

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى- جيجل

Université Mohamed Seddik Ben Yahia-Jijel-

Faculté des Sciences de la nature
et de vie.

Département: Microbiologie
appliquée et des sciences
alimentaires.



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم
التغذية

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme: Master 2 Académique en Biologie

Option: Microorganismes et pathogénicité

Thème

Etude de la sensibilité de quelques souche d'espèce *Escherichia coli* et quelques bactéries à Gram positif aux 10 molécules d'aurones synthétisés et l'étude de l'activité antibactérienne d'huile essentiel de *Thymus vulgaris*

Membres de Jury:

Présidente: Dr. Bekka F.

Examinatrice: Dr. Laggoune S.

Encadreur: Dr. Boudjerda Dj.

Co-encadreur: M^{lle} Boussafi K.

Présenté Par:

M^{elle} Rekioua Widad

M^{elle} Rezzai Selwa

Année universitaire 2016/2017

Numéro d'ordre (bibliothèque):.....

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Allah le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

*En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur **Dr. Boudjerda Djamel**, son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail.*

*Une grande Merci à **M^{lle}. Boussafi**, pour sa gentillesse, ces conseils qu'elle nous a prodigué, la patience, la confiance qu'elle nous a témoignés ont été déterminants dans la réalisation de notre travail de recherche.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury **Dr. Bekka** et **Dr. Laggoune**, pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

Sans oublier tous les personnels du laboratoire de microbiologie

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



*À cœur vaillant rien d'impossible
À conscience tranquille tout est accessible
Quand il y a la soif d'apprendre
Tout vient à point à qui sait attendre
Quand il y a le souci de réaliser un dessein
Tout devient facile pour arriver à nos fins*



Malgré les obstacles qui s'opposent



*En dépit des difficultés qui s'interposent Les études sont avant tout
Notre unique et seul atout Ils représentent la lumière de notre existence
L'étoile brillante de notre réjouissance*



*Comme un vol de gerfauts hors du charnier natal
Nous partons ivres d'un rêve héroïque et brutal
Espérant des lendemains épiques*



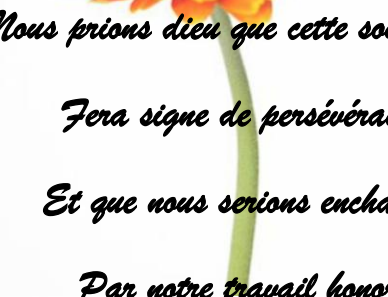
Un avenir glorieux et magique

Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis

*Jour et nuit, nous mènera vers le bonheur fleuri
Aujourd'hui, ici rassemblés auprès des jurys,*



Nous prions dieu que cette soutenance



Fera signe de persévérance

Et que nous serions enchantés



Par notre travail honoré

Nous dédions cet mémoire à



À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que

*Dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père **Rezzai djamel***

*À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; **maman** que j'adore.*

*Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à tous mes frères **Ahmed** et **Khaled** et ma sœur **radia***

je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude, et frères de cœur **widad rek***

*À celui qui m'a soutenue tout au long de ce projet : mon fiancé **walid**, et bien sûr, sans oublier ma grand-Père et toute ma famille **Rezzai**.*

SELWA

A ma très chère mère: Derouiche. H

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A la mémoire de mon Père: Rekioua. R

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mon frère et ma sœur: R. Sou et R. Sa

qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

A tous les membres de la famille Derouiche, petits et grands Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude, et frères de cœur Selwa

A mes amies qui n'ont cessé de m'encourager

Toi qui es toujours là pour me réconforter lorsque ma vie se fait dure

Merci

Widad. Reks

Sommaire

Remerciements

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I. Les *Enterobacteriaceae*

I.1. Définition 2

I.2. Taxonomie 2

I.3. Habitat 2

I.4. Les caractères antigéniques 2

I.5. *Escherichia coli*..... 3

I.5.1. Historique 3

I.5.2. Taxonomie 3

I.5.3. Habitat 3

I.5.4. Classification 3

I.5.5. Les différents sérovars d'*Escherichia coli* 4

I.5.5.1. *Escherichia coli* Entéropathogène (EPEC)..... 4

I.5.5.2. *Escherichia coli* Entérotoxigènes (ETEC)..... 4

I.5.5.3. *Escherichia coli* Entéro-invasive (EIEC) 4

I.5.5.4. *Escherichia coli* Entéro-hémorragique (EHEC)..... 4

I.5.5.5. *Escherichia coli* entéro-agrégative (EAEC) 5

I.5.5.6. *Escherichia coli* à adhésion diffuse (DAEC) 5

I.5.5.7. *Escherichia coli* pathogène extra intestinal (ExPEC) 5

Chapitre II. Les bactéries à Gram positif

II.1. *Staphylococcus* 6

II.1.1. Définition.....	6
II.1.2. Classification.....	6
II.1.3. Pathogénéicité.....	6
II.2. <i>Streptococcus</i>	7
II.2.1. Définition.....	7
II.2.2. Classification.....	7
II.2.3. Pouvoir pathogène.....	7
II.3. <i>Lactobacillus</i>	8
II.3.1. Définition.....	8
II.3.2. Classification.....	8
 Chapitre III. Les flavonoïdes, les aurones et l'huile essentiel de <i>Thymus vulgaris</i>	
III.1. Les flavonoïdes	9
III.1.1. Définition	9
III.1.2. Classification	9
III.2. Les aurones.....	10
III.2.1. Définition	10
III.2.2. Intérêt biologique.....	11
III.2.2.1. Activités antiparasitaires	11
III.2.2.2. Activités antifongiques	11
III.2.2.3. Activités antibactériennes	11
III.3. <i>Thymus vulgaris</i> (L'huile essentiel)	12
III.3.1. Définition	12
III.3.2. Classification	12
III.3.3. Intérêt biologique.....	13

Matériel et méthodes

I. Matériel.....	14
I.1. Milieux de culture	14
I.1.1. Milieu solide	14

I.1.2. Milieu liquide	14
I.2. Les produits chimiques et réactifs.....	14
II.3. Les produits utilisés pour la recherche de l'activité antibactérienne	15
II.1.4. Autres matériel	15
II.1.4.1. Appareillage.....	15
II.1.4.2. Verreries et autres.....	16
II. Méthodes	17
II.1. Origine des souches bactériennes	17
II.2. Analyse microbiologique	17
II.2.1. Vérification de la pureté des souches utilisées.....	17
II.2.1.1. Isolement par épuisement.....	17
II.2.1.2. Coloration de Gram	18
II.3. Technique de diffusion sur milieu gélosé	19
II.4. Test de validation	21

Résultats et discussion

I. Les résultats.....	22
I.1. Les résultats de la vérification de la pureté des souches	22
I.1.1. Isolement par épuisement	22
I.1.2. Coloration de Gram.....	22
I.2. Les résultats de technique de diffusion sur milieu gélosé (Méthode des puits).....	23
I.3. Les résultats de test de validation.....	26
II. Discussion générale	27
Conclusion.....	29
Références bibliographiques	30

Annexe

Liste des tableaux

Tableau N°1: Classification des flavonoïdes d'après leur structure chimique.....	10
Tableau N°2: Les auronnes synthétiques et leur formule chimique	15
Tableau N°3: Les différents concentrations des auronnes utilisées.....	20
Tableau N°4: Préparation des dilutions de l'huile essentiel de <i>Thymus vulgaris</i>	21
Tableau N°5: L'activité antibactérienne des auronnes synthétiques sur la souche <i>E. coli</i> D51 S8..	23
Tableau N°6: L'activité antibactérienne des auronnes synthétiser sur les souches d' <i>E. coli</i> testées	24
Tableau N°7: L'activité antibactérienne des auronnes synthétiser sur <i>Staphylococcus aureus</i>	24
Tableau N°8: L'activité antibactérienne des auronnes synthétiser sur <i>Streptococcus</i>	25
Tableau N°9: L'activité antibactérienne des auronnes synthétiser sur <i>Lactobacillus</i>	25
Tableau N°10: L'activité antibactérienne de l'huile essentiel de <i>Thymus vulgaris</i>	26

Liste des figures

Figure N°1: Structure générale des flavonoïdes.....	9
Figure N°2: La structure chimique de la cephalorine	12
Figure N°3: Observation microscopique de la coloration de Gram d' <i>Escherichia coli</i>	22
Figure N°4: Observation microscopique de la coloration de Gram de <i>Staphylococcus aureus</i>	22
Figure N°5: Observation microscopique de la coloration de Gram <i>Streptococcus</i>	22
Figure N°6: Observation microscopique de la coloration de Gram <i>Lactobacillus</i>	22
Figure N°7: La croissance bactérienne à la présence du DMSO	23
Figure N°8: Purification des différents souches d' <i>E. coli</i>	36
Figure N°9: Autres molécules d'aurones qui ne sont pas efficace sur <i>Lactobacillus</i>	36
Figure N°10: Les molécule d'aurones qui ne sont pas efficace sur <i>Streptococcus</i>	36

Liste des abréviations

ADN	«Acide désoxyribonucléique »
ARN	«Acide ribonucléique»
ATP	«Adhénosine triphosphate»
CMI	«Concentration minimal inhibitrice»
DAEC	« <i>Escherichia coli</i> d'adhésion diffuse»
DMSO	«Diméthylsulfoxyde»
<i>E. coli</i>	« <i>Escherichia coli</i> »
eae	«EPEC attachement/effacement»
EAEC	« <i>Escherichia coli</i> entéro-agrégative»
EHEC	« <i>Escherichia coli</i> Entéro-hémorragique»
EIEC	« <i>Escherichia coli</i> Entéroinvasive »
EPEC	« <i>Escherichia coli</i> entéropathogènes»
ETEC	« <i>Escherichia coli</i> entérotoxinogènes »
ExPECs	« <i>Escherichia coli</i> pathogène extraintestinal»
HeLa	«Cellules tumorales du col utérin d'Henrietta Lacks»
HEP-2	«Human epithelioma pharynx n°2»
LT	«heat labile enterotoxin»
MRS	«Milieu de Man, Rogosa and Sharpe»
NaCl	«Chlorure de sodium»
OMS	«Organisation Mondiale de la santé»
NTEC	« <i>Escherichia coli</i> nécrotoxigénique»
PaI	«Pathogenicity island»
<i>S. epidermidis</i>	« <i>Staphylococcus epidermidis</i> »
<i>S. aureus</i>	« <i>Staphylococcus aureus</i> »
<i>S. capitis</i>	« <i>Staphylococcus capitis</i> »
<i>S. haemolyticus</i>	« <i>Staphylococcus haemolyticus</i> »

<i>S. hominis</i>	« <i>Staphylococcus hominis</i> »
<i>S. pyogenes</i>	« <i>Streptococcus pyogenes</i> »
<i>S. saprophyticus</i>	« <i>Staphylococcus saprophyticus</i> »
<i>S. warneri</i>	« <i>Staphylococcus warneri</i> »
SHU	«Syndrome hémolytique et urémique»
ST	«Heat Stable Enterotoxin»
STEC	«Shiga –like toxin producing»
Stx	«Shiga like toxine »
THC	«Tetrahydroxychalcone»
UPEC	« <i>Escherichia coli uropathogene</i> »
VIH	«Virus de l'Immunodéficience Humaine»

Le monde microbien était inconnu et invisible à l'œil nu. Mais et à partir du 17^{ème} siècle, le chercheur néerlandais **Van Leeuwenhoek** a pu développer un instrument de laboratoire qui lui permettait de voir les microorganismes et les appela communément « les microbes », ou « animalcules » (**Sow, 2013**). Au fil des années, d'autres travaux ont été effectués par différents chercheurs du monde entier et ont permis la découverte de la pathogénicité grandissante de certaines bactéries comme *E. coli*, *Staphylococcus* ou *Streptococcus* et bien d'autres bactéries. Ces découvertes ont été vues comme de grandes surprises pour les professionnels de la santé (**Manning et Babcock, 2010**). De plus et au moment où les infections émergentes, et le nombre de bactéries résistantes aux antibiotiques augmentent fortement et le développement des nouvelles molécules d'antibiotiques est presque asséché (**Schmidt, 2009**), les chercheurs commencent à s'intéresser de plus en plus aux composés naturels qui possèdent un effet antimicrobien comme les aurones naturelles et les aurones de synthèses. Les aurones représentent une famille de composés naturels qui se trouvent dans les plantes et font partie d'une plus grande famille de produits naturels connus sous le nom de flavonoïdes (**Hawkins et Handy, 2013**).

Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales ont été reconnues depuis longtemps, mais n'ont été confirmées scientifiquement qu'avec l'évolution des moyens techniques et analytiques. Parmi ces plantes on note le thym qui possède des atouts considérables grâce à la découverte progressive de leurs applications dans les soins et beauté, ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêts économiques selon l'OMS. Leur production et leur pouvoir antimicrobien a pris une place importante dans la recherche scientifique (**Zayyad et al., 2014**).

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre thème de travail qui se divise en deux parties, une partie bibliographique et une partie expérimentale et qui a pour but de tester la sensibilité de certaines souches bactériennes appartenant aux différents genres et espèces comme : *E. coli*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Lactobacillus* envers une dizaine de molécules d'aurones synthétiques. Ce travail devrait répondre au questionnement relatif au pouvoir inhibiteurs des bactéries par certaines molécules d'aurones synthétiques et naturelles. Nous avons validé notre recherche par l'étude de l'activité antibactérienne d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur la collection des bactéries sélectionnées.

Chapitre I. Les *Enterobacteriaceae*

I.1. Définition

Enterobacteriaceae famille de bactéries comptant parmi les plus importantes en médecine humaine (Kayser et al., 2005). Cette famille comprend de nombreux genres bactériens répondant à la définition suivante:

- Bacille à Gram négatif, $0,3-1,0 \times 1,0-6,0 \mu\text{m}$;
- Mobile par ciliature péritriche ou immobile;
- Aéro-anaérobie facultatifs;
- Poussant sur milieu ordinaire;
- Fermentant le glucose avec ou sans production du gaz;
- Réduisant les nitrates en nitrite;
- Oxydase négative (Avril et al., 1992).

I.2. Taxonomie

Domaine: *Eubacterai*
Phylum XII: *proteobacteria*
Class: *Gammaproteobacteria*
Ordre: *Enterobactériales*
Famille: *Enterobacteriaceae* (Delarras, 2014).

I.3. Habitat

Les bactéries qui appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* ont une distribution mondiale et sont isolées généralement des intestins et des muqueuses de l'homme et des animaux. Ils sont responsables aussi d'une contamination de la végétation, du sol et de l'eau (Quinn et al., 2011).

I.4. Les caractères antigéniques

Les antigènes les plus importants dans la famille *Enterobacteriaceae* sont:

- **Antigène O:** représente des chaînes spécifiques de polysaccharide dans le complexe de lipopolysaccharide de la membrane externe.
- **Antigène H:** C'est l'antigène flagellaire qui se compose de protéines.
- **Antigène K:** c'est des polymères linéaires de la membrane externe, accumulés d'une série répétée d'unités d'hydrate de carbone. Ils peuvent couvrir la cellule en masse et les rendre O inagglutinables.
- **Antigène F:** c'est l'antigène des fimbriae d'attachement de protéine (Kayser et al., 2005).

I.5. *Escherichia coli*

I.5.1. Historique

En 1885, le pédiatre allemand **Theodor Escherich** a d'abord décrit l'organisme qui porte son nom. Il a utilisé des techniques naissantes d'isolement bactérien en culture pure, de coloration de Gram et les réactions de fermentation pour identifier 19 espèces bactériennes (**Donnenberg, 2002., Donnenberg, 2013**).

I.5.2. Taxonomie

Le genre *Escherichia* est un membre typique de la famille *Enterobacteriaceae*, ordre *Enterobacteria*, classe *Gammaproteobacteria*, phylum *Proteobacteria* (**Tang et al., 2014**).

I.5.3. Habitat

L'habitat conventionnel d'*E. coli* est l'intestin des hommes et des animaux. Il a été démontré que plus d'un million des cellules d'*E. coli* sont généralement présentes dans 1 g de matériel du colon et sont souvent libérés dans l'environnement **comme les produits alimentaire**, le sol, les sédiments de poussière (**Winfield et Groisman, 2003**). La recherche d'*E. coli* dans l'eau d'alimentation est fait pour apprécier sa potabilité, sa présence dans l'eau est le témoin d'une contamination fécale récente et la rend impropre à la consommation (**Avril, et al., 1992**).

I.5.4. Classification

Actuellement, la classification des différentes souches d'*E. coli* repose sur le système de classification sérologique en utilisant des anticorps monoclonaux dirigés contre les antigènes somatiques de surface comme:

- ✓ Antigène O
- ✓ Antigène H flagellaire
- ✓ Antigène K capsulaire (**Wiwanitkit, 2011**).

Selon son potentiel pathogène et facteurs de virulence les souches d'*E. coli* sont réparties en plusieurs groupes différents, ou pathotypes (**Nelson, 2008**). Ces différents groupes sont responsables de trois principaux types des maladies chez l'homme: les maladies intestinales (gastro-entérite), l'infection des voies urinaires et la méningite néonatale (**Tang et al., 2014**).

I.5.5. Les différents sérovars d'*Escherichia coli*

I.5.5.1. *Escherichia coli* Entéropathogène (EPEC)

Les EPECs elles ont d'abord été identifiées comme la cause des épidémies explosives de diarrhée. Maintenant la maladie est rare dans les pays industrialisés mais elle reste toujours un contribuant principale à la mortalité infantile dans les pays en voie de développement (Jerse et al., 1990). Ces souches sont non envahissantes, et associées avec un nombre limité des séro-groupes. Elles sont à l'origine généralement des vomissement, de fièvre et de diarrhée aqueuse avec un mucus mais à l'absence du sang (Manning et Babcock, 2010). Les EPECs sont capables d'adhérence aux entérocytes de la sécrétion d'une toxine létale pour certaines cellules en culture. Ces bactéries se fixent sur des cellules épithéliales de l'intestin grêle dans lesquelles elle s'enchâssent sans pénétrer, en faisant disparaître les villosités (Jerse et al., 1990).

I.5.5.2. *Escherichia coli* Entérotoxinogènes (ETEC)

Les ETECs sont les pathogènes d'*E. coli* les plus répandus et les principales cause de cas diarrhéiques chez les enfants et les voyageurs dans les pays en développement. ETECs colonisent le tractus gastro-intestinal par des fimbriae attachées à des récepteurs spécifiques sur les entérocytes de l'intestin grêle proximal. Les enterotoxines produites par les ETECs comprennent les toxines de LT (thermolabile) et ST (thermostables), les LTs sont semblables à la toxine de choléra dans la structure et le mode d'action (Kaper et al., 2004., Nataro et Kaper, 1998).

I.5.5.3. *Escherichia coli* Entéro-invasive (EIEC)

Les EIECs sont des pathogènes intracellulaires qui sont moins similaires à d'autres *E. coli* et physiologiquement et taxonomiquement plus liés à *Shigella spp.* L'antigène O de nombreux sérogroupes EIECs sont antigéniquement similaires à ceux des sérotypes de *Shigella* et le gène requis pour l'invasion sont localisés sur un grand plasmide. La plupart des personnes infectées par le EIEC développent une diarrhée aqueuse, quelques individus développent des symptômes semblables à la shigellose (Kaper et al., 2004).

I.5.5.4. *Escherichia coli* Entéro-hémorragique (EHEC)

Les EHECs représentent un sous-groupe pathogène d'*E. coli* producteur de shiga-toxine (STEC), qui sont responsables de diarrhées sanglantes non fébriles appelées aussi colites

hémorragique qui peuvent être associées au syndrome hémolytique et urémique (SHU) avec anémie hémolytique, et insuffisance rénale (Tozzi et al., 2003). Les EHEC possèdent des facteurs de virulence dont la liste et le rôle exacts restent à déterminer, les deux protéines majeures impliquées dans leur pouvoir pathogène sont, l'une part l'intimine codée par le gène *eae* et responsable de lésions intestinales et d'autre part les toxines shiga-like codées par les gènes *stx1* ou *stx2* et capables de provoquer la mort des cellules intestinales, vasculaires et rénales (Barnouin et Sache, 2010).

I.5.5.5. *Escherichia coli* entéro-agrégative (EAEC)

Les EAECs représentent un problème chez les nourrissons des pays en développement et chez les adultes infectés par le VIH. Les EAECs sont définies comme des *E. coli* qui ne sécrètent pas d'entérotoxines LT ou ST et qui adhèrent aux cellules HEP-2 dans un modèle d'adhérence agrégatif qui se caractérise par un type d'adhésion agrégative en "briques empilées" à l'origine de nécrose au pôle apical des villosités avec œdème inflammatoire et hémorragique de la sous-muqueuse. Trois grandes caractéristiques de la pathogénie de la EAEC ont été définies: adhérence abondante à la muqueuse intestinale, élaboration d'entérotoxines et de cytokines, et induction de l'inflammation des muqueuses (Boisen et al., 2008).

I.5.5.6. *Escherichia coli* à adhésion diffuse (DAEC)

Les DAECs sont un groupe hétérogène qui produit une adhésion diffuse sur cellules Hela et HEp-2. Cette adhésion est favorisée par des protéines codées par une famille d'opérons.

Les isolats des DAECs colonisent l'intestin grêle, engendrent des cas de diarrhée chez les enfants entre 5 et 18 mois d'âge. Par ailleurs, ils peuvent coloniser le tractus urinaire et être à l'origine d'infection urinaire récurrente chez l'adulte (Servin, 2005).

I.5.5.7. *Escherichia coli* pathogène extra intestinal (ExPEC)

Les ExPECs se caractérisent par leur pouvoir de coloniser d'autres systèmes en dehors du système gastro-intestinal. Ce groupe comprend les *E. coli* uro-pathogènes (UPEC) responsables d'infections urinaires, les ExPECs associées à des méningites et des septicémies, ainsi que *E. coli* nécro-toxigénique (NTEC) et *E. coli* pathogène (APEC) (Russo et Johnson, 2000).

Ainsi, le pouvoir pathogène des ExPECs est caractérisé par de nombreux facteurs de virulence principalement codés par des gènes se trouvant dans des « pathogenicity island » (PaIs). Ces facteurs de virulence codent des systèmes de captation du fer, des adhésines, les antigènes de capsules et des toxines (Johnson et Russo, 2002).

Chapitre II. Les bactéries à Gram positif

II.1. *Staphylococcus*

II.1.1. Définition

Le genre *Staphylococcus* regroupe **35** espèces (**44** espèces et sous-espèces). En pratique médicale courante, les espèces les plus fréquentes (infection ou colonisation) sont *S. aureus*, *S. epidermitis*, *S. capitis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. saprophyticus* et *S. warneri* (**Bes et Brun, 2002**). Dans cette étude on s'intéresse à l'espèce de *Staphylococcus aureus* et qui se définit par les caractères bactériologiques suivant:

- Cocci Gram positif, **0.8 à 1** µm de diamètre;
- Aéro-anaérobie facultatif (sauf le sous espèces *S. aureus subsp anaerobius* est anaérobie stricte);
- La majorité des souches sont acapsulées;
- immobile;
- Isolés ou groupés en diplocoque (le plus souvent en amas);
- Catalase positif;
- coagulase positif (**Yves et Michel, 2009**).

II.1.2. Classification

Phylum: *Firmicutes*

Class: *Bacilli*

Ordre: *Bacillales*

Famille: *Staphylococaceae*

Genre: *Staphylococcus*

Espèce: *Staphylococcus aureus* (**Yves et Michel, 2009**).

II.1.3. Pathogénéicité

Staphylococcus aureus est un agent pathogène humain majeur qui cause une large gamme d'infections cliniques. C'est une cause majeure de bactériémie et d'endocardite infectieuse ainsi que d'infections ostéo-articulaires, de peau et de tissus mous, pleuropulmonaires et infections liées à l'appareil (**Tong et al., 2015**).

En plus du fait que *S. aureus* possède l'arsenal moléculaire complet pour développer des infections, il peut également être résistant à divers antibiotiques, ce qui soulève des problèmes majeurs de santé publique. En outre, *S. aureus* est capable de survivre et de s'adapter à de nombreuses conditions environnementales, telles que la formation d'un biofilm ou la croissance intracellulaire, contribuant

à la persistance des infections à *S. aureus* et rendant l'éradication de ce pathogène difficile, même avec des traitements difficiles (Giraud et al., 2015).

II.2. *Streptococcus*

II.2.1. Définition

Les streptocoques sont des bactéries à Gram positif se présentent sous l'aspect de cocci ovalaires ou sphérique de diamètre inférieur à 2mm et se sont des bactéries immobiles, a sporulés, catalase et oxydase négatifs, aéro-anaérobies facultatifs et sont groupés en diplocoques ou chainettes plus au moins longues (de 2 à plus de 50 cocci). Certaines souches présentent une capsule, notamment en phase exponentielle de croissance (Vos et al., 2011). Les streptocoques sont des bactéries ubiquistes, saprophytes des eaux, de l'air, du sol. Elles sont aussi commensales des cavités naturelles ou des téguments de l'homme et des animaux (Delarras, 2014).

II.2.2. Classification

Le genre *Streptococcus* comprend environ 72 espèce (Richards et al., 2014). La première classification complète des streptocoques est proposée par Sherman en 1937. Plus récemment, l'analyse des séquences des gènes codant pour les ARNs 16S permet de classer les streptocoques en six groupes: *Anginosus*, *Pyogenic* (*S. pyogenes* et *S. agalactiae*), *Bovis*, *Salivarius*, *Mutans* et *Mitis*, ce dernier comprenant *S. pneumoniae*, *S. mitis* et *S. oralis*.

Domaine: *Bacteria* ou *Eubacteria*

Phylum: *Firmicutes*

Classe: *Bacilli*

Ordre: *Lactobacillales*

Famille: *Streptococcaceae*

Genre: *Streptococcus* (Delarras, 2014).

II.2.3. Pouvoir pathogène

Les streptocoques sont souvent impliqués en pathologie humaine et animale. Certaines espèces très virulentes, comme *Streptococcus pyogenes* ou *Streptococcus pneumoniae*, sont des pathogènes «obligatoires» responsables chez l'homme d'infections aiguës. D'autres espèces sont

habituellement commensales mais deviennent des pathogènes «opportunistes» dans certaines circonstances (**Richards et al., 2014**).

II.3. *Lactobacillus*

II.3.1. Définition

Le genre *Lactobacillus* est le groupe le plus important parmi les bactéries lactiques contenant actuellement, plus de **120** espèces et **20** sous-espèces (**Lee et Salminen, 2009**). Elles sont définies comme:

- Bactéries à Gram positif, se forme des coques ou des bâtonnets;
- Immobiles;
- non sporulées;
- catalase négative;
- Généralement nitrate réductase négative;
- Appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques (non pathogène) (**Bucio et al., 2006**).

II.3.2. Classification

Phylum: *Firmicutes*

Classe: *Bacilli*

Ordre: *Lactobacillales*

Famille: *Lactobacillaceae*

Genre: *Lactobacillus* (**Lee et Salminen, 2009**).

Chapitre III. Les flavonoïdes, les auronés et l'huile essentiel de *Thymus vulgaris*

Depuis de millénaire d'années, les plantes constituent une richesse inépuisable pour le développement de l'alimentation, des matériaux et de la santé. Dans ce dernier domaine, un très large panel de produits naturels a été employé. Les plantes médicinales sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point des médicaments. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une immense variété de molécules bioactives. Parmi ces composés on retrouve, **les coumarines, les alcaloïdes, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (Bahorun et al., 1996).**

III.1. Les flavonoïdes

III.1.1. Définition

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires produits par les plantes tel que les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels le thé et le vin rouge et d'autre parties de la plante **(Hajiaghaalipour et al., 2015. Welch et Hardcastle, 2014)**, et se retrouvent sous une forme non glycosylée (aglycone) ou attachés à une molécule de sucre (Glycoside). Tous les flavonoïdes présentent une structure commun de deux anneaux aromatiques reliés à trois atomes de carbone (C6'C3'C6). Les flavonoïdes sont largement présents dans la nature et présentent une diversité chimique importante, due à la variations des substituant sur les trois anneaux A, B et C et le degré d'hydroxylation, d'oxydation et de saturation **(Figure N°2) (Lago et al., 2014).**

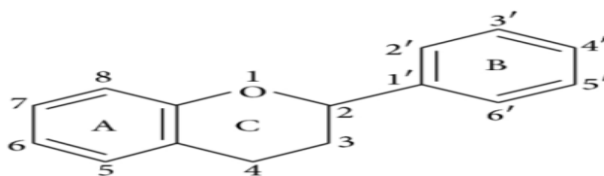


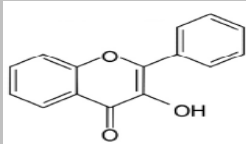
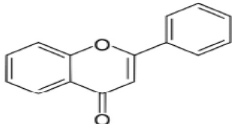
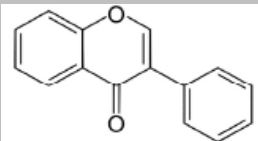
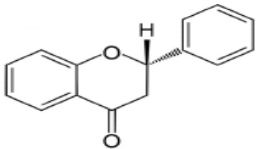
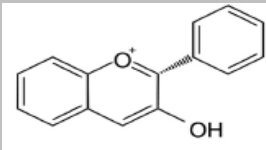
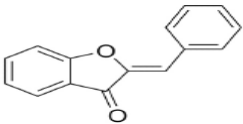
Figure N°1: Structure générale des flavonoïde (Hajiaghaalipour et al., 2015)

III.1.2. Classification

La classification des types de flavonoïde dans un tissu végétal est basée initialement sur une étude des propriétés de solubilité et des réactions colorées **(Tableau N°1) (Harborne, 2012).**

Tableau N°1: Classification des flavonoïdes d'après leur structure chimique

(Sangeetha et al., 2016., Mierziak et al., 2014).

Classe	Structure	Exemple
Flavonols		- Quercetin - Kaempferol - Myricetin - Fisetin
Flavones		- Luteolin - Apigenin
Isoflavones		- Genistein - Daidzein
Flavanones		- Hesperetin - Naringenin
Anthocyanidins		- Cyanidin - Delphinidin
Aurones		- Leptosidin - Aureusidin

III.2. Les aurones

III.2.1. Définition

Aurones représentent une classe parmi les flavonoïdes, appelés **pigments anthocloriques** trouvés dans les fruits et les fleurs, où ils fonctionnent contre les infections et contribuent à la pigmentation jaune des parties de la plante (Siddiqui et al, 2016). Ce sont des composés naturels présents principalement dans les espèces: *Glycyrrhiza*, *Humulus*, *Scutellaria* et *Angelica* (Asif, 2016).

III.2.2. Intérêt biologique

Plusieurs études ont rapporté que les aures et leurs analogues synthétiques ont des différentes activités biologiques tel que l'activité anticancéreuse, anti-inflammatoires, antioxydants et antimicrobienne (**Elhadi et al., 2015**).

III.2.2.1. Activités antiparasitaires

Des études de **Kayser et al** réalisées à la fin des années **1990** ont mis en évidence une activité antiparasitaires des aures sur des espèces de *Leishmania* (responsables de la leishmaniose) et sur *Plasmodium falciparum* (responsable du paludisme) (**Kayser et al., 2003**).

Les aures les plus cytotoxiques pour ces parasites sont des dérivés peu substitués et particulièrement hydrophobes. L'activité de certaines aures peut également s'expliquer par leur interférence avec les enzymes mitochondriales respiratoires du pathogène Les aures permettent également l'inhibition du cycle érythrocytique du parasite *Plasmodium falciparum* (**Kayser et al., 2001**).

III.2.2.2. Activités antifongiques

Les nouveaux antifongiques sont très demandés, car il existe une résistance croissante aux antifongiques utilisés actuellement. En particulier, les infections fongiques opportunistes causées par *Candida spp.* Une série d'analogues d'aure simple l'aure 2,2-bisaminométhylée ont été synthétisés et criblés pour une activité antifongique contre *Candida spp.* Et aussi ces aures inhibent également une autre levure *Saccharomyces cerevisiae* (**Sutton et al., 2017**).

III.2.2.3. Activités antibactériennes

Les aures présentent divers caractères bénéfiques pour la santé tels que les activités antibactériennes. **Ferreira et al**, ont isolé un aure de *Gomphrena agrestis* et ont constaté qu'il était actif contre 5 souches parmi 22 bactéries testées. **Erazo et al**, ont isolée l'aure de *Dunalia spinosa* Dammer et ont trouvé qu'il y a une activité antibactérienne faible.

De plus, **Venkateswarlu et al**, a préparé une série de Z et E aures et a évalué leur activité antimicrobienne, ils ont trouvés que les Z-aures présentaient une activité puissante contre les bactéries Gram-positifs, Tandis que les isomères E correspondants ne présentent aucune activité même avec un dosage élevé, ce qui indique l'importance de la configuration Z pour l'activité antibactérienne des aures (**Xie et al., 2015**).

Des analogues 6,7-dihydroxylés ont par exemple permis de cibler le **chorismate synthase** qui est une enzyme impliquée dans la voie biosynthétique bactérienne de l'acide **shikimique** dans *Streptococcus pneumonia* (**Haudecoeur et Boumenjel, 2012**). Les aures ont inhibé efficacement

la croissance des bactéries Gram positif et Gram négatif tel que *Staphylococcus* et *E. coli* (Tiwari et al., 2012).

Exemple: la Cephalarine , une aurone naturelle isolée de *Cephaloreus senilis* (Figure N°2) (Pare, 1991).

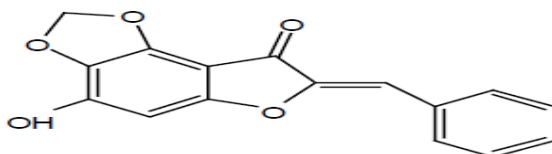


Figure N°2: La structure chimique de la cephalarine (Pare, 1991)

III.3. *Thymus vulgaris* (L'huile essentiel)

III.3.1. Définition

Le genre *Thymus L.* appartient à la famille de menthe (*Lamiaceae*), et représente environ 215 espèces, selon différentes données de la littérature. Ils sont habituellement des plantes vivaces herbacées, de petits arbustes se produisant dans la région méditerranéenne, qui est un centre de tout le genre (Pirbalouti et al., 2013). L'huile essentielle de thym est principalement composée de composés phénoliques avec des activités antibactériennes et antioxydantes naturelles, y compris le thymol 10-64%, le carvacrol 2-11%, le γ -terpinène 2-31% et le ρ -cymène 10-56%. Il exerce un effet inhibiteur sur *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Salmonella enteritidis* (Yang et al., 2014).

III.3.2. Classification

Domaine: *Plantae*

Sous-domaine: *Tracheobionta*

Super division: *Spermatophyta*

Division: *Magnoliophyta*

Classe: *Magnoliopsida*

Sous-classe: *Asteridae*

Ordre: *Lamiales*

Famille: *Lamiaceae*

Genre: *Thymus L.*

Espèce: *Thymus vulgaris L* (Dauqan et Abdullah, 2017).

III.3.3. Intérêt biologique

Les huiles essentielles et les extraits des plantes ont été utilisés pendant plusieurs milliers d'années, en particulier dans la conservation des aliments, les produits pharmaceutiques, la médecine alternative et les thérapies naturelles.

On reconnaît depuis longtemps que certaines huiles essentielles de plantes présentent des propriétés **antimicrobiennes** et il est nécessaire d'étudier scientifiquement ces plantes, qui ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pour améliorer la qualité des soins de santé. Les huiles essentielles sont des sources potentielles de nouveaux composés antimicrobiens, en particulier contre les agents pathogènes bactériens (**Imelouane et al., 2009**).

Des études récentes ont montré que les espèces *Thymus* ont de fortes activités **antibactériennes**, **antifongiques**, **antivirales**, **antiparasitaires**, **spasmolytiques** et **antioxydants**, sans oublier le manque de rapports sur l'émergence de mécanismes de résistance des bactéries à ces composés (**Łysakowska et al., 2011**).

L'intégralité de ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université **Mohammed Sadik Ben Yahai, Jijel**.

Le but de travail

Le but de notre travail est l'étude de la sensibilité d'une collection des bactéries à Gram négatif (*E. coli*) et à Gram positif (*Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Lactobacillus*) à 10 molécules d'aurons synthétisées.

un test de validation a été effectué sur la même collection des bactéries pour étudier l'activité antibactérienne de l'huile essentiel de *Thymus vulgaris*.

I. Matériel

I.1. Milieux de culture

I.1.1. Milieu solide

- ✓ Milieu << **Mueller- Hinton** >>: Pour réaliser l'**aromatogramme**;
- ✓ Milieu << **Héktoèn** >>: Pour la purification des souches d' *Escherichia coli*;

I.1.2. Milieu liquide

- ✓ Eau physiologique: Pour la préparation des suspensions bactériennes d' *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*; *Lactobacillus sp.*

I.2. Les produits chimiques et réactifs

- ✓ Chlorure de sodium (**Na Cl**): pour préparer l'eau physiologique;
- ✓ Violet de Gentiane;
- ✓ Fuchsine;
- ✓ Lugol;
- ✓ Alcool;
- ✓ Huile à émersion;
- ✓ Réactif d' héktoèn;
- ✓ DMSO: pour préparer les dilution des aurones et l'huile essentiel de *Thymus vulgaris*.

II.3. Les produits utilisés pour la recherche de l'activité antibactérienne

✓ Les produits synthétiques

Les aurons synthétiques (10 molécule) (Tableau N°2).

Tableau N°2: Les aurons synthétique et leur formule chimique.

Aurones	La formule chimique
OX₁	C ₁₈ H ₁₄ O ₅
OX₂	C ₁₆ H ₁₂ O ₅
OX₃	C ₁₇ H ₁₂ O ₅
OX₄	C ₁₉ H ₁₆ O ₆
BZ₁	C ₁₉ H ₁₈ O ₆
BZ₂	C ₁₈ H ₁₆ O ₇
K₁	C ₁₉ H ₁₄ FeO ₃
K₂	C ₁₈ H ₁₄ O ₅
Kar₄	C ₁₇ H ₈ O ₅
Kar₇	C ₁₆ H ₁₀ BrNO ₄

✓ Matériel végétale

L'huile essentiel de *Thymus Vulgaris*

II.1.4. Autres matériel

II.1.4.1. Appareillage

- ✓ Etuve à 175°C (Memmert);
- ✓ Etuve à 37°C (Memmert, INB 500);
- ✓ Réfrigérateur (condor);
- ✓ Autoclave (Pbibrand);
- ✓ Bain marie (Gerhardt Bonn);
- ✓ Microscope optique (Olympus).

II.1.4.2. Verreries et autres

- ✓ Lames
- ✓ Flacons stériles
- ✓ Tube à essai stériles
- ✓ Boîtes de Pétri stériles
- ✓ Anse de platine stériles
- ✓ Coton tiges stériles
- ✓ Seringue Stériles
- ✓ Embouts stériles
- ✓ Pipette graduée (10 ml)
- ✓ Pipette Pasteur
- ✓ Micropipettes (100 µl)
- ✓ Portoir
- ✓ Pince
- ✓ Pipteur
- ✓ Cristallisoir contenant un désinfectant (Eau de javel).

II. Méthodes

II.1. Origine des souches bactériennes

L'ensemble des souches d'*Escherichia coli* été fournies par:

- ❖ Le laboratoire de phytopharmacologie de l'Université de Jijel (**06** souches).

L'ensemble des souches de *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus* (**01** souche), et le genre *Streptococcus* été fournies par:

- ❖ Le laboratoire de microbiologie, département de microbiologie appliqué et science alimentaire, faculté de science de la nature et de vie de l'Université de Jijel.
- ❖ Les bactéries à Gram positif que nous avons utiliser dans ce travail est pour valider notre résultats.

II.2. Analyse microbiologique

II.2.1. Vérification de la pureté des souches utilisées

❖ Objectif

La vérification de la pureté des souches est basée d'une part sur la réalisation de cultures sur des milieux sélectifs et d'autre par la réalisation des colorations de Gram pour l'ensemble des souches testées. Le but est donc obtenir pour chaque souche différente des colonies distincts. Les colonies obtenues, en étalant une souche pure, doivent toutes présenter les mêmes caractères.

II.2.1.1. Isolement par épuisement

La purification est effectuée par stries d'épuisement pour objectif d'isoler des bactéries et d'obtenir des colonies bactériennes distinctes (**Branger, 2007**).

❖ Principe

- ✓ Dans des conditions stériles, prélever une colonie isolée et représentative de la souche à l'aide d'une anse de platine;
- ✓ Etaler en stries sur une nouvelle boîte de milieu de culture;
- ✓ Incubation à **37°C** pendant **24** heure;
- ✓ Pour les milieux de culture utilisés: On liquéfier une flacon de la gélose Hektoen (additionnée de l'additif d' Hektoen) dans un bain marie (**100°C**), puis couler la gélose préparée dans les boîtes de Pétri et laisser prendre masse au moment de l'utilisation;
- ✓ Pour les souche de *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus sp* et le genre *Streptococcus* ont été isoler et purifiés par laboratoire de microbiologie, département de microbiologie appliquée et science alimentaire de l'Université de Jijel.

❖ Lecture

Après 24 heure de l'incubation:

- ✓ Les cultures doivent montrées une uniformité de la forme des colonies. Pour les souches d'*Escherichia coli* forment des colonies oranges sur le milieu **Hektoen**.

II.2.1.2. Coloration de Gram

❖ Objectif

- ✓ Vérifier la pureté des souches d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus sp*, et le genre *Streptococcus*.

❖ Principe

Il est effectué selon la méthode décrite par (Vasanthakumari, 2009).

• Préparation de frottis

- ✓ Nettoyer une lame à l'alcool;
- ✓ Déposer une goutte d' eau physiologie sur la lame;
- ✓ Toucher une colonie à l'aide d'une anse de platine stérile pour prélever des bactéries: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus spp* et *Streptococcus*;
- ✓ Frotter la pointe dans la goutte d'eau physiologie, étaler sur 1 à 2 cm par un mouvement circulaire en partant de centre de la lame;
- ✓ Laisser sécher à l'air;
- ✓ Passer 3 fois la lame dans la petite flamme (veilleuse) du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

• Coloration

- ✓ Déposer quelques gouttes de solution de **Violet de gentiane** (cristal violet) sur le frottis fixé: laisser en contact pendant une minute;
- ✓ Rincer très brièvement en faisant couler de l'eau ordinaire sur la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis);
- ✓ Déposer quelques gouttes de **Lugol** sur le frottis. Laisser en contact pendant une minute;
- ✓ Rincer brièvement à l'eau ordinaire comme précédemment décrit;
- ✓ Décolorer en faisant couler la solution de décoloration (**l'alcool**) sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (30 secondes);
- ✓ Rincer à l'eau ordinaire;
- ✓ Déposer quelques gouttes de la **Fuschine** sur le frottis. Laisser en contacte pendant une minute;
- ✓ Rincer à l'eau ordinaire;
- ✓ séchez à l'air. La lame doit être parfaitement sèche avant de mettre dessus l'huile à immersion;
- ✓ **Observation microscopique**
- ✓ se fait à l'objectif **x100**, en immersion avec l'huile à immersion.

❖ Lecture

- ✓ *Escherichia coli* se forme des cocobacilles à Gram (-)
- ✓ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus sp* se forme des coque à Gram (+)

II.3. Technique de diffusion sur milieu gélosé**❖ L'origine des aures utilisées**

Les aures testées ont été synthétisées au niveau de laboratoire de pharmacologie et phytochimie de l'université de Jijel.

❖ Principe

La méthode utilisée est celle de diffusion par puits sur gélose telle que décrite par Berghe et Vlietinck en **1991 (Kuete et al., 2004)**.

Elle assure une diffusion radiale des produits à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire facilement mesurable. La méthode consiste à découper un trou circulaire dans la gélose et y verser une solution de produit de concentration connue.

Le produit diffuse radialement en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablementensemencée avec la suspension bactérienne.

❖ Préparation de milieu gélosé

- ✓ Faire fondre la gélose <<**Muller Hinton**>> dans un bain marie à **100C°**.
- ✓ Laisser refroidir, puis couler dans les boites de Pétri et laisser prendre en masse (épaisseur de 4 mm).

❖ Préparation de l'inoculum

- ✓ A partir d'une culture pure de la gélose **Hektoen** inclinée pour les souches de *E. coli*, la gélose **Muller Hinton** inclinée pour les *Staphylococcus*, la gélose **Columbia** pour les *Streptococcus*, et le bouillon **MRS** pour les *Lactobacillus*, nous avons prélevé une colonie (**10⁷UFC/ml**) à l'aide de l'anse de platine stérile;
- ✓ Décharger l'anse de platine dans 10ml d'eau physiologique stérile;
- ✓ Bien homogénéiser la suspension bactérienne (**Kuete et al., 2004**).

❖ Ensemencement

- ✓ Ensemencer toute la surface par étalement à l'aide d'un coton-tige stérile.

❖ Confection des puits

- ✓ A l'aide du bout d'une pipette Pasteur, les puits sont confectionnés dans chaque boite de Pétri déjà ensemencé;

- ✓ Le fond des puits est obturé par une goutte de gélose Mueller Hinton pour limiter la diffusion des produits sous la gélose.
- ❖ Un autre puits a été formé pour tester le diluant que nous avons utilisé, le **DMSO**, s'il a un effet antibactérien sur les souches testées.
- ❖ **Préparation des dilutions (concentration)**
- ✓ Nous avons préparé une solution mère de **1 mg/ml** d'aurone diluée dans **1ml** du **DMSO**.
- ✓ A partir de la solution mère, nous avons préparé les solutions filles suivantes, en se basant sur la loi de la dilution **C1.V1 = C2.V2** dont:
 - C1**: concentration de la solution mère **1mg/ml**;
 - V1**: volume de la solution mère;
 - C2**: concentration de la solution fille;
 - V2**: volume de la solution fille (dans notre travail nous avons choisi le volume **300µl**).
- ✓ **Pour la concentration 800µl/ml**
 - On a:** $C1.V1 = C2.V2 \longrightarrow 1000\mu\text{g/ml} * X = 800\mu\text{g/ml} * 300\mu\text{l}$
 - Donc:** $X = 240\mu\text{l} \longrightarrow$ on prélève 240µl de la solution mère et 60µl DMSO
- ✓ Nous avons utilisé les mêmes étapes pour calculer les autres concentrations (**Tableau N°3**).

Tableau N°3: Les différentes concentrations des aurones utilisées.

Concentration µg/ml	Volume de diluant DMSO (µl)	Volume tiré de la solution mère (µl)	Volume total (µl)
800	60	240	300
750	75	225	300
700	90	210	300
650	105	195	300
600	120	180	300
500	150	150	300
125	262.5	37.5	300
70	279	21	300

❖ **Distribution des dilutions:**

- ✓ A partir de chaque dilution, on prend à l'aide une micropipette **30µl** et on la dépose dans les puits correspondant;
- ✓ Incubation est effectuée à **37c°** pendant **24** heure.

❖ **Lecture**

- ✓ La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque puits.

II.4. Test de validation❖ **Origine de l'huile essentiel de *Thymus vulgaris***

L'huile essentiel de *Thymus vulgaris* a été préparée par hydro distillation au niveau du laboratoire de phyto-pharmacologie Université de Jijel en **2000**.

❖ **Technique de diffusion sur milieu gélosé**

La technique est celle que nous avons utilisé pour tester l'activité antibactérienne des auronnes synthétiques (Le même principe).

❖ **Préparation des dilution**

A partir de la solution mère de l'huile essentiel, nous avons préparer différents dilution (**Tableau N°4**).

Tableau N°4: Préparation des dilutions de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*.

Concentration	Volume de diluant	Volume de l'huile essentielle(µl)	Volume totale (µl)
1	00	50	50
1/2	50	50	100
1/10	450	50	500
1/15	700	50	750
1/30	1450	50	1500
1/60	2950	50	3000
1/120	5950	50	6000
1/240	11950	50	12000
1/480	23950	50	24000

I. Les résultats

I.1. Les résultats de la vérification de la pureté des souches

I.1.1. Isolement par épuisement

Les résultats de l'isolement par épuisement sur gélose Hektoen s'est traduit par l'apparition de colonies jaune orange lactose (+) et présentent une forme homogène régulière.

I.1.2. Coloration de Gram

➤ Pour *Escherichia coli*

Les résultats de la coloration de Gram montrent la présence des cocobacilles homogènes rose ne présentent pas des formes bactériennes étrangères ce qui prouve la pureté des souches utilisées (Figure N°3).

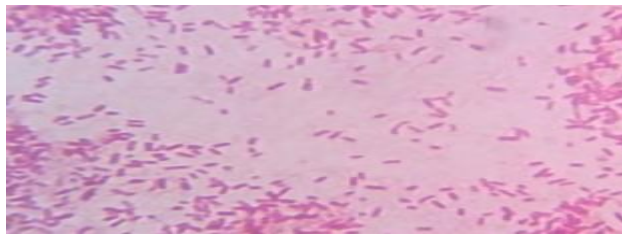


Figure N°3: Observation microscopique de la coloration de Gram d'*Escherichia coli*.

➤ Pour *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* et *Lactobacillus spp*

Les Résultats de la coloration de Gram pour chaque genre montrent la présence des coques ou des bacilles homogènes violets ne présentent des formes bactériennes étrangères (Figure N°4, 5 et 6).

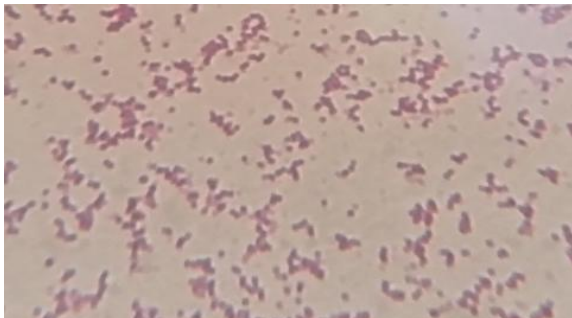


Figure N°4: Observation microscopique de la coloration de Gram de *Staphylococcus aureus*.

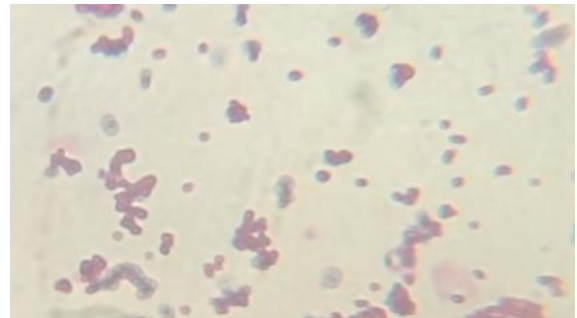


Figure N°5: Observation microscopique de la coloration de Gram des *Streptococcus*.



Figure N°6: Observation microscopique de la coloration de Gram des *Lactobacillus spp*.

I.2. Les résultats de technique de diffusion sur milieu gélosé (Méthode des puits)

➤ Pour le DMSO

Après 24h de l'incubation les résultats montrent l'absence de l'activité antibactérienne de DMSO sur toutes les souches testées (une croissance parfaite), donc nous pouvons dire que le DMSO est un diluants parfaitement utilisable (Figure N°7).

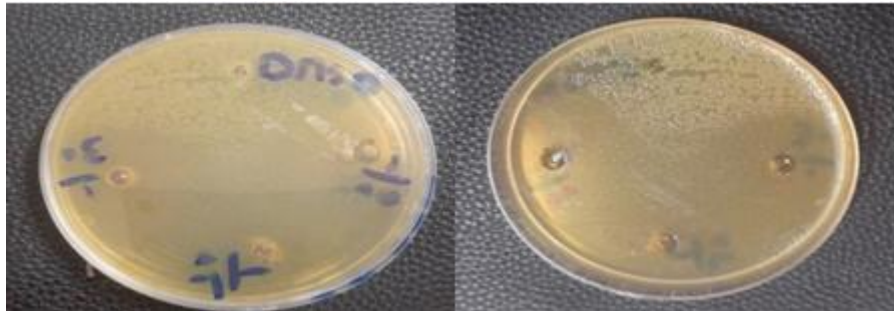


Figure N°7: La croissance bactérienne à la présence du DMSO.

➤ Pour les souches d'*Escherichia coli*

A partir des concentrations utilisées, nous avons obtenu une croissance bactérienne parfaite au niveau de la concentration la plus élevée (1mg/ml) des aurones.






Exemple: les résultats de l'activité antibactérienne des aurons synthétiques testés sur la souche D51 S8 d'*E. coli* (Tableau N°5).

Tableau N°5: L'activité antibactérienne des aurons synthétiser sur la souche *E. coli* D51 S8.

La souche testée	Aurones utilisées	Résultats	Exemple
<i>E. coli</i> D51 S8	OX1	Négatif (Pas de formation de la zone d'inhibition)	
	OX2		
	OX3		
	OX4		
	BZ1		
	BZ2		
	K1		
	K2		
	Kar4		
Kar7			

Les mêmes résultats ont été obtenu pour les autres souches testées comme: *E. coli* D53 S2, *E. coli* D72 S6, *E. coli* D83 S11, *E. coli* E9 MF et *E. coli* E51 Nep (Tableau N°6)

Tableau N°6: L'activité antibactérienne des aurons synthétiser sur les souches d'*E. coli* testé.

La souche testé	<i>E. coli</i> D53 S2	<i>E. coli</i> D72 S6	<i>E. coli</i> D83 S11	<i>E. coli</i> E9 MF 23	<i>E. coli</i> E51 Nep
Résultats					

➤ **Pour *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* et *Lactobacillus sp***

Pour les mêmes concentrations nous avons obtenu des résultats positif de l'activité antibactérienne des aurons tester sur les bactéries à Gram positif sauf pour les *Lactobacillus*, les résultats sont négatif (Tableau N°7, 8 et 9).

Tableau N°7: L'activité antibactérienne des aurons synthétiques sur *Staphylococcus aureus*.



Les bactéries utilisées	Aurons	Le diamètre de la zone d'inhibition en (mm)	Résultats
	Concentration $\mu\text{g/ml}$		
<i>Staphylococcus aureus</i>	OX3 (700 $\mu\text{g/ml}$)	18	 

Tableau N°8: L'activité antibactérienne des aurons synthétiques sur *Streptococcus*.






Les bactéries utilisées	Aurons		Le diamètre de la zone d'inhibition en (mm)	Résultats
	Concentration $\mu\text{g/ml}$			
<i>Streptococcus</i>	OX1	500	15	
		700	20	
		750	25	
		800	24	
		1000	25	
	OX4	700	25	
		750	17.5	
		800	26.2	
		1000	20	
	OX3	500	18	

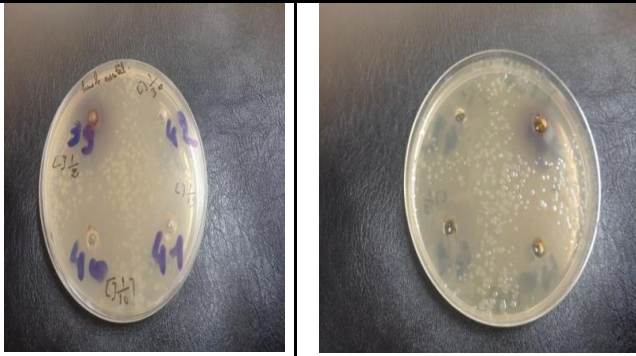



Tableau N°9: L'activité antibactérienne des aurons synthétiques sur *Lactobacillus sp.*

Les bactéries utilisées	Résultats	Résultats en photos	
<i>Lactobacillus sp</i>	Négatif (pas de formation de zone d'inhibition)		

I.3. Les résultats de test de validation

Les résultats de l'activité antibactérienne de huile essentielle est positif sur toutes les bactéries testées (Tableau N°10).

Tableau N°10: L'activité antibactérienne de l'huile essentiel de *Thymus vulgaris*.

L'huile essentiel de <i>Thymus vulgaris</i>			
Les bactéries testées	Dilution	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)	Les résultats en photos
<i>Escherichia coli</i>	1/2	30	
	1/10	29	
	1/15	26	
	1/30	25	
	1/60	12	
	1/120	10	
<i>Staphylococcus aureus</i>	1/2	33.7	
	1/10	32.5	
	1/15	30	
	1/30	30	
	1/60	20	
	1/120	10	
<i>Streptococcus</i>	Avec tous les dilution	Aucune bactérie n'est présente au niveau de la boîte	
<i>Lactobacillus sp</i>	1/10	24	
	1/15	16	
	1/30	32	

II. Discussion générale

Notre travail a pour but de rechercher l'activité antibactérienne des aurones synthétiques contre une collection des souches d'*E. coli* fournies par le laboratoire de pharmacologie et phytochimie et une autre collection des bactéries à Gram positif fournies par le laboratoire de microbiologie, département de microbiologie appliquée et sciences alimentaires de l'Université de Jijel.

Les résultats que nous avons obtenu montrent que l'ensemble des aurones synthétiques utilisées dans notre travail n'a pas donné une efficacité sur les 06 souches d'*Escherichia coli* et la souche de *Lactobacillus sp* testées. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Keshri** et ces collaborateurs en 2011 et qui ont montré que certaines molécules d'aurones de synthèse ont une faible activité antibactérienne en vers les bactéries à Gram négatif et quelques bactéries à Gram positif. En revanche **Hadj-esfandiari** et ces collaborateurs ont montré que les bactéries à Gram positif étaient plus sensibles à certaines molécules de synthèse ceux qui est en accord avec nos résultats du test de sensibilité de certaines espèces de bactéries à Gram positif comme *Staphylococcus aureus*, et une souche du genre *Streptococcus*.

L'activité antibactérienne des aurones synthétiques testées pourra bien être expliquée par:

- Soit par l'inhibition de l'enzyme chorismate synthase qui est une enzyme impliquée dans la voie biosynthétique bactérienne de l'acide shikimique notamment chez les bactéries du genre *Streptococcus* (**Hadj-esfandiari et al., 2007**).
- Soit que les aurones modifiées au niveau du cycle B (remplacé par un cycle imidazole ou furane) ont permis de manière plus générale l'inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus*. En effet, il a été rapporté que les aurones dans lesquelles le cycle B a été remplacé par un fragment ferrocène possèdent une activité antibactérienne importante surtout sur les bactéries à Gram positif (**Zwick, 2014**).
- Soit que les aurones sont des modulateurs des transporteurs d'électrons A,B,C et des inhibiteurs des kinases et surtout ils sont souvent plus efficaces que les flavones ou les chalcones analogues. Cette activité plus élevée a été attribuée au fait que l'adénine de l'ATP peut être mieux imitée par la partie benzofuranone des aurones que par la fraction benzopyranone des flavones. En outre, le noyau de benzofuranone semble plus cohérent avec la géométrie d'une purine, et la présence commune du groupe phénol en position 4 peut également être capable d'imiter le groupe amino porté par l'adénine.
- Il est intéressant de noter que la cible actuelle de tous ces aurones n'est pas bien définie avec précision, car ils peuvent interagir avec plusieurs éléments cellulaires tels que l'ADN

bactérien ou les protéines ou certaines enzymes indispensable à la survie des bactéries pathogènes (**Haudecoeur et Boumendjel, 2012**).

Pour valider nos résultats nous avons utilisé des concentrations décroissantes de l'huile essentiel de *Thymus vulgaris*. Les résultats que nous avons obtenu montrent que l'huile essentiel de *Thymus vulgaris* a une bonne activité antibactérienne sur l'ensemble des souches testées dans notre travail, cette activité se traduit par la formation des zones d'inhibition avec des diamètres importants et même pour certaines bactéries notamment les *Streptococcus* l'huile empêche la croissance bactérienne sur toute la surface de milieu de culture.

Le mécanisme d'action possible des huiles essentielles et de leurs composés (par exemple: **le thymol, le carvacrol et l'eugénol**) est basé sur leur capacité de perturber la paroi cellulaire bactérienne et la membrane cytoplasmique; Ce mode d'action entraîne par conséquent une lyse cellulaire et une fuite de composés intracellulaires. Étant donné qu'une enveloppe de cellule externe intacte est une condition préalable à la survie de la bactérie protégeant le cytoplasme cellulaire de l'environnement externe et tout changement de la perméabilité de la paroi cellulaire et de la membrane cytoplasmique peut influencer la croissance bactérienne (**Sakkas et al., 2016**).

Dans le but de développer la connaissance de l'efficacité des produit naturel synthétiques nous nous sommes proposés de faire un travail qui a pour but de test 10 molécules d'aurones synthétiques des souches bactérienne à Gram négatif (*Escherichia coli*) et de quelque genre de bactéries Gram positif (*Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Lactobacillus*).

Les résultats obtenus ont montrés l'inefficacité des aurones envers les souches d'*E. coli* et les bacille à Gram positif (*Lactobacillus*), mais sur les coques à Gram positif testés ont montrés la sensibilité variable au différentes molécules d'aurones synthétiques.

A lumière de ces résultats on peut conclure l'efficacité des aurones synthétiques testé envers les coques à Gram positif comme les *Staphylococcus* et les *Streptococcus* mais elle sont inefficace comme les bactéries à Gram négatif et les bacilles à Gram positif.

D'autre travaux sont nécessaires pour monter la cible exacte des aurones chez les bactérie sensible ainsi que leur toxicité dans les modèle expérimentale pour autoriser une éventuelle d'utilisation dans le traitement des infections causées par les *Streptococcus* et les *Staphylococcus*.

L'huile essentiel de *Thymus vulgaris* est utilisé en aromathérapie en raison de leur multiples propriétés pharmacologique importantes, notamment leur pouvoir antibactérien aussi bien sur les Gram positif que sur les Gram négatif.

- Asif, M. 2016.** A review on recent advances and potential pharmacological activities of versatile chalcone molecule. *Chemistry International*. 2(1): 1-18.
- Avril, J. L., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H. 1992.** Bactériologie clinique. Ed. *Ellipses-Marketing*. P: 507.
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Pinkas, M. 1996.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*. 46(11): 1086-1089.
- Barnouin, J., Sache, I. 2010.** Les maladies émergentes: Épidémiologie chez le végétal, l'animal et l'homme. P: 444.
- Bes, M., Brun, Y. 2002.** *Staphylococcus*: actualités taxonomiques et identification. *Revue Française des Laboratoires*. 2002 (343): 23-30.
- Boisen, N., Struve, C., Scheutz, F., Krogfelt, K. A., Nataro, J. P. 2008.** New adhesin of enteroaggregative *Escherichia coli* related to the Afa/Dr/AAF family. *Infection and immunity*. 76 (7): 3281-3292.
- Branger, A. (2007).** *Microbiochimie et alimentation*. Educagri Editions. P: 343
- Bucio.A., Hartemink. R., Schrama, J. W., Verreth. J., Rombouts. F. M. 2006.** Presence of lactobacilli in the intestinal content of freshwater fish from a river and from a farm with a recirculation system. *Food microbiology*. 23(5): 476-482.
- Dauqan, E. M., Abdullah, A. 2017.** Medicinal and Functional Values of *Thyme (Thymus vulgaris L.)* Herb. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*. 5(02): 017-022.
- Delarras, C. 2014.** Pratique en microbiologie de laboratoire: recherche de bactéries et de levures-moisissures. *Lavoisier-Tec and Doc*. PP: 233-234.
- Donnenberg, M. 2002.** *E. coli*: Genomics, Evolution and Pathogenesis. *Academic Press*. P: 417.
- Donnenberg, M . 2013.** *Escherichia coli*: pathotypes and principles of pathogenesis. *Academic Press*. 2^{ème} édition. P: 612.
- Elhadi.A.A., Osman.H., Iqbal.M.A., Rajeswari.S.K., Ahamed.M.B.A., Abdul Majid .A.M.S., Rosli.M.M., Abdul Razak.I., Abdul Majid.A.S. 2015.** Synthesis and structural elucidation of two new series of aurone derivatives as potent inhibitors against the proliferation of human cancer cells., *Medicinal Chemistry Research*. 24(9): 3504-3515
- Giraud, C., Hausmann, S., Lemeille, S., Prados, J., Redder, P., Linder, P. 2015.** The C-terminal region of the RNA helicase CshA is required for the interaction with the degradosome and turnover of bulk RNA in the opportunistic pathogen *Staphylococcus aureus*. *RNA biology*. 12(6): 658-674.

Hadj-esfandiari, N., Navidpour, L., Shadnia, H., Amini, M., Samadi, N., Faramarzi, M. A., Shafiee, A. (2007). Synthesis, antibacterial activity, and quantitative structure–activity relationships of new (Z)-2-(nitroimidazolylmethylene)-3 (2H)-benzofuranone derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 17(22): 6354-6363.

Hajiaghaalipour F., Khalilpourfarshbafi M., Arya A. 2015. Modulation of Glucose Transporter Protein by Dietary Flavonoids in Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Biological Sciences*. 11(5): 508-524

Harborne, A. J. 2012. Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis. *Springer science and business media*. P: 278.

Haudecoeur, R., Boumendjel, A. 2012. Recent advances in the medicinal chemistry of auronones. *Current medicinal chemistry*. 19(18): 2861-2875.

Hawkins, I., Handy, S. T. 2013. Synthesis of auronones under neutral conditions using a deep eutectic solvent. *Tetrahedron*. 69 (44): 9200-9204.

Imelouane, B., Amhamdi, H., Wathelet, J. P., Ankit, M., Khedid, K., El Bachiri, A. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *Int. J. Agric. Biol.* 11(2): 205-208.

Jerse, A. E., Yu, J., Tall, B. D., Kaper, J. B. 1990. A genetic locus of enteropathogenic *Escherichia coli* necessary for the production of attaching and effacing lesions on tissue culture cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 87 (20): 7839-7843.

Johnson, J. R., Russo, T. A. 2002. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*:“the other bad *E. coli*”. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 139(3): 155-162.

Kaper, J. B., Nataro, J. P., Mobley, H. L. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*. 2 (2): 123-140.

Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert, J., Zinkernagel, R. M. 2005. Medical microbiology. *Georg Thieme Verlag*. PP: 278-281.

Kayser, O., Kiderlen, A. F., Brun, R. 2001. In vitro activity of auronones against *Plasmodium falciparum* strains K1 and NF54. *Planta medica*. 67(08): 718-721.

Kayser, O., Kiderlen, A. F., Croft, S. L. 2003. Natural products as antiparasitic drugs. *Parasitology research*. 90(2): S55-S62.

Kuete, V., Penlap Beng ., Etoa, F.X., Modjo, S.L., Bogne, P., Assob, J. c., Lontsi, D. 2004. Activites antimicrobiennes de l'extrait total et des fractions de jus de fruit de *Citrus medica* L. (Rutaceae). *Pharm. Méd. Trad. Afr.* 13: 91-101

- Lago, J. H. G., Toledo-Arruda, A. C., Mernak, M., Barrosa, K. H., Martins, M. A., Tibério, I. F., Prado, C. M. 2014.** Structure-activity association of flavonoids in lung diseases. *Molecules*. 19(3): 3570-3595.
- Lee, Y. K., Salminen, S. 2009.** Handbook of probiotics and prebiotics. *John Wiley and Sons*. 2^{ème} édition. P: 576.
- Łysakowska, M., Denys, A., Sienkiewicz, M. 2011.** The activity of thyme essential oil against *Acinetobacter* spp. *Central European Journal of Biology*. 6(3): 405-413.
- Manning, S. D., Babcock, H. 2010.** *Escherichia coli* infections. *Infobase Publishing*. P: 134
- Mierziak, J., Kostyn, K., Kulma, A. 2014.** Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Molecules*. 19(10): 16240-16265.
- Nataro, J. P., Kaper, J. B. 1998.** Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews*. 11(1): 142-201.
- Nelson, A. M. 2008.** Genomic Analysis of Pathogen Evolution: Virulence Gene Acquisition and Genetic Erosion in *Escherichia Coli*. *ProQuest*. PP: 2-10.
- Pare, P. W., Dmitrieva, N., Mabry, T. J. 1991.** Phytoalexin aurone induced in *Cephalocereus senilis* liquid suspension culture. *Phytochemistry*. 30(4): 1133-1135.
- Pirbalouti, A. G., Hashemi, M., Ghahfarokhi, F. T. 2013.** Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. *Industrial Crops and Products*. 48: 43-48.
- Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., Hartigan, P., Fanning, S., FitzPatrick, E. S. 2011.** Veterinary microbiology and microbial disease. *John Wiley and Sons*. P: 400.
- Richards, V. P., Palmer, S. R., Pavinski Bitar, P. D., Qin, X., Weinstock, G. M., Highlander, S. K., Stanhope, M. J. 2014.** Phylogenomics and the dynamic genome evolution of the genus *Streptococcus*. *Genome biology and evolution*. 6(4): 741-753.
- Russo, T. A., Johnson, J. R. 2000.** Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. *Journal of Infectious Diseases*. 181 (5). 1753-1754.
- Sakkas, H., Gousia, P., Economou, V., Sakkas, V., Petsios, S., Papadopoulou, C. 2016.** In vitro antimicrobial activity of five essential oils on multidrug resistant Gram-negative clinical isolates. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*. 5(3): 212.
- Sangeetha, K. S., Umamaheswari, S., Reddy, C. U. M., Kalkura, S. N. 2016.** Flavonoids: Therapeutic potential of natural pharmacological. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 7(10): 3924.
- Schmidt, M. A. 2009.** Beyond antibiotics: Strategies for living in a world of emerging infections and antibiotic-resistant bacteria. *North Atlantic Books*. P: 453.

Servin, A. L. 2005. Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews*. 18(2): 264-292.

Siddiqui, N. J., Nandardhane, P., Idrees, M. 2016. A facile and convenient synthesis of aurones: An intramolecular oxidative cyclization catalyzed by mercury (ii) ions and their antimicrobial, antioxidant activities. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. 3(8): 483-488.

Sow, A.I. 2013. Incursion dans le monde "invisible" des bactéries. *Editions L'Harmattan*. P: 68.

Sutton.C.L., Taylor.Z.E., Farone.M.B., Handy.S.T. 2017. Antifungal activity of substituted aurones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 27(4): 901-903

Tang, Y. W., Sussman, M., Liu, D., Poxton, I., Schwartzman, J. 2014. Molecular medical microbiology. *Academic Press*. 2^{ème} édition. P: 2216.

Tiwari, K. N., Monserrat, J. P., Hequet, A., Ganem-Elbaz, C., Cresteil, T., Jaouen, G., Jolival, C. 2012. In vitro inhibitory properties of ferrocene-substituted chalcones and aurones on bacterial and human cell cultures. *Dalton Transactions*. 41(21): 6451-6457.

Tong, S. Y., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., Fowler, V. G. 2015. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical microbiology reviews*. 28 (3): 603-661.

Tozzi, A. E., Caprioli, A., Minelli, F., Gianviti, A., De Petris, L., Edefonti, A., Rizzoni, G. 2003. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections associated with hemolytic uremic syndrome, Italy, 1988–2000. *Emerging infectious diseases*. 9 (1): 106.

Vasanthakumari, R. 2009. Practical Microbiology. BI Publications Pvt. Limited. Vidali, M.(2001) Bioremediation. An overview. *Pure Appl. Chem*. 73(7): 1163.

Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Whitman, W. 2011. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 3: The Firmicutes (Vol. 3). *Springer Science and Business Media*. P: 1450.

Welch, A. A., Hardcastle, A. C. 2014. The effects of flavonoids on bone. *Current osteoporosis reports*. 12(2): 205-210.

Winfield, M. D., Groisman, E. A. 2003. Role of nonhost environments in the lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli*. *Applied and environmental microbiology*. 69 (7): 3687-3694.

Wiwanitkit, V. 2011. *Escherichia coli* infections. *Imed Pub*. P: 54.

Xie.Y., Yang.W., Tang.F., Chen.X., Ren.L. 2015. Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Current Medicinal Chemistry*. 22(1): 132-149

Yang, F., Hu, S., Lu, Y., Yang, H., Zhao, Y., Li, L. 2014. Effects of coatings of polyethyleneimine and thyme essential oil combined with chitosan on sliced fresh *Channa argus* during refrigerated storage. *Journal of Food Process Engineering*. 38(3): 225-233.

Yves, L. L., Michel, G. A. N. T. I. E. R. 2009. *Staphylococcus aureus*. Lavoisier. P: 300.

Zayyad, N., Farah, A., Bahhou, J. 2014. Analyse chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des trois espèces de *Thymus*: *Thymus zygis*, *T. algeriensis* et *T. bleicherianus*. Chemical analysis and antibacterial activity of essential oils from three species of *Thymus*: *Thymus zygis*, *T. algeriensis*, and *T. bleicherianus*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 83: 118-132.

Zwick, V., Chatzivasileiou, A. O., Deschamps, N., Roussaki, M., Simões-Pires, C. A., Nurisso, A., Detsi, A. (2014). Aurones as histone deacetylase inhibitors: identification of key features. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 24(23): 5497-5501.

Eau physiologique

Chlorure de sodium	9g
Eau distillée	1000ml

Milieu de cultures

Gélose Hektoén

Protease peptone	12g
Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium	5g
Thiosulfate de sodium	5g
Sels biliaires	9g
Citrate de fer ammoniacal	1.5g
Salicine	2g
Lactose	12g
Saccharose	12g
Fuschine acide	0.1g
Bleu de bromothymol	65g
Agar	13mg

PH :7.5

Milieu Muller-Hinton

Infusion de viande de bœuf	300g
Hydrolysate de caséine	17.5g
Amidon	1.5g
Agar	10g

PH :7.4



Figure N°8: Purification des différents souches d'*E. coli*.



Figure N°9: Autres molécules d'aurones qui ne sont pas efficace sur *Lactobacillus*.



Figure N°10: Les molécule d'aurones qui ne sont pas efficace sur *Streptococcus*.

Présenté par	Responsable de la recherche	Date de soutenance
Rekioua Widad Rezzai Selwa	Dr. Boudjerda Djamel	22/06/2017
<p>Le thème: L'études de la sensibilité de quelques souches <i>Escherichia coli</i> et quelques bactéries à Gram positive aux 10 molécules d'aurones synthétisés et l'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentiel de <i>Thymus vulgaris</i></p>		
<p style="text-align: center;">Résumé</p> <p>Des recherches récentes ont montré que les aurones ont des bonnes activités biologiques. L'un des objectifs importants de la chimie organique et médicale est de concevoir, synthétiser et produire des molécules qui ont un potentiel en tant qu'agents thérapeutiques humains.</p> <p>La recherche de la sensibilité antibactérienne aux aurones a été effectuée sur 06 souches d'<i>Escherichia coli</i> fournies par le laboratoire de pharmacologie et photochimie et certaines bactéries Gram positive fournies par le laboratoire de microbiologie de l'université de Jijel. Un teste de validation pour vérifier la sensibilité de ces souches aux l'huile essentiel de <i>Thymus vulgaris</i> .</p> <p>les résultats de notre travail a révélé que les 10 molécules d'aurones synthétisés testés ne montre aucun activité antibactérienne sur les souches d'<i>E.coli</i> et les <i>Lactobacillus</i>. En revanche, nous avons obtenu une activité sur les <i>Streptococcus</i> et <i>Staphylococcus</i> . Une bonne activité de l'huile essentiel de <i>Thymus vulgaris</i> a été obtenu sur toutes les souches testé.</p> <p>Mots clé: Aurones, <i>E. coli</i>, l'huile essentiel de <i>Thymus vulgaris</i>, activité antibactérienne.</p>		
<p style="text-align: center;">Abstract</p> <p>Recent research has shown that aurones have good biological activities. One of the important goals of organic and medical chemistry is to design, synthesize and produce molecules that have potential as human therapeutic agents.</p> <p>The search for antibacterial sensitivity to aurones was carried out on 6 strains of <i>Escherichia coli</i> supplied by the laboratory of pharmacology and photochemistry and some Gram positive bacteria provided by the microbiology laboratory of the University of Jijel. A validation test to verify the sensitivity of these strains to the essential oil of <i>Thymus vulgaris</i>.</p> <p>The results of our work revealed that the synthesized aurone molecules tested showed no antibacterial activity on <i>E. coli</i> strains and <i>Lactobacillus</i>. On the other hand, we obtained activity on <i>Streptococcus</i> and <i>Staphylococcus</i>. A good activity of the essential oil of <i>Thymus vulgaris</i> was obtained on all the strains tested.</p> <p>Key words: Aurones, <i>E. coli</i>, essential oil of <i>Thymus vulgaris</i>, antibacterial activity.</p>		
<p style="text-align: center;">ملخص</p> <p>أظهرت الأبحاث الحديثة أنّ Aurones لها نشاطات بيولوجية جيّدة. أحد الأهداف الهامة للكيمياء العضوية و الطّبية هو انتاج الجزئيات التي يمكن توظيفها في العلاجات البشرية.</p> <p>تمّ إجراء البحث عن تأثير Aurones 6 سلالات التي يقدّمها مختبر الصيدلة و الكيمياء الضوئية و بعض أنواع البكتيريا موجبة الجرام التي يقدّمها مختبر علم الأحياء الدقيقة من جامعة جيجل.</p> <p>البحث عن تأثير Aurones على 6 سلالات من <i>Escherichia coli</i> مقدّمة من طرف مختبر الكيمياء و الكيمياء الضوئية على بعض البكتيريا موجبة الغرام المقدّمة من طرف مختبر الميكروبيولوجيا على مستوى جامعة جيجل.</p> <p>النتائج المتحصّل عليها في عملنا تكشف أنّ 10 جزئيات من Aurones المصنّعة المجربّة لم تعط أي تأثير على سلالات البكتيريا القولونية (<i>E. coli</i>) و <i>Lactobacillus</i> لكن، و في المقابل، تحصّلنا على نشاط ضد بكتيري على <i>Staphylococcus</i> و <i>Streptococcus</i>. بالنسبة للزيت الأساسي لـ <i>Thymus vulgaris</i> فالنشاط ضد البكتيري جيد جيّداً على كل السلالات المجربّة.</p> <p>الكلمات المفتاحية: Aurone, <i>E. coli</i>, الزيت الاساسي لـ <i>Thymus vulgaris</i>, النشاط المضاد للبكتيريا.</p>		