

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur

et de la Recherche Scientifique

Université Abdelhak Ben Hammouda

JIJEL

Faculté des Sciences

Département de Biochimie et Microbiologie

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme

d'études supérieures en biologie

Option : Microbiologie

mB.17/06

Thème

Effet des huiles essentielles
d'Origanum vulgare sur dix souches
d'Escherichia coli et dix souches de
Salmonella avec détermination de
l'intervalle de la C.M.I

Jury composé de :

- M^{elle} BOUTAGHANE Naïma : Présidente
- M^{me} ROULA Sajia : Examinatrice
- M^r BOUDJERDA Djamel : Encadreur

Présenté par :

- BENDJEDDOU Ryma
- DIB Nadjet
- MESSAOUDI RIMA



Promotion 2006

N° d'ordre :

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قَالُوا سُبْحَانَكَ اللَّهُمَّ

لَنَا إِذْ مَا جَلَسْنَا بِكَ

أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

اللَّهُ
الصَّادِقُ
الْعَظِيمُ

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Dieu qui nous a donné le courage et la patience durant les années d'études.

Avec nos profond sentiments de respect nous tenons à présenter nos sincères remerciements à tous ceux qui de pré ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce mémoire :

M^r BOUDJERDA Djamel,

qui a accepté de nous témoigner et de nous prodiguer ses précieux conseils.

Nous tenons aussi à passer nos vifs remerciements à M^{lle} BOUTAGHANE Naima Et M^{me} ROULA Sajia pour avoir bien voulu s'intéresser à ce travail et le juger. Sans oublier tous le personnels du laboratoire de microbiologie surtout : Sonia.

Nous remercions très vivement M^{lle} BOUSSOUF Lyliya.

RyMa

Nadjet

Rima

SOMMAIRE

Introduction	1
PREMIERE PARTIE : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES	
Chapitre I : Les huiles essentielles	
I-1. Définition.....	2
I-2. Historique.....	2
I-3. Classification.....	3
I-4. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles.....	3
I-4-a. Propriétés physiques.....	3
I-4-b. La composition chimique.....	3
I-4-b-1. Les terpènes.....	4
I-4-b-2. Les composés phénoliques.....	5
I-4-b-3. Les alcools.....	6
I-4-b-4. Les aldéhydes.....	6
I-4-b-5. Les cétones.....	6
I-4-b-6. Les acides et les esters.....	6
I-5. L'effet thérapeutique.....	6
I-6. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	7
Chapitre II : Les huiles essentielles d'<i>Origanum vulgare</i>	
II-1. Généralité su la plante <i>d'Origanum vulgare</i>	9
II-1-a. Définition.....	9
II-1-b. Classification.....	9
II-1-c. Localisation.....	9
II-1-d. Récolte.....	9
II-2. Les constituants d'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i>	10
Chapitre III : Etude d'<i>Escherichia coli</i> et de <i>Salmonella</i>	
III-1. Les entérobactéries.....	12
III-1-a. Généralité.....	12
III-1-b. Caractères bactériologiques.....	12
III-1-c. Habitat.....	12
III-1-d. Classification	12
III-2. Tribu des <i>Eschericheae</i>	13
III-2-a. Définition	13
III-2-b. L'habitat.....	13
III-2-c. Caractères morphologiques et culturaux.....	13
III-2-d. Caractères biochimiques.....	13
III-2-e. Caractères antigéniques.....	13
III-2-f. Pouvoir pathogène.....	14
• Infection intestinale.....	14
• Infection urinaire.....	14
• Infection néonatal.....	15
• Les intoxications alimentaires	15
III-2-g. Les facteurs de pathogénicités.....	15
III-3. Tribu des <i>Salmonelleae</i>	16
III-3-a. Définition.....	16

III-3-b. Classification	16
III-3-c. Habitat épidémiologie	16
III-3-d. Caractères biochimiques	17
III-3-e. Caractères antigéniques.....	17
III-3-f. Caractères distinctifs.....	18
III-3-g. Pouvoir pathogène.....	19
• Fièvre typhoïde.....	19
• Les infections intestinales.....	19
• Les manifestations extra digestives.....	19
III-3-h. Les facteurs de pathogénicité.....	19

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTAL

I. Matériel et méthodes.....	20
I-1. Matériel.....	20
I-1-a. Matériel végétal.....	20
I-1-b. Matériel bactériologique.....	20
I-1-c. Les milieux de culture.....	20
I-1-d. Les réactifs	20
I-2. Méthode.....	21
I-2-a. Choix des souches.....	21
I-2-b. Revivification des souches.....	21
I-2-c. Isolement des souches	21
I-2-d. Purification des souches.....	22
I-2-e. Identification des souches	22
I-2-e-1. Identification morphologique.....	22
* Coloration de Gram.....	22
I-2-e-2. Identification biochimique	23
A. Métabolisme glucidique.....	23
- Attaque de mannitol.....	23
- Fermentation des souches en milieu TCI.....	24
B. Recherche des dérivés de l'acide pyruvique sur milieu Clark et Lubs.....	24
* Réaction de rouge de méthyle (RM).....	24
* Réaction de Vogse- proskauer (VP).....	24
C. Etude du métabolisme des acides organiques.....	25
* Utilisation de citrate de Simmons.....	25
D. Etude du métabolisme protéique.....	25
* Recherche de l'urease.....	25
* La recherche d'indole.....	26
* Métabolisme des acides aminés.....	26
* La recherche de lysine décarboxylase (LDC).....	26
* Recherche de l'ornithine décarboxylase (ODC).....	26
* Recherche de l'argenine déhydrolase (ADH).....	27
E. Recherche de la catalase.....	27
II. Détermination de l'effet de l'huile essentielle d'<i>Origanum vulgare</i> sur les souches.....	27
II-1. Introduction.....	27
II-2. Technique de diffusion sur milieu gélosé.....	28

II-3. Préparation du milieu de culture.....	28
II-4. Préparation de l'inoculum.....	28
II-5. Ensemencement.....	28
II-6. Confection des puits.....	28
II-7. Préparation des dilutions.....	28
II-8. Distribution des dilutions.....	29
II-9. Réalisation de témoin.....	29
Résultats et discussion.....	
III. Les résultats de l'étude microbienne	30
III-1. Les résultats de purification.....	30
III-2. Les résultats de l'identification des souches	31
III-2-a. Les résultats de coloration de Gram.....	31
III-2-b. Les résultats de l'identification biochimique.....	32
III-3. Les résultats de test de sensibilité de <i>l'Origanum vulgare</i> sur les souches.....	36
III-3-a. Les résultats de teste envers l'huile pure.....	36
III-3-b. Variation de l'effet d'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> selon les souches	40
III-3-c. Variation de l'effet de dilution d'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i>	40
III-3-d. Les résultats de la détermination de la concentration minimale inhibitrice	40
Discussion générale.....	44
Conclusion générale.....	45
Références bibliographiques.....	
Annexes.....	

ABREVIATIONS

- **ADH** : Arginine dihydrolase
- **Cit (milieu)** : Citrate de Simmons.
- **CMI** : Concentration minimale inhibitrice
- **E** : *Escherichia coli*
- **Glu** : Glucose
- **HE** : Huile essentielle
- **Ind** : Indole
- **Lac** : Lactose
- **LDC** : Lysine décarboxylase
- **LPS** : Lipopolysaccharide
- **LT** : Thermolabile
- **Man** : Mannitol
- **Mob** : Mobilité
- **mm** : Millimètre
- **µl** : Microlitre
- **RM** : Rouge de méthyle
- **Sac** : Saccharose
- **SLT** : Shiga-like toxin
- **ST** : Thermostable
- **TSI** : Triple sugar-iron agar :gélose glucose-lactose-saccharose-H₂S
- **VP**: Voge-Proskaur

Liste des tableaux.

Numéro	Titre	Page
Tableau N° 1.	Classification des différents terpènes	04
Tableau N° 2.	Les composées phénoliques les plus importantes	05
Tableau N° 3.	Les constituants chimiques d'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> et leurs pourcentages	10
Tableau N° 4.	Les caractères biochimiques d' <i>Escherichia coli</i>	13
Tableau N° 5.	Les caractères biochimiques de <i>Salmonella</i>	17
Tableau N° 6.	Identification des souches	22
Tableau N° 7.	Préparation des dilutions de l'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> dans l'huile de paraffine.	29
Tableau N° 8.	Les caractères biochimiques de 10 souches d' <i>Escherichia coli</i> .	34
Tableau N° 9.	Les caractères biochimiques de 10 souches de <i>Salmonella</i> .	35
Tableau N° 10.	Effet de 7 dilutions d'un extrait d'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> sur dix souches d' <i>Escherichia coli</i> .	36
Tableau N° 11.	Effet de 7 dilutions d'un extrait d'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> sur dix souches de <i>Salmonella</i> .	38
Tableau N° 12.	Détermination de l'intervalle de la concentration minimale inhibitrice pour <i>Escherichia coli</i> .	41
Tableau N° 13.	Détermination de l'intervalle de la concentration minimale inhibitrice pour <i>Salmonella</i>	41

Liste des figures.

Numéro	Titre	Page
Figure N° 1.	Formule d'une unité isoprène.	04
Figure N° 2.	La plante d' <i>Origanum vulgare</i> .	11
Figure N° 3.	Résultats de purification d' <i>Escherichia coli</i> .	30
Figure N° 4.	Résultats de purification de <i>Salmonella</i> .	30
Figure N° 5.	Coloration de Gram d' <i>Escherichia coli</i> .	31
Figure N° 6.	Coloration de Gram de <i>Salmonella</i> .	31
Figure N° 7.	Galerie biochimique d' <i>Escherichia coli</i> .	33
Figure N° 8.	Galerie biochimique de <i>Salmonella</i> .	33
Figure N° 9.	Les zones d'inhibition d' <i>Escherichia coli</i> par l'huile essentielles d' <i>Origanum vulgare</i> et le témoin.	37
Figure N° 10.	Les zones d'inhibition de <i>Salmonella</i> par l'huile essentielles d' <i>Origanum vulgare</i> et le témoin.	39
Figure N° 11.	Effet de 7 dilutions d'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> sur 10 souches d' <i>Escherichia coli</i> .	42
Figure N° 12.	Effet de 7 dilutions d'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> sur 10 souches de <i>Salmonella</i> .	43

Introduction

INTRODUCTION.

Les huiles essentielles contenus dans les plantes aromatiques sont des composés volatiles renfermant des principes actifs utilisés depuis l'antiquité en plusieurs domaines thérapeutiques, cosmétiques, agro-alimentaire, pharmacologique [34].

Les huiles essentielles d'*origanum vulgare* sont utilisées en aromathérapie en raison de leurs multiples propriétés pharmacologiques importantes, notamment leur pouvoir antibactérien aussi bien sur les Gram positifs que sur les Gram négatifs [36].

Notre travail est basé sur l'étude de l'effet de cette huile sur les souches bactériens Gram négatifs et qui se divise en deux parties.

Une partie bibliographique qui porte sur l'étude théorique des huiles essentielles, en particulier les huiles essentielles d'*Origanum vulgare*. Ainsi qu'une étude microbiologique des entérobactéries précisément les 2 espèces *Escherichia coli* et *Salmonella spp*.

Une partie expérimental qui a pour but l'isolement, la purification et l'identification de 10 souches d'*Escherichia coli* et 10 souches de *Salmonella spp* et de tester par la méthode de diffusion sur gélose la sensibilité de ces derniers vis-à-vis d'huiles essentielles d'*Origanum vulgare* avec détermination de la Concentration minimale inhibitrice.

Les résultats attendus pourraient nous orienté vers des perspectives de l'utilisation des huiles essentielles d'*Origanum vulgare* ou l'un de leur composant dans le domaine pharmacologique.

Données bibliographiques

Chapitre I : **Les Huiles essentielles**

I. Les huiles essentielles.

I-1. Définition.

Les huiles essentielles sont des substances liquides, volatiles, aromatique, de couleur, de densité et d'odeurs variables, extraites généralement par distillation à la vapeur d'eau des certaines plantes [31].

La norme AFNOR NF T 75-006 (octobre 1987) a donnée la définition suivante d'une huile essentielle <<produit obtenu à partir d'une matière première végétal, soit, par entraînement à la vapeur, soit, par des procédés mécaniques a partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparé de la phase aqueuse par des procédés physiques>>.

La pharmacopée française (1965) définit aussi les huiles essentielles comme <<les produits de composition généralement assez complexe renfermant les molécules volatiles contenues dans les végétaux et plus ou moins modifiées au cours de la préparation>> [9].

I-2. Historiques.

Les huiles essentielles sont des substances extraites des plantes, leur origine remonte à l'apparition des techniques d'extraction, mais ces méthodes étant plus ou moins compliquées et améliorées avec le temps [32].

En Egypte, plus de quatre mille ans avant notre ère, que leur usage atteint un développement important.

Les médecins de cette époque les utilisaient pour soigner les malades, mais aussi lors de pratiques magiques.

Néanmoins, c'est dans le cadre de la cérémonie d'embaumements, consistant en une imprégnation complète des tissus du défunt avec un mélange d'huile aromatiques, que leur emploi se répandit dans toutes les couches de la société [1].

En Inde, les plantes sont soit directement utilisées dans les médicaments, aujourd'hui cette forme de médecine est toujours employée dans différents pays [32].

En chine, Les huiles essentielles servent, conjointement à l'acupuncture, aux soins du malade cette nouvelle science qui s'inscrit dans la médecine chinoise comptabilise environ 8000 formules de médicaments [32].

Les romains et les grecs en faisaient largement usage, aussi de nombreux écrits attestent de l'utilisation fréquente de ces substances au titre d'agent thérapeutique pour l'aromatisation des boissons dans les parfums et dans les vins aromatisés [1].

I-3. Classification.

La classification des huiles essentielles est très variable selon les auteurs par exemple selon pharmacognosie.

Il existe plusieurs chimiotypes (races chimiques) les exemples les plus démonstratifs est les espèces du genre thymus, on compte pour ce genre sept (7) chimiotypes différents ; six (6) dans les garrigues du Sud de la France (à thymol, à carvacrol, à géronial, à linalol, à terpinéol, à thuyonol ; quatre (4) thuyonol et 6-8 mercénol) et un en Espagne (à cinéol), il existe aussi 2 chimiotypes de pin sylvestre d'Auvergne :

- type A : Linalol et linalyl acétate.
- Type B : Carène et terpinéol.

I-4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.

I-4-a. Propriétés physiques.

Les huiles essentielles sont liquides à températures ambiante, volatiles, ce qui les différencie des huiles « fixes » [9] et elles ont une odeur très forte, elles sont incolores ; jaune pâle, ou quelques fois bleu [12].

Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau [9]. Elles sont généralement plus légères que l'eau de javal et sont donc plus volatiles [9].

Les huiles essentielles sont solubles dans l'alcool, dans l'éther, dans les huiles, mais insolubles dans l'eau, rarement utilisées pures à cause de leur haut pouvoir d'action, elles seront ainsi souvent diluées dans des solvants gras pour obtenir un produit directement applicable sur la peau [1].

Elles sont très altérables, elles s'oxydent avec la lumière et au contact de l'air [12].

Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart deviennent la lumière polarisée [9].

I-4-b. La composition chimique des huiles essentielles.

Les composants des huiles essentielles peuvent être séparés en groupes chimiques distincts, chacun ayant des caractéristiques propres, la composition de l'élément d'une huile essentielle nous aidera de mieux comprendre son action.

I-4-b-1. Les terpènes.

Ce sont des hydrocarbures cycliques et volatiles [6] ces terpènes sont bio synthétisés à la suite du couplage de 2 au moins entités à 5 carbones dont la structure et celle de l'isoprène ou 2- méthylbuta- 1,3- diène. *Fig.1 . Tableau 1 . [34]*.

Figure N° 1. Formule d'une unité isoprène

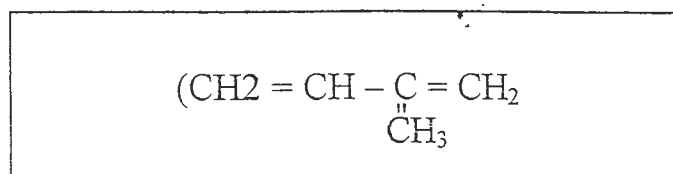


Tableau N° 1. Classification des différents terpènes [9, 13]

Groupe de substance	Exemple	Propriétés pharmacologiques
Monos terpènes	- Acyclique : Ocimène (basibic), Myrcène (laurier) - Monocyclique : (thymol thym) - Bi et tricyclique : Pinane - Régulier : iso-camphane - Irrégulier : Lavandulane	- Stimulant Du Système Immunitaire. - Action réulsive sur la peau, utile en cas de douleurs localisées : ils sont donc antalgiques à action percutanée.
Sesquiterpènes	b-Candinène (cade) Lactone sesquiterpinique	- légèrement hypotenseurs, calmants et anti-inflammatoires, antibactériens, surtout à l'encontre des gram positifs Antifongique et anti-parasitaires
Di terpènes	Florsholin (Lamiacée)	Hypotenseur
Tri terpènes et stéroïdes		Contraceptifs- anabolisant, anti-inflammatoires, analgésiques
Tétra terpènes	Caroténoïdes : (B-carotène) acide caroténoïdique (la crocetine)	L'activité vitaminique A En pharmacie comme dans l'industrie agroalimentaire, ils peuvent être utilisés comme colorants naturels efficaces, non toxiques.

I-4-b-2. Les composés phénoliques.

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances qu'il est difficile de définir simplement,

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction éther, ester, hétéroside. **Tableau N° 2. [9]**

Tableau N° 2. Composés phénoliques les plus important [9, 13].

Groupe de substance	Exemple	Propriétés pharmacologiques
Phénols simples acides phénols	Catéchol, thymol Dérivés de l'acide benzoïque : A. gallique Dérivés de l'acide cinnamique : acide caféique, acide rosmariniques	Fortement anti-infectieux et immunostimulants Ils agissent en hyperthermisants Hypertensifs
Coumarines	Coumarine	Neuro-sédatives, anticoagulants
Lignines	Dibenzylbutanes	Propriétés cytostatiques et anti-mitotiques
Dérivés du phenyl-propane (skyskimates)	Stibénoides : pinaxylène Xantone : mangestine Styrylpyrones : (Kauvaine)	Antifongique et antimicrobiens Anti-inflammatoires Action sédative et tranquillisante
Flavonoïdes	5,4- dihydroxy-6, 7,3-tris-méthoxyflavone (lamiacée)	Propriété <<vitaminique P >> Anti-inflammatoires et anti-bactériens.



I-4-B-3. Les alcools.

Les membres de ce groupe se forment lorsque des unités composées d'un atome d'hydrogène et d'un atome d'oxygène (hydroxyles) se rattachent à des atomes de carbones [16].

Les principaux composants résultants de ces liaisons sont les monoterpénales, les sesquiterpinales et les diterpinales ce sont de puissants bactéricides et antiviraux, ils possèdent de plus la particularité de purifier le sang et ont des effets équilibrants sur le système endocrinien, d'autre part ils n'irritent pas la peau [32]

I-4-B-4. Les aldéhydes.

Formés par l'oxydation des alcools, les aldéhydes dégagent en général un arôme puissant ils sont anti-infectieux et anti-pyrétique. [36].

I-4-B-5. Les cétones.

Les quantités de cétone dans les huiles essentielles sont négligeable [32], ils ont un effet calmant et sédatif.

Ils peuvent faire fondre les graisses, fluidifier les sécrétions, favoriser la cicatrisation et aussi être digestifs analgésique, stimulants aux expectorants [36]

I-4-B-6. Les acides et les esters.

Les acides organiques et les esters jouent un rôle important dans les essences végétales. Ce sont des dérivés oxygénés des terpènes, en effet ; ils ont la particularité de présenter un arôme fruité mais peuvent aussi servir d'anti-inflammatoires et de fongicides [32].

I-5. Effet thérapeutique.

Les huiles essentielles ont depuis longtemps été employées pour leurs effets thérapeutiques <<l'aromathérapie>> est une pratique complémentaire de la phytothérapies, fondée sur des huiles essentielles , des huiles végétales concentrées , destinées à rééquilibrer physiquement et psychiquement l'individu [32,28] définie en 1928 par René Gratte fosse [32]. Elles sont employées soit pour leurs propriétés aromatisantes (essence d'anis, d'orange, amère) soit en raison des vertus curatives propres [32].

- **Effet sur le tube digestif :** De très nombreuses drogues à huiles essentielles sont réputées efficaces pour diminuer ou supprimer les spasmes gastro-intestinaux. Il

est fréquents qu'elles stimulent la sécrétion gastrique d'où les qualificatifs de <<digestifs>> et de <<Stomachiques>> qui sont décernés, avec toutes les conséquences qui peuvent découler de cette <<empépsie>> [9].

- **Effet sur le système nerveux** : Amélioration de certaines insomnies et de troubles psychosomatiques divers, diminution de <<nervosité>> [9]
- **Effet sur la peau** : Les huiles essentielles provoquent une augmentation de la microcirculation, une rubéfaction importante, une sensation de chaleur dans certains cas une légère action anesthésique locale que l'on trouve dans les pommades, les crèmes ou les gels à base d'huiles essentielles destinés à soulager, entorses, courbatures claquages et autres algies articulaires ou musculaires [9].
- **Effet sur le système respiratoire** : Les huiles essentielles stimulent les cellules à mucus et augmentent les mouvements de l'épithélium cilié au niveau de l'arbre bronchique, d'autre favorisant l'élimination rénale, d'eau par effet local direct (genièvre) [9].

I-6. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.

Depuis le 9^{ème} siècle, le principe d'obtention des huiles essentielles est inchangé. L'huile essentielle est obtenue par entraînement à la vapeur des composés volatils contenus dans la matière végétale. Parallèlement aux procédés traditionnels, diverses assistances technologiques peuvent être mises en œuvre comme l'ultrasons qui activent l'extraction [17].

- **Par entraînement à la vapeur d'eau** : Il a plusieurs méthodes qui utilisent la vapeur d'H₂O *et qui sont* :
 - l'hydro distillation simple
 - la distillation à vapeur saturée
 - l'hydro diffusion
- **L'hydro distillation simple** : Consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou broyé) dans l'eau qui est ensuite porter à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont chargées de l'huiles essentielles sont entraînés vers le haut ou elles sont condensées sur la paroi réfrigérant et l'huiles essentielles se sépare par différence de densité [9 17].

- **Par expression des épicarpes de citrus** : Les <<Zestes>> sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices qui ont été rompus est récupéré par un procédé physique. Le procédé classique consiste à exercer, sous un courant d'eau, une action abrasive sur la surface du fruit. Après élimination des déchets solides, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse. D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau.

La plupart des installations permettent en fait la récupération simultanée ou séquentielle des jus de fruits et de l'huile essentielle, celle-ci étant recueillie par jet d'eau après absorption (rayures, pointes....) avant ou pendant l'expression du jus de fruit.

Les huiles essentielles de citrus sont également obtenus directement à partir des jus de fruits (ex : déshuilage par le vide) [9].

Il y'a d'autre méthodes d'extraction des huiles essentielles comme :

- **Extraction au CO₂** : Dans cette technique, un courant de CO₂ à forte pression fait éclater les poches à essence et entraîne les huiles que l'on récupère en l'état [36].
- **Extraction au solvant** : Elle consiste à dissoudre le composé recherché dans un solvant non miscible avec l'eau et à séparer la phase organique contenant le composé à extraire de la phase aqueuse [36].
- **Extraction par Effleurage** : Les fleurs sont mélangées à des graisses puis les huiles sont récupérées par dissolution dans l'alcool [36].
- **Extraction par La macération** : Les plantes macèrent dans des huiles et l'on récupère les composés liposolubles [36].

Chapitre II :
Les huiles essentielles d'Origanum vulgare

II. les huiles essentielles d'*Origanum vulgare*.

II-1. Généralités sur la plante d'*Origanum vulgare*.

II-1-a. Définition.

L'*Origanum vulgare* ou origan est une plante vivace (qui vit plus de deux années), de tige droite qui atteint entre 30-80 cm n'est pas ronde, mais curieusement carrée [33], les feuilles sont de 2 à 4 cm de long, très aromatique, arrondies, ovales, vert foncé [25], les fleurs sont très petites (les pétales ne dépassent pas les 2-3 mm de longueur) de couleur violette dégagée, groupées dans des ramilletes terminaux résument un liquides jaunâtre aromatique toute plante détache un arôme agréables et particulier, sa saveur au contraire est amère[33].

II-1-b. Classification.

- règne : plantae.
- division : magnoliophyta.
- classe : magnoliopsida.
- ordre : lamiales.
- famille : lamiaceae.
- genre : *Origanum*.
- Espèce : *Origanum vulgare*.
- nom commun : marjolaine commune, marjolaine sauvage ou arigan.
- nom latin : *Origanum vulgare*, synonyme *Origanum heracleoticum*[35]..

II-1-c. Localisation.

Cette plante sauvage croit à condition que le climat soit entre tempéré et subtropical dans les zones à l'altitude jusqu'à 2000 mètres au dessus du niveau de la mer, et même développé dans les faibles zones Himalaya [33].

II-1-d. Récolte.

L'*Origanum vulgare* préfère un sol léger et aérer, associé aux herbes de Provence, un sol chaud, calcaire, à l'abri du vent et ensoleillé, l'époque idéale de récolter cette plante est dans la plaine floraison en général pendant l'été non avant (le matin de préférence) et on récolte les extrémités des branches qui contiennent des fleurs et des feuilles ou les sumidades fleuries [33].

II-2. Les constituants d'huile essentielle d'*Origanum vulgare*.

La composition d'huile essentielle d'*Origanum vulgare* a été déterminée par la chromatographie sur phase gazeuse (CG) et chromatographie sur phase gazeuse/spectrométrie de masse (CG/SM) [14].

Les résultats sont résumés dans le tableau N° 3.

Tableau N° 3. Les constituants chimiques d'huile essentielle d'*Origanum vulgare* et leur pourcentage [14].

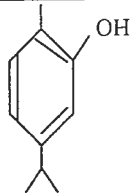
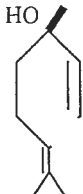
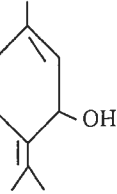
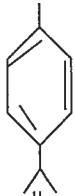
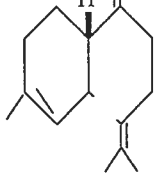
Constituants	Composition chimique	%
Carrvacrol		74
Linalol		7.2
Thymol		4.4
p.cymene		3
b-bisabolène		1.4
Caryophyllène oxyde	-	1.3



Figure N° 2. La plante d'*Origanum vulgare* [39].

Chapitre III :
Etude d'Escherichia coli et de Salmonella

III-1. Les entérobactéries.

III-1-a. Généralité.

La famille des entérobactéries est la plus importante famille de la section 05 selon Begery's manuel.

Les entérobacteriaceae constituent la famille des bacilles, Gram négatif aérobie-anaérobie facultatif.

Cette famille présente un intérêt médical, scientifique, économique et écologique, environ 60% des bactéries isolées et identifiées dans les laboratoires d'analyse médicales appartiennent à cette famille [15].

III-1-b. Caractères bactériologiques et morphologiques.

Selon Bremer (1992) la famille comprendrait actuellement 29 genres [23], qui sont rassemblés en raison de leurs caractères bactériologiques communs [4]

Ce sont des bacilles à Gram négatif, mobiles par une ciliature péritriche où immobiles.

Ce développant en aéro-anaérobiose et sur gélose ordinaires.

Dégradant le glucose par voie fermentative (à la différence des *pseudomonas*) avec souvent production de gaz.

Ne possédant pas l'oxydase

Réduisant les nitrates en nitrites [24].

III-1-c. Habitat.

Les enterobacteriaceae sont trouvées dans l'environnement, d'autre chez les végétaux [4] et la plupart des espèces sont des parasites du tube digestif de l'homme et des animaux [15].

III-1-d. Classification.

La famille des entérobacteriaceae se subdivise en cinq tribus :

- 1) Escherichiae : *Escherichia*, *Shigella*.
- 2) Klebsiellae : *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia* et *Serratia*.
- 3) Salmonellae : *Salmonella*, *Citrobacter*, *Erwinia*
- 4) Proteae : *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*
- 5) Yersiniiae : *Yersinia*, *Edwardsiella* [22].

III-2. Tribu d'*Eschericheae*.**III -2-a. Définition.**

Escherichia coli est un hôte normal de la flore digestif de l'homme et de nombreuses espèces animales [30] , isolée pour la première fois par Escherich en 1885, *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique [4].

III-2-b. Habitat.

Escherichia coli est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux ou elle est présente à raison de 10^7 à 10^9 bactéries par gramme de selles [4], sa présence dans les aliments est le témoin d'une contamination fécale [19].

III-2-c. Caractères morphologiques et culturaux.

Escherichia coli est un bacille Gram négatif, le plus souvent mobil, sa taille est de 1-1,5 x 2-6 μm [4,15], se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées.

Sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose positif, sur gélose au sang elles peuvent être hémolytiques [4]

En bouillon triptycase soja à des températures d'incubation de 30 à 42°C avec une température optimale de 37°C [30].

III-2-d. Caractères biochimiques.

En plus des caractères généraux des entérobactéries, *Escherichia coli* possède des caractères spécifiques suivants [15,21].

Tableau N°4 : Les caractères biochimiques d'*Escherichia coli*.

Teste	Gaz	Lac	ONPG	H ₂ s	Man	.cit	Urée	Ind	LDC	ODC	RM	VP	MOB
E.Coli	+	+	+	-	+	-	-	+	D	D	+	-	±

III-2-e. Caractères antigéniques.

La structure antigénique de *Escherichia coli* est caractérisée par la présence de l'antigène O : somatique l'antigène H flagellaire et l'antigène K = capsulaire

L'antigène O : qui correspond à la chaîne polysidique du lipo-poly saccharide (LPS) [30].

- il existe environ 160 antigènes O différents. au moyen d'immun – sérums spécifiques.
- L'antigène H : ou flagellaires protéiques, on en connaît 52 types, ils ne sont présent que chez les souches mobiles.
- L'antigène K : capsulaires, polysaccharidiques. Environ 70 antigènes d'enveloppe différents ont été reconnus [4]

III-2-f. Pouvoir pathogène.

L'espèce *Escherichia coli* est subdivisée en de nombreuses souches pathogènes pour l'homme et de nombreuses espèces animales sur la base de la possession de propriétés ou de la production de facteurs spécifiques qui sont responsables de leur pouvoir pathogène [37].

- **Infection intestinale** : *Escherichia coli* peut être responsable de gastro-entérites comme des diarrhées d'allure banale, diarrhée sanglante, diarrhée cholériforme, chez le nourrisson la diarrhée peut entraîner assez rapidement a un état de déshydratation. Dans certains cas (surtout chez l'enfant) la diarrhée peut-être suivie d'un syndrome hémolytique et urémique [11]
 - Les souches incriminées sont :
 - Enterotoxinogènes (ETEC)
 - Enteroïnväsives (EIEC)
 - Enterohémorragiques (EHEN)
 - Entéropathogènes (EPEC) [3].
- **Infection urinaire** : *Escherichia coli* est la bactérie le plus souvent en cause dans les infections urinaires communautaires qu'elles soient basses ou hautes. L'infection des voies urinaires se fait en général par voie ascendante. Elle est plus fréquente chez la femme en raison de la brièreté de l'urètre. La gravité augmente le risque de pyélonéphrite. Chez l'homme, l'infection est généralement secondaire à un obstacle sur les voies urinaires, elle peut se compliquer de prostatite. *Escherichia coli* est souvent impliqué aussi dans les infections urinaires nosocomiales [11].

- **Infection néonatal** : Elle peut se traduire par une méningite ou une septicémie, certains sérotypes d'*Escherichia coli* possèdent l'antigène K1 sont capables d'induire des infections néonatal gravissimes [5,11].
- **Les intoxications alimentaires** : Les toxi-infections alimentaires sont caractérisées par une multiplication des micro-organismes chez le malade accompagnée de production des toxines [19].

III-2-g. Les facteurs de pathogénicité.

III-2-g-1. La capsule.

Elle est de nature polysaccharidique, on en connaît 80 variétés immunologiques différentes (antigènes K). La capsule rend la phagocytose plus difficile et inhibe l'action du complément [11].

III-2-g-2. Les adhésines.

Ce sont des structures filamenteuses (appelées pili ou finbriae) de nature protéique, qui entourent les corps bactériens à la manière, d'une fourrure, elles peuvent induire une adhésion à des globules rouges ou à des cellules épithéliales [4,11].

III-2-g-3. Les toxines.

Certaines souches peuvent produire une hémolysine α est mise en évidence lors de la culture sur gélose ou sang [5].

- les endotoxines communes aux entérobactéries [38].
- Les entérotoxines ST (thermostables) et LT (thermolabiles), ce sont des toxines cytatoniques qui agissent sur le contrôle entérocytaire de sections hydro-électrolytique [29,38].
- Les cytotoxines : SLTI et SLTII (shigo-liketoxine) ou encore vero toxines pour leur effet toxiques sur les cellules vero [20, 21] elle altèrent l'intégrité des entérocytes [38]

III-2-g-4. Système de captation de fer (sidérophores).

Aérobactine [24,29].

III-2-g-5. Les protéines de la membrane externe et les Lps.

Elles donnent aux bactéries la capacité d'échapper à l'activité bactéricide du sérum de l'hôte en s'opposant à la fixation du complément [5,24].

III-3. Tribu des Salmonelleae.

III-3-a. Définition.

Les bactéries du genre *Salmonella* appartiennent à la famille des entérobacteriaceae dont elles possèdent les principaux caractères.

Bacilles de 0,7-1,5 μ m x 2 -5 μ m à Gram négatif, anaérobies facultatifs, habituellement mobiles grâce à une ciliature péritriche ou immobile [8].

III-3-b. Classification.

Dans la nature il existe plus de 2000 sérotypes selon la classification de Kaufman Wite. Les travaux taxonomiques les plus récents ont montré que le genre *Salmonella* ne comprend qu'une seule espèce "*Salmonella enterica*" composé de 7 sous-espèces. Ces sous-espèces sont elles mêmes subdivisées en sérovars (ou sérogroupes) sur la base des constituants antigéniques (O, H et Vi).

(*Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella typhi*) [4].

III-3-c. Habitat et épidémiologie.

La très grande majorité des Salmonelles présentes dans l'environnement (eaux d'égouts en particulier) ou dans les aliments destinés à l'homme proviennent d'une contamination fécale [7].

D'autres salmonelles sont des bactéries de l'intestin chez de nombreux sujets elles peuvent être présentes sans entraîner de symptômes (porteurs sains). Quelques sérovars sont spécifiquement humains : typhi et paratyphi. D'autres ne se rencontrent que chez l'animal, comme le sérovar pullorum, mais la majorité des sérovars ont un aspect spectre d'hôte assez large et peuvent infecter aussi bien l'homme que diverses espèces animales [11].

Actuellement on dénombre plus de 2213 sérotypes de *salmonella*, néanmoins on parle souvent de sérotypes majeurs comme *salmonella typhi* et *salmonella paratyphi A*, B, C. Elles sont responsables respectivement des fièvres typhoïdes et paratyphoidiques. En effet, on rapporte que 17 millions de cas dans le monde et quelques 600 000 décès chaque année sont causées par ces bactéries [7].

En France, 779 foyers de salmonelloses (appelées mineurs) responsables d'intoxication alimentaire ou d'infection septicémique de type opportuniste ont été

identifiées en, 1999, alors qu'au Etats-Unis, plus de 40 000 cas sont répertoriés chaque année et 80 personnes en sont morts entre 1985 et 1995 [7].

III-3-d. Caractères biochimiques.

Les principaux caractères permettant l'identification biochimique du genre *salmonella* sont :

Tableau N°5 : Les caractères biochimiques de *Salmonella*[8,30].

Teste	Indole	Acétoïne	Lactose	Saccharose	Inositol	H ₂ S	Trypto phane
<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	+	-
	Nitrate	Oxydase	Catalase	Glucose	Gaz	B-galactosidase	Uréase
	+	-	+	+	+	-	-
	Lysine LDC	Ornithine ODC	Arginine ADH	Phénylalanine APP			
	+	D	-	-			

III-3-e. Caractères antigéniques.

Les bactéries du genre *Salmonella* peuvent être différenciées en sérotypes en fonction de leur structure antigénique on distingue [8].

- **les antigènes somatiques (Ag.O) :** Les antigènes O sont portés par les chaînes spécifiques du lipopolysoccharide (LPS) qui est le composant majoritaire de la membrane externe de la paroi bactérienne. Ces Ago sont résistants à la chaleur et à l'alcool mais sont détruits par le formol. Le LPS est constitué de l'intérieur vers l'extérieur de la bactérie de 3 structures :
 - –le lipide A, responsable du pouvoir pathogène ,
 - le corps ou noyau polysaccharidique de base dont la structure est semblable pour toutes les Salmonelles.
 - - des chaînes spécifiques polysaccharidiques [30]

Il existe des facteurs majeurs et mineurs, seuls, les facteurs majeurs servent à caractériser les divers groupes antigéniques (O₄ = groupe B, O₉ = groupe D...). Certains facteurs O mineurs ou accessoires ne sont exprimés qu'en présence d'un

bactériophage. L'agglutination obtenue avec les sérums anti-O est d'apparition lente, granulaire et elle est difficilement dissociable [8].

- **Les antigènes d'enveloppe (antigènes capsulaires ou "K")** : L'antigène K (antigène de virulence Vi) est un polysaccharide capsulaire. Il masque l'agglutination O, qui peut être révélée après chauffage de 10 mn à 100°C, ou 1 heure à 60°C. il est fréquent chez les *salomonella typhi*, rare chez les *salmonella paratyphi C* et exceptionnel chez *salmonella dublin* [8].
- **Les antigènes flagellaires (antigènes "H")** : Les flagelles sont constitués d'une molécule protéique, la flagelline dont la composition en acides aminés détermine le type antigénique H. cette composition est codée par un gène de structure H₁ pour la phase 1 et un gène H₂ pour la phase 2. certains sérotypes sont monophasique. Ils ne peuvent synthétiser des antigènes H soit de la phase 1, soit de la phase 2. les antigènes de phase 1 sont désignés par les lettres a, b, c.... les antigènes de la phase 2 sont désigné par des chiffres 1,2.... L'agglutination H est rapide, floconneuse, facilement dissociable les antigènes H sont détruits par la chaleur et l'alcool mais résistent au formol [8].

III-3-f. Caractères distinctifs.

- **les biotypes et les lysotypes** : À l'intérieur d'un sérotype, on peut distinguer des biotypes par la présence des caractères biochimique secondaires ne remettant pas en cause l'appartenance au genre *Salmonella*.

De même la sensibilité à des systèmes de bactériophages spécifiques caractérise l'existence de lysotypes.

Ces éléments de l'information revêtent une grande importance en épidémiologies [4]

- **Profil plasmidiques** : La présence plasmidique est un phénomène évolutif (perte ou acquisition), il se révèle possible de recouvrir à l'étude des plasmides pour établir l'origine commune de certaines souches [26].

Les déterminants plasmidiques qui participant à la virulence aient été en grande partie identifiés, aujourd'hui, on ne connaît encore que très peu de chose sur les mécanismes physiologiques impliqués [18].

III-3-g. Pouvoir pathogène.

- **Fièvre typhoïde** : Elle est due aux sérovars typhi et paratyphi A, B ou C. la maladie est devenue rare dans les pays industrialisés, où la plupart des cas sont importés. Elle reste très fréquente dans les pays à bas niveau d'hygiène (plus de 10 millions de cas par année). Après une incubation de 7 à 10 jours, elle se traduit par un syndrome infectieux sévère accompagné de troubles digestifs et d'un état d'obnubilation (tuphos) en l'absence de traitement, l'évolution se poursuit pendant plusieurs semaines et peut se compliquer d'hémorragies ou de perforations intestinales. La mortalité est de 10 à 20 % [11].
- **Infections intestinales** : Après une incubation de 12 à 36 heures, les signes cliniques essentiels sont constitués par des vomissements, de la diarrhée parfois sanglante, des douleurs abdominales, et une fièvre élevée. Ces signes régressent en quelques jours, une semaine environ et une thérapeutique symptomatique est en générale suffisante chez les individus adultes sans maladies intercurrentes [8].
- **Les manifestations extra digestifs** : Elles sont plus rare, présentent 7 à 8 % des cas de salmonelloses : infections urinaires, cholécystites, méningites, ostéomyélites, spondylodixites, infections pulmonaires. Ces formes surviennent plus volontiers chez les malades immunodéprimés. Les déficits enzymatiques des globules rouges et la drépanocytose sont des circonstances favorisantes [4,8].

III-3-h. Les facteurs de pathogénicité.

Pour infecter leur hôte les Salmonelles utilisent différentes armes.

- **les adhésines** : Les Salmonelles possèdent plusieurs types de fimbriae qui jouent probablement un rôle dans leurs adhésions à la muqueuse intestinale.
- **Invasion des cellules épithéliales** : Pour traverser la muqueuse digestive, les Salmonelles utilisent un groupe de gènes chromosomiques qui leur permettent d'envahir des cellules épithéliales.
- **Survie et multiplication dans les macrophages** : Une propriété importante dans les Salmonelles est leur capacité de se multiplier dans les macrophages et éventuellement dans des cellules épithéliales [11]

Etude Expérimentale

Matériel et méthodes

I. Matériel et Méthodes.

Notre travail a été réalisé dans le laboratoire de microbiologie de la Faculté des sciences.

I-1. Matériel.

I-1-a. Matériel végétal.

L'huile essentielle utilisée a été préparé par hydro distillation au niveau du laboratoire de pharmacologie et phytochimie (université de Jijel). A partir de la plante "*Origanum vulgare*" qui a récoltée a la fin du mois de mai au niveau de la région de Chahna Wilaya de Jijel.

I-1-b. Matériel bactériologique.

Les souches d'*Escherichia coli* et de Salmonelles sont fournies par le laboratoire de microbiologie faculté des sciences (université de Jijel). Elles sont isolées à partir de différents organes de volailles qui ont pour origine la région de Jijel.

I-1-c. Les milieux de culture.

Les milieux de culture utilisés sont :

- SFB (bouillon au sélénite acide de sodium et cystine)
- La gélose hektoène
- La gélose Muller Hinton
- La gélose nutritive
- Eau physiologique
- Milieu TSI
- Milieu mannitol mobilité
- Milieu Clark et lubs
- Milieu citrate de Simmons
- Milieu urée indole
- Milieu moeller additionné de : Argénine, Ornithine, Lysine.

I-1-d. Les réactifs.

- Violet de gentiane
- Lugol
- Fushine

- VPI et VPII
- Kovacs
- L'huile de paraffine

I-1-e. Autre matériel.

- L'étuve de marque « Memmert model 100-800 ».
- Le microscope optique de marque « Olympus »
- Les micropipettes 10 -500 µl de marque « NichipetEx ».
- Les micropipettes 100-1000 µl de marque « Finn pipette compus ».

I-2. Méthodes.

I-2-a. Choix des souches.

A partir des souches fournies par le laboratoire de microbiologie on a choisie d'une manière aléatoire 10 souches identifiées comme étant lactose positives et 10 autres souches identifiées comme étant lactose négatives. Les souches sont conservées dans des tubes contenant la gélose nutritive inclinée.

I-2-b. Revivification des souches.

***Principe :**

Elle est basée sur la culture des bactéries sur un milieu capable de fournir aux bactéries les éléments essentielles à leur développement et leurs multiplications.

***Ensemencement :**

A partir de chaque tube de conservation on prélève une oèse de culture, on la dépose dans un tube contenant le milieu SFB, puis on les incube à 37°C pendant 24 heures.

I-2-c. Isolement des souches.

A partir de chaque tube de milieu SFB ensemencé, nous avons effectués des isolements dans des boites pétri contenant la gélose Hektoène que nous avons préparés préalablement.

Chaque boite de gélose Hektoène est divisée en 4 quartiers et chaque quartier recevra une seule souches.

Cette étape de l'isolement nous permet de vérifier la viabilité des souches, que ces souches appartiennent à la famille des Entérobactéries et de vérifier que ces souches sont soit lactose positif ou lactose négatif.

Toutes les boîtes ensemencées sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

I-2-d. Purification des souches.

A partir de chaque quartier on prélève une colonie bien isolée et on la cultive dans une boîte contenant la gélose Hektoène par la méthode d'isolement par épuisement en 4 plans.

Par la même méthode nous avons préparé, isolés et purifiés 10 souches d'Entérobactéries lactose positives et 10 souches d'entérobactéries lactose négatives.

Tableau N° 6. Identification des souches.

Identification originale	Identification expérimentale
L+9	S1
L+19	S2
L+4	S3
L+29	S4
L+26	S5
L+7	S6
L+12	S7
L+11	S8
L+41	S9
L+10	S10

Identification originale	Identification expérimentale
L - 295	N1
L - 25	N2
L - 58	N3
L - 32	N4
L - 24	N5
L - 5	N6
L - 11	N7
L - 18	N8
L - 45	N9
L - 116	N10

I-2-e. Identification des souches.

L: Lactose.

I-2-e-1. Identification morphologique.

*Coloration de Gram :

* Principe :

Elle est basée sur l'affinité tinctoriale et la structure de la paroi cellulaire.

* Technique :

- Préparer un frottis sur une lame

- Sécher et fixer à la chaleur
- Recouvrir les frottis avec la solution de violet de gentiane, laisser agir 1 minute.
- Rincer à l'eau
- Recouvrir la lame avec la solution du Lugol, laisser agir 1 minute.
- Rincer à l'eau
- Décolorer le frottis par l'alcool
- Laver à l'eau
- Recolorer par une solution du Fushine, laisser agir 30 secondes
- Laver à l'eau
- Sécher la préparation et examiner au microscope optique.

I-2-e-2. Identification biochimique.

*** Principe :**

La galerie biochimique est basée sur l'étude de trois caractères :

- utilisation des sucres
- produits de dégradation des sucres qui diffèrent d'une bactérie à une autres.
- Présence ou absences des enzymes.

A. Métabolisme glucidique.

-Attaque du mannitol :

***Principe :**

Le mannitol est un produit de la réduction du D-Manose conduit à la production des acides à chaîne très courtes, comme acide acétiques et acide formique.

Le milieu mannitol mobilité permet la recherche de 02 caractères :

- l'utilisation où non du mannitol (virage de l'indicateur coloré).
- La mobilité du germe.

*** Technique :**

A partir d'une culture pure et par l'anse de platine on ensemence le milieu mannitol mobilité par piqûre centrale. Puis on incube à 37°C pendant 24 heures.

***Fermentation des sucres en milieu TSI :** (Lactose, saccharose, Glucose, H₂S, gaz) :

***Principe :**

Le milieu TSI est un milieu complexe qui permet la mise en évidence des enzymes qui sont responsables de la dégradation du glucose, lactose et des acides aminés soufrés.

- le sulfure d'hydrogène H₂S est formé à partir acides aminés soufrés.
- La présence d'hydro sulfite de sodium et du sulfate ferreux ammoniacal entraîne la formation de sulfure de fer qui est un composé de couleur noir.

***Technique :**

L'ensemencement se fait à l'aide de l'anse de platine, le culot par piqûre centrale et la pente par stries longitudinales.

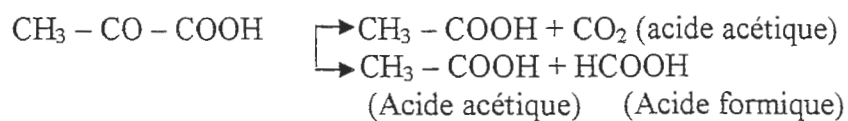
B. recherche des dérivés de l'acide pyruvique sur milieu Clark et lubs.

Ce milieu permet de distinguer les entérobactéries qui ont une fermentation butandiolique de celles qui ont simplement une fermentation acide mixte

*** Réaction du rouge de méthyle (R.M) :**

***Principe :**

Cette réaction permet de différencier les entérobactéries protoproductrices d'acides et celles qui sont faiblement productrices, on obtient à partir de l'acide pyruvique des acides organiques à courtes chaînes.



Lorsqu'ils sont produits, ces acides organiques maintiennent le pH de la culture à degré suffisamment bas pour que le rouge de méthyle garde sa coloration rouge.

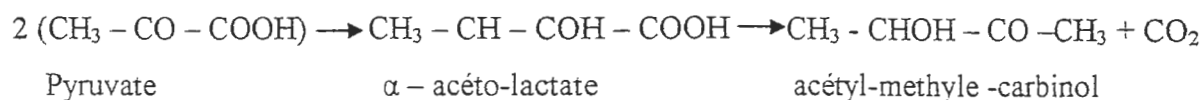
***Technique :**

On prélève 1 ml d'une culture pure âgée de 24 heures sur milieu Clark et lubs, ensuite ajouter 02 à 03 gouttes de rouge de Méthyle.

***Réaction de Vogse – Proskauer (VP).**

***principe :**

Elle permet la mise en évidence de la production d'acétyle méthyl carbinol ou acétoïne à partir de la décarboxylation du pyruvate.

***Technique :**

On prélève 1 ml de la culture en milieu Clark et lubs âgée de 24 heures ensuite on ajoute 0,5 ml de réactif α - naphthol et 0,5 ml de Naoh a 16 % , on agite et on laisse agir 10 à 15 Minutes.

C. Etude du métabolisme des acides organiques.***utilisation de citrate de Simmons :*****principe :**

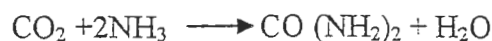
La recherche d'enzyme citrate perméase dans les bactéries qui permet d'utiliser le citrate (1^{er} intermédiaire du cycle de Krebs) comme seul source de carbone l'utilisation de cette substance engendre la libération des ions d'ammonium (NH_4) qui seront ensuite converties en (NH_3) puis en ($\text{NH}_4 \text{ OH}$), cela entraîne l'alcalinisation du milieu de culture qui est révélée par le virage de l'indicateur coloré (bleu de bromothymol).

***technique :**

On ensemence le milieu de citrate de Simmons en surface par des stries longitudinales, puis on incube à 37°C pendant 24 heures.

D. Etude du métabolisme protéique.*** Recherche de l'uréase :*****Principe :**

La recherche d'enzyme uréase dans les bactéries, qui transforme l'urée (seule source d'azote) en ammoniac et en carbonate d'ammonium, cette réaction se traduit par une alcalinisation du milieu.

***Technique :**

A partir d'une culture pure, on ensemence par l'anse de platine le milieu urée indole et on incube à 37°C pendant 24 heures.

La recherche de l'indole :**Principe :**

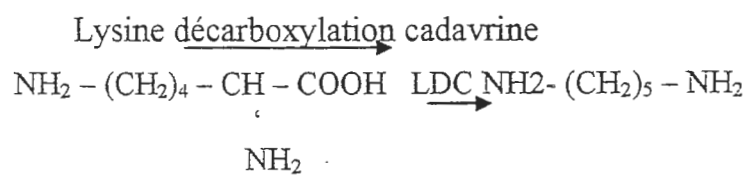
Certaines bactéries dégradent le tryptophane en acide indole-acétique ou en acide indole carboxylique, seule les bactéries indologènes peuvent suivre cette dégradation jusqu'à formation d'indole.

***Technique :**

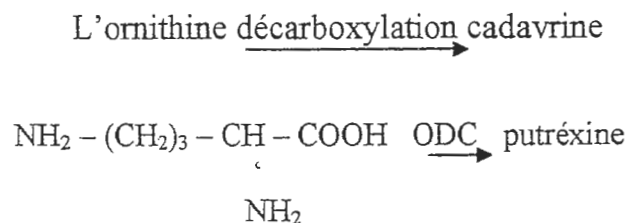
A partir d'une culture pure on ensemence par l'anse de platine le milieu urée indole et on incube à 37°C pendant 24 heures.

***Métabolisme des acides aminés :**

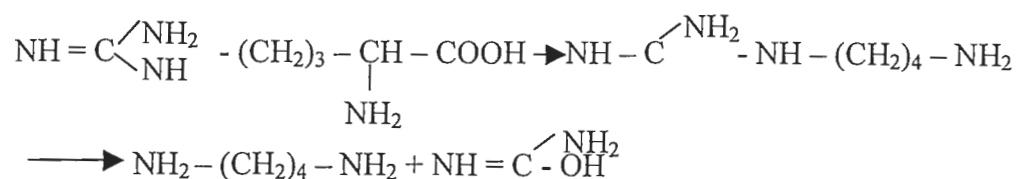
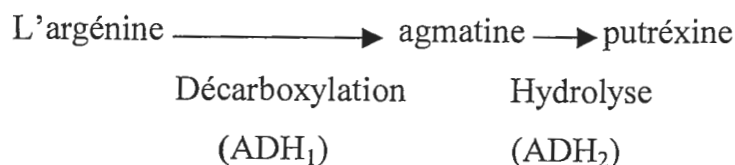
L'action des enzymes est favorisée en milieu acide formé à partir des acides aminés les substances alcalines qui font virer l'indicateur de pH.

La recherche de lysine décarboxylase (LDC) :**Principe :*****Technique :**

On ensemence le milieu Moeller enrichi en lysine par une oèse de culture, ensuite on incube à 37°C pendant 24 heures.

Recherche de l'Ornithine décarboxylase (ODC) :**Principe :*****Technique :**

On ensemence le milieu Moeller enrichi avec l'ornithine par le germe à tester et on incube à 37°C pendant 24 heures.

Recherche de l'arginine déshydrogénase (ADH) :**Principe :*****Technique :**

On ensemence le milieu Moeller enrichi avec l'arginine par une culture fraîche et on incube à 37°C pendant 24 heures.

E. Recherche de la catalase.***Principe :**

La catalase est un enzyme qui permet de dégrader l'eau oxygénée issu de la voie respiratoire oxydative directe en eau et en oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse

***Technique :**

Sur une lame de verre, on dépose une goutte d'H₂O₂, puis on ajoute une anse du germe étudié.

N.B :

Les méthodes d'identification sont réalisées pour les 20 souches à étudiées [10 d'*Escherichia coli* et 10 de *Salmonella*] par les mêmes techniques déjà expliquer.

II. Détermination de l'effet d'huile essentielle d'*Origanum vulgare* sur les souches.**II-1. Introduction.**

Dans le but de contribuer à la connaissance de l'effet de ces huiles essentielles sur certains entérobactéries nous somme proposés à soumettre, 10 souches d'*Escherichia coli* et 10 souches de salmonelles en épreuve de la détermination de la sensibilité par la méthode de diffusion sur milieu gélose (Osman, 2002) (modifié).

II-2. Technique de diffusion sur milieu gélosé.

***Principe :**

Elle est basée sur le pouvoir de diffusion des principes actifs des huiles essentielles des plantes dans les milieux gélosés, l'arrêt de la croissance bactérienne se traduit par des zones d'inhibition au tour des puits contenant les huiles essentielles.

II-3. Préparation du milieu de culture.

La gélose Muller-hinton est collée dans des boîtes pétri avec une épaisseur de 4 mm puis refroidi.

II-4. Préparation de l'inoculum.

A partir d'une culture fraîche sur SFB de chaque souche fournie et identifier nous avons prélevé une anse de platine et nous l'avons déchargée dans 9 ml d'eau physiologique stérile, qui est préalablement préparé dans des tubes à visse.

II-5. Ensemencement.

Chaque boîte de gélose Muller-hinton est ensemencée par la méthode d'inondation et cela en versant la totalité de 9 ml d'inoculum sur la surface de gélose.

Après agitation nous avons prélevé l'excès de l'inoculum par aspiration à l'aide d'une pipette pasteur, la suspension bactérienne aspirée est rejetée dans un bac contenant l'eau de javel et enfin la surface de gélose est séchée dans une étuve.

II-6. Confection des puits.

A l'aide du bout d'une pipette pasteur, 7 puits sont confectionnés dans chaque boîte de pétrie déjà ensemencée. Ensuite pour souder la base de ces puits on dépose une goutte de la gélose nutritif stérile fondu au fond de chacun de ces derniers.

II-7. Préparation des dilutions.

Les dilutions d'huile essentielle d'*Origanum vulgare* est préparées dans l'huile de paraffine comme il est indiqué au (tableau 4).

Tableau N° 7. Préparation des dilutions de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* dans l'huile de paraffine.

Numérotation des puits	Concentration	Volume du diluant	Volume de l'huile essentielle (μ l)	Volume total (μ l)
L'huile pure	1	00	50	50
1	1/2	50	50	100
2	1/5	200	50	250
3	1/10	450	50	500
4	1/20	950	50	1000
5	1/25	1200	50	1250
6	1/30	1450	50	1500

II-8. Distribution des dilutions.

A partir de chaque dilution, on prend 50 μ l et on la dépose dans le puit correspondant.

II-9. Réalisation de témoin.

- Le témoin est réalisé pour confirmer que l'huile de paraffine n'a aucun effet sur les souches un pour *Escherichia coli* et un pour *Salmonella*.
- On prépare 2 boîtes par les mêmes techniques déjà expliquées mais on confectionne un puit central et on dépose 50 μ l d'huile de paraffine pure dans chacun.

Résultats et discussion

III. Les résultats de l'étude microbienne.

III-1. Les résultats de purification.

La purification des souches sur le milieu Hektoéne a donné des colonies de petites tailles de couleur bleu verte, lactose négatives (figure 4), et de couleur jaune, lactose positives (figure 3).

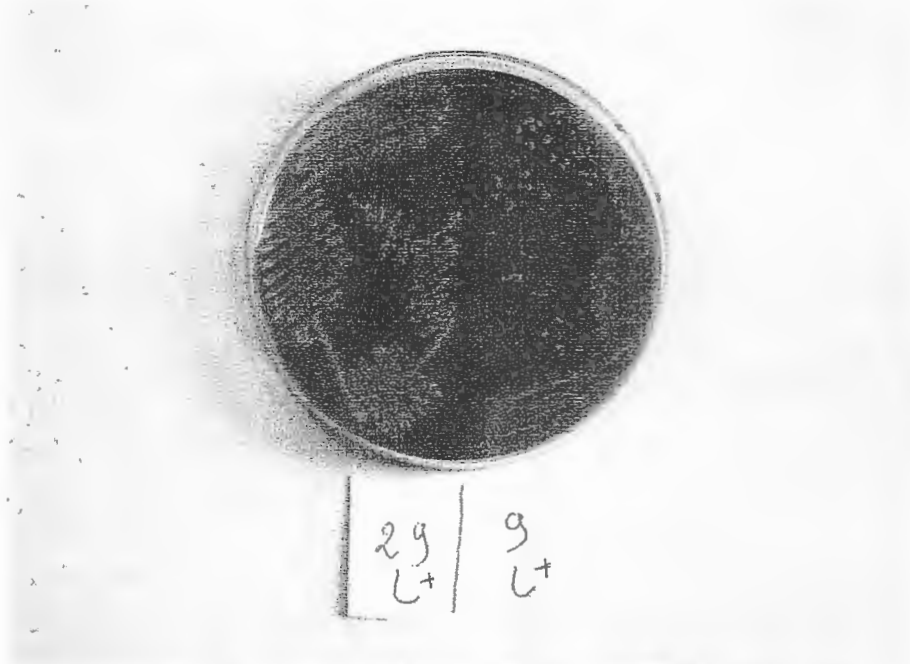


Figure N° 3. Résultats de purification d'*Escherichia coli*



Figure N° 4. Résultats de purification de *Salmonella*

III-2. Les résultats de l'identification des souches.

L'identification des souches est basée sur les caractères morphologiques et des profils biochimiques des souches.

III-2-a. Les résultats de coloration de Gram.

Les souches ont une morphologie coccobacillaire, Gram négatives, isolées ou associés en pair, rarement en chaînette plus ou moins courte (figure 5 et 6).

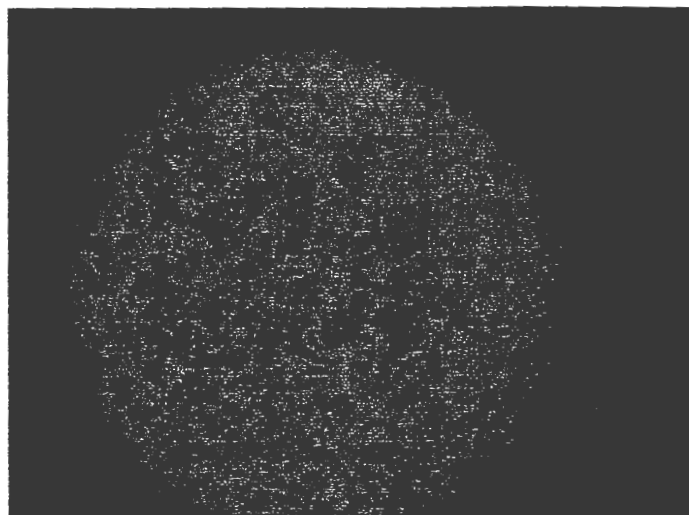


Figure N° 5 : Coloration de Gram d'*Escherichia coli*

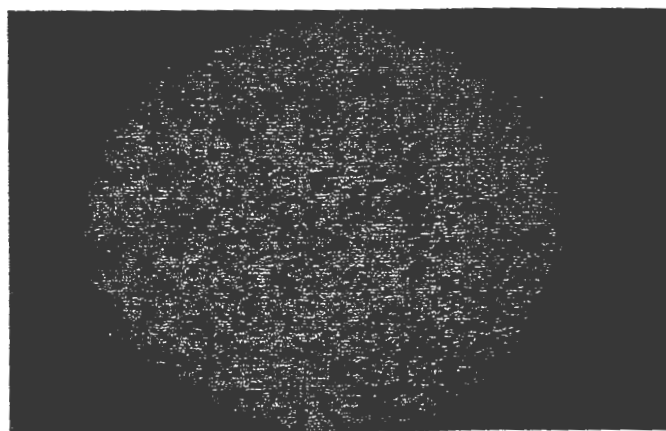


Figure N° 6. Coloration de Gram de *Salmonella*

III-2-b. Les résultats de l'identification biochimique.

Les résultats de l'identification biochimique des souches Gram négatives, lactoses positifs montrent un profil biochimique comparable à celui des *Escherichia coli* mais certaines souches présentent certaines tendances mais qui n'interfèrent pas à leur identification. Ce qui nous permettons d'affirmer que les souches étudiées sont des *Escherichia coli*. (Tableau 8) (Figure 7).

De même les résultats de l'identification biochimique des souches Gram négatives, lactose négatives montrent un profil biochimique similaire à celui de *salmonella Spp*, mais certaines souches présentent des variations qui restent non significative vis-à-vis de leurs identifications ce qui nous permet d'affirmer que les souches étudiées sont des *salmonella Spp*. (Tableau 9) (figure 7)

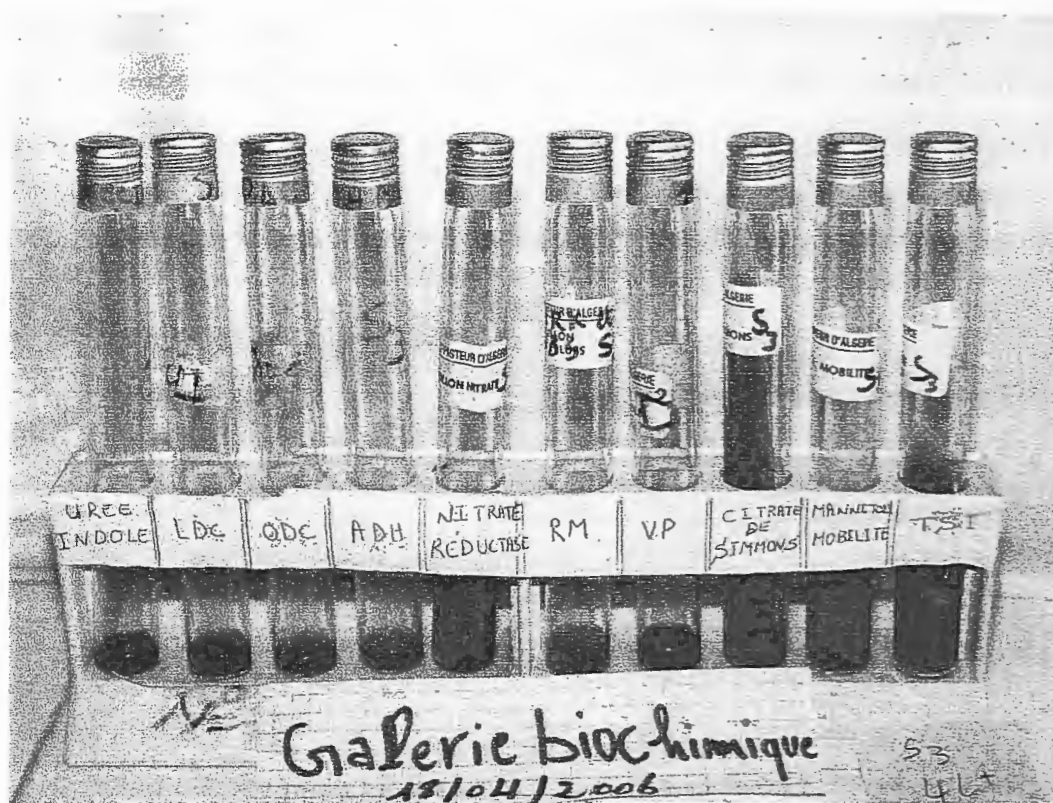


Figure N° 7. Galerie biochimique d'*Escherichia coli*

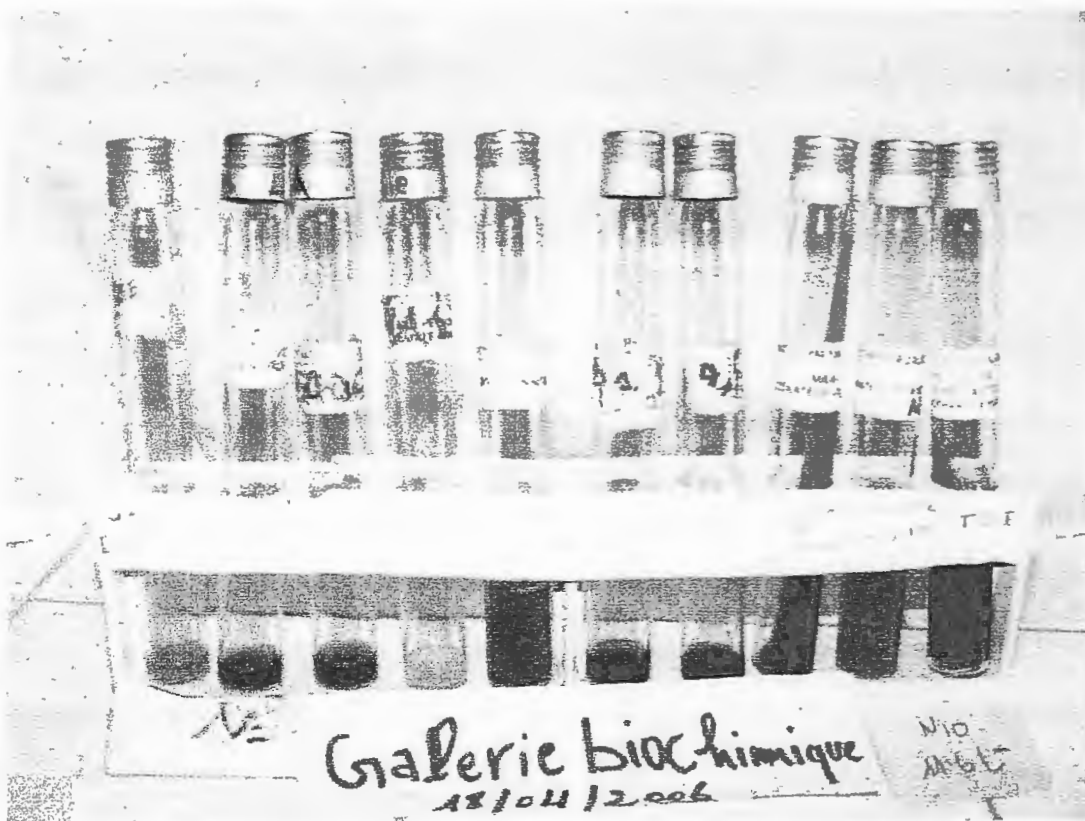


Figure N° 8. Galerie biochimique de *Salmonella*

. Tableau N° 8. Les caractères biochimiques des 10 souches d'*Escherichia coli* étudiées.

Tests souches	Mannitol mobilité		TSI					Clarck et Lubs		Urée indole		CIT	LDC	ODC	ADH	CAT
	Man	Mob	Lac	Glu	Sac	H ₂ S	Gaz	RM	VP	Urée	Ind					
S1	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+
S2	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+
S3	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+
S4	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
S5	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+
S6	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+
S7	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+
S8	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+
S9	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+
S10	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+

+ : teste positif

- : teste négatif

Tableau N°9. Les caractères biochimiques des 10 souches de *Salmonella* étudiées.

Souches	Tests	Mannitol mobilité		TSI				Clarck et Lubs		Urée indole		CIT	LDC	ODC	ADH	CAT	
		Man	Mob	Lac	Glu	Sac	H ₂ S	Gaz	RM	VP	Urée						Ind
S1		+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+
S2		+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+
S3		+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+
S4		+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+
S5		+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+
S6		+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+
S7		+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+
S8		+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+
S9		+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+
S10		+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+

+ : teste positif

- : teste négatif

III-3. Les résultats de teste de sensibilité d'*Origanum vulgare* sur les souches.

III-3-a. Résultats de teste envers l'huile pure.

Les résultats de test de sensibilité des souches d'*Escherichia coli* vis-à-vis de l'huile pure d'*Origanum vulgare* révèlent que l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* exerce un effet inhibiteur sur les souches d'*Escherichia coli* et les mêmes résultats sont retrouvés pour les différentes souches des Salmonelles.

Les zones d'inhibitions pour *Escherichia coli* sont comprises entre 10 mm – 25mm (figure 9) (tableau 10), et pour *Salmonella* entre 10 mm – 35 mm (figure 10) (tableau 11).

Des résultats similaires sont retrouvés par (OSMAN-2002) et (EVRIM - 2005), lorsqu'il a étudié l'effet des huiles essentielles d'*Origanum vulgare* sur les souches de *Staphylocoque*, *Salmonella*, *Escherichia coli* et *Yersinia*.

Tableau N° 10. Effet de 07 dilutions d'un extrait d'huile essentielle sur les dix souches d'*Escherichia coli*.

Dilutions souches	H.P	1/2	1/5	1/10	Les diamètres (mm)
S1	12	10	8	0	
S2	12	10	0	0	
S3	20	14	13	0	
S4	12	12	10	10	
S5	25	15	14	13	
S6	18	12	10	0	
S7	14	12	10	9	
S8	10	8	0	0	
S9	16	12	10	0	
S10	12	10	8	0	
S.S		* *			

**hautement significatif

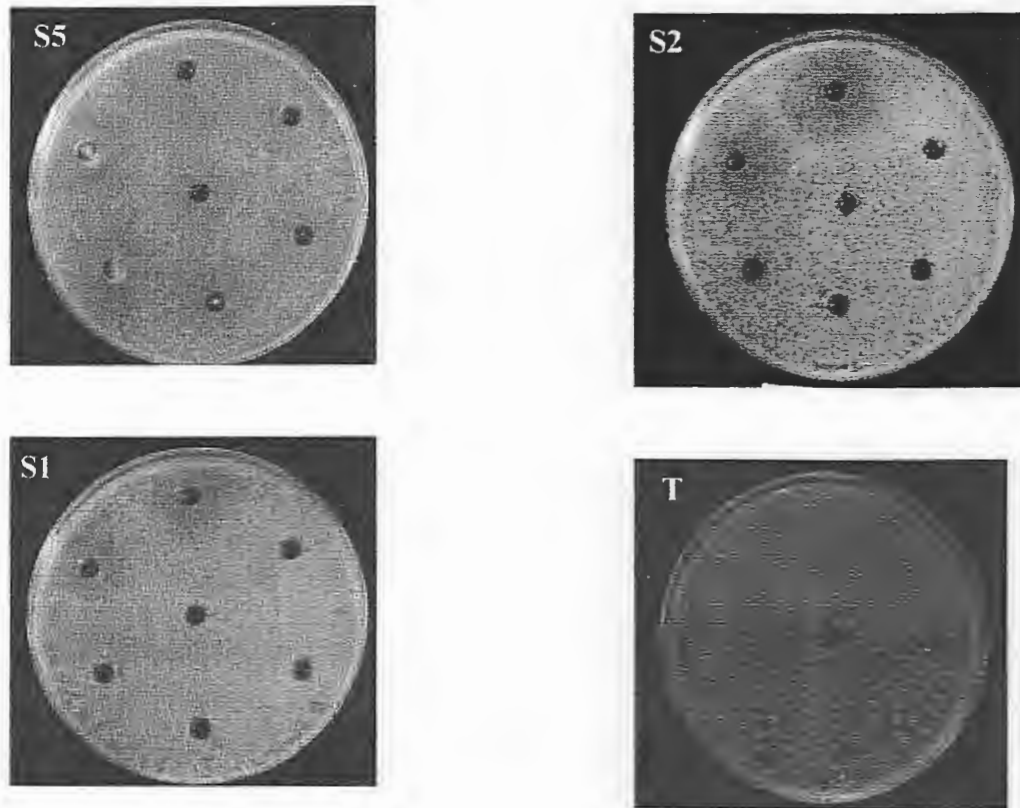


Figure N° 9. Les zones d'inhibition d'*Escherichia coli*
Par l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* et le témoin.

Tableau N° 11. Effet des 07 dilutions d'un extrait d'huile essentielle sur les dix Souches *salmonella*.

Dilutions souches	H.P	1/2	1/5	Les diamètres (mm)
N1	14	6	4	
N2	10	8	7	
N3	25	20	0	
N4	16	10	8	
N5	15	13	0	
N6	25	23	14	
N7	28	25	23	
N8	35	31	25	
N9	30	25	14	
N10	22	20	18	

Les diamètres des zones d'inhibition d'*Escherichia coli* et de *Salmonella* par l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* sont interprétées dans des histogrammes figure 11 et 12.

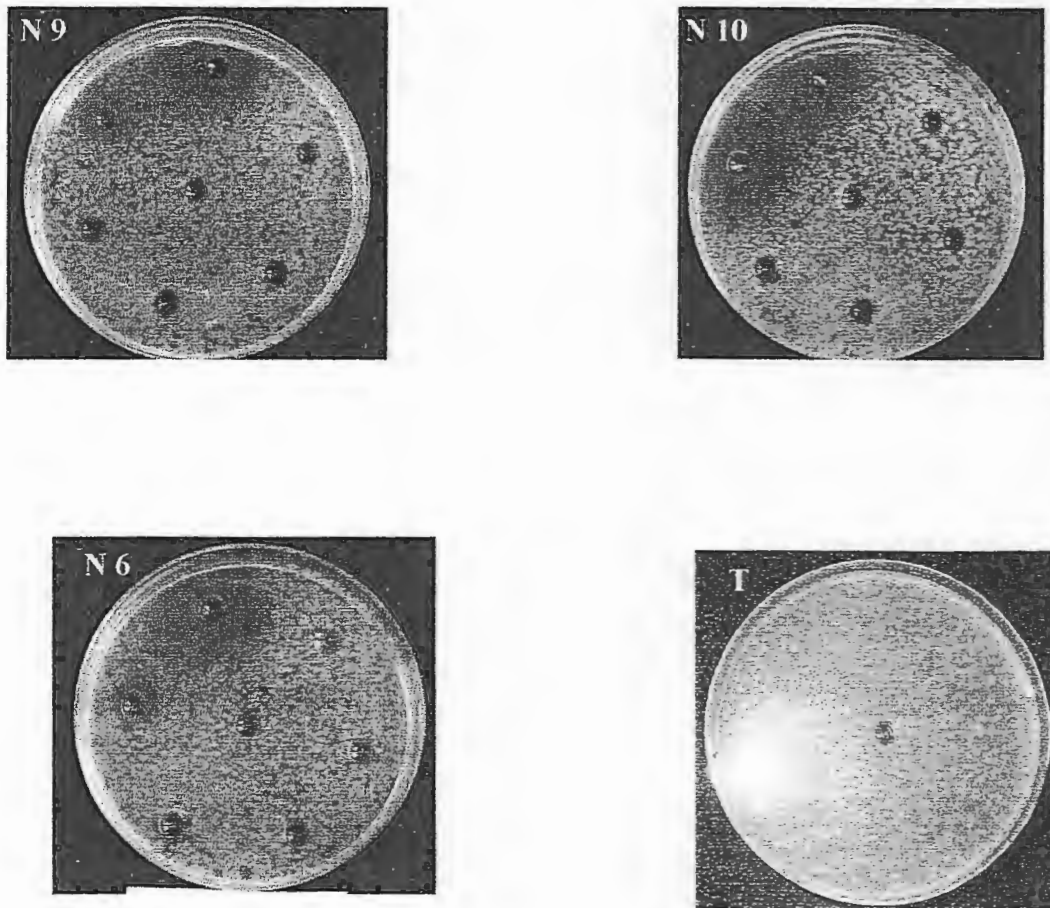


Figure N° 10. Les zones d'inhibitions de *Salmonella*
Par l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* et le témoin

Pour l'étude de la variation de l'effet d'huile essentielle d'*Origanum vulgare* selon les souches et les dilutions nous avons utilisés une étude statistique basée sur la méthode suivant :

Méthode utilisée dans l'étude statistique :

Disposition mono factoriel en bloc : (analyse de la variance).

$$TCG = \frac{(\sum_{1}^{t.b} x)^2}{n = t.b}$$

$$SCE_t = \sum_{1}^{t.b} x^2 - TCG$$

$$SCE_{f.E} = \frac{\sum_{1}^t (\sum_{1}^b x_1)^2}{b} - TCG$$

$$SCE_{f.C} = \frac{\sum_{1}^b (\sum_{1}^t x_b)^2}{b} - TCG$$

$$SCE_{residuel} = SCE_t - (SCE_{f.E} + SCE_{f.C})$$

Tableau de l'analyse de variance :

Σ des CE	SCE	ddl	CM	F obs
Total		t.b - 1		
f.étud		t - 1	$\frac{SCE_{f.E}}{t - 1}$	$\frac{CM_{f.E}}{CM_r}$
f.cont		b - 1	$\frac{SCE_{f.C}}{b - 1}$	$\frac{CM_{f.C}}{CM_r}$
résiduelle		(t-1)(b-1)	$\frac{SCE_r}{(t-1)(b-1)}$	

Ddl : degré de liberté

SCE : la somme des carrés des écarts

F.E : facteurs étudiés

F.C : facteurs contrôlés.

III-3-b. Variation de l'effet d'huile essentielle d'*Origanum vulgare* selon les souches.

L'analyse de la variance des résultats du test de sensibilité vis-à-vis d'huile essentielle d'*Origanum vulgare* montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les souches. En effet toutes les souches d'*Escherichia coli* testé présentent une sensibilité envers les huiles essentielles d'*Origanum vulgare*, de même l'analyse statistique des résultats de l'activité antibactérienne d'huile essentielle d'*Origanum vulgare* sur les souches des salmonelles montre que cette activité est non significative entre les différentes souches étudiées. Cela peut nous conduire à dire que toutes les souches étudiées ont le même degré de sensibilité aux huiles d'*Origanum vulgare*.

III-3-c. Variation de l'effet de dilution d'huiles essentielles d'*Origanum vulgare*.

L'étude de la variation de l'effet dose pour différentes souches de chaque espèce nous permet de confirmer que l'huile de paraffine est un diluant de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* et qu'il n'affecte pas son pouvoir antibactérien.

III-3-d. Les résultats de la détermination de la concentration minimale inhibitrice

Les concentrations minimales inhibitrices retrouvées pour les différentes souches d'*Escherichia coli* sont comprises entre 1/5 et 1/10 (Tableau 10). Pour les souches des Salmonelles elles sont comprises entre 1/2 et 1/5 (Tableau 13).

Les résultats retrouvés sont comparables à ceux retrouvés par (OSMAN-2002) et qui a montré que les concentrations minimales inhibitrices pour *Escherichia coli* et *Salmonella* par la méthode des disques varie respectivement entre 1/4 et 1/10 et l'effet antibactérien pour *Origanum vulgare* et surtout due à la présence de thymol et de carvacrole dans les huiles essentielles d'*Origanum vulgare*.

Tableau N° 12. Détermination de l'intervalle de la concentration minimale inhibitrice d'*Escherichia coli*.

Souches	dilutions			
S1	H.E.O pure	1/2	1/5	/
S2	H.E.O pure	1/2	1/5	/
S3	H.E.O pure	1/2	1/5	/
S4	H.E.O pure	1/2	1/5	1/10
S5	H.E.O pure	1/2	1/5	1/10
S6	H.E.O pure	1/2	1/5	/
S7	H.E.O pure	1/2	1/5	1/10
S8	H.E.O pure	1/2	1/5	/
S9	H.E.O pure	1/2	1/5	/
	H.E.O pure			
S10	H.E.O pure	1/2	1/5	/

H.E.O pure : huile essentielle d'*Origanum vulgare* pure

Tableau N° 13. Détermination de l'intervalle de la concentration minimale inhibitrice de *Salmonella*.

souches	Dilutions		
N1	H.E.O pure	1/2	1/5
N2	H.E.O pure	1/2	1/5
N3	H.E.O pure	1/2	/
N4	H.E.O pure	1/2	1/5
N5	H.E.O pure	1/2	/
N6	H.E.O pure	1/2	1/5
N7	H.E.O pure	1/2	1/5
N8	H.E.O pure	1/2	1/5
N9	H.E.O pure	1/2	1/5
N10	H.E.O pure	1/2	1/5

H.E.O pure : huile essentielle d'*Origanum vulgare* pure.

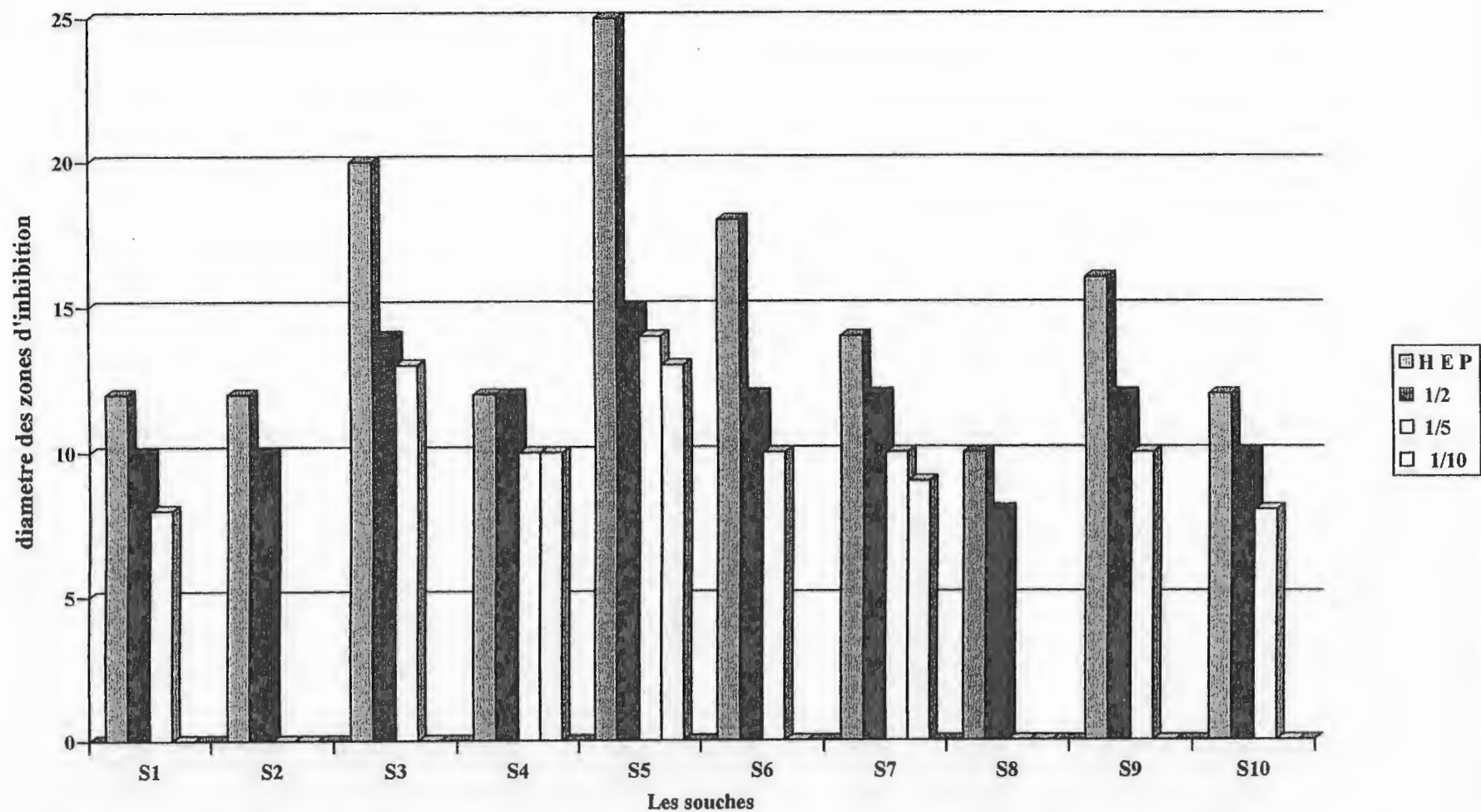


Figure N° 11. Effet des 7 dilutions d'huile essentielle d'*Origanum vulgare* sur 10 souches d'*Escherichia coli*

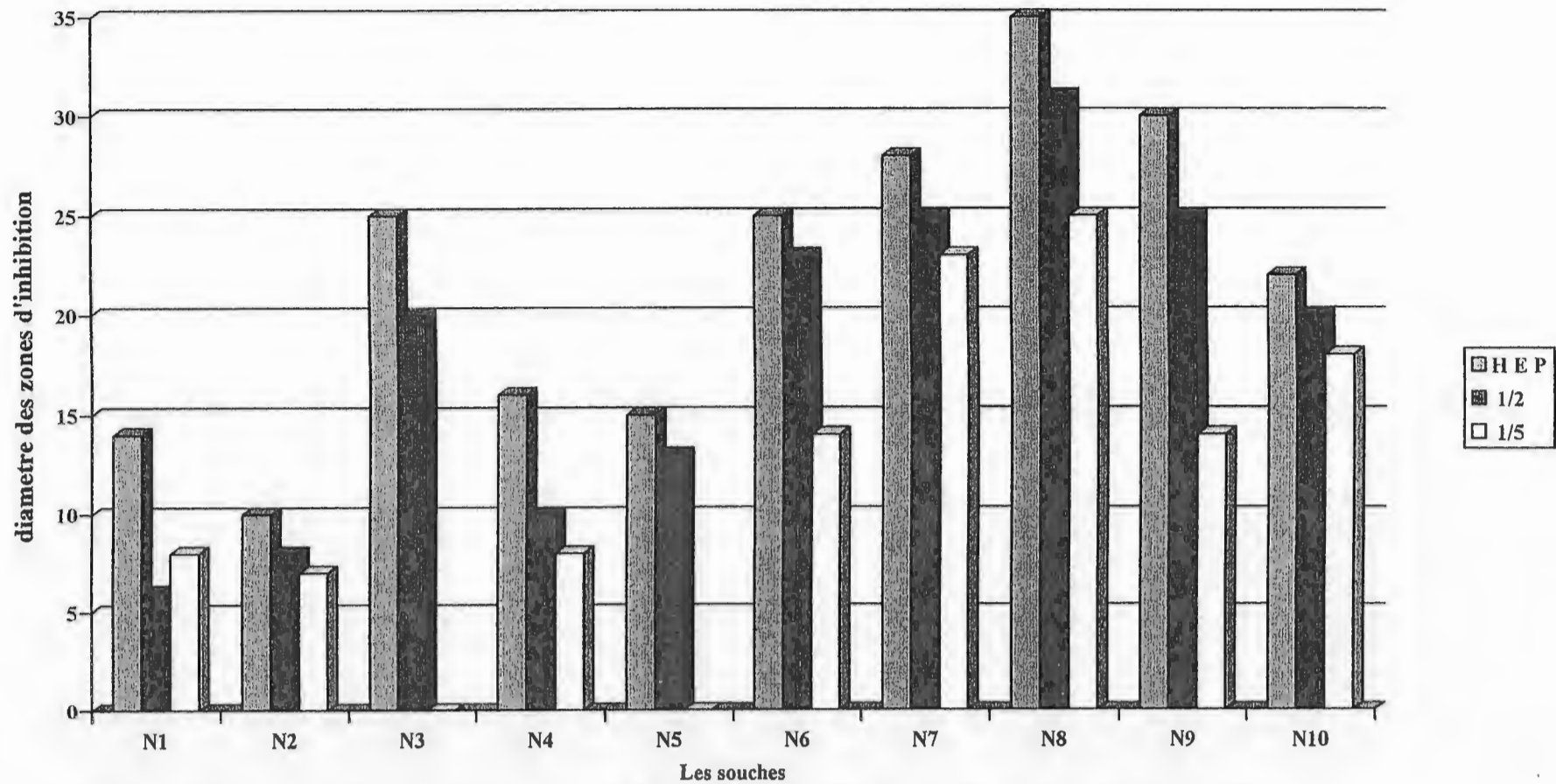


Figure N° 12. Effet des 7 dilutions d'huile essentielle d'*Origanum vulgare* sur 10 souches de *Salmonella*

Discussion générale

DISCUSSION GÉNÉRALE :

L'Origanum vulgare est classé comme une plante médicinale par un bon nombre des auteurs [14, 27, 33].

L'huile essentielle de cette plante constitue principalement de thymol et de carvacrol qui ont des propriétés antibactériennes, antifongique, antioxydants et anticoncérogénique [14]. Cette huile obtenue par hydrodistillation à partir des plantes d'*Origanum vulgare*, récoltées à la fin du mois de Mai au niveau de la région de Chahna (Wilaya de Jijel).

Dans le but de contribution à l'estimation des effets antibactériens d'huile essentielle d'*Origanum vulgare*, nous avons procédé dans la première étape à la purification et l'identification de 10 souches d'*Escherichia coli* et 10 souches de *Salmonella spp* et qui sont fournis par le laboratoire de phytopharmacologie. Les résultats obtenus ont montrés l'existence de différents chimiotypes bactériens de l'espèce *Escherichia coli* et *Salmonella spp*.

Dans une deuxième étape, nous avons fait la détermination du degré de sensibilité des souches bactériennes aux huiles essentielles par la méthode de diffusion sur gélose.

Les valeurs retrouvées pour la concentration minimale inhibitrice sont situées généralement entre 1/5 et 1/10 pour *Escherichia coli* et entre 1/2 – 1/5 pour *Salmonella spp*. Ces résultats sont comparables à ceux retrouvés par OSMAN et al (2002).

Conclusion générale

Conclusion générale.

Les huiles essentielles d'*Origanum vulgare* sont connues depuis l'antiquité pour leurs propriétés thérapeutiques notamment leur pouvoir antiseptique.

Les essais de la détermination de la sensibilité des Gram négatives représenté par 10 souches de *Escherichia coli* et 10 souches de *Salmonella spp* effectuées sur milieu solide par diffusion sur gélose révèlent que toutes les souches testées sont sensibles au huiles Pures.

Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice varient entre 20% à 50% pour les *salmonelles* et 10% à 50% pour les *Escherichia coli*.

Cette variation de degré de sensibilité des souches pourrait être liée à la composition des huiles essentielles et d'*Origanum vulgare* en principe actifs ainsi que leur concentrations.

Les résultats sont loin d'être finals et d'autres travaux avec des méthodes plus précises sont envisagées et peuvent avoir une application dans les domaines pharmacologiques et thérapeutiques.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques.

- 1- **Abrassart ., 1988.** Mille et une vertus des huiles essentielles .Ed. moisenie, p. 85.
- 2- **Allo.O., 1991.** La préparation en un tour de main. Collection prophyre. Groupe liaisons, p. 68-69.
- 3- **Avril. J.L., 1991.** Dictionnaire pratique de bactériologie clinique, Ellipses. Paris, P. 44-45.
- 4- **Avril. J.L., Dabernat H., Denis., Monteil H., 1992.** Bactériologie clinique 2ème édition .Ellipses paris, p.149, 153, 154, 158, 166, 168, 171.
- 5- **Berche P., Gaillard J.L., Simonet M., 1981.** Bactériologie. Flammarion et Cje paris, p .100-110-593-600.
- 6- **Bernard Boullard., 2001.** Dictionnaire des plantes médicinaux du monde croyances et réalités, p .380
- 7- **Blond. O., 2001.**La recherche, spéciale le risque alimentaire.Ed Ifremer, Paris. P. 38-39.
- 8- **, BourgeoisC.M., Mecle.J.F., Monteil.H .,1996.** Microbiologie alimentaire (tome 1) .aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed : tec et doc. P. 62, 63, 64,73.
- 9- **Bruneton.j., 1993.** pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2^{ème} Ed Tec et doc, Lavoisier, p. 437,893.
- 10- **Bugnicourt.M., 1995.** Dictionnaire de microbiologie générale. P. 867, 868.
- 11- **Charles Nauciel.,** Bactériologie médicale, P. 127, 128, 130, 133, 134,135.
- 12- **Charpentier et al., 1998.** Guide de préparation en pharmacie.
- 13- **Eberlint. 1994.,** Les antibiotiques, classification, mode d'action, utilisation thérapeutique. Ed : Nathan, paris. P. 86.
- 14- **Evrin Ipek et al., 2005.** Génotoxicité and antigénotoxicité of origanum oil and carvacrol évalués by Ames Salmonella, microsomal test, food chemistry.
- 15- **Eyquem A., Alouf J., Montanier L et al., 1998.** Traité de microbiologie clinique, Piccin nuova, libreria S.P.A padoue, Italie. P : 369, 375, 388, 391.
- 16- **Glare W., 1999.** Aromathérapie.
- 17- **Gueguen J. 1994.** volarisation non alimentaire de la grande production agricole, INR Naute. P. 44, 46.
- 18- **Gulig. P.A., Dambara.H., Guirrey.D.G., Lax.A.J., 1993.** Molecular analysis of SVP virulence genes of Salmonella plasmids. Rev.Mol. microbial. P. 7.
- 19- **Joffin. C., Joffin. J. N., 1993.** Microbiologie alimentaire. 5^{ème} Ed. CRDP d'aquitaine Bordeaux. P. 34, 61.

- 20- **Lall. N., Meyer. J.J.M., 1999.** Invitro inhibition of drug resistant and drug sensitive strains of mycobacterium tuberculosis by ethno botanically selected south africain plants, journal of ethno pharmacology, vol 66, Issus 3. P. 347,354.
- 21- **Larpent. J. p., Larpent crougand. M., 1985.** Eléments de microbiologie. Hermanu France. p : 199-207.
- 22- **Larpent. J. p., Larpent. M., 1990.**mémonto techniques de microbiologie. Ed. tec et doc, lavoisier. Paris. P : 339-3350.
- 23- **Leclere.H., Gaillard. J. l., simonnet .M., 1995.** microbiologie générale. P : 420.
- 24- **Neidhardt. F.C., Ingraham J.L. Schachier.,** physiologie de la cellule bactérienne “une approche moléculaire” Masson paris. P. 430.
- 25- **Patrick mioulane.,** Encyclopédie universelle des 15000 plantes et fleurs de jardin. Ed : française.
- 26- **Richard.c.,1993.** Ouvrage « diarrhées aigrie infectieuses » .Ed Doin, paris. P : 3.
- 27- **Sogdik Osman., 2002.** Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols.
- 28- **Shigeharu et al., 2001.** Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact.
- 29- **Singleton p., 1999.** Bacteriologie, 2ème cycle, 4ème Ed Dussard, Paris. P. 239, 241, 257, 262, 386, 387.
- 30- **Sutro. L., Federighi., M, Trouve. J. L., 1988.** Manuel de bactériologie alimentaire. P. 27, 32, 33, 81, 84.
- 31- **Wichth. M., Anton. R., 1999.** Plantes thérapeutiques tradition, pratiques, officinale, science et thérapeutique. Ed tec et Doc, paris.

Sites d'Internet.

- 32- **Généralités sur les huiles essentielles 2001/2005.** lussion- gaucher mise en ligne, juju@ht.st.
- 33- **Origan (Origanum vulgare), 2002** <file:///F:/fichiers/pltoregano.htm>.
- 34- **Anonyme, 2001.** Historique des huiles essentielles. www.sonnaflore.com.
- 35- **Origan :** un article de wikipédia, l'encyclopédie libre. <File:///F:/origan-wikipédia.htm>
- 36- **Anonyme 2000.** L'aromathérapie. www.oci.multimedia-net.
- 37- **E.Coli-** E.mail : [j.g mainil@ulg ac.be](mailto:j.g.mainil@ulg.ac.be).
- 38- **Anonyme 2002.** E.Coli associée aux colibacillooses animales. www.mesdvert.uneontreal.ca/E.Coli.ntm.
- 39- **La plante d'Origanum vulgare :** <http://images.search.yahoo.com/search/images>.

Annexes

Annexe 1 : milieux de cultures :

Eau physiologique

chlorure de sodium	9 g
Eau distillée	1000 ml

Gélose Hektoén

Proteose 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
Gélose	13mg

pH : 7.5

Gélose TSI

Peptone	20g
Extrait de viande	3g
Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium	5g
Glucose	1g
Lactose	10g
Saccharose	10g
Citrate de fer	0.5g
Hyposulfite de sodium	0.5g
Rouge de phénol	0.025g
Gélose	12g

pH : 7.6

Milieu Muller-Hinton

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

pH : 7.4

Milieu urée indole

tryptophane	3g
Phosphate mono potassique	1g
Phosphate di potassique	1g
Chlorure de sodium	5g
Urée	20g
Alcool à 95°	10ml
Solution de rouge de phénol à 1%	2,5ml
Eau distillée	1000ml

pH : 6.7

Réactifs- solutions et colorants

Fuchsine de ziehl	
Fuchsine basique	1g
Alcool éthylique à 90ù	10ml
Phénol	5g
Eau distillée	100ml

Réactif de Kovacs

Alcool amylique ou iso amylique	150ml
p.diméthyl aminobenzaldéhyde	10g
Acide chlorhydrique concentré	50g

Lugol

Iode	1g
Iodure de potassium	2g
Eau distillée	300ml

Réactif au rouge de méthyle

Rouge de méthyle	0.5g
Alcool Méthylique 60%	100 ml

Violet de gentiane

Violet de gentiane	1g
Ethanol à 90%	10ml
Phénol	2g
Eau distillée	100ml

Milieu au citrate de simmons

Sulfate de magnésium	0.2g
phosphate monoammonique	1g
Phosphate bi potassique	1g
Citrate de sodium	5g
Bleu de bromothymol	0.08
Gélose	15g
Eau distillée	100ml

pH : 7-7.2

Milieu Clarck et Lubs

Peptone tripsique de caséine	5g
Phosphate bi potassique	5g
Glucose	5g
Eau distillée	1000ml

pH : 7

Milieu mannitol mobilité

Peptone pancréatique de viande	20g
Agar-agar	4g
Mannitol	2g
Nitrate de potassium	1g
Rouge de phénol en solution à 1%	4ml
Eau distillée	1000ml

pH : 8.1

Milieu de moeller

Milieu de base : milieu témoins

Na cl	5g
Extrait de levure	3g
Glucose	1g
Bromocrésol pourpre en solution à 1%	1,5ml
Eau distillée	1000ml

pH : 6.3

Présenté par : Bendjeddou Ryma
Dib Nadjet
Messaoudi Rima

Date de soutenances :
18/07/2006

Titre :

Effet d'huiles essentielles d'*Origanum vulgare* sur 10 souches d'*Escherichia coli* et 10 souches de *Salmonella* avec détermination de l'intervalle de la concentration minimale inhibitrice

Résumé :

L'*O.vulagre* est une plante connue pour sa richesse en H.E. Son utilisation en aromathérapie a été démontré et rapporté par plusieurs auteurs.

Dans le cadre d'une estimation d'effets antibactériens d'huile essentielle de la plante d'*O.vulagre* sur 10 souches d'*E. coli* et 10 souches de *Salmonella Spp*.

Nous avons effectués dans un premier temps une étude bactériologique de 20 souches bactériennes, puis nous avons procédé à la détermination de l'effet d'H E d'*O.vulagre* sur ces souches, ainsi que la détermination de l'intervalle de C.M.I par la méthode de diffusion sur gélose.

Les résultats obtenus ont révélé que les souches d'*E.coli* et de *Salmonella* montrent un degré de sensibilité variable vis-à-vis d'H.E et que la C.M.I se situe généralement entre 1/5 - 1/10 pour *E.coli* et entre 1/2-1/5 pour *Salmonella*.

Summary:

The *O.vulagre* is a known plant for his wealth in essential oils. Its utilization in aromatherapy has been demonstrated and brought back by several authors.

In the setting of an evaluation of antibacterial effects of oil essential of the plant of *O.vulagre* on 10 stumps of *E. coli* and 10 stumps of *Salmonella Spp*.

We did in a first time a bacteriological survey of 20 bacterial stumps, then we proceeded to the determination of the effect of essential oils of *O.vulagre* on these stumps, as well as the determination of C.M.I by the method of diffusion on aggar.

The gotten results revealed that stumps of *E.coli* and *Salmonella* show a variable sensitivity degree opposite of essential oils and that the C.M.I is generally located between 1/5 - 1/10 for *E.coli* and between 1/2-1/5 for *Salmonella*.

ملخص:

Origanum vulgare هي نبتة معروفة بغناها بالزيوت الأساسية، واستعمالها في التداوي بالزيوت

الأساسية تم إثباته من طرف العديد من الباحثين.

في إطار تقدير التأثير المضاد للبكتيريا للزيت الأساسي لنبتة الـ *Origanum vulgare* وتأثيره

على 10 سلالات بكتيرية من *E.coli* و 10 سلالات بكتيرية من الـ *Salmonella*. قمنا في أول الأمر

بدراسة بكتيرية لعشرين سلالة بكتيرية. ثم أتينا إلى تحديد مدى تأثير الزيت الأساسي لنبتة الـ *Origanum*

vulgare على هذه السلالات كذلك تحديد مجال التركيز الأدنى المثبط بطريقة الإنتشار على الوسط الغذائي

الصلب.

النتائج المتحصل عليها بينت أن سلالات بكتيريا الـ *E. coli* و *Salmonella* أظهرت حساسية

متغيرة اتجاه الزيت الأساسي وأن التركيز الأدنى المثبط يقع بصفة عامة بين: 1/5 - 1/10 بالنسبة

للـ *E.coli* وبين 1/2 - 1/5 بالنسبة للـ *salmonella*

Mots clé: *Origanum vulgare*, huiles essentielles, *Escherichia coli*, *Salmonella*, C.M.I.

Responsable de recherche : Mr Boudjerda Djamel