

Université Abdelhamid
Ibn Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

N°...../SNV/2017

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Belmahi Loubna Samah et Fliti Abd El-karim

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN(BIOLOGIE)

Spécialité: Microbiologie fondamentale et appliquée

THÈME

**Effets antimicrobiens de l'extrait hydrométhanolique de
Thymus vulgaris (Thym) récolté dans la région de SETIF
sur la croissance des germes spécifiques du yaourt :
Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus bulgaricus***

Soutenue publiquement le/...../2017

DEVANT LE JURY

Président	AIT SAADA.D	M.C.A	Université Mostaganem
Encadreur	AIT CHABANE Ouiza	M.A.A	Université Mostaganem
Examineur	EKADA.D	PR.	Université Mostaganem
Invité:	HAROUNE	Doctorant	Université Mostaganem

Année Universitaire:2016/2017

Thème réalisé au Laboratoire de la faculté SNV-Université de Mostaganem



Remerciement

Au terme de ce travail, On tient à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.

J'ai l'honneur et le plaisir de présenter ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à Notre encadreur Mr AIT SAADA , pour sa précieuse aide, ces orientations et le temps qu'il m'a accordé pour mon encadrement.

Nous remercions par ailleurs vivement les membres du jury de nous avoir fait l'honneur de juger notre travail et d'assister à la soutenance.

Nous adressons nos sincères remerciements à Mme Houaria de nous avoir accueilli dans son laboratoire et pour la confiance et l'aide qu'il nous a accordé, ainsi que toute l'équipe du laboratoire d'ADE

Sont oublier tous les employés de la bibliothèque de l'ita pour leur aide et leur compréhension.

Finalement, nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire



Dédicace

*A mon très cher **père***

Pour m'avoir soutenu moralement et matériellement jusqu'à ce jour, pour son amour, Et ses encouragements. Que ce travail, soit pour vous, un faible témoignage de ma Profonde affection et tendresse. Qu'ALLAH le tout puissant te préserve, t'accorde Santé, bonheur et te protège de tout mal.

*A ma très chère **mère***

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études. Qu'ALLAH te protège et te donne la santé, le bonheur et longue vie.

*A mes frères **Aymen, Marouane et Anes** que j'aime tant*

Pour leur petit mot et leur soutien

*A **Ikram** une personne qui a une place spéciale dans mon cœur, une grande soeur, une amie Qui a été à mes côtés tous au long de cette année qui a partagé avec moi beaucoup de choses.*

*En particulier à mon binôme **Abd karim** un frère qui a toujours vieilli à me soutenir*

A tous la promo MFA que j'aime tant un par un .

Loubna





Dédicace

*A mon très cher **Père Mohamed***

Que Dieu te protège et t'accorde santé et longue vie

Je t'aime tellement t ...

*A ma très chère **mère***

Que Dieu te protège et t'accorde santé et longue vie tu m'a toujours soutenue

*A mes très chères sœur **nassima** et **amina** et mon frère **Abdelmalek** je vous souhaite tous le bonheur du monde*

*A mon binôme **loubna** pour tous les souvenirs pendant les années d'études ensemble surtout les deux dernières années tu as une place dans mon cœur,
Tes plus qu'une sœur*

Abdelakarim



Sommaire

Dédicace

Remerciement

Résumé

Abstract

Listes de abréviation

Liste des figures

Liste des tableaux

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Les Bactéries lactique

1- Introduction.....	3
2- Définition des bactéries lactiques	3
3- Caractéristiques générales.....	4
4- Habitat	5
5- Classification	5
5. 1- Lactobacilles	5
5. 1.1 -Lactobacilles homofermentaires	6
5. 1.2- Lactobacilles hétérofermentaires	6
5. 2.1- Homofermentaires.	6
5. 2.2- Hétérofermentaires.....	6
5- 2.3- Lactobacillace.	6
6- Propriétés métaboliques	7
6. 1.1- Transport du sucre.	7
6. 1.2- Catabolisme de sucre.	7
6. 1.2.1- Voies métaboliques centrales	7
6. 1.2.2- Voies métaboliques spécifiques des sucres	7
6. 1.2.3- Voies métaboliques en aval pyruvate	7
6. 1.3- Métabolisme de l'acide malique	8
6. 2- Métabolisme lipidique	8

7- Bactéries lactiques spécifiques du yaourt	8
7. 1- <i>Lactobacilles bulgaricus</i>	8
7. 2- <i>Streptococcus thermophilus</i>	9
8- Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques	10
8. 1- Exigences en acides aminés	10
8. 2- Exigences en vitamines	10
8. 3- Exigences en bases azotés	10
8. 4- Exigences en sels minéraux	11
8. 4.2- Manganèse (Mn++)	11
8. 4.3- Calcium (Ca ++)	11
8. 4.4- Sodium (Na++)	11
8. 4.5- Potassium (K+)	11
9- Rôle et intérêt des bactéries lactiques.....	11
9. 1- Domaine alimentaire.....	11
9. 1.1- Role sur la structure et la texture.....	11
9.1.2- Rôle dans la conservation.....	12
9.1.3- Rôle sur les caractéristiques organoleptiques.....	12
9.2 Domaine de santé	12
9.3- Les bactéries lactiques comme probiotiques.....	12
9.3.1- Rôle des probiotiques	12
10- Caractères bio industriels des bactéries lactiques.....	13

II. Le thymus vulgaris (Le thym)

1- Généralité.....	14
2- Présentation et origine	14
3- Historique	15
4- Classification.....	16
5- Description botanique	16
6- Répartition géographique	16
7- Composition chimique	17
8- Principes actifs du thym.....	18

9- Utilisation.....	18
10- Propriétés du thym.....	19
11- Propriétés pharmacologiques et recherche en cours	19
11. 1- Effet antioxydants	19
11. 2- Effet antimicrobiens.....	20
11. 3- Effet spasmolytique.....	20
12- Toxicité et effets indésirable.....	20

PARTIE EXPERIMENTALE

III. Matériels Et Méthodes

1- Objectifs.....	21
2- Région de prélèvement et traitements préliminaires du matériel végétal.....	21
3- Extraction des composés bioactifs.....	22
4- Etude des effets antimicrobiens des extraits de thym.....	25
4. 1- Activation des inocula microbiens	25
4. 2- Méthode de contact direct	25
4. 3- Méthode des disques par diffusion sur gélose	27
4. 4- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	27
4. 5- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	29

IV. Résultats et discussion

1- Résultats.....	30
1. 1- <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	30
1.1.1 Méthode de contact direct.	30
1.1-2 Diamètres d'inhibitions	31
1-1-3 Taux d'inhibition	33
1-1-4 Concentration Minimale Inhibitrice: CMI	34
1-1-5 Concentration Minimale Bactéricide(CMB) :	35
1-2 <i>Streptococcus thermophilus</i>	36
1-2-1 Méthode de contact direct	36
1-2-2 Diamètre d'inhibition.....	38

1-2-3 Taux d'inhibition	40
1-2-4 Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).	41
1-2-5 Concentration Minimale Bactéricide (CMB)	42
2. Discussion des résultats.....	44
Conclusion.	
Références Bibliographiques..	
Annexe	

Listes des figures

Figure 1. <i>Lactobacilus bulgaricus</i> observé au microscope électronique à transmission (×10000).....	9
Figure 02. <i>streptococcus thermophilus</i> observé au microscope électronique à transmission (×10000).....	10
Figure 03: <i>Thymus vulgaris</i>	15
Figure 04 : Aspects morphologiques de <i>Thymus vulgaris L</i>	16
Figure5. Zone de prélèvement du matériel végétal.....	22
Figure6. Extraction par macération.....	23
Figure7. méthode de filtration des extraits hydro alcooliques de <i>thymus vulgaris</i>	23
Figure 8. Concentrations des extraits de thymus vulgaris obtenus par macération.....	24
Figure9. Méthodes d'extractions des composées bioactif.....	24
Figure 10. activation des deux souches <i>streptococcus thermophilus</i> et <i>lactobacillus bulgaricus</i>	25
Figure11. Méthode de contact direct.....	26
Figure 12 . Détermination de la CMI.....	28
Figure 13. Déterminations de la concentration minimal bactéricide.....	29
Figure 14. effet des extraits bioactifs de thym sur la croissance de <i>lactobacillus bulgaricus</i>	30
Figure15. Diamètres d'inhibition des solutions hydro-alcooliques de l'extrait de thym , ainsi que de la pénicilline chez <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	33
Figure 16 . Détermination de la concentration minimale bactéricide de l'extrait <i>Thymus vulgaris</i> chez <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	35

Figure 17. Effet des extraits bioactifs de thym sur la croissance de *Streptococcus thermophilus*37

Figure 18. Effet des solutions d'extrait hydro-méthanolique de *Thymus vulgaris* préparées à (20, 40, 60, 80, 100%) et de la pénicilline sur le diamètre d'inhibition chez *Streptococcus thermophilus*.....39

Figure 19. Détermination de la concentration minimale bactéricide de l'extrait *Thymus vulgaris* sur le *Streptococcus thermophilus*.....42

Listes des tableaux

Tableau 01. Les différents genres de bactéries lactiques.....	4
Tableau 02 . Caractères physiologiques de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> d'après (Droissart et Luquet.,1993)	9
Tableau 03. Classification botanique de <i>Thymus vulgaris</i>	15
Tableau 04 : Teneur en polyphénols (en µg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du <i>Thymus vulgaris</i>	17
Tableau.5 Effet des différentes dilutions d'extraits bioactifs de <i>thymus vulgaris</i> sur la croissance de <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	31
Tableau.6. Effet des différentes dilutions d'extrait de <i>Thymus vulgaris</i> sur les variances des diamètres d'inhibition chez <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	32
Tableau7. Effet des différentes dilutions d'extrait de <i>Thymus vulgaris</i> sur les variances des taux d'inhibition chez le <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	34
Tableau 8. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice d'extrait de <i>Thymus vulgaris</i> sur la croissance de <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	35
Tableau 9. Action inhibitrice des extraits bioactifs de <i>thymus vulgaris</i> sur la croissance de <i>lactobacillus bulgaris</i>	36
Tableau10. Effet des différentes dilutions d'extrait de <i>Thymus vulgaris</i> sur la croissance de <i>Streptococcus thermophilus</i>	38
Tableau11. Effet des différentes dilutions d'extrait de <i>Thymus vulgaris</i> sur les variances des diamètres d'inhibition chez le <i>Streptococcus thermophilus</i>	40
Tableau12. Effet des différentes dilutions d'extrait de <i>Thymus vulgaris</i> sur les variances des taux d'inhibition chez le <i>Streptococcus thermophilus</i>	41
Tableau13. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice d'extrait de <i>Thymus vulgaris</i> sur la croissance de <i>Streptococcus thermophilus</i>	42
Tableau14. Action inhibitrice des extraits bioactifs de <i>thymus vulgaris</i> sur la croissance de <i>streptococcus thermophilus</i>	43

Listes des abréviations

- ❖ **ARN** : Acide RiboNuclique
- ❖ **ARNt** : ARN transfert
- ❖ **ATP** : Adénosine Triphosphate
- ❖ **BL** : bactérie lactique
- ❖ **CO₂** : dioxyde de carbone
- ❖ **dATP** :Désoxyadénosine Triphosphate.
- ❖ **dCTP** :Désoxycytidine Triphosphate.
- ❖ **DHAP** : Dihydroxyacétone-phosphate.
- ❖ **dTTP** : Désoxythimidine Triphosphate.
- ❖ **FAO/OMS** : Food and Agriculture Organization/ Organisation Mondiale de la Santé.
- ❖ **FBP** : fructose-1,6-bisphosphate.
- ❖ **FBA** : fructose-1,6-bisphosphate aldolase.
- ❖ **LB** : lactobacillus.
- ❖ **Lc.** Lactococcus.
- ❖ **Ln.**Leuconostoc
- ❖ **M.E.T** : microscope électronique à transmission.
- ❖ **NAD⁺/NADH,H⁺** Coenzyme d'oxydoréduction nicotinamide adénine dinucléotide.
- ❖ **Pi** : phosphate inorganique.
- ❖ **Sc.** Streptococcus.
- ❖ **UFC** : unité formant colonie.

Introduction générale

Partie 1:

Etude bibliographique

Chapitre I:

Les bactéries lactiques

Chapitre II:
Le thymus vulgaris(Le thym)

Partie 2

Etude Experimentale

Conclusion générale

Résultats et discussion

Références bibliographique

L'utilisation des plantes aromatiques par l'homme est une pratique antique (**Majinda et al.,2001**). 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, cette utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement des observations au cours des siècles.

Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses et pour la protection des aliments contre l'oxydation.

Le continent africain est doté d'une biodiversité parmi les plantes riches dans le monde, avec un nombre très élevé de plantes utilisées comme herbes, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles différentes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles se sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies.

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. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier *Thymus vulgaris*.

Beaucoup d'études ont été réalisées au sujet de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes qu'elles soient citées dans des ouvrages, dans des journaux spécialisés de microbiologie ou présentées lors de congrès scientifiques d'aromathérapie (**Bousibia ; 2004**). Il résulte que les extraits phénoliques possèdent de nombreuses activités biologiques. Selon les travaux (**Freeman et al ; 2006**), ces activités sont liées essentiellement à la composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires de ces extraits et à leurs effets synergiques.

Ces effets antibactériens nous a conduit à poser la question suivante : « Est-ce que l'utilisation des extraits de thym comme adjuvant dans les produits laitiers (production de yaourt par exemple) peuvent avoir un effet sur la croissance des ferments lactiques tels que les *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* qui présentent des intérêts variés (Industriel et nutritionnel)» ?

Dans ce cadre, ce travail de master a consisté à poursuivre les recherches déjà initiées au sein de l'équipe de recherche affiliée au laboratoire de technologie alimentaire et nutrition de l'université de Mostaganem et pour l'étude de l'effet antimicrobien des extraits au méthanol aqueux de *thymus vulgaris* récolté dans la région de Sétif sur les germes spécifiques du yaourt : *streptococcus thermophilus* et *lactobacillus bulgaricus* .

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse de la plante en composés bioactifs et à déterminer leur propriété biologique. Pour cela l'étude englobe deux aspects, dont le premier est de l'ordre phytochimique basé principalement sur l'extrait et la quantification des principaux actifs de l'extrait.

Le second aspect est consacré à une évaluation de l'activité antibactérienne (bactéricide ou bactériostatique) qu'exerce leur efficacité des extraits de *thymus vulgaris* contre la prolifération des deux souches spécifique du yaourt ; l'efficacité contre *streptococcus thermophilus* et *lactobacillus bulgaricus* .

La présentation des résultats de ce travail sera procédée de :

- Une synthèse bibliographique reprenant les connaissances actuelles sur les bactéries lactiques et le *thymus vulgaris*.
- La seconde partie du manuscrit présente le matériel et méthode utilisé pour la réalisation de ce travail.
- Les résultats obtenus au cours de ce travail sont alors exposés et discutés dans la troisième partie.
- Une conclusion générale résumera les principaux acquis de ce travail et ouvrira les perspectives envisagées pour la poursuite de cette thématique de recherche.

1-Introduction :

Bien avant que l'on soit conscient de leur existence les bactéries lactiques, ont toujours été utilisées cependant, comme ferment elles ne sont utilisées que récemment dans la conservation des aliments à base de lait, de viande, de poissons, de légumes et de fruits(**Ross et al., 2002**)

C'est à l'époque des grandes découvertes de la microbiologie, à la fin du 19^{ème} siècle, que des chercheurs se sont penchés sur la fermentation du lait pour trouver la cause de sa coagulation acide. **Conn (1889)**,**Storch (1890)**et **Weigmann (1896)** ont conclu que la présence de bactéries lactiques est responsable de l'acidification du lait et de la maturation de la crème (**De Roissart et Luquet., 1994**).

2-Définition des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme. Elles colonisent de nombreux produits alimentaires comme les produits laitiers, la viande, les végétaux et les céréales et font partie de la flore intestinale et vaginale humaine ou animale.

Le groupe des bactéries lactiques, été défini pour la 1^{ère} fois par Orla –Jensen en 1919, réunit plusieurs genres de différentes morphologie ayant pour caractère commun leur capacité à fermenter le lactose en produisant de l'acide lactique (**Novel., 1993**).

Ce sont des microorganismes à Gram positif, non sporulant, non mobiles, anaérobies mais aérotolérants et ne possédant pas de catalase. Toutes les bactéries lactiques possèdent un métabolisme fermentaire leur permettant, en utilisant des sucres fermentescibles, de produire principalement de l'acide lactique mais aussi d'autres acides organiques (acide acétique, acide formique.) (**Raynaud., 2006**)

3-Caractéristiquesgénérales:

Les bactéries lactiques sont un groupe de bacilles ou coccobacilles à Gram positif qui ont moins de 55 mol % de contenu G+C dans leur ADN (à l'exception des bifidobacteries **(Ammour., 2004)**).

Ce sont des procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. A quelques exceptions près, les bactéries lactiques sont généralement Gram positif, immobiles, sporulées, anaérobies mais aérotolérantes, et ne possédant pas de catalase (certaines souches possèdent une pseudocatalase), de nitrate réductase, et de cytochrome oxydase. Elles ont des exigences nutritionnelles nombreuses (acides aminés, peptides, sels, acides gras et glucides) **(Holzapfel et al., 2001 ; Gevers., 2002)** .

Toutes les bactéries lactiques en utilisant les glucides, elles peuvent produire soit de :

- l'acide lactique exclusivement (bactéries homolactiques strictes) ;
- l'acide lactique et de l'acide acétique (bactéries hétérolactiques facultatives);
- l'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et de CO₂ (bactéries

hétérolactiques strictes)**(Vandamme et al., 1996)**.

Certaines espèces ou certaines souches peuvent en outre produire de l'acide formique ou de l'acide succinique **(De Roissart et Luquet., 1994)**.

Tableau 01. Les différents genres de bactéries lactiques

Genres	Cellules		Fermentation	ADN G-C (%)	Références
	Forme	Arrangements			
Streptococcus	Coques	Chaines	Homolactiques	34-36	SCHLEIFER,1986
Leuconostoc	Coques	Chaines	Hétérolactiques	36-43	FARROW et al.,1989
Pediococcus	Coques	Tétrade	Homolactiques	34-42	SCHLEIFER,1986
Actobacillus	Bacilles	Chaines	Homolactiques et hétérolactiques	32-53	KANDLER et WEISS,1986 a et b

(Bekhouche,2006)

4-Habitat :

Les bactéries lactiques ont pour habitat de nombreux milieux naturels, des végétaux (Plantes et fruits), des animaux et des humains (cavités buccales et vaginales, fèces et dans le lait). Mais certaines espèces semblent s'adapter à un environnement spécifique et ne sont guère trouvées ailleurs que dans leurs habitats naturels (**De Roissart, 1986**).

Les espèces du genre *Lactococcus* sont isolées du lait ou des végétaux qui sont les réservoirs naturels de la plupart de ses espèces. L'espèce *Lactococcus lactis subsp. lactis* est isolée pour la première fois à partir du lait fermenté par Lister en 1873 et reconnue comme agent primaire de l'acidification du lait caillé). (**Bergey's manual., 2009**)

Parmi les espèces du genre *Streptococcus*, *Streptococcus thermophilus* est isolée du lait pasteurisé, du matériel de laiterie et de levains artisanaux. Les espèces du genre *Leuconostoc* sont isolées du lait, des produits laitiers, des fruits, des légumes (en particulier la betterave), des végétaux en fermentation (comme la choucroute), des produits de la panification et des solutions visqueuses de sucre dans les sucreries.

Les espèces du genre *Pediococcus* sont présentes surtout dans les végétaux en décomposition, parfois dans les boissons alcoolisées, le lait, les différents fromages (Parmesan et autres fromages italiens) et les préparations culinaires (Saucisses, anchois salés ou sauce de soja).(**Bekhouche., 2006**).

Les espèces du genre *Lactobacillus* sont présentes dans plusieurs milieux différents : dans le lait et les fromages (*Lb. casei subsp. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus* et *Lb. brevis*), dans les laits fermentés (*Lb. kefir*, *Lb. brevis* et *Lb. fermentum*), dans les produits végétaux fermentés, les marinades, l'ensilage, le vin et les viandes fraîches ou fermentées (*Lb. brevis*, *Lb. Curvatus*, *Lb. buchneri* et *Lb. san francisco*) (**Demazeaud., 1996**)

5-Classification :

5.1 Lactobacilles :

La connaissance des produits de fermentation permet l'identification des bactéries et sert à leur classification, c'est le cas des souches du genre Lactobacilles que l'on range en deux groupes :

5.1.1 Lactobacilles homofermentaires :

Ce genre de bactéries participe à produire par fermentation des qualités importantes de lactate. Certains souches donnent jusqu'à 100% d'acide lactique en dégradant le glucose par la voie EMP(François et Luquet,2008) , car elle possède une aldolase responsable de la réaction :

fructose-di phosphate $\longrightarrow$ 2 triose-phosphate

5.1.2 Lactobacilles hétérofermentaires :

A coté de l'acide lactique, il est obtenu lors de la fermentation de l'éthanol, du glycérol, de l'acide acétique, et du gaz carbonique. En effet, comme ils sont incapable de synthétiser une aldolase ; la dégradation du glucose débute par la voie du pentose jusqu'à la formation du ribose-5 phosphate (François et Luquet,2008).

5.2 Streptococaceae :Les streptococaceae sont classés comme suit :

5.2.1 Homofermentaires :

Ces bactéries suivent la voie des hexoses di phosphates, les bactéries se présentent en cellules organisées, en paires ou en chainettes. C'est des bactéries a catalase négatives et regroupent surtout les *Streptococcus*.

5.2.2 Hétérofermentaires :

Ces bactéries suivent la voie des hexoses monophosphate, formant de l'acide lactique levogyre, du CO₂ et de l'éthanol.Les bactéries se présentent en cellules organisées en paires ou en chainettes. C'est des bactéries a catalase négative et regroupent surtout les *Leuconostoc*.

5.2.3 Lactobacillace :

Les *Lactobacillus* sont des bactéries gram+, pléomorphes, asporogene, immobiles en général, cytochrome et catalase -, pour la plupart aérotolérantes et glucidolytiques. Leur exigences nutritives sont grandes : vitamines et acides aminés surtout.

le genre lactobacilles est subdivisé en 3 sous genres :

Thermobacterium ,*Streptobactérium*,*Betabacterium* (Dolczil et al.,1982)

Les *Thermobacterium* et les *Streptobacterium* sont homofermentaires et en présence de glucose, les *Betabactérium* sont hétérofermentaires (Riviere et Heslot,1979).

6-Propriétés métaboliques :

6.1 Métabolismes carbonés des bactéries lactiques :

6.1.1 Transport du sucre :

Les carbohydrates fermentés en acides lactiques par les bactéries lactiques peuvent être des monosaccharides tels que les hexoses des pentoses (xyloses, ribose, arabinose), des hexitoles et penitols(mannitol ,sorbitol,xylitol),ou des disaccharides.

La capacité à métaboliser les sucres est souvent fonction des souches. Cette faculté peut être liée à un plasmide, telle que la fermentexibilité du lactose chez *lactococcus lactis* , ou au contraire associées au chromosome.

Le catabolisme du sucre fournit l'énergie nécessaire à l'anabolisme sous forme ATP et génère des coenzymes réduits sous forme de NADH essentiellement **(François et luquet.,2008)**

6.1.2 Catabolisme de sucre :

6 .1.2.1 Voies métaboliques centrales :

L'une des caractéristiques des bactéries lactiques est qu'elles ne sont capables de cataboliser qu'un nombre plutôt réduit de source de carbone via des voies métaboliques linéaire relativement simple **(François et Luquet.,2008)**

6.1.2.2 Voies métaboliques spécifiques des sucres :

Le glucose entre dans la glycolyse au niveau de glucose 6-phosphate(G6P) ; soit directement s'il entre dans la cellule par le système PEP ; soit après une étape de phosphorylation par glycokinase **(François et Luquet.,2008)**

6.1.2.3 Voies métaboliques en aval pyruvate :

Chez les lactocoques et lactobacilles homofermentaires, le pyruvate est converti majoritairement en lactate via le lactate déshydrogénase, cette réaction permettant la régénération des coenzymes réduits. **(François et Luquet.,2008)**

6.1.3 Métabolisme de l'acide malique :

La dégradation de l'acide malique en acide lactique peut être accompagnée d'une production d'acidité volatile, d'éthanol, d'acide succinique, d'acétoïne et de diacétyl (**François et Luquet.,2008**)

6.2 Métabolisme lipidique :

Les bactéries lactiques ne sont pas très protéolytiques, elles ne sont pas non plus très lipolytiques comparativement à d'autres espèces bactériennes comme les *Pseudomonas* (**Kalagridau,1984**).

Néanmoins, des activités d'hydrolyse d'esters ont été mesurées à de nombreuses reprises chez *Streptococcus thermophilus* et lactobacilles que chez les Lactocoques (**Formisano et al., 1974 ;Crow et al.,1994 ;François et Luquet.,2008**)

7. Bactéries lactiques spécifiques du yaourt :

La fermentation du yaourt résulte de l'activité de deux ferments lactiques associés :*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*.

Les deux genres sont micro aérophiles et supportent très bien les milieux acides pH de 4 à 5.

Dans le yaourt ils vivent en symbiose étroite.

La lecture associée des deux bactéries permet de produire d'avantage d'acide lactique. Le *Lactobacillus* favorise le développement de *Streptococcus* avec son activité protéolytique. (**Roger et Veisseyre,1979**)

7.1 Lactobacilles bulgaricus :

C'est une bactérie lactique homofermentaire, elle se développe bien à 45-50°C en acidifiant fortement le milieu. Elle peut former à partir du lait jusqu'à 2,7% d'acide lactique (**Veisseyre,1979**). La classification proposée par (**Rogosa,1974**), inclut *Lactobacillus* dans une subdivision du genre *Lactobacillus* qui comprend les lactobacilles homofermentaires thermophiles présentant une aldolase utilisant la glycolyse comme seule voie de fermentation et ne pouvant se développer qu'à 45°C. (**Figure1**)

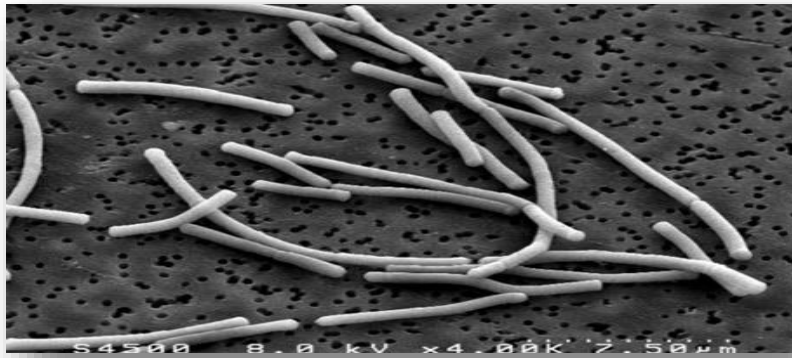


Figure 1. *Lactobacillus bulgaricus* observé au microscope électronique à transmission (×10000)

Caractères physiologiques	
Type muréine	Lys .D.Asp
Isomère acide lactique	D (-)
✓ Arginine	-
✓ Mobilité	-
Croissance	
✓ à 15C°	-
✓ à 45C°	+
hydrolyse esculine	
C+G %	50

Tableau 02 .Caractères physiologiques de *Lactobacillus bulgaricus* d'après **(Droissart et Luquet.,1993)**

(Droissart et Luquet.,1993)

7.2 *Streptococcus thermophilus* :

Elle se multiplie bien à 37-40°C mais se développe encore à 50°C. C'est une espèce homofermentaire thermorésistante qui suivie au chauffage à 60 pendant 30 minutes moins acidifiante que l'espèce précédente **(Veisseyre., 1979)**. Elle appartient au genre *Streptococcus* et à la famille Streptococcaceae.**(Larpent,1989) (Figure 2)**

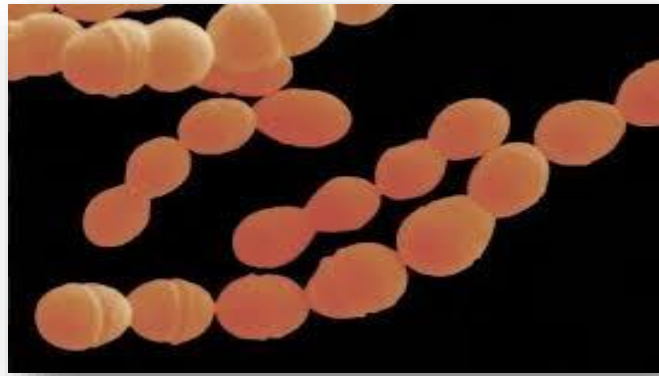


Figure 02. *Streptococcus thermophilus* observé au microscope électronique à transmission ($\times 10000$)

8. Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques :

8.1 Exigences en acides aminés :

Les protéines constitutives des bactéries sont des composés à haut poids moléculaires formés d'acides aminés liés entre eux par liaisons peptidiques. Les bactéries lactiques sont en principe incapables d'effectuer la synthèse de ces acides aminés et doivent par conséquent faire appel à des sources exogènes pour assurer le métabolisme (Luquet, 1986).

Les lactobacilles ont besoin d'histidine, de lysine, de leucine, de valine, de méthionine et de glutamate (Messah et Oudal 1998).

8.2 Exigences en vitamines :

Les bactéries lactiques sont exigeantes aux vitamines surtout de type B. Les besoins des bactéries lactiques en vitamines varient selon les espèces. Les lactobacilles ont besoin des riboflavines (B2), de niacine (pp) et de pantothénate de calcium (Desmazeaud, 1992).

Par contre, les streptocoques thermophiles ont besoin de l'acide pantothénique (B5), de la riboflavine, de la thiamine (B1), de la pyridoxine (B6) et de la niacine (pp) (Lenoir et al., 1992).

8.3 Exigences en bases azotées :

Chez les espèces de lactobacilles plusieurs bases azotées sont indispensables, telles que l'adénine, cytosine, désoxyguanine, thymine et l'uracile (Ladesma et al., 1977).

Les streptocoques thermophiles présentent une exigence absolue pour l'adénine, guanine, uracile et xanthine. (Desmazeaud, 1992)

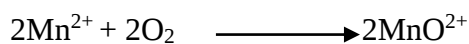
8.4 Exigences en sels minéraux :

8.4.1 Magnésium (Mg⁺⁺) :

Le magnésium joue un rôle important pour les bactéries lactiques, c'est un activateur des différentes réactions métaboliques (division cellulaire et stabilisation des acides nucléiques) (Lenoir et al.,1992).

8.4.2 Manganèse (Mn⁺⁺) :

Les ions Mn²⁺ interviennent dans la détoxification des cellules mise en présence de l'oxygène selon la réaction suivante :



8.4.3. Calcium (Ca ⁺⁺) :

Il intervient au niveau du complexe membranaire ATP ase en participant au transfert des protons H⁺.Sa présence est nécessaire pour la prolifération des phages chez les bactéries lactiques au moment de la lyse cellulaire (Wright et Klaenhammer, 1981).

8.4.4 Sodium (Na⁺⁺) :

D'une manière générale, le sodium exerce sélectif en stimulant la production de certains souches de l'acide et en inhibant dans des autres souches (Desmazeaud,1992).

8.4.5 Potassium (K⁺) :

Il joue un rôle dans le contrôle de intracellulaire et la croissance, notamment des *Inctobacillus helviticus* et *Lactobacillus casei* (Lenoir et al,1992).

10- Rôle et intérêt des bactéries lactiques

10.1 Domaine alimentaire :

10.1.1 Rôle sur la structure et la texture :

L'acidification du lait provoque la formation d'un caillé +ou- ferme selon les bactéries lactiques présentes. Selon les produits, la texture recherchées est ferme (yaourt ferme)ou onctueuse(yaourt brassé ; kéfir). Pour obtenir une consistance déterminée ;l'utilisation des souches plus ou moins acidifiantes peut être couplée à celle des souches productrices de polysaccharides (Satura et Federighi., 1998).

10.1.2 Rôle dans la conservation :

Les principaux produits participant à la conservation des produits sont:

- **L'acide lactique** : les bactéries lactiques ont un rôle important dans l'inhibition des flores non lactiques.

- **Bactériocine** : ces peptides antimicrobiens sont synthétisés par un très grand nombre de souches de bactéries lactiques, sont en généralement thermorésistantes.

10.1.3 Rôle sur les caractéristiques organoleptiques :

La production en dehors de l'acide lactique, d'autres produits tels que le diacétyle et l'acétaldéhyde, est responsable des saveurs caractéristiques des principaux dérivés du lait (Boudjemaa, 2008).

10.2 Domaine de santé :

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du siècle, en 1907 par le Russe Metchnikoff, selon lui les *Lactobacillus sp* pouvaient réduire la putréfaction intestinale en modifiant la flore intestinale.

Le rôle des bactéries lactiques sur la santé était dans le cadre des probiotiques. Les bienfaits des bactéries lactiques sont de plus en plus étudiés, certains sont bien établis d'autres restent encore controversés :

- Améliore la digestion de lactose;
- Le traitent certaines infections ou diarrhées;
- Réduisent le cholestérol sérique et dé-conjuguent des sels biliaires;
- Rentrent dans l'élaboration des vaccins (Calvez et al., 2009).

10.3 Les bactéries lactiques comme probiotiques:

10.3.1 Rôle des probiotiques :

Le rôle des probiotiques est multiple dont:

- Ils participent à l'activation de l'immunité et à la réduction d'allergies chez les sujets à risque.
- La résistance à l'acide gastrique et à la bile, permet aux probiotiques de survivre dans le tube digestif où réside une partie de l'immunité.

-Les probiotiques participent au développement du système immunitaire chez le nourrissons et l'améliorent chez la personne âgée en augmentant le nombre de phagocytes et de lymphocytes.

-Ils agissent également sur l'immunité en colonisant le tractus intestinal, réalisant ainsi « un effet barrière » empêche d'une part la colonisation de l'épithélium par des pathogènes et renforce d'autre part l'immunité au niveau des muqueuses intestinales en augmentant la production d'IgA et de mucus, défenses locales au niveau des muqueuses(Makhloufi., 2012).

11. Caractères bio industriels des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont la base de la fabrication des différents produits alimentaires tels que les produits laitiers (yaourt, fromage, ...), les produits carnés, et les produits végétaux

elles procurent une meilleure conservation pour ces denrées alimentaires transformées

1- Généralité

Le genre *Thymus* est un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées, avec pour centre de diversité la partie occidentale du bassin méditerranéen (**Morales, 2002**). Comme beaucoup de labiées elles sont connues pour leurs huiles essentielles aromatiques. L'espèce la plus connue est sans conteste *Thymus vulgaris* L, localement connu *zaatar*. En français et anglais par exemple, on emploie fréquemment le nom du genre (thym et thyme respectivement) pour désigner l'espèce *Thymus vulgaris* (**Amiot, 2005**).

Il existe une variation de la production des composés secondaires chez certaines espèces végétales que l'on appelle polymorphisme chimique. Cette variation peut être quantitative ou qualitative. Un grand nombre d'espèces possèdent des individus dont les composés secondaires varient quantitativement d'un individu à un autre. Par contre, les exemples de variation qualitative, c'est-à-dire l'existence de chémotypes au sens strict dont les individus peuvent porter des molécules de nature chimique différentes les un des autres, sont moins fréquents. C'est notamment le cas de *Thymus vulgaris* qui exprime six formes de chémotypes différents, chaque chémotype est nommé suivant le composant principal de son huile essentielle (exemples : thymol(T), carvacrol (C),...) (**Amiot, 2005**).

2-Présentation et origine :

Le nom du thym (en anglais *thyme*) est la francisation de *tymus* qui désignait en latin *tymun* et en grec (*thymon*) ; qui signifie odeur. Plante sacrée, très recherchée dans l'antiquité, le thym était un symbole de force chez les romains ; il était brûlé au cours des sacrifices et utilisé comme encens dans les temples grecs. Le thym est originaire du bassin méditerranéen, il existe plusieurs espèces de ce genre dans le monde, et sur celles qui sont actuellement connues, l'espèce *Thymus vulgaris* est toutefois la plus répandue. Au Maghreb, on dénombre autres telles que : *Thymus numidicus*, *Thymus pallescens*, *Thymus ciliatus*, etc (**Richard, 1992**).

Les autres espèces sont des plantes que l'on regroupe sous le nom global de « serpolet ». Ce nom dérive, via le provençale, du latin *serpyllum* qui désignait les *tymus* rampants (également *serpillum* et *serpillum*). Il vient du grec *herpillos*, désignant les plantes, (**Couplan, 2012**).

Les *thymus* sont des plantes herbacées ou de petits buissons dont la base est ligneuse. Ils poussent bien en pot. Le genre *thymus*, appartenant à la famille des menthes, fédère environ 350 espèces, largement originaire du bassin méditerranéen puisque 70 espèces y sont communes.

La majorité des espèces de thymus poussent dans les rocaillouse de l'Europe et de l'ouest de l'Asie. Il en existe plus de 200 cultivars dans les jardin (Delachaux et Niestlé, 2008 ; Delachaux et Niestlé, 2013).

2- Historique :

Dans divers pays d'origines, le thym était connu en qualité d'aromate depuis l'Antiquité, bien que l'on ne sache pas avec exactitude quelles espèces de thym étaient utilisées à cette époque. Dioscoride (2^e moitié de 1^{ère} siècle) et Hippocrate (460 à 370 avJ-C).Le mentionnement déjà dans leur écrites. Ce sont les romains qui l'ont introduit en Angleterre. Comme de nombreuses autres plantes médicinales et aromatique, son usage s'est repandu dans toute l'Europe, dès le début du moyen Age fait grâce aux moines bénédictins.

Le thym entre dans la composition de diverses préparations (alcoolature, vulnéraire, baume tranquille..) et faisait aussi partie des espèces vulnérables (Teuscher, 2005).(Figure 3)



Figure 03: *Thymus vulgaris* (Teuscher et al., 2005)

3-Classification

La classification de *thymus vulgaris* est illustrée dans le(tableau 3)

Tableau 03. Classification botanique de *Thymus vulgaris*(Teuscher et al., 2005)

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Labiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris</i> L.

4- Description botanique :

Le thym est un Sous-arbrisseau de 10-30 cm., d'un vert blanchâtre ou grisâtre, très aromatique ; tiges ligneuses, dressées ou ascendantes, non radicales, tortueuses, formant un petit buisson très serré ; rameaux tomenteux-blanchâtres tout autour ; feuilles petites ,lancéolées-rhomboidales ou linéaires, obtuses, enroulées par les bords, non ciliées à la base, couvertes en dessous d'un tomentum dense et court ; fleurs rosées ou blanchâtres, en têtes globuleuses ou en épis à verticilles inférieurs écartés ; calice velu, à tube un peu bossu en avant à la base.

Les feuilles du thym sont plus au moins contractées et les inflorescences sont en faux verticilles. Le calice quant à lui est tubuleux et la corolle est plus au moins exserte (Quezel et Santana, 1963) (Figure 4)

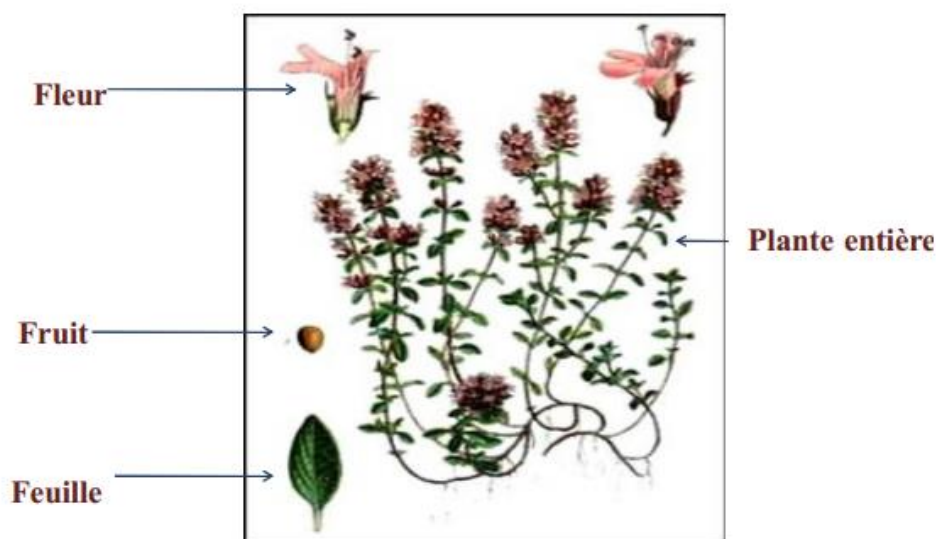


Figure 04 : Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris* L (Iserin, 2001)

5-Répartition géographique :

Le thym est une plante qui est très répandue dans le bassin méditerranéen : Maghreb, France, Espagne, Italie. Aussi dans les montagnes d'Arabie du Sud-ouest et dans la péninsule de Sinaï en Égypte. Le thym pousse également en Sibérie et en Europe du Nord (Jalas, 1991).

Le thym est une plante répandue en Algérie, les différentes espèces qui y existent sont réparties le long du territoire national, du Nord Algérois à l'Atlas saharien, et du Constantinois à l'Oranais (Kabouche et al., 2005)

Le thym est une plante originaire de l'ouest des régions méditerranéennes (**İzcan et Chalchat, 2004**) et aussi autochtone du sud d'Europe (**Takeuchi et al, 2004**). Plus précisément, le thym commun préfère un sol légèrement acide, bien drainé et rocaillieux (calcaire), en plein soleil et au sec, mais la plante se développe également sur un sol alcalin filtrant, léger ou compact (d'argile et de limon) ou très poreux (sableux), un peu humide et frais (**Wikipédia, 2008**). La capacité de cette plante à résister à de très forte chaleur provient de son huile essentielle qui est produite la nuit et s'évapore la journée ; c'est par cette action que la chaleur sera consommée (**Wikipédia, 2008**) .

6- Composition chimique :

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes de *Thymus 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 (**Balladin et headley, 1999; Amiot, 2005**)

La teneur en huiles essentielles de la plante peut varier de 5 à 25 ml/Kg et sa composition fluctue selon le chémotype considéré (**Bruneton, 1999**); l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* peut renfermer environ 30 composés dont, les plus abondants sont respectivement: thymol (44,4 - 58,1 %), *p*-cymène (9,1-18,5%), α -terpinène (6,9-18, %), carvacrol (2,4 - 4,2 %) et linalol (4,0 - 6,2 %).

La caractéristique de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* est surtout sa teneur élevée du thymol (**Guillén et Manzanos, 1998 ; Balladin et Headley, 1999 ; Hudaib et al., 2002 ; Bouhdid et al., 2006**). (Tableau 4)

Tableau 04. Teneur en polyphénols (en μg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du *Thymus vulgaris* (**Kulišić et al., 2006**)

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 flavonoidiques dans les plantes implique les extractions successives employant plus d'un solvant, plusieurs étapes de fractionnement et différentes techniques de chromatographie pour extraire, séparer, isoler, épurer et identifier les composés d'intérêt. (Tableau 4)

7-Principes actifs du thym :

Parmi les principes actifs du thym, il est retrouvé:

- **Les acides phénoliques** : Dont l'acide caféique (Cowan, 1999), et l'acide rosmarinique (Takeuchi et al, 2004)
- **Les flavonoïdes** : Représentés surtout l'hespéridine, eriotrécine, narirutine (Takeuchi et al, 2004), et de lutéoline (Bazylko et Strzelecka, 2007).
- **Les polyphénols** : Dont principalement les tanins (Cowan, 1999 ; İzcan et Chalchat, 2004).

8- Utilisation

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 (Adwan et al., 2006). De plus son huile essentielle est utilisée dans les industries alimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Jordán et al., 2006).

L'épice *Thymus vulgaris* est intensivement cultivé en Europe et aux Etats-Unis pour l'usage culinaire dans l'assaisonnement des poissons, volailles, des potages et des légumes (Özcan et Chalchat, 2004). 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 (Bruneton, 1999).

La feuille est aussi employée en tant que branchospasmodique, expectorant et antibactérien. La tisane des feuilles de *Thymus vulgaris* favorise le repos et le sommeil (Kitajima et al., 2004)

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 (Poletti, 1988 ; Brunton, 1999) 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 (Özcan et Chalchat, 2004). L'huile essentielle de cette plante entre dans les formulations de diverses spécialités : pommades antiseptiques et cicatrisantes, sirops pour traitement des affections des voies respiratoires, préparation pour inhalation (Bruneton, 1999).

9- Propriétés du thym :

Les propriétés du thym peuvent être résumées comme suit:

- Assaisonnement des aliments et des boissons.
- Antiseptique, désinfectant dermique et un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures.
- Propriétés vermifuges et vermicides (**Bazylko et Strzelecka, 2007**).
- Propriétés antivirales, antifongiques, anti inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes de *Thymus vulgaris* inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose) (**Jimenez-Arellanes et al, 2006**).
- Propriétés anthelminthiques (**Al-Bayati, 2008**).
- Propriétés antioxydantes (**Takeuchi et al, 2004 ; Golmakani et Rezaei, 2008**) en raison de ces propriétés, le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons *Thunnus thynnus* durant leur stockage (**Selmiet Sadok, 2008**).

10- Propriétés pharmacologiques et recherche en cours :

Les recherches actuelles réalisées sur les effets des extraits de cette plante sur différents systèmes *in vitro* et *in vivo* ont ressorti plusieurs effets de grande importance pour la médecine, la pharmacie et l'industrie moderne, dont les plus importants :

1- Effet antioxydants :

L'huile essentielle de Thym possède des propriétés hépatoprotectrices mises en évidence *in vivo* sur le rat intoxiqué au tétrachlorure de carbone (**Jimenez et al, 2009**). Récemment, des propriétés antivirales ont été également attribuées à l'extrait fluide de Thym *in vitro* (**Cristoffel et al, 1992**) .

Des recherches menées dans les années 1990 en Écosse ont établi les vertus potentielles de la plante et de son huile essentielle, en prévention du vieillissement. Des études ont aussi indiqué que *Thymus vulgaris* est un puissant antioxydant et assure éventuellement des doses élevées d'acides gras essentiels dans le cerveau (**Iserin, 2001**). L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été testée pour son activité antioxydante par deux méthodes différentes : la technique de décoloration de la carotène et le test du DPPH (Diphenylpicrylhydrazyl). Les résultats obtenus montrent que l'huile de *Thymus vulgaris* témoigne d'une grande activité antioxydante *in vitro* (**Bouhdid et al. 2006**).

2-Effet antimicrobiens:

L'huile essentielle de thym, riche en phénols, est douée de propriétés antibactériennes facilement mises en évidence *in vitro* (Bruneton, 1999). L'huile essentielle de trois plantes dont *Thymus vulgaris* a été testée, par Bouhdid et ses collaborateurs (2006), pour leur activité antibactérienne. En effet, l'huile de *Thymus vulgaris* témoigne d'une activité antibactérienne intéressante sur les bactéries gram positives comme sur les bactéries gram négatives.

Par ailleurs, *monocytogènes*, souche hautement pathogène, présente une sensibilité élevée à cette huile. Des résultats similaires ont été obtenus par Ettayebi et ses collaborateurs (2000), qui ont montré que l'activité de l'huile du thym a été plus efficace contre les bactéries gram positive (*S. aureus*, *S. pyogènes* et *S. pneumoniae*) que contre les gram négative (*E. coli*) (Bruneton, 1999). D'autre part ces mêmes auteurs ont trouvé que cette grande activité de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* est reliée au thymol qui est composé majoritairement de cette huile.

3-Effet spasmolytique :

L'activité spasmolytique de *Thymus vulgaris* est le plus souvent attribuée aux phénols de l'huile essentielle. Lemli et Van Den Brouke (Bruneton, 1999) ont montré que si les phénols de l'huiles essentielles de *Thymus vulgaris* s'opposent effectivement aux contractions provoquées sur les muscles lisses du cobaye par l'histamine, l'acétyl choline ou d'autres réactifs, leur concentration dans les préparations aqueuses de la drogue est insuffisante pour justifier leur activité. Ces auteurs ont montré que l'activité spasmolytique de ces préparations est liée à la présence des polyméthoxyflavones.

11-Toxicité et effets indésirable

La toxicité aigue de l'huile essentielle est faible (DL 50=4,7g/kg). Celle du thymol varie de 0.9g/kg à 1.8g/kg selon l'espèce de rongeur considérée (pour carvacrol, elle varie de 0,1 à 0,8g/kg). Pure, l'huile essentielle est irritante au niveau de la peau et, surtout, des muqueuses. On a observé de rares réactions allergiques à l'huile essentielle de *thymus vulgaris* (Bruneton, 2009)

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département d'Agronomie
Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition

Protocole expérimental en vue d'une inscription en Doctorat en Sciences

Intitulé du projet de recherche de Doctorat en Sciences :

« Effets antimicrobiens de l'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris* (Thym) récolté dans la région de SETIF sur la croissance des germes spécifiques du yaourt : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* ».

Présenté par : Mlle. BELMAHI LOUBNA SAMAH ET M. FLITI Abdelkrim

Encadreur : Dr. AIT SAADA. Djamel.

Année Universitaire : 2016/201

1. Objectifs :

Beaucoup d'études ont été réalisées au sujet de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes ayant des vertus thérapeutiques dans des journaux spécialisés de microbiologie ou présentées lors de congrès scientifique d'aromathérapie. Ces activités sont liées essentiellement à la composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires de ces extraits et à leurs effets synergiques.

La problématique à double objectif :

Ces effets antibactériens nous ont conduit à poser la question suivante : « Est ce que l'utilisation des extraits de plante comme adjuvant dans certains produits laitiers (tels les yaourts par exemple) peuvent avoir un effet sur la croissance des ferments lactiques tels, que les *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* qui présentent des intérêts variés (industriel et nutritionnel) » ?

Pour cela, nous nous sommes proposé d'essayer de connaître le comportement *in vitro* des souches de levains lactiques vis-à-vis des inhibiteurs de croissance tels les polyphénols, les flavanoides et bien d'autres composés bioactifs contenues dans l'une des plantes autochtones poussant à l'état sauvage dans certaines régions du pays et très largement utilisée en médecine traditionnelle par la population à savoir le **Thym (*Thymus vulgaris*)**.

D'une façon générale les objectifs escomptés à travers cette étude expérimentale s'articulent autour de 2 points essentiels :

- 1- Procéder à une extraction des principaux composés bioactifs de la plante par usage d'un solvant polaire à savoir le Méthanol.
- 2- Suivre les effets antimicrobiens de l'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris* sur les germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* en vue de comprendre le type d'action inhibitrice que peuvent exercer les principaux composés bioactifs de thym obtenus par usage de méthanol comme solvant d'extraction sur ces deux germes spécifiques du yaourt.

2. Région de prélèvement et traitements préliminaires du matériel végétal

Le matériel végétal objet de l'étude le **Thym (*Thymus vulgaris*)** a été prélevé le mois de Mars 2017, dans la Wilaya de SETIF au nord d'Algérie. Un échantillon de 2 à 3 kg pris uniquement sur la partie aérienne de l'espèce *thymus vulgaricus* à été récolté d'une manière aléatoire dans la région de (El Mawan) commune d'Ouricia ; Wilaya de Setif.(Figure 5)



Figure5. Zone de prélèvement du matériel végétal (données cartographique, google Maps, 2017)

La matière végétale a été ensuite étalée sur du papier aluminium, puis séchée à l'air ambiant durant 2 semaines. Les échantillons séchés sont 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

3. Extraction des composés bioactifs

Selon **Almas et Al-Bagieh (1999)** et **Almas (2001)**, les extraits à l'eau arrivent à agir en général sur la croissance de certaines bactéries appartenant au genre *Streptococcus* à des taux d'extractions de 5g/100ml de matière végétale de Kikar (*Acacia arabica*) provenant du Pakistan et de l'Arak (*Salvadora persica*) d'Arabie Saoudite.

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs tels les polyphénols contenus dans la *Thymus vulgaris* on a opté pour l'utilisation d'une méthode décrite par **(Sultana et al., 2009)**. 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.

L'extraction des composés bioactifs de la plante sera réalisée par usage de Méthanol comme solvant d'extraction. Elle sera effectuée sur des prises d'échantillons de 10 g en triples répétitions de matière végétale broyée. Chaque échantillon de broyat de matière végétale sera mélangé avec 100 ml de solvant aqueux (80/20, solvant / eau, v / v). L'extraction par macération à froid de chaque mélange sera laissée ensuite se poursuivre pendant 6 heures à température ambiante sous agitation. La durée de l'extraction favorisera ainsi la dépolymérisation des principaux composés constitutifs de la plante

tels que la lignine ainsi que les substances pectiques et permet une meilleure solubilisation des principaux composés bioactifs. **(Figure 6)**



Figure6.Extraction par macération

Les extraits hydro alcooliques obtenus seront filtrés en utilisant un papier filtre Whatman ayant une porosité de 0,2µm. **(Figure7)** et débarrassés des solvants par évaporation sous vide à 45 °C. **(Figure 9)**



Figure7.méthode de filtration des extraits hydro alcooliques de *thymus vulgaris*

Les extraits purs riches en composés bioactifs récupérés seront enfin dilués à l'eau distillée stérile à des taux variables de 0, 20, 40, 60, 80 et 100% (Extrait pur), respectivement **(Figure 8)**

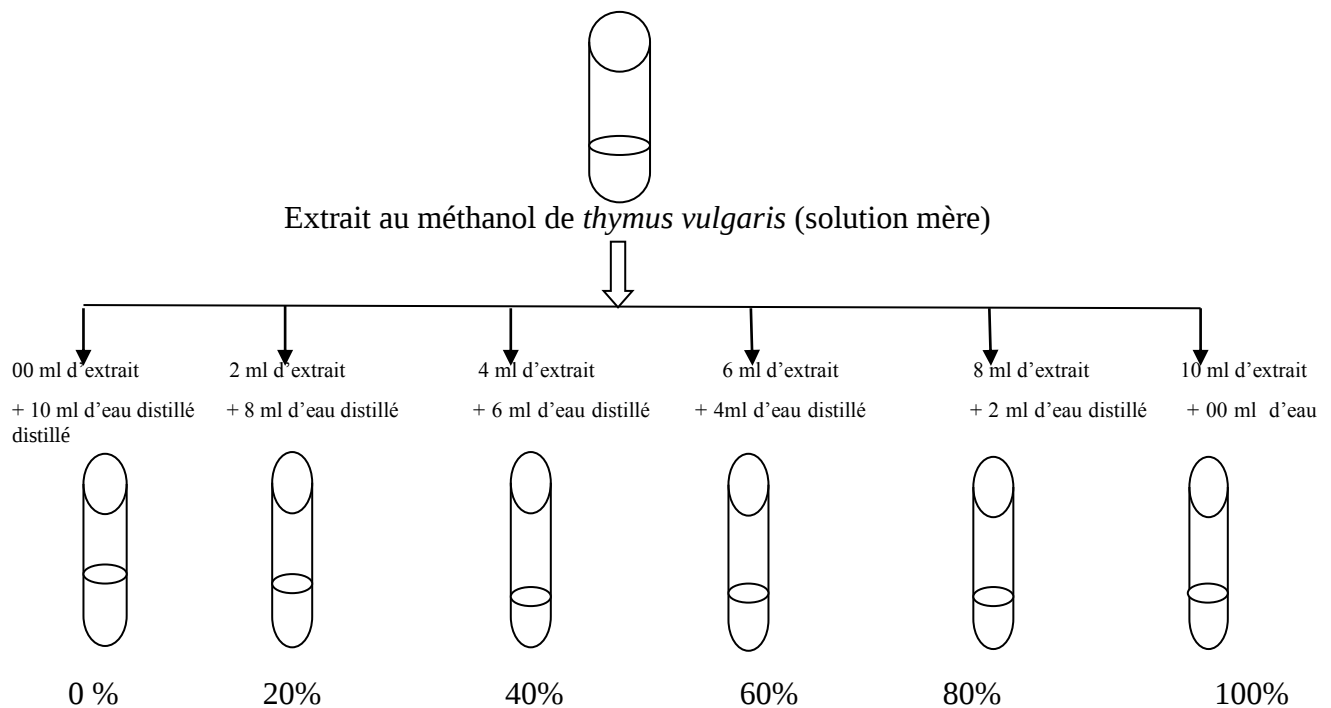


Figure 8. Concentrations des extraits de thymus vulgaris obtenus par macération



Figure9. Méthodes d'extractions des composées bioactif

4. Etude des effets antimicrobiens des extraits de thym

4.1 Activation des inocula microbiens :

L'étude concerne les deux souches pures de références et spécifiques du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Chaque espèce lactique sera tout d'abord activée avant son utilisation expérimentale. Une prise de 0.25 g de la souche lyophilisée conservée au froid à 4 °C est au préalable ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée à 37°C durant 03 heures. 0,1 ml de cette dernière solution constituant la solution mère sera pris pour être ensemencée en surface d'une boîte de Pétri contenant un milieu spécifique gélifié de croissance pour

chaque espèce microbienne (MRS ou M17) puis le mélange est incubé à 37°C pendant 24 heures.(Figure 10)

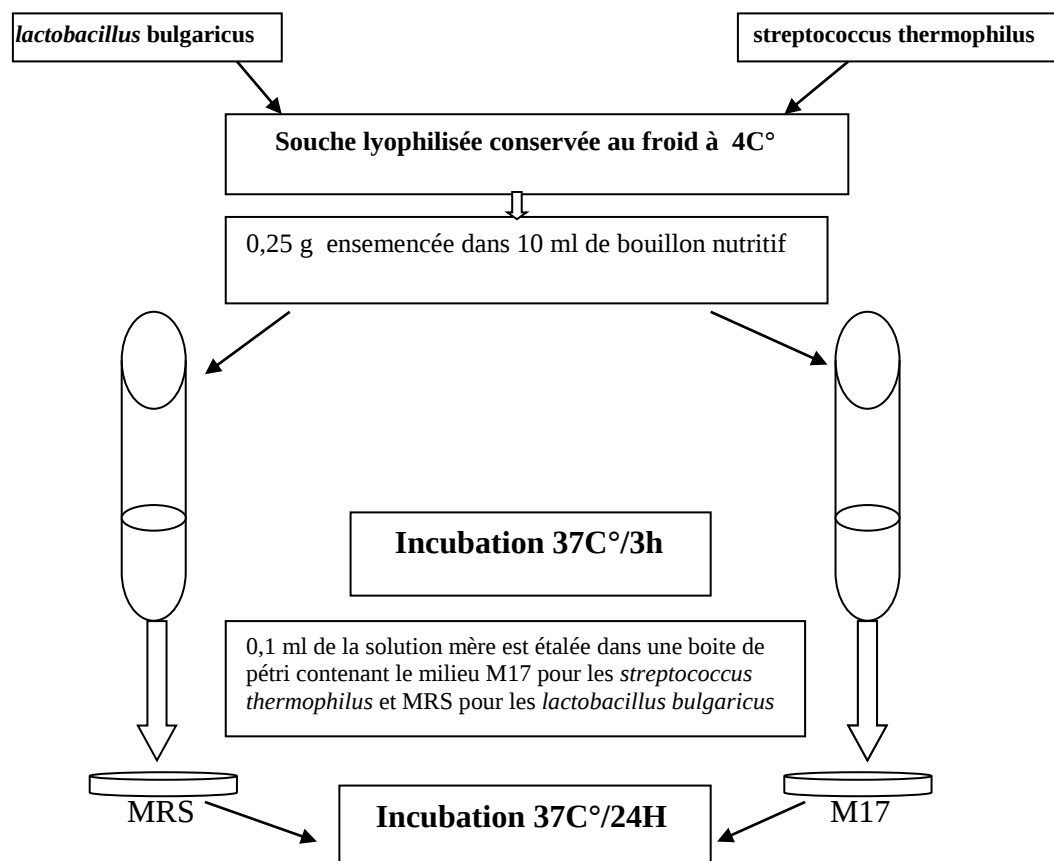


Figure 10.activation des deux souches *streptococcus thermophilus* et *lactobacillus bulgaricus*

4.2 Méthode de contact direct (Bourgeois et Leveau, 1980):

Une colonie issue d'une culture jeune de chaque espèce microbienne activée comme préalablement sur milieu solide gélosé spécifique sera prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile, chacune sera ensuite ensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif, suivi d'une incubation à 37°C durant 03 heures. A partir de ces dernières solutions dont chacune constitue une solution mère d'une espèce de bactérie lactique donnée, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique seront effectuées ; allant à 10^{-4} pour respectivement les *Streptococcus thermophilus* et les *Lactobacillus bulgaricus*. Des prélèvements de 01 ml de chaque dernière dilution décimale seront ensuite individuellement ajoutés à 09 ml de chaque extrait de thym dilué à l'eau distillée, respectivement, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%.

Les mélanges des solutions seront enfin ensemencés en triple essais (03 boîtes de Pétri) chacune en surface à raison de 0.1 ml sur le milieu spécifique de croissance pour chaque espèce microbienne. La lecture du nombre de colonies développé sera effectuée après incubation des milieux ensemencés à 37°C pendant 24, 48 à 72 heures (Bourgeois et Leveau, 1980).(Figure 11)

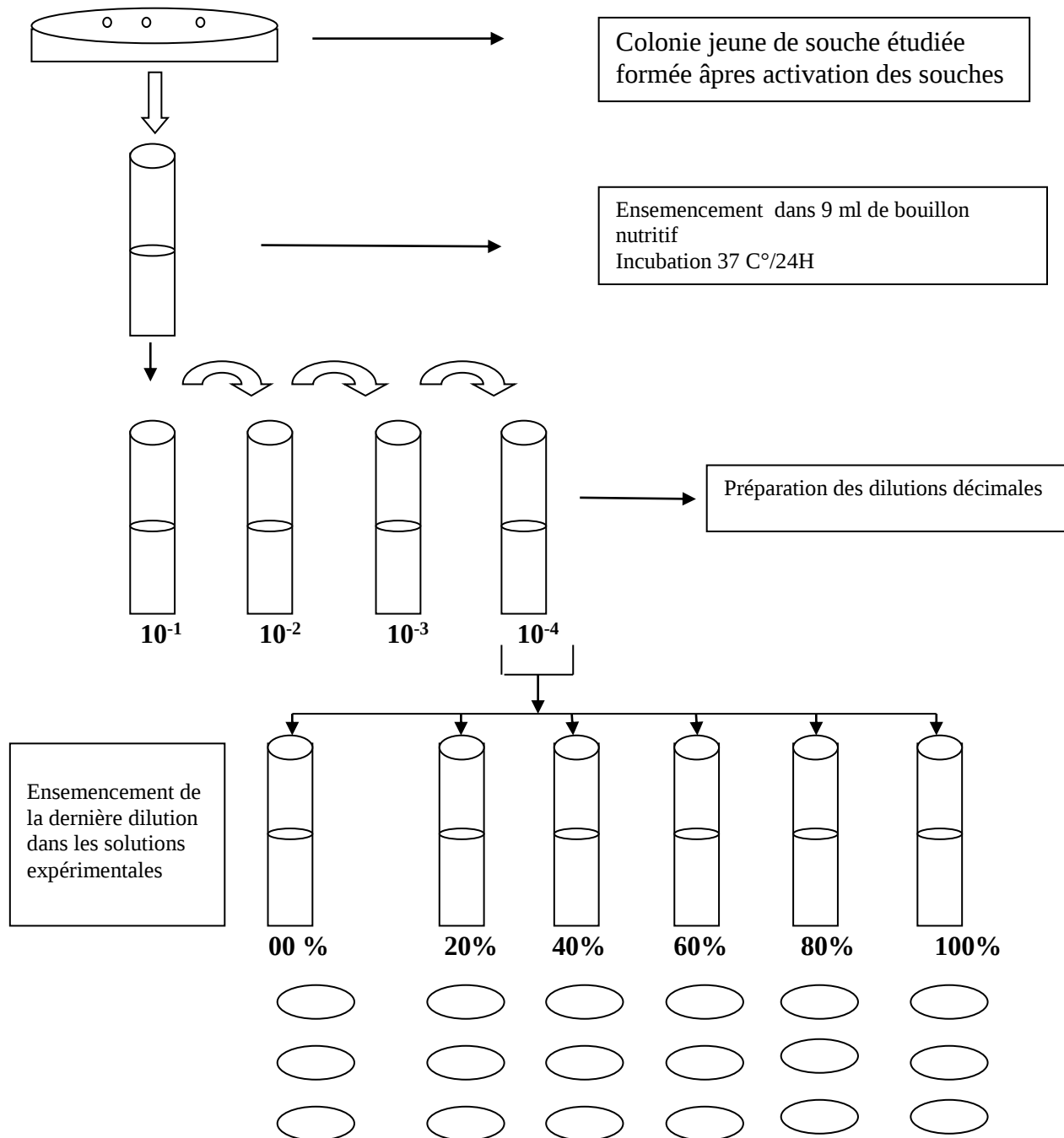


Figure11. Méthode de contact direct

4.3 Méthode des disques par diffusion sur gélose :

Les disques seront confectionnés à partir de papier filtre (Whatman n° 3), à raison de 6mm de diamètre. Pour éviter tous risques de contamination aux germes exogènes au cours de l'expérimentation les disques seront stérilisés à 120°C pendant 15 minutes dans un autoclave.

Une colonie de chaque espèce lactique prélevée du milieu gélosé spécifique après activation sera ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif ; ce mélange constituera la solution mère. Des prises de volume de 1ml de cette dernière solution seront étalées séparément en surface de plusieurs boîtes de Pétri contenant le milieu MRS ou M17 selon l'espèce microbienne étudiée. Trois disques imbibés

pendant 5 minutes dans chaque extrait obtenu selon le solvant utilisé, ainsi que dans une solution contenant un puissant antibiotique dont la Pénicilline, seront ensuite déposés successivement à la surface de chaque boîte de Pétri contenant le milieu gélosé spécifique ensemencé au germe lactique approprié (**Prescott et al., 2003**).

La lecture des diamètres d'inhibition se fera après incubation des boîtes de Pétri à 37°C pendant 24, 48 à 72 heures à l'aide d'un pied à colis (**Guignar, 1998**).

4.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice : CMI

La concentration minimale inhibitrice est la plus petite concentration en antibiotique, en antifongique et/ou en principes composés actifs nécessaires pour inhiber la croissance d'un microorganisme (**Denis et al., 2011**).

Dans le cas de notre étude, c'est les principes actifs des extraits de la matière végétale du thym obtenus par extraction aux différents solvants qui sont utilisés pour déterminer la concentration minimale inhibitrice des espèces de germe spécifiques du yaourt (*Streptococcus thermophilus* ou *Lactobacillus bulgaricus*). Ainsi, une colonie jeune de *Streptococcus thermophilus* ou de *Lactobacillus bulgaricus* prélevée à l'aide d'une anse à platine dans 10 ml de bouillon nutritif sera incubée pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir les inocula. Des prises de 0,2 ml de chaque inoculum seront introduites respectivement dans 2 ml de chaque extrait dilué non pas avec de l'eau mais avec le bouillon Mueller Hinton.

Les mélanges des tubes contenant séparément chaque extrait préparé à différentes concentrations (0, 20, 40, 60, 80 et 100%) et l'inoculum de bactérie lactique seront ensuite incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures (**Moroh et al, 2008**). (**Figure12**)

La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI sera effectuée à partir de la mesure de la turbidité induite par la croissance du microorganisme étudié. La CMI correspondra donc à la plus petite concentration pour laquelle il y a absence de turbidité. Par conséquent c'est le premier tube où la valeur d_i sera égale à d_f ($d_i = d_f$).

Le taux de survie du microorganisme sera mesuré au spectrophotomètre réglé à 560 nm comme suit :

$$S = \frac{d_f - d_i}{D_f - D_i} \times 100.$$

-S : Taux de survie du microorganisme en %.

-df-di : différence de densité optique dans la solution phénolique ensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.

-Df-Di : différence de densité optique sans extraits de Menthe avant et après incubation à 37°C durant 18 heures (**Kra et al., 2001 ; Zrihi et al., 2007**).

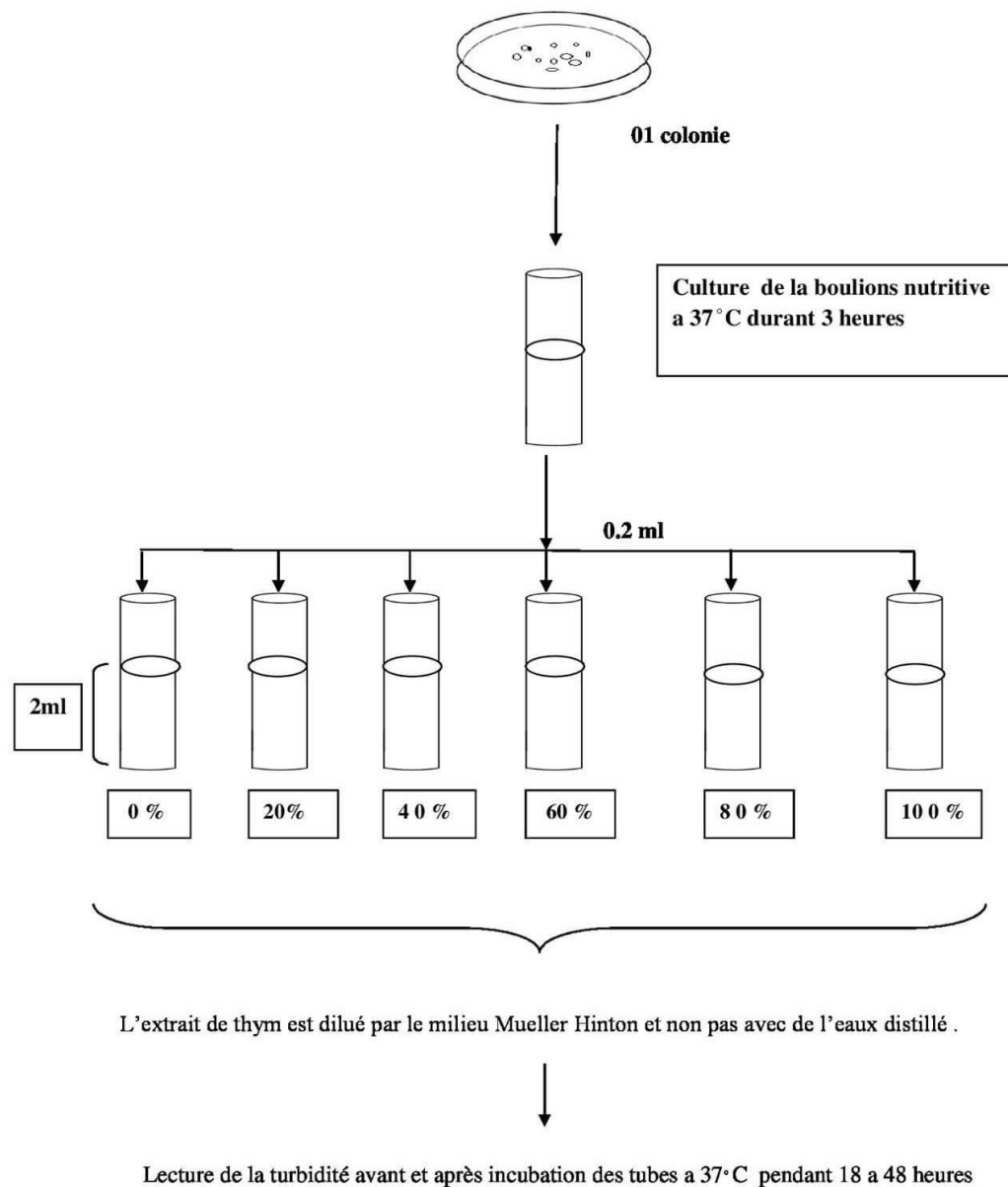


Figure 12.détermination de la CMI

4.5 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :

La concentration minimale bactéricide d'une espèce de germe *lactique* étudié représente la plus petite concentration d'extrait de la plante qui laisse 0,01% au moins de survivant de l'inoculum initial après incubation (**Moroh et al., 2008**).

Pour sa détermination, le tube témoin (inoculum) a été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4} . Cette dilution représente 0,01% de survie du microorganisme. Elle est ensemencée par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton puis incubée à 37°C pendant 24 heures. Le nombre de colonies de bactéries obtenu sur la strie de la dilution 10^{-4} est comparé à celui de chaque tube expérimental contenant l'inoculum, également ensemencé sur le même milieu de culture en strie de 5cm et incubé à 37 °C durant 18 à 24 heures. Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de colonies présent sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10^{-4} correspondra à la CMB. **(Figure13)**

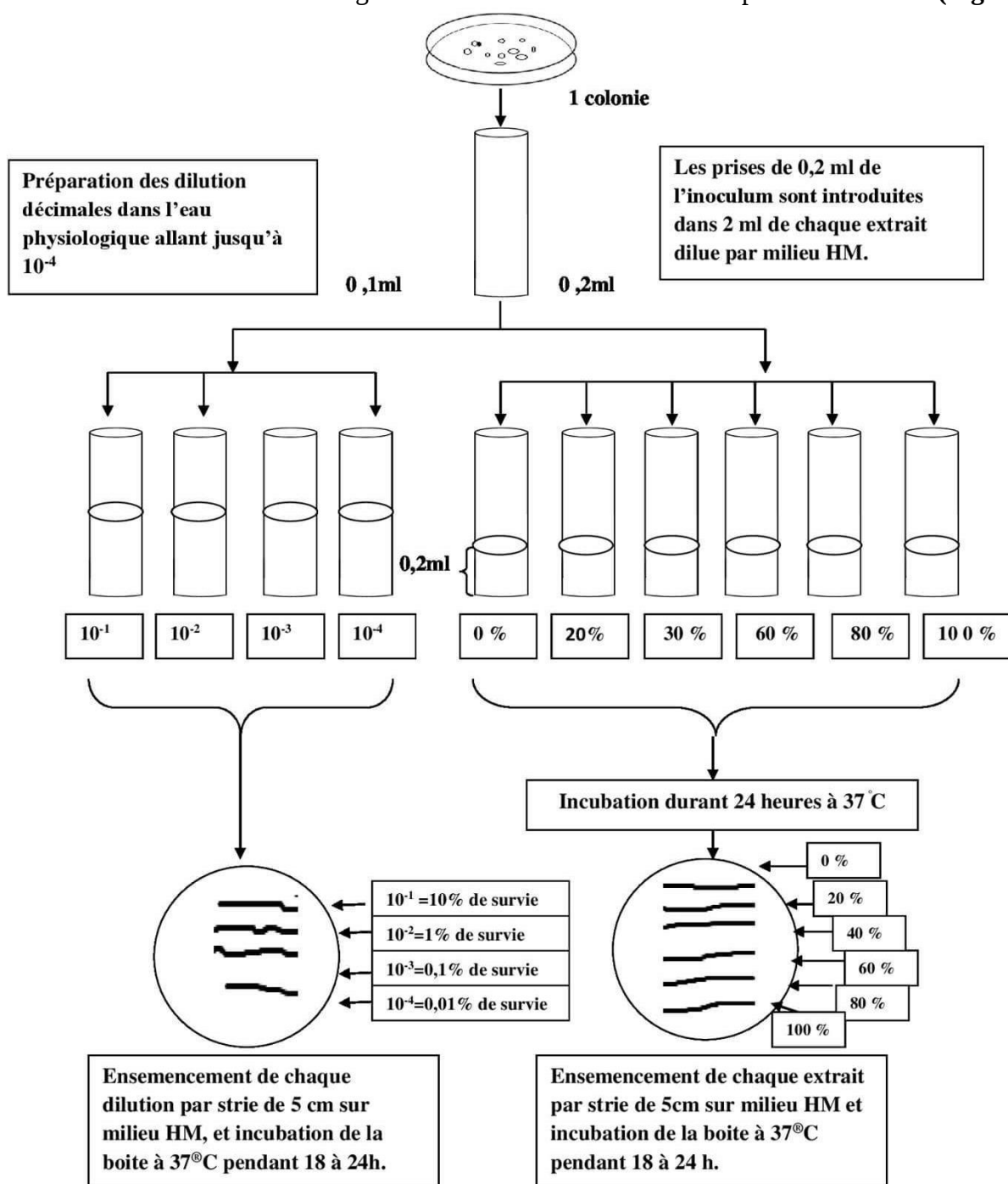


Figure 13.détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

Référence :

Alilou H., Hassani L. M. I., Barka N., Bencharki B., 2014. Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscus graveolens* subsp. *odorus*., Afrique Science 10(3) 316 – 328.

Almas, K. and N.H. Al-Bagieh, 1999. The Antimicrobial effects of bark and pulp extracts of miswak, *Salvadora persica*. Biomed Letters., 60: 71-75.

Almas, K., 2001. The Antimicrobial effects of seven different types of asian chewing sticks. Odonto-Stomatologie Tropicale., 96: 17-20.

Bolivar P., Cruz-Parades C., Hernandez L. R., Juarez Z. N., Sanchez-Arreola E., Av-Gay Y., Bach H., 2011. Antimicrobial, anti-inflammatory, antiparasitic, and cytotoxic activities of *Galium mexicanum*, Journal of Ethnopharmacology, 137. 141– 147, published by Elsevier Ireland Ltd.

Bourgeois, C. M. and J.Y. Leveau, 1980. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Volume 3 : Le contrôle microbiologique. Lavoisier : Tech. Et Doc., pp : 331.

Bruneton J., 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, Editions Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 1120p.

Chaovanalikit, A. and R.E. Wrolstad, 2014. Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. J. Food Sci., 69: 67-72.

Denis, F., E. Bingen, C. Martin, M.C. Ploy and R. Quentin, 2011. Bactériologie Médicale. 2nd Edn., Elsevier Masson, Paris, ISBN: 9782294725944, Pages: 640.

Dohou N., Tahrouch S., Hassani L. M. I., Badoc A., Gmira N., Yamni K. 2003. Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelya lythroides*., Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 142, 61-78.

Guignard, J. L., 2000. Biochimie végétale. Dunod, Paris., pp: 274.

Gurib-Fakim A., Gueho J., 1997. Inventaire et étude des plantes médicinales et des plantes aromatiques des Etats de l'océan Indien, Rapport ethnobotanique et phytochimique sur le projet PLARM, Projet FED – COI.

Jerez, M., M. Pinelo, J. Sineiro and M.J. Nunez, 2006. Influence of extraction conditions on phenolic yields from pine bark: Assessment of procyanidins polymerization degree by thiolysis. Food Chem., 94: 406-414.

Kra, A.K.M., 2001. Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCRA contre *Aspergillus fumigatus*. Thèse de doctorat 3ème cycle UFR Biosciences.Univ. Abidjan., pp: 126.

Luhata P., Kanangila A. B., Kitawa E. K., Mulungulungu D., Lumbu J. B., Kalonda E., 2008. Étude chimique de l'espèce *Jacobinia carnea*., Université de Lubumbashi.

Moroh, J.L.A., C. Bahi, K. Dje, Y.G. Loukou and F. Guede-guina, 2008. Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides*(Baker) milne-redheat (rubiceae) acetatique extract (ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* strains. Bulletin Societe Royale des Sciences Liege, 77: 44-61.

Olivier G. Caractéristique et mode d'action des antibiotiques. 2007.

Prescott, L.M., J.P. Harley and D.A. Klein, 2003. Microbiologie. De Boeck-Supérieur., pp: 1137.

Ranarivelo Y., 2004. Les Grandes familles Chimiques de Produits Naturels, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.

Rizk A. M., 1982. Constituants of plants growing in Qatar, Fitoterapia, 52 (2), p 35-42.

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.

Zrihi, G.N., A.K.M. Kra and D.T. Etien, 2007. Étude botanique et évaluation des activités antifongiques de *Mitracarpus villosus* (MV) (Rubiaceae) et *Spermacoce verticillata* (SV) Rubiaceae) sur la croissance in vitro de *Aspergillus fumigatus*. Revue Méd. Pharm. Afr., 20: 9-17.

1-Résultats

1-1 *Lactobacillus bulgaricus* :

1-1-1 Méthode de contact direct.

Les effets des différentes solutions d'extrait bioactifs de *thymus vulgaris* sur la croissance de *lactobacillus bulgaricus* sont représentés à travers la (figure 14)

En fonction des taux des extraits de thym variables de 20%, 40%, 60%, le nombre du germes *Lactobacillus bulgaricus* connaît un abaissement notables à 98.10^4 , 83.10^4 ,

57.10^4 UFC/ ml successivement par rapport au témoin qui a enregistré le taux le plus élevé (149.10^4 UFC/ ml en moyenne).

La prolifération de ce microorganisme continue à diminuer ($p < 0,01$) en présence d'extrait bioactifs préparés à 60%, 57.10^4 UFC/ml. par ailleurs, les solutions d'extrait au méthanol préparés à plus de 80% ont exercé une action de type bactéricide sur *lactobacillus bulgaricus* ; ainsi aucun développement de cette espèce n'a été observés.



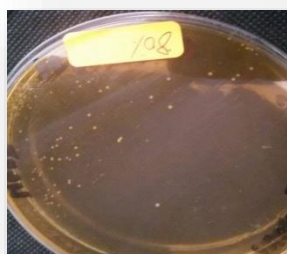
a. Extrait bioactif à 00%



b. Extrait bioactif à 20%



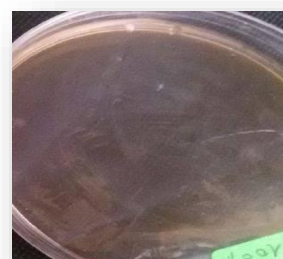
c. Extrait bioactif à 40 %



d. Extrait bioactif à 60%



e. Extrait bioactif a 80%



f. Extrait bioactif à 100% Ffigure

Figure 14. effet des extraits bioactifs de thym sur la croissance de *lactobacillus bulgaricus*.

L'analyse de variance dévoile l'effet inhibiteur très significatif des solutions d'extraits de *thymus vulgaris* sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus*

Tableau5. Effet des différentes dilutions d'extraits bioactifs de *thymus vulgaris* sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus*.

Solutions expérimentales		Nombre de colonies (UFC/ml).	Groupes homogènes					Effets de la concentration des extraits au thym
Concentration d'extrait au méthanol de thym	0%	128.10 ⁴	a					** P<0.01)
	20%	84.10 ⁴		b				
	40%	52,33.10 ⁴			c			
	60%	32,67.10 ⁴				d		
	80%	0					e	
	100%	0					e	

note : ** : Effet hautement significatif du facteur étudié : concentration d'extrait de méthanol de *thymus vulgaris* , X : moyenne, n : nombre de répétition, p : seuil de probabilité, UFC : Unité Formant Colonie, a, b, c, d, :groupes homogènes des comparaisons des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

1-1-2 Diamètres d'inhibitions

Les diamètres d'inhibitions développés par les différents extraits de méthanol à base de bioactifs de *thymus vulgaris* sont illustrés dans la (figure 15)

Les effets d'inhibition effectués par la méthode des disques montrent que le diamètre de la zone d'inhibition est d'autant plus remarquable que la solution est plus concentrée en extrait de méthanol de *thymus vulgaris* . Le diamètre d'inhibition le plus faible ($p < 0,01$) est réalisé avec un taux d'extrait de thym de 20% et 40% et 60% , 5,67 , 7,33 , 8,33 mm, en moyenne respectivement.

Par contre, le diamètre d'inhibition le plus élevé est obtenu avec les extraits bioactifs de *thymus vulgaris* Préparés à 100% ; soit une valeur de l'ordre de 13,33 mm, en moyenne ($p < 0,01$).

Le dernier diamètre d'inhibition de l'extrait pure de *thymus vulgaris* est comparable a celui de la pénicilline ($p < 0,005$) ; 17,33 mm en moyenne .Tandis que pour le témoin 0%, aucune zone +d'inhibition n'a été détectée (**Tableau6**).

L'analyse de variance dévoile l'effet hautement significatif du facteur étudié (concentration des extraits de thym) sur les variations des diamètres des zones d'inhibition chez l'espèce *Lactobacillus bulgaricus*.

Tableau 6. Effet des différentes dilutions d'extrait de *Thymus vulgaris* sur les variances des diamètres d'inhibition chez *Lactobacillus bulgaricus*.

**** : Effet hautement significatif, $\bar{X}$: moyenne, n : nombre de répétition, p : seuil de probabilité, UFC : Unité Formant Colonies ; a, b, c, d : Groupes homogènes de comparaison statistique des moyennes deux à deux selon le test de Newman et keuls.**

Solutions expérimentales		Diamètre d'inhibition (mm)	Ecart type	Groupes homogènes						Effets de la concentration des extraits au thym
Concentration d'extrait au méthanol de <i>thymus vulgaris</i>	0%	0	0						f	** (P<0.01)
	20%	5,67	0,58					e		
	40%	7,33	0,58				d			
	60%	8,33	0.58				d			
	80%	10,67	0,58			c				
	100%	13,33	1,16		b					
Pénicilline		17,33	1.16	a						



a. Extrait à 20%



b. Extrait à 40%



c.Extrait à 60 %

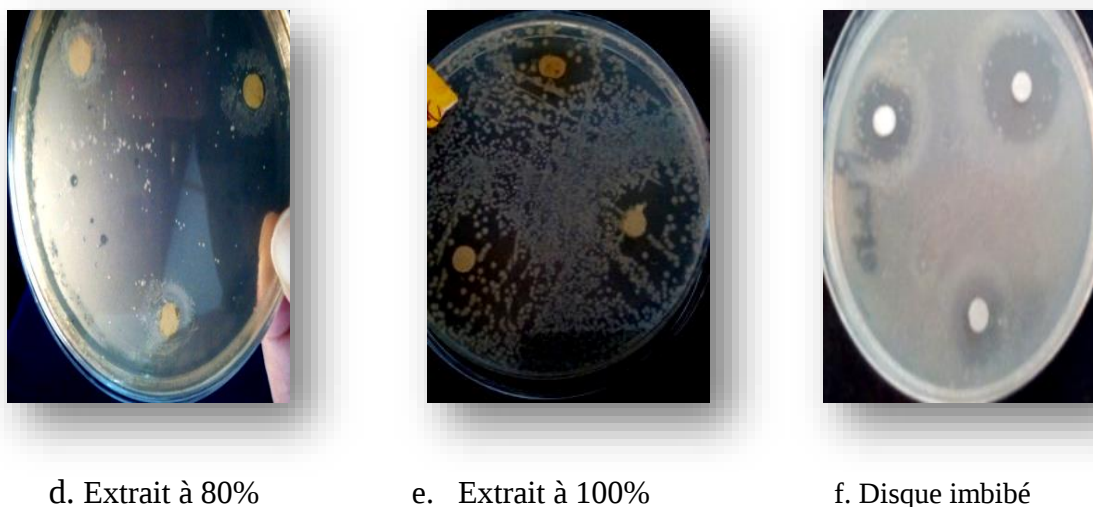


Figure15. Diamètres d'inhibition des solutions hydro-alcooliques de l'extrait de thym , ainsi que de la pénicilline chez *Lactobacillus bulgaricus*.

1-1-3 Taux d'inhibition :

Le taux d'inhibition de *lactobacillus bulgaricus* le plus faible ($p < 0,01$) est réalisé avec la dilution d'extrait de méthanol de *thymus vulgaris* préparé à 20% ; 32,69% en moyenne. Puis, les taux d'inhibition sont rehaussés à des taux significativement plus élevés ($p < 0,01$), variant de (42,31% et 48,08 %,) pour les extraits préparés à 40%, 60%, successivement.

Ensuite, les extraits préparés à 80 et 100% ont induit des résultats beaucoup plus importants comparativement à la solution précédente ($p < 0,01$) ; 61,54%, 76,92% en moyenne respectivement.

La pénicilline a enregistré le taux d'inhibition révérenciel le plus élevé par comparaison aux différentes solutions d'extraits de thym 100%**(Tableau7)**.

L'analyse de variance montre l'effet majeur de la concentration d'extraits de thym (*Thymus vulgaris*) sur la variation des taux d'inhibitions de l'espèce *Lactobacillus bulgaricus*.**(Tableau7)**

Tableau7. Effet des différentes dilutions d'extrait de *Thymus vulgaris* sur les variances des taux d'inhibition chez le *Lactobacillus bulgaricus*.

Solutions expérimentales		Taux d'inhibition (%)	Ecart type	Groupes homogènes						Effets de la concentration des extraits au thym
concentration d'extrait au méthanol de <i>thymus vulgaris</i>	0%	0	0						f	** (P<0.01)
	20%	32,69	3,33					e		
	40%	42,31	3,33				d			
	60%	48,08	3,33				d			
	80%	61,54	3,33			c				
	100%	76,92	6,66		b					
Pénicilline		100	0	a						

**** :** Effet hautement significatif, **X :** moyenne, **n :** nombre de répétition, **p :** seuil de probabilité, **UFC :** Unité Formant Colonies ; **a, b, c, d :** Groupes homogènes de comparaison statistique des moyennes deux à deux selon le test de Newman et keuls.

1-1-4 Concentration Minimale Inhibitrice: CMI

L'extrait bioactifs préparé à 20% , 40% et 60% laisse un taux de survie de l'espèce bactérienne de *lactobacillus bulgaricus* d'environ 76,22, 37 et 0,45 % Respectivement ; alors qu'à des taux d'extraits des composés bioactifs supérieurs ce microorganisme s'avère incapable de survivre après 18 heures d'incubation à 37C°.

C'est à partir de l'extrait préparé à 80% que la croissance de *lactobacillus bulgaricus* s'annule d'une manière absolue ; cette concentration est retenue comme étant la concentration minimale inhibitrice (figure 16, tableau 08.)

Tableau 08. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice d'extrait de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus*.

La souche étudiée	Densité optique	Témoin	Concentration des extraits de méthanol de <i>thymus vulgaris</i>				
		0%	20%	40%	60%	80%	100%
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	di	0,020	1,18	1,647	1,854	1,988	2,001
	df	0,458	1,513	1, 745	1, 856	1,989	2,002
	df-di	0,438	0,333	0,098	0,002	0,001	0,001
	S (%)	100%	76%	22,37%	0	0	0
CMI	CMI = 80%						

df-di : différence de densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures ; S : Taux de survie du microorganisme en %. CMI : concentration minimale inhibitrice .

1-1-5 Concentration Minimale Bactéricide(CMB) :

A travers la figure 16 il apparait que l'extrait préparé à 20,40,60 et 80% n'a pas inhibé totalement la croissance de *lactobacillus bulgaricus* . cependant l'extrait au méthanol de *thymus vulgaris* préparé à 40% a engendré un pourcentage de survie proche de 0,01% de l'espèce bactérienne *lactobacillus bulgaricus* : cette solution à base des composés bioactifs de thym constitue donc la CMB .

Il résulte enfin, à partir du rapport CMB/CMI obtenu et de l'ordre 1,33 l'extrait expérimentale exerce un effet inhibiteur de type bactéricide sur l'espèce étudiée *lactobacillus bulgaricus*

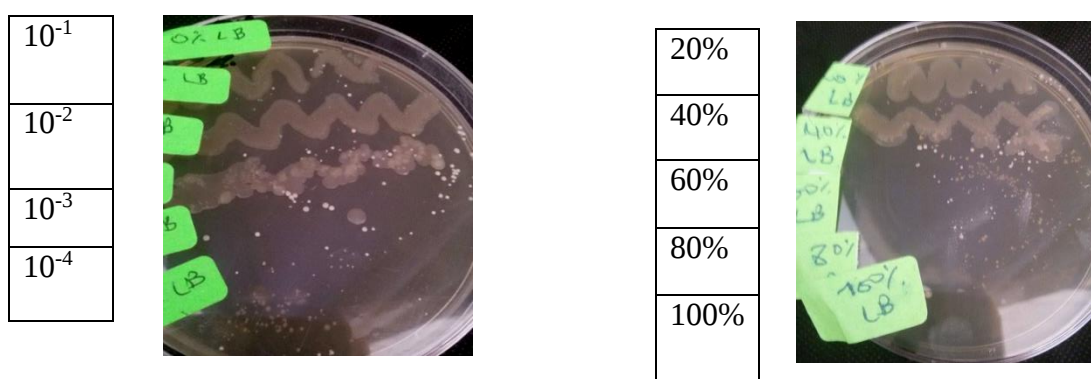


Figure 16 .Détermination de la concentration minimale bactéricide de l'extrait *Thymus vulgaris* chez *Lactobacillus bulgaricus*.

Tableau 9. Action inhibitrice des extraits bioactifs de *thymus vulgaris* sur la croissance de *lactobacillus bulgaris*

Désignation	CMB	CMI	CMB/CMI	Type d'inhibition des extraits bioactifs
Solution active d'extrait de <i>thymus vulgaris</i>	60%	80%	0 ,75	Bactéricide
Normes	• D'après (olivier,2007) : { CMB/CMI ≤2 (effet bactéricide) { CMB/CMI ≥2 (effet bactériostatique) • D'après (Marmonier ,1990) - CMB/CMI ≤4 (effet bactéricide) - CMB/CMI≥4 (effet bactériostatique)			

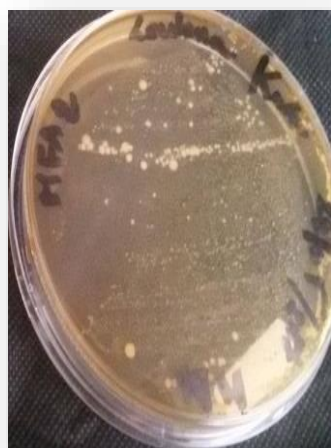
1-2 *Streptococcus thermophilus*

1-2-1 Méthode de contact direct :

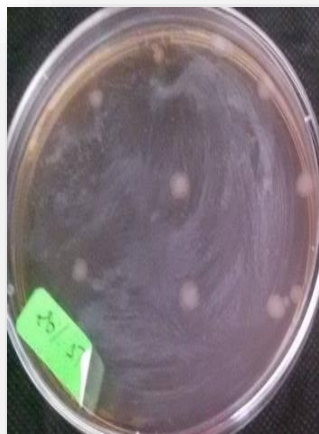
Les résultats de l'effet d'extrait de méthanol de *Thymus vulgaris* sur la bactérie *Streptococcus thermophilus* sont représentés dans le (Tableau10).

Les extraits de méthanol du thym préparé à 20 et 40% révèlent de faibles taux ($p < 0,01$) de croissance de *streptococcus thermophilus* par rapport à celui de témoin à base de l'eau distillée stérile $82,67.10^4$ et $62,33.10^4$ vs $131,67.10^4$ UFC/ml .

La prolifération de ce microorganisme continue à diminuer ($p < 0,01$) en présence d'extrait bioactif préparé à 60% ; 35.10^4 UFC/ml. par ailleurs les solutions d'extractions préparées à 80% on exercé une action bactéricide sur *streptococcus thermophilus* ; ainsi aucun développement de cette espèce n'a été observé.



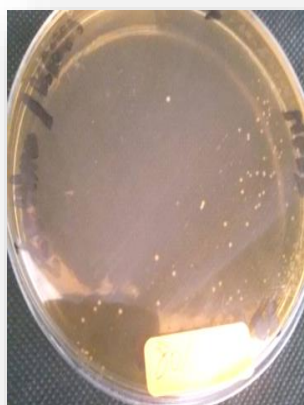
a. Extrait bioactif a 00%



b.Extrait bioactif à 20%



c.Extrait bioactif à 40%



d. Extait bioactif à 60%



e.Extrait bioactif à 80%



f.Extrait bioactif à 100%

Figure 17. Effet des extraits bioactifs de thym sur la croissance de *streptococcus thermophilus*

L'analyse de variance dévoile l'effet inhibiteur très significatif des solutions d'extraits de *thymus vulgaris* sur la croissance de *streptococcus thermophilus* (**tableau 10**)

Tableau10. Effet des différentes dilutions d'extrait de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Streptococcus thermophilus*.

Solutions expérimentales		Nombre de colonies (UFC/ml)	Groupes homogènes					Effets de la concentration des extraits au thym
concentration d'extrait au méthanol de <i>thymus vulgaris</i>	0%	131,67.10 ⁴	a					** (P<0.01)
	20%	82,66.10 ⁴		b				
	40%	62,33.10 ⁴			c			
	60%	35.10 ⁴				d		
	80%	0					e	
	100%	0					e	

****** : Effet hautement significatif, **X** : moyenne, **n** : nombre de répétition, **p** : seuil de probabilité, **UFC** : Unité Formant Colonies ; **a, b, c, d** : Groupes homogènes de comparaison statistique des moyennes deux à deux selon le test de Newman et keuls.

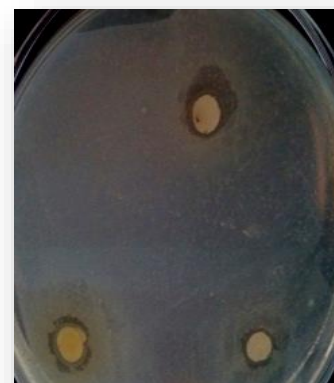
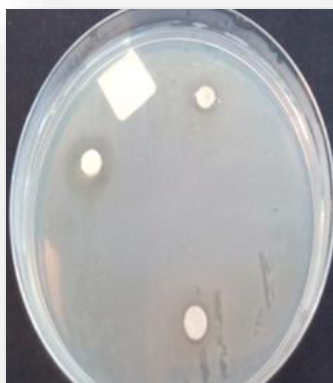
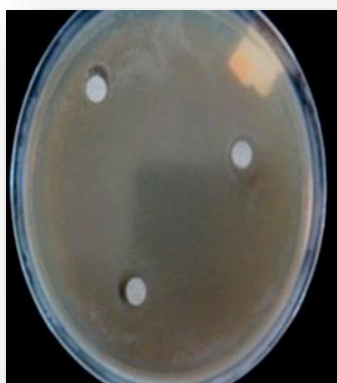
1-2-Diamètre d'inhibition :

Les diamètres d'inhibitions développés par les différents extraits de méthanol à base de bioactifs de *thymus vulgaris* sont illustrés dans la (figure 18)

a. Extrait à 20%

b. Extrait à 40%

c. Extrait à 60%





d. Extrait à 80%

f. Extrait à 100%

e. Disque imbibé de pénicilline

Figure18. Effet des solutions d'extrait hydro-méthanolique de *Thymus vulgaris* préparées à (20,40, 60, 80,100%) et de la pénicilline sur le diamètre d'inhibition chez *Streptococcus thermophilus*

Les effets d'inhibition effectués par la méthode des disques montrent que le diamètre de la zone d'inhibition est d'autant plus remarquable que la solution est plus concentrée en extrait de méthanol de *thymus vulgaris*.

Le diamètre d'inhibition le plus faible ($p < 0,01$) est réalisé avec un taux d'extrait de thym de 20% et 40% et 60% ; 5,33 , 6,67 , 8,33 mm, en moyenne respectivement.

Par contre, le diamètre d'inhibition le plus élevé est obtenu avec les extraits bioactifs de *thymus vulgaris* Préparés à 80,100% ; soit une valeur de l'ordre de 10,67 et 12,67 mm, en moyenne ($p < 0,01$).

Le dernier diamètre d'inhibition de l'extrait pure de *thymus vulgaris* est comparable a celui de la pénicilline ($p < 0,005$) ; 20 mm en moyenne .Tandis que pour le témoin 0%, aucune zone d'inhibition n'a été détectée (**Tableau11**).

L'analyse de variance dévoile l'effet hautement significatif du facteur étudié (concentration des extraits de thym) sur les variations des diamètres des zones d'inhibition chez l'espèce *sreptococcus thermophilus*.

Tableau11. Effet des différentes dilutions d'extrait de *Thymus vulgaris* sur les variances des diamètres d'inhibition chez le *Streptococcus thermophilus*.

Solutions expérimentales		Diamètre d'inhibition (mm)	Ecart type	Groupes homogènes						Effets de la concentration des extraits au thym
Concentration d'extrait au méthanol de <i>thymus vulgaris</i>	0%	0	0						f	** (P<0.01)
	20%	5,33	0,58					e		
	40%	6,67	0,58					e		
	60%	8,33	0,58				d			
	80%	10,67	0,58			c				
	100%	12,67	0,58		b					
Pénicilline		20	2	a						

**** : Effet hautement significatif, X : moyenne, n : nombre de répétition, p : seuil de probabilité, UFC : Unité Formant Colonies ; a, b, c, d : Groupes homogènes de comparaison statistique des moyennes deux à deux selon le test de Newman et keuls.**

1-2-3 Taux d'inhibition :

Les taux d'inhibition de *streptococcus thermophilus* les plus faibles ($p < 0,01$) sont réalisés avec des extraits au méthanol de thym préparée à 20% et 40% ; 26,67%, 33,33% successivement en moyenne.

Les extraits préparés à 60%, 80% et 100% ont induit des résultats d'inhibitions plus ou moins important comparativement au reste des solutions expérimentales ; 41,67%, 53,33% et 63,33% en moyenne. La pénicilline a enregistré le taux d'inhibition révérenciel le plus élevé par comparaison aux différentes solutions d'extraits de thym 100% (**Tableau 12**).

L'analyse de variance montre l'effet majeur de la concentration d'extraits de thym (*Thymus vulgaris*) sur la variation des taux d'inhibitions de l'espèce *streptococcus thermophilus* .(**Tableau12**)

Tableau12. Effet des différentes dilutions d'extrait de *Thymus vulgaris* sur les variances des taux d'inhibition chez le *Streptococcus thermophilus*.

Concentration d'extrait de méthanol de <i>thymus vulgaris</i>		Taux d'inhibition. (%)	Ecart type	Groupes homogènes						Effets de la concentration des extraits au thym	
concentration d'extrait au méthanol de <i>thymus vulgaris</i>	0%	0	0							g	** (P<0.01)
	20%	26,67	2,887						f		
	40%	33,33	2,887					e			
	60%	41,67	2,887				d				
	80%	53,33	2,887			c					
	100%	63,33	2,887		b						
Pénicilline		100	0	a							

****** : Effet hautement significatif, X : moyenne, n : nombre de répétition, p : seuil de probabilité, UFC : Unité Formant Colonies ; a, b, c, d : Groupes homogènes de comparaison statistique des moyennes deux à deux selon le test de Newman et keuls.

1-2-4 Concentration Minimale Inhibitrice : CMI.

L'extrait bioactifs préparé à 20% , 40% et 60% laisse un taux de survie de l'espèce bactérienne de *streptococcus thermophilus* d'environ 35,11 Et 10,93 % Respectivement ; alors qu'à des taux d'extraits des composés bioactifs supérieurs ce microorganisme s'avère incapable de survivre après 18 heures d'incubation à 37C°.

C'est à partir de l'extrait préparé à 60% que la croissance de *streptococcus thermophilus* s'annule d'une manière absolue ; cette concentration est retenue comme étant la concentration minimale inhibitrice (**Figure19, Tableau 13.**)

Tableau13. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice d'extrait de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Streptococcus thermophilus*.

La souche étudiée	Densité optique	Témoin	Concentration des extraits à l'hexane de thym				
		0%	20%	40%	60%	80%	100%
<i>Streptococcus thermophilus</i>	di	0,015	1,149	1,177	1,551	1,673	1,711
	df	0,958	1,480	1,280	1,553	1,674	1,712
	df-di	0,943	0,331	0,103	0,002	0,001	0,001
	S (%)	100	35,11%	10,93%	0	0	0
CMI	CMI = Extrait à 60%						

df-di : différence de densité optique dans la solution phénolique ensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures ; S : Taux de survie du microorganisme en %.

1-2-5 Concentration Minimale Bactéricide : CMB

A travers la figure19 il apparait que l'extrait préparé à 20 et 40% n'a pas inhibé totalement la croissance de *streptococcus thermophilus*. cependant l'extrait au méthanol de *thymus vulgaris* préparé à 60% a engendré un pourcentage de survie proche de 0,01% de l'espèce bactérienne *streptococcus thermophilus* : cette solution à base des composés bioactifs de thym constitue donc la CMB.

Il résulte enfin, à partir du rapport CMB/CMI obtenu et de l'ordre 1 l'extrait expérimentale exerce un effet inhibiteur de type bactéricide sur l'espèce étudiée *streptococcus thermophilus* (**Figure19, tableau 14**)

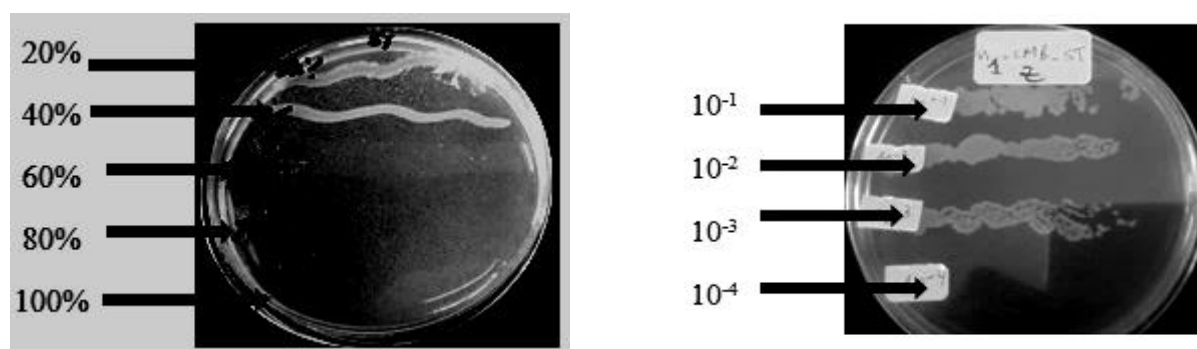


Figure 19. Détermination de la concentration minimale bactéricide de l'extrait *Thymus vulgaris* sur le *Streptococcus thermophilus*

Tableau14. Action inhibitrice des extraits bioactifs de *thymus vulgaris* sur la croissance de *streptococcus thermophilus* .

Désignation	CMB	CMI	CMB/CMI	Type d'inhibition des extraits bioactifs
Solution active d'extrait de <i>thymus vulgaris</i>	60%	60%	01	Bactéricide
Normes	• D'après (olivier,2007) : { CMB/CMI ≤2 (effet bactéricide) { CMB/CMI ≥2 (effet bactériostatique) • D'après (Marmonier ,1990) - CMB/CMI ≤4 (effet bactéricide) - CMB/CMI≥4 (effet bactériostatique)			

2-Discussion

Cette étude a porté sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait bioactif de *Thymus vulgaris* sur la croissance in-vitro de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* deux bactéries spécifiques de yaourt (**Makhloufi, 2012**).

Les extraits de Thym ont induit des diminutions hautement significatives ($P < 0,01$) sur la croissance de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Par comparaison au témoin, la régression de la croissance de ces deux espèces bactérienne étudiée commence à apparaître à 20% et 40% ; mais devient importantes surtout à 60% de l'extrait. Par ailleurs, aucun développement des *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* n'est observé en présence des extraits préparés à 80% et 100%. Ceci est certainement à l'effet antibactérien qu'exerce les extraits bioactifs sur les deux espèces étudiées.

En effet, plusieurs auteurs ont confirmé la présence de plusieurs composés bioactifs dans le Thym et qui possèdent un effet d'inhibition avéré contre de nombreux microorganismes (**Bazylco et Strzelecka, 2007**).

Plusieurs études portées sur le pouvoir antimicrobien de certains extraits de *thymus vulgaris* ont tous révélé d'importantes activités chez de nombreuses bactéries. (**Tabak et al., 1996**, **Ettayebi et al., 2000**, **Thuille et al., 2003**, **Bouhdid et al., 2006**)

De même, l'extrait acétonique de *Thymus vulgaris* a montré une activité inhibitrice à une concentration de 0.5 mg/ml contre la *Mycobacterium tuberculosis* (**Lall et Meyer, 1999**).

La méthode des disques a enregistré des résultats similaires entre l'antibiotique (pénicilline) et l'extrait au méthanol du Thym préparé à 100% ; 17,33 ; 20 mm respectivement en moyenne pour les *Lactobacillus bulgaricus* 13,33 et 12,67 mm, en moyenne chez les *Streptococcus thermophilus*.

Par ailleurs, Les extraits préparés à 40%, 60%, 80% et 100% ont marqué des taux d'inhibition de *Lactobacillus bulgaricus* très élevés variant de 42,31 à 76,92%, alors que celui préparé à 20% enregistre une valeur très faible de 32,69%.

Concernant les *Streptococcus thermophilus* il a été observé que les extraits préparés de 40 à 100% ont enregistré des taux d'inhibition élevés variant de 33,33% à 63,33%, alors que celui préparé à 20% a marqué une valeur de 26,67%

Ainsi nos résultats montrent que l'extrait bioactifs à préparé divers concentration et manifeste une activité antibactérienne certaine sur la croissance in-vitro de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* selon une relation dose-réponse .Cela nous permet de déterminer les différents paramètres antibactérienne de l'extrait contre les deux espèces étudiées à savoir la concentration minimale inhibitrice(CMI) et la concentration minimale bactéricide(CMB).

L'analyse de la CMI et la CMB montre que *Streptococcus thermophilus* est sensible à 60% d'extraits bioactifs de Thym avec un rapport de (CMI/CMB=1) ;par contre *Lactobacillus bulgaricus* est sensible à avec un rapport de (CMI/CMB=0,75) .D'après **(Oliver,2007)** étant donné que ce rapport est inférieur ou égale à 2 l'extrait à l'éthanol exerce donc un effet de type bactéricide chez les deux espèces (St et Lb).**(Marmonier,1990)**,rapporte d'autre part que lorsque le rapport CMB/CMI d'une substance antibactérienne est inférieur ou égale à 4 ceci suppose qu'elle présente un effet bactéricide ;alors que si le rapport est supérieur à 4 elle présente plutôt un effet dit bactériostatique .Ainsi d'une façon globale , les extraits bioactifs expérimentales semblent exercer un effet bactéricide très intéressant vis-à-vis de c'est deux espèces . Son incorporation dans le yaourt devra se faire à des concentrations de moins de 20%.

Malgré que le pénicilline présenté le même effet antibactérienne contre les deux souche étudiées que le extrait bioactifs de Thym ;cette antibiotique peut présenté néanmoins des toxicités graves surtout au niveaux rénale :rétention azotée avec augmentation de l'urée sanguin et perte d'électrolyte .D'ou l'intérêt des chercher d'autre principes actifs des plante médicinales dont ceux de Thymol pouvant se substituer aux traitements conventionnelles à base notamment d'antibiotiques dans l'usage abusif peut avoir des effets secondaires sue la santé humaine **(Amboise,1998)**

A ce propos, il est bien établi que l'efficacité thérapeutique de thymol de Thym est utilisé en cas de fatigue générale, comme anti-infectieux et pour le traitement de l'asthme **(Bonnier et al, 1990)**.

Ainsi, il apparaît que les extraits bioactifs de l'espèce végétale hydroéthanolique *Thymus vulgaris* récoltées dans la région de Sétif l'est d'Algérie et obtenus par extraction par macération ont inhibés la prolifération de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* .

Dans notre étude nous nous sommes intéressés à l'effet antimicrobien des composés bioactifs du *Thymus vulgaris* extraits de la plante par usage d'un solvant (Méthanol) sur les deux germes spécifiques de yaourts *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

L'étude montrée que le degré d'inhibition dépend de la concentration utilisée d'extrait. Ainsi, plus la concentration est importante plus l'effet inhibiteur de ces bactéries sont remarquables.

Les Diamètres d'inhibitions les plus élevés sont réalisés avec les extraits méthanoliques de *Thymus vulgaris* à 60%, 80%, 100% ; alors que l'extrait aqueux ont présenté des résultats moins élevés à ces niveaux de concentration.

Les meilleurs taux d'inhibition de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* sont également obtenus avec les extraits de *Thymus vulgaris* préparés à 60%, 80%, 100%.

La Concentration Minimal Inhibitrice de la croissance de *Streptococcus thermophilus* est observée avec la solution préparée à 60% de l'extrait de thymus vulgaris ; alors que la Concentration Minimale Bactéricide est enregistrée à 60% de l'extrait au méthanol de thym.

Par ailleurs, la Concentration Minimal Inhibitrice de la croissance de *Lactobacillus bulgaricus* est déterminée avec la solution préparée aussi à 60% de l'extrait de thymus vulgaris ; par contre la Concentration Minimal Bactéricide est enregistrée à 80% d'extrait au méthanol de thym.

Enfin, notre étude a montré que les extraits méthanoliques de *Thymus vulgaris* exercent un effet de type bactéricide sur les deux bactéries étudiées *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

En perspective, il serait fort judicieux de reconduire cette étude afin de confirmer les résultats trouvés. Il est aussi très intéressant d'essayer d'approfondir nos connaissances sur le mécanisme d'action bactéricides et/ou bactériostatique des principaux composants extraits de la plante *Thymus vulgaris* vis-à-vis des deux germes spécifiques du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Résumé

Ce travail a porté sur l'étude de l'effet des extraits au méthanol de *Thymus vulgaris* récolté dans la wilaya de Sétif au nord Est d'Algérie sur les deux germes spécifiques du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Les principaux composés bioactifs de Thym ont été extraits par macération d'une prise d'échantillon des matières végétales broyées dans une solution aqueuse de méthanol.

Après évaporation sous vide du méthanol, Les extraits obtenus ont été dilués à 20%, 40%, 60%, 80 et 100%. Les mesures et contrôles ont été réalisés en triples essais et concerné la méthode de contact direct, la méthode de diffusion sur disques, la CMI et la CMB.

L'étude a montré que l'accroissement des concentrations en extraits bioactifs de *thymus vulgaris* a engendré une forte activité bactérienne contre *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* ; avec des diamètres d'inhibitions qui varient de 5,33 à 12,67 mm et de 5,67 à 13,33 mm ; des taux d'inhibitions qui oscillent de 26,67 à 63,33 % et de 32,69 à 76,92 % est une croissance microbienne qui varie de $131,67 \cdot 10^4$ UFC/ml et de $128 \cdot 10^4$ UFC/ml respectivement.

La concentration minimale inhibitrice et la concentration minimale bactéricide sont obtenues avec l'extrait de thym préparé à 60% pour *streptococcus thermophilus* ; par contre La concentration minimale inhibitrice pour *Lactobacillus bulgaricus* est obtenue avec l'extrait préparé à 80% et la concentration minimale bactéricide observée à 60%. Ainsi le rapport CMB/CMI égale à 1 et 0,75 respectivement.

L'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris* de Sétif semble exercer un effet de type bactéricide sur les deux germes spécifiques de yaourt *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Mots clés : *Thymus vulgaris* ; *Lactobacillus bulgaricus* ; *Streptococcus thermophilus* ; extrait ; activité antimicrobienne ; effet inhibiteur ; CMB ; CMI ; Taux de croissance ; Diamètre d'inhibition.

Abstract

This study examined the effect of methanol extracts of *Thymus vulgaris* harvested in the wilaya of Setif in northeastern Algeria on the two specific germs of yoghurt, namely *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. The main bioactive compounds Of Thym were extracted by maceration of a sample of the crushed plant material in an aqueous methanol solution.

After evaporation in vacuo of the methanol, the extracts obtained were diluted to 20%, 40%, 60%, 80 and 100%. The measurements and controls were carried out in triple tests and concerned the direct contact method, the diffusion method on disks, the CMI and the CMB.

The study showed that increasing concentrations of bioactive extracts of *thymus vulgaris* resulted in strong bacterial activity against *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*; With inhibition diameters varying from 5.33 to 12.67 mm and from 5.67 to 13.33 mm, with inhibition levels ranging from 26.67 to 63.33% and 32.69 to 76.92% is a microbial growth which varies from $131.67.10^4$ UFC / ml to 128.10^4 UFC / ml respectively.

The minimal inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration are obtained with the thyme extract prepared at 60% for *streptococcus thermophilus*; the minimal inhibitory concentration for *Lactobacillus bulgaricus* is obtained with the extract prepared at 80% and the minimum bactericidal concentration observed at 60%. Thus the CMB / CMI ratio is equal to 1 and 0.75 respectively.

The methanol extract of *Thymus vulgaris* of Setif appears to exert a bactericidal effect on the two specific germs of yoghurt *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*.

Key words: *Thymus vulgaris*; *streptococcus thermophilus*; *Lactobacillus bulgaricus*; extract; antimicrobial activity; inhibitory effect; CMB; CMI; Rate of growth; Inhibition diameter.

A.

1. **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.
2. **A.F.N.O.R.**, « Les huiles essentiels », analyse par chromatographie en phase gazeuse Sur colonne capillaire chirale méthode générale T75-425, Mai 1997. Propriété générale ,53
3. **Alilou H., Hassani L. M. I., Barka N., Bencharki B., 2014.** Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscus graveolens* subsp. *odorus.*, Afrique Science 10(3) 316 – 328.
4. **Almas, K. and N.H. Al-Bagieh, 1999.** The Antimicrobial effects of bark and pulp extracts of miswak, *Salvadora persica*. Biomed Letters., 60: 71-75.
5. **Almas, K., 2001.** The Antimicrobial effects of seven different types of asian chewing sticks. Odonto-Stomatologie Tropicale., 96: 17-20.
6. **Amiot, J. (2005).** *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires, Montpellier, ENSA.
7. **Ammour M. S. (2004).** écosystème microbien d'un atelier fermier de salaison Identification et propriétés des bactéries lactiques. Thèse doctorat Agrocampus Rennes.
8. **ANONYME. (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO : Alimentation et nutrition, 28.
9. **Anonyme,** « Saveurs du monde / thym historique», 1998.(55).

B.

1. **BAZYLKO A. et STRELECKA H. 2007.** A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts. *Fitoterapia.*, **78** : 391-395.
2. **Balladin D.A; Headley, O. (1999).** Evaluation of solar dried thyme (*Thymus vulgaris* Linné) herbs. Renewable Energy. 17: 523-531.

- 3. Bekhouche Farida. (2006).** Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et Identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase. Thèse de doctorat d'état en microbiologie et enzymologie option : génie alimentaire. Université De Mentouri Constantine Institut De La Nutrition De L'alimentation Et Des Technologies
- 4. Bolivar P., Cruz-Parades C., Hernandez L. R., Juarez Z. N., Sanchez-Arreola E., Av-Gay Y., Bach H., 2011.** Antimicrobial, anti-inflammatory, antiparasitic, and cytotoxic activities of *Galium mexicanum*, Journal of Ethnopharmacology,137. 141– 147, published by Elsevier Ireland Ltd.
- 5. Bourgeois, C. M. and J.Y. Leveau, 1980.** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Volume 3 : Le contrôle microbiologique. Lavoisier : Tech. Et Doc., pp : 331.
- 6. Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, Editions Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 1120p.
- 6. BERGAMAIER D. (2002).** Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées de *Lactobacillus rhamnosus* RW-959M dans un milieu à base de permeat de lactosérum. Thèse de doctorat, Université de Laval, Canada.
- 7. Bergy's manual. (2009)).** Systematic of bacteriology. Second Edition. Volume three the firmicutes. Edition springer
- 8. Boudjemaa Khaled. (2008).**Essai d'optimisation de la production d'acide lactique sur lactisérum par *Streptococcus thermophilus*. Mémoire de magister. option biochimie et microbiologie appliquées. Université M'Hmed Bougara -Boumerdés
- 9. 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.

9. Bourgeois, C. M. and J.Y. Leveau, 1980. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Volume 3 : Le contrôle microbiologique. Lavoisier : Tech. Et Doc., pp : 331.

10. Bruneton J. (1999) Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3ème Ed Tec&Doc. Paris.

C.

1. Calvez. S ; Belguesmia. Y ; Kergourley. G.(2009). in bactériocines : de la synthèse aux applications in bactéries lactiques :physiologique , métabolisme, génomique et applications industrielles édition : Economica .2009. p 100-122.

2. Chaovanalikit, A. and R.E. Wrolstad, 2014. Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. J. Food Sci., 69: 67-72.

3. COURTIN P., MONNET M. and RUL F. (2002).Cell-wall proteinases PrtS and PrtB have a different role in streptococcus thermophilus/ Lactobacillus bulgaricus mixed cultures in milk. Microbiology, 148, 3413-3421.

4. Cowan M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*., 12 (4) : 564-570.

D.

1. DELLAGLIO F., DE ROSSARTH H., TORRIANIS S., CURK M. ET JANSSENS D. Caractérisation générale des bactéries lactiques. Tec&Doc (Eds), Loriga,.(1994).

Denis, F., E. Bingen, C. Martin, M.C. Ploy and R. Quentin, 2011. Bactériologie Médicale. 2nd Edn., Elsevier Masson, Paris, ISBN: 9782294725944, Pages: 640.

2. DESMAZEAUD M.J. et DE ROISSARD H.1992. Métabolisme général des bactéries lactiques, Bactéries lactiques, aspects fondamentaux et technologiques. Ed. Loriga Uriage. 1, 169 -207.

3. **Desmazeaud, M. (1996).** Les bactéries lactiques dans : L'alimentation humaines : utilisation et innocuité. Cahiers Agricultures, 5, pp: 331-343.
4. **De Roissart H.B. (1986).** Les bactéries lactiques. Dans : le lait et les produits laitiers. Luquet F. M., 3, Ed. Techniques et Documentations Lavoisier. Paris, pp: 343-407
5. **De Roissart, H. et Luquet, F.M. (1994).** Les bactéries lactiques. Uriage, Lorica, France, vol. 1. pp. 1-286
6. **Denis, F., E. Bingen, C. Martin, M.C. Ploy and R. Quentin, 2011.** BacteriologieMedicale. 2nd Edn., Elsevier Masson, Paris, ISBN: 9782294725944, Pages: 640.
7. **DOLEYRES Y. (2003).** Production en conteneur du ferment lactique probiotique par la technologie des cellules immobilisées. Thèse doctorat. Université de Laval. Quebec. 167 pages.
8. **Dolczil, L. et Kirsop B.H., (1977)** The use of the API Lactobacillus system for the caractérisation of pediococci. J. Appl. Bact., 42,213-217.
- 9.**Dohou N., Tahrouch S., Hassani L. M. I., Badoc A., Gmira N., Yamni K.. 2003.** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelya lythroides.*, Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 142, 61-78.

E.

1. **Ettayebi K., El Yamani J., Rossi-Hassani B. D. (2000)** Synergistic effects of nisin and thymol on antimicrobial activities in *Listeria monocytogenes* and *Bacillus subtilis*. FEMS Microbiology Letters. 183:191-195.

F.

1. **Francois T., Pierre M.J.D., Modeste L.S., Edwige N.M., Guy B.T.F., Paul H H.A.Z., Chantal M.,** Activité larvicide sur anophèles gambiae Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun, Biotechnol., Agron. Soc. Environ. 13 (1) (2009) 77-84.

G..

1. **Guignard. J. L., 2000.** Biochime végétale. Duod Paris, pp 274.

2. **Guillén M. D., Manzanos M. J. (1998)** Study of the composition of the different parts of a Spanish Thymus Vulgaris L. plqnt. Food chemistry. 63 (3) : 373-383.

H.

1. **Holzapfel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J. and Schillinger, U. (2001).** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. Am. J. Clin. Nutr. 73(suppl): 365S–73S.

2. **Hudaib M., Speroni E., Pietra A. M. D., Carvin V. (2002)** GC/MS evaluation of thyme (Thymus vulgaris L.) oil composition and variations during vegetative cycle. J. Pharmaceutical and Biomedicul Analysis 29: 691-700.

I.

1. **Iserin P. (2001)** Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème Ed. Larousse. Londres Pp : 143 et 225-226.

J.

1. **JALAS J., 1971** - Note of *Thymus* L. (*Labiatae*) in Europe.I. Supraspecific classification and nomenclature. *Botanical Journal of the Linnean Society*, N° 64, pp. 199-215.

2. **J.GOUST**, «Thymus et sarriette» éd. Par Actes Sus ? collection Chroniques du potager,1999.(53).

3. **JordánM.J. ,Martínee R.M. , K.L. Goodner , Baldwin E.A. , Stomayor J.A. (2006)** Seasonl Variation of Thymus vulgaris L. essential oils composition. *IndustrialCrops and products* 24: 253-263.

4.**Jerez, M., M. Pinelo, J. Sineiro and M.J. Nunez, 2006.** Influence of extraction conditions on phenolic yields from pine bark: Assessment of procyanidins polymerization degree by thiolysis. Food Chem., 94: 406-414

K.

1. KABOUCHE A., KABOUCHE Z. ET BRUNEAU C., 2005 - Analysis of the essential oil of *Thymus numidicus* (Poiret) from Algeria. *Flavour and Fragrance Journal*, N° 20, pp. 235-236.

2. Kaloustian, J., T. F. El-Moselhy and H. Portugal (2003). "Chemical and thermal analysis of the biopolymers in thyme (*Thymus vulgaris*)."
*Thermochimica Acta***401**(2): 77-86.

3. Kitajima, J., T. Ishikawa, A. Urabe and M. Satoh (2004). "Monoterpenoids and their glycosides from the leaf of thyme." *Phytochemistry***65**(24): 3279-3287

4. Kra, A.K.M., 2001. Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISC A contre *Aspergillus fumigatus*. *Thèse de doctorat 3ème cycle* UFR Biosciences.Univ. Abidjan., pp: 126.

5. Kulšić T., Dragovic-Uzelac V., Miloš M. (2006) Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technol. Biotechnol.* 44 (4) : 485-492.

L.

1. LAMOUREUX L. (2000). Exploitation de l'activité β -galactosidase de culture de bifidobacteries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides. *Mémoire de maitrise*, Université de Laval, Canada.

2. LARPENT J.P. et SANGLIER J.J., (1989). *Biotechnologie des antibiotiques*. Ed. Masson, Paris 481 p.

3. Ledesma O V., De Ruiz Holgado A P., Olivier G., De Giori G S., Raibaud P., Galpin J V., 1977 - A synthetic medium for comparative nutritional studies of *Lactobacilli*. *J. Appl. Bacteriol.* Vol 42: pp123-133.

4. Lenoir J., Hermier J., Weber F., 1992 - Les groupes microbiens d'intéret, Ed Cidil : pp 30-50.

5. **LEORY F., DEGEEST B. and DE VUYST L. (2002).**A novel area of predictive modeling: describing the functionality of beneficial micro-organisms in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 73,251-259.
6. **LOONES A. (1994).** Lait fermenté par des bactéries lactiques. In « bactéries lactiques». Vol II. DE ROISSART H. et LUQUET F.M. ED. Loriga, Paris 37-151.
7. **Luquet F M., 1986** - Lait et produits laitiers (vache, brebis, chèvre, T3., qualité, énergie et tables décomposition). Ed .Technique et Documentation. Paris : pp 343- 442.
8. **Luhata P., Kanangila A. B., Kitawa E. K., Mulungulungu D., Lumbu J. B., Kalonda E., 2008.** Étude chimique de l'espèce *Jacobinia carnea*., Université de Lubumbashi.

M.

1. **MAHAUT M., JEANTET R., SCHAK P. et BRUL G. (2000).**Les produits industriels laitiers. Ed, techniques et documentation, Lavoisier, Paris. 26-40.
2. **Makhloufi .K. M. (2012)** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat de l'université pierre et marie curie. Spécialité : microbiologie, biochimie (école doctorale iviv)
3. **MARTY-TEYSSET C. DE LA TORRE F. and GAREL J-R. (2000).**Increased production of hydrogen peroxide by *Lactobacillus delbrueckii* *bulgaricus* upon aeration involvement *Applied and Environmental Microbiology*, 66(1), 262-267.
4. **Morales, R. (2002).** "The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*." *Thyme: the genus Thymus*: 1-43.
5. **Moroh, J.L.A., C. Bahi, K. Dje, Y.G. Loukou and F. Guede-guina, 2008.** *Study of the antibacterial activity of Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redhead (Rubiaceae) acetatic extract (ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* strains. *Bulletin Societe Royale des Sciences Liege*, 77: 44-61.

N.

1. NGOUNOU C., NDJOUENKEU R., MBOFUNG F. et NOUBI I. (2003). Mise en évidence de la biodisponibilité de calcium et du magnésium au cours de la fermentation du lait par des bactéries lactiques isolées du lait caillé du Zébu. *Journal of Food Engineering*, 57,301-307.

2. Novel, G. (1993). Les bactéries lactiques. Dans : Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel. Leveau, J.Y, Bouix, M., Tech. et Doc. Lavoisier Paris, pp: 170-374.

O.

1. Olivier G. Caractéristique et mode d'action des antibiotiques. 2007.

2. Özcan M. et Chalcha J. C. 2004. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L growing wild in Turkey. *Bulgarian journal of plant physiology.*,**30**(3-4) : 68-73.

P.

1. Pette, J.W., Lokema, H. Yoghurt. III. Zuurvorming en Aromavorming in Yoghurt. *Netherlands Milk Dairy J.* 1950;4:261.

2. Poletti A. (1988) Fleurs et plantes médicinales. 2ème Ed. *Delachaux&Nistlé S. A. Suisse.* Pp : 103 et 131.

3. Prescott, L.M., J.P. Harley and D.A. Klein, 2003. Microbiologie. De Boeck-Supérieur., pp: 1137.

4. Prescott, L.M., J.P. Harley and D.A. Klein, 2003. Microbiologie. De Boeck-Supérieur., pp: 1137.

Q.

1. Quezel P. et Santa S. (1962) Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales *EdC.N.R.S.* Tome I. 565 p.

2. QUEZEL P., SANTA S., 1963 - Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris, CNRS, Tome 1 et 2, 1170p.

R.

1. **Raynaud. S. (2006).** Régulation métabolique et transcriptionnelle de l'autoacidification chez *Lactococcus lactis*. Thèse de Doctorat, Spécialité : Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries Toulouse N° d'ordre : 826 pages : 309
2. **RICHARD H., 1992** - Epices et aromates. Ed. dec et doc Lavoisier, collection science et techniques alimentaires, Paris, 339 p.
3. **Ross.P. R ; Morgan, S. et Hill, C. (2002).** Preservation and Fermentation: present and future. *Int. J. Food. Microbiol.* 79: 3 – 16.
4. **ROUSSEL Y., PEBAY M.,GUEDON G.,SIMONET J.P. and DECARISN B. (1994).** Physical and genetic map of *streptococcus thermophiles* A054. *Journal of bacteriology*, 176(24), 7413-7422.
5. **Ranarivelo Y., 2004.** Les Grandes familles Chimiques de Produits Naturels, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.
- 6.**Rizk A. M., 1982.** Constituants of plants growing in Qatar, *Fitoterapia*, 52 (2), p 35-42.

S.

1. **Satura et Federighi (1998).** In Essai d'optimisation de la production d'acide lactique sur lactosérum par *Streptococcus thermophilus*. Mémoire de magister. Option biochimie et microbiologie appliquées. Université M'Hmed Bougara -Boumerdés
2. **SCHMIDT J.L., TOURNEUR C. et LENOIR J. (1994).** Fonction et choix des bactéries lactiques laitières in « bactéries lactiques» Vol II. DE ROISSART H. et LUQUET F.M.Ed. Loriga, paris. 37-46.
3. **S. ROBERT** , Notes de cours, Chimie organique 1, département de chimie-biologie, université de Québec, 1994(27).
- 4.**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.

5. 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.

T.

1. TEUSCHER, ANTON R, LOBSTEIN A., 2005 - Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Paris, Lavoisier, 522p.

2. Takeuchi H., Lu Z. G. et Fujita T. 2004. New monoterpenes glycoside from the aerial parts of Thyme (*Thymus vulgaris* L). *Bioscience, biotechnology and biochemistry.*, **68**(5) : 1113- 1134.

3. TAMIME A. Y., KALAB M. and DAVIES G. (1984). Microstructure of set-style yoghurt manufactured from cow's milk fortified by various methods. *Food Microstructure.* 3, 83-92.

4. TAMIME A.Y and ROBINSON R.K (1999). Yogurt science and technology. 2nd ED. Cambridge: wooldhead Publishing.

V.

1. VEISSYRE R., 1979. Technologie du lait, constitution, récolte, traitement et transformation du lait, 3eme édition, la maison rustique, Paris.714p.

Z.

1. Zrihi, G.N., A.K.M. Kra and D.T. Etien, 2007. Étude botanique et évaluation des activités antifongiques de *Mitracarpus villosus* (MV) (Rubiaceae) et *Spermacoce verticillata* (SV) (Rubiaceae) sur la croissance in vitro de *Aspergillus fumigatus*. *Revue Méd. Pharm. Afr.*, 20: 9-17.-

2. Zrihi, G.N., A.K.M. Kra and D.T. Etien, 2007. Étude botanique et évaluation des activités antifongiques de *Mitracarpus villosus* (MV) (Rubiaceae) et *Spermacoce verticillata* (SV) (Rubiaceae) sur la croissance in vitro de *Aspergillus fumigatus*. *Revue Méd. Pharm. Afr.*, 20: 9-17.

L'objectif de cette partie d'étude est de préparer de milieux de culture dont les pouvoirs de détection des flores bactérienne pourraient augmenter la capacité de mettre en évidence les microorganismes qui ne s'adaptent pas ou s'adaptent avec les différent extrait de *Thymus vulgaris*.

Les milieux qu'on compte préparer sont des milieux spécifiques basés sur les éléments constituant les milieux MRS et M17, Mueller Hinton : Extrait de levure, glucose extrait de pomme de terre , gélose, peptone...etc.

Ces milieux peuvent être rendus plus sélectifs et le développement des bactéries peut être aussi inhibé par l'adjonction d'antibiotiques (pénicilline) (**Guiraud, 2004**)

Méthodes de travail

1- Préparation des milieux de culture

Il existe de nombreux milieux de culture qui permettent de développement, la conservation , l'isolement, la sélection des micro-organismes. Ces milieux peuvent être soit trouvés dans le commerce sous forme de milieu prêts à l'emploi, soit fabriqués en laboratoire.

Ils se divisent en milieux complexe de composition chimique mal définie et en milieu synthétiques de composition chimique définie. (**Joseph Pierre Guirade ; 1998**).

• Préparation de milieu M.R.S (Man Rogosa et Sharpe, 1960)

- Extrait de viande.....10g
- Extrait de levure.....05g
- Acétate de sodium05g inhibiteur
- Phosphate bi potassique.....02g
- Citrate de magnésium.....0.25g
- Sulfate de manganèse.....0.05g
- Glucose20g
- Tween 8001 ml : agent sélectif
- Eau distillée1000 ml
- pH05

• **préparation de milieu M17 (Terzaghi et Sandine,1975)**

- extrait de viande05g
- tryptone.....2,5g
- peptone papainique de soja.....2,5g
- peptone pepsique de viande05g
- peptone de caséine.....10g
- acide ascorbique.....0,5g
- lactose.....05g
- glycérophosphate de sodium.....19g
- mgso4.....0,25g
- Agar-Agar.....15g
- Eau distillée1000 ml
- pH.....7,1

c. preparation d'Agar Mueller Hinton

l'agar Mueller Hinton conditionnée dans des 20 boîtes 90mm, avec stabilité de 60 jour. C'est un milieu nutritif conservé à 2-8C . utilisé pour tester la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes envers les antibiotique et les sulfamides par des testes de d'effusion. La gélose Mueller Hinton est une gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme standard la composition de ce milieux est :

- infusât de viande :02,0g/l
- hydrolysant de caséine :17,5g/l
- Amidon :1,5g/l
- Extrait de levure :01g/l
- Agar-agar :13g/l
- Eau :1000 ml
- Ph :7,4

- Préparation bouillon de Mueller Hinton

Milieux Mueller Hinton et proposé en 1941 pour tester la sensibilité ou la résistance des germes pathogène envers les antibiotiques et les sulfamides elle se compose de :

- Infusât de viande :.....02 ;0g/l
- Hydrolysât de caséine :.....17,5g/l
- Amidon :.....01,5/l
- Extrait de levure :.....01g/l
- Eau :.....1000 ml
- Ph :.....7,4

E. pénicilline G

✓ Définition

Antibiotique Beta-lactaminé de la famille des benzylpénicillines, la pénicilline G est utilisée dans le traitement de graves infection, en injection.

✓ Utilisation

Administrée par voie intraveineuse ou intramusculaire, la pénicilline G est utilisée dans le traitement des infection plus graves que celles pouvant être soignées par voie orale : septicémies, gangrène gazeuse, infections dues aux germes sensibles, qu'il s'agisse de manifestations respiratoires, stomatiques, cutanées , rénales, gynécologiques, digestives ou méningées.

✓ Propriétés

Découverte en 1928 par Alexandre Fleming, la pénicilline G est un antibiotique beta-lactaminé de la familles des pénicilline. Il s'agit d'une toxine synthétisée avec des moisissures du genre penicillium. La pénicilline G agit en inhibant la synthèse de la paroi cellulaire des bactéries, empêchant ainsi leur multiplication.

✓ Médicaments

Sous forme de poudre pour solution injectable, la pénicilline G est le composant de plusieurs médicaments : Benzathine Benzypénicilline Panpharma^R 1,2MUI, Extencilline 1,2 MUI, 1,4 MUI et 600000 UI, p pénicilline G Panpharma 5 MUI et 1 MUI .

✓ Précaution d'emploi

Si la pénicilline G peut être utilisé chez les adultes comme chez les enfants, toute réaction allergique caractérisée par de fièvre, de l'urticaire ou encore une éosinophilie, impose l'arrêt du traitement. Cette substance est d'une manière générale contre –indiquée aux

personnes souffrant d'allergie aux antibiotique bêta-lactaminés sévère. Elle passe dans le lait maternel et ne doit donc pas être utilisée en cas d'allaitement. Enfin , la posologie doit être adaptée pour les personnes souffrant d'insuffisance rénale.

✓ Effets secondaires

A fortes doses, la pénicilline G est susceptible de provoquer des encéphalopathies métabolique avec mouvements anormaux, troubles de la conscience et/ou crises convulsives.

F. préparation de bouillon nutritif

- Extrait de levure02g/l
- Extrait de viande05g/l
- Peptone pancréatique.....10g/l
- Chlorure de sodium05g/l
- Ph7,4

G. préparation de l'eau physiologique

✓ Définitions

L'eau physiologique à 0,90 pour cent est un diluant isotonique utilisé pour les dilutions ou la réalisation de suspensions bactériennes.

✓ Composition :

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée chlorure de sodium :09

Les appareils et matériels utilisés sont :

- Balance
- Bain-marie à 45 C
- Four pasteur
- Bec benzène
- Etuve . type à 37 C
- Broyeur
- Agitateur magnétique
- Agitateur-plaque chauffante.
- pH mètre
- pipettes pasteur.

- Biotes pétrie
- Papier filtre wattman N°3
- Anse à platine.
- Pompe à vide.
- Autoclave : un autoclave est un appareil qui produit une vapeur d'eau saturée à une température d'au moins 120°C afin d'assurer la destruction complexe des micro-organismes. C'est la stérilisation en chaleur humide à l'autoclave ou autoclavage.
- Spectrophotomètre UV-Visible