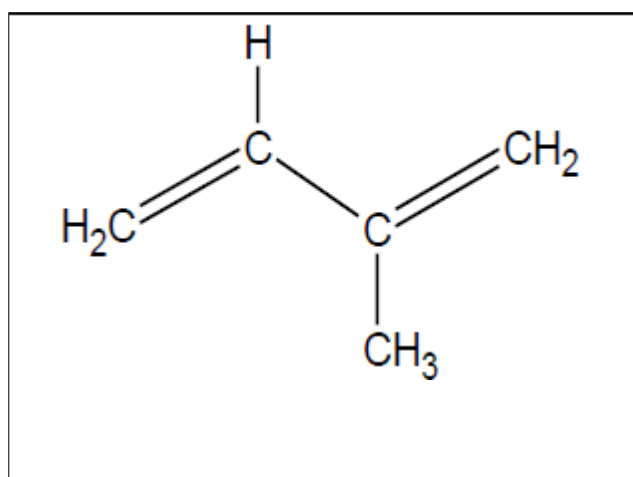


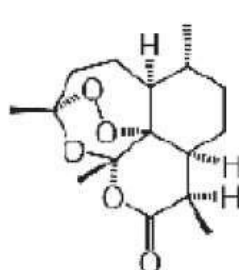
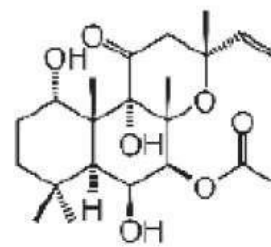
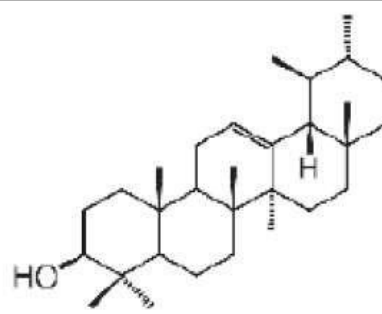
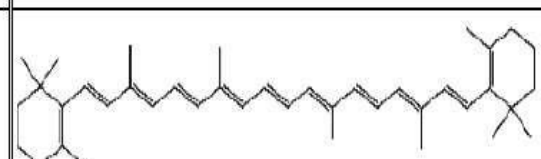
Figure (II-2): Structure de base de l'isoprène.

I-4-3-c-1- classification des terpenoïdes :

Dans le règne végétal, les térpenoïds sont classées dans la catégorie des métabolites secondaires (avec les flavonoïdes et les alcaloïdes). Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène [34].

Tableau (II-2): Différentes classes de terpène

Le nom de terpène	Structure	Type de terpène
(+)Limonene		monoterpene

Artemisinin		Sesquiterpene
Forskolin		diterpene
α -Amyrin		triterpene
β -Carotene		tetraterpene

I-5- Plante étudiée :

La plante étudiée à été choisie en fonction de leur emploi très fréquent en Algérie

I-5-a- La famille des lamiacées :

La région méditerranéenne d'une manière générale et l'Algérie en particulier, avec son climat doux et ensoleillé est particulièrement favorable à la culture des plantes aromatiques et médicinales. La production des huiles essentielles à partir de ces plantes pourrait constituer à ce titre une source économique importante pour notre pays. Cette étude porte sur la famille des Lamiacées

La famille des lamiacées (labiées) du latin labia (lèvre) signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres [35] [36].

C'est une famille d'une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Elle est l'une des famille les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien, antifongique, antiinflammatoire et antioxydant [37]. Elle est divisée en sept sous-familles : Ajugoideae, Lamioideae, Nepetoideae, Prostantheroideae, Scutellarioideae, Symphorematoideae et Viticoideae [38].

Cette famille comprend près de 6700 espèces regroupées dans environ 250 genres[39]. Un très grand nombre de genre de la famille des Lamiacée sont des sources riches en terpénoïdes, flavonoïdes, iridiodes glycosylés et composés phénoliques[40]. Le genre *Thymus* représentant l'objectif de notre recherche regroupe plus de 250 espèces[41].

I-5-b- *Thymus vulgaris* :

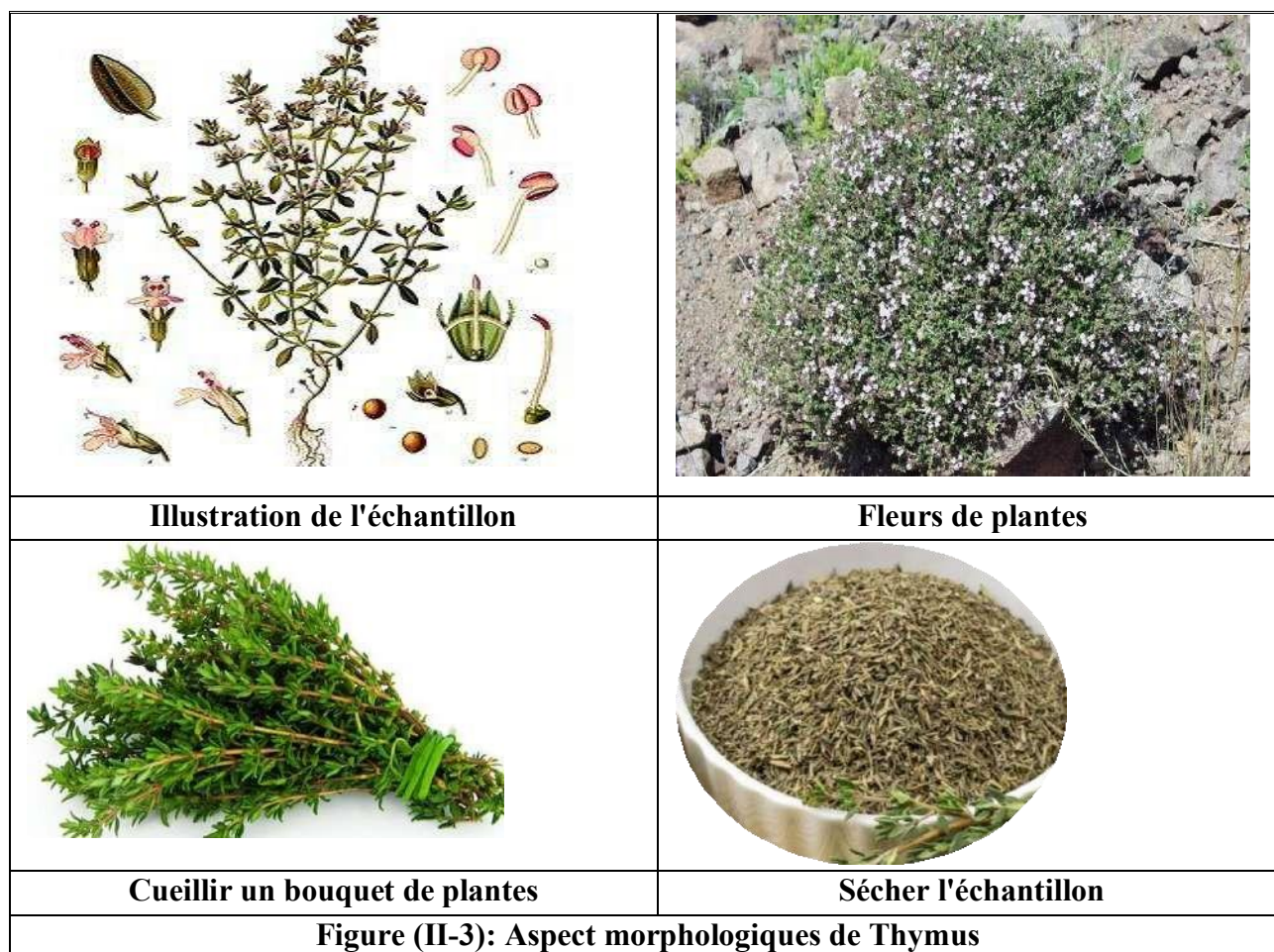
Le genre *Thymus* est l'un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées avec comme forte diversité dans la partie occidentale du bassin méditerranées [42]. Le nom

« *Thymus* » dérive du mot grec « thymos » qui signifie « parfumer » à cause de l'odeur agréable que la plante dégage [43].

L'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ses qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales [44].

I-5-c- Description morphologique

T. vulgaris est un sous-arbrisseau touffu, vivace et aromatique pouvant atteindre de 20 à 30 cm de hauteur (figure.03). Ses tiges sont dressées, ligneuses, rameuses et tortueuses à la base et ses racines sont assez robustes, ses branches sont minces, denses, ramifiées, blanchâtres et courtement velues, portant des feuilles persistantes de couleur vert grisâtre, subsessiles, opposées, oblongues-lancéolées à linéaires et mesurant de 3 à 12 mm de long et de 0.5 à 3 mm de large. Les marges de leurs limbes sont enroulées sur la face ventrale ce qui donne aux feuilles une forme générale d'aiguille. Les fleurs sont de petite taille (4 à 6 mm de long), de couleur blanche à rose, bilabiées, zygomorphes, regroupées par 2 ou 3 à l'aisselle des feuilles et rassemblées en glomérules ovoïdes.



I-5-d- Classification Taxonomique :

La situation botanique de l'espèce *T. vulgaris* est donnée ci-dessous: (**Tableau II-3**)

Tableau. (II-3): Classification taxonomique de *T. vulgaris*

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta
Sous-embranchement	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris</i> .

I-5-e- Nom vernaculaire :

Les noms vernaculaires de l'espèce *Thymus vulgaris* sont les suivants :

- Arabe : saatar, zaatar (en arabe زعتر ou صعتر)
- Français : thym vulgaire, thym de jardins, farigoule, farigoule et barigoule.
- Allemande: Thymian , Echter Thymian, Garten thymian, Römischer thymian, romischer quendel , welscher thymian
- kutteelkraut.
- Anglais : common thym, garden thym, [45].

I-5-f- Habitat :

Le thym pousse bien sur des endroits naturels, sur sol légers et calcaires mais il prospère tout aussi bien sur sols fertiles argileux mais non détrempés. Et Il nécessite des endroits bien la sécheresse .C'est d'ailleurs sur sols pauvres que se développe le mieux son arôme .Dans des endroits de fortes gelée , une protection est recommandés durant l'hiver sa multiplication se fait par semis superficiel (germination à la lumière) , réalisé mai-avril ou plus rarement en aout ,en rangées encarrées environ 20 à 30 cm ; de préférence sur sol léger et sablonneux [46].

I-5-g- Utilisation des feuilles de *T. vulgaris* :

Thymus vulgaris est une des plus populaires plantes aromatiques utilisées dans le monde entier, ces applications sont très vastes et touchent le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle [47].

La feuille et la sommité fleurie de *Thymus vulgaris* sont traditionnellement utilisées par voie orale dans le traitement symptomatique de troubles digestifs tels que : ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructation, flatulence ainsi que dans le traitement symptomatique de la toux et de la bronchite [48]. Sa feuille est énumérée dans la pharmacopée de fines herbes allemande et britannique a été employée en tant que bronchospasmodique , expectorant et antibactérien. On dit que la tisane des feuille de *Thymus vulgaris* favorise le repos et le sommeil [49].

En usage local, elles sont traditionnellement utilisées en cas de nez bouché, de rhume, pour le traitement des petites plaies après lavage abondant, pour soulager les piqûres d'insectes et les douleurs rhumatismales, en bain de bouche pour l'hygiène buccale [50]. ainsi comme additif de

bain préparé par décoction qui stimule l'écoulement de sang vers la surface du corps humain, soulageant de ce fait la dépression nerveuse [51].

I-5-h- Composition chimique :

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes de *T. vulgaris* sont très riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, de séchage, de stockage et des méthodes d'études (extraction et détection).

L'hybridation facile de l'espèce mène à une grande variabilité intraspécifique, qui affecte l'homogénéité du rendement d'extrait et sa composition en produits

chimique [52].[53].

La teneur en huile essentielle de la plante varie de 5 à 25 ml/Kg et sa composition fluctue selon le type considéré[56] ; l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été analysée en utilisant la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à une spectrométrie de masse (CM), 30 composés ont identifiés et caractérisés, les plus abondants sont respectivement : thymol (44.4-58,1%) p-cymène (9.1- 18.5 %), terpiène (6.9 -18.0%), carvacrol (2.4 – 4.2 %) , linalol (4.0 -6.2 %) . La caractéristique d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* était sa teneur élevée en thymol [54].

Le contenu phénolique total, flavonoïdes, catéchine, et anthocyanine dans l'infusion aqueuse préparée du *Thymus vulgaris* a été déterminé par des méthodes spectrophotométriques[55]. Le

tableau (II-4) ci-dessous résume les résultats :

Tableau (II-4): Teneur en polyphénols (en µg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du *Thymus vulgaris*

Plante	Phénols totaux	Flavonoïdes	Non-flavonoïdes	Catéchines	Anthocyanines
<i>Thymus vulgaris</i>	33.3	25.0	8.3	1.2	6.7

La méthodologie habituelle pour étudier les dérivés flavonoïdiques dans les plantes implique les extractions successives employant plus d'un solvant étapes de fractionnement et différentes techniques de chromatographie pour extraire, séparer, isoler, épurer et identifier les composés

d'intérêt. Le tableau 3 énumère les flavonoïdes trouvés dans les feuilles *T. vulgaris*, par plusieurs auteurs, en utilisant la méthodologie ci-dessus mentionné :

Tableau (II--5): Les principaux flavonoïdes trouvés par plusieurs auteurs dans les feuilles de *Thymus vulgaris*

Flavonoïdes	Références
• Cirsilineol (5,4'-dihydroxy-6,7,3'-triméthoxyflavone)	Adzet et al., 1988 Morimitsu et al., 1995
• Thymonine (5,6,4' - trihydroxy-7,8,3'-triméthoxyflavone)	Morimitsu et al., 1995
• Eriodictyol (5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone)	Adzet et al., 1988 Morimitsu et al., 1995
• Sideritoflavone (5,3',4'-trihydroxy- 6,7,8- triméthoxyflavone)	Adzet et al., 1988
• 5-Desmethylnobiletine (5-hydroxy-6,7,8,3',4'-pentaméthoxyflavone)	Guillén et Manzanos, 1998
• Apigénine (5,7,4'-trihydroxyflavone)	Adzet et al., 1988
• Lutéoline (5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone)	Guillén et Manzanos, 1998
• Xanthomicrol (5,4'-dihydroxy-6,7,8-triméthoxyflavone)	Adzet et al., 1988 Kulišić et al., 2006
• 5-Desmethylsinensetine (5-hydroxy-6,7,3',4'-tetraméthoxyflavone)	Adzet et al., 1988 Kulišić et al., 2006
• 5-Desmethylsinensetine (5-hydroxy-6,7,3',4'-tetraméthoxyflavone)	Guillén et Manzanos, 1998 Guillén et Manzanos, 1998
• Quercétine (3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavone)	Morimitsu et al., 1995 Kulišić et al., 2006

I-5-i- Répartition géographique de la plante :

I-5-i-1- Dans le monde :

Le thym est réparti entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée [56]. Il est très répandu dans le nord ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. **(figure.04)**. Il se trouve également en région Macaronésienne (îles Canaries, Madère et les Açores) et en Himalaya. Il peut même atteindre les limites de la région tropicale et du Japon Dans le nord, il pousse en Sibérie, en Europe nordique jusqu'auxbords du Groenland [57].

La région de l'ouest méditerranéen est considérée comme étant le centre de l'origine du genre *Thymus* ; l'espèce *T. vulgaris* provient particulièrement du sud de l'Europe, de l'Espagne à l'Italie [58][69]. Le thym est maintenant très cultivé au Portugal, France, Allemagne, Espagne, Italie, Algérie, Maroc, Tunisie, Egypte, Turquie, Chine, Russie, Angleterre et les Etats-Unis d'Amérique[60][61].

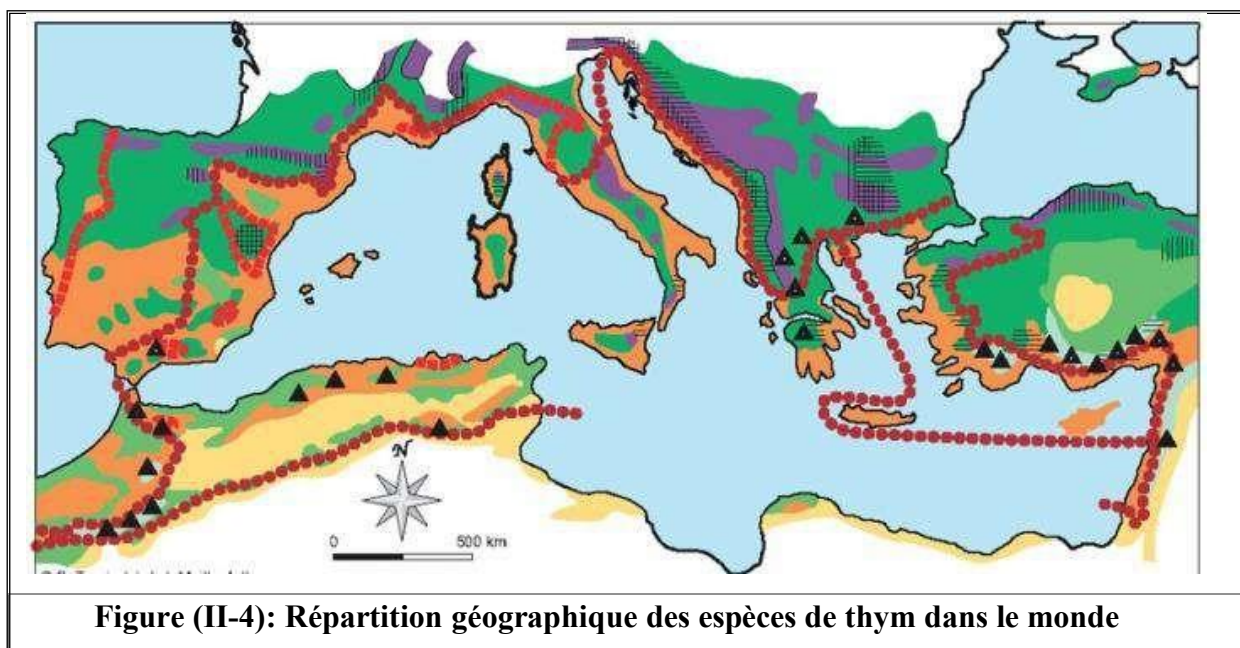


Figure (II-4): Répartition géographique des espèces de thym dans le monde

I-5-i-2- En Algérie :

Le thym est représenté par plus de 300 espèces à travers le monde dont 12 sont localisées en Algérie et 9 d'entre elles sont endémiques [62]. Ces espèces sont réparties le long du territoire national, du Nord algérois à l'Atlas saharien, et du constantinois à l'oranais [63].



Figure (II-5): Répartition géographique du thym en Algérie

I-5-j- Activité antibactériennes du *T. vulgaris* :

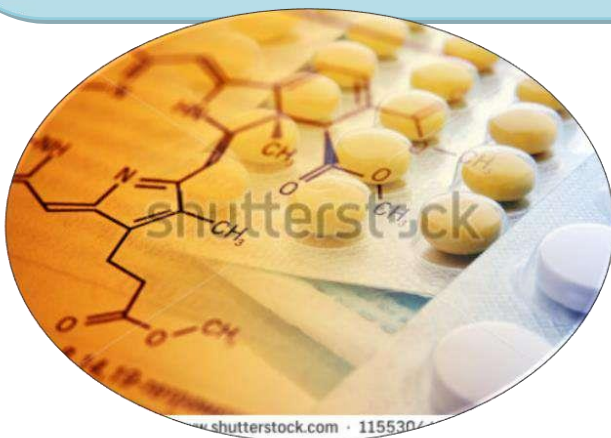
La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes, sous forme de métabolites secondaires dont les composés phénoliques, sont toujours utilisés dans l'industrie alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire.

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiens, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire [64].

Chapitre II



les antibiotiques



II-1- Définition :

Les antibiotiques sont des substances naturelles produites par des bactéries du sol ou certains champignons ; extraits de substances d'organismes vivants, leur origine est dite naturelle mais ils peuvent aussi être synthétisés de façon totale ou partielle (origine semi-synthétique) [65].

II-2- Morphologie d'une bactérie :

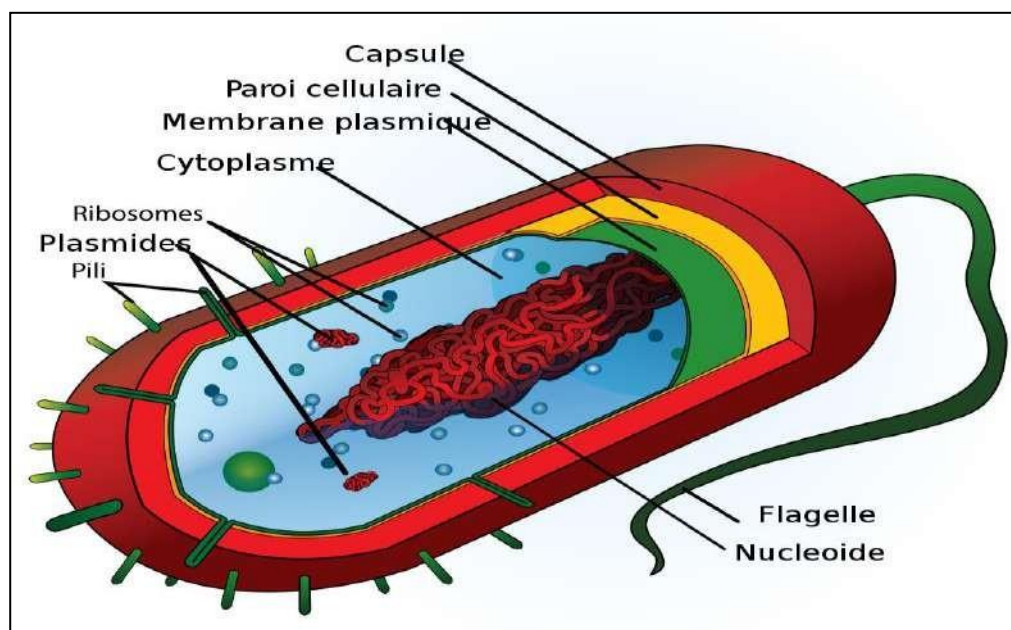


Figure (II-5) : Schéma d'une bactérie.

Les bactéries sont des microorganismes unicellulaires. Elles sont capables de se reproduire de manière autonome à la différence des virus qui ont besoin de détourner la machinerie d'une cellule pour se reproduire. La taille des bactéries varie de 1 à 10 μm , et elles pèsent de l'ordre de 10-12 grammes. Elles sont présentes partout, on connaît quelques 8 000 espèces mais on estime qu'il en existerait 100 à 1000 fois plus.

Ce sont des petits sacs de molécules séparés de l'environnement extérieur. Cet ensemble a la capacité remarquable de se copier à l'identique en puisant énergie et réactifs primaires dans le monde extérieur [66].

Certaines bactéries sont naturellement présentes dans l'organisme et constituent même une barrière contre d'autres bactéries dites pathogènes susceptibles de nuire à la santé des Hommes ou des animaux [67].

II-2-1-Les classifications bactérienne :

Il existe différents types de classifications des bactéries. La classification de Linné permet de distinguer différents niveaux : le règne, l'embranchement, la famille, le genre et l'espèce [68].

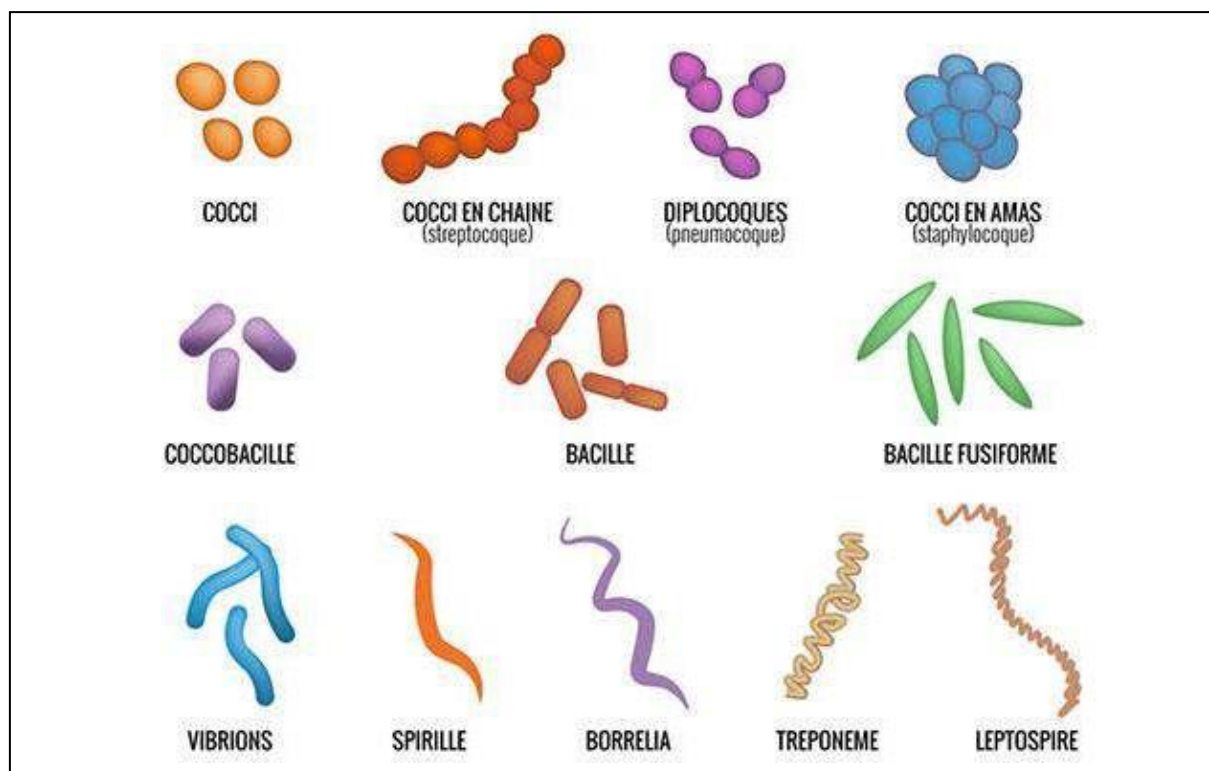


Figure (II-6): différents types de classifications des bactéries.

Chaque espèce se distingue par des caractéristiques métaboliques et morphologiques : les cocci seront plutôt courts et sphériques, les bacilles en forme de bâtonnet, d'autres peuvent être incurvés ou spiralés... [69]. En ce qui concerne les noms, le premier mot (en italique et commençant par une majuscule) correspond au genre, le deuxième (en minuscule et aussi en italique) correspond à l'espèce : *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ... [1]

Une autre classification, fréquemment utilisée, correspond à leur réaction au contact de la coloration de Gram. Il s'agit d'une méthode permettant de différencier les bactéries en fonction de leur capacité de coloration variant selon la composition de leur paroi. Ainsi, les bactéries colorées en bleu-violet seront dites à Gram positif et celles en rose à Gram négatif. [1].

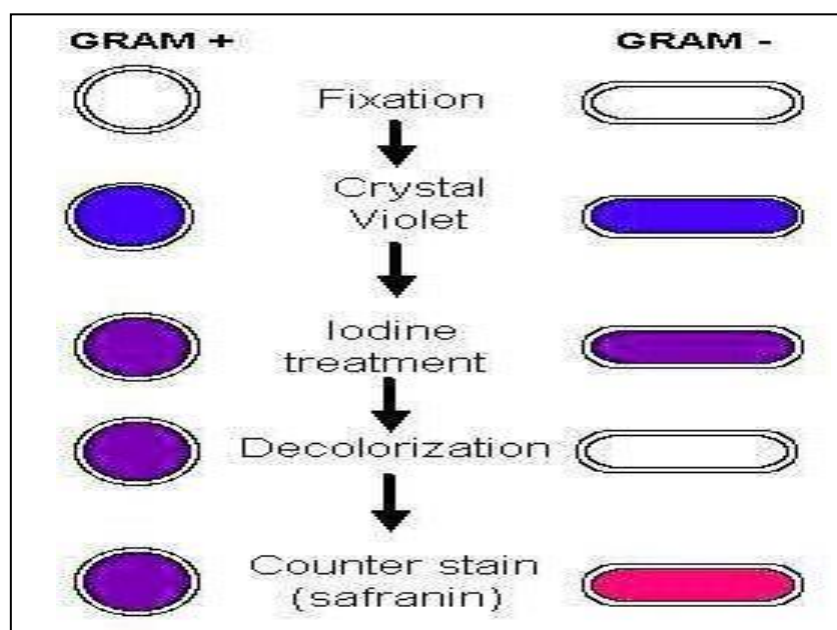


Figure (II-7): la coloration de Gram.

Enfin, elles peuvent être classées en fonction de leur besoin d'oxygène pour survivre en bactéries aérobies ou en bactéries anaérobies [3].

Lorsque l'environnement leur est favorable, en termes de nutriments, température, pH, oxygène... les bactéries pourront alors survivre et se multiplier. Dans certaines circonstances, les bactéries peuvent avoir un pouvoir pathogène important et être responsables de maladies bénignes ou graves [3].

II-3 - Classification des antibiotiques :

II-3-1- Critères de Classification :

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

II-3 -1- a-Origine :

élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).

II-3 -1-b-Mode d'action :

paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.

-1- c- Spectre d'activité :

liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large).

II-3-1-d- Nature chimique :

très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse.

La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (β lactamines , aminosides, tétracyclines.....etc.)[70].

- mode d'action des antibiotiques :

II-4-1- Sur la paroi bactérienne :

En inhibant la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane (muréine composant essentiel de la paroi bactérienne, qui confère à la bactérie sa forme et sa rigidité ce qui lui permet de résister à la forte pression osmotique intra cytoplasmique) au cours de la multiplication cellulaire, la nouvelle bactérie n'est plus protégée entraînant ainsi une lyse bactérienne [1].

II-4 -1-a -Les bêta-lactamine :

Elles sont réparties en quatre sous familles et un groupe d'une de ces familles : les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames et les carbapénèmes [1]. Figure

Elles se fixent préférentiellement sur certaines des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) qui sont des enzymes de la phase terminale de la synthèse du peptidoglycane (transpeptidases, carboxypeptidases) catalysant les liaisons entre les chaînes peptidiques dans la paroi des bactéries. Les bêta-lactamines jouent le rôle d'un substrat Usage des antibiotiques en élevage et risque sur la santé humaine 7 formant une liaison stable avec certaines PLP et bloquent l'action de ces dernières. Ce sont des produits bactéricides temps dépendants [1].

II-4 -1-b- Les glycopeptides :

Ils agissent sur l'undécaprényl-phosphate (UDP), qui est un transporteur transmembranaire des précurseurs du peptido-glycane : la chaîne de peptido-glycane en formation, les peptides de la paroi non encore couplés [1].

II-4 -1 -c- La fosfomycine :

Elle inhibe une des phases cytoplasmiques de la synthèse de la paroi en bloquant une pyruvyl transférase ; Elle est bactéricide.

II-4 -2- Sur la membrane cellulaire :

En désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit des graves troubles d'échanges électrolytiques avec le milieu extérieur.

II-4 -2-a- Les polymyxines :

Elles se fixent sur les phospholipides membranaires ; les membranes ne peuvent plus se remanier, se déforment et deviennent perméables. Elles sont bactéricides mais diffusent mal dans les tissus [1].

II-4 -3- Sur les ribosomes :

Ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéines anormales.

-3- a- Les phénicolés :

Ils se fixent sur le ribosome au niveau du site amino-acyl et inhibent l'élongation de la chaîne peptidique. Ils sont bactériostatiques ; actuellement ils sont très peu employés car ils sont toxiques sur la moelle osseuse [1].

II-4-3-b- Les tétracyclines :

Elles se fixent sur le ribosome au niveau du site amino-acyl mais aussi au niveau du site peptidyl quand les molécules d'acyl-tARN fixées antérieurement sont nombreuses. Elles sont bactériostatiques et ont de bonnes concentrations intracellulaires dans les cellules eucaryotes [1].

II-4-3-c- Les macrolides, lincosamides et synergistines :

Ces produits se fixent sur la sous-unité 50 S du ribosome. Les macrolides et les lincosamides sont bactériostatiques ; les synergistines sont bactéricides. Ils atteignent de bonnes concentrations intracellulaires dans les cellules eucaryotes.

II-4-3-d- L'acide fusidique :

Il se fixe sur le site amino-acyl et bloque la translocation de la chaîne peptidique en formation. Il est bactériostatique.

II-4-3-e- Les aminosides

Ils se fixent irréversiblement au niveau de la sous-unité 30S du ribosome .ils sont des inhibiteurs de la traduction : ils provoquent des erreurs de lecture du message porté par l'ARN messager. Ils sont de puissants bactéricides concentration-dépendants. [1].

II-4-4- Sur l'ADN :

En empêchant sa réplication et en inhibant la biosynthèse protéique.

II-4-4-a- Les sulfamides et le triméthoprime :

Ils agissent sur des enzymes de la voie de synthèse de l'acide folique et des folates, qui sont des cofacteurs de la synthèse des acides nucléiques ; les sulfamides agissent sur la dihydroptéroate-synthétase ; le triméthoprime agit sur la dihydrofolate réductase. Ils sont bactéricides [1].

II-4-4-b- Les quinolones :

Elles sont réparties en deux groupes :

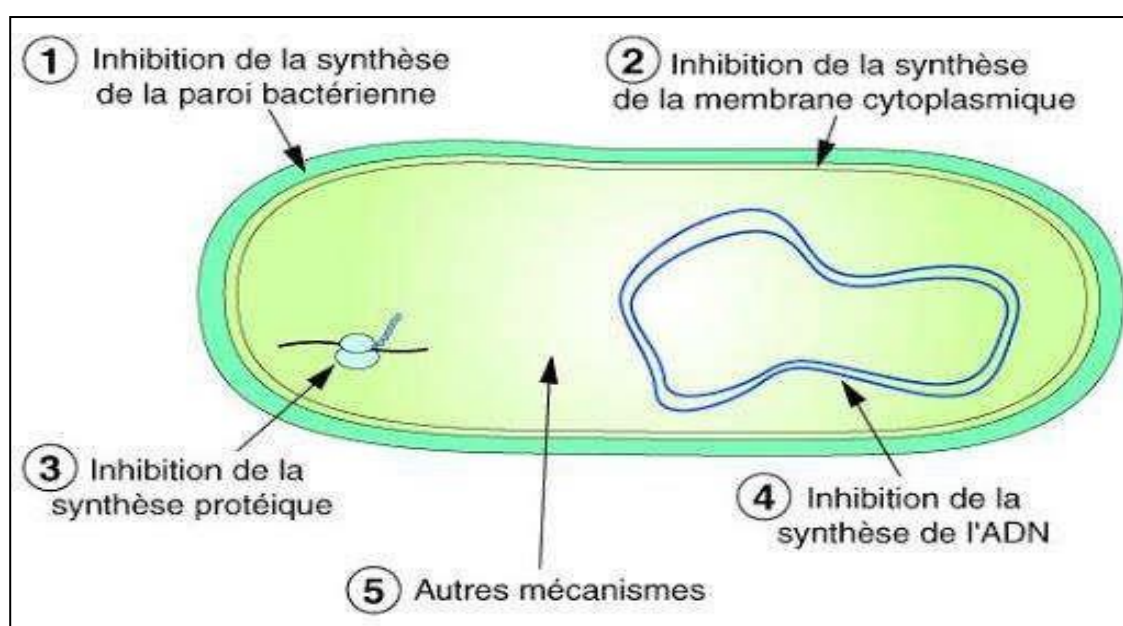
- les quinolones classiques.
- les fluoroquinolones.

II-4-4-c- Les rifamycines :

Ce sont des produits inhibant la synthèse des ARN messenger par inhibition de l'ARN polymérase ADN dépendante. Elles sont bactéricides et surtout utilisées pour traiter la tuberculose. Elles atteignent de bonnes concentrations intracellulaires dans les cellules eucaryotes [1].

II-4-3-d- Les nitro-imidazolés :

Réduits en dérivés actifs en atmosphère strictement anaérobie, ils forment un complexe avec un brin d'ADN provoquant une coupure de ce dernier, Ils sont bactéricides [1].



Figure(II-8): Schéma mode d'action des antibiotiques.

-Résistance aux antibiotiques :

Les antibiotiques perturbent des mécanismes essentiels de la vie cellulaire (réplication, transcription, traduction, synthèse de la paroi...) ce qui limite la croissance bactérienne (effet bactériostatique) ou tue les bactéries (effet bactéricide) (Figure). Comme les cibles moléculaires des antibiotiques sont présentes uniquement chez les bactéries, ces substances n'interfèrent pas avec la vie des cellules eucaryotes et n'ont pas d'effet sur les virus [2].

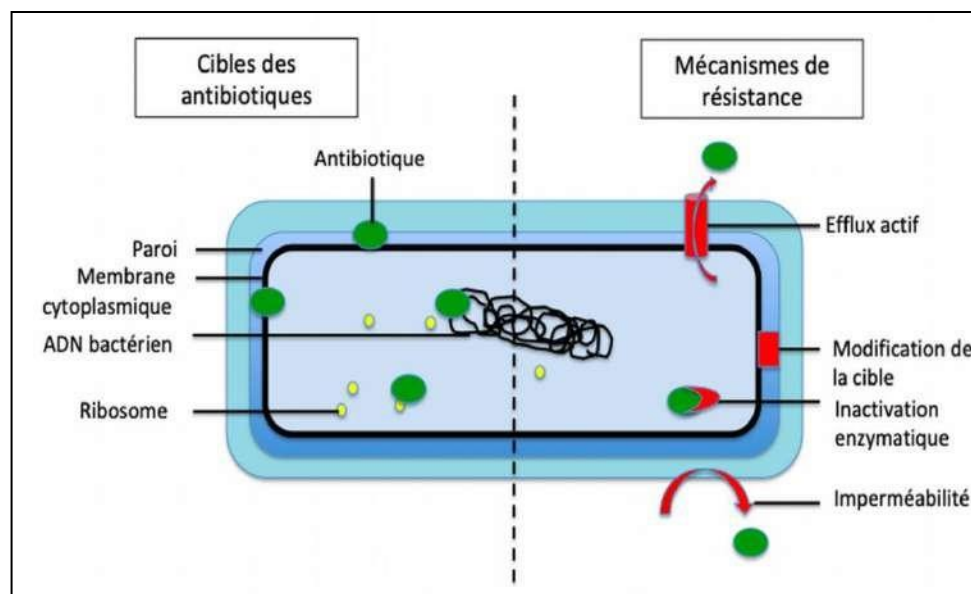


Figure (II-9): Cibles bactériennes et mécanisme de résistance aux antibiotiques

Après une période de forte efficacité contre les maladies infectieuses, les antibiotiques se présentent de moins en moins efficaces face à certaines infections bactériennes. Dès 1940, juste après la découverte de la pénicilline, Abraham et Chain avaient mis en évidence l'existence de résistance à cet antibiotique chez *B coli* (*Escherichia coli*) [71]. Les bactéries s'adaptent aux antibiotiques et deviennent résistantes.

On distingue deux types de résistance bactérienne. La résistance naturelle et la résistance acquise.

II-5 -1- La résistance bactérienne naturelle :

Si les antibiotiques, molécules naturelles, sont synthétisés par la plupart des microorganismes pour supplanter d'autres micro-organismes dans un environnement donné, ces substances peuvent ne pas être actives sur tous les micro-organismes. On dira que ces micro-organismes ont une résistance naturelle vis-à-vis de cette molécule. La résistance naturelle à un antibiotique donné est un caractère présent chez toutes les souches de la même espèce [72].

C'est ainsi que, les bacilles à Gram négatif sont naturellement résistants aux antibiotiques hydrophobes car ces molécules ont des difficultés à passer la membrane externe de leur paroi. Les mycoplasmes, bactéries dépourvues de parois présentent une résistance naturelle aux β -lactames, puisque le mode d'action de cette famille d'antibiotique consiste à inhiber la synthèse du peptidoglycane [73].

-1- La résistance acquise :

La résistance bactérienne acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparait au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme [74].

- Evolution des bactéries résistantes aux antibiotiques :

Les différents modes d'acquisition des résistances donnent une idée de la fréquence de leurs apparitions ainsi que des activités qui les favorisent. L'acquisition de la résistance par le transfert des gènes est celle qui présente la fréquence la plus élevée. Les résistances bactériennes acquises par mutation chromosomique concernent 10 à 20% des souches isolées en clinique [75].

La combinaison de ces deux modes se traduit par une augmentation de la fréquence des résistances. Comme le présente la Figure 7, certains auteurs ont observé une augmentation rapide de la fréquence d'apparition des *Staphylococcus aureus* producteurs de la pénicillinase dès les années 1945 [76].

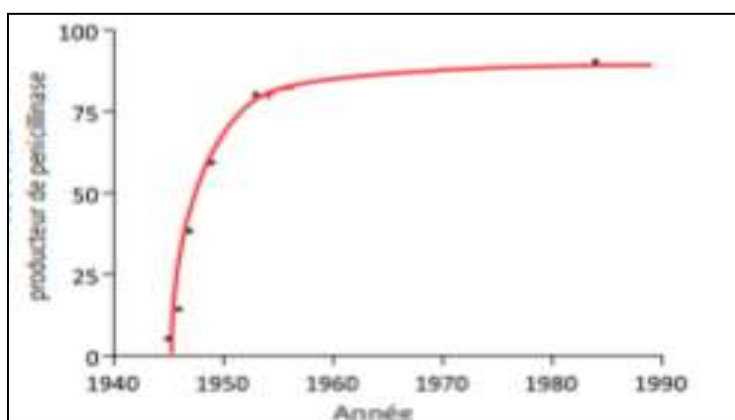


Figure (II-10): Croissance rapide de production de pénicillinase par *Staphylococcus aureus*

Chapitre III



Matériels et méthodes et discussion des résultats



III-1- Objectif :

Notre travail vise en particulier à étudier l'effet antibactérien des composés bioactifs du *Thymus vulgaris* extrait de la plante avec certains antibiotiques par usage des solvants à différentes polarités sur les germes suivantes :

Escherichia coli (TTC25922), *Pseudomonas aeruginosa* (TTC27853),*Staphylocoque aureus* (TTC25293),*Staphylocoque coagulasse* (TTC5118) *Klepsiella pneumonie* ,*Entérocoque faecale*

III-2- Matériel :**III-2-1- Matériels non biologique :**

le Matériel utilisé pour réaliser cette étude est résumée dans le tableau (III-1) suivant :

Tableau (III-1): liste des matériels non biologiques utilisés pendant la manipulation

Verreries et petits matériels	Appareils	Réactifs et produits chimiques
<ul style="list-style-type: none"> • Thermorabile. • Poire 500ml. • 4 Becher)1000 .500 . 200 .100(ml. • Tube gradué 100 ml. • 4 Erlenmeyer 500 ml. • Pipette. • Pipette Pasteur. • Tubes à essai (Grande taille + petite taille). • Ballon 500 ml. • Suppression. • Boîtes de Pétri • Pincés stériles. • Fil métallique. • Réchaud Benzen. • Coton. • une paire de ciseaux. • Heure. • Bande adhésive. • Règle régulière. • Sacs en nylon transparent. • Feutre. • Papier filtre (N03)et(N01) • Feuille d'aluminium. • Fiches du CCM. • Comprimés antibiotiques • Comprimés d'extrait végétal. 	<ul style="list-style-type: none"> • Entraînement magnétique. • ROTA VAPEUR . • broyeur à lame de cuisine. • V. U . • Réfrigérateur . • Équilibre . • Four. 	<ul style="list-style-type: none"> • Methanol . • Éther. • Chloroforme . • Eau distillée • DMSO. • Solution de NaOH. • Solution de chlorure de potassium KCl. • Solution de chlorure de mercure HgCl. • HCl. • Acide sulfurique concentré H2SO4. • GEL Muller Hinton. • GEL LA GIAN . • GEL NITRIQUE . • Eau physiologique.

III-2-2- Matière végétale :

La matière végétale est constituée à partir des feuilles de la plante *Thymus vulgaris*, à été récolté d'une manière aléatoire dans une zone appelée Takhemaret - Frenda - qui est à environ 50 km de la ville de Tiaret du côté est, le 11/04/2019, après l'avoir nettoyé de la saleté collée là-bas avec de l'eau du robinet.

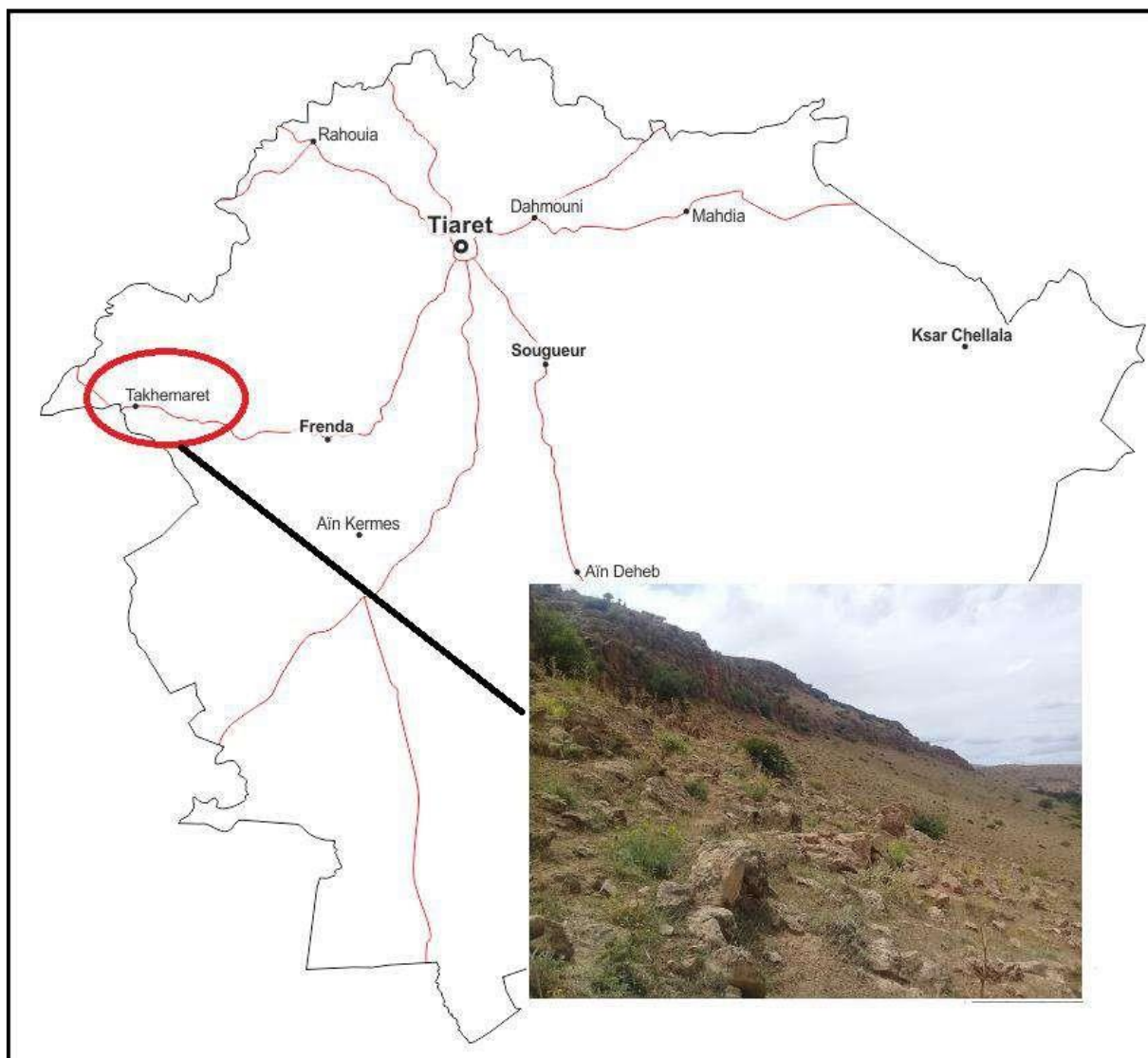


Figure (III-1): Zone de prélèvement de récolte de l'espèce T.Vulgaris

III-2-3- Traitements préliminaires du matériel végétal :

Après le processus de récolte vient le processus de séchage; Où les feuilles du thym sont étalées sur un sol recouvert de papier Blanc pendant deux mois, l'échantillon est retourné tous les deux jours, afin de ne pas pourrir car le lieu de séchage est à l'abri du soleil Et il contient

une ventilation, et exempt d'humidité, et c'est pour préserver la majeure partie de ses composés Et sans produits chimiques oxydants; Préservant ainsi ses propriétés cicatrisantes.

Les échantillons séchés ont été enfin broyés dans un broyeur à lame de cuisine puis mis dans des bocaux hermétiques et conservés à sec (température ambiante) et à l'abri de l'humidité.



Figure (III-2): La Matière végétal sèche.

III-2-4- Détection chimique de certaines substances actives dans les feuilles du T.Vulgaris :

Des méthodes certifiées ont été utilisées pour détecter les ingrédients actifs les plus importants dans les poudres sèches et molles de la plante.

III-2-4-a- détection des glycosides:

Le test a été réalisé en ajoutant 2 ml de réactif de Benedict à 1 g de poudre végétale placé dans un tube à essai, puis la solution a été bien agitée et placée dans un bain-marie bouillant pendant 5 jours puis le tube a été laissé refroidir.

L'apparition d'un précipité rouge indique la présence de glycosides.

III-2-4-b- Détection des phénols:

Ils ont été détectés en utilisant une solution de chlorure ferrique, préparée en dissolvant du chlorure ferrique dans 1% d'eau distillée.

Ce réactif donne une couleur verte ou bleue lorsqu'il est ajouté à la quantité de poudre végétale, dans le flacon de capacité contenant les composés phénoliques.

III-2-4-c- Détection des alcaloïdes :

Deux méthodes ont été utilisées pour effectuer cette détection, Ensuite les résultats ont été comparés :

- Réactif de Marquis qui donne la preuve grise de la présence d'alcaloïdes.
- Le réactif de Meyer, qui donne un précipité blanc, indique également la présence d'alcaloïdes.

III-2-4-d- Détection des terpènes et des stéroïdes:

Ajouter un peu de chloroforme à 1 g de poudre végétale, Ensuite, une goutte d'anhydride acétique y a été ajoutée. Et une goutte d'acide sulfurique concentré, si une couleur brune apparaît, c'est une indication que l'extrait contient des terpènes. Et si le mélange a été laissé pendant un certain temps et qu'une couleur bleu foncé est apparue, cela indique que l'extrait de plante contient des stéroïdes.

III-2-4-e- Détection des résines:

La méthode a été utilisée pour détecter les résines. Il prend 1 g de poudre végétale, y ajoute 20 ml d'eau distillée acidifiée avec 4% de pois chiches HCl Le résultat positif est lu par l'apparition de turbidité.

III-2-4-f- Détection des saponines:

Préparez une solution aqueuse de 1 g de poudre végétale de plante sèche dans 10 ml d'eau distillée, Dans un tube à essai, puis agiter vigoureusement, jusqu'à ce qu'une mousse épaisse apparaisse, indiquant la présence de saponines pendant plusieurs minutes.

En ajoutant (1 - 3) ml de HgCl₂, à une concentration de 1%, à 5 mg de poudre végétale, et l'apparition du précipité blanc témoigne du test positif.

III-2-4-g- Détection des tanins:

Il a été détecté en faisant bouillir 10 g de poudre végétale dans 50 ml d'eau distillée, Ensuite, la solution a été filtrée et laissée à refroidir. Après cela, une solution de chlorure ferrique à 1% y a été ajoutée, car l'apparition d'un vert bleuâtre indique la présence de tanins.

III-2-4-h- Détection des flavones:

La solution de détection a été préparée en ajoutant (10) ml d'alcool éthylique à une concentration de 50% à ml10 d'une solution de chlorure de potassium KOH et à une concentration de 50% également, et en mélangeant des quantités égales de cette solution et de l'extrait de plante, l'apparition de la couleur jaune indique la présence de flavones.

III-2-4-i- Détection des Coumarines:

Mettez un peu d'extrait de plante dans un tube à essai de 1 g de plante sèche dans 10 ml d'eau distillée, Les tubes ont été recouverts d'un papier filtre humidifié avec une solution diluée de NaOH, et le tube a été placé dans un bain d'eau bouillante pendant quelques minutes. Ensuite, les papiers filtres ont été exposés à une source de rayons ultraviolets, car l'apparition d'une couleur vert verdâtre brillant indiquait la présence de coumarine.

III-2-4-j- Détection des huiles volatiles:

Prenant 10 ml d'extrait végétal et filtré, Après cela, j'ai saturé de papiers filtres, Et les rayons ultraviolets ont été montrés et le manque de couleur rose vif était une indication de l'absence d'huiles volatiles, et les résultats ont été résumés dans le tableau(III-2).

Tableau (III-2): Résultats de la détection chimique préliminaire de certaines substances actives dans les feuilles du thym

Composés efficaces	La présence de composés dans les feuilles du thym
Glycosides	+
Alkaloides	+
Phenols	+
Terpenes	+
Stroids	+
Resins	+
Saponines	+
Tannins	+
Flavones	+
Coumarines	+
Volatile Oils	-

(+) Présence de la substance active

(-) Absence de la substance active

III-3- Bactéries utilisées :

Nous avons utilisé six types de bactéries, dont quatre sont de référence, et deux d'entre elles sont isolées chez des patients:

- Les bactéries de référence sont:
 - ✓ *Escherichia coli* (TTC25922).
 - ✓ *Pseudomonas aeruginosa* (TTC 27853).
 - ✓ *Staphylocoque aureus* (TTC 25293).
 - ✓ *Coagulasse staphylocoque* (TTC 5118) .

- Bactéries isolées des patients:
 - ✓ Bactérie *Klepsiella pneumonie*.
 - ✓ Bactéries *Entérocoques fécales*.

Les 6 isolats bactériens ont été diagnostiqués et examinés dans le laboratoire de microbiologie de l'Institut Pasteur - Algérie.

III-3-1- Milieu de culture :

Le milieu de culture utilisé est: Muller Hinton (MH).

III-3- Antibiotiques :

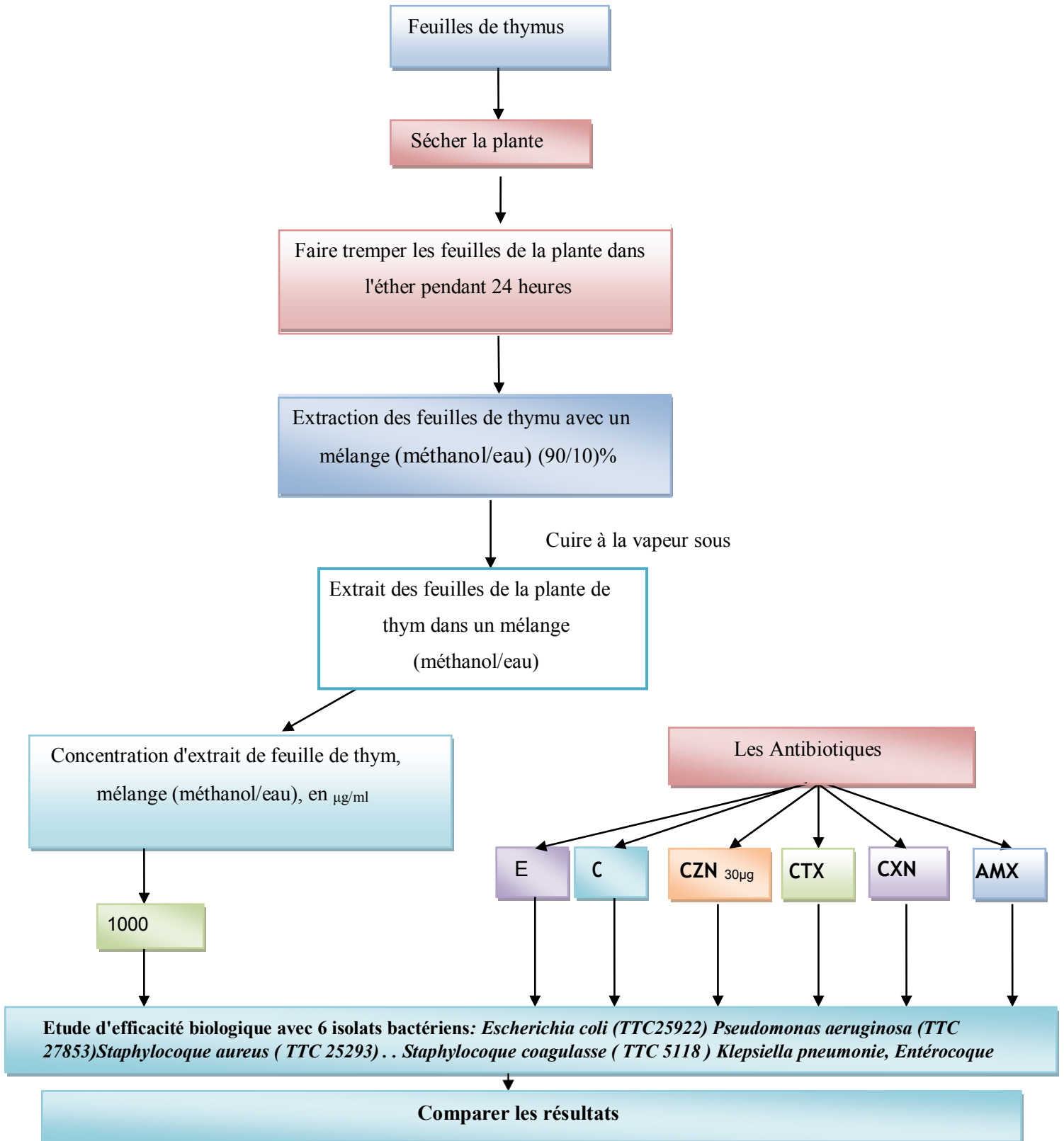
Afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), notamment pour comparer les zones inhibition un antibiotique de référence nous avons utilisé :

- Erythromycine (E_{15µg}) .
- Chloramphénicol (C_{30µg}) .
- Céfotaxime (CTX_{30µg}).
- Amoxicillin (AMX_{25µg}) .
- Cefazoline (CZN_{30µg}) .
- Cefalexine (CXN_{30µg}).

III-4- Méthodes expérimentales :

III-4- 1- Les étapes de travail

Toutes les étapes du travail expérimental concernant le traitement des feuilles de *T.Vulgaris* peuvent être résumées dans le schéma suivant:



Figure(III-3): plan de travail

III-4- 2- Extraction des composés bioactifs :

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs tels les polyphénols contenus dans la *Thymus vulgaris* on a opté pour l'utilisation d'une méthode [77]. Cette méthode d'extraction n'est qu'un procédé d'extraction discontinu solide-liquide par macération et qui consiste à laisser tremper le solide dans un solvant à température ambiante durant quelques temps et à extraire les constituants solubles par évaporation du solvant sous vide.

Donc 200 g de poudre de feuilles de thym ont été trempés dans de l'éther de pétrole pendant 24 heures; Afin de se débarrasser des graisses et de la chlorophylle, Après élimination de l'éther par filtration, séchage la poudre végétale est trempée dans un mélange (méthanol/eau) (90/10) , Laisser reposer 24 heures en secouant de temps en temps puis filtrer La bille est répétée 4 fois de suite jusqu'à épuisement de la totalité du principe actif, puis la solution obtenue est concentrée et séchée à l'évaporateur rotatif sous basse pression pour éliminer méthanol jusqu'à ce mélange constitue l'extrait brut à tester. La solution est été versée dans le flacon, numérotée et stocké à 4C°.



Figure (III-4): montre l'extraction du T.Vulgaris.

III-4- 3- Etude de l'activité biologique des feuilles de thym:

Nous préparons une solution d'extrait de mélange méthanol-eau à une concentration de 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Lorsque le DMSO était utilisé comme solvant, les propriétés biologiques que cet extrait pouvait porter ont été étudiées. Où nous avons étudié l'effet de cet extrait sur six types de bactéries nocives, et 6 isolats bactériens diagnostiqués ont été sélectionnés.

III-5- Méthode du travail :**III-5-1- Préparation des comprimés :**

Nous coupons le papier filtre (N03) sous forme de disques d'un diamètre de 5 mm Puis nous les mettons dans un tube à essai pour stérilisation à l'intérieur du four à une température de 130 ° C Pendant 45 minutes.

III-5-2- Préparation du milieu agricole :

Pour préparer les boîtes de Pétri à utiliser, le milieu Muller Hinton est utilisé ; Où il est dissous dans un milieu stérile et versé environ 20 ml dans chaque paquet. Le milieu est versé dans les bidons, avec un brûleur au benzène pour éviter que le milieu ne soit endommagé par des bactéries.

III-5-3- Préparation de la suspension bactérienne:

Nous prenons un butin bactérien à chaque fois, Et mettez-le dans un tube à essai contenant 10 ml d'eau physiologique, Ensuite, nous secouons, puis versons la solution dans des boîtes de Pétri et la laissons pendant une courte période, Ensuite, nous vidons la solution de la boîte et la laissons sécher pendant 5 minutes au four à une température de 37 ° C.

III-5-1- culture et couvain

Après nous être assurés que le plateau de Pétri est sec, nous distribuons les comprimés d'extrait de plante dans la boîte. J'ai donc utilisé des papiers filtres. (N03), Qui a été découpé en comprimés d'un diamètre de 5 mm puis stérilisés et saturés d'extraits de plantes de différentes concentrations, Et avec des pinces stériles, nous les distribuons dans la boîte, Sur la surface du milieu implanté en laissant des espaces adéquats entre eux, Nous la laissons pendant un court instant, après quoi nous la mettons au four pour une incubation à une

température de 37 ° C pendant une période de 24 heures, Et il est placé à l'envers pour ne pas endommager le support à cause de l'eau.

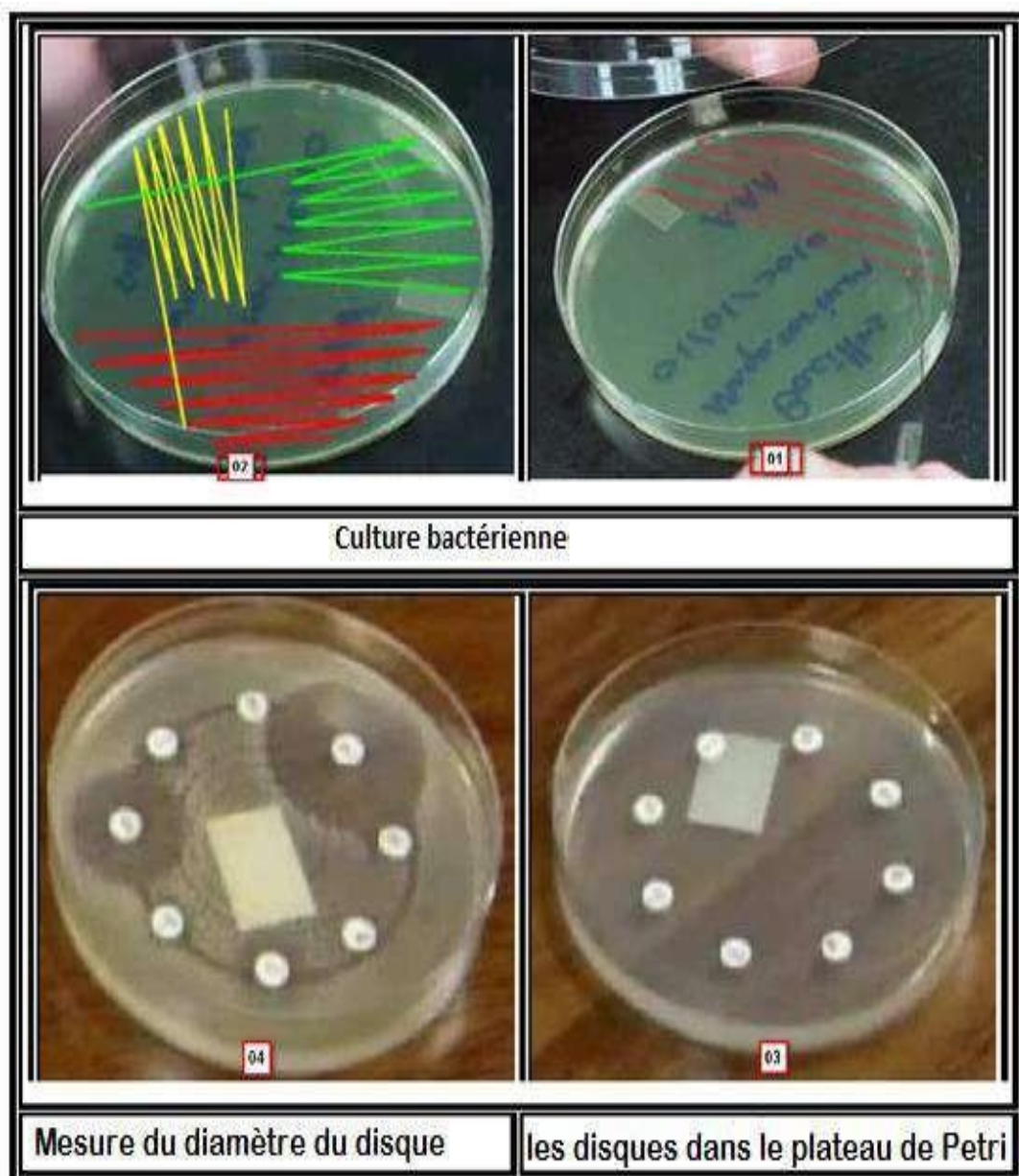


Figure (III-5): Comment préparer le milieu de culture pour la suspension bactérienne avec culture et couvain

L'étude a été réalisée selon la méthode de préparation Antibiogramme, C'est avec chaque type de bactérie étudié, et le diamètre de suppression (amortissement) a été mesuré autour des disques.

Tableau(III-3): Taux de diamètres d'inhibition pour différentes concentrations d'extrait (méthanol/eau) en µg/ml d'eau pour de feuilles de thym vis-à-vis des bactéries.

Les Concentrations Les bactéries		Diamètre de corrosion (en mm)					
		<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	<i>Staphylocoque aureus</i> (ATCC 25293)	<i>Staphylocoque coagulasse</i> (ATCC 5118)	<i>Klepsiella pneumoniae</i>	<i>Entérocoque faecale</i>
Extrait éthanol-eau (90/10)% en µg / ml	1000	14	18	16	12	15	10

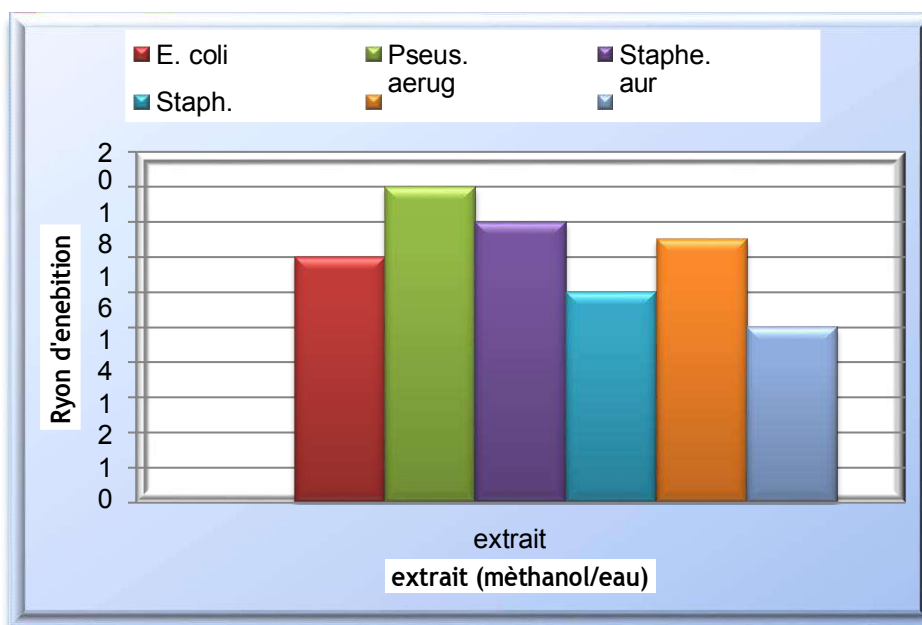


Figure (III-6): Taux de diamètres d'inhibition pour l'extrait (méthanol /eau) en µg / ml pour feuilles de *thymus* contre les bactéries.

III-6- Résultats:

Les résultats de la détection chimique préliminaire ont montré, Les feuilles de la plante de thym contiennent de nombreux ingrédients actifs Glycosides, phénols, terpènes, stéroïdes, résines, savons, flavones, coumarines et alcaloïdes, Qui est l'une des substances antibactériennes responsables de l'activité anti-microorganisme, Il contient également des flavonoïdes de toutes sortes, y compris des glycosides antioxydants, des phénols et du savon, Quant à la nature des extraits, qui se caractérisaient par une texture collante, les résultats ont montré que tous les types de bactéries étudiées étaient sensibles à l'extrait de feuilles de thym.

A partir le tableau (III-8) et la figure (III-6), le contraste clair de l'effet de la concentration de l'extrait en augmentant l'effet inhibiteur sur la croissance des bactéries. L'effet maximal de l'extrait méthanol-eau était de 18 mm avec des bactéries *Pseudomonas aeruginosa* À une concentration de 1000 µg / ml, l'effet minimum est de 10 mm avec des bactéries *Entérocoque faecale* L'efficacité de l'extrait de feuille de thym est due à l'effet de l'extrait sur la perméabilité de la membrane cellulaire Et sur le travail de la cellule bactérienne, l'efficacité de l'extrait de thym est due à la présence de phénols Qui a une activité inhibitrice sur les bactéries Gram-positives et Gram-négatives.

III-7- Etude de l'efficacité biologique des antibiotiques:

III-7- 1- Préparation du milieu agricole:

Pour préparer des boîtes de Pétri, le milieu Muller Hinton est utilisé. Où il est dissous dans un milieu stérile et versé environ 20 ml dans chaque bidon Le milieu est versé dans les bidons avec un brûleur au benzène pour éviter que le milieu ne soit détruit par les bactéries.

III-7- 2- Préparation de la suspension bactérienne:

Chaque fois que nous prenons une tige bactérienne et la plaçons dans un tube à essai de 10 ml d'eau physiologique Ensuite, nous secouons, puis versons la solution dans des boîtes de Pétri et la laissons pendant un court instant, puis vidons la solution de la boîte et laissons sécher pendant 5 minutes au four à une température de 37 ° C.

III-7- 3- culture et couvain

Après vous être assuré que le plateau de Petri est sec, placez les comprimés d'antibiotique, à l'aide de pinces stériles, sur la surface du milieu implanté. Puis distribué dans la boîte, en

laissant des espaces appropriés entre eux . Les boîtes sont incubées à 37 ° C.

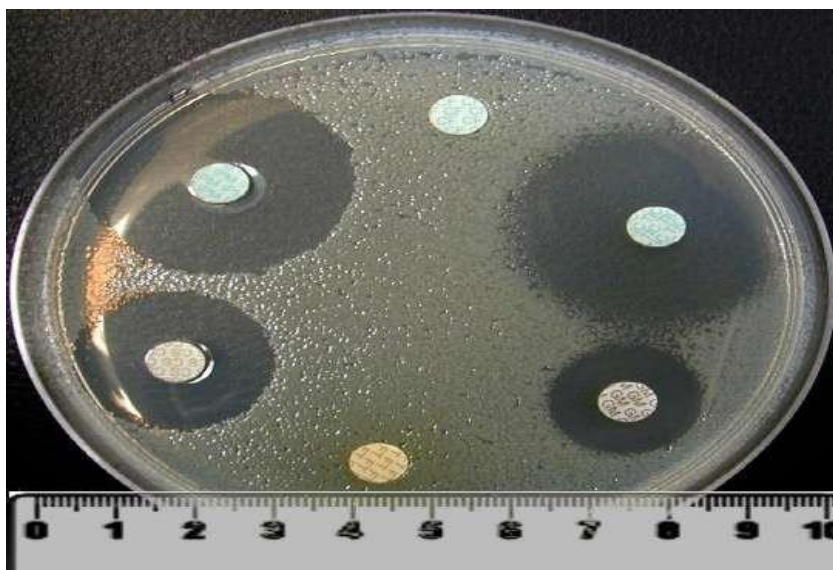


Figure (III-7): Comment mesurer le diamètre de la zone d'inhibition autour des comprimés d'antibiotiques avec une règle

Le diamètre de la zone d'inhibition autour des comprimés d'antibiotique a été mesuré en mm au moyen d'une règle standard et les résultats sont enregistrés dans le tableau (III-4).

Tableau (III-4): Taux de diamètres d'inhibition antibiotique (en mm) contre les bactéries

Les antibiotiques Les bactéries	Rayon de corrosion (en mm)					
	Escherichia coli (ATCC 25922)	Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853)	Staphylocoque aureus (ATCC 25293)	Staphylocoque coagulasse (ATCC 5118)	Klepsiella pneumonie	Entérocoque faecale
E 15µg	–	–	26	–	–	–
C 30µg	29	–	23	28	23	11
CTX 30µg	30	20	25	24	27	–
CZN 30µg	29	–	26	–	22	15
CXN 30µg	24	–	27	–	26	–
AMX 25µg	27	–	30	–	15	28

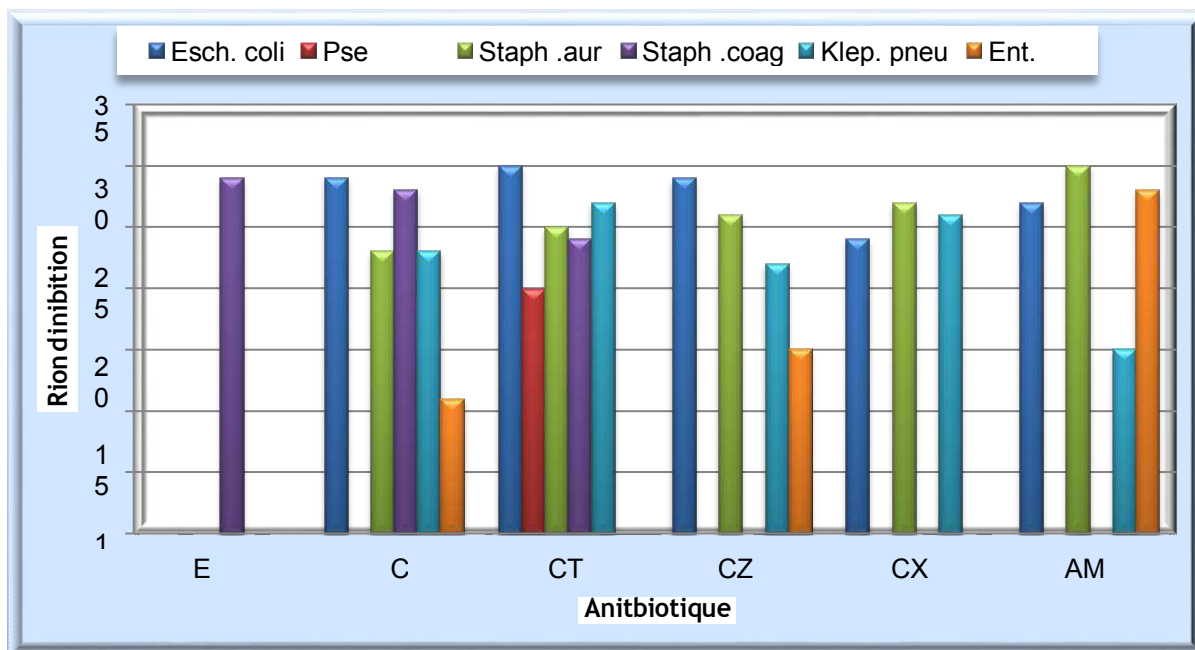


Figure (III-8): Taux de diamètres d'inhibition antibiotique (en mm) contre les bactéries.

III-8- Résultats:

Le tableau (III-4) montre les taux de diamètres d'inhibition pour 06 antibiotiques pour la croissance de six espèces bactériennes. L'étude a montré que les bactéries utilisées étaient 83,33% sensibles à (CTX_{30µg}) et (C_{30µg}), Le taux de sensibilité de 66,66% aux antibiotiques (AMX_{25µg}) (CZN_{30µg}), le rapport de sensibilité de 50% à l'antibiotique (CXN_{30µg}), et le rapport de sensibilité de 16,83% à l'antibiotique (E_{15µg}).

III-9- Résultats généraux:

En comparant les résultats des tableaux (III-9) et (III-8) pour les taux de diamètres d'inhibition de la croissance bactérienne à l'extrait méthanol-eau de feuilles de thym et aux antibiotiques, on trouve:

Tous les isolats bactériens étudiés ont montré leur sensibilité à l'extrait (méthanol/eau) de feuilles de thym à des taux compris entre 10 et 18 mm. Contrairement aux antibiotiques qui ont montré leur efficacité contre certains isolats bactériens uniquement, par exemple,

l'anti-E 15µg n'a touché que le *Staphylocoque aureus* avec un taux de 26 mm.

Les antibiotiques ont montré des taux élevés contre certains isolats bactériens par rapport à l'extrait méthanol-eau de feuilles de thym. Les taux d'inhibition de la croissance bactérienne vers les antibiotiques variaient entre 00 et 30 mm.

Le taux d'effet le plus élevé pour un extrait méthanol-eau de feuilles de thym était de 18 mm contre *Pseudomonas aeruginosa*.

Le taux d'efficacité le plus élevé pour les antibiotiques était pour le CTX _{30µg} de 30 mm de diamètre contre *Escherichia coli*.

L'extrait (méthanol/eau) de feuilles de thym affecte tous les isolats bactériens, comme pour les antibiotiques, il existe une sorte de sélectivité dans le type bactérien.

À l'avenir, nous essaierons de savoir dans quelle mesure la combinaison d'extrait (méthanol/eau) de feuilles de thym avec des antibiotiques est efficace et s'il existe un effet synergique entre les composés de l'extrait et le type de l'antibiotique.

Conclusion

Conclusion :

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété de composés phénoliques et des huiles essentielles auxquelles on attribue un pouvoir inhibiteur des microorganismes et des capacités antibactérien et antioxydantes.

Dans le présent travail, nous nous intéressons aux effets antimicrobiens d'un extrait méthanolique du feuilles de la plante *Thymus vulgaris* qui Il est largement utilisé en médecine traditionnelle à travers le monde , et le compare à certains antibiotiques.

Certaines substances actives ont été détectées dans les feuilles de thym, qui font partie des substances antibactériennes responsables de l'activité anti-micro-organismes, et elles contiennent des flavonoïdes de toutes sortes, y compris des glycosides antioxydants, des phénols et des savons, qui se caractérisent par leur texture collante, et les résultats ont montré que toutes les bactéries étudiées étaient sensibles à l'extrait de feuilles de thym.

L'extrait brut de *Thymus vulgaris* a été testé in vitro par méthode Pour la propagation à partir d'un disque dur, pour son pouvoir inhibiteur contre un groupe de Bactéries pathogènes: Quatre d'entre elles sont de référence (*ATCC 25922*), (*ATCC 27853*), (*ATCC 25293*), (*ATCC 5118*) et deux d'entre elles ont été isolées chez des patients , *Klepsiella pneumonie* et Entérocoque , Où l'extrait de la plante de thym a montré une réaction positive avec la plupart des bactéries testées .

Nos résultats préliminaires montrent que notre extrait brut testé montre une efficacité Antimicrobiens en laboratoire. Cependant, des études plus approfondies sont nécessaires.

Références bibliographiques

- [1]-Majinda R.R.T., Abegaz B.M., Bezabih M. et autres (2001) Resent resultants from naturel product research at the university of Botswana, Pure. Appl. Chem. 73 (7) : 1197-1208.
- [2]- yakhlef ghania etude de l'activite biogique des extraits de feullies de Thymus vulgaris L. ET Laurus nobilis L
- [3]- OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 1998, Réglementation des médicaments à base de plantes : La situation dans le monde. WHO/TRM/98.1, Genève, Suisse, 65p
- [4]- Kirby, G.C. (1996). Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 90 605-609
- [5]-Clark, A.M. (1996). Pharmacol. Res, 13.
- [6]-Cowan M. J. 1999 Plants products as microbial agents. Clin microbiol rev, , 12: 564-582.
- [7]- kahlouche-riachi foulla evaluation chimique et activite antibacterienne de quelques plantes medicinales d'algerie
- [8]- Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne
- [9]-Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D. et Guo Z. 1986. Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé., 64 (2) : 159-164.
- [10]- Elqaj M., Ahami A. et Belghyti D. 2007. La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc
- [11]- S.GAHBICHE, 2009, la phytothérapies, école supérieure des sciences et techniques de la sante de sousse.
- [12]- Z.MOHAMMEDI, 2013, étude phytochimique et activités biologiques de quelques plant médicinales de la région nord et sud ouest de l'Algérie, thèse, université de Tlemcen. p22
- [13]- Gurib-Fakimm A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of Tomorrow. Molecular Aspects of Medicine, 27, 1-93p.
- [14]- Bourrel, C. (1993). Analyse chimique, activités biologiques et antioxydant d'extraits de plantes aromatiques sélectionnées. Thèse de doctorat en Sciences des Agro ressources, Université de Toulouse, France.
- [15]-Merghem, R. (2009). Eléments de biochimie végétale (16). Ed, Bahaeddine. Algérie.

- [16]-Hopkins, W.G. (2003). Assimilation du carbone et productivité, (2^e éd). (R, Sarge, Trad.). Ed: de boeck université.
- [17]-Raven, H., Evert, R.F., et Eichhorn S.E. (2000). Biologie végétale (6^e éd). (B. Jules., et M. Charles, Trad.). Paris.
- [18]-Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G. (2000). Naturel products (Secondary metabolites). *Biochemistry & Molecular Biologie of plants*. 1250-1318.
- [19]- Hartmann, T. (2007). From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. 68, 2831–2846.
- [20]-Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., & Curini, M. (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*, 68(7), 939- 953.
- [21]-Bruneton J. 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^eme Edition, lavoisier. Paris.
- [22]-Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie-Plantes médicinales (3^e éd). Paris: Techniques et documentations.
- [23]-Macheix JJ, Fleuriet A, Jay-Allemand C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne.
- [24]- Bruneton J. 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^eme Edition, lavoisier. Paris
- [25]-Mekkiou R and benayache F. 2005. Recherche et détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre Genista (Fabaceae) : G. saharae, G ferox. Thèse Doctorat, Université Mentouri- Constantine.
- [26]-Brossi A and Suffness M, 1990. The alkaloids- antitumor bisindoles from *Caiharanthus roseus* L. academic press, San Diego, Vol 37.
- [27]-Badiaga M. 2011. Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako.
- [28]-Badiaga M. 2011. Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako.
- [29]- Rakotonanahary M. 2012. Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie • diplôme d'état. Université Joseph Fourier: 16, 19, 27, 28.
- [30]-Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie-Plantes médicinales (3^e éd). Paris: Techniques et documentations.

- [31]-Nacoulma, A.P. (2012). Reprogrammation métabolique induite dans les tissus hyperplasiques formés chez le tabac infecté par *Rhodococcus fascians*: aspects fondamentaux et applications potentielles. Thèse de Doctorat en Sciences Pharmaceutiques. Université Libre de Bruxelles Europe. Belgique.
- [32]-Nait Said, N. (2007). Etude phytochimique des extraits chloroformique des plants "Pituranthos chloranthus" et "Marrubium vulgare". Mémoire de magister en chimie organique, Université de El Hadj Lakhdar, Batna.
- [33]-Langenheim JH. 1994. Higher plant terpenoids: a phyto-centric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology*. 20: 1223-1280.
- [34]- Eder B, Walmir SG, Lidilhone H, Caroline T, Fernanda RG. 2008. Bioactive Pentacyclic• Triterpenes from the Stems of *Combretum laxum*. *Molecules*. 13: 2717-2728.
- [35]-Singh, G. (2007). *Chemistry of terpenoids and carotenoids*. 1er Ed. Discovery: India.
- [36]-Naghbi F., Mosaddegh M., Mohammadimotamed M., Ghorbani A. (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2: 63-79.
- [37]- Couplan F. (2000). Dictionnaire étymologie de botanique. Nestlé (ed.). Luisane. Paris. P. 283.
- [38]-Gherman C, Culea M, Cozar O-Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS-Talanta; 2000, Vol. 53; PP 253-262
- [39]- Harley R.M., Atkins S., Budantsev A., Cantino P.H., Conn B., Grayer R., Harley M.M., Kok R., Krestovskaja T., Morales A., Paton A.J., Ryding O., Upson T, ,labiatae. In: Kadereit, J.W. 2004, *The families and genera of vascular plants* (Kubitzki, K: ed). Volume 7, p 167-275
- [40]-Miller R.E, McConville M.J, Woodrow I.E-Cyanogenic glycosides from the rare Australian endemic rainforest tree *Clerodendrum grayi* (Lamiaceae)-Phytochemistry; 2006, Vol. 67; pp 43-51.
- [41]-Miller R.E, McConville M.J, Woodrow I.E-Cyanogenic glycosides from the rare Australian endemic rainforest tree *Clerodendrum grayi* (Lamiaceae)-Phytochemistry; 2006, Vol. 67; pp 43-51
- [42]-Morales, R. (2002), the history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In: *Thyme: the genus Thymus*. Ed. Taylor & Francis, London. pp. 1-43.
- [43]-Pariante L. (2001) Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2 ème Ed. Académie nationale de pharmacie. Paris 1643 p
- [44]-Iserin P. Vican P, 2001, Encyclopédie des plantes médicinales/ Identification, préparations, soins. Larousse édition, Paris, 335

- [45].Prasanth, R, Ravi, V.K, Varsha, P.V, Satyam S. 2014; Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties. *Med Aromat Plants*. 3 (4):13.
- [46]-Eberhard T, Robert A , Annelise I. 2005 *Plantes aromatiques* p 475-480
- [47]-Adwan G., Abu-Shanab B., Adwan K., Abu-Shanab F. (2009) Antibacterial effects of Nutraceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa* *Turk. J. Biol.* 30 : 239-242.
- [48]- Bruneton J. (1999) *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*. 3 ème Ed Tec&Doc. Paris.
- [49]- Kitajima J., Ishikawa T., Urabe A., Satoh M. (2004) Monoterpenoids and their glycosides from the leaf of thyme. *Phytochemistry*. 65 : 3279-3287.
- [50]- Poletti A. (1988) *Fleurs et plantes médicinales*. 2 ème Ed. Delachaux & Nistlé S. A. Suisse. Pp : 103 et 131. Quezel P. et Santa S. (1962) *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* Ed C.N.R.S. Tome I. 565 p.
- [51]- Özcan M., J.-C. Chalchat (2004) Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. Growing Wild in Turkey. *Bulg. J. Plant Physiol.* 30 (4) : 68-73.
- [52]- Balladin D.A; Headley, O. (1999). Evaluation of solar dried thyme (*Thymus vulgaris* Linné) herlos. *Renewable Energy*. 17: 523-531.
- [53]-Amiot J. (2005) *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaire. Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de montpellier.
- [54]- yakhlef ghania etude de l'activite biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. ET *Laurus nobilis* L
- [55]- Bouhdid S., Idaomar, M. ; Zhiri, A.; Bouhdid, D.; Skali, N. S. ; Abrini, J. (2006) *Thymus* essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès International de biochimies*, Agadir. 324-327.
- [56]-Kulisic T., Radonic A., Milos M, 2005, Antioxidant properties of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) essential oils. *Italian J. Food Sci*, 17(3), 1-10p
- [57]-Mabberley D.J, 1997, *the plant-book: A portable dictionary of the vascular plants*. Cambridge University Press, 858p
- [58]-Morales R, 1997, Synopsis of the genus *Thymus* L. in the Mediterranean area. *Lagascalia*, 19(1- 2), 249-262p
- [59].Peter K.V, 2004, *Handbook of herbs and spices*. Elsevier, 376p

- [60]-Wilson R, 2002, Aromatherapy: Essential oils for vibrant health and beauty. Penguin edition , 340p
- [61]-Raghavan S, 2006, Handbook of spices, seasonings, and flavorings. 2 nd edition, CRC Press, 330p
- [62]-Quezel P., Santa S, 1962, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, Paris, 636p
- [63]-Khadir. A, Bendahou. M., Benbelaid, F. Abdoune, M.A. Abdelouahid D.E. Pouvoir antimicrobien de *Thymus lanceolatus* Desf., récolté en Algérie othérapie © Springer-Verlag France 2013
- [64]-Cowan, M.M, 1999, Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev, 12(4), 564- 582
- [65]-CMIT – Collège des Universitaires de maladies Infectieuses et Tropicales. Antiinfectieux – Antibiotiques chapitre 5. In E. Pilly : Vivactis Plus Ed ; 2006 : pp 44-104.
- [66]- Thèse de doctorat Diversité phénotypique et adaptation chez *Escherichia coli* étudiées en millifluidique digitale Présentée par denis cottinet 11 décembre 2013
- [67]- Micro-organismes et parasites des viandes : les connaître pour les maîtriser, de l'éleveur au consommateur. Cahier Sécurité des Aliments.
- [68]- JP. Flandrois. Bactériologie Médicale. Coll Azay. Puf. 2000.
- [69]- Heart T. Shears P. Atlas de poche de microbiologie. Médecine-Sciences-Flammarion. 2006.
- [70]- Classification Des Antibiotiques Dr S.Inouri Service des maladies infectieuses / HMRUC
- [71]- Abraham, E. P. and E. Chain (1940). "An enzyme from bacteria able to destroy penicillin." Nature 146: 837.
- [72]- Courvalin, P., F. Denis, M.-C. Ploy, M. P. d. garilhe, P. Trieu-Culot and Universalis. (2001). "Antibiotiques." Retrieved 24 mai, 2013, from <http://www.universalisedu.com/encyclopedie/antibiotiques/>.
- [73]- Normak, H. B. and S. Normak (2002). "Evolution and spread of antibiotic resistance." Journal of Internal Medicine 252: 91-106.
- [74]- Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides* Thèse
2013 présentée par Jean-Luc Aboya MOROH

[75]- Courvalin, P., F. Denis, M.-C. Ploy, M. P. d. garilhe, P. Trieu-Culot and Universalis. (2001). "Antibiotiques." Retrieved 24 mai, 2013, from <http://www.universalisedu.com/encyclopedie/antibiotiques/>.

[76]- Bush, K. (1997). The evolution of β -lactamases. in Antibiotic resistance: origins, evolution, selection, and spread, John Wiley and son, chichester. 207: 152–166.

Bush, K. (2004). "Antibacterial drug discovery in the 21st century." *Clinical Microbiology and Infection* 10: 10-17.

Barber, M. (1947). "Coagulase-positive Staphylococci resistant to penicillin." *The Journal of Pathology*. 59: 373-384.

[77]-Sultana, B., F. Anwar and M. Ashraf, 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*., 14: 2167-2180.

Liste des sites

[1] : <http://andre.ar.free.fr/antibiotiques.pdf> consulté 16 /07/2020 à 14 :28h

[2] : <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/microbiologie/bacteriologie/la-resistance-aux-antibiotiques>

[3] : <https://www.antibio-responsable.fr/>

Annexe

Étapes de Préparation des milieux de culture et les disques antibiotiques



1)-Boîtes de Pétri vides



2)-Muller Hinton



3)-Préparation des milieux de culture



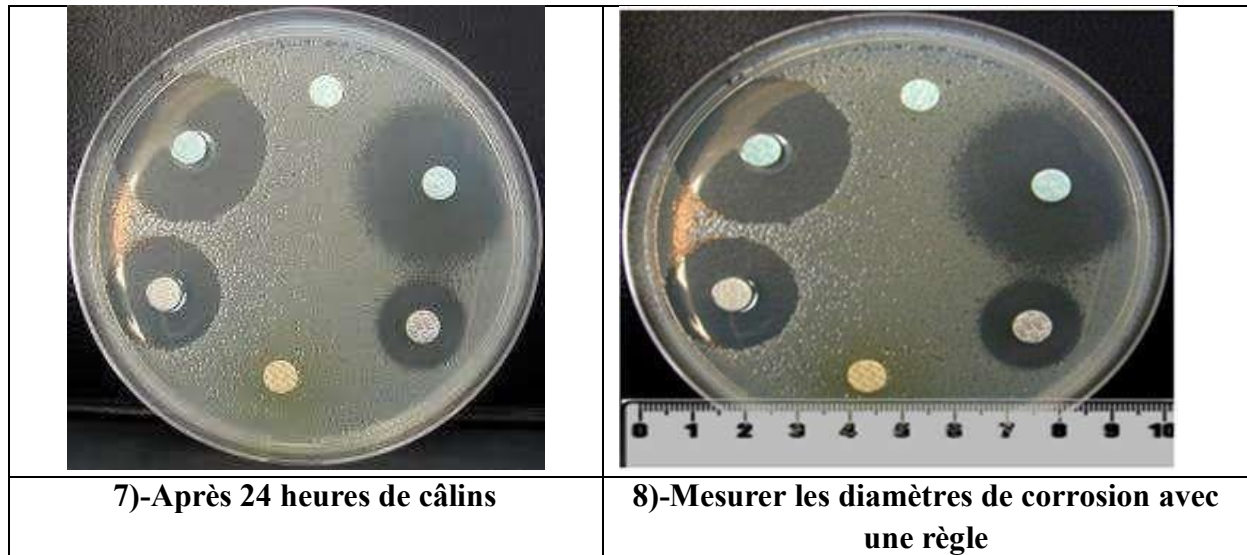
4)-Laisser refroidir pendant 24 heures



5)-Préparation de la suspension Bactérienne



6)-L'incubation (Câlins)



La plupart des disques d'antibiotiques utilisés dans le procédé Antibiogramme sont fabriqués par la société franco-allemande Bio-Rad






	CHARGE DU DISQUE	SYMBOLE	CONDITIONNEMENT	CODE PRODUIT
Amikacin	30 µg	AN	4 x 50 Disques	66148
Amoxicillin	25 µg	AMX	4 x 50 Disques	66138
Amoxicillin + Clavulanic Acid	20 + 10 µg	AMC	4 x 50 Disques	66178
Ampicillin	2 µg	AMN 2	4 x 50 Disques	67288
	10 µg	AM	4 x 50 Disques	66128
Ampicillin + Sulbactam	10 + 10 µg	SAM	4 x 50 Disques	67018
Azithromycin	15 µg	AZM	4 x 50 Disques	67008
Aztreonam	30 µg	ATM	4 x 50 Disques	66928
Bacitracin	130 µg / 10 UI	B	4 x 50 Disques	66158
Carbenicillin	100 µg	CB 100	4 x 50 Disques	66198
Cefaclor	30 µg	CEC 30	4 x 50 Disques	67498
Cefalexin	30 µg	CN	4 x 50 Disques	66208
Cefamandole	30 µg	MA	4 x 50 Disques	66238
Cefazolin	30 µg	CZ	4 x 50 Disques	66258
Cefepime	30 µg	FEP	4 x 50 Disques	66098
Cefixime	5 µg	CFM 5	4 x 50 Disques	67588
	10 µg	CFM 10	4 x 50 Disques	66418
Cefoperazone	75 µg	CFP 75	4 x 50 Disques	67618
	30 µg	CFP 30	4 x 50 Disques	66298
Cefoperazone + Sulbactam	75 + 30 µg	SCF 105	4 x 50 Disques	66734
Cefotaxime	5 µg	CTX 5	4 x 50 Disques	67718
	30 µg	CTX	4 x 50 Disques	66368
Cefotetan	30 µg	CTT	4 x 50 Disques	66428
Cefoxitin	30 µg	FOX	4 x 50 Disques	66228
Cefpirome	30 µg	CPO	4 x 50 Disques	66468
Cefpodoxime	10 µg	CPD	4 x 50 Disques	66918
Cefprozil	30 µg	CPR	4 x 50 Disques	66488
Cefsulodin	30 µg	CFS	4 x 50 Disques	66938
Ceftazidime	10 µg	CTZ 10	4 x 50 Disques	67298
	30 µg	CAZ	4 x 50 Disques	66308
Ceftibuten	30 µg	CTB 30	4 x 50 Disques	67638

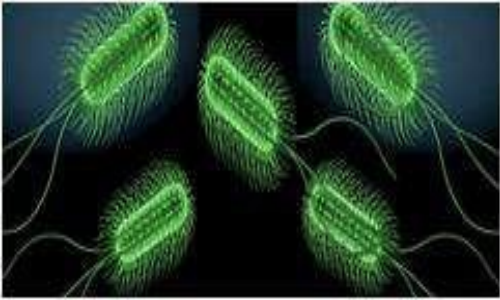
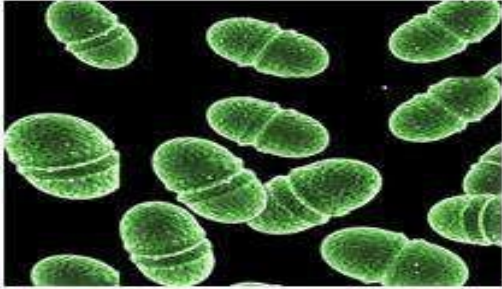
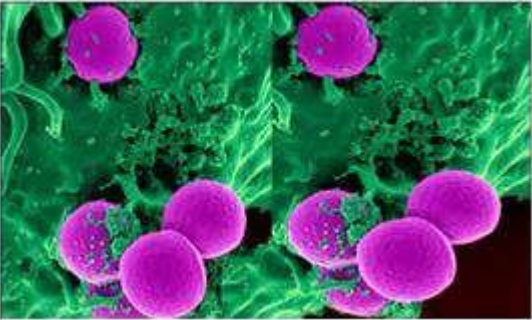
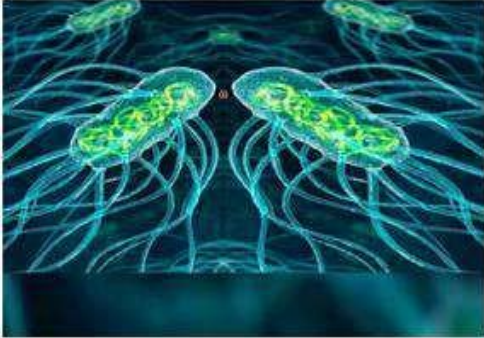

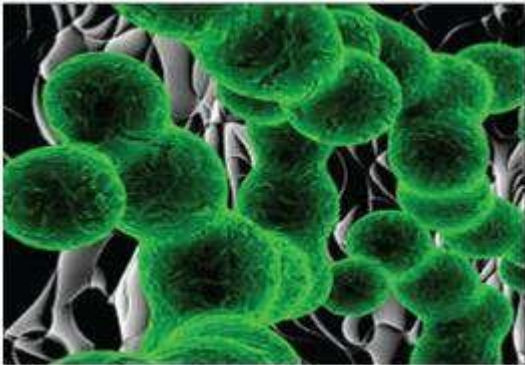
Ceftriaxone	30 µg	CRO	4 x 50 Disques	66188
Cefuroxime	30 µg	CXM	4 x 50 Disques	66358
Cephalotin	30 µg	CF	4 x 50 Disques	66218
Chloramphenicol	30 µg	C	4 x 50 Disques	66278
Ciprofloxacin	5 µg	CIP	4 x 50 Disques	68648
Clarithromycin	15 µg	CLR	4 x 50 Disques	67058
Clindamycin	2 µg	CM	4 x 50 Disques	66328
Colistin	10 µg	CS 10	4 x 50 Disques	67268
	50 µg	CS 50	4 x 50 Disques	66348
Doripenem	10 µg	DORI 10	4 x 50 Disques	67348
Doxycycline	30 µg	DO	4 x 50 Disques	66388
Ertapenem	10 µg	ETP 10	4 x 50 Disques	67518
Erythromycin	15 µg	E	4 x 50 Disques	66448
Flumequine	30 µg	UB	4 x 50 Disques	68918
Fosfomicin	50 µg	FOS 50	4 x 50 Disques	66458
	200 µg	FOS 200	4 x 50 Disques	67658
Fusidic Acid	10 µg	FA	4 x 50 Disques	66518
Gentamicin	10 µg	GM	4 x 50 Disques	66608
	15 µg / 10 UI	GM	4 x 50 Disques	66548
	30 µg	GME 30	4 x 50 Disques	67318
Gentamicin (high load)	120 µg	GEN 120	4 x 50 Disques	67598
	500 µg	GEN 500	4 x 50 Disques	66578
Imipenem	10 µg	IPM	4 x 50 Disques	66568
Isepamicin	30 µg	ISP	4 x 50 Disques	66838
Kanamycin	30 µg	K	4 x 50 Disques	66618
Kanamycin (high load)	1mg	KAN	4 x 50 Disques	66628
Levofloxacin	5 µg	LVX	4 x 50 Disques	66858
Lincomycin	15 µg	L	4 x 50 Disques	66678
Linezolid	10 µg	LZD 10	4 x 50 Disques	67878
Linezolid	30 µg	LZD 30	4 x 50 Disques	67388
Mecillinam	10 µg	MEC	4 x 50 Disques	66768
Meropenem	10 µg	MEM	4 x 50 Disques	67048
Metronidazole	4 µg	MTR	4 x 50 Disques	68908
Mezlocillin	75 µg	MZ	4 x 50 Disques	66708
Minocycline	30 µg	MNO	4 x 50 Disques	66728
Moxalactam	30 µg	MOX	4 x 50 Disques	66698
Moxifloxacin	5 µg	MXF 5	4 x 50 Disques	67098
Mupirocin	5 µg	MUP	4 x 50 Disques	67088
Nalidixic Acid	30 µg	NA	4 x 50 Disques	68618
Neomycin	30 UI	N	4 x 50 Disques	66748
Netilmicin	10 µg	NET 10	4 x 50 Disques	67798
	30 µg	NET	4 x 50 Disques	66758
Nitrofurantoin	100 µg	NIF 100	4 x 50 Disques	67328
Nitrofurantoin	300 µg	FT	4 x 50 Disques	68678
Nitroxolin	20 µg	NI	4 x 50 Disques	68778
Norfloxacin	10 µg	NOR 10	4 x 50 Disques	66338
	5 µg	NOR 5	4 x 50 Disques	68238
Ofloxacin	5 µg	OFX	4 x 50 Disques	68938
Oxacillin	1 µg	OX1	4 x 50 Disques	66888
	5 µg	OX	4 x 50 Disques	66848
Oxolinic Acid	10 µg	OA	4 x 50 Disques	68628
Pefloxacin	5 µg	PEF	4 x 50 Disques	68228
Penicillin	1 IU	P 1	4 x 50 Disques	67788
	6 µg / 10 IU	P	4 x 50 Disques	67218
Pipemidic Acid	20 µg	PI	4 x 50 Disques	68638
Piperacillin	30 µg	PIL 30	4 x 50 Disques	68478
	75 µg	PIP 75	4 x 50 Disques	67258
	100 µg	PIP 100	4 x 50 Disques	67228
Piperacillin + Tazobactam	30 + 6 µg	PTZ 36	4 x 50 Disques	67338
	75 + 10 µg	TZP 85	4 x 50 Disques	66498
	100 + 10 µg	TZP 110	4 x 50 Disques	67238
Polymixin	50 µg / 300 UI	PB	4 x 50 Disques	67248
Pristinamycin	15 µg	PT	4 x 50 Disques	67278
Quinupristin-Dalfopristin	15 µg	QD 15	4 x 50 Disques	67528
Rifampicin	5 µg	RA 5	4 x 50 Disques	66648
	30 µg	RA 30	4 x 50 Disques	67308







Sparfloxacin	5 µg	SPX	4 x 50 Disques	66538
Spectinomycin	100 µg	SPT	4 x 50 Disques	68798
Spiramycin	100 µg	SP	4 x 50 Disques	67378
Streptomycin	10 µg	S	4 x 50 Disques	67418
Streptomycin (high load)	300 µg	STR 300	4 x 50 Disques	67608
	500 µg	STR 500	4 x 50 Disques	67428
Sulfonamides	300 µg	SSS 300	4 x 50 Disques	67578
	200 µg	SSS 200	4 x 50 Disques	68408
Teicoplanin	30 µg	TEC	4 x 50 Disques	68948
Telithromycin	15 µg	TEL 15	4 x 50 Disques	67538
Tetracycline	30 µg	TE	4 x 50 Disques	67448
Ticarcillin	75 µg	TIC	4 x 50 Disques	67458
Ticarcillin + Clavulanic Acid	75 + 10 µg	TCC	4 x 50 Disques	67468
Tigecycline	15 µg	TGC 15	4 x 50 Disques	67398
Tobramycin	10 µg	TM	4 x 50 Disques	67488
	30 µg	TOB 30	4 x 50 Disques	67358
Trimethoprim + Sulfamethoxazole	1.25 + 23.75 µg	SXT	4 x 50 Disques	68898
Trimethoprim	5 µg	TMP	4 x 50 Disques	68888
Vancomycin	5 µg	VA 5	4 x 50 Disques	67828
	30 µg	VA	4 x 50 Disques	68928









BIO-RAD

Antibiotiques utilisés au travail

	
Erythromycine (E_{15µg}) .	Chloramphénicol (C_{30µg})
	
Céfotaxime (CTX_{30µg})	Cefazoline (CZN_{30µg}) .
	
Amoxicillin (AMX_{25µg})	Cefalexine (CXN_{30µg}) .

Échantillons bactériens utilisés dans le travail	
	
<i>Escherichia coli</i>	<i>Entérocoques fécales</i>
	
<i>Staphylocoque aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	
<i>Klebsiella pneumonie</i>	<i>staphylocoque Coagulasse</i>

Solvants utilisés dans le travail	
	
Éther de pétrole	Chloroforme
	
Méthanol	Eau distillée
	
DMSO	Eau physiologique

Étapes de la préparation de l'extrait de <i>Thymus vulgaris</i>	
	
1)-Cueillir le semis	2)-Sécher l'échantillon
	
3)-Broyer l'échantillon	4)-Poids de l'échantillon
	
5)-Macération en (méthanol / eau) (90 / 10)	6)-L'extrait (méthanol / eau)
	
7)-Séchage par rota vapeur	8)-L'extrait est dissous dans le (DMSO)