



DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

N°...../SNV/2017

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

- ABDALLI ILHAM
- MALEK SIDALI

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité: CONTROLE DE LA QUALITE DES ALIMENTS.

THÈME

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

Soutenu publiquement le 21/ Juillet /2017.

DEVANT LE JURY

Présidente	M ^{me} . BENMAHDI.F	M.A.A	Université de Mostaganem.
Encadreur	M. AIT SAADA.D.	M.C.A	Université de Mostaganem.
Examineur	M. LABDAOUI.D	M.C.B	Université de Mostaganem.
Invité	BOUECHERFE.D	Durcent	Université de Mostaganem.

Année universitaire : 2016 – 2017.

Le thème réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie et le laboratoire de technologie alimentaire et nutrition
- Université de Mostaganem -

Tableau de matière

Remerciement

Dédicace « Ilham »

Dédicace « Sidaali »

Liste abréviation

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....01

.....02

Partie Bibliographique

Chapitre I :Le Thym

1. Généralités.....03

2. Origine et distribution.....03

3. La systématique.....04

4. La description botanique.....04

4.1.Appareil reproducteur.....05

4.2.Appareil reproducteur.....06

5. Composition chimique.....07

6. Les propriétés pharmacologiques.....10

6.1. Effets antioxydants.....10

6.2. Effets antimicrobiens.....11

6.3.Effet spasmolytique.....12

7. Conclusion inutile.....13

Chapitre II : Les Bactéries Lactiques

1. Historique.....14

2. Définition.....14

3. Origines et habitats.....	15
4. Taxonomie des bactéries lactiques.....	15
5. Caractéristiques spécifiques des bactéries lactiques.....	16
5.1. Caractéristique physiologiques.....	16
5.2. Caractéristique biochimique (métabolisme des bactéries lactiques).....	16
5.2.1.La glycolyse.....	16
5.2.2. La lipolyse.....	17
5.2.3. La protéolyse.....	17
5.2.4. Le métabolisme du citrate.....	17
5.3. Caractéristique biotechnologiques des bactéries lactiques.....	18
5.3.1. Activité acidifiante.....	18
5.3.2. L'acide lactique.....	18
5.3.3. Activité protéolytique.....	18
5.3.4. Activité lipolytique.....	19
5.3.5. Activité antimicrobienne.....	20
5.4. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques.....	20
5.4.1. Genre <i>Lactobacillus</i>.....	20
5.4.2. Genre <i>Lactococcus</i>.....	20
5.4.3. Genre <i>Streptococcus</i>.....	21
5.4.4. Genre <i>Enterococcus</i>.....	21
5.4.5. Genre <i>Leuconostoc</i>, <i>Oenococcus</i> et <i>Weissella</i>.....	21
5.5. Caractéristiques générales des bactéries du yaourt.....	22

5.5.1. Streptococcus thermophilus.....	22
5.5.2. Lactobacillus bulgaricus.....	22

Méthode de travail

1. Objectifs.....	24
2. Région de récolte.....	24
3. Préparations des échantillons.....	24
4. Méthode d'extraction.....	25
4.1. Préparation des différentes solutions d'extrait à l'eau.....	26
5. Mesures et contrôles.....	27
5.1. Activation des souches.....	27
5.2. Méthodes de contact direct.....	28
5.3. Détermination du diamètre d'inhibition par la méthode des disques.....	28
5.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	31
5.5. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	34

Partie Expérimental

Résultats et Discussion

I Résultats

1. Lactobacillus bulgaricus.....	37
1.1. Méthode de contact direct.....	37
1.2. Diamètre d'inhibition.....	38
1.3. Taux d'inhibition.....	40
1.4. Concentration minimale inhibitrice (CMI).....	41
1.5. Concentration minimale bactéricide (CMB).....	41
2. Streptococcus thermophilus.....	43
2.1. Méthode de contact direct.....	43
2.2. Diamètre d'inhibition.....	44
2.3. Taux d'inhibition.....	45
2.4. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	46

2.5. Concentration minimale bactéricide (CMB).....	46
---	-----------

II Discussion

Conclusion

Références bibliographique

Résumé

Abstract

Remerciement

Avant toute chose, on tient à remercier Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience d'achever ce modeste travail.

On exprime aussi nos profonds remerciements à M. BEKADA D, d'avoir accepté de nous encadrer ; ses conseils, orientation et corrections précieuses ont été très profitables pour nous.

On adresse éventuellement nos sincères remerciements à M. Ait Saada, d'avoir accepté de présider le jury de soutenance.

On exprime également notre gratitude à M. LABDAOUI. D, d'avoir accepté de examiner.

Mes remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail en particulier les techniciens du laboratoire; M. MOHAMED, M. DJILALI, M. REDOUANE, M. SOUANE, de l'université de Mostaganem

Dédicace

Je tiens d'abord à remercier le dieu le tout puissant,
pour le courage, la santé, l'amour du savoir et la patience qui m'a
donné pour réaliser ce modeste travail que je dédie :

A ma très chère mère :

En témoignage de mon affection et de ma profonde
reconnaissance et Pour votre soutien inestimable

A mon père :

Je prie Dieu le tout Puissant, le Clément et le Miséricordieux pour
que vos âmes reposent en paix Amen !

A mes frères et mes sœurs et cousines

Amina, Salima, Samia, Nesrine,

Je vous dis merci pour la complicité et aussi pour les conseils.

A toute la famille de *ABDALLI* et *ATTAR*

A mes amis (es)

Pour le soutien moral et les moments agréables passés avec vous

A : Hanen, Titouha, Fatima, Wahiba, Fatiha, Asma, Madjid

et à mon binôme **Sidaali**, A tout la promotion

Itham

Dédicace

Je dédie ce lapidaire travail à :

Ma chère mère Akila

Pour tout ce que tu as fait comme efforts avec moi dès mon jeune âge pour tant de sacrifices consentis. Chère mère j'avoue que tu étais pour moi la lumière qui guide

ma route et qui m'emmène aux chemins de la réussite.

A mon très cher père Madjid que dieu vous garde.

A mes très chers frères : Mohamed et Youcef.

A toute ma famille.

A ma chère Amel.

A tous mes amis intimes : Raouf, Tarek, Hcen, Moussa, Saad, Fayçal, Salim, Bilal, Ilyes, Farid, Mohamed.

A tous mes amis de la promotion de Contrôle de Qualité des Aliments 2016 / 2017.

Sidali

Liste des abréviations

Liste des abréviations

CMI : concentration minimale inhibitrice.

CMB : concentration minimale bactéricide.

cm : centimètre.

mm : millimètre.

ml : millilitre.

Kg : kilogramme.

CPG : chromatographie en phase gazeuse.

SM : spectrométrie de masse.

µg : microgramme.

mg : milligramme.

HPLC : chromatographie en phase liquide à haute performance.

g : gramme.

DPPH : Diphenyl-picrylhydrazyl.

°C : degré celsius.

J.-C : avant Jésus-Christ.

G+C% : coefficient de Chargaff.

ATP : Adénosine-Triphosphate.

GG : globule gras.

°D : degré dornic.

LB : Lactobacillus bulgaricus.

ST : Streptococcus thermophilus.

NAD+ : nicotinamide adénine dinucléotide.

Liste des abréviations

mn : minute.

n° : numéro.

h : heure.

NaCl : chlorure de sodium.

KCL : chlorure de potassium.

MCD : méthode de contact direct.

MH : Mueller Hinton.

nm : nanomètre.

Ex : exemple.

UFC : Unité Faisant Colonie.

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 01: la systématique du thym.

Tableau 02: teneur en polyphénols (en μg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du *Thymus vulgaris*.

Tableau 03: les flavonoïdes trouvés par plusieurs auteurs dans les feuilles de *Thymus vulgaris* L.

Tableau 04: effet des différentes concentrations de l'extrait à l'Eau de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus*.

Tableau 05: variation du diamètre de la zone d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extraits à l'Eau de *Thymus vulgaris* au cours de la culture de l'espèce bactérienne *Lactobacillus bulgaricus*. Diamètre d'inhibition (mm) Ecart type.

Tableau 06: variation du taux d'inhibition de L.B en fonction des différentes concentrations d'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris*.

Tableau 07: variation de la turbidité induit par le développement de *Lactobacillus bulgaricus* en fonction des différentes concentrations de *Thymus vulgaris*.

Tableau 08: actions inhibitrices des extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus*.

Tableau 09: effet des différentes dilutions d'extrait de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Streptococcus thermophilus*.

Tableau 10: variation du diamètre des zones d'inhibition de *Streptococcus thermophilus* en fonction des différents extraits à l'Eau de *Thymus vulgaris* (n=3).

Liste des tableaux

Tableau 11: variations des taux d'inhibition de *Streptococcus thermophilus* en fonction des différentes concentrations des extraits à l'Eau de thymus vulgaris (n=3).

Tableau 12: évaluation de la concentration minimale inhibitrice d'extrait de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Streptococcus thermophilus*.

Tableau 13: action inhibitrice d'extrait de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Streptococcus thermophilus*.

Liste des figures

Liste des figures

Figure 01: Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris* L.

Figure 02: Plante de thymus vulgaris

Figure 03: La structure chimique de thym

Figure 04: *Lactobacillus bulgaricus* LB (à gauche) et *Streptococcus thermophilus* LT (à droite).

Figure 05: Rotavapeur par évaporation du solvant sous vide.

Figure 06: Filtration après évaporation.

Figure 07: Préparation des différentes dilutions à partir de la solution mère.

Figure 08: Activation des souches

Figure 09: méthode de contact direct (MCD).

Figure 10: méthode des disques par diffusion sur gélose.

Figure 11: détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Figure 12: détermination de la concentration minimale bactéricide pour *Lactobacillus bulgaricus* (CMB).

Figure 13: détermination de la concentration minimale bactéricide pour *Streptococcus thermophilus* (CMB)

Figure 14: détermination de la CMB des extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus* comparativement au témoin.

Figure 15: détermination de la concentration minimale bactéricide de l'extrait *Thymus vulgaris* sur le *Streptococcus thermophilus*.

Introduction

Introduction :

Depuis la dernière guerre mondiale, le yoghourt a connu un remarquable essor industriel et commercial et il est devenu un lait fermenté très populaire dans divers pays d'Europe occidentale, en particulier en France. Les revues récentes entièrement consacrées au Yoghourt et la place qu'ils occupent dans les revues plus générales traitant des laits fermentés, témoignent bien de l'intérêt que suscite ce produit.

L'acidification du lait résulte généralement de l'action de deux bactéries lactiques, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. L'existence d'interactions entre ces deux bactéries, favorables au développement de l'association bactérienne, à l'acidification et à la formation de l'arôme, a été démontrée dans un certain nombre de cas.

Les bactéries lactiques sont donc des bactéries à Gram positif qui convertissent le pyruvate en acide lactique pour régénérer le NAD⁺ utilisé dans la glycolyse. A quelques exceptions près, elles partagent les caractéristiques suivantes : elles sont généralement immobiles, a sporulées, anaérobies mais aérotolérantes. Pour se développer, elles ont besoin de sources de carbone organique (glucides fermentescibles) et de nombreuses BL ont des exigences nutritionnelles complexes en ce qui concerne les acides aminés ou les peptides, les vitamines et les acides gras (Prescott *et al.*, 1999).

L'utilisation des plantes aromatiques par l'homme est une pratique antique. 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.

Thymus vulgaris. La sélection de cette plante s'est fondée sur les critères suivants : thym est parmi les plus populaires aromatiques utilisées dans le monde entier, sa utilisation fréquente par nos populations dans le domaine culinaire et celui de la médecine traditionnelle, à côté du fait que sa huile essentielle est utilisée dans les industries alimentaires, pharmaceutique et cosmétique, sa efficacité dans le traitement symptomatique de troubles de l'appareil digestif supérieur reconnue traditionnellement, elle représente récemment un sujet de recherche scientifique intéressant.

Introduction

L'intérêt de cette étude consiste à incorporer les extraits aqueux de thym un yaourt étuvé afin d'évaluer leurs effets sur la croissance des germes spécifiques du yaourt : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Cette étude a comporté d'abord une synthèse bibliographique ou sont abordés des chapitres sur le thym et les bactéries lactiques, puis une deuxième partie expérimentale ou sont détaillés la méthodologie, les résultats et discussion.

1. Généralités

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**).

Le nom « *Thymus* » dérive du mot grec « thymos » qui signifie « parfumer » à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (**Pariente, 2001**). L'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ses qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales (**Iserin, 2001**).

2. Origine et distribution

Thymus vulgaris L. est indigène de l'Europe du sud, on le rencontre depuis la moitié orientale de la péninsule ibérique jusqu'au sud-est de l'Italie, en passant par la façade méditerranéenne française (**Ozcan and Chalchat 2004**) et (**Amiot 2005**). Il est maintenant cultivé partout dans le monde comme thé, épice et plante médicinale (**Kitajima, Ishikawa et al. 2004**).

Le *Thymus vulgaris* se présente toujours dans un état sauvage en plaines et collines, comme la lavande, le romarin, la sauge et beaucoup d'autres plantes sauvages (**Kaloustian, El-Moselhy et al., 2003**).

Cette plante spontanée pousse abondamment dans les lieux arides, caillouteux et ensoleillés des bords de la mer à la montagne.

3. La systématique

Tableau 01 : la systématique du thym.

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

4. La description botanique

Thymus vulgaris L. est un arbuste aromatique à tiges ramifiées, pouvant atteindre 40 cm de hauteur.



Figure 01 : Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris* L.(Morales 2002).

Il possède de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur vert foncés, et qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de monoterpènes. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose.

Thymus vulgaris est d'ailleurs caractérisé par un polymorphisme floral qui a été au moins aussi étudié que son polymorphisme chimique (Bruneton 1999) et (Morales 2002), (Figure 01).

4.1.Appareil végétatif

Plante: herbacée, souvent velue. C'est un petit sous arbrisseau vivace, touffu dont les rameaux sont très aromatiques, de 7 à 30 cm de hauteur qui ont un aspect grisâtre ou vert grisâtre.

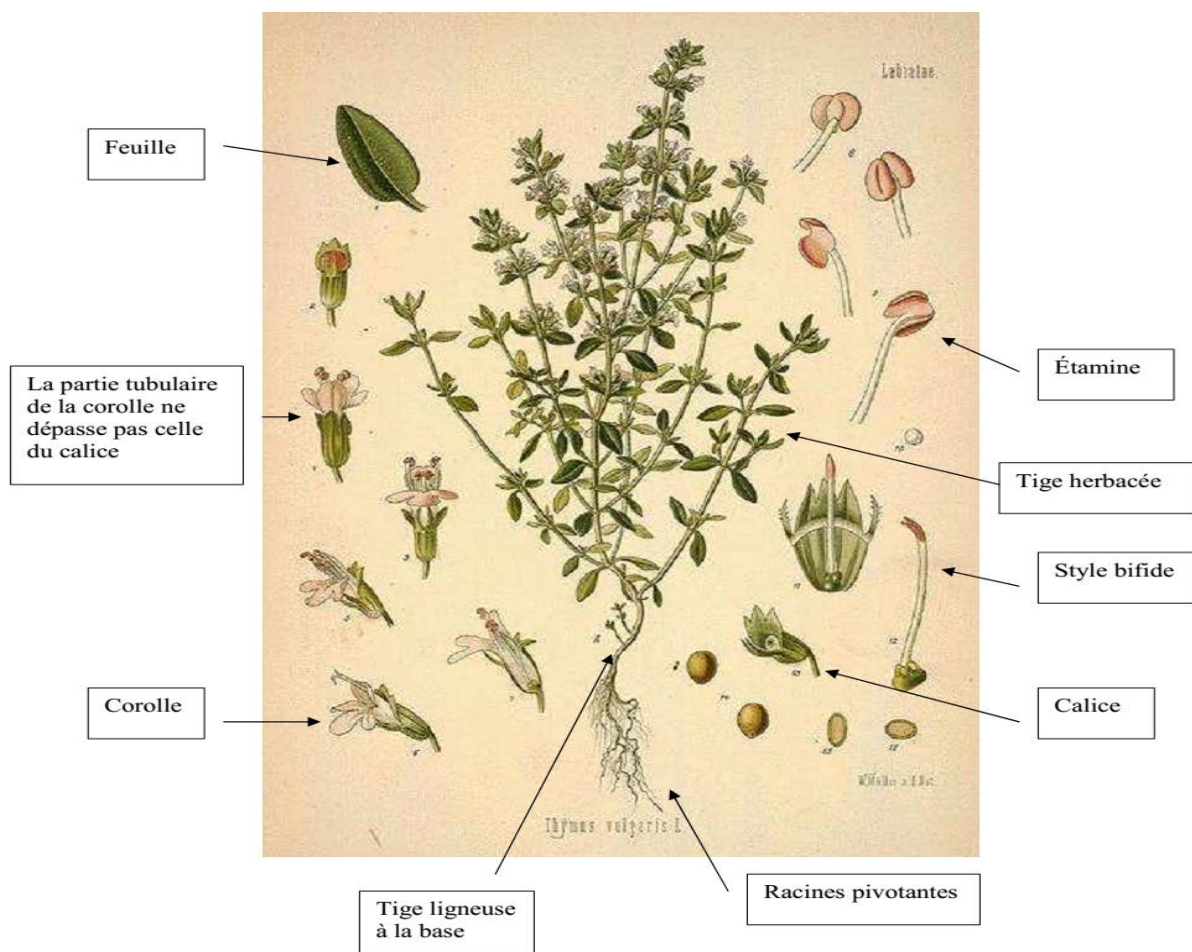


Figure 02 :Plante de thymus vulgaris(Amiot 2005).

Tige: elle est généralement quadrangulaire, souvent renflée aux nœuds. Elle est ligneuse à la base, et herbacée supérieurement ou elle devient presque cylindrique. Les tiges ligneuses et très ramifiées sont groupées en touffe ou en buisson très dense. Elles peuvent acquérir, vers leur base, une assez grande épaisseur. Les tiges florifères ne produisent jamais de racines adventives, et sont rampantes, dressées ou redressées, tortueuses dans leur partie inférieure, velues et blanches tout autour chez les jeunes rameaux.

Feuilles: elles sont très petites, ovales, lancéolées, à bord roulé. En dessous les nervures latérales sont distinctes, obtuses au sommet, ponctuées supérieurement, aux pétioles extrêmement courts, et blanchâtres à leurs faces inférieures opposées, disposées en paire se croisant d'un nœud à l'autre, dépourvues de stipules et à limbe généralement denté.

Racines: les racines sont pivotantes, ce qui permet à la plante d'aller chercher l'eau en profondeur.

4.2. Appareil reproducteur

Inflorescence: fleurs en cymes, souvent réunies en faux-verticilles; les fleurs sont rarement isolées.

Fleurs: généralement hermaphrodites, à symétrie bilatérale ou parfois presque radiaire. Elles sont roses ou presque blanches, font de 4 à 6 mm de longueur, sont pédicellées et réunies ordinairement au nombre de trois à l'aisselle des feuilles supérieures.

Calice : à 5-12 lobes égaux ou disposés en 2 lèvres.

Corolle : généralement caduque, constituée d'un tube se terminant par 4 ou 5 lobes, soit Subégaux , soit formant une lèvre inférieure (la supérieure étant très réduite), soit le plus souvent formant 2 lèvres. De taille variable, elle est un peu plus longue que le calice mais la partie tubulaire de la corolle ne dépasse pas celle du calice. La lèvre supérieure est à peine échancrée, l'inférieure est à trois lobes égaux et obtus.

Étamines: elles sont insérées sur le tube de la corolle, soit accompagnées parfois de 2 autres étamines stériles et réduites, soit 4, en 2 paires souvent inégales.

Carpelles: 2, soudés entre eux ; l’ovaire est supère, à 4 ovules ; 1 style bifide, naissant le plus souvent entre les lobes de l’ovaire.

Fructification: une fausse cloison divise chaque carpelle en 2, formant ainsi un tétrakène.

5. 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 intra-spécifique, qui affecte l’homogénéité du rendement d’extrait et sa composition en produits chimique(Amiot 2005).

La teneur en huile essentielle de la plante varie de 5 à 25 ml/Kg et sa composition fluctue selon le chémotype considéré (Bruneton 1999), l’huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été analysée en utilisant la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à une spectrométrie de masse (SM), 30 composés ont été identifiés et caractérisés, les plus abondant sont respectivement : thymol (44,4 - 58,1 %), p-cymene (9,1 - 18,5 %), γ -terpinène (6,9 - 18,0 %), carvacrol (2,4 - 4,2 %), linalol (4,0 – 6,2 %). La caractéristique d’huile essentielle de *Thymus vulgaris* était sa teneur élevée du thymol (Guillén and Manzanos 1998) et (Hudaib, Speroni et al. 2002).

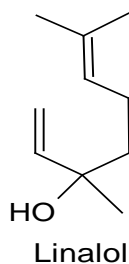
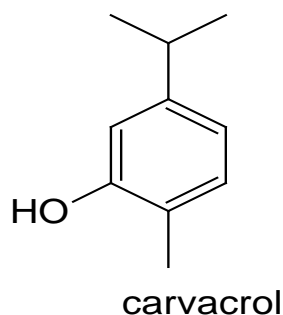
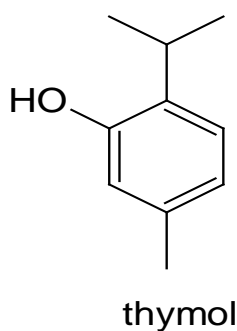


Figure 03 : La structure chimique de thym(Kulisic, Krisko et al. 2007)

Le contenu phénolique total, flavonoïdes, catéchine, et anthocyanine dans l'infusion aqueuse préparée du *thymus vulgaris* a été déterminé par des méthodes spectrophotométriques (Kulisic, Krisko et al. 2007). Le tableau 02, ci-dessous résume les résultats.

Tableau 02 : Teneur en polyphénols (en µg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse du *Thymus vulgaris*.

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

La méthodologie habituelle pour étudier les dérivés 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. Le tableau 03 énumère les flavonoïdes trouvés dans les feuilles *Thymus vulgaris* L., par plusieurs auteurs, en utilisant la méthodologie ci-dessus mentionné.

De nombreuses études ont confirmé que les espèces qui appartiennent à la famille des Lamiacées sont une bonne source d'acide rosmarinique, l'identification des composés polyphénoliques dans l'infusion aqueuse de *Thymus vulgaris* par analyse HPLC a montré une présence dominante d'acide rosmarinique (17,45 mg/g= 1,7 % de la masse sèche de *Thymus vulgaris*) et un autre composé significatif est l'eriocitrin (1,96 mg/g) (Katalinic, Milos et al. 2006).

Tableau 03 : Les flavonoïdes trouvés par plusieurs auteurs dans les feuilles de *Thymus vulgaris* L.

Flavonoïdes	Références
- Cirsilineol (5, 4'-dihydroxy-6, 7,3'-trimethoxyflavone)	(Morimitsu et al.,1995).
- Thymonine (5, 6, 4' - trihydroxy-7,8,3'-trimethoxyflavone)	(Morimitsu et al.,1995).
- Eriodictyol (5, 7, 3',4'-tetrahydroxyflavone)	(Morimitsu et al.,1995).
- Sideritoflavone (5, 3', 4'-trihydroxy- 6, 7, 8-trimethoxyflavone)	(Guillén and Manzanos 1998)
- 5-Desmethylnobiletine (5-hydroxy-6, 7, 8, 3', 4'-pentamethoxyflavone)	(Guillén and Manzanos 1998)
- Apigénine (5, 7, 4'-trihydroxyflavone)	(Kulisic, Krisko et al. 2007)
- Lutéoline (5, 7, 3', 4'-tetrahydroxyflavone)	(Kulisic, Krisko et al. 2007)
- Xanthomicrol (5,4'-dihydroxy-6, 7, 8-trimethoxyflavone)	(Guillén and Manzanos 1998)
- 5-Desmethylnobiletine(5-hydroxy-6, 7, 3', 4'-tetramethoxyflavone)	(Guillén and Manzanos 1998)
- Quercétine (3, 5, 7, 3', 4'-pentahydroxyflavone)	(Kulisic, Krisko et al. 2007)

D'autres composants ont été détectés seulement en traces, l'acide caféique (0,02 mg/g) et l'acide p-hydroxybenzoïque. La composition en vitamines a été déterminée et révèle la présence de la vitamine E (I-tocophérol) (4,4 mg/Kg) (Guillén and Manzanos 1998) et (Katalinic, Milos et al. 2006).

6. Les propriétés pharmacologiques

Les propriétés pharmacologiques de la plante *Thymus vulgaris* et de ses différents extraits, en particulier l'huile essentielle et l'extrait aqueux, ont été bien étudiés. En plus de leurs nombreuses utilisations traditionnelles, la plante et ses extraits ont trouvé de nombreuses applications industrielles (principalement comme additifs alimentaires) et médicinales (**Hudaib, Speroni et al. 2002**).

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, parmi lesquelles on cite les plus importants :

6.1. Effets antioxydants

Thymus vulgaris L. se situait parmi les fines herbes séchées contenant les plus grandes capacités antioxydantes. Différents composés du thym lui permettent de posséder un tel statut, comme les phénols (thymol et carvacrol), les flavonoïdes, l'acide rosmarinique, l'acide caféique et la vitamine E (**Kulisic, Krisko et al. 2007**) et (**Guillén and Manzanos 1998**). Ces constituants inhibent la peroxydation lipidique induite *in vitro* au niveau des mitochondries et des microsomes. Ils inhibent également partiellement la production de l'anion super oxyde (**Bruneton 1999**).

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 récentes indiquent que *Thymus vulgaris* est un puissant antioxydant et assure des doses élevées d'acides gras essentiels dans le cerveau.

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été testée pour son activité antioxydante par deux méthodes différentes : la technique de décoloration de la β -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*.

À côté de l'huile, qui a été largement étudiée pour ses propriétés antioxydantes, l'extrait aqueux des feuilles de *Thymus vulgaris* a présenté une activité antioxydante importante, et les caractéristiques antioxydantes observées n'étaient pas entièrement liées à la teneur en phénols de l'huile essentielle dans n'importe quelle méthode analytique, mais vraisemblablement fortement dépendantes de l'acide rosmarinique, composé phénolique principal dans l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* (**Thuille et al., 2003**).

6.2. Effets 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, l'huile de *Thymus vulgaris* témoigne d'une activité antibactérienne intéressante sur les bactéries gram positives comme sur les bactéries gram négatives. En effet, *Staphylococcus aureus*, 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 de thym a été plus efficace contre les bactéries gram positives (*S. aureus*, *S. pyogenes* et *S. pneumoniae*) que contre le gram négatif (*E. coli* et autre). 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 majoritaire de cette huile.

L'activité antibactérienne de 11 huiles essentielles de plantes aromatiques contre la souche bactérienne *Bacillus cereus* INRA L2104, microbe pathogène développé en bouillon de carotte à 16° C, a été étudiée. Une inhibition totale de la croissance des spores bactériennes a été observée pour l'agent antimicrobien *Thymus vulgaris* (**Valero et Salmerón, 2003**).

En outre, l'extrait organique entier de *Thymus vulgaris* est avéré être actif contre différentes souches bactériennes, alors que l'extrait aqueux indiquait la meilleure activité contre *Helicobacter pylori* avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 3,5 mg/ml (Tabak et al., 1996; Iserin, 2001). L'activité améliorée de l'extrait alcoolique du thym comparée à l'aqueux peut être expliquée par la présence du thymol, un phénol alkylique qui cause la perforation des membranes bactériennes et le flux rapide des composants cytosoliques (**Thuille et al, 2003**).

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

L'extrait hydrosol (extrait aqueux sans huile essentielle) de *Thymus vulgaris* a été examiné pour ses effets inhibiteurs contre quatre bactéries pathogènes (*Escherichia coli*, *E. coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* et *Yersinia enterocolitica*). Basé sur les résultats de cette étude, les hydrosols de thym ont semblé empêcher la croissance des quatre microbes pathogènes examinés.

Les hydrosols de thym à concentration de 50 à 75ml/100ml étaient complètement prohibitif sur la croissance bactérienne dans la culture de bouillon. Les résultats de cette étude ont confirmé la possibilité d'employer des hydrosols de thym dans la conservation des aliments et des boissons.

Ces hydrosols peuvent être utilisés dans différentes concentrations pour stocker et protéger les produits alimentaires contre les microbes pathogènes.

En plus de l'activité antibactérienne, des études (réalisées in vitro et in vivo) ont prouvé que l'huile essentielle (surtout le thymol) de *Thymus vulgaris* possède des propriétés antifongiques contre un certain nombre de mycètes. Reddy et ses collègues (1998), dans leur étude, ont montré

Le potentiel antifongique élevé de l'huile volatile de *Thymus vulgaris* comme agents protecteurs des fruits de fraise (*Fragaria ananassa*) contre la détérioration causée par les mycètes *Botrytis cinerea* et *Rhizopus stolonijer*. Une étude similaire réalisée par Giordani et ses collaborateurs(2008), qui ont examiné les huiles essentielles de quelques plantes aromatiques dont *Thymus vulgaris* pour leurs effets antifongiques contre une espèce de levure *Candida albicans* par la détermination de leurs CMI (3.71 µg/ml).

6.3. Effet spasmolytique

L'activité spasmolytique de *Thymus vulgaris* est le plus souvent attribuée aux phénols de l'huile essentielle. Beer et ses collaborateurs (2007) dans leur étude ont montré que l'effet spasmolytique du thymol est enregistré à la concentration de 10^{-6} M. A la concentration de 10^{-4} M le thymol inhibe à 100% l'activité contractile spontanée des muscles lisses de l'estomac du cobaye et à 10^{-5} M réduit les effets de l'acétyl choline à 35%. Ils supposent que le thymol a un effet analgésique par son action sur les récepteurs β_2 adrénergique des cellules de nerf.

Par ailleurs, Lemli et Van Den Brouke (Bruneton 1999) ont montré que si les phénols de l'huile essentielle 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.

1. Historique

L'essor des bactéries lactiques a bénéficié de celui des grands mammifères, producteurs de lait, commencé il y a 65 millions d'années (**Schopf, 1999**).

Il s'est accentué lorsque l'homme est passé du statut de chasseur-cueilleur à celui d'éleveur, il y a quelques 8 000 ans avant J.-C. Les premiers vases perforés de petits trous, retrouvés sur les rives du lac de Neuchâtel, datent de 3 000 ans avant J.-C. Dès cette époque, en Egypte, à Sumer ou en Macédoine, l'homme sait contrôler le phénomène de caillage du lait.

Très rapidement, les bactéries lactiques s'avèrent utiles à l'homme et contribuent à la production de nombreux produits alimentaires fermentés comme le fromage, le pain, le vin, la choucroute dans les régions tempérées et des produits à base de céréales, de poisson et de viande dans les régions intertropicales (**Ben Omar et al 2000**), (**Cooke et al 1987**), (**Damelin et al 1995**).

Nul besoin d'explication scientifique pour de nombreux peuples qui, depuis des milliers d'années, se servent des bactéries lactiques pour produire des aliments. Ils en améliorent ainsi la conservation, et agissent sur les textures et les saveurs qui se révèlent différentes de celles de l'aliment à son état originel (**Food today, 1999**).

2. Définition

Les bactéries lactiques sont des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (De Roissart, 1986), elles constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique (**Stackebrandt et Goebel 1994**).

Leur principe caractéristique est la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des sucres (**Rouisset et Bensoltane, 2006**).

Selon le type de fermentation préférentiellement utilisé, les bactéries lactiques sont dites :

- Homofermentaires : l'acide lactique est le seul produit de la fermentation du glucose.
- Hétérofermentaires : la fermentation du glucose aboutit à la formation d'acide lactique et d'autres composés : éthanol, CO₂ et autres acides organiques (**Carr et al ; 2002**).

3. Origines et habitats

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**).

Elles sont ubiquistes et on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales et dans le tractus digestif (**Drouault et Corthier, 2001**).

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 sub sp. Lactis* est isolée pour la première fois à partir du lait fermenté par Lister en 1873 (**Sandine, 1988**).

Parmi les espèces du genre *Streptococcus*, *Streptococcus thermophilus* est isolée du lait pasteurisé, du matériel de laiterie et de levains artisanaux (**Jones, 1978**).

Les espèces du genre *Leuconostocs* sont isolées du lait, des produits laitiers, des fruits, des légumes, des végétaux en fermentation (comme la choucroute), des produits de la panification (Suhigara, 1985) et des solutions visqueuses de sucre dans les sucreries (**Devoyod et Poullain, 1988**).

Les espèces du genre *Leuconostoc* se rencontrent surtout chez les hommes, les animaux et les oiseaux. D'autres parts, on peut les isoler à partir de la peau des animaux et des matières fécales. Les espèces du genre *Pediococcus* ne sont présentes pratiquement que sur les plantes (**Hermier et al, 1992**).

Les espèces du genre *Lactobacillus* sont présentes dans plusieurs milieux différents : dans le lait et les fromages, et les laits fermentés, dans les produits végétaux fermentés, les marinades, l'ensilage, le vin et les viandes fraîches ou fermentées (**Desmazeaud, 1996**).

4. Taxonomie des bactéries lactiques

La classification des bactéries lactiques peut se faire selon des critères phylogénétiques par l'utilisation des méthodes moléculaires. Cependant, la caractérisation phénotypique /

biochimique classique demeure pratique dans l'identification préliminaire des microorganismes.

Certaines caractéristiques phénotypiques sont utilisées pour identifier les espèces à l'intérieur des genres comme la capacité à : fermenter les hydrates de carbone, tolérer différentes concentrations en bile, produire des polysaccharides extracellulaires, exiger des facteurs de croissance, produire de l'acétoïne et synthétiser certaines enzymes. (**Vandamm, 1996**) ; (**Stiles et Holzopfe, 1997**) ; (**Ho et al, 2007**).

Les bactéries lactiques peuvent se diviser en deux groupes, selon le pourcentage G+C% dans leur génome :

- Les actinomycètes dont le G+C>50%, ce groupe renferme les genres : *Atopobium*, *Bifidobacterium*, *Corynebacterium*, et *Propionibacterium*.
- La branche des clostridiés, qui regroupe les bactéries dont le G+C<50%, ce groupe rassemble les principaux genres des bactéries lactiques : *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* (**Carr et al, 2002**).

5. Caractéristiques spécifiques des bactéries lactiques

5.1. Caractéristique physiologiques

Les bactéries lactiques ont une coloration de gram positive, immobiles, sporulées, dépourvues de catalase, de cytochromes oxydases, et de nitrate réductase, anaérobies ou aérotolérantes, exigeantes en facteurs de croissance : acides aminés, bases nucléiques, acides gras, vitamines,... (**Georgala et al 1995**) ; (**Carr et al 2002**).

5.2. Caractéristique biochimique (métabolisme des bactéries lactiques)

5.2.1. La glycolyse

Les bactéries lactiques nécessitent une source d'hydrate de carbone fermentescible pour la production d'énergie cellulaire (ATP) et leur croissance. Le lactose présent dans le lait, disaccharide composé de glucose et de galactose, atteint des concentrations de 4 à 5% (**Desmazaud, 1983**).

Il y'a deux voies principales assurant le transport et le métabolisme de glucose par les bactéries lactiques :

1. Voie d'Embden – Mayerhof, qu'est homolactique dont le glucose se traduit en lactose (1 glucose = 2 lactose), le produit final est l'acide lactique.

2. Voie pentose-phosphocetolase, qu'est hétérolactique dont la dégradation de glucose résulte la production du lactose et d'autres produits (1 glucose = 1 lactose + 1 éthanol + CO₂) (Thompson et Collins, 1989).

5.2.2. La lipolyse

La lipolyse se traduit dans une première étape par la libération des acides gras constituant les triglycérides du lait. La lipolyse marquée se poursuit par une transformation secondaire des acides gras en alcools, aldéhydes et cétones, responsables du goût et de l'arôme caractéristiques des produits affinés (Chamba et al, 1994).

On distingue trois types de lipolyse :

- La lipolyse spontanée : consécutivement au refroidissement, elle est produite par la dégradation de la matière grasse par la lipase native du lait.
- La lipolyse induite : les chocs mécaniques et thermiques entraînent une fragilisation de la matière grasse et facilitent sa dégradation par la lipase native du lait.
- La lipolyse bactérienne : la matière grasse est dégradée via les lipases bactériennes.

Trois facteurs biochimiques détermineraient la « susceptibilité » d'un lait à la lipolyse : l'activité de la lipase, l'intégrité de la membrane du globule gras (GG) et l'équilibre lipolyse – facteurs activateurs ou inhibiteurs (Sundheim, 1988).

5.2.3. La protéolyse

Les enzymes impliquées dans la dégradation des caséines du lait durant la maturation incluent la présure, les protéases indigènes du lait (la plasmine) et les enzymes du ferment et de la flore secondaire (Lane et Fox, 1996). La protéolyse est considérée comme étant l'évènement biochimique le plus important durant la maturation fromagère.

Les voies cataboliques responsables de cette conversion sont principalement les voies initiées par les réactions d'élimination et de transamination impliquant une quantité variable d'enzymes : protéase, peptidases, lyases, décarboxylases, désaminases et transaminases (Topisirovic et al 2006).

5.2.4. Le métabolisme du citrate

Le citrate est une constituante clé pour la formation du diacétyl, un composé volatil à l'arôme de beurre important dans les laits fermentés et les fromages frais. Environ 90% du

citrate du lait est soluble et majoritairement perdu dans le lactosérum. Toutefois, la concentration de citrate dans la phase aqueuse du fromage serait environ 3 fois celle du lactosérum, reflétant les concentrations de citrate colloïdal. Le fromage cheddar contient environ 0.2 à 0.5% de citrate métabolisable par les bactéries utilisatrices de citrate. Chez les bactéries lactiques, *leuconostoc* et *Lc. Lactis* ssp. *Lactis biovardiacety lactis* distinguent par leur métabolisme fermentaire du citrate (Cit+) (Ammor et al 2004).

5.3. Caractéristique biotechnologiques des bactéries lactiques

5.3.1. Activité acidifiante

L'acidification est le rôle principal des bactéries utilisées comme ferments. Celle-ci a différents buts (Papamanoli et al 2003).

En technologie laitière, l'acidification lactique joue de multiples rôles : elle participe à la coagulation du lait, active la synérèse du caillé et la solubilisation du calcium micellaire qui ont une influence déterminante sur la texture des fromages. Elle contribue aussi aux qualités organoleptiques des produits fermentés et inhibe la croissance des microorganismes nuisibles. Selon la variété de fromage et la flore présente, les produits issus de la glycolyse peuvent être métabolisés selon différentes voies pour la formation de composés aromatiques variés (Zhennai et al 2000).

5.3.2. L'acide lactique

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne.

Dans le lait et les produits laitiers, l'acide lactique provient de la dégradation du lactose par les bactéries. Plus un lait est frais, moins il contient d'acide lactique. La concentration en acide lactique dans un lait s'exprime en degré dornic (°D) : 1°D correspond à 0,1 g d'acide lactique par litre de lait. Un lait frais contient de 15 à 18°D, il caille à 60-70°D (Shirai et al 2001), (Papamanoli et al 2003), (Ammor et al 2004).

5.3.3. Activité protéolytique

L'incapacité des bactéries lactiques à synthétiser les acides aminés nécessite un fonctionnement actif de leur système protéolytique dans des environnements pauvres en acides

aminés libres et riche en protéines comme principale source d'azote (**Law et Haandrikman, 1997**).

Dans la plupart des genres de bactéries lactiques (*Lactobacilles, Lactocoques*), le système protéolytique met en œuvre une protéase liée à la paroi cellulaire qui réalise la première étape du processus de dégradation des protéines. Les peptides résultant seront hydrolysés en acides aminés par différentes peptidases membranaires et cytoplasmiques après leur transport dans le cytoplasme (**Monnet et al, 1993**).

Technologiquement l'activité protéolytique constitue un rôle très important lors de la fabrication des fromages ce qui fait des bactéries lactiques des agents microbiens nécessaires dans la maturation et l'affinage de la majorité des fromages par modification de leur texture, couleur, et saveur (**Georgalaki et al 2002**), (**Branger et al., 2007**).

Des études comparatives effectuées sur la protéolyse du cheddar fait avec ou sans ferments lactiques ont démontré l'importance de ces bactéries pour la libération des peptides et des acides aminés libres durant la maturation fromagère (Lane et Fox, 1996).

Le fractionnement des caséines dans la phase d'affinage modifie la texture de la pâte, certains peptides et acides aminés libérés sont des précurseurs de substances aromatiques (**Georgalaki et al 2002**).

5.3.4. Activité lipolytique

Relativement faible chez les ferments lactiques, l'activité lipasique contribue à l'élaboration de la saveur des fromages lors de la maturation (**Stackebrandt et al., 2002**).

L'hydrolyse des triglycérides est la transformation biochimique principale du gras fromager pendant la maturation et conduit à la formation des acides gras libres, mono et diglycérides et probablement du glycérol.

Les lipases bactériennes catalysent en partie la production des acides gras à longues chaînes à partir des mono et diglycérides, alors que les estérases permettent la libération des acides gras volatils. Les acides gras, dont la concentration augmente pendant l'affinage, seraient responsables en partie de la saveur typique des fromages à pâte pressée cuite (**Siegmund et al 2000**).

Les estérases et lipases microbiennes sont des enzymes intracellulaires dont les activités sont maximales pendant la phase exponentielle de croissance et dépendent des milieux de culture. Il a été observé que les milieux à base de lait stimulaient la production de ces enzymes chez les *Lactocoques* (Montel, 1991).

5.3.5. Activité antimicrobienne

Les bactéries lactiques produisent des substances antimicrobiennes de nature protéique appelées bactériocines. Cette caractéristique est utilisée industriellement pour la destruction des bactéries indésirables et pathogènes dans la fabrication d'aliment comme la sinise produite par les lactocoques dirigée contre *Bacillus* et *Clostridium* (Ogunbanwo et al, 2003) (Zambunelli et Chiavari, 2002). La plupart des bactériocines produites par les bactéries lactiques partagent le même mode d'action, basé sur la formation de pores dans la membrane de la bactérie cible (Kumari et al, 2009).

5.4. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques

5.4.1. Genre *Lactobacillus*

C'est le genre principal de la famille des *Lactobacillaceae*, il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme contaminants. Il s'agit de bacilles longs et fins (parfois incurvés) souvent groupés en chaînes, immobiles, asporulés, catalase négative, se développent à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, en vitamines, en acides gras, en nucléotides, en glucides et en minéraux (Khalid et Marth, 1990) ; (Leclerc et al, 1994).

5.4.2. Genre *Lactococcus*

Le genre *Lactococcus* (*streptocoque* du groupe N) représente les *streptocoques* dits « lactique », car ils sont associés à de nombreuses fermentations alimentaires et ne possèdent aucun caractère pathogène. Les produits végétaux constituent leur réservoir principal, mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers (Pillet et al, 2005).

Les *Lactocoques* se présentent sous forme de coques en paire ou en chaînes de longueur variable. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique, seul *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis biovar. Diacetylactis* produit le diacétyle. Leur température optimale de croissance est proche de 30°C, capable de se développer à 10°C

mais pas à 45°C. Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines. Elles sont capables de se développer à 3% de bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine (Tamime, 2002).

5.4.3. Genre *Streptococcus*

Le genre *Streptococcus* est toujours large et la classification est très mouvementée. Ce genre est généralement divisé en 3 groupes : pyogène (des espèces pathogènes et hémolytiques), oral (tel que *St. salivarius*, *St. bovis*) et les autres streptocoques (Scheilfer, 1987).

Streptococcus thermophilus se différencie par son habitat (lait et produits laitiers) et son caractère non pathogène. La résistance à la température, la capacité de croître à 52°C et le nombre limité des hydrates de carbones permettent de distinguer les *St. Thermophilus* de la plupart des autres streptocoques (Haddie, 1986) ; (Pillet et al, 2005).

5.4.4. Genre *Enterococcus*

Ce genre regroupe les streptocoques fécaux qui représentent une hémolyse de type λ et β et qui appartiennent au groupe D. Ce sont des commensaux de l'intestin. Les espèces rencontrées dans l'alimentation sont essentiellement *En. Faecalis* et les espèces proches. Les entérocoques sont des coques qui peuvent être mobiles, homofermentaires, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol, ils croissent entre 10°C et 45°C (Tamime, 2002) ; (Ho et al., 2007).

5.4.5. Genre *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*

Ils ressemblent les coques lenticulaires en paires ou en chainettes mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acide lactique (isomère D), de CO₂ et d'éthanol. Les caractéristiques telles que l'hydrolyse de l'esculine, la formation de dextrane, les conditions de croissance, la capacité à croître à différents pH et température, l'assimilation de citrate et/ou malate permettent la différenciation entre les genres *Leuconostoc* et *Weissella* (Pillet et al, 2005) ; (Ho et al, 2007).

Actuellement, le genre *Leuconostoc* comprend quatorze espèces, ils sont également anaérobies facultatifs et exigeants au point de vue nutritionnel et leur croissance est toujours lente. Le développement des *Leuconostoc* entraîne souvent l'apparition d'une viscosité dans le milieu grâce à la production des exopolysaccharides. Les *Leuconostoc* principalement Ln.

Mesenteroides ssp. Cremoris et Ln. Lactis sont utilisés en association avec les lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et le CO₂, des substances aromatiques telles que le diacétyle et l'acétoïne à partir des citrates du lait (**Hassan et Frank, 2001**) ; (**Ogier et al, 2008**).

5.5. Caractéristiques générales des bactéries du yaourt

5.5.1. *Streptococcus thermophilus*

St. thermophilus est un coque à Gram positif, anaérobie facultatif, non mobile. On le trouve dans les laits fermentés et les fromages (**Dellagio et al., 1994 ; Roussel et al., 1994**). C'est une bactérie dépourvue d'antigène du groupe D, thermorésistante, sensible au bleu de méthylène (0,1%) et aux antibiotiques. Elle est aussi résistante au chauffage à 60°C pendant 30 minutes (Dellagio et al., 1994). Elle est isolée exclusivement du lait et des produits laitiers sous forme de coques disposés en chaînes de longueurs variables ou par paires. Sa température optimale de croissance varie entre 40 et 50°C et son métabolisme est du type homofermentaire (**Lamoureux, 2000**).

Le rôle principal de pouvoir acidifiant, elle est responsable de la texture dans les laits fermentés.

Elle augmente la viscosité du lait par production de polysaccharides (composés de galactose, glucose, ainsi que de petites quantités de rhamnose, arabinose et de mannose) (**Bergamaier, 2002**).

5.5.2. *Lactobacillus bulgaricus*

Lb. bulgaricus est un bacille Gram positif, immobile, asporulé, microaérophile. Il est isolé sous forme de bâtonnets ou de chainettes. Il possède un métabolisme strictement fermentaire avec production exclusive d'acide lactique comme principale de fermenter les pentoses.

Lb. bulgaricus est une bactérie thermophile, très exigeante en calcium et en magnésium et sa température optimale de croissance est d'environ de 42°C. Cette bactérie a un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptiques et hygiéniques du yaourt (**Marty-Teyssset et al., 2000**).

Ces deux bactéries lactiques tolèrent de petites quantités d'oxygène. Ceci peut être probablement relié au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui est produit dans les cellules en présence d'air. Le système le plus efficace pour éliminer le peroxyde d'hydrogène est

l'utilisation d'une enzyme, la catalase, dont les bactéries lactiques sont déficientes. Ces dernières possèdent plutôt une peroxydase (pseudo catalase) qui moins efficace que la catalase. Comme les bactéries lactiques n'éliminent pas facilement le peroxyde, elles sont dites microaérophiles (**Doleyres, 2003**).

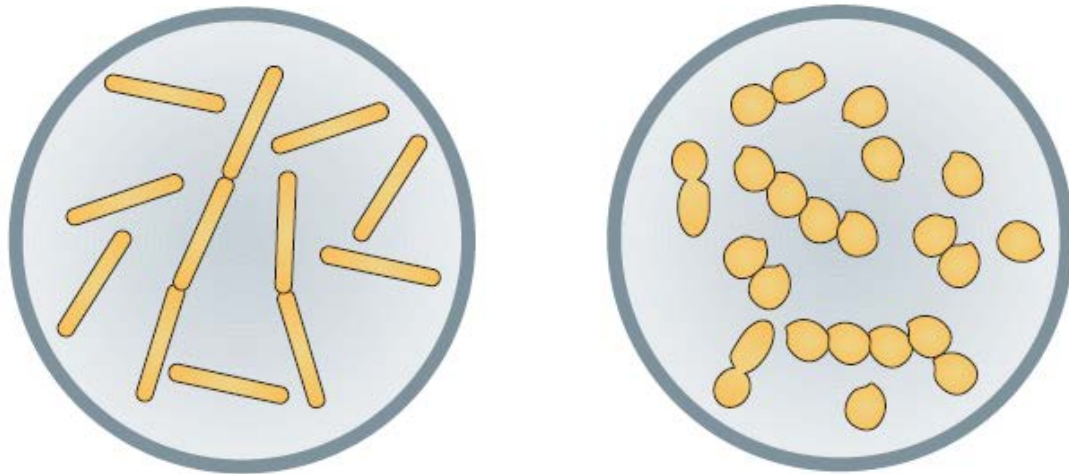


Figure 04 : Lactobacillus bulgaricus LB (à gauche) et Streptococcus thermophilus LT (à droite) (**Doleyres, 2003**).

Partie II :
Méthodologie de
travail

1. Objectifs

Notre expérimentation a pour but d'étudier l'effet antimicrobien d'extrait à l'eau de l'espèce végétale (*Thymus vulgaris*) sur la croissance de « *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* » responsable de la fermentation du lait.

2. Région de récolte

L'espèce végétale « *Thymus vulgaris* » utilisé dans cette étude a été récolté dans la région de « Naama » au ouest d'Algérie.

3. Préparations des échantillons

On a préparé 3 échantillons de : 30g de thymus dans 100ml d'eau distillé. Après la pesé de 30g de thymus et à l'aide d'un broyeur, on obtient la poudre de « thym » (figure).

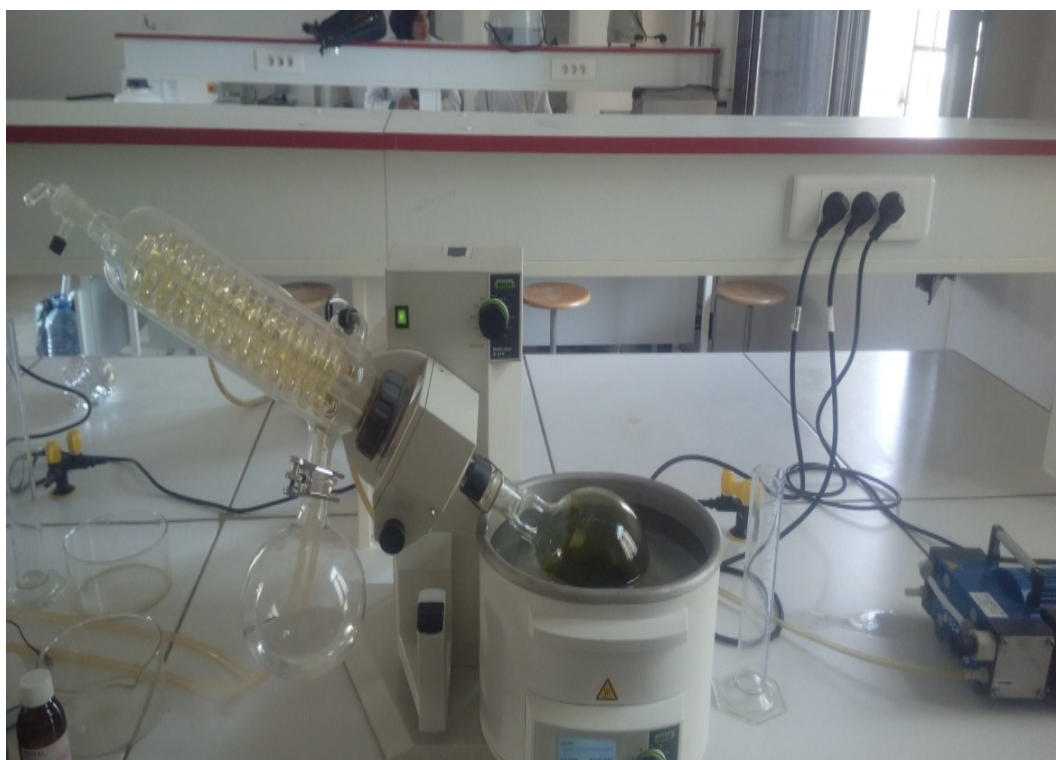


Figure 05 : Rotavapeur par évaporation du solvant sous vide.

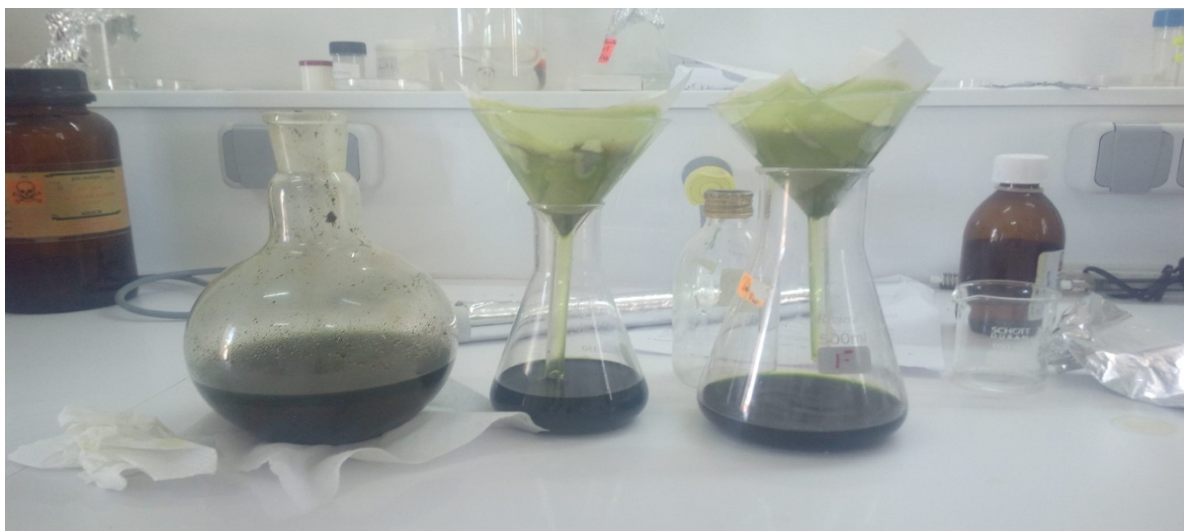


Figure 06 : Filtration après évaporation

4. Méthode d'extraction

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 a été réalisée par usage de l'Eau comme solvant d'extraction. Elle a été effectuée sur des prises d'échantillons de 10 g en triples répétitions de matière végétale broyée. Chaque échantillon de broyat de matière végétale a été mélangé avec 100 ml d'eau. L'extraction par macération à froid de chaque mélange a été 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.

Les extraits aqueux obtenus ont été ensuite filtrés en utilisant un papier filtre Whatman ayant une porosité de $0,2\mu\text{m}$ et concentrés par lyophilisation.

Les concentrés de composés bioactifs récupérés ont été ensuite mélangés à 20 ml d'eau distillée. Cette dernière solution riche en composés bioactifs sera enfin diluée à l'eau distillée stérile à des taux variables de 0, 20, 40, 60, 80 et 100% (Extrait pur), respectivement.

4.1. Préparation des différentes solutions d'extrait à l'eau

Des dilutions à l'eau variable de 0, 20, 40, 60, 80, 100% sont établies à partir de la solution mère d'extrait à l'eau préalablement établie (2 fois : 2 dilutions) (figure 07).

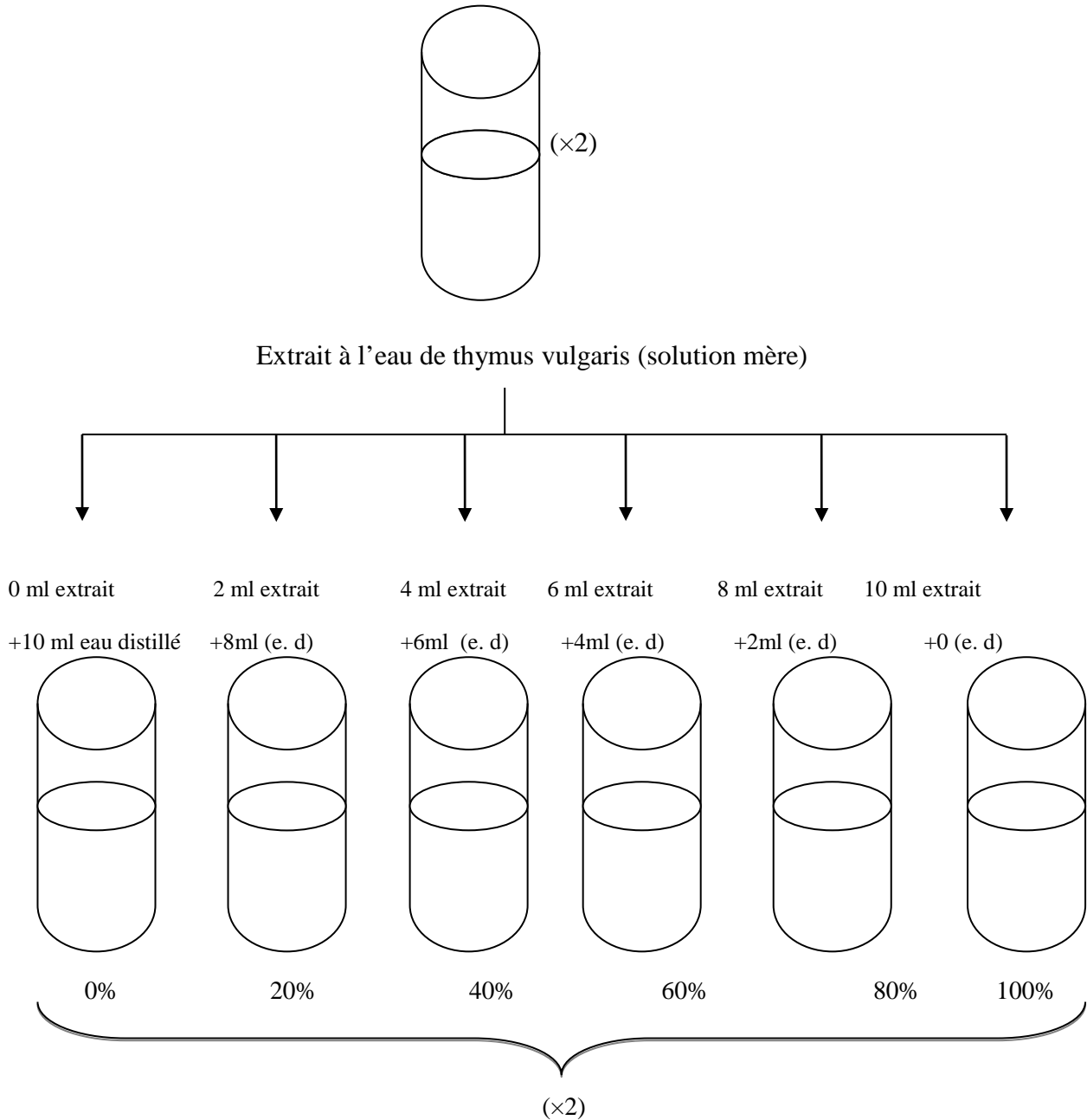


Figure 07 : préparation des différentes dilutions à partir de la solution mère.

5. Mesures et contrôles

5.1. Activation des souches

Expérimentation est réalisé sur deux souches de référence de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* ramené de l'industrie.

➤ Milieux d'activation

Les deux souches étudiées sont déposées tout d'abord dans 10ml de milieu de bouillon nutritif (10ml pour streptococcus et 10ml pour lactobacillus) à 37°C pendant 3 heures, ensuite activées par culture en surface sur des milieux de croissance spécifiques (M17 pour streptococcus et MRS pour lactobacillus) à 37°C durant une période de 24 heures. (Figure 08)

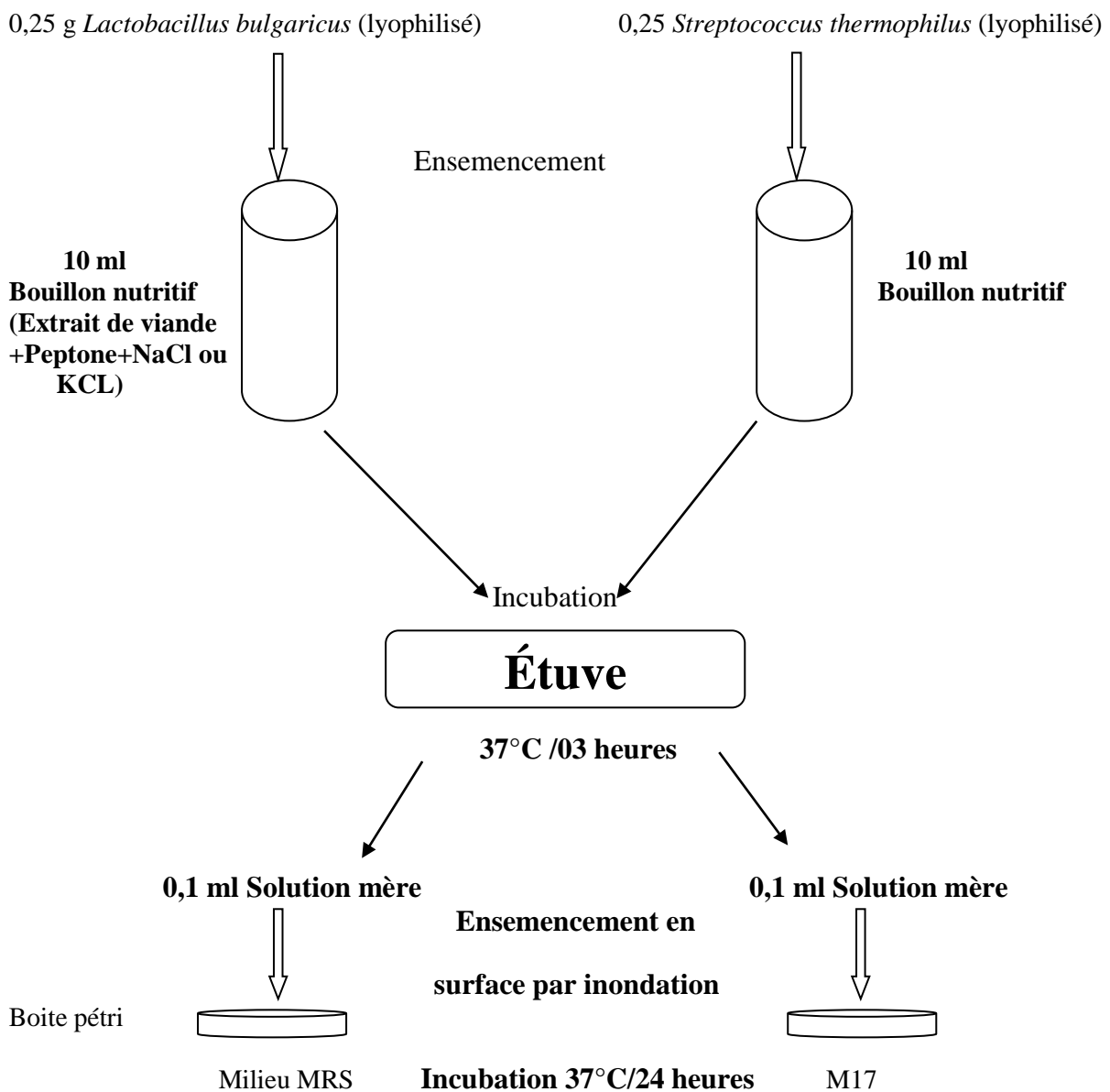


Figure 08 : Activation des souches

5.2. Méthodes de contact direct :

A l'aide d'une anse à platine, on prélève une colonie à partir de la souche *Streptococcus* activée et la 2eme colonie à partir de *Lactobacillus* activée après 24 heures, puis on l'ensemence dans 10ml de bouillon nutritif, ensuite on incube le mélange pendant 3 heures à 37°C, ce qui représente les solutions mères.

Après l'incubation des deux solutions mères, on prépare des dilutions décimales dans l'eau physiologique allant jusqu'à 10^{-4} . A l'aide d'une pipette pasteur, on prélève à plusieurs reprises 1ml de la dernière dilution (10^{-4}) et on les met dans 9ml de chaque dilution à (0, 20, 40, 60, 80, 100%), respectivement. (Pour les deux : L.B et S.T).

Trois prises à raison de 1ml de chaque dernière solution sont ensuite mises en profondeur dans les 3 boîtes de pétri et puis on coule les milieux spécifiques M17 pour *Streptococcus*, MRS pour *Lactobacillus*. Enfin, sont incubées à 37°C durant 24 heures (figure 09).

5.3. Détermination du diamètre d'inhibition par la méthode des disques :

1^{er}ement les disques sont préparés par usage de papier Watman n° 3 à raison de 5mm de diamètre. Ensuite, les disques sont stérilisés à 120°C pendant 15 minutes à l'autoclave.

Trois disques imbibés pendant 5 minutes dans chaque dilution d'extrait (0,20,40,60,80,100%) obtenu "thymus + l'eau", 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 avec la solution inoculée "souche active" la solution diluée jusqu'à 10^{-4} : les boîtes de pétri ensemencées avec *Lactobacillus* contenant le milieu MRS et les boîtes ensemencées avec *Streptococcus* contenant M17 (figure 10).

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**).

Méthodologie De Travail

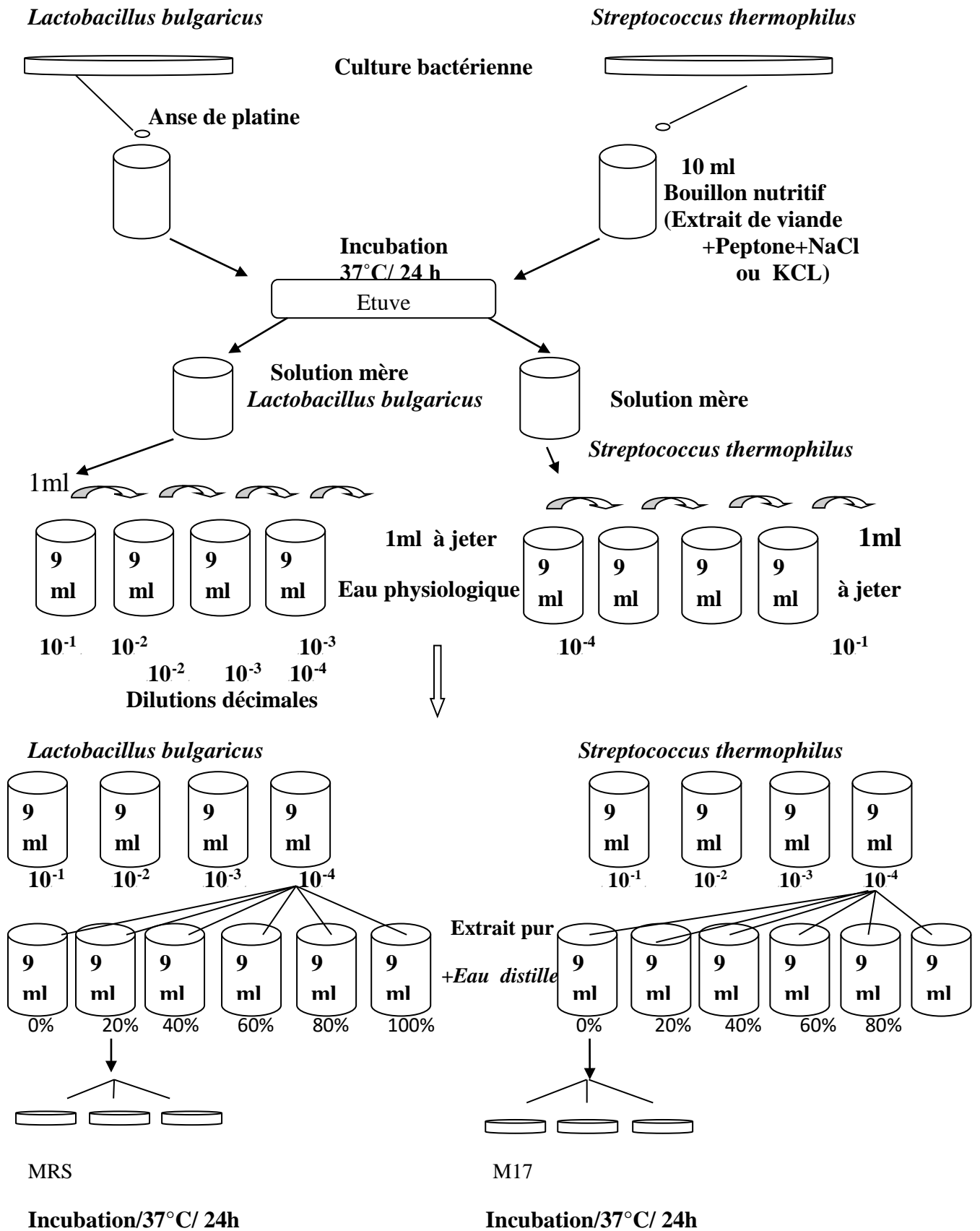


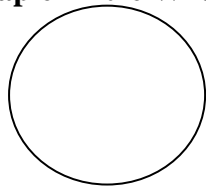
Figure 09 : méthode de contact direct (MCD).

Méthodologie De Travail

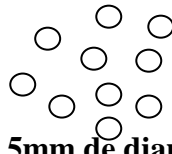
Méthode des disques

- Confection des disques

Papier filtre Whatman n°1



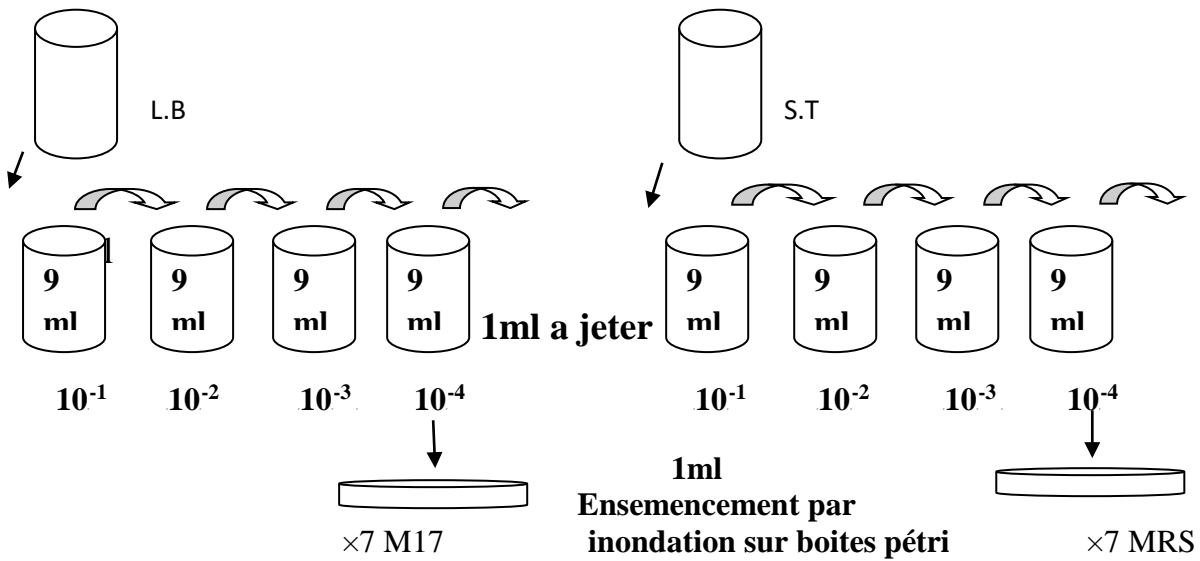
Disque de 5mm de diamètre



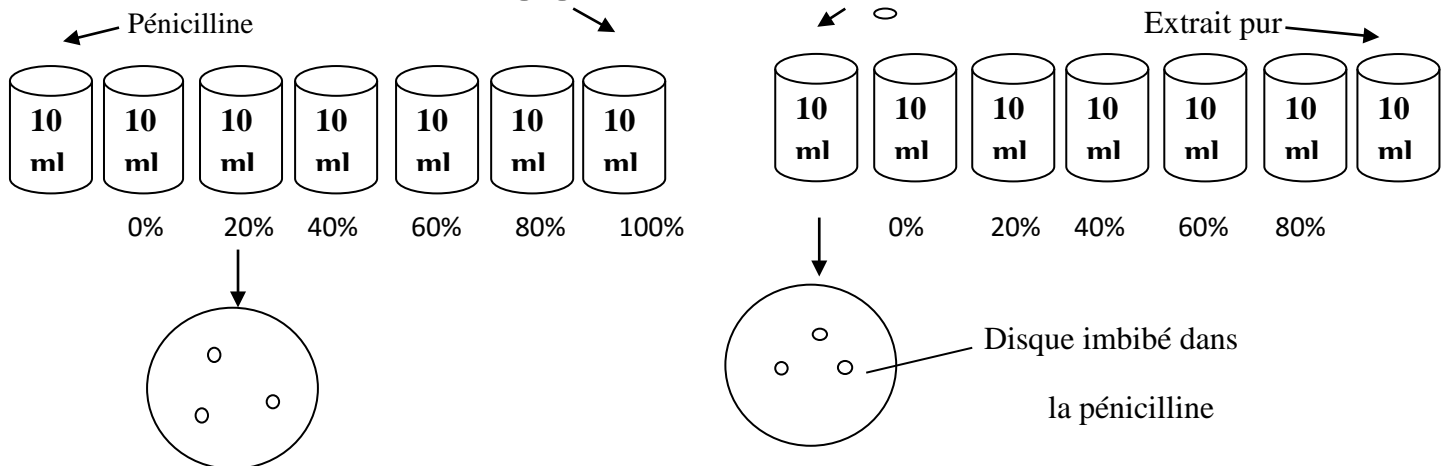
Stérilisation à L'autoclave

➤ Activation des souches

120°C / 20mn



- Trois disques sont imbibés dans L'extrait pur, 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% Pendant 5mn



Boite pétri étalé avec L.B

Boite pétri étalé avec S.T

Figure 10 : méthode des disques par diffusion sur gélose (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**).

5.4. 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 à l'eau qui est utilisé pour déterminer la concentration minimale inhibitrice des espèces de germe spécifiques du yaourt (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*).

Après l'activation des souches on obtient des inocula. Des prises à raison de 0,2 ml de l'inoculum (L.B, S.T) sont introduites respectivement dans 2ml de chaque extrait de thymus dilué par le milieu Mueller Hinton (MH).

Le mélange des tubes contenant les extraits préparés à différentes concentrations de 0, 20, 40, 60, 80 et 100% et l'inoculum de la souche sont ensuite incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

On a préparé 3 échantillons :

- ❖ 1^{er} échantillons : pour la lecture à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 550nm à 0 heure.
- ❖ 2^{ème} échantillon : pour la lecture à l'aide d'un spectrophotomètre après incubation de 24h.
- ❖ 3^{ème} échantillon : pour la CMB.

La détermination de la CMI est effectuée à partir de la mesure de la turbidité induite par la croissance du germe étudié à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 550nm.

La CMI correspond à la plus petite concentration pour la quelle il y a absence de turbidité, par conséquent c'est le premier tube ou la valeur d_i est égal à d_f ($d_i=d_f$).

Taux de survie germe cariogène étudié

Le taux de survie est mesuré au spectrophotomètre réglé à 560 nm comme suit :

$$S=100\times\frac{df-di}{DF-DI}$$

S : Taux de survie

di : Densité optique initial de la solution d'extrait à l'Hexane

df : Densité final de la solution d'extrait à l'hexane

DI : densité optique initial du témoin

DF : Densité optique final du témoin

df-di : Différence de densité optique dans l'extraitensemencé avant et après incubation à 37°C durant 18heures.

DF-DI: Différence de densité optique sans extrait de thymus vulgaris avant et après incubation à 37°C durant 18heures (**Zirihi et al, 2007**).

Méthodologie De Travail

➤ Activation des souches

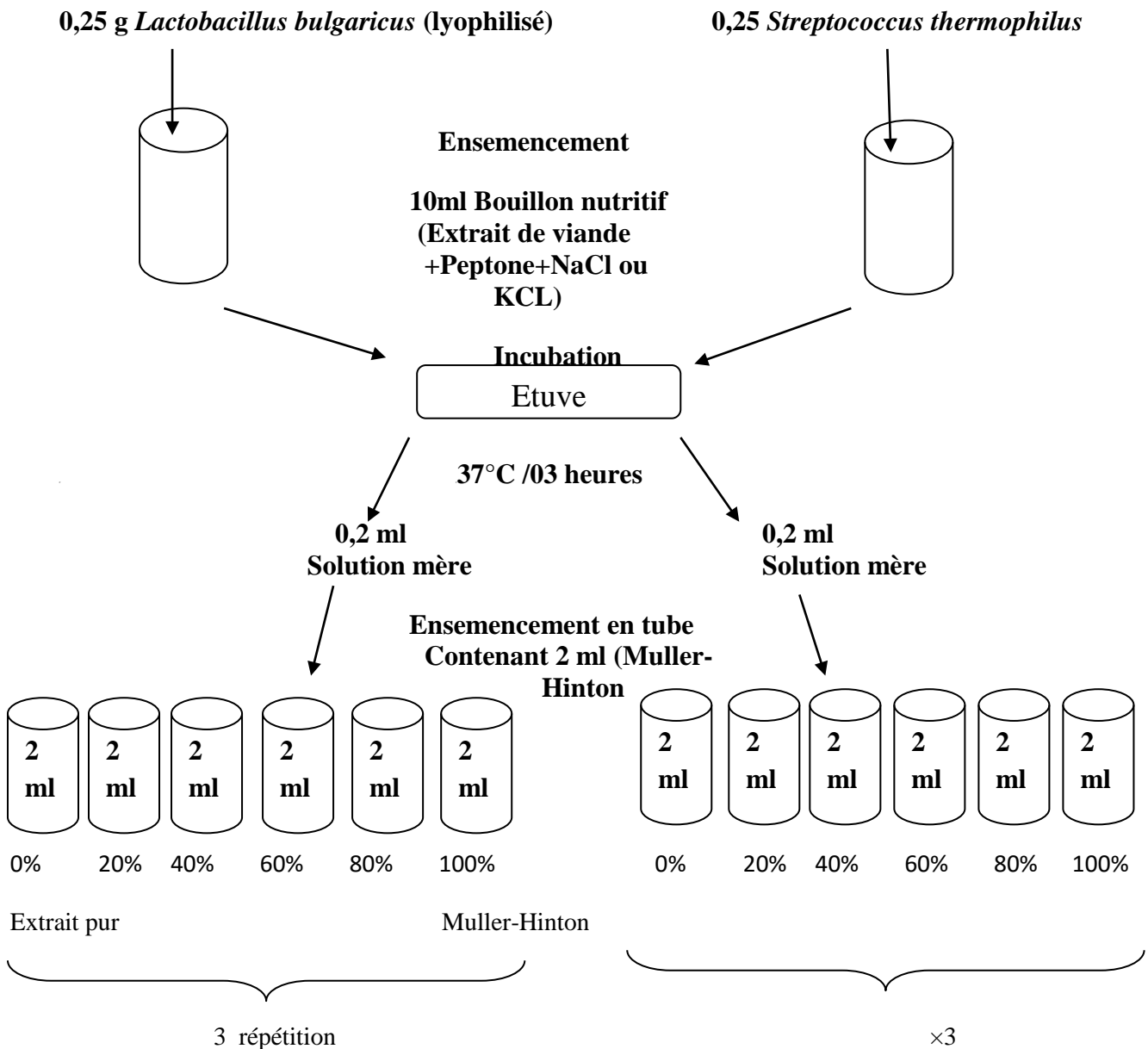


Figure 11 : détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Ex : à 20 % on ajoute 0,4 de Muller Hinton à l'extrait et 1,6 extrait pur

- 1^{er} échantillon : la lecture à l'aide de spectrophotomètre à 0 heure
- 2^{ème} échantillon : la lecture à l'aide de spectrophotomètre après 24 heures d'incubation
- 3^{ème} échantillon : pour la CMB

5.5. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :

La CMB est concentration de l'antimicrobien qui laisse au plus 0,01% de germe vivant après culture sur gélose (Moroh et al., 2008).

Pour sa détermination, le tube témoin pour les germes étudiés *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* a été dilué jusqu'à 10^{-4} .

Cette dernière dilution représente 0,01 de survie des germes après culture en strie.

Elle est repiquée par strie de 5cm sur une gélose Muller Hinton, puis incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures.

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 estensemencée 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, égalementensemencé 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.

5.6. Traitements statistiques

Les résultats ont subi une analyse de variance randomisation, suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de NEWMAN et KEULS (STAT BOX 6.4).

➤ *Lactobacillus bulgaricus*

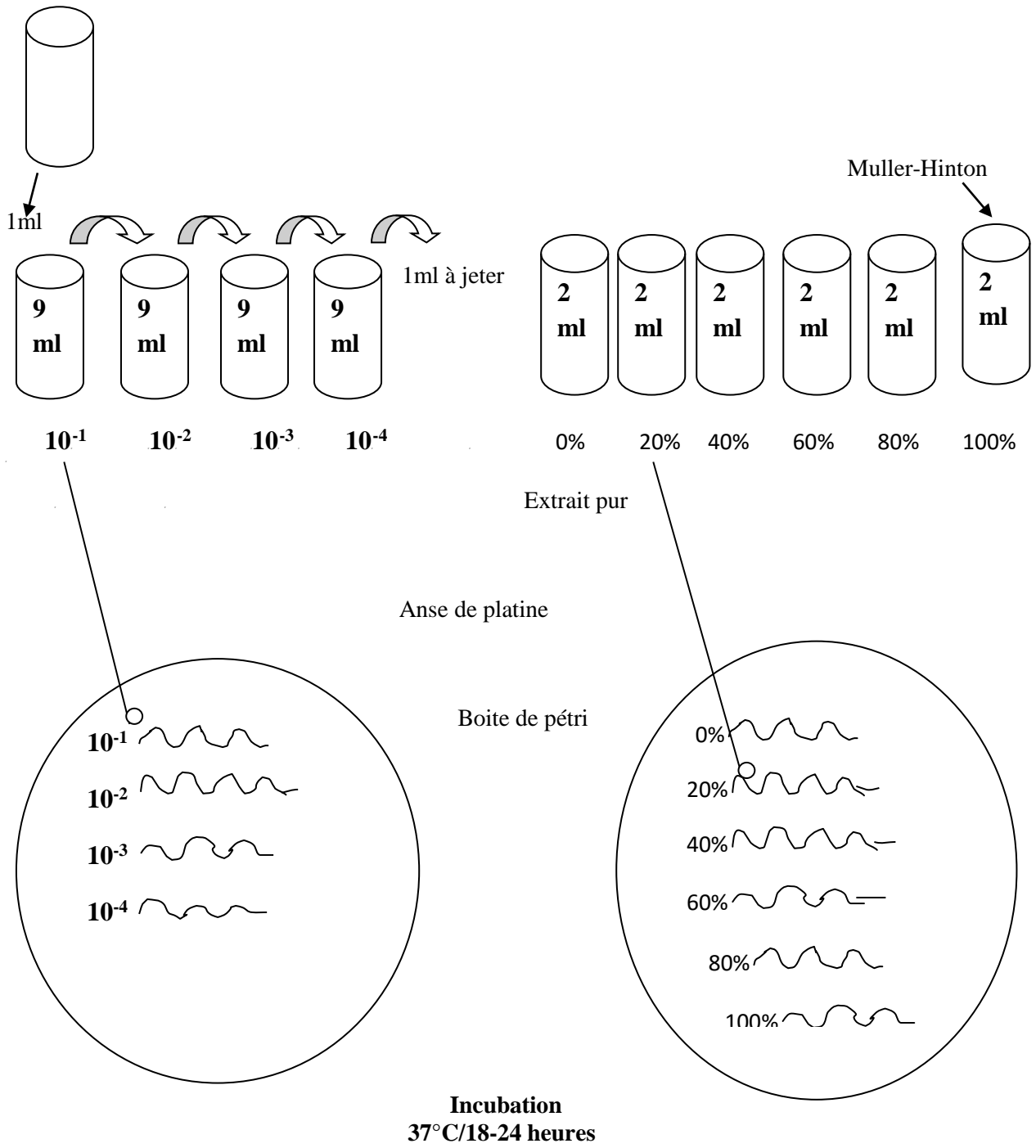
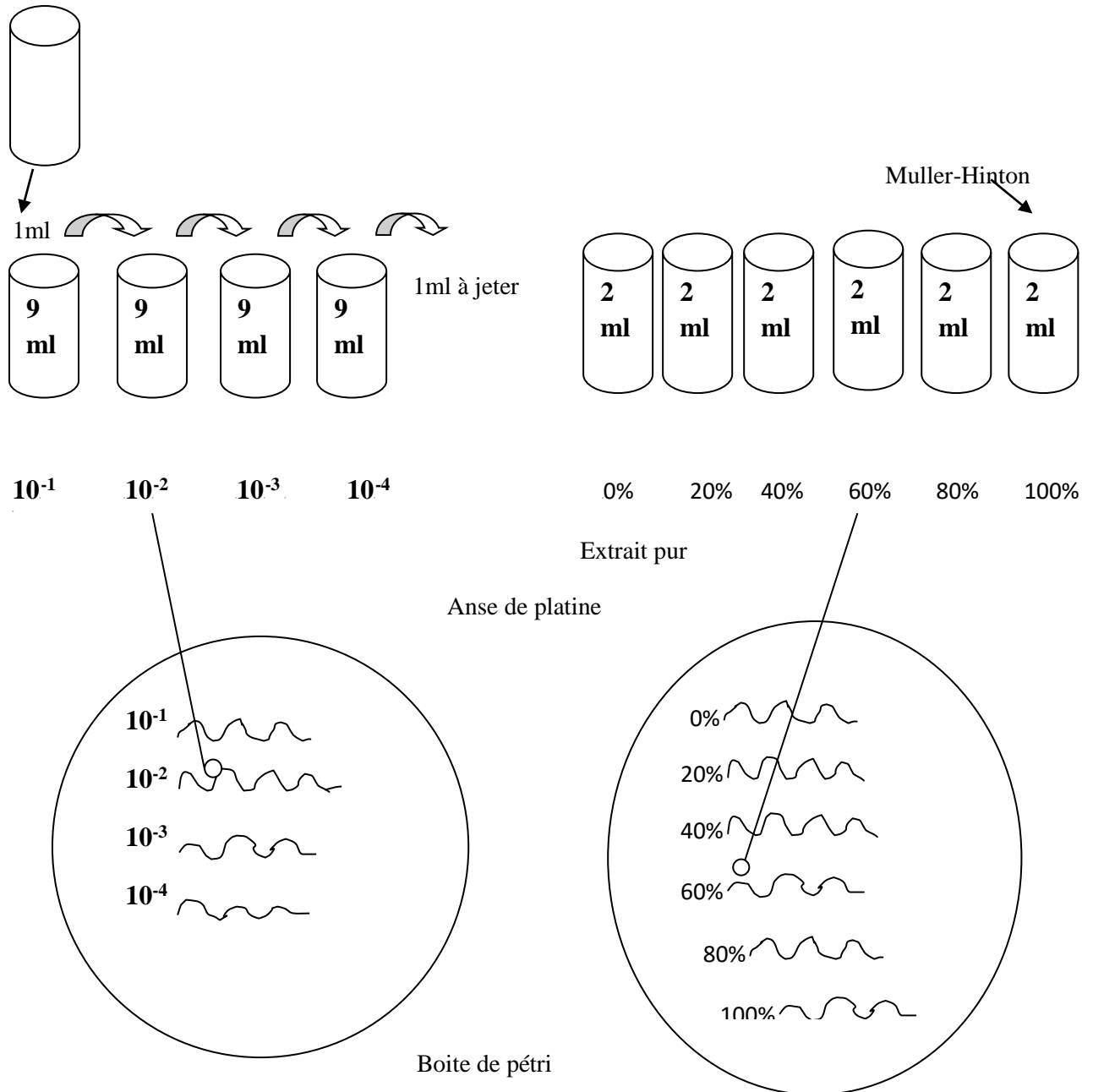


Figure 12 : détermination de la concentration minimale bactéricide pour *Lactobacillus bulgaricus* (CMB).

➤ *Streptococcus thermophilus*



Incubation
37°C/18-24 heures

Figure 13 : détermination de la concentration minimale bactéricide pour *Streptococcus thermophilus* (CMB).

Partie III :

Résultats et

Discussion

1. Lactobacillus bulgaricus

1.1. Méthode de contact direct :

Croissance :

Le développement du nombre de Lactobacillus bulgaricus s'avère inversement proportionnel avec l'augmentation de la concentration d'extrait à l'eau de Thymus vulgaris.

Un abaissement significatif ($P < 0,01$) de la croissance de Lactobacillus bulgaricus est induit par l'extrait de Thymus vulgaris préparé à 20% de (91.10^4 UFC/ml), comparativement au témoin 0% (132.10^4 UFC/ml). La diminution du germe devient plus important ($P < 0,01$) dans les extraits préparés à 40 et 60% (86.10^4 , 57.10^4 UFC/ml), alors qu'aucun développement n'est observé dans les extraits de 80 et 100%, ce qui indique que l'inhibition est totale (tableau 04).

Tableau 04 : effet des différentes concentrations de l'extrait à l'Eau de Thymus vulgaris sur la croissance de Lactobacillus bulgaricus.

Extraits à l'Eau de Thymus vulgaris	Nombre de colonies (UFC/ml).	Groupes homogènes				Analyse de variance
0%	132.10^4	A				** ($P < 0,01$)
20%	91.10^4		B			
40%	86.10^4		B			
60%	57.10^4			C		
80%	0				D	
100%	0				D	

** : Effet hautement significatif, \bar{X} : moyenne, n : nombre de répétition, p : seuil de probabilité, UFC : Unité Formant Colonies; a, b, c, d : Comparaison statistique des moyens.

Résultats et discussions

1.2. Diamètre d'inhibition :

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 à l'Eau de *Thymus vulgaris*. Le diamètre d'inhibition le plus faible ($P < 0,01$) est réalisé avec l'extrait préparé à 20% ; 6 mm. Par contre les résultats les plus élevés ($P < 0,01$) sont obtenus avec des concentrations des extraits de *Thymus vulgaris* de 40, 60, 80 et 100%. L'antibiotique enregistre un diamètre d'inhibition le plus élevé (de l'ordre de 14,333 mm) ; il est légèrement supérieur ($P < 0,05$) à celui de l'extrait préparé à 100% (10,333 mm).

L'analyse de variance dévoile l'effet hautement significatif du facteur étudié à savoir les concentrations d'extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* sur les variations des diamètres des zones d'inhibitions au cours de la culture de l'espèce bactérienne *Lactobacillus bulgaricus* (tableau 05).

Tableau 05 : variation du diamètre de la zone d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extraits à l'Eau de *Thymus vulgaris* au cours de la culture de l'espèce bactérienne *Lactobacillus bulgaricus*. Diamètre d'inhibition (mm) Ecart type.

Extraits à l'Eau de <i>Thymus vulgaris</i>	Diamètre d'inhibition L.B (mm)	Ecart type	Groupes homogènes				Analyse de variance
Pénicilline G	14,333	0,577	A				** P<0,01
100%	10,333	0,577		B			
80%	8,333	2			C		
60%	7	0,577			C		
40%	7	1			C		
20%	6	1,732			C		
0%	0	0				D	

** : Effet hautement significatif, \bar{X} : moyenne, n : nombre de répétition, p : seuil de probabilité, UFC : Unité Formant Colonies; a, b, c, d : Comparaison statistique des moyens.

Résultats et discussions

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 à l'eau de *Thymus vulgaris* préparé à 20% ; 41,87% en moyenne.

Les extraits préparés à 40, 60, 80% ont induit des résultats beaucoup plus importants comparativement à la solution précédente ($P < 0,01$) ; 48,849, 48,849, 58,153 % en moyenne, respectivement.

Enfin, la solution préparée à 100% a montré un taux d'inhibition d'environ 72,11% sur la croissance de ce germe. Le taux s'avère significativement ($P < 0,01$) supérieur à l'ensemble des solutions expérimentales (tableau 06) taux d'inhibition en (%).

Tableau 06 : variation du taux d'inhibition de L.B en fonction des différentes concentrations d'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris*.

Extraits à l'Eau de <i>Thymus vulgaris</i>	Taux d'inhibition en (%) L.B	Ecart type	Groupes homogènes				Analyse de variance
Pénicilline G	100	0	A				** ($P < 0,01$)
100%	72,11	4,029		B			
80%	58,153	13,957			C		
60%	48,849	4,029			C		
40%	48,849	6,978			C		
20%	41,87	12,087			C		
0%	0	0				D	

** : Effet hautement significatif, \bar{X} : moyenne, n : nombre de répétition, p : seuil de probabilité, UFC : Unité Forment Colonies; a, b, c, d : Comparaison statistique des moyens.

1.4. Concentration minimale inhibitrice (CMI) :

Lactobacillus bulgaricus :

Les espèces microbiennes *Lactobacillus bulgaricus* objet de notre étude ne semble pas croître sur milieu liquide MH contenant un taux d'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris* de 40%; avec un taux de survie proche de zéro. Ainsi cette solution préparée à 40%; d'extrait à l'eau représente donc la concentration minimale inhibitrice (CMI) (tableau 07).

Tableau 07 : variation de la turbidité induit par le développement de *Lactobacillus bulgaricus* en fonction des différentes concentrations de *Thymus vulgaris*.

Désignation	Extrait à l'Eau de <i>Thymus vulgaris</i>					
Densité optique	0%	20%	40%	60%	80%	100%
Avant incubation (d_i)	0,029	0,025	0,08	0,02	0,148	3
Après incubation (d_f)	0,036	0,031	0,08	0,02	0,148	3,01
$d_f - d_i$	0,007	0,006	0	0	0	0
Taux de survie S (%)	100	85,714	0	0	0	0
CMI	CMI à 40%					

$d_f - d_i$: différence de densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures ; $D_f - D_i$: différence de densité optique sans extraits de *Thymus vulgaris* et après incubation à 37°C durant 18 heures S : Taux de survie du microorganisme en %.

1.5. Concentration minimale bactéricide (CMB) :

la figure représente d'un coté les repiquages en strie sur gélose HM de différentes dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} de l'inoculum bactérienne de *Lactobacillus bulgaricus* après incubation à 37°C pendant 24 heures , et d'un autre coté les repiquages en strie sur milieu gélose MH

Résultats et discussions

de différentes concentrations d'extraits à l'Eau ensemencés avec *Thymus vulgaris* après culture durant 18 à 24 heures à 37°C.

La confrontation entre les deux résultats (figure) montre que la première solution ou le nombre de germe après culture est proche à la dilution 10^{-4} après 24 heures d'incubation est celle préparé à 60% d'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris* ; cette solution représente donc la concentration minimal bactéricide.

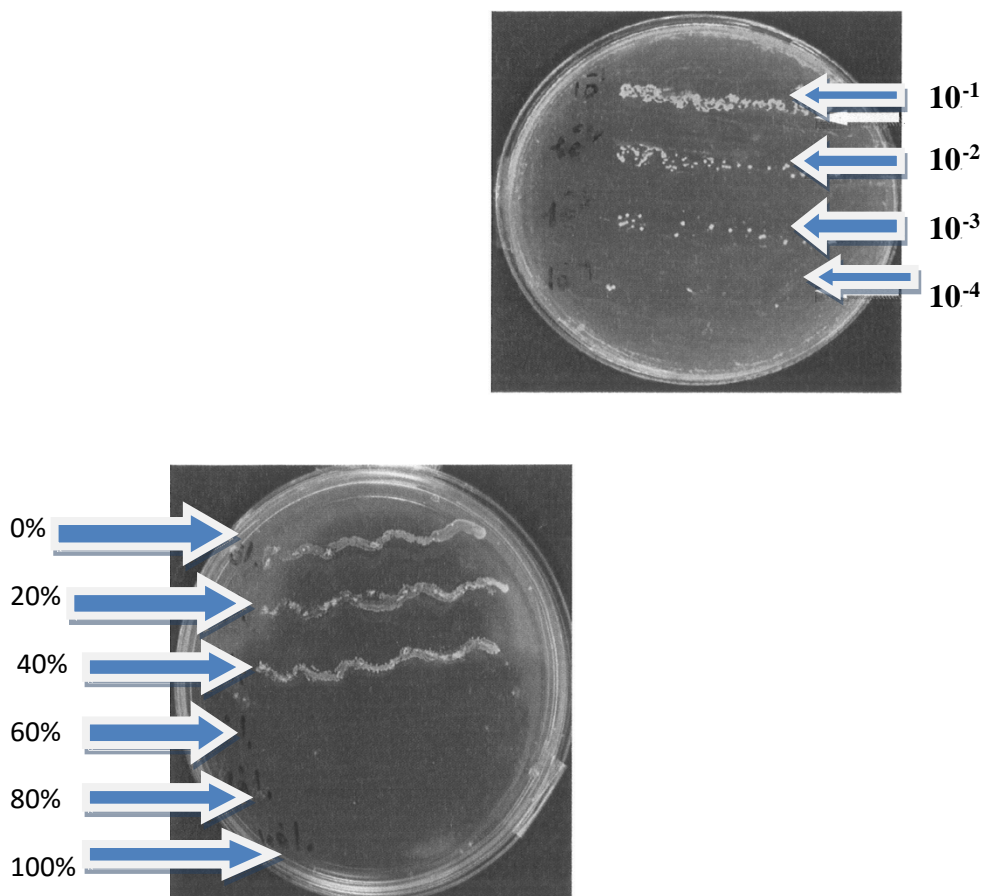


Figure 15 : détermination de la CMB des extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus* comparativement au témoin.

Résultats et discussions

Le rapport CMB/CMI obtenu égale à 1,5 montre que l'extrait expérimental exerce un effet inhibiteur de type bactéricide sur la souche étudiée (Tableau 08).

Tableau 08 : actions inhibitrices des extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Lactobacillus bulgaricus*.

Désignateur	CMB	CMI	(CMB/CMI)	Effet d'inhibition
L.Bulgaricus	60%	40%	1,5	Bactéricide
Normes	<p>✚ D'après (Olivier., 2007): CMB/CMI ≤ 2 (Effet bactéricide). CMB/CMI ≥ 2 (Effet bactéristatique).</p> <p>✚ D'après (Marmonier., 1990): CMB/CMI ≤ 4 (Effet bactéricide). CMB/CMI ≥ 4 (Effet bactéristatique).</p>			

2. *Streptococcus thermophilus*

2.1. Méthode de contact direct :

Les effets des différentes solutions d'extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Streptococcus thermophilus* sont perçus dans .

L'extrait de thym à 20% (115.10^4 UFC/ml) révèle un faible ($P < 0,01$) taux de croissance de *Streptococcus thermophilus* par rapport à celui du témoin à base d'eau distillée stérile (142.10^4 UFC/ml).

La prolifération de ce microorganisme continue à diminuer ($P < 0,01$) en présence d'extrait de thym à partir de 40 à 60% (92.10^4 , 53.10^4).

Par ailleurs, les extraits préparés à 80% et 100% ont exercé un effet bactéricide sur l'espèce étudiée ; ainsi aucun développement de *Streptococcus thermophilus* n'a été observé.

Résultats et discussions

Tableau 09 : Effet des différentes dilutions d'extrait de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Streptococcus thermophilus*.

Extraits à l'Eau de Thymus vulgaris	Nombre de colonies (UFC/ml)	Groupes homogènes					Analyse de variance
0%	142.10 ⁴	A					** (P<0,01)
20%	115.10 ⁴		B				
40%	92.10 ⁴			C			
60%	53.10 ⁴				D		
80%	0					E	
100%	0					E	

** : Effet hautement significatif, \bar{X} : moyenne, n : nombre de répétition, p : seuil de probabilité, UFC : Unité Forment Colonie, a, b, c, d : Comparaison statistique des moyens.

2.2. Diamètre d'inhibition :

Les extraits d'inhibition des extraits à l'Eau de *Thymus vulgaris* sont très remarquables (P<0,01).

Le faible diamètre d'inhibition est observé avec l'extrait préparé à 20%(1,667 mm), la zone d'inhibition augmente à 40%(5,333 mm), 60%(8 mm), et plus élevé à 80%(9,333 mm) et 100%(11 mm).

Par ailleurs, la pénicilline G enregistre le meilleur diamètre d'inhibition par comparaison aux différents extraits expérimentaux (P<0,01) 13,333 mm en moyenne.

L'analyse de variance montre l'effet hautement significatif des concentrations d'extractions de *Thymus vulgaris* sur les variations des diamètres d'inhibition de *Streptococcus thermophilus* (tableau 10).

Résultats et discussions

Tableau 10 : variation du diamètre des zones d'inhibition de *Streptococcus thermophilus* en fonction des différents extraits à l'Eau de *Thymus vulgaris* (n=3).

Extraits à l'Eau de <i>Thymus vulgaris</i>	Diamètre d'inhibition S.T (mm)	Ecart type	Groupes homogènes				Analyse de variance
Pénicilline G	13,333	0,577	A				** (P<0,01)
100%	11	1		B			
80%	9,333	0,577		B	C		
60%	8	1			C		
40%	5,333	0,577				D	
20%	1,667	2,887				E	
0%	0	0				E	

** : Effet hautement significatif, \bar{X} : moyenne, n : nombre de répétition, p : seuil de probabilité, UFC : Unité Forment Colonie, a, b, c, d : Comparaison statistique des moyens.

2.3. Taux d'inhibition :

La variation des taux d'inhibition de *Streptococcus thermophilus* est marquée d'abord par des résultats très proches allant de 12,503 à 40,01%, respectivement 20% et 40%, puis il est remarqué une augmentation très significative (P<0,01) du taux d'inhibition à 60,015, 70,017, 82,521% avec l'extrait préparé à 60%, 80%, 100% (tableau 11).

Tableau 11 : variations des taux d'inhibition de *Streptococcus thermophilus* en fonction des différentes concentrations des extraits à l'Eau de *thymus vulgaris* (n=3).

Extraits à l'Eau de <i>Thymus vulgaris</i>	Taux d'inhibition en (%) S.T	Ecart type	Groupes homogènes				Analyse de variance
Pénicilline G	100	0	A				** (P<0,01)
100%	82,521	7,502		B			
80%	70,017	4,331		B	C		
60%	60,015	7,502			C		
40%	40,01	4,331				D	
20%	12,503	21,656				E	
0%	0	0				E	

** : Effet hautement significatif, \bar{X} : moyenne, n : nombre de répétition, p : seuil de probabilité, UFC : Unité Forment Colonie, a, b, c, d : Comparaison statistique des moyens.

Résultats et discussions

2.4. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) :

Pour l'espèce *Streptococcus thermophilus* le taux de survie proche à zéro c'est à partir de solution préparée à 60% ; 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 ($d_i = d_f$). Donc la concentration minimale inhibitrice (CMI) (tableau 12).

Tableau 12 : évaluation de la concentration minimale inhibitrice d'extrait de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Streptococcus thermophilus*.

Désignation	Extrait à l'Eau de <i>Thymus vulgaris</i>					
	0%	20%	40%	60%	80%	100%
Densité optique	0,02	0,02	0,135	0,192	0,134	3
Avant incubation (d_i)	0,02	0,02	0,135	0,192	0,134	3
Après incubation (d_f)	0,036	0,031	0,145	0,192	0,134	3
$d_f - d_i$	0,016	0,011	0,01	0	0	0
Taux de survie S (%)	100	68,75	62,5	0	0	0
CMI	CMI à 60%					

$d_f - d_i$: différence de densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures ; $D_f - D_i$: différence de densité optique sans extraits de *Thymus vulgaris* et après incubation à 37°C durant 18 heures S : Taux de survie du microorganisme en %.

2.5. Concentration minimale bactéricide (CMB) :

La figure représente d'une part les repiquages en strie sur gélose HM des différentes dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} de l'inoculum bactérienne de *Streptococcus thermophilus*. après incubation à 37°C pendant 24 heures , et d'autre part les repiquages en strie du même contenue dans les différentes concentrations d'extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* préparés à 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%.

Le tube préparé à 20% n'a pas inhibé totalement la croissance de *Streptococcus thermophilus*, à 40, 60% il y a une inhibition mais plus élevée que 20%.

Cependant, l'extrait à 80% a engendré un pourcentage de survie proche de 0.01 de l'espèce microorganisme expérimentale ; cette solution à bas d'extrait de thym constitue donc la CMB.

Résultats et discussions

Il résulte enfin, à partir du rapport CMB/CMI obtenu et qui est égale à 1,333 que les extraits expérimentaux de thym exercent un effet inhibiteur de type bactéricide sur l'espèce étudiée *Thymus vulgaris*.

Tableau 13 : action inhibitrice d'extrait de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Streptococcus thermophilus*.

Désignateur	CMB	CMI	(CMB/CMI)	Effet d'inhibition
S.Thermophilus	80%	60%	1,333	Bactericide
Normes	<p>✚ D'après (Olivier., 2007): CMB/CMI ≤ 2 (Effet bactéricide). CMB/CMI ≥ 2 (Effet bacteristatique).</p> <p>✚ D'après (Marmonier., 1990): CMB/CMI ≤ 4 (Effet bactéricide). CMB/CMI ≥ 4 (Effet bacteristatique).</p>			



Figure 16 : détermination de la concentration minimale bactéricide de l'extrait *Thymus vulgaris* sur le *Streptococcus thermophilus*.

Discussion :

Résultats et discussions

Les extraits de « Zaatar » de *Thymus vulgaricus* ont induit des diminutions hautement significatif ($P < 0,01$) de la croissance de *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* par comparaison au témoin (Eau distillé stérile 0%), la baisse de la croissance des espèces microbiens étudiées sont importantes à 20%, 40% et 60% de l'extrait de thym. Par ailleurs, aucun développement des deux souches lactiques L.B et S.T n'est observé en présence des extraits préparés à 80% et 100% ceci est due certainement à l'effet antimicrobienne qu'exerce l'extrait de *Thymus vulgaris* sur les germes étudiés.

La méthode des disques a montré des résultats comparables entre l'antibiotique (pénicilline) et l'extrait à l'Eau du Thym préparé à 100% ; 14,333 vs 10,333 mm, en moyenne pour les *Lactobacillus bulgaricus* et 13,333 vs 11 mm, en moyenne chez les *Streptococcus thermophilus*.

Par ailleurs, les variations des diamètres d'inhibitions de *Lactobacillus bulgaricus* sont marqués par des valeurs qui augment de 6, 7, 7, 8,333, 10,333mm respectivement pour les extrais de thym préparés à 20, 40, 60, 80, 100%.

d'autre part le *Streptococcus thermophilus* il a été observé que les extraits préparés de 40 à 100% ont enregistré des taux d'inhibition élevés variant de 40,01 à 82,521% ; alors que celui préparé à 20% a marqué une valeur de 12,503%. Ce qui confirme que l'extrait à l'Eau de *Thymus vulgaris* exerce un effet inhibiteur sur la croissance des souches spécifiques du yaourt ; *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* (Ezmirly et al., 1979).

L'analyse de la CMI et de la CMB montre que *Lactobacillus bulgaricus* est sensible à 40% et pour *Streptococcus thermophilus* à 60% d'extraits de thym. Par ailleurs, le rapport CMB/CMI trouvé à *Lactobacillus bulgaricus* égale à 1,5 et pour *Streptococcus thermophilus* : 1,333. D'après (Olivier, 2007) ces rapports puisque sont inférieurs ou égale à 2 donc il ya un effet bactéricide sur les espèces microbiennes étudiés ; L.B, S.T. (Marmonier., 1990); rapporte en d'autre part que lorsque le rapport (CMB/CMI) d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égale 4 ceci suppose qu'elle présente un effet bactéricide ; alors que si le rapport est supérieur à 4 elle présente plutôt un effet bactériostatique.

Globalement l'extrait à l'Eau de *Thymus vulgaricus* récoltée dans la région de Mechria a Naama - Algérie- forme un effet bactéricide très important sur bactéries lactiques (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*). Réunion de thym avec le yaourt devra ce faire à des concentrations de moins de 20%.

Conclusion

Au terme de notre étude expérimentale à la lumière des résultats obtenus, il apparaît notamment que les germes lactiques étudiés sont très sensibles aux extraits à l'Eau de thymus vulgaris à partir de 80, 100%. Le degré d'inhibition s'avère dépendre de la concentration de l'extrait de thym utilisé. Ainsi, plus la concentration des extraits de thym est importante, plus le degré d'inhibition de ces bactéries est remarquable.

L'étude a montré que les solutions des extraits à l'Eau préparées à (20, 40, 60, 80, 100%) de Zaatar présentent une forte activité antimicrobienne contre les souches étudiées : *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*; avec des diamètres des zones d'inhibitions variant de (6 à 14,333mm) pour L.B et (1,667 à 13,333mm) pour S.T, des taux d'inhibitions qui oscillent entre (41,87 à 100%) pour L.B (12,503 à 100%) :S.T.

Les concentrations minimale inhibitrice et la concentration minimale bactéricide montrent que l'extrait de thym exerce un effet bactéricide vis-à-vis de S.T et L.B.

En fin, leur utilisation en très faibles quantités est envisageable en raison de leur grande efficacité. Leur utilisation combinée à d'autres procédés de conservation en fera certainement dans les prochaines années l'agent antimicrobien naturel incontournable pour améliorer la durée de vie. Par exemple, dans le cadre de notre étude on peut incorporer cette technique dans la filière laitière pour améliorer la qualité grâce aux effets bactéricides.

- **Morales, R. (2002)** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In: *Thyme: the genus Thymus. Ed. Taylor & Francis, London.* pp. 1-43.
- **Amiot, 2005**, *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires. *Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de Montpellier.*
- **Pariente L. (2001)** Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologiques. 2^{ème} Ed. *Académie nationale de pharmacie. Paris* 1643 p.
- **Iserin P. (2001)** Encyclopédie des plantes médicinales. 2^{ème} Ed. *Larousse. Londres* Pp : 143 et 225-226.
- **Ozcan M., J.-C. Chalchat (2004)** Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. Growing Wild in Turkey. *Bulg. J. Plant Physiol.* 30 (4): 68-73.
- **Kitajima J., Ishikawa T., Urabe A., Satoh M. (2004)** Monoterpenoids and their glycosides from the leaf of thyme. *Phytochemistry.* **65**: 3279-3287.
- **Kaloustian J., El-Moselhy T. F., Portugal H. (2003)** Chemical and thermal analysis of the biopolymers in thyme (*Thymus vulgaris*). *Therm. Ochimica. Acta.* **401**: 7786.
- **Bruneton J. (1999)** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3^{ème} Ed *Tec&Doc. Paris.*
- **Guillén M. D., Manzano M. J. (1998)** Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymus vulgaris* L. *Food chemistry.* **63** (3): 373-383.
- **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 Biomedical Analysis* **29**: 691-700.
- **Kulisic T, Krisko A, Dragovic-Uzelac V, Milos M, Pifat G (2007)** The effects of essential oils and aqueous tea infusions of oregano (*Origanum vulgare* L. spp. *Hirtum*), thyme (*Thymus vulgaris* L.) and wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) on the copper-induced oxidation of human low-density lipoproteins. *Int J Food Sci Nutr.* **58** (2): 87-93.
- **Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T. and Jukic, M. (2006)** Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*, 94, 550-557.
- **Morimitsu Y, Yoshida K, Esaki S, Hirota A (1995)** Protein Glycation Inhibitors from Thyme (*Thymus vulgaris*), *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 59: 11, 2018-2021.

- **Thuille N., Fille M., Nagl M. (2003)** Bactericidal activity of herbal extracts. *Int. J. Hug. Environ. Health.* **206**: 217-221.
- **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.
- **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: 191-19.
- **Valero M, Salmerón MC. (2003)** Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *Int J Food Microbiol.* 15; 85 (1-2): 73-81.
- **Tabak et ses assistants (1996),** Antibacterial effects of Nutraceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa* Turk. *J. Biol.* **30**: 239-242.
- **Lall N, Meyer JJ (1999)** In vitro inhibition of drug-resistant and drug-sensitive strains of *Mycobacterium tuberculosis* by ethnobotanically selected South African plants. *J Ethnopharmacol.* **66** (3): 347-54.
- **Reddy M.V. B., Angers P., Gosselin A, Arul J. (1998)** Antifungal activity of *Thymus vulgaris* essential oil. *Phytochemistry.* **47** (8): 1515-1520.
- **Giordani R., Hadeif Y., Kaloustian J. (2008)** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia* **79**: 199-203.
- **Beer A.M., Lukanov J., Sagroche V. (2007)** Effect of Thymol on the spontaneous contractile activity of the smooth muscles. *Phytomedicine* **14**: 65-69.
- **Schopf J. W., Cyanobacteria, 1999:** Darwin's dilemma, in: Schopf J.W. (Ed), *Cradle of life. The discovery of Earth's earliest fossils*, Princeton University Press, Princeton. New Jersey, USA, pp: 3-34.
- **Ben Omar N., Ampe F., Raimbault M., Guyot J.-P., Tailliez P., 2000:** Molecular diversity of lactic acid bacteria from cassava sour starch (Colombia), *Syst. Appl. Microbiol.* p 285-291.
- **Cooke R.D., Twiddy D.T., Reilly P.J.A., 1987** Lactic acid fermentation as a low-cost means of food preservation in tropical countries, *FEMS Microbiol. Rev.* 46 (1987) 369-379.
- **Damelin L.H., Dykes G.A., von Holy A., 1995:** Biodiversity of lactic acid bacteria from food related ecosystems, *Microbios* 83 (1995) 13-22.

- **FOOD TODAY, 1999.** Interet des Bacteries Lactiques en Alimentation. <http://www.eufic.org/article/fr/artid/bacteries-lactiques-alimentation/>.
- **De Roissart. HB, (1986) :** les bactéries lactiques in : lait et produits laitiers. Edition Luquet F.M, technique et document. Lavoisier. Paris, volume 3P : 343-414.
- **Stackebrandt. E., et Goebel, B.M., 1994.** Taxonomie note : A place for DNA-DNA reassociation and RNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 846-849p.
- **Rouisset L. and Bensoltane, A. 2006.** Physico-chemical, microbiological and biotechnological studies of lactic acid bacteria isolated from ewe's milk of Algerian two breeds (Ouled Djellal and El Hamra).Egypt. App. Sci. 567-582p.
- **Carr, F.J., Chill, D., et Maida, N., 2002.** The Lactic Acid Bacteria : A Literature Survey Critical Rev. Microbiol., 28: 4, 281-370.
- **Drouault S. et Corthier G., 2001.** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Vet. Res.*, 32 : 101-117.
- **Sandine. W.E. (1988).** New nomenclature of the non-rod-shaped lactic acid bacteria *Biochimie.* 519-522p.
- **Jones, D. (1978).** Composition and differentiation of genus *Streptococcus*. In: *Streptococci*. Skinner, F. A., Quesnel, L. B., Eds. Academic Press, London, pp: 1-49.
- **Suhigara, T.F. (1985).** The Lactobacilli and Streptococci: bakery products. In: *Bacterial Starter Cultures for Foods*. Gilliland S.E. Eds. CRC Press Boca Raton. Florida. 120-125p.
- **Devoyod, J.J. et Poullain F. (1988).** Les Leuconostocs propriétés : leur rôle en technologie laitière. *Revue Le lait*, 68 (3), pp : 249-280.
- **Hermier. J. Leunoir. J et weber. F, (1992) :** les groupes microbiens d'intérêts. Edition Cepail, P : 23-27.
- **Desmazeaud, M. (1996).** Les bactéries lactiques dans : L'alimentation humaine : utilisation et innocuité. *Cahiers Agricultures.* 5, pp : 331-343.
- **Vandamme P., Pot B., Gillis M., Devos P., Kersters K. et Swings J., 1996.** Polyphasictaxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Rev:* 407p.
- **Stiles M.E. et Holzappel W.H. 1997.** Review article Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 1-29p.

- **Ho T.N.T., N. Tuan N., Deschamps A. et Caubet R, 2007.** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology*. 134-142.
- **Georgala, A., Tsakalidou, E., Kandarakis, L and Kalantzpoulos, G. (1995).** Flavour production in ewe's milk and ewe's milk yoghurt, by single strains and combinations of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus debruekii subsp. bulgaricus* isolated From Traditional Greek yoghurt, *Lait*, 75: 271-283.
- **Desmazcaud, M.J., (1983).** L'état des connaissances en matière de la nutrition des bactéries lactiques. *Lait* : 63 : 267-316.
- **Thompson, J.K., et Collins, M.A., 1989.** Evidence for the conjugal transfer of a plasmid p V A 797: Psa3 co-integrate into strains of *Lactobacillus helveticus*. *Lett_Appl. Microbiol.* 61-64p.
- **Lane. C.N and Fox. P.F, 1996:** Contribution of starter and added lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese during ripening. *Int Dairy, J* 6: 715-728.
- **Topisirovic Ljubisa, Milan kojik, Djordjefira, Natasa Golic, Ivana Strahinic, jelena Lozo., 2006.** Potential of lactic acid bacteria isolated from specific niches in food production and preservation *international journal of food microbiology*. 230-235p.
- **Ammor, S., Rachman, C., Chaillou, S., Pre'vost, H., Dousset, X., Zagorec, M., Dufour, E., Chevallier, L., 2004.** Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages. *Food Microbiol.* 05-11.
- **Papamanoli, E., Tzanctakis, N., Litopoulou-Tzanctaki, E., Kotzekidou, P., 2003.** Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Sci.* 859-867p.
- **Zhennai, Y., 2000.** Antimicrobial compounds and Extracellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria: structures and properties. Academic Dissertation. Department of Food Technology, University of Helsinki. 61p.
- **Shirai. K, Guerrero. I, Huerta. S, Saucedo. G, Castillo. A, O Gonzalez. R, George M. (2001).** Effect of initial glucose concentration and inoculation level of lactic acid bacteria in shrimp emulsion *Hall Enzyme and Microbial Technology* 446-452p.

- **Law, J., et Haandrikman, A., 1997.** Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* 7: 1-11.
- **Monnet, V., Chapot Chartier, M. et Gripon, J.C., (1993).** Les peptidases des lactocoques. Elsevier INRA lait 73 : 97-108.
- **Georgalaki, M. D., Papadelli, M., Anastasiou, R., Kalantzopoulos, G., et Tsakalidou, E. (2002).** Purification and characterization of the X-prolyl-dipeptidylaminopeptodase (PepX) from *Streptococcus macedonicus* and cloning of the pep X gene. *Le Lait*, 82, 657-671.
- **Branger A., Richer M.M. et Roustel S., 2007.** *Microbiochimie et alimentation. Educagri Edition.* 166-168p.
- **Stackebrandt, E., Frederiksen, W., Garrity, G.M., Grimont, P.A., Kampfer, P., Maiden, M.C., Nesme, X., Rossello-Mora, R., Swings, J., Truper, H.G., Vauterin, L., Ward, A.C. et Whitman, W.B., 2002.** Report of the Ad Hoc Committee for the Re-Evaluation of the species definition in bacteriology. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 1043-1047p.
- **Siegumfeldt. H, Rechinger. K.B and Jakobsen. M, 2000:** Dynamic changes of intracellular pH in individual lactic acid bacterium cells in response to a rapid drop in extracellular pH. *Appl Environ Microbiol*, 66p.
- **KHALID N.M. et MARTH E.H., 1990.** Lactobacilli, their enzymes and role. In: Ripening and spoilage of cheese. *Rev. Dairy Sci.* 73: 158-167.
- **LECLERC H., GAILLARD F L. ET SIMONET M., 1994.** Les grands groupes de bactéries. In *Microbiologie générale : la bactérie et le monde microbien. DOIN.* Paris. 445.
- **Pillet M.F., Magras C., Federighi M., 2005.** Bactéries lactiques. In: *bactériologie alimentaire (Federighi M). Ed., Economica. Paris.* 219-240p.
- **Tamime A.Y., 2002.** Microbiology of starter cultures. In: *Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.). 3e Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York.* 261-366p.
- **Scheilfer K.H. 1987.** Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Letters* 46: 201- 203p.
- **Haddie J.M., 1986.** Other streptococci. In: *Bergey's manual of systematic bacteriology (Sneath P. H. A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G.W. et Baltimore W.).* 1: 1070.

- **Hassan A.N. et Frank J.F., 2001.** Starter Cultures and their use. In: Applied Dairy Microbiology (Marth E.H. et Steele J.L.) *2e Ed., Marcel Dekker, Inc.* New York. 151-205.
- **Ogier J.C., Casalta E., Farrokh C. et sailli A., 2008.** Safety assestimed of dairy microorganisms. The Leucomostocgenus. *Int. J. Food Microbiol.* **126**: 286- 290.
- **Dellagio F, De Roissard H, Torriani S, Curk MC, Janssens D, (1994).** Caractéristiques générales des bactéries lactiques Dans : Bactéries lactiques Vol 1. De Roissard H et Luquet FM (ed). Iorica : Uriage, 25-116.

Résumé :

Ce travail a porté sur l'étude de l'effet des extraits à l'eau de *Thymus vulgaris* cultivé dans la région de « Naama » sur les deux germes spécifiques du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

L'extraction des composés bioactifs a été effectuée à partir de la partie aérienne de la plante.

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.

Avec un taux de croissance qui recule et des diamètres d'inhibition qui deviennent de plus en plus importants en augmentant la concentration de l'extrait de thym, on a pu démontrer l'effet inhibiteur de ce dernier sur les germes étudiés qui est en relation certaine avec la concentration en composés bioactifs dans la plante objet de l'étude.

Par ailleurs, la CMI et CMB des deux souches (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) est obtenue avec l'extrait préparé à 60%.

L'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris* de « Naama » semble exercer un effet de type bactéricide sur les deux germes spécifiques du yaourt *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Mots clés : *Thymus vulgaris*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, extrait, effet inhibiteur.