MB.07.2003

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
centre universitaire de Jijel Abdelhak ben hamouda
Institut des sciences de la nature

053
MB.07.2003
01/02

MEMOIRE

en vue de l'obtention Du Diplôme des études supérieures en biologie
option: Microbiologie

THEME

Effet de 5 types d'huiles essentielles de *Thymus vulgaris* sur 10 souches de *Salmonella* avec détermination de la CMI

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المكتبة المركزية
جامعة جيجل

Jury composé de:
- ROULA Sadjia :Présidente
- IDOUI Tayeb :Examinateur
- BOUDJERDA Djamel :Encadreur

Présenté par:
DROUA Houria,
DROUA Samira
KIRAT Nawel

جامعة محمد الصديق بن يحيى
مكتبة الكلية
كلية علوم الطبيعة و الحياة

promotion 2003

Remerciements

Avec nos. profond sentiments de respect et de reconnaissance, nuos tenons à présenter nos sincères remerciements à tous ceux qui de prés ou de loin ont contribué à l'èlaboration de ce mémoire

- Mr BOUDJERDA Djamel : qui a accepter de nous encadrer et qui n'a jamais cessé de nous témoigner et de nous prodiguer ses précieux conseils

Nous tenons aussi a passer nos vifs remerciements à tous les professeurs du département de biologie surtout Mr BOULDJEDRI Mohamed et Mr IDOUI Tayeb pour leurs aide .

- Tous le personnel du laboratoire du laboratoire du centre universitaire surtout Rachid et Sonia .

Nous remercions trés vivement Mme ROULA Sadjia et Mr IDOUI Tayeb d'avoir accepté de juger ce modeste travail.

Houria

Samira

Nawel

Liste des abréviations.

ADH	Argénine dehydrogénase
B N	Bouillon nutritif
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
D	Dalton
Fig	Figure
HE	Huile Essentielle
LDC	Lysine decarboxylase
ODC	Ornithine décarboxylase
OMA	Serum Mélangé anti « O » A
OMB	Serum Mélangé anti « O » B
PM	Poids Moléculaire
Kb	Kilo base ⟶ 1000 paires de base
RM	Rouge de méthyle
SS	Signification statistique
Tbl	Tableau
VP	Vogse proskauer

Liste des figures

Figure 1	Le squelette de base des terpènes
Figure 2	La plante de *T vulgaris*
Figure 3	Les principaux constituants de l'HE de T vulgaris
Figure 4	Réservoirs et circulation des Salmonelles entre l'homme, les animaux et l'environnement
Figure 5	Méthode d'isolement des Salmonelles par épuisement en quatre quartiers
Figure 6	La position des puits et des différentes dilutions
Figure 7	L'effet de l'huile de vaseline (témoin)
Figure 8	Aspects des colonies de *Salmonella* sur le milieu Hektoen après 24heures à 37°c (purification)
Figure 9	Résultats de différents tests biochimiques (galerie biochimique)
Figure 10	Résultats de la sensibilité des Salmonelles aux différentes dilutions d'HE de *T vulgaris*
Figure 11	Le pourcentage des souches donnant des CMI à des doses différentes
Figure 12	Effet des 6 doses de 5 types d'HE de *T vulgaris* sur les 10 souches de *Salmonella*
Figure 13	Effet des types d'HE de T vulgaris sur les 10 souches de *Salmonella*

Liste des tableaux.

Tableau I	Classification des différents terpènes
Tableau II	Les composés phénoliques les plus importantes
Tableau III	Principaux métabolites secondaire azotés
Tableau IV	Préparation des dilutions de l'HE dans de l'huile de vaseline
Tableau V	Les résultats des tests d'identification (biochimiques et antigéniques) des Salmonelles
Tableau VI	Le pourcentage des souches donnant des CMI à des doses différentes
Tableau VII	Effet des six doses de cinq types d'HE de T vulgaris sur les10 souches de Salmonella
Tableau VIII	Effet des 5 types d'HE de T vulgaris sur les 10 souches de Salmonella
Tableau IX	Effet du type 1 d'HE sur les 10 souches de Salmonella
Tableau X	Effet du type 2 d'HE sur les 10 souches de Salmonella
Tableau XI	Effet du type 3 d'HE sur les 10 souches de Salmonella
Tableau XII	Effet du type 4 d'HE sur les 10 souches de Salmonella
Tableau XIII	Effet du type 5 d'HE sur les 10 souches de Salmonella

SOMMAIRE :

Introduction.

PREMIERE PARTIE : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE I . Les huiles essentielles.

I-1. Historique.....1

I-2. Définition..... 1

I-3. Constituants majeurs des HE 2

I-3-a. Terpènes.....2

I-3-b. Les composés phénoliques..... .4.

I-3-c. Métabolites secondaires azotés.....5

I-4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....5

CHAPITRE II. Les huiles essentielles du *Thymus vulgaris.*

II-1. Généralités sur le Thymus vulgaris.....7.

II.2. Les constituants d'huiles essentielles de Thymus vulgaris.....7

II-3. Les propriétés des huiles essentielles de Thymus vulgaris..... 9

II-3-a. Effet antiseptique 9

II-3-b. Effet spasmolytique 10

II-3-c. Les effets sur l'organisme 10

II-4. Emplois des huiles essentielles de Thymus vulgaris..... 10

CHAPITRE III . Etude des Salmonelles

III-1. Les Entérobactéries.....12

III-1-1. Définition.....12.

III-1-2. Systématique..... 12

III-2. Tribu des salmonelles..... 13

III-2-1. Définition.....13

III-2-2. Habitat et épidémiologie..... 13

III-2-3. Caractères bactériologiques.....14

III-2-3-a. Caractères culturaux.....14

III-2-3-b. Caractères biochimiques.....14

III-2-3-c. Caractères antigeniques.....14

III-2-4. Caractères distinctifs 16
III-2-4-a. Les biotypes et les lysotypes.....16
III-2-4-b. Profils plasmidique..... .16
III-2-4-c. Sensibilité aux antibiotyques.....16
III-2-4-d. Toxines.....17
III-2-5. Le pouvoir patogène et pathogénie.....17
III-2-6. Mode de contamination par les Salmonelles..... ..17
III-2-6-a. Contamination horizentale 17
III-2-6-b. Contamination verticale..... 17

DEUXIEME PARTIE : Etude expérimentale.

I. Matériel et méthodes.

I-1. Matériel 19

I-1-1. Matériel bactériologique.....19
I-1-2. Matériel végétal.....19
I-1-3. Les milieux de culture.....19
I-1-4. Les réactifs.....20
I-1-5. Autre matériel.....20

II- Métodes

II-1. Méthode de l'étude bactériologique.....20
I-1-1. Revivificationdes souches.....20..
I-1-2. Isolement des colonies.....20
I-1-3. purification des souches.....21
II-1-4. Identification des souches utilisées.....21
II-1-4-1. Identification morphologique.....21
- Coloration de Gram.....21

II-1-4-2. Identification biochimique.....22
II-1-4-2-1. Métabolisme glucidique 23
a- Attaque du mannitol.....23
b- La fermentation des sucres en milieu TSI.....24

II-1-4-2-2. Etude des productions résultat de la fermentation du glucose.....24
a- Reaction du rouge de méthyle.....24
b- Reaction de vogse proskauer 25
II-1-4-2-3. Etude du métabolisme des acides organiques 25
- Utilisation du citrate de simmons 25
II-1-4-2-4. Métabolisme protéique.....26
a- Recherche d'une uréase.....26
b- Recherche d'indole 26
II-1-4-2-5. Métabolisme des acides aminés.....27
- Recherche de la lysine décarboxylase 27
- Recherche de l'ornithine décarboxylase.....17
- Recherche de l'argénine déhydrolase 27
II-1-4-3. Caractérisation antigénique.....28
II-2. Méthode de détermination de la CMI.....29
II-2-1. Définition de la CMI..... 29
II-2-2. Technique de diffusion sur gélose.....29
II-2-2-1. Préparation du milieu de culture.....29
II-2-2-2. Préparation de l'inoculum 29
II-2-2-3. Ensemencement par inondation .....30.
II-2-2-4. Conféction des puits 30
II-2-2-5. Préparation des dilutions 30
II-2-2-6 Application des dilutions 31
III. Résultats et discussion
III-1.Résultats de l'étude microbienne..... 33
III-2 Résultats de détermination de la CMI..... 36
III-3. Résultats de l'étude statistique..... 43
III-3-1. Effet souches..... 43
III-3-2. Effet huile.....43
III-3-3 Effet dose.....43
III-4. Discussion générale.....44

CONCLUSION GENERALE
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES
ANNEXES

INTRODUCTION

Les huiles essentielles contenues dans les plantes aromatiques sont des composés volatiles renfermant des principes actifs utilisées en aromathérapie depuis l'antiquité.

Ces composés font l'objet actuellement d'un intérêt croissant pour une large gamme d'activités industrielles surtout dans les disciplines agro-alimentaires, pharmacologiques et cosmétiques.

Les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* sont connues pour leur propriété antibactérienne liée à l'activité surtout de deux substances que sont le thymol et le carvacrol.

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail et qui se divise en deux parties :

-Une synthèse bibliographique qui porte sur l' étude théorique des huiles essentielles y compris celles de *Thymus vulgaris* ainsi qu'une étude microbiologique des Salmonelles et leur importance en pathologie

-Une partie expérimentale qui but sur l'isolement et l'identification de 10 souches de *Salmonella* et le test de la sensibilité de ces dernières vis à vis de 5 types d'HE de *T vulgaris* avec détermination de la CMI.

Première partie

Données bibliographiques

Chapitre I
Les huiles essentielles

I. Les huiles essentielles.

I-1. Historique.

Les huiles essentielles sont connues et utilisées depuis la nuit des temps. Il y a 4000 ans à Babylone, pour lutter contre les épidémies on brûlait du cyprès.

Les Egyptiens (environ 1500 ans avant J.C) faisaient également usage de ces précieuses substances. Elles étaient utilisées en médecine et dans de nombreux rituels sacrés tels que l'embaumement. [4]

Les Romains et les Grecs en faisaient largement usage aussi. De nombreux écrits attestent de l'utilisation fréquente de ces substances au titre d'argents thérapeutique, pour l'aromatisation des bains, dans les parfums et dans les vins aromatique. [19]

Les H E furent découvertes par le chimiste M Gattefossé en 1928. Celui-ci plongea, par réflexion, sa main brûlée lors d'une explosion dans son laboratoire dans le premier liquide à proximité, et fut stupéfait de constater qu'aucune lésion n'apparure. Il s'intéressa alors aux propriétés de ce liquide qui est l'huile essentielle de lavande. L'étude des propriétés des huiles essentielles commença alors. [4]

I-2. Définition.

La norme AFNOR NF T 75-006 a donné la définition suivante d'une H E : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation à sec. L'H E est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » [15]

Les H E sont des composés aromatiques, volatiles (contrairement aux autres l'huiles fixes) produite par de nombreux végétaux supérieurs sous la forme de minuscules gouttelettes synthétisées dans des glande situées sous le cuticule. [7]

Ces H E sont stockées dans des organes végétaux tel que les fleurs (bergamotier, tubéreux ...etc.) et les feuilles (citronnelle, eucalyptus ...etc.).Elles sont moins habituelles dans les écorces, le bois, les racines, les grains et dans la peau des fruits.

Ces organes peuvent renfermer des H E de compositions différentes même s'ils appartiennent à la même espèce. [15]

Une H E doit être «chémotypée », c'est à dire que les plantes utilisées doivent correspondre à une espèce botanique et à un type chimique bien précis, confirmés par la chromatographie. [36]

Bien entendu, le rendement en H E dépend de plusieurs facteurs :

Le procédé d'obtention, influence des facteurs de l'environnement, influence du cycle végétatif.... etc. [15]

I-3 constituants majeurs des H.E.

I-3-a. les terpènes.

Ils constituent entre autre le principe odoriférant des végétaux. Ces terpènes sont biosynthétisés à la suite du couplage de 2 au moins entités à 5 carbones dont la structure est celle de l'isoprène ou 2-méthylbuta-1,3-diène [5]

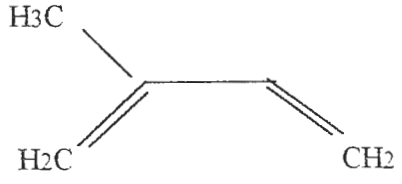


Fig. 1 : Le squelette de base des terpènes (L'isopréne). [5]

Tableau I : Classification des différents terpènes. [15,19]

Groupe de substance	Exemple	Propriétés pharmacologiques
Monoterpènes	- Acyclique : ocimène (basibic), myrcène (laurier) -Monocyclique : Thymol Thym) - Bi et Tricyclique : pinane -Réguliers : iso-camphane -Irrégulier : lavandulane	-Stimulant du système immunitaire. -Action révulsive sur la peau, utile en cas de douleurs localisées : ils sont donc antalgiques à action percutanée
Sésquiterpènes	-β-cadinène (cade) -Lactone sesquitèrpinique	-Légèrement hypotenseurs, calmant et anti-inflamatoires -Antibactériennes, surtout à l'encontre des Gram positif -Antifongique et anti-parasitaires
Diterpènes	Florsholine (Lamiaceae)	-hypotenseur
Tritérpènes et Stéroides		-Contraceptifs , anabolisant , anti-inflammatoires,analgésique.
Tétraterpènes	Caroténoides : (β– carotène) Acide caroténoidique (la crocétine)	-L'activité vitaminique A -En pharmacie comme dans l'industrie agro–alimentaire , ils peuvent être utiliser comme colorants naturels efficaces , non toxiques

I-3-b. Les composés phénoliques.

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d 'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un group hydroxyle , libre ou engagé dans une autre fonction : éther , ester , hétéroside [15]

Tableau II : Composés phénoliques les plus importantes : [15, 19]

Groupe de substances	Exemples	Propriétés pharmacologiques
Phénols simples Acides phénols	Catéchol,thymol : -Dérivés de l 'acide benzoïque : A. gallique -Dérivés de l'acide cinnamique : acide caféique, acide rosmarinique	Fortement anti–infectieux et immuno–stimulants. -Ils agisent en hyper : hyperthermisants , hypertensifs
Coumarines	coumarine	Neuro-sédatives, anticoagulantes
Lignines	Dibenzylbutanes	Propriétés cytostatiques et antimitotiques
Dérivés du phényl – Propane (Shiskimates)	-Stibénoides : pinoxyline -Xantone : mangestine -Styrylpyrones : (kauvaine	-Antifongique et antimicrobiens -Anti-inflammatoire -Action sédative et tranquillisante
Flavonoides	5,4 –dihydroxy –6,7,3-tri-métoxyflavone (Lamiaceae)	-Propriété «vitaminique P » -Anti-inflammatoire et -Anti-bactériens.

I-3-c. Métabolites secondaires azotés.

Les acides aminés sont des éléments constitutifs des protéines structurales et enzymatiques. De plus il a été démontré qu'ils peuvent donner naissance à une large variété de métabolites secondaires : amines, acides à courte chaîne, glucosinolate, bétalaine, mais aussi alcaloïdes, tous les composés phénylpropanique [15]

Tableau III : Principaux métabolites secondaires azotés [15]

Groupes de substances	Exemples	Propriétés pharmacologiques
Acides aminés non constitutifs des protéines	-Acide 4-méthyl – glutarique -Acide azétidine-2-carboxylique	-A l 'état actuel des connaissances, ils sont dépourvus d 'intérêt pharmacologique -Beaucoup se révèlent toxiques à l'encontre des prédateurs
Hétérosides de la moutarde (glucosinolates)	Sinigroside	-Toxiques, mais ils pourraient avoir un effet protecteur à l'encontre des substances cancérogènes au niveau du colon

I-4. Méthodes d 'extraction des H.E :

Il y a plusieurs méthodes d'extraction des H.E et on peut citer comme exemples :

- **Extraction au CO_2 .**

Dans cette technique, un courant de CO_2 à forte pression fait éclater les poches à essence, et entraîne les huiles que l'on récupère en l'état. [3

Extraction aux solvants :

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. [3]

- **Expression.**

Est une technique «physique » surtout réservé aux agrumes et qui consiste à écraser les zestes pour en extraire les essences. [3]

- **Effleurage.**

Les fleurs sont mélangées à des graisses puis les huiles sont récupérées par dissolution dans l'alcool. [3]

- **La macération.**

Les plantes macèrent dans des huiles et l'on récupère les composés liposolubles. [3]

- **La distillation à la vapeur d'eau .**

Cette méthode fait intervenir quatre étapes :

.1^{ére} étape : Entraînement à la vapeur d'eau

On fait bouillir la plante (tige et feuilles) dans l'eau. La vapeur entraîne les HE contenus dans le produit brut. En fin on condense ces vapeurs à l'aide d'une spirale réfrigérante.

2^{éme} étape: Le Relargage.

Le relargage consiste à rendre les H E moins solubles dans l'eau en ajoutant du chlorure de sodium. De cette façon il sera plus aisé de les récupérer.

3^{éme} étape : La Décantation.

Elle se réalise dans une ampoule à décanter dans la quelle le mélange précédent se sépare en deux phases miscibles : une phase aqueuse, en général plus dense et une phase organique de densité plus faible, contenant l'H E , se situe dans la partie supérieure.

4^{éme} étape : Le Séchage et filtration.

Afin d'éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans la phase organique, on fait agir un déshydratant. C'est l'opération de séchage On filtre ensuite pour ne recueillir que la phase organique exempte d'eau. [6]

II. Les huiles essentielles de *Thymus vulgaris.*

II-1. Généralités sur le *Thymus vulgaris.*

II-1-1. Données taxonomiques.

Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotyledones

Sous classe : Gamopetals

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : THYMUS

Espèces : *Thymus vulgaris. L*

II-1-2. Habitat : Europe, régions méditerranéenne, coteaux arides ; jusqu'à 1500 m [8]

II-1-3. Période de floraison : Eté [8]

II-1-4. Hauteur : 10 à 30 cm [8]

II-1-5. Odeur : Aromatique, intense et caractéristique, rappelant le Thymol. [36]

II-1-6. Saveur : Aromatique, légèrement âpre. [36]

II-1-7. Type de plante :

Sous-arbrisseau à tiges ligneuses dressés et possédant de petite feuilles linéaires ou elliptiques dont la face supérieure est verte ; la face inférieure est recouverte d'un duvet gris et porte de nombreux poils sécréteurs dans des dépressions. Les faux verticillés des fleurs violet claire, dorsiventrales, formant un épi terminal ou un capitule. [36]

II-2. Constituants d'H E de T. vulgaris .

L'H E (1 à 2,5 % d'H E doit contenir la drogue officinale), renfermant surtout des isomères monoterpénique : thymol : méthyl-5-isopropyl-2-phénol (25-50%) et carvacrol : méthyl-6-isopropyl-3-phénol (3-10 %) , une faible part de phénols est également présente dans la drogue sous forme d' hétérosides , notamment de galactosides , autres monoterpènes : β –cymène , γ-terpinène , linalol , camphre et limonène . Cependant, cette composition peut fortement varier en fonction de l'origine et la période de récolte de la drogue. [36]

Figure 2. La plante du *Thymus Vulgaris* [8]

Chapitre II
Les huiles essentielles du T vulgaris

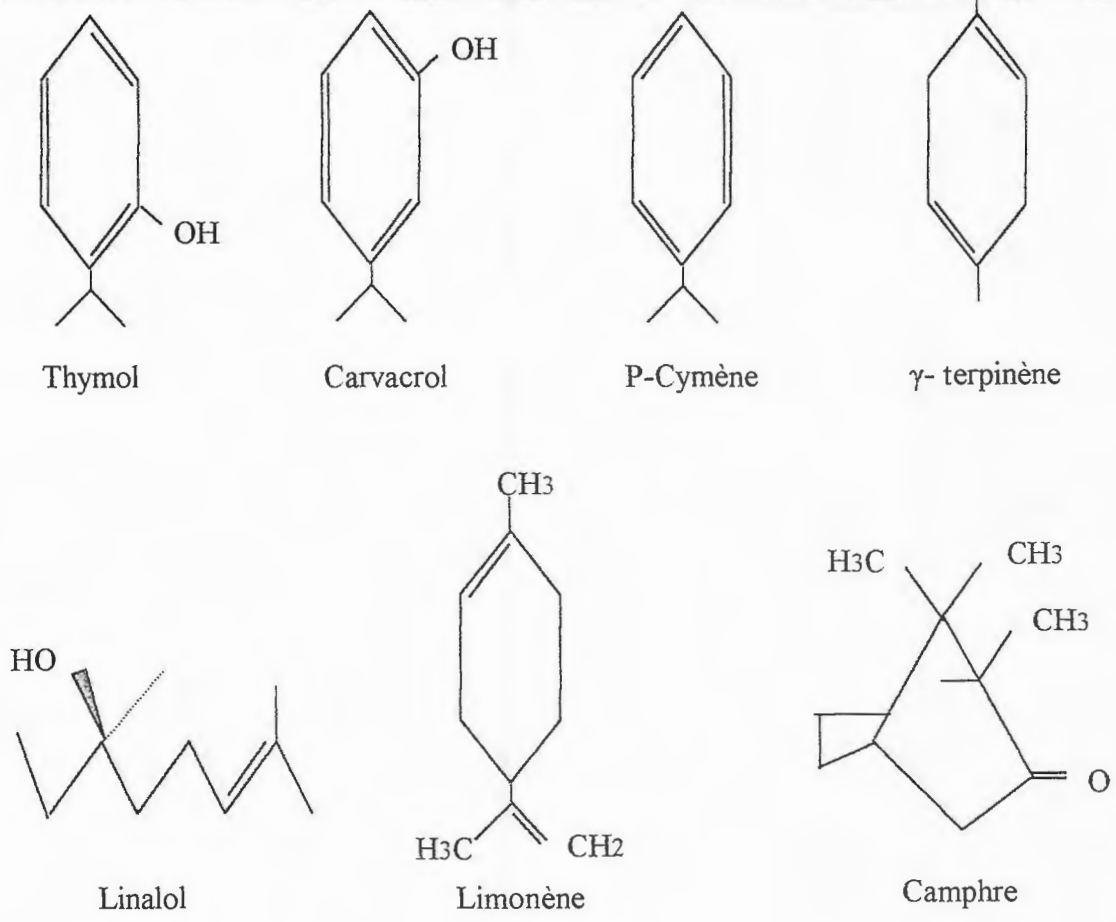


Figure 3 : les principaux constituants d'H E de *T vulgaris* [15,36,41]

On note aussi la présence d'autres constituants comme :

L'acide rosmarinique et cafeique , tanins , flavonoides (thymonine , cirsilinéol et γ-méthoxy –cirsilinéol caractéristique) , triterpènes et dérivés du biphényl d'origine monoterpénique.[41]

II-3. Propriétés des H E de *T. vulgaris.*

II-3-a. Effet antiseptique.

L'HE du *T. vulgaris* est largement utilisées comme antiseptique par l'aromathérapie. [15] L'activité antiseptique concerne surtout le thymol et le carvacrol qui agissent en détruisant la parois bactérienne. Cette activité a été démontrée vis-à-vis des bactéries Gram positif et négatif, des champignons, levures comme *Candida albicans* et même sur certains virus sans développer aucun effet mutagène. [41]

Les H E ne sont d'ailleurs pas «antibiotique», mais «eubiotique» (qui favorise la vie), car elles sont capables de s'attaquer aux germes pathogènes, tout en respectant les germes saprophytes. [37]

II-3-b. Effet spasmolytique.

Elle est le plus souvent attribuée aux phénols. En effet, Lemli et Van Dem Broucke, 1993 ont montré que si les phénols s'opposent effectivement aux contractions provoquées par l'histamine et l'acétylcholine sur l'ilion et la trachée du cobaye, leur concentration dans les préparations aqueuse de la drogue est insuffisante pour justifier leur activité.

Ces auteurs ont montré aussi que l'activité spasmolytique de ces préparations est liée à des polymétoxyflavones. Par ailleurs, ces molécules sont en partie responsables des propriétés anti-oxydantes de la drogue. [15]

II-3-c. Les effets sur l'organisme.

Les médicaments «officiels » ont le plus souvent une action spécifique alors que la plupart des HE sont capables d'exercer une action globale et positive sur tout l'organisme. En même temps elles désintoxiquent, régularisent et stimulent chaque organe.

L'aromathérapie est une médecine équilibrante et préventive de premier ordre. Les H E ont une action spécifique sur les divers organes et fonctions du corps, et quand il s'agit d'obtenir une action plus directe et plus rapide sur un organe ou sur une fonction en particulier. Les H E peuvent aider et souvent avec beaucoup d'efficacité. [2]

II-4. Emplois des H E de *T vulgaris*.

II-4-a. Usages traditionnels.

Par voie orale : traditionnellement utilisé, dans le traitement symptomatique des troubles digestifs et de la toux.

Par voie locale : pour le traitement des petites plaies, en cas de rhume, comme antalgique dans les affections de la cavité buccale et pour l'hygiène buccale. [15]

Chapitre III
Les Salmonelles

جامعة محمد الصديق بن يحيى
مكتبة الكلية
كلية علوم الطبيعة و الحياة

II-4-b. En industrie pharmaceutique.

Les extraits du thym entrent dans la formation de diverses spécialités : pommades antiseptiques et cicatrisantes, sirops pour traitement des affections des voies respiratoires, préparations par inhalation. [15]

II-4-c. En industrie agro-alimentaire.

Les HE et leurs composants, actuellement employées comme arômes alimentaires sont également connus par leurs activités antimicrobiennes et pourraient donc servir comme conservateurs alimentaires. De plus elles sont pour la plupart classées « généralement comme saines » et approuvées comme additifs alimentaires par la Food and Drug Administration (FDA, USA). [2]

Elles n'ont, par conséquent pas besoin d'autorisation d'emploi dans les aliments, mais des études préalables sont nécessaires pour mieux cerner leur activité antimicrobienne. [34]

II-4-d. En cosmétique.

Elles sont utilisées par fumigation (bain de vapeur pour le visage). Le thym frais ou séché nettoie la peau du visage, agit contre les inflammations et les impuretés cutanées, purifié les pores et régularise les fonctions des glandes sébacées. [2]

En parfumerie : L'essence de *T vulgaris* entre dans la composition de nombreux parfums, tant pour hommes que pour femmes. [2]

II-4-e. Dans la lute biologique.

Parmis les HE qui ont une activité insecticide ceux du *T vulgaris*. Cette activité est due à la présence de monoterpènes phénoliques (thymol, carvacrol). [26]

III-1. Les Entérobactéries.

III-1-1. Définition :

La famille des Enterobacteriaceae est la plus grande famille de la section 5 du Bergey's manuel. [29]

Elle est constituée de genres bactériens qui sont rassemblés en raison de leurs caractères bactériologiques communs :

- Ce sont des bacilles à Gram négatif.
- Cultivent bien sur milieux ordinaires à p H neutre et à T°=37°C.
- Cultivent en aérobiose et en anaérobiose.
- Utilisent le glucose par métabolisme fermentatif avec ou sans production de gaz.
- Réduisent les nitrates en nitrites.
- Mobiles par une ciliature péritriche (sauf pour *Tatumella*) ou immobiles.
- Ont une réaction oxydase négative, catalase positive (sauf *Shigella dysenteriae* sérotype 1) [10, 24, 29]

III-1-2. Systématique.

La famille des Entérobactériaceae 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- Yersiniae : Yersinia, Edwardsiella. [29]

III- 2. Tribu des Salmonelles.

III- 2-1. Définition.

Les bactéries du genre *Salmonella* appartiennent à la famille des Entérobacteriaceae.

Ce sont des bacilles de 0,7-1,5 µm x 2-5 µm à Gram négatif anaérobies facultatifs, habituellement mobiles grâce à une ciliature péritriche, mais des mutants immobiles peuvent exister et (*Salmonella gallinarum –pullorum*) est toujours immobiles. [14]

Les salmonelles cultivent bien sur les milieux ordinaires et donnent des colonies de 2-3 mm de diamètre en 18-20 heures, sauf pour certains serotypes (*Salmonella abortusovis, Salmonella abortursequi, Salmonella typhisuis*) qui donnent toujours des colonies naines [34, 12,14]

III-2-2. Habitat et épidémiologie.

Les Salmonelles sont des germes cosmopolites. De nombreux animaux à sang chaud et à sang froid sont susceptibles d'héberger de multiplier et de disséminer ces bactéries.

La très grande majorité des salmonelles présentes dans l'environnement (eaux d'égout en particulier) ou dans les aliments destinés à l'homme proviennent d'une contamination fécale.

Actuellement on dénombre plus de 2213 serotypeses de Salmonella, néanmoins on parle souvent de serotypes 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 quelque 600000 décès chaque années sont causées par ces bactéries. [13]

En France, 779 foyers de salmonelloses (appelées mineures) responsables d'intoxication alimentaire ou d'infection septicémique de type opportuniste) ont été identifiés en 1999. Alors qu'au Etats-Unis, plus de 40000 cas sont répertoriés chaque année et 80 personnes en sont mortes entre 1985 et 1995 [13]

III- 2-3. Caractères bactériologiques.

III -2-3-a. Caractères culturaux.

Les salmonelles cultivent bien sur milieux ordinaries en 24 heures à 37°C et à PH=7 [28, 23,34].

- **sur gélose .**

Les colonies du genre *Salmonella* sont lactose négatif avec au sans centre noir. Elles sont lisses de type smooth (s) à bord réguliers, mesurant de 2 à 3 mm après 24 heures d'incubation à 37°c. Il est beaucoup plus rare d'observer des colonies naines (*Salmonella abortusovis, Salmonella typhisuis*) des colonies rugueuses (R) ou encore des colonies muqueuses ressemblant à celles de *Klebsiella* [12].

- **En bouillon.** Le trouble est homogène. [34]

III-2-3-b. Caractères biochimiques.

Les salmonelles présentent les caractères de la famille des Enterobacteriaceae (décrites plus haut).

Les principaux caractères qui permettent l'identification biochimique du genre *Salmonella* sont:

- L'absence d'uréase et de tryptophane désaminase.
- L'absence de production d'indole et d'acétoine (test vp).
- L'absence de fermentation du lactose.
- La production d'H2S à partir du thiosulfate (présence d'une thiosulfate réductase).
- La pousse fréquente sur le milieu au citrate de simmons. [40].

III-2-3-c. Caractères antigéniques.

Comme toutes les Entérobactéries, les salmonelles peuvent posséder 3 types d'antigènes présentant un intérêt diagnostique. [40].

- **Les antigènes somatiques.**

Se sont des antigènes O constitutif de la paroi bactérienne de nature lipopolysaccharidique (L.P.S), ils représentent l'endotoxine des salmonelles. Ils sont thermo et alcoolostables.

Ils sont constitués de plusieurs éléments, le lipide A responsable des effets toxiques, le "core" ou partie basale et le polysaccharide support de la spécificité antigénique [34, 14].

Il existe des variations d'antigènes dont la plus importante est la variation S → R (Smoot → Rough). Elle s'accompagne de la modification des caractères morphologiques des colonies et de la perte de l'aglutinabilité O [22,14].

- **L'antigène d'enveloppe.**

L'antigène Vi. est un polysaccharide capsulaire (antigène de virulence). Il masque l'agglutination O, qui peut être révélée après chauffage de 10 min à 100°C ou d'1 heure à 60°C.

Il est fréquent chez *Salmonella typhi*, rare chez *Salmonella paratyphi* C et exceptionnel chez *Salmonella dublin*. [14].

- **L'antigène flagellaire.**

L'antigène H est constitué d'une protéine, la flagelline qui présent une composition des acides aminés constante pour un type antigénique donné, suivant les sérotypes. Celui-ci est mono ou diphasique (phase1 et phase 2).

La majorité des salmonelles sont diphasiques, cependant un certain nombre se révèle monophasique, une des deux phases peut manquer. La phase 1 est indiquée par des lettres et la phase 2 par des chiffres arabes [34,14].

Il n'existe pas chez (*Salmonella gallinarum pullorum*), résistant au formol 0,5% et thermolabiles [10]

III-2-4. Caractères distinctifs.

III-2-4-a. Les biotypes- les lysotypes.

A l'intérieur d'un sérotype, on peut distinguer des biotypes par la présence des caractères biochimiques secondaires ne remettant pas en cause l'appartenance au genre *Salmonella.*

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

Ces éléments de l'information revêtent une grande importance en épidémiologie [10,22].

III-2-4-b. Profil plasmidique.

La présence plasmidique est un phénomène évolutif (perte ou acquisition), il se révèle possible de recourir à l'étude des plasmides pour établir l'origine commune de certaines souches. [35].

Les déterminants pasmidiques 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. [24].

III-2-4-c. sensibilité aux antibiotiques.

Les salmonelles sont souvent sensibles aux antibiotiques in vitro. En France, *S typhi* et *S paratyphi* sont habituellement sensibles au chloramphénicol, à l'ampicilline et au triméthoprime sulfaméthoxazole. Mais des souches résistantes sont parfois signalées [34, 9,12].

Les sérotypes résistants aux antibiotiques sont responsables d'épidémies de gastro-entérites infantiles. [12,9]

III-2-4-d. Toxines.

Les salmonelles possèdent des toxines (endotoxines) qui sont des substances de nature complexe de PM de 2033 D. [16]

Ces toxines sont géneralement responsables des toxi-infections alimentaire. [11

III-2-5. Le pouvoir pathogène et pathogénie.

Les salmonelles font parties des bactéries entéropathogénes invasives à multiplication intercellulaire. Après adhésion à la muqueuse intestinale et destruction de la bordure en brosse des anthérocytes, les bactéries pénètrent dans la cellule par invagination de la membrane en causant des lésions ulcératives.

Le pouvoir pathogène des salmonelles est extrêmement variable en fonction de multiples facteurs [17,3]

III-2-6. Mode de contamination par les salmonelles.

III-2-6-a. Contamination horizontale .

L'homme ou les animaux se contaminent principalement par voie orale: contact avec un home ou un animal infecté, ingestion d'aliments contaminés.

La voie aérienne est également efficace, en particulier dans l'élevages intensifs confinés.

L'ingestion des salmonelles ayant proliféré dans un aliment (dans le cas de l'homme) ou présente à la suite des contamination fécales des auges ou de l'eau de boisson en élevage (cas des animaux), peut entraîner une pathologie variable selon les souches et la sensibilité des individus [40]

III-2-6-b. Contamination verticale .

Il a été signalé les possibilité d'isoler les salmonelles à partir des œufs d'oiseaux contaminés. Alors, la transmission des germes par voie transplacentaire est possible [34].

La relative complexité du schéma présenté (fig N° 4) permet de mesurer la densité des modes de contamination et de dissémination des salmonelles.

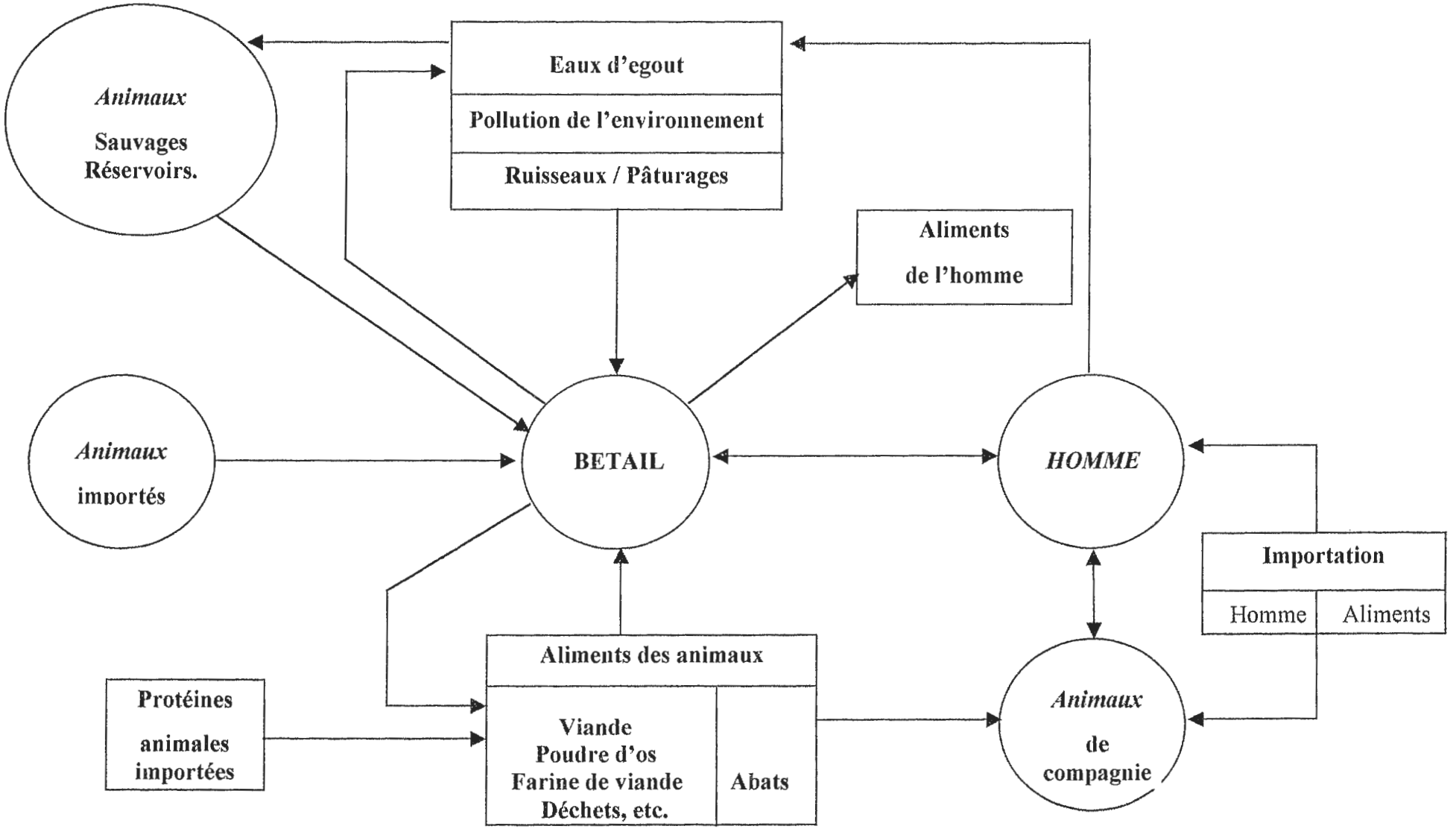


Figure 4 : Réservoirs et circulations des Salmonelles entre l'homme, les animaux et l'environnement. [40]

Deuxième partie
Etude expérimentale

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes :

Notre travail a été réalisé dans le laboratoire de microbiologie de l'institut des sciences de la nature de l'université de Jijel.

I-1. Matériel :

I-1-1. Matériel bactériologique :

Les souches utilisées proviennent des laboratoires d'analyse vétérinaire de Mostaganem.

I-1-2. Matériel végétal :

Les différents types d'HE utilisées ont été préparés par hydrodistillation, au niveau de l'université de Tlemcen, à partir de la plante de *T.vulgaris* (feuilles et tiges)

Les plantes ont pour origine la région de Bachaar et elles étaient récoltés à partir de cinq places différentes.

I-1-3. Les milieux de culture :

Les milieux de culture utilisés (leurs composition : voir annexe) sont les suivants

- La gélose Héktoen : Pour l'isolement et la purification des souches de *Salmonella.*
- La gélose Muller Hinton : Pour tester l'effet des HE du *T.vulgaris* sur les Salmonelles.
- Bouillon nutritif : Pour la revivification des souches.
- Eau physiologique : Pour la préparation de l'inoculum.
- Milieu TSI.
- Milieu mannitol mobilité.
- Milieu Clark et Lubs.
- Milieu Citrate de Simmons.
- Milieu urée-indole.
- Milieu Moeller additionné de : - Argenine
  - Ornitine
  - Lysine

} Pour l'identification biochimique des souches

I-1-4. Les réactifs :

- Violet de gentiane
- Lugol
- Fushine
- Huile de cèdre

} Pour la réalisation de la coloration de Gram.

- VP I
- VP II

} Pour mettre en évidence l'acétoine.

- Kovacs : Pour mettre en évidence la présence d'indole.
- L'huile de vaseline stérile : Pour favoriser l'anaerobiose.

I-1-5. Autre matériel :

Parmi le matériel utilisé on note :

- L'étuve de marque « Binder » pour l'incubation des cultures.
- Le microscope optique de marque « Olympus » pour l'observation de la coloration de Gram
- Les micropipettes : - 1000 µl de marque « Nichipet EX »
  - 25 µl de marque « Fortuna »

  } Pour l'application des dilutions d'HE dans les puits

II- Méthodes :

II-1. Méthode de l'étude bactériologique :

II-1-1. Revivification des souches:

A partir de chaque tube prévenant des laboratoires d'analyse veterinaries (gélose de conservation), on prélève une oêse de culture, et on la dépose dans un tube contennant le bouillon multritif.

On incube les tubes à 37°C pendant 24 heures.

II-1-2. Isolement des colonies:

L'isolement des colonies de *Salmonella* s'effectue sur un milieu sélectif "gélose Hektoêne".

La méthode d'isolement consiste à tremper une anse dans la culture dans le B N et de la décharger au bord de la boite de pétri.

L'isolement se fait par épuisement en quatre quartiers (fig N° 5)

II-1-3. Purification des souches:

On prend une colonie suspecte de *Salmonella* (Lactose négatif avec ou sans centre noir) à partir du milieu d'isolement et on la dépose sur le bord de la boite de pétri contenant le milieu Héktoen.

L'encemensement se fait par des stries perpendiculaires du haut en bas.

II-1-4. Identification des souches utilisées:

II-1-4-1. Identification morphologique:

- **Coloration de Gram.**

➢ **Technique :**

- Préparer un frotis sur une lame
- Sécher et fixer à la chaleur
- Recouvrir le frotis avec la solution de violet de gentiane. Laisser agir 1minute.
- Recouvrir la lame avec la solution du lugol. Laisser agir 1 minute
- Rincer à l'eau.
- Décolorer le frottis par l'alcool- acétone.
- Laver à l'eau.
-Recolorer par une solotion du Fushine. Laisser agir 30 secondes.
- Laver à l'eau.
- Sécher la préparation entre deux feuilles de papier filtre. Examiner à l'emmersion (x 100)

➢ **Lecture :**

Les bactéries à Gram positif : sont colorées en violet.

Les bactéries à Gram négatif : sont colorées en rose.

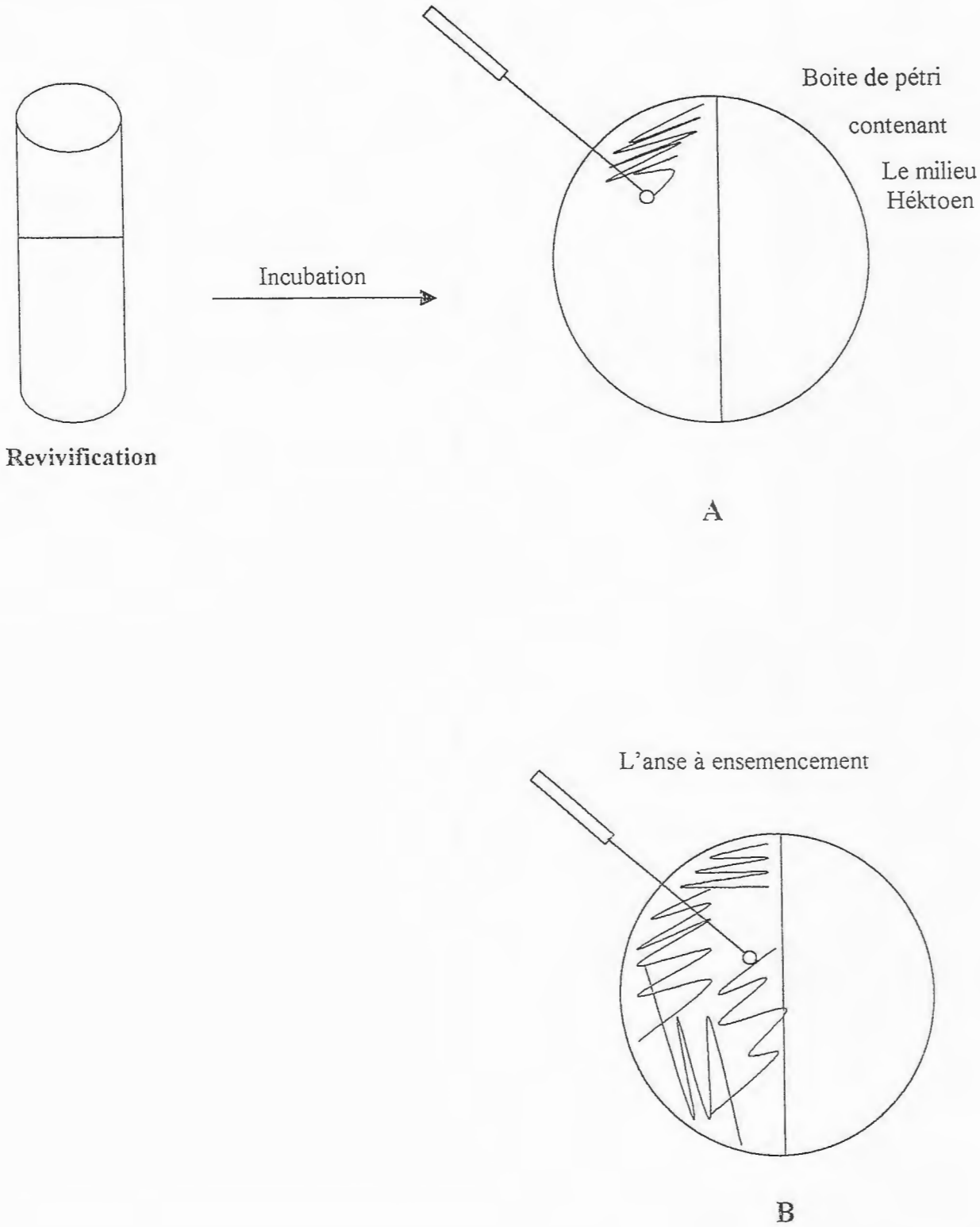


Figure 5: Méthode d'isolement des Salmonelles par épuisement en quatre quartiers (A.B)

II-1-4-2. Identification biochimique :

Les tests biochimiques sont indispensables à l'identification d'une bactérie.

Ils reposent principalement sur la recherche d'enzymes responsables du métabolisme bactérien.

Parmi les tests d'identification biochimique des Salmonelles, nous avons réalisé les tests suivants :

II-1-4-2-1. Métabolisme glucidique :

One- Attaque du mannitol:

- **Principe :**

Le mannitol est un produit de la réduction du D-mannose.

La dégradation du D-mannose conduit à la production des acides à chaîne très courtes, comme acide acetique et acide formique.

Le milieu mannitol mobilité permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol, et la mobilité bactérienne.

- **Technique.**

Le milieu est ensemencé par piqûre centrale avec une anse de platine à partir d'une culture pure agée de 24 heures puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture.**

La dégradation du mannitol se traduit par virage du rouge phénol au jaune (milieu acide).

La mobilité bactérienne se traduit dans ce milieu par l'apparition d'un développement bactérien sous forme de nuage de la piqûre centrale.

Two- La fermentation des sucres en milieu TSI (Lactose, Saccharose, Glucose, H2S).

Principe :

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

- **Technique.**

La pente du milieu est ensemencé par des stries et le culot par piqûre centrale puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture.**

- L'utilisation des sucres fait virer le milieu du rouge au jaune.
- Le sulfure d'hydrogène (H2S) est formé à partir des acides aminés soufrés.
- La présence d'hyposulfite de sodium et du sulfate ferreux ammoniacal entraîne la formation de sulfure de fer, qui est un composé de couleur noir.
- Glucose fermenté: le culot est jaune, s'il ne l'est pas le culot reste rouge.
- Le lactose est fermenté, la pente est jaune, s'il ne l'est pas la pente est rouge.
- S'il ya formation de bulles de gaz le glucose est fermenté avec production de gaz.
- S'il ya production de H2S, la pente et le culot sont noires

II-1-4-2-2. Recherche des produts résultant de la fermentation du glucose :

a- Réaction du rouge de méthyle (RM) :

- **Principe :**

Cette réaction permet de mettre en évidence les bactéries protoproductrices d'acides organiques à courtes chaînes (acide acétique, acide fomarique , acide acétique).

Ces acides organiques maintiennent le pHde la culture à degré suffisamment bas pour que le rouge de méthyle garde sa coloration rouge.

➢ **Tecnique :**

Prélever 1 ml d'une culture pure agée de 24 heures sur milieu Clark et Lubs puis ajouter 02 à 03 gouttes de rouge de méthyle

➢ **Lecture.**

La couleur reste rouge: pH < 4,5 → RM (+)

La couleur devienne jaune: pH > 6 → RM (-)

b-Réaction de vogse-proskauer:

➢ **Principe :**

Elle permet la mise en évidence de la production d'acétyle méthyle carbinol ou acétoine à partir de la déccarboxylation du pyruvate.

➢ **Technique :**

Prélever 1 ml de culture sur milieu Clark et Lubs, le mettre dans un tube, ajouter 0,5 ml de solution d'α maphtol à 6% dans l'alcool (VPI), 0,5 ml d'une solution de potasse à 15% d'eau distillée (VPII), on agite et on laisse agir 10 à 15 minutes

➢ **Lecture :**

La production de l'actéoine se traduit par l'apparition d'une coloration rouge

II-1-4-2-3. Etude du métabolisme des acides organiques :

- **Utilisation du citrate de simmons :**

➢ **Principe :**

Le principe est de tester la présence du citrate perméase dans les bactéries, qui permet d'utiliser le citrate comme source de carbonne.

La libèration des ions ammoniums (NH4+) qui proviennent de l'utilisation des sels

d'ammoniums alcalinise le milieu et entraine ainsi le virage l'indicateur coloré (bleu de bromothymol).

- **Technique:**

Le milieu de simmons au citrate est ensemencé, à partir de la culture pure agée de 24 heures, en surface par stries longitudinales et incubé à 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture.**

L'utilisation du citrate se traduit par un développement bactérien accompagné d'un virage de l'indicateur coloré du vert au bleu.

II-1-4-2-4. Métabolisme protéique:

a- Recherche d'une uréase :

L'hydrolyse de l'urée en dioxyde de carbone et d'ammoniac par l'uréase. est un élément important de diagnostic des germes qui utilisent l'urée comme source d'enrgie. L'ammoniac produit sous forme NH4OH soluble dans l'eau alcalinise le milieu de culture.

- **Technique:**

1 ml de milieu urée-indole est ensemencé, à partire de culture pure agée de 24 heures, par l'anse et incubé à 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture.**

La présence d'urease se traduit par le virage de l'indicateur au rouge.

b- Recherche d'indole:

- **Principe :**

Certaines bactéries dégradent le tryptophane en indole acetique, seules les bacteries indologénes permettent cette dégradation jusqu'à la formation d'indole.

➢ **Technique:**

Un tube de 1 ml d'urée est ensemencé par le germe étudie et incubé à 37°C pendant 24 heures.

➢ **Lecture:**

La présence de l'indole se traduit par la formation d'un anneau rouge, en présence de réactif de Kovacs-Ehrliche, à la surface de milieu.

II-1-4-2-5. Métabolisme des acides aminés:

- **Recherche de la lysine décarboxylase (LDC).**
- **Recherche de l'ornithine decarboxylase (ODC)**
- **Recherche de l'argénine déhydrolase (ADH).**

➢ **Principe :**

Ces enzymes forment à partir des acides aminés des substances alcalines (cadavérine, putrecine) qui font virer l'indicateur de pH

Dans un premier temps les bactéries fermentent le clucose contenu dans le milieu de Moeller qui devient acide (virage au jaune).

Les décarboxylases présentent une activité maximale à pH acide et lorsque les bactéries possèdent ces enzymes les métabolites aminés formés à partir de la décarboxylation de ces acides aminées alcalinisent le milieu et font virer l'indicateur de pH

➢ **Technique:**

Ensemencer 1ml des milieux Moeller enrichi de la lysine, de l'argénine et de l'ornithine par une culture pure du germe étudié puis recouvrir par l''huile de vaseline.

Incuber à 37°C pendant 24 heures.

➢ **Lecture :**

L'apparition de la couleur violette témoigne l'existence de l'argénine déhydrolase, ornithine décarboxylase et de la lysine décarboxylase.

II-1-4-3. Caractérisation antigénique.

- **Agglutination avec les anti-sérums polyvalents (OMA, OMB).**

L'anti-sérum polyvalent "OMA" possède les anticorps correspendant aux groupes A, B, D, E, et L, pour lesquels les facteurs O caractéristique de groupe sont respectivement: O2 ,O4 O9 , O3 , O21.

"OMB" agglutine les groupes: C, F, G, H.

➢ **Technique.**

Sur une lame propre, on met une goutte de sérum agglutinant anti-Salmonella (OMA, OMB) puis on met directement en suspension dans cette goutte la culture prélevée de la gélose ensemencée et on la delaye .

➢ **Lecture.**

Signe positif: agglutination de suspension.

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المكتبة المركزية
جامعة جيجل

II-2. Méthode de détermination de la CMI:

II-2-1. Définition de la concentration minimale inhibitrice:

Le parameter le plus souvent utilisé pour évaluer l'effet d'une substance anti-microbienne est sans doute la concentration minimale inhibitrice ou CMI.. Cette concentration correspond à la concentration minimale de la substance anti-microbienne qui inhibe la croissance visible du germe. Cette valeur correspond à une notion macroscopique, d'où une lecture' très simple

à un germe particulier.

On ne saurait donc parler d'une seule CMI pour une substance antimicrobienne mais de toute une série de CMI selon un panel de germes testés, choisis parmi les plus représentatifs. La CMI est un paramètre de l'effet bacteriostatique de la substance antimicrobienne, puisque l'effet analysé concerne la croissance.

Cet aspect n'est pas trop limitatif en biologie clinique puisque, à l'exception des cas sévères, un effet bacteriostatique de la substance antimicrobienne suffit. Une substance antimicrobienne est d'autant plus intéressante que sa CMI est basse. [18].

II-2-2. Technique de diffusion sur gélose :

II-2-2-1. Préparation du milieu de culture:

On coule la gélose Muller-Hinton en boites de pétri sur une épaisseur de 4 mm et on laisse refroidir.

Avant l'utilisation des géloses, on doit les sécher 15 min à 37°C (dans l'étuve).

II-2-2-2. Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture pure de *Salmonella* sur bouillon nutritif, on dilue à l'aide d'une anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

Bien homogéneiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MC Farland. Ou à une D.O de (0,08 à 0,10) à 625 nm.

II-2-2-3. Ensemencement par inondation :

On inonde la surface de la gélose par la suspension bactérienne de façon à recouvrir cette dernière , des mouvements de rotation dans les deux axes par la main accélèrent le recouvrement.

A l'aide d'une pipette pasteur, on aspire la totalité du liquide.

Les boites ainsi ensemencées sont mises à sécher 15 minutes à 37°C.

II-2-2-4. Confection des puits :

On confectionne six puits dans chaque boite de pétri déjà ensemencée puis on depose une goutte de la gélose stérile au fond de chaque puits pour boucher la base de ces derniers.(fig N° 6)

II-2-2-5. Préparation des dilutions :

La préparation des dilutions de l' HE de *T vulgaris* est réalisée dans l'huile de vaseline [1] comme il est indiqué au tableau IV

Tableau IV : Préparation des dilutions de l' HE de *T vulgaris* dans l'huile de vaseline

Cencentration	Volume du diluant (µl)	Volume de l' HE (µl)	Volume total (µl)	Concentration (µl / ml)	Numération des puits
1/5	480	120	600	200	1
1/10	540	60	600	100	2
1/15	560	40	600	66	3
1/20	570	30	600	50	4
1/25	600	25	625	40	5
1/30	580	20	600	33,33	6
0	600	0	600	0	T

II-2-2-6. Application des dilutions .

A partir de chaque dilution, on prend 25µl et on la dépose dans le puit correspondant (fig N° 6) et on prépare un témoin qui ne contient que de l'huile de vaseline dans un puit (Fig N° 7)

On laisse les boites, contenant l'huile, à température ambiante pendant 2 heures, puis on incube à 37°C Pendant 24 heures.

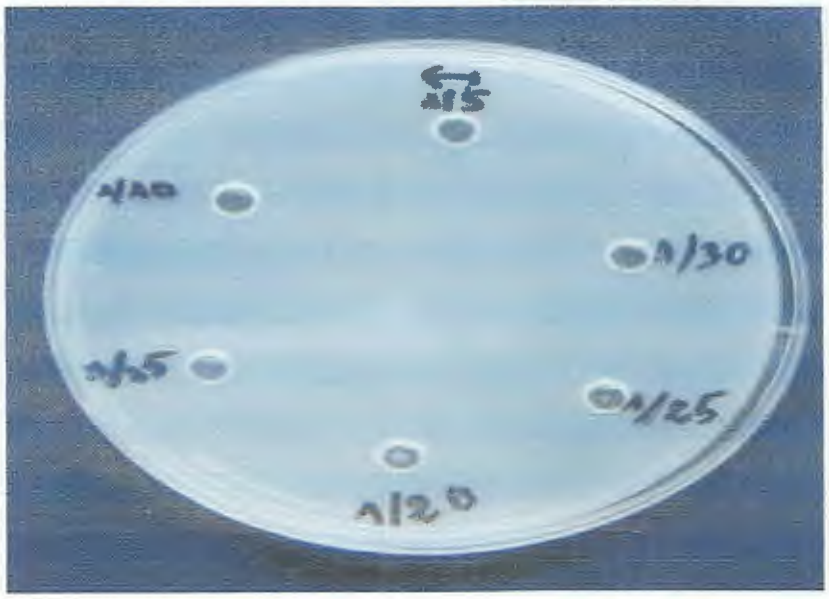


Figure 6: la position des puits et les différentes dilutions

Figure 7: Témoin (l'effet de l'huile de vaseline)

Résultats et discussion

III. Résultats de l'étude microbienne :

III-1-1. Isolement des souches :

La culture des souches fournis sur le milieu Hektoen a donnée des colonies de petite taille, de couleur bleu vert, par fois punctiformes.et lactose négatif (fig N° 8)

III-1-2. Identification des souches :

Nous avons isolé 20 souches bactériennes. L'identification a été faite par l'étude des caractères morphologiques et des profils biochimique et antigénique des souches.

III-1-2-1. Caractéristiques morphologiques :

- **La coloration de Gram :**

Les souches fournis ont toutes une morphologie coccobacilaire, Gram (-) isolées ou associées en paire, rarement en chaînette plus ou moins courtes ou amas.

III-1-2-2. Profil biochimique :

La plus part des souches utilisées ont le même profil biochimique, certaine d'entre elles possèdent un ou deux caractères différents. (tab N°V) (fig N°9)

I11-1-2-3. Profil antigénique :

L'agglutination par le sérum O « mélange » (OMA, OMB) a montrée qu'une partie des souches est OMA+ et une autre partie OMB+ .

- **Conclusion partielle :**

L'étude bactériologique des différentes souches nous a permis d'isoler et d'identifier 10 souches de *Salmonella spp*

Tableau V : Profils biochimiques et antigéniques des souches bactériennes isolées

Souches	ADH	ODC	LDC	TSI					Monitol mobilite		Cit	Urée indol		RM	VP	OMA	OMB
				Glu	Lac	Sac	Gaz	H_2S	Man	Mob		Urée	Ind				
S1	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+
S2	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-
S3	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+
S4	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-
S5	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-
S7	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-
S8	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-
S9	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-
S10	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-
S12	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-

(+) : réaction positive **(-) : réaction négative**

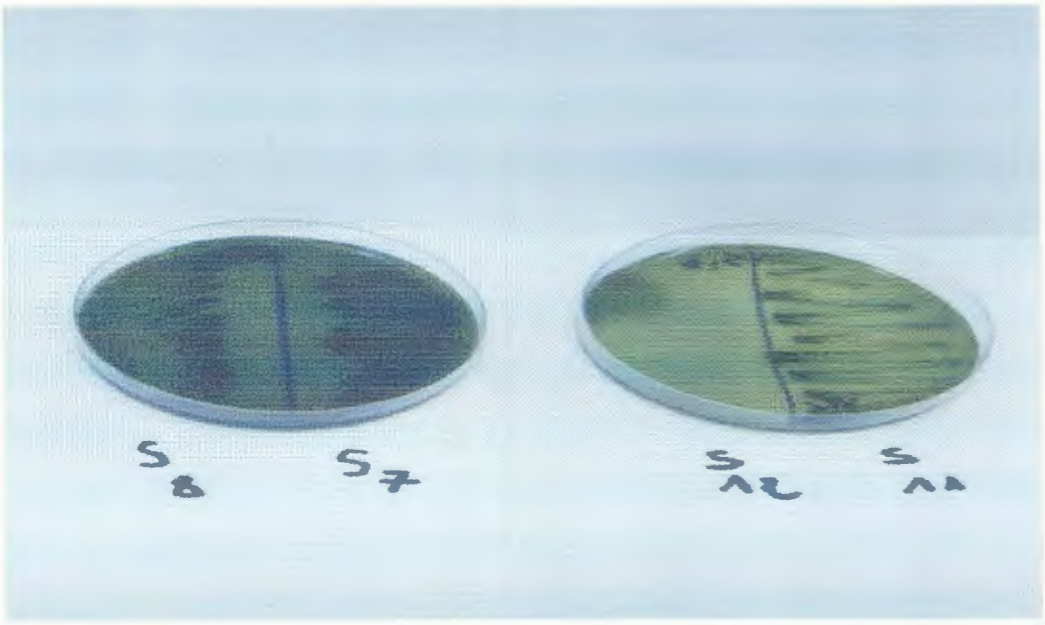


Figure 8 : Aspect des colonies de *salmonella* sur le millieu Hektoen après 24 h à 37°C (purification)

Figure 9 : Résultats de différents testes biochimiques (galerie biochimique)

III-2. La détermination de la CMI :

Les résultats obtenus montrent que les dix souches de *Salmonella* sont sensibles vis à vis des cinq extraits d'H E de T vulgaris. (fig N° 10)

Les diamètres des zones d'inhibition (Tbl N°IX, X, XI, XII , XIII) au tours des puits sont proportionnelles aux différentes concentrations d'H E utilisées (voir annexe).

Par convention nous avons choisi un diamètre supérieur ou égale à 12mm comme étant un résultat positif.

Tableau VI: Le pourcentage des souches donnant des CMI à des dilutionsdifférentes

Dilution / Huiles	D1= 1/5	D2= 1/10	D3=1/15	D4=1/20	D5=1/25	D6=1/30
H E1	0%	10	0	20	60	10
H E2	0	0	0	30	20	50
H E3	0	100	0	0	0	0
H E4	0	0	0	0	30	70
H E 5	0	0	0	0	70	30

Les résultats de la détermination de la CMI des cinq extraits d'HE de T vulgaris étudiés ont révélé que cette dernière se situe généralement vers la cinquième dilution [D5=1/25] pour la majorité des HE (Tbl N° VI, Fig N° 11).

Par ailleurs, pour l'HE3 LA CMI de la totalité des souches est à la dilution D2=1/10 et pour l'HE4 elle se situe à D6=1/30.

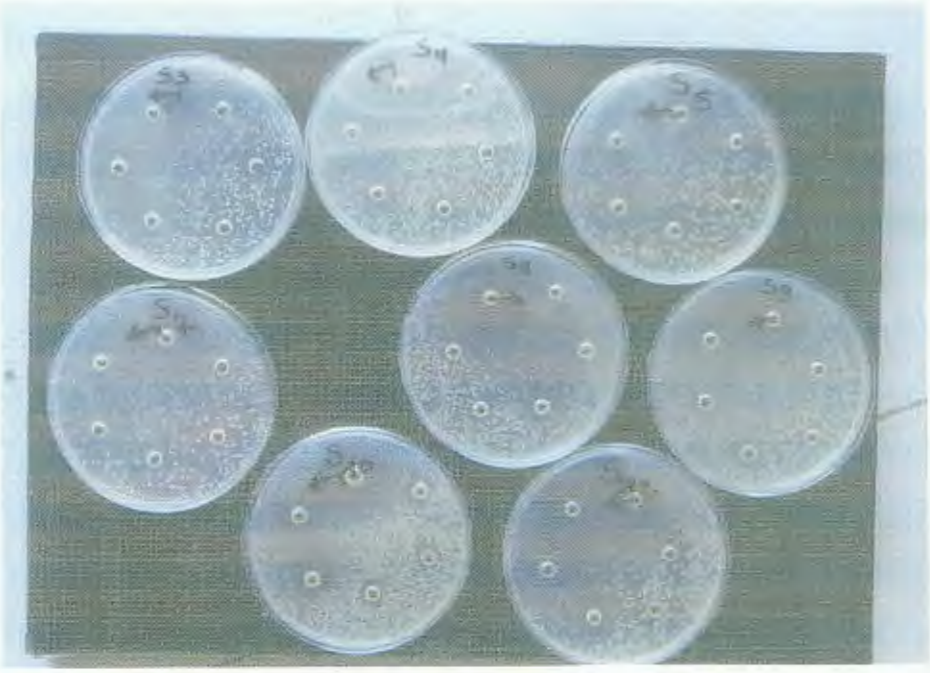


Figure10

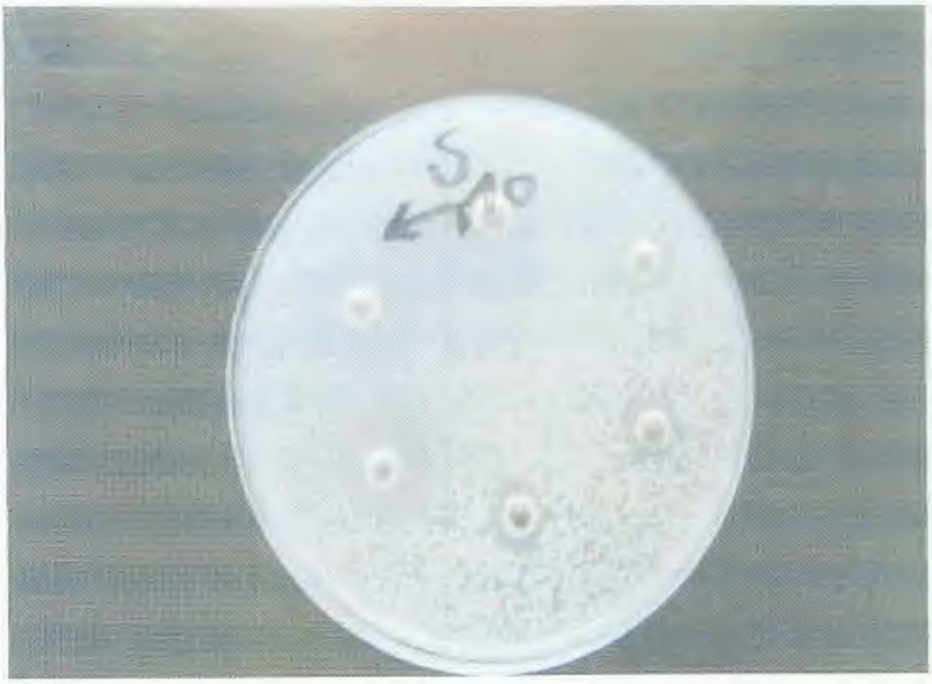
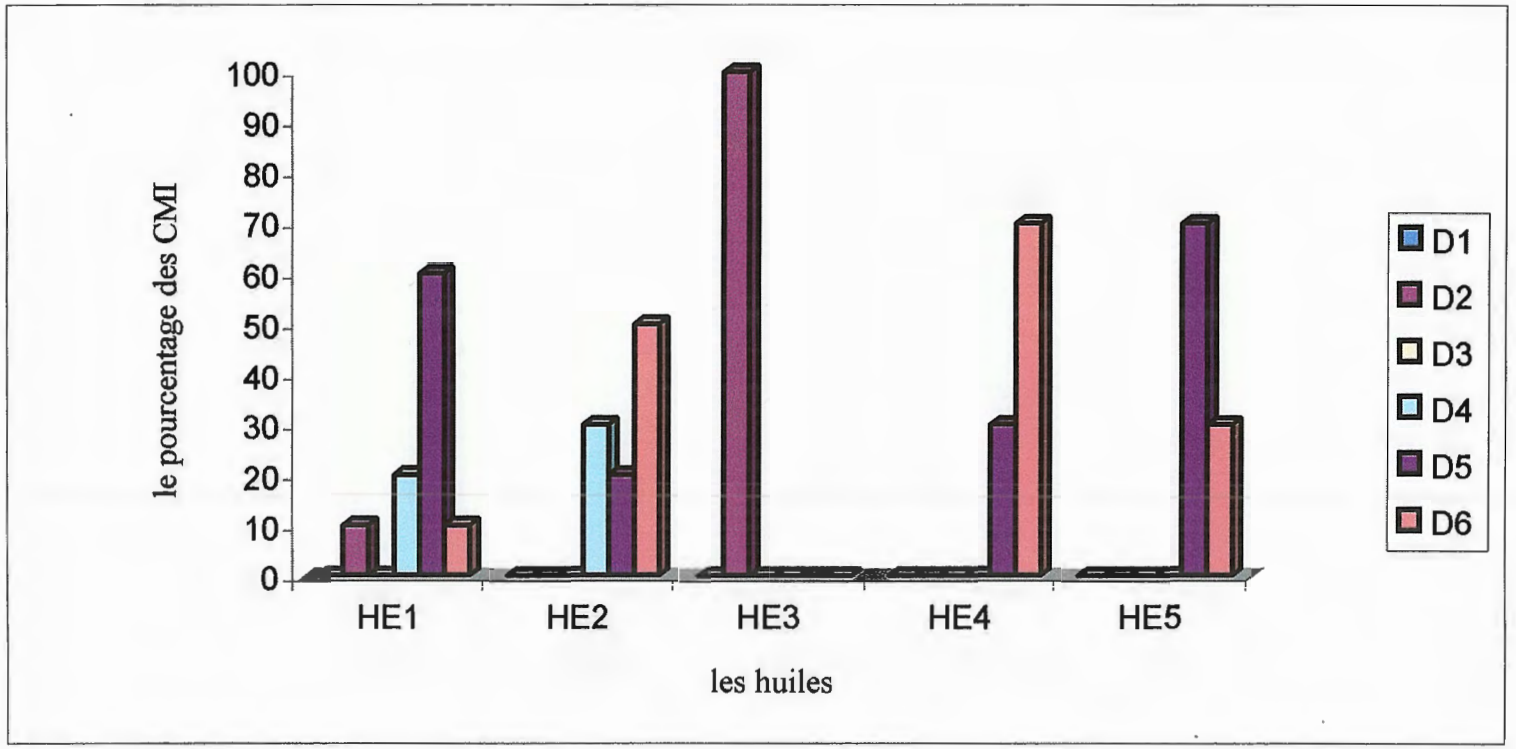


Figure10 et fig 11 : Résultats de la sensibilité des Salmonelles aux différentes dilution d'HE de *T vulgaris.*



<u>Figure 12</u> : le pourcentage des souches donnant des CMI à des doses différentes

Tableau VII : Effet des 6 dilutions des 5 extraits sur les dix souches de *Salmonella*

	Diamètres des zones d'inhibition (mm)						
dilutions / souches	**1/5**	**1/10**	**1/15**	**1/20**	**1/25**	**1/30**	**SS**
S1	28 ,2	17,8	14,4	11,8	7,8	4,4	**
S2	26,2	15,2	12,6	10,6	5,4	3,8	
S3	28,2	18	14,6	11,6	9	6,2	
S4	28	15,4	12,2	10,8	9,2	6,4	
S5	28,4	18	14,2	11,4	9,4	5,6	
S7	27,4	17	11,6	10,2	8,4	5,2	
S8	28,5	19,6	16	11,6	9	6,4	
S9	29,5	20,2	12,6	11,2	9,4	6,4	
S10	27	16,2	12,4	10	8,6	7,6	
S12	28,8	19,6	15	12	9,6	4	
SS	**						

** : hautement significative

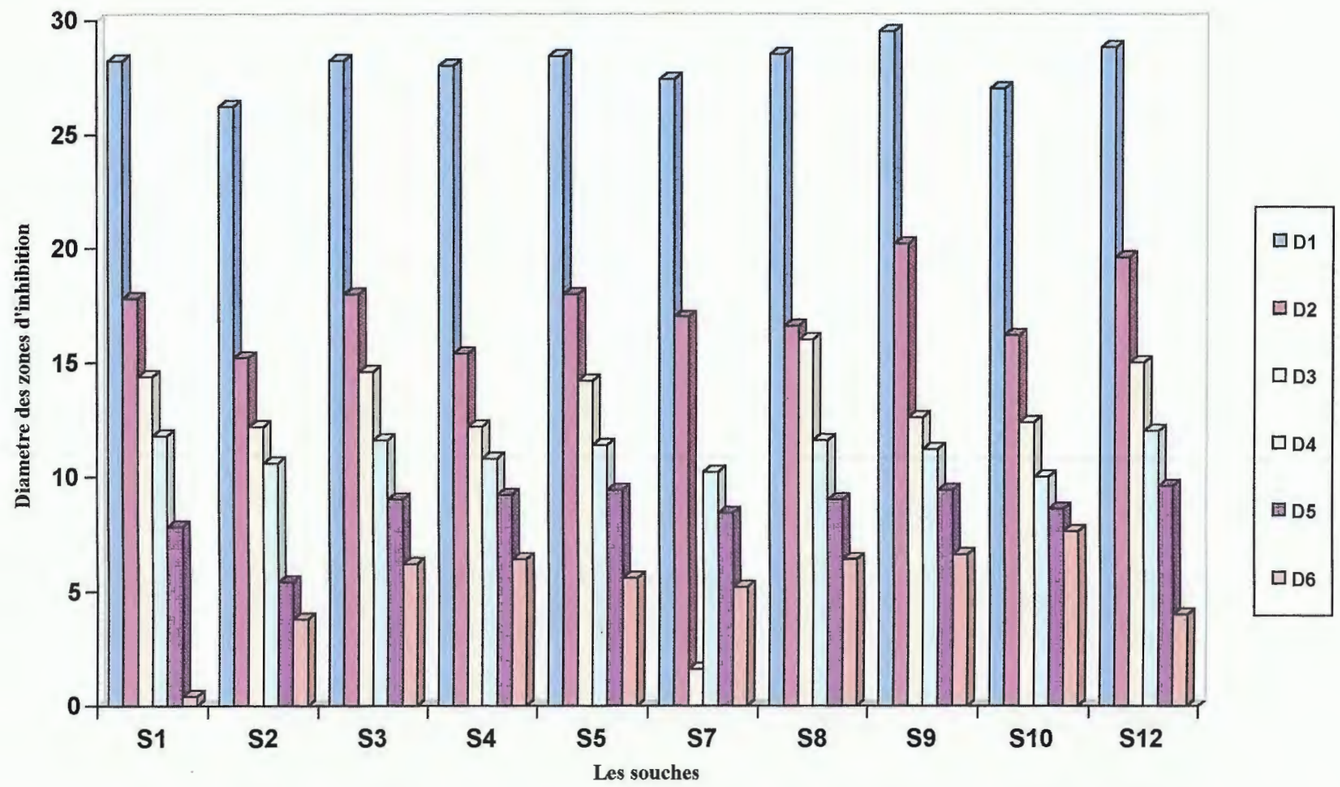


Figure13: Effet des 6 dilutions de 5 types d'HE de T.vulgaris sur les 10 souches de salmonella

Tableau VIII: Effet des 5 extraits d'HE de T vulgaris sur les dix souches de *Salmonella*

	Moyenne des diamètres des zones d'inhibition (mm)					
HE / Souche	**HE1**	**HE2**	**HE3**	**HE4**	**HE5**	**SS**
S1	12 ,33	18 ,83	4 ,16	17	19,5	
S2	9,66	16,66	3,5	14,66	16	
S3	17,66	21	4	18,83	15	
S4	13,66	14,33	4,5	19,83	16	
S5	16	16	4,5	18	18,33	**
S7	16,5	14,5	3,33	16,33	16,66	
S8	19.16	12,16	4	22	18,66	
S9	19,66	14,16	4,16	20,5	18,5	
S10	15,16	13,83	4,83	15,83	18,5	
S12	19,5	15,83	4	15,66	19,16	
SS	**					

** : hautement significative

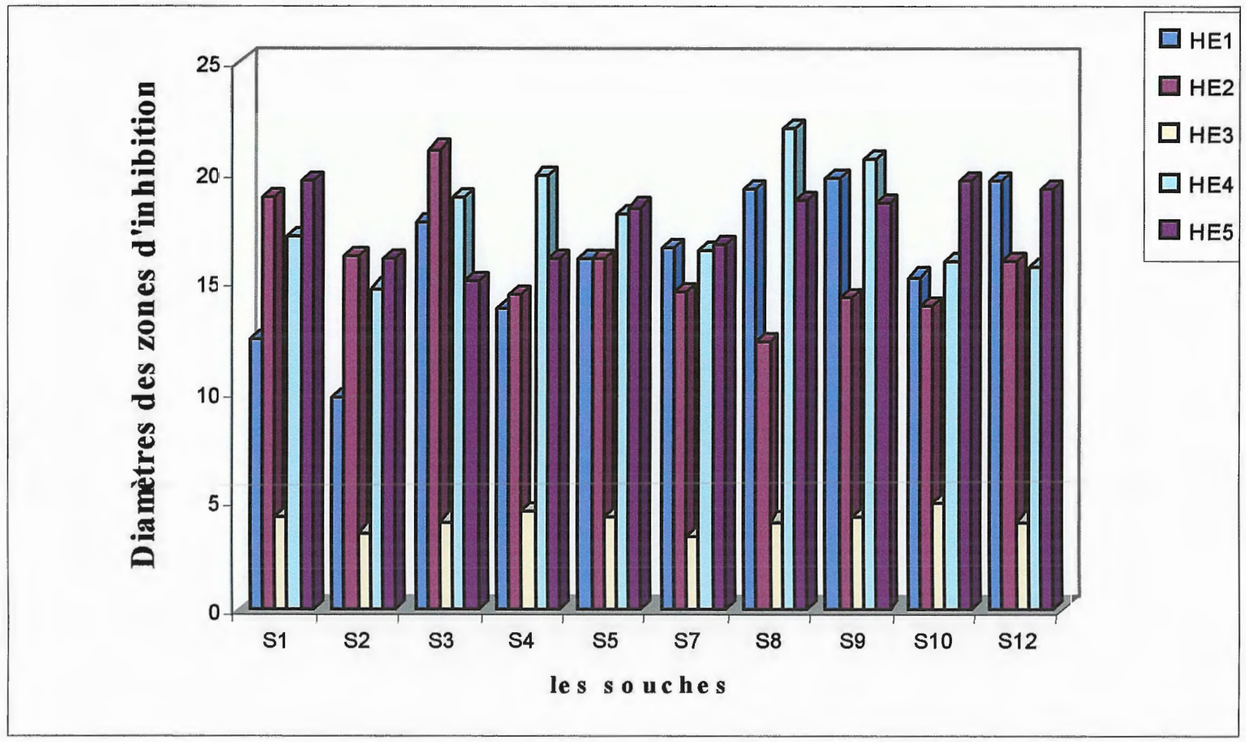


Figure14: Effet des 5 types d'huiles essentielles de *T.vulgaris* sur les 10 souches de *salmonella*

III-3. Résultats de l'analyse statistique :

III-3-1. Effet souche :

L'étude statistique (analyse de la variance) a montré qu'il ya une difference significative (1%) de la sensibilité des souches de *Salmonella* vis à vis des 5 extraits d'HE étudiés. Cette variabilité est probablement due à la variation des chimiotypes et des sérotypes [9, 29]

III-3-2. Effet huile :

L'activité antibactérienne des différents HE de *T vulgaris* étudiés sur les 10 souches de *Salmonella* a été démontrée pour l'ensemble des extraits. [15, 25, 27]

Neanmoins, cette activité est significativement (1%) différente d'un extrait d'un extrait à un autre. Cette différence d'activité pourrait être due à la composition chimique des HE et à leurs concentration en principes actifs notamment le thymol et le carvacrol. [15]

Une étude approfondie s'avère nécessaire pour déterminer avec précision les effets pharmacologiques de ces différents extraits .

III-3-3. Effet dose :

L'étude statistique a montré qu'il y a une différence significative (1%) entre l'effet des différentes dilutions d'HE de *T vulgaris* sur les 10 souches de *Salmonella.*

Cette variabilité des résultats est due à la difference de concentration en principes actifs entre les 6 dilutions ainsi que le solvont utilisé (L'huile de vaseline) qui s'avère sans effet sur l'activité des principes actifs de ces HE .

III-4. Discussion générale :

L'effet antimicrobien des extraits de T vulgaris a été rapporté par un bon nombre de publications scientifiques . [25, 32, 37, 38]

Dans le but d'estimation de l'effet antimicrobien de 5 types d'HE obtenus par hydrodistillation à partir des plantes de *T vulgaris*, récoltées a la fin du printemps de différentes régions de Bechaar , nous nous somme limités dans une première étape à la purification et l'identification de 10 souches de *Salmonella* .

Les résultats obtenus ont montrées l'existence, parmis les souches étudiées, des chimiotypes et des sérotypes . [9, 28]

Dans une deuxième étape nous avons procédé à la détermination de la sensibilité des 10 souches de *Salmonella* aux 5 types d'HE de *T vulgaris* par la méthode de diffusion sur gélose.

Les 10 souches ont montré une sensibilité variable vis-à-vis des 5 extraits. Cette variabilité des résultats est probablement due à la variation des chimiotypes et des sérotypes des souches. [37] et à la variabilité de l'activité antibactérienne des 5 extraits utilisés. [25]

La CMI trouvée pour les 5 extraits se situe généralement entre 1/25 et 1/30 (v/v) et qui reste inférieure à celle rapportée par SAGDICO. O., 2003 et qui sont estimés de (1/4 – 1/10)

Les valeurs de la CMI aussi retrouvées varient d'un extrait à un autre . Cette variabilité des résultats pourrait être due à la composition chimique des HE et a leurs concentrations en principes actifs notamment le thymol et le carvacrol .

Ces résultats peuvent être sujet de discussion dans la mesure ou les facteurs qui influencent d'une manière significative la composition chimique des HE sont très nombreux, en effet HUDAIB. M et ces collaborateurs ont démontré que la variation de la composition des HE de *T vulgaris* est influencée par le cycle végétatif et l'état physiologique de la plante.

De plus KALOUSTIAN et al ., 2003 et ISSAWI et al. , 2000 ont révélé que cette composition varie en fonction de la période de récolte et la méthode d'extraction de ces HE et de la méthode de séchage.

Pour contribuer a résoudre les problèmes posés des travaux plus approfondies sur les raisons de la variation de la CMI, les effets pharmacologiques et toxicologiques de ces extraits peuvent être entrepris

Conclusion générale

Les cinq extraits d'huiles essentielles de *T vulgaris* obtenus par hydrodistillation possèdent une activité antibacterienne vis à vis des différentes souches de *Salmonella* étudiées et les résultats ont montré que cette activité dépend de plusieurs facteurs.

Les essais effectués sur milieu solide par diffusion sur gélose révèlent que chaque extrait d'HE de *T vulgaris* possède une activité spécifique variable selon la composition chimique et la concentration en principes actifs notamment le thymol et le carvacrol. En effet la CMI varie d'un extrait à un autre et elle se situe entre les dilutions 1/25 et 1/30

Dans le but de valoriser nos résultats et d'approfondir nos connaissances sur les effets pharmacologiques et toxicologiques de ces huiles essentielles d'autres travaux pourraient être effectuer pour la détermination de la composition chimique. voir même leurs incorporation dans les produits alimentaires comme conservateurs, antioxydants et mieux envisager leur utilisation dans le traitement de certaines maladies infectieuses.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1-ALLO.O., 1991.
La préparation en un tour de main. Collection prophyre.GROUPE LIAISONS ,P68-69

2-ANONYME. 2000
Les grandes propriétés des huiles essentielles. www.biotope-fr.com.

3- ANONYME. 2000.
L'aromathérapie. www.aci-multimedia.net.

4- ANONYME. 2001.
Historique des huilles essentielles. www.sanoflore.com.

5- ANONYME. 2001.
Les terpènes. www.univ-Hn.fr.

6- ANONYME. 2001.
Les techniques d'extraction. www.web –science.com.

7-ANONYME. 2001.
Chimie des huiles essentielles. http//tecfa. Unige. Ch / tecfa/ teaching/ Mu libre/0001/bin 02/mon web /archinchin. Htm.

8- ANONYME. 2003.
Thymus. www.aujardin. info.

9- AVRIL.J.L ., 1991.
Dictionnaire pratique de bactériologie clinique. Ed. Ellipses, Paris,P.88-92

10-AVRIL.J.L., DABERNAT.H., DENIS.F., MONTEIL.H., 1992.
Bactériologie clinique. Ed. Ellipse, Paris, P.153-160

11- BENNASEUR.M., 1993.
Notion de microbiologie alimentaire, P.533-539

12-BERCHE.P., GAILLARD.J.P., SIMONET.M., 1988.
Bactériologie : Bactéries d'infections humaines.Ed.Flammarion , P.78-91

13-BLOND.O., 2001.
La recherché. spéciale le risque alimentaire. Ed. Ifremer, Paris, P.38-39

14-BOUGEOIS.C.M., MECCLE.J.F., MONTEIL.H., 1996.
Microbiologie alimentaire .T.1 : Aspet microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed. TEC et DOC.lavoisier, Paris, P.62-67

15-BRUNETON .J., 1993.
Pharmacognosie.Phytochimie, plantes médicinales. Ed. TEC et DOC.LAVOISIER,Paris, P.199-625

16-BUGNICOURT.M., 1995.
Dictionnaire de microbiologie générale, P.867-868

17-COLIN.P., 1988
Les Salmonelles. L'aviculture française n : 100-103,P.8

18- DORMAN.H.J.D., PELTOKETO.A.,HILTUNEN.R., TIKKANE.M.J.,2003
Caracterisation of the antioxidant properties of the-odourised aqueous extracts from Lamiaceae herbs.

19- EBERLIN.T., 1994.
Les antibiotiques. Classification, mode d'action, utilisation thérapeutique. Ed.Nathan, Paris, P. 86

20-ESSAWI.T., SROUR.M., 2000.
Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity, J. Enthnophar, Vol 70, P.343-349

21-FESNEAU.M., LAROCHPIQUET.P., FESNEAU.B., 2003.
Empire d'essences. http://biogassendi. Infrance.com

22-GLEDEL.J., CORBION.B., 1991.
Technique d'analyse et contrôle dans les industries agro-alimentaires. Le contrôle microbiologique.Ed.TEC et DOC. Lavoisier, Paris, P.260-261

23-GUIRAUD.J.P. , 1998.
Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod, Paris, P.81-82

24-GULIG.P.A. , DAMBARA.H., GUIRREY.D.G., LAX.A.J., 1993.
Molecular analysis of svp virulence genes of de *Salmonella* plasmides. Rev.Mol. Microbiol, P.7

25-HUDAIB.M ., SPERONI.E., DIPETRA.A.M., CAVRINI.V., 2002.
GC/MS evolution of thyme (Thymus vulgaris) oil composition and variation during the vegetative cycle.J. Pharma and Biom Analy, Vol 29, Iss 4, P. 691-700

26-ISMAN.M.B., ANDREW.J., WAN., PASSREITER.C.M., 2001.
Insecticidel activity of essential oils to the tabacco cutworn , Vol 72, Iss 1, P. 65-68

27- KALOUSTIAN.J. , EL-MOSELHY.T.F., PORTUGAL.H., 2003.
Chemical and thernal analysis of the biopolymers in thyme (Thymus vulgaris), Vol 401, iss2, P.77-86

28-LARPENT.J.P., LARPENT.M., 1990.
Mémonto- techniques de microbiologie. Ed. TEC ET DOC. Lavoisier, Paris, P.180-191

29-LARPENT.J.P., LARPENT.M., 1990.
Mémonto techniques de microbiologie. Ed. TEC et DOC. Lavoisier, Paris, P.339-350

30-LECOANET.J., 1992.
Salmonellose aviaires, in J.Brugere. Picoux et A.Silim. Manuel de pathologie aviaire, P. 225

31-LE MINOR., 1992.
Les microbes d'intérêt laitier.Ed. CEPIL , P.42

32-MARCHAL.L.N., BOURDON.J.L., RICHARD.C.L., 1987.
Les milieux de culture. Ed n.20, P.309-317

33-PANIZZI.L., FLAMINI.G., CIONI.P.L., MORELLI.I., 1993.
Composition and antibacterial properties of essential oils of fir mediterranean lamiaceae.J. Ethnopharma, Vol 39, iss 3, P.167-170

34- PILET.CH., BOURDEN., JL., TOMA.B., MARCHAL.N., BALBASTRE.C., 1997.
Bacteriologie medicale et vétérinaire. Ed. Doin, Paris, P.121-138

35-RICHARD.C., 1993.
Ouvrag «diarrhées aiguë infectieuses » .Ed. Doin, Paris, P. 23

36-RICHTER.G., 1993.
Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie.Ed..TEC et DOC, Paris, P.281-331

37-ROULIER.G., 1993.
Les huiles essentielles chémotypées. www.naturotheque.org /huile-info.htm

38-SAEZ.F.,1995.
Essential oil variability of Thymus hemalis growing wild in southeastern Spain. J. Bioch and Eco, Vol 23, Iss 4, P.431-438

39-SAGDIÇ.O., 2003.
Sensitivity of four pathogenic bacteria to turkish Thyme and oregano hydrosols. Ed. Lebensmittel Wissenschanft und Technologie

40- SUTRA.L., FEDERIGHI.M., JOUVE.J.L., 1998.
Mannuel de bacteriologie alimentaire. Ed. Polytechnica, Paris, P.27-49

41- WICHTL.M., ANTON.R., 1999.
Plantes thérapeutiques. Traditions, pratique officinale, science et thérapeutique. Ed. TEC et DOC, Paris, P.554-557

Annexes

Réalisation pratique.
Les milieux sont utilisés en gramme par litre d'eau distillée.

Eau physiologique stérile à 9 pour 1000

- -NACL 9g
- -Eau distillée 1000ml

Gélose Hektoên.

- Protéose peptone 3g
- Extrait de levure 5g
- Chlorure de sodium 5g
- Sels biliaires 9g
- Citrate de fer ammoniacale 1.5g
- Salicine 2g
- Lactose 12g
- Saccharose 12g
- Fuchsine acide 0.1g
- Bleu de bromothymol 0.065g
- Agar 13g
- Ph=7.5

Milieu urée-indole.

- L.Tryptophane 3g
- Phosphate monopotassique 1g
- Phosphate dipotassique 1g
- NaCL 5g
- Urée 20g
- Alcool à 95 10ml.
- Solution de rouge de phénol à 1% 2.5ml

Milieu Mannitol Mobilité.

- Peptone pancréatique 20g
- Mannitol 10g
- Nitrite de potassium 1g
- Rouge de phénol à 1% 2.5g
- Gélose 5g
- PH =7.2 autoclavez 15mn à 115 c

Gélose T.S.I.

- Extrait de viande de bœuf 3g
- Extrait de levure 3g
- Peptone pancréatique 20g
- NaCL 5g
- Lactose 10g
- Glucose 1g
- Saccharose 10g
- Sulfate ferreux ammonicale 0.5g
- Thiosulfate de sodium 0.025g
- Rouge de phénol 12 à 18g
- Gélose 12 à 18g

  Ph=7.4

Réaction de Kovacs.

- Paradiméthyl aminobenzaldehyde 1g
- Alcool amilytique 15g
- Acide chlorhydrique pur 25ml.

Milieu Clark et Lubs :

- Peptone 10g
- Phosphate dipotassique 2g
- Glucose 5g
- Ph 7

Gélose Citrate de Simmons :

- . Sulfate de magnisium 0,2g
- . Phosphate monoammonique 1g
- . Phosphate dipotassique 1g
- . Citrate de sodium 2g
- .Chlorure de sodium 5g
- . Bleu de bromotimole 0,2g
- . Gélose 3g

Bouillon nutritif :

- .Peptone 10g
- . Extrait de viande 5g
- . Chlorure de sodium 5g
- .Ph 7,2

Gélose Muller Hinton :

- Extraits de viandes 2g
- Hdrolysat acide de caséine 17,2g
- Amidon 1,5
- Gélose 10g
- Ph 7,5

Tableau IX : **L'effet du type 1 d'HE de T vulgaris sur les 10 souches de *Salmonella***

	Diamètres des zones d'inhibition						
D	**1/5**	**1/10**	**1/15**	**1/20**	**1/25**	**1/30**	**SS**
S1	25	15	14	11	0	0	
S2	25	11	9	7	6	0	
S3	33	24	16	12	11	10	
S4	27	21	13	11	10	0	
S5	29	20	15	14	10	8	
S7	30	22	14	12	11	10	**
S8	31	26	21	14	12	10	
S9	29	28	27	14	11	9	
S10	26	18	14	12	11	10	
S12	33	29	21	17	9	8	
SS	**						

Tableau X: **L'effet du type 2 d'HE de T vulgarissur les 10 souches de *Salmonella***

	Diamètres des zones d'inhibition						
D	**1/5**	**1/10**	**1/15**	**1/20**	**1/25**	**1/30**	***SS***
S1	36	28	20	15	14	0	
S2	31	21	18	16	12	0	
S3	35	27	25	17	12	10	
S4	28	14	13	12	10	9	
S5	30	20	19	14	13	0	**
S7	30	22	14	11	10	0	
S8	24	17	13	10	9	0	
S9	29	20	15	12	9	0	
S10	26	17	14	10	9	7	
S12	26	20	18	16	15	0	
SS	**						

<u>Tableau XI:</u> L'effet du type 3 d'HE de T vulgaris sur les 10 souches de *Salmonella*

	Diamètres des zones d'inhibition						
D	**1/5**	**1/10**	**1/15**	**1/20**	**1/25**	**1/30**	**SS**
S1	25	0	0	0	0	0	
S2	21	0	0	0	0	0	
S3	24	0	0	0	0	0	
S4	27	0	0	0	0	0	
S5	25	0	0	0	0	0	**
S7	20	0	0	0	0	0	
S8	24	0	0	0	0	0	
S9	25	0	0	0	0	0	
S10	29	0	0	0	0	0	
S12	24	0	0	0	0	0	
SS	**						

Tableau XII : L'effet du type 4 d HE de T vulgaris sur les 10 souches de *Salmonella*

	Diamètres des zones d'inhibition						
D	**1/5**	**1/10**	**1/15**	**1/20**	**1/25**	**1/30**	***SS***
S1	26	20	18	15	12	11	
S2	27	20	17	15	9	10	
S3	26	17	15	14	12	11	
S4	33	21	19	17	15	12	
S5	28	25	18	14	13	10	**
S7	31	20	15	13	10	9	
S8	36	30	26	16	13	11	
S9	35	28	19	15	14	12	
S10	24	20	15	13	12	11	
S12	31	25	16	12	10	0	
SS	**						

** hautement significatif

Tableau XIII : L'effet du type5 d'HE de T vulgaris sur les 10 souches de *Salmonella*

	Diamètres des zones d'inhibition						
D	**1/5**	**1/10**	**1/15**	**1/20**	**1/25**	**1/30**	**SS**
S1	29	26	20	18	13	11	**
S2	27	25	19	15	10	9	
S3	26	22	17	15	10	0	
S4	25	21	16	14	11	9	
S5	30	25	19	15	11	10	
S7	26	21	18	15	11	9	
S8	28	25	20	18	11	10	
S9	30	25	17	15	13	11	
S10	30	26	19	15	11	10	
S12	30	24	20	15	14	11	
SS	**						

** Hautement significative

- **Méthode utilisée dans l'étude statistique :**

Dispositif Monofactoriel en bloc : (Analyse de la variance)

$$TCG = \frac{\left(\sum_1^{t.b} x\right)^2}{n = t.b}$$

$$SCE_T = \sum_1^{t.b} x^2 - TCG$$

$$SCE_{f.E} = \frac{\sum_1^{t}\left(\sum_1^{b} x_t\right)^2}{b} - TCG$$

$$SCE_{f.C} = \frac{\sum_1^{b}\left(\sum_1^{t} x_b\right)^2}{b} - TCG$$

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

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		$b-1$	$\frac{SCT_{f.C}}{b-1}$	$\frac{CM_{f.C}}{CM_r}$
Résiduelle		$(t-1)(b-1)$	$\frac{SCE_r}{(t-1)(b-1)}$	

dll : degré de liberté.
SCE : la somme des carrés des écarts.
$F.E$: facteurs étudiés.
$F.C$: facteurs contrôlés.

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المكتبة المركزية
جامعة جيجل

Résumé

Dans le cadre d'une estimation des effets antibacteriens de cinq types d'huiles essentielles obtenus par hydrodistillation à partir des plantes de *T vulgaris* récoltées de 5 régions differentes de Bechaar, nous avons effectué dans un premier temps une étude bacteriologique de 20 souches prévenant des laboratoires d'analyses vétérinaires.

L'étude des caractères morphologiques, biochimiques et antigéniques (OMA, OMB) nous a permis d'isoler et d'identifier 10 souches de *Salmonella spp* .

Puis nous avons procédé à la détermination de l'effet des 5 extraits d'HE de *T vulgaris* sur les 10 souches de Salmonelle ainsi que la détermination de la CMI par la méthode de diffusion sur gélose.

-Les résultats obtenus ont révélé que les 10 souches de *Salmonella* montrent une sensibilité variable vis à vis des 5 extraits et que la CMI se situe généralement entre 1/25et 1/30

مـــلخص:

في إطار تقدير التأثير الضد بكتيري لخمسة أنواع من الزيت الأساسي المتحصل عليها بالتقطير البخاري لنبتة *T vulgaris* التي أخذت من خمسة مناطق مختلفة لولاية بشار أنجزنا في أول الأمر دراسة بكتيرية لعشرين سلالة آتية من مخابر تحاليل بيطرية .

دراسة الخصائص المورفولوجية ، البيوكيميائية و الضدجينية سمحت لنا بعزل و التعرف على عشرة سلالات لبكتيريا ســـالمونيلا ثم أتينا إلى تحديد مدى تأثير خمس خلاصات من الزيت الأساسي لنبتة *T vulgaris* على العشر سلالات لســـالمونيلا و كذلك تحديد التركيز الأدنى المثبط بطريقة الإنتشار على الوسط الغذائي الصلب .

النتائج المتحصل عليها بينت أن العشر سلالات لبكتيريا ســـالمونيلا أظهرت حساسية متغيرة بعد معاملتها بالخمس خلاصات للزيت الأساسي

و أن قيمة التركيز الأدنى المثبط محصورة بين 1/25 و 1/30 .

Summary:

In the setting of an evaluation of the antibacterial effects of five essential oil types gotten by hydrodistillation from plants of *T vulgaris* harvested of 5 regions different of Bechaar, we did in a first time a bacteriological survey of 20 stumps warning from some veterinary analysis laboratory

The morphological, biochemical and antigenic character permitted us to isolate and identify 10 stump of *Salmonella spp.*

Then we proceeded to determine the antibacterial effect of *T vulgaris* to screw the 10 stumps of *Salmonella* as wel as the determination of the CMI by the method of diffusion on gélose

The gotten results revealed that the 10 stumps of Salmonella shows a variable sensitivity lives to screw of the 5 excerpts and that the CMI is generally located between 1/25 and 1/30.

Mots clés : Thymus vulgaris, Huiles essentielles, Salmonella, CMI